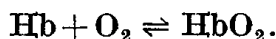


T. STRUZIŁ (Kraków)

*KINETYKA REAKCJI HEMOGLOBINY Z TLENEM
I TLENKIEM WĘGLA W UJĘCIU MATEMATYCZNYM*

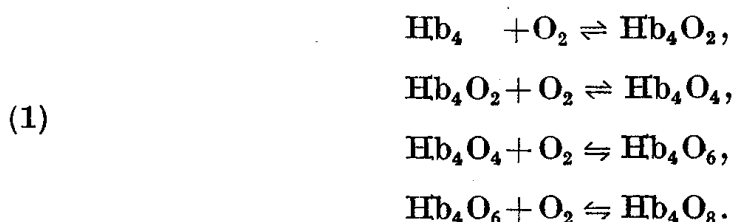
W roku 1890 Hüfner, chcąc podać prawa chemiczne reakcji hemoglobiny z tlenem, założył, że jest ona reakcją jednocząsteczkową:



Założenie powyższe było uważane za słuszne do czasu, gdy Bohr [6] w 1904 roku stwierdził esowaty kształt krzywej dyssocjacji oksyhemoglobiny. Zjawiska stwierdzonego przez Bohra nie dało się wytłumaczyć teorią Hüfnera. Twierdzenie Bohra wywołało żywą dyskusję i badania kontrolne (Bock i współpracownicy według [20]) wykazały, iż fakt stwierdzony przez Bohra nie był błędem doświadczalnym.

Pojawia się wiele nowych hipotez jak: asocjacja z kilkoma drobinami tlenu (Hill), twierdzenie, iż najpierw zachodzi adsorpcja tlenu przez hemoglobinę, a potem dopiero reakcja chemiczna (Bayliss) i inne (według [20]).

Adair [1]-[3] w roku 1925 stwierdził na drodze osmotycznej, że cząsteczka hemoglobiny zawiera cztery ugrupowania hemu i na tym fakcie oparł swoją hipotezę, iż reakcja hemoglobiny z tlenem jest reakcją łańcuchową, w której uczestniczą kolejno cztery cząsteczki tlenu w myśl wzorów:



Teoria ta tłumaczyła wszystkie dotychczasowe wyniki doświadczeń. Słuszność teorii Adaira potwierdziły kontrolne badania ciężaru cząsteczkowego hemoglobiny za pomocą ultrawirówki (Svedberg [36]), nad strukturą jej cząsteczki za pomocą promieni X (Granick, Perutz, [26], [8]), badania

doświadczalne nad kinetyką reakcji hemoglobiny z tlenem (Hartridge i Roughton, [5], [12], [13], [14], [15], [16], [19], [22], [23], [28], [29], [30], [31], [33]).

Przeciwnicy teorii Adaira twierdzą, że badaniem spektralnym nie stwierdzono tych pośrednich połączeń.

Teoria Adaira pobudziła wielu badaczy do analizy krzywej dysocjacji oksyhemoglobiny oraz do badań doświadczalnych nad wyznaczeniem stałych równowagi i szybkości reakcji (Roughton, Courtrice, Douglas, Vacca, Legge i inni [5], [7], [9] - [16], [17], [19], [22], [25], [27] - [35]). Niektóre stałe wyznaczono w badaniach doświadczalnych (analiza początkowej części krzywej dysocjacji oksyhemoglobiny — Paul i Roughton, końcowej zaś Roughton). O innych wartościach wnioskuje się na drodze pośredniej.

Jak wiemy z prac innych autorów, wartości stałych szybkości rozważanych reakcji zależą od temperatury (Brown i Hill [7]), pH (Henderson i Adair, Hartridge i Roughton [15]) i gatunku zwierzęcia, z którego pochodzi badana hemoglobina. Nasuwa się przypuszczenie, iż u człowieka również zależą od rodzaju badanej hemoglobiny HbA, HbF, HbS, HbC, HbD, HbE, HbG, HbH, HbK.

Badania powyżej wspomniane przeprowadzono doświadczalnie. Opracowano również matematycznie kinetykę reakcji hemoglobiny z tlenem i tlenkiem węgla (Roughton, Legge, Nicolson i inni, [14], [15], [19], [22], [24], [27], [28], [33], [34]), przyjmując niektóre upraszczające założenia.

Do badania kinetyki reakcji hemoglobiny z tlenem użyłem innych niż dotychczas metod matematycznych. W § 1 przytaczam rozwiązania układu równań szybkości łączenia się hemoglobiny z tlenem, otrzymane przez Roughtona przy założeniu, że stężenie tlenu jest stałe. Dalej rozwiązuję ten układ nie zakładając stałości stężenia tlenu. Udało mi się wyrazić stężenia O_2 , Hb_4O_2 , Hb_4O_4 , Hb_4O_6 , Hb_4O_8 jako funkcje stężenia Hb. Nie zawsze można napisać *explicite* zależność między stężeniami i czasem, lecz zawsze problem ten można rozwiązać numerycznie. Podaję również analityczne rozwiązania dla szczególnych przypadków często występujących w praktyce. W § 2 przytaczam rozwiązania (Millikana) równań szybkości rozpadu oksyhemoglobiny, czyli procesu odwrotnego do opisanego w § 1. W § 3 omawiam proces łączenia się hemoglobiny z tlenem i jednoczesny rozpad powstających połączeń. Wreszcie w czwartym paragrafie omawiam analogiczne do opisanych wyżej reakcje hemoglobiny z tlenkiem węgla. Można je traktować tak samo, jak reakcję hemoglobiny z tlenem. W przykładzie pierwszym stosuję wzory otrzymane w § 1 do przypadku łączenia się hemoglobiny z tlenkiem węgla. Wyniki otrzymane moją metodą, jak również wyniki otrzymane dwiema dotych-

czas używanymi metodami, porównuję z wynikami doświadczenia. Stąd widoczna jest przewaga mojej metody nad dotychczasowymi. W przykładzie drugim rozwiązuję równania szybkości łączenia się hemoglobiny z tlenem i jednoczesnego rozpadu powstających połączeń. Otrzymałam stąd ilość hemoglobiny utlenowanej porównuję z ilością otrzymaną z hipotezy Hüfnera.

§1. Łączenie się hemoglobiny z tlenem. Za podstawę biorę reakcję (1) Będę się posługiwał następującymi oznaczeniami: stałe szybkości reakcji (1) odpowiednio k'_1, k'_2, k'_3, k'_4 ; stałe szybkości reakcji odwrotnych — k_1, k_2, k_3, k_4 ; stężenie O_2 — x ; stężenie Hb_4 — z ; stężenie Hb_4O_2 — m ; stężenie Hb_4O_4 — n ; stężenie Hb_4O_6 — p ; stężenie Hb_4O_8 — q ; czas — t ; stężenia w chwili $t = 0$: $x_0, z_0, m_0, n_0, p_0, q_0$. Stężenia wyrażamy w molach w jednostce objętości, czas zaś w sekundach.

Założmy, że układ jest *zamknięty*, tzn. taki, w którym nie zachodzi wymiana materii z otoczeniem. Będziemy wówczas mieli

$$(2) \quad \begin{aligned} z + m + n + p + q &= a, & \text{gdzie } a &= \text{const}, \\ x + m + 2n + 3p + 4q &= b, & \text{gdzie } b &= \text{const}. \end{aligned}$$

Zgodnie z zasadą Guldberga i Waagego poszczególne szybkości reakcji można przedstawić za pomocą następujących równań:

$$(3) \quad \left\{ \begin{aligned} \frac{dz}{dt} &= -k'_1zx, \\ \frac{dm}{dt} &= k'_1zx - k'_2mx, \\ \frac{dn}{dt} &= k'_2mx - k'_3nx, \\ \frac{dp}{dt} &= k'_3nx - k'_4px, \\ \frac{dq}{dt} &= k'_4px, \\ \frac{dx}{dt} &= -k'_1zx - k'_2mx - k'_3nx - k'_4px. \end{aligned} \right.$$

Równania te rozwiązał już Roughton [34], w przypadku gdy stężenie tlenu, w porównaniu do stężenia hemoglobiny, jest bardzo duże. Nie zmienia się ono wówczas niemal zupełnie w czasie reakcji i można je przyjąć za stałe. Przy tych uproszczonych założeniach powyższy układ równań redukuje się do liniowego i można go z łatwością rozwiązać. Rozwiązania

są wtedy następujące:

$$(4) \left\{ \begin{aligned} z &= C'_1 e^{-k'_1 x t}, \\ m &= \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} C'_1 e^{-k'_1 x t} + C'_2 e^{-k'_2 x t}, \\ n &= \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_2}{k'_3 - k'_1} C'_1 e^{-k'_1 x t} + \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} C'_2 e^{-k'_2 x t} + C'_3 e^{-k'_3 x t}, \\ p &= \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_2}{k'_3 - k'_1} \cdot \frac{k'_3}{k'_4 - k'_1} C'_1 e^{-k'_1 x t} + \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} \cdot \frac{k'_3}{k'_4 - k'_2} C'_2 e^{-k'_2 x t} + \\ &\quad + \frac{k'_3}{k'_4 - k'_3} C'_3 e^{-k'_3 x t} + C'_4 e^{-k'_4 x t}, \\ q &= -\frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_3}{k'_3 - k'_1} \cdot \frac{k'_4}{k'_4 - k'_1} C'_1 e^{-k'_1 x t} - \frac{k'_3}{k'_3 - k'_2} \cdot \frac{k'_4}{k'_4 - k'_2} C'_2 e^{-k'_2 x t} - \\ &\quad - \frac{k'_4}{k'_4 - k'_3} C'_3 e^{-k'_3 x t} - C'_4 e^{-k'_4 x t} + C'_5. \end{aligned} \right.$$

Uwzględniając warunki początkowe wyznaczamy stałe całkowania.

$$(5) \left\{ \begin{aligned} C'_1 &= z_0, \\ C'_2 &= m_0 - \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} z_0, \\ C'_3 &= n_0 - \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} m_0 - \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_2}{k'_3 - k'_1} z_0 + \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} z_0, \\ C'_4 &= p_0 - \frac{k'_3}{k'_4 - k'_3} n_0 + \frac{k'_3}{k'_4 - k'_2} \cdot \frac{k'_2}{k'_4 - k'_3} m_0 - \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_2}{k'_3 - k'_1} \cdot \frac{k'_3}{k'_4 - k'_1} z_0 + \\ &\quad + \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} \cdot \frac{k'_3}{k'_4 - k'_2} \cdot \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} z_0 - \frac{k'_3}{k'_4 - k'_3} \cdot \frac{k'_1}{k'_3 - k'_1} \cdot \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} z_0, \\ C'_5 &= a. \end{aligned} \right.$$

Stałe szybkości k'_1 i k'_4 można wyznaczyć doświadczalnie, stałe k'_2 i k'_3 obliczyć, zakładając hipotezę Roughtona o „częściowej statystyczności reakcji” [34]. Hipoteza ta, sformułowana na wzór fizycznego prawa adsorpcji Langmuira, zakłada, że

$$(6) \quad k'_1 : k'_2 : k'_3 = 4 : 3 : 2, \quad k_1 : k_2 : k_3 = 1 : 2 : 3.$$

Jeśli posłużymy się tą hipotezą, wówczas wzory (4) można sprowadzić do prostszej postaci

$$(7) \quad \left\{ \begin{aligned} z &= C'_1 e^{-k'_1 x t}, \\ m &= -4C'_1 e^{-k'_1 x t} + C'_2 e^{-(3/4)k'_1 x t}, \\ n &= 6C'_1 e^{-k'_1 x t} - 3C'_2 e^{-(3/4)k'_1 x t} + C'_3 e^{-(1/2)k'_1 x t}, \\ p &= \frac{3k'_1}{k'_4 - k'_1} C'_1 e^{-k'_1 x t} - \frac{6k'_1}{4k'_4 - 3k'_1} C'_2 e^{-(3/4)k'_1 x t} + \\ &\quad + \frac{k'_1}{2k'_4 - k'_1} C'_3 e^{-(1/2)k'_1 x t} + C'_4 e^{-k'_4 x t}, \\ q &= \frac{-3k'_4}{k'_4 - k'_1} C'_1 e^{-k'_1 x t} + \frac{8k'_4}{4k'_4 - 3k'_1} C'_2 e^{-(3/4)k'_1 x t} - \frac{2k'_4}{2k'_4 - k'_1} C'_3 e^{-(1/2)k'_1 x t} - \\ &\quad - C'_4 e^{-k'_4 x t} + C'_5, \end{aligned} \right.$$

gdzie stałe całkowania wynoszą

$$(8) \quad \begin{aligned} C'_5 &= a, \quad C'_1 = z_0, \quad C'_2 = m_0 + 4z_0, \quad C'_3 = n_0 + 3m_0 + 6z_0, \\ C'_4 &= p_0 - \frac{k'_1}{2k'_4 - k'_1} n_0 + \frac{k'_1}{4k'_4 - 3k'_1} \cdot \frac{3k'_1}{2k'_4 - k'_1} m_0 - \frac{3k'_1}{2k'_4 - k'_1} z_0 + \\ &\quad + \frac{24k'_1}{4k'_4 - 3k'_1} z_0 - \frac{6k'_1}{2k'_4 - k'_1} z_0. \end{aligned}$$

Nie znamy dotychczas metody doświadczalnej, która pozwoliłaby bezpośrednio zmierzyć z , m , n , p , q . Z doświadczenia możemy obliczyć jedynie zawartość hemoglobiny utlenowanej w znaczeniu Hüfnera

$$(9) \quad y = q + \frac{3}{4}p + \frac{1}{2}n + \frac{1}{4}m.$$

W przypadku łączenia się hemoglobiny z tlenem, przy bardzo dużym stężeniu tlenu, dla reakcji przebiegającej częściowo statystycznie mamy

$$(10) \quad y = \frac{k'_1 - 4k'_4}{4(k'_4 - k'_1)} C'_1 e^{-k'_1 x t} + \frac{3}{4} \cdot \frac{4k'_4 - k'_1}{4k'_4 - 3k'_1} C'_2 e^{-(3/4)k'_1 x t} + \\ + \frac{k'_1 - 4k'_4}{4(2k'_4 - k'_1)} C'_3 e^{-(1/2)k'_1 x t} - \frac{1}{4} C'_4 e^{-k'_4 x t} + C'_5.$$

Nie zawsze jednak założenia Roughtona są słuszne — najczęściej bowiem początkowe stężenie tlenu jest tego samego rzędu co stężenie

hemoglobiny i dalej ulega znacznemu zmniejszeniu wskutek wiązania się z hemoglobiną.

Przeanalizuję więc łączenie się hemoglobiny z tlenem bez przyjmowania stężenia tlenu za stałe. Wyrażę najpierw x , m , n , p , q jako funkcje stężenia hemoglobiny. Równania (3) napiszę w następującej postaci

$$-\frac{dz}{k'_1 z} = x dt \quad \text{dla} \quad z \neq 0,$$

$$\frac{dm}{k'_1 z - k'_2 m} = x dt \quad \text{dla} \quad z \neq \frac{k'_2}{k'_1} m,$$

$$\frac{dn}{k'_2 m - k'_3 n} = x dt \quad \text{dla} \quad m \neq \frac{k'_3}{k'_2} n,$$

$$\frac{dp}{k'_3 n - k'_4 p} = x dt \quad \text{dla} \quad n \neq \frac{k'_4}{k'_3} p,$$

$$\frac{dq}{k'_4 p} = x dt \quad \text{dla} \quad p \neq 0,$$

$$\frac{dx}{-k'_1 z - k'_2 m - k'_3 n - k'_4 p} = x dt \quad \text{dla} \quad k'_1 z + k'_2 m + k'_3 n + k'_4 p \neq 0.$$

Eliminacja $x dt$ daje

$$(11) \quad \begin{cases} \frac{dm}{dz} = -1 + \frac{k'_2 m}{k'_1 z}, \\ \frac{dn}{dz} = -\frac{k'_2 m}{k'_1 z} + \frac{k'_3 n}{k'_1 z}, \\ \frac{dp}{dz} = -\frac{k'_3 n}{k'_1 z} + \frac{k'_4 p}{k'_1 z}, \\ \frac{dq}{dz} = -\frac{k'_4 p}{k'_1 z}, \\ \frac{dx}{dz} = 1 + \frac{k'_2 m}{k'_1 z} + \frac{k'_3 n}{k'_1 z} + \frac{k'_4 p}{k'_1 z}. \end{cases}$$

Pierwsze trzy równania układu (11), jako równania liniowe, rozwiążemy kolejno metodą czynnika całkującego. Wartości q i x obliczamy z wzorów (2). Otrzymujemy w ten sposób całki

$$\begin{aligned}
 m &= \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} z + C'_1 z^{k'_2/k'_1}, \\
 n &= \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_1}{k'_3 - k'_1} z + \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} C'_1 z^{k'_2/k'_1} + C'_2 z^{k'_3/k'_1}, \\
 p &= \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_3}{k'_3 - k'_1} \cdot \frac{k'_1}{k'_4 - k'_1} z + \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} \cdot \frac{k'_3}{k'_4 - k'_2} C'_1 z^{k'_2/k'_1} + \\
 &\quad + \frac{k'_3}{k'_4 - k'_3} C'_2 z^{k'_3/k'_1} + C'_3 z^{k'_4/k'_1}, \\
 (12) \quad q &= -\frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_3}{k'_3 - k'_1} \cdot \frac{k'_4}{k'_4 - k'_1} z - \frac{k'_3}{k'_3 - k'_2} \cdot \frac{k'_4}{k'_4 - k'_2} C'_1 z^{k'_2/k'_1} - \\
 &\quad - \frac{k'_4}{k'_4 - k'_3} C'_2 z^{k'_3/k'_1} - C'_3 z^{k'_4/k'_1} + C'_4, \\
 x &= \left[1 + \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} + \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_3}{k'_3 - k'_1} + \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_3}{k'_3 - k'_1} \cdot \frac{k'_4}{k'_4 - k'_1} \right] z + \\
 &\quad + \left[1 + \frac{k'_3}{k'_3 - k'_2} + \frac{k'_3}{k'_3 - k'_2} \cdot \frac{k'_4}{k'_4 - k'_2} \right] C'_1 z^{k'_2/k'_1} + \\
 &\quad + \left[1 + \frac{k'_4}{k'_4 - k'_3} \right] C'_2 z^{k'_3/k'_1} + C'_3 z^{k'_4/k'_1} + C'_5.
 \end{aligned}$$

Stałe $C'_1 - C'_5$ przy warunkach początkowych $t = 0$, $z = z_0$, $m = m_0$, $n = n_0$, $p = p_0$, $q = q_0$, $x = x_0$ wynoszą:

$$\begin{aligned}
 (13) \quad C'_1 &= z_0^{-k'_2/k'_1} \left[m_0 - \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} z_0 \right], \\
 C'_2 &= z_0^{-k'_3/k'_1} \left[n_0 - \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_1}{k'_3 - k'_1} z_0 + \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} \cdot \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} z_0 - \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} m_0 \right], \\
 C'_3 &= z_0^{-k'_4/k'_1} \left[p_0 - \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_3}{k'_3 - k'_1} \cdot \frac{k'_1}{k'_4 - k'_1} z_0 + \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} \cdot \frac{k'_3}{k'_4 - k'_2} \cdot \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} z_0 + \right. \\
 &\quad + \frac{k'_3}{k'_4 - k'_3} \cdot \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_1}{k'_3 - k'_1} z_0 - \frac{k'_3}{k'_4 - k'_3} \cdot \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} \cdot \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} z_0 - \\
 &\quad \left. - \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} \cdot \frac{k'_3}{k'_4 - k'_2} m_0 + \frac{k'_3}{k'_4 - k'_3} \cdot \frac{k'_2}{k'_3 - k'_2} m_0 - \frac{k'_3}{k'_4 - k'_1} n_0 \right], \\
 C'_4 &= a, \quad C'_5 = b - 4a.
 \end{aligned}$$

Otrzymaliśmy w ten sposób całki pierwsze układu (3) wyrażające zależność stężeń O_2 , Hb_4O_2 , Hb_4O_4 , Hb_4O_6 , Hb_4O_8 od stężenia Hb w czasie jej łączenia się z tlenem (wzory (12)). Po wstawieniu $z = z_0 e^{-k'_1 x t}$, przy

stałym stężeniu O_2 , wzory te sprowadzają się do wzorów (4) wyprowadzonych przez Roughtona. Są one jednak znacznie ogólniejsze, stosują się bowiem również do przypadków, w których stężenie O_2 nie jest stałe.

Dla reakcji przebiegającej w myśl hipotezy Roughtona (6) częściowej statystyczności można je sprowadzić do prostszej postaci

$$(14) \left\{ \begin{aligned} m &= -4z + C'_1 z^{3/4}, \\ n &= 6z - 3C'_1 z^{3/4} + C'_2 z^{1/2}, \\ p &= \frac{3k'_1}{k'_4 - k'_1} z - \frac{6k'_1}{4k'_4 - 3k'_1} C'_1 z^{3/4} + \frac{k'_1}{2k'_4 - k'_1} C'_2 z^{1/2} + C'_3 z^{k'_4/k'_1}, \\ q &= \frac{-3k'_4}{k'_4 - k'_1} z + \frac{8k'_4}{4k'_4 - 3k'_1} C'_1 z^{3/4} - \frac{2k'_4}{2k'_4 - k'_1} C'_2 z^{1/2} - C'_3 z^{k'_4/k'_1} + C'_4, \\ y &= \frac{k'_1 - 4k'_4}{4(k'_4 - k'_1)} z + \frac{3}{4} \cdot \frac{4k'_4 - k'_1}{4k'_4 - 3k'_1} C'_1 z^{3/4} + \frac{k'_1 - 4k'_4}{4(2k'_4 - k'_1)} C'_2 z^{1/2} - \frac{1}{4} C'_4 z^{k'_4/k'_1} + C'_4, \\ x &= \left[1 + \frac{3k'_4}{k'_4 - k'_1} \right] z - \left[1 + \frac{8k'_4}{4k'_4 - 3k'_1} \right] C'_1 z^{3/4} + \left[1 + \frac{2k'_4}{2k'_4 - k'_1} \right] C'_2 z^{1/2} + \\ &\quad + C'_3 z^{k'_4/k'_1} + C'_5, \end{aligned} \right.$$

przy tym stałe całkowania są postaci

$$(15) \left\{ \begin{aligned} C'_1 &= z_0^{-3/4} [m_0 + 4z_0], \\ C'_2 &= z_0^{-1/2} [n_0 + 3m_0 + 6z_0], \\ C'_3 &= z_0^{-k'_4/k'_1} \left[p_0 - \frac{3k'_1}{k'_4 - k'_1} z_0 + \frac{24k'_1}{4k'_4 - 3k'_1} z_0 - \frac{6k'_1}{2k'_4 - k'_1} z_0 + \right. \\ &\quad \left. + \frac{6k'_1}{4k'_4 - 3k'_1} m_0 - \frac{3k'_1}{2k'_4 - k'_1} m_0 - \frac{k'_1}{2k'_4 - k'_1} n_0 \right], \\ C'_4 &= a, \quad C'_5 = b - 4a. \end{aligned} \right.$$

Przejdźmy z kolei do matematycznego ujęcia zależności stężenia hemoglobiny od czasu. W tym celu należy rozwiązać pierwsze równanie układu (3), podstawiając w nim zamiast x ostatnią równość układu (14). Oznaczmy

$$\begin{aligned} a_1 &= 1 + \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} + \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_3}{k'_3 - k'_1} + \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} \cdot \frac{k'_3}{k'_3 - k'_1} \cdot \frac{k'_4}{k'_4 - k'_1}, \\ a_2 &= 1 + \frac{k'_3}{k'_3 - k'_2} + \frac{k'_3}{k'_3 - k'_2} \cdot \frac{k'_4}{k'_4 - k'_2}, \\ a_3 &= 1 + \frac{k'_4}{k'_4 - k'_3}, \end{aligned}$$

wtedy równanie to przyjmie postać

$$(16) \quad \frac{dz}{dt} = -k'_1 a_1 z^2 - k'_1 a_2 C'_1 z^{(k'_2+k'_1)/k'_1} - k'_1 a_3 C'_2 z^{(k'_3+k'_1)/k'_1} - \\ - k'_1 C'_3 z^{(k'_4+k'_1)/k'_1} - k'_1 C'_5 z.$$

Stąd

$$(17) \quad t = \int \frac{dz}{-k'_1 z [a_1 z + a_2 C'_1 z^{k'_2/k'_1} + a_3 C'_2 z^{k'_3/k'_1} + C'_3 z^{k'_4/k'_1} + C'_5]}.$$

Całki tej metodami elementarnymi obliczyć mi się nie udało. Można by zastosować metody numeryczne. Przez odpowiedni dobór początkowych wartości z , m , n , p , q , x w doświadczeniach można całkę (17) sprowadzić do postaci

$$(18) \quad t = - \int \frac{dz}{z(a z^n + b)},$$

którą łatwo już obliczyć. Jej rozwiązaniem jest

$$(19) \quad z = \left[\frac{b C e^{-k'_1 b n t}}{1 - a C e^{-k'_1 b n t}} \right]^{1/n}.$$

Dla reakcji częściowo statystycznej całka (17) ma następującą postać

$$(20) \quad t = \int \frac{dz}{-k'_1 z [a_1 z + a_2 C'_1 z^{3/4} + a_3 C'_2 z^{1/2} + C'_3 z^{k'_4/k'_1} + C'_5]}.$$

W wielu praktycznie ważnych przypadkach, jak to wykażę dalej na przykładzie, wyraz $C'_3 z^{k'_4/k'_1}$ jest bardzo mały w porównaniu do wyrazów pozostałych, tak iż można go pominąć. Całka redukuje się wówczas do

$$t = \int \frac{dz}{-k'_1 z [a_1 z + a_2 C'_1 z^{3/4} + a_3 C'_2 z^{1/2} + C'_5]}.$$

Podstawmy

$$(21) \quad z^{1/4} = u.$$

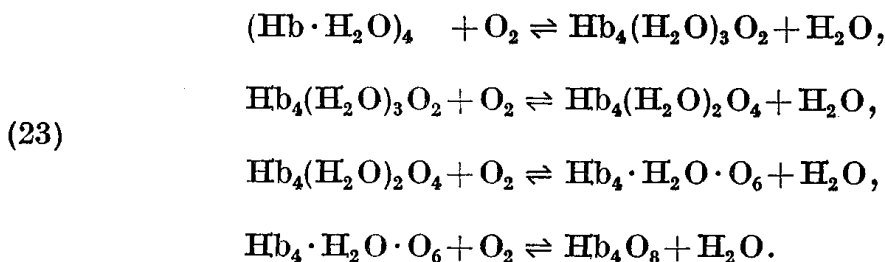
Całka przybierze wówczas postać

$$(22) \quad t = - \frac{4}{k'_1} \int \frac{du}{u [a_1 u^4 + a_2 C'_1 u^3 + a_3 C'_2 u^2 + C'_5]}.$$

Jest to całka funkcji wymiernej, którą po rozłożeniu mianownika na czynniki możemy już łatwo obliczyć (vide przykład 1).

Przy rozpatrywaniu roztworów stężonych zmienne x , m , n , p , q , z w układzie (3) wyrażać będą zgodnie z prawem działania mas nie stężenia, lecz aktywności stężeniowe.

Badania Haurowitza [37] zdają się wskazywać, że hemoglobina łącząc się z tlenem w myśl wzorów podanych niżej musi odczepić cząsteczkę wody



Również i dla tego typu reakcji wyprowadzone wzory pozostają słuszne.

Z powyższego przedstawienia wynika, że problemat zależności stężenia hemoglobiny od czasu udało się rozwiązać tylko częściowo.

§ 2. Rozpad oksyhemoglobiny. Równania szybkości rozpadu przedstawiają się w sposób następujący:

$$\begin{cases}
 \frac{dq}{dt} = -k_4q, \\
 \frac{dp}{dt} = k_4q - k_3p, \\
 \frac{dn}{dt} = k_3p - k_2n, \\
 \frac{dm}{dt} = k_2n - k_1m, \\
 \frac{dz}{dt} = k_1m, \\
 \frac{dx}{dt} = k_1m + k_2n + k_3p + k_4q.
 \end{cases}
 \tag{24}$$

Millikan (według [34]) zauważył, że powyższy układ równań różniczkowych jest identyczny z układem obrazującym rozpad rodziny pierwiastków promieniotwórczych, rozwiązany przez Batemana. Dla pełności obrazu przytoczę uzyskane przez niego wyniki

$$\begin{aligned}
 (25) \quad & \left\{ \begin{aligned}
 q &= C_1 e^{-k_4 t}, \\
 p &= \frac{k_4}{k_3 - k_4} C_1 e^{-k_4 t} + C_2 e^{-k_3 t}, \\
 n &= \frac{k_3}{k_2 - k_4} \cdot \frac{k_4}{k_3 - k_4} C_1 e^{-k_4 t} + \frac{k_3}{k_2 - k_3} C_2 e^{-k_3 t} + C_3 e^{-k_2 t}, \\
 m &= \frac{k_2}{k_1 - k_4} \cdot \frac{k_3}{k_2 - k_4} \cdot \frac{k_4}{k_3 - k_4} C_1 e^{-k_4 t} + \frac{k_2}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_3}{k_2 - k_3} C_2 e^{-k_3 t} + \\
 &\quad + \frac{k_2}{k_1 - k_2} C_3 e^{-k_2 t} + C_4 e^{-k_1 t}, \\
 z &= \frac{k_1}{k_1 - k_4} \cdot \frac{k_2}{k_2 - k_4} \cdot \frac{k_3}{k_3 - k_4} C_1 e^{-k_4 t} - \frac{k_1}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_2}{k_2 - k_3} C_2 e^{-k_3 t} - \\
 &\quad - \frac{k_1}{k_1 - k_2} C_3 e^{-k_2 t} - C_4 e^{-k_1 t} + C_5, \\
 x &= - \left[1 + \frac{k_3}{k_3 - k_4} + \frac{k_2}{k_2 - k_4} \cdot \frac{k_3}{k_3 - k_4} + \frac{k_1}{k_1 - k_4} \cdot \frac{k_2}{k_2 - k_4} \times \right. \\
 &\quad \times \left. \frac{k_3}{k_3 - k_4} \right] C_1 e^{-k_4 t} - \left[1 + \frac{k_2}{k_2 - k_3} + \frac{k_1}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_2}{k_2 - k_3} \right] C_2 e^{-k_3 t} - \\
 &\quad - \left[1 + \frac{k_1}{k_1 - k_2} \right] C_3 e^{-k_2 t} - C_4 e^{-k_1 t} + C_6.
 \end{aligned} \right.
 \end{aligned}$$

Stałe całkowania C_1 - C_6 dla warunków początkowych $t = 0$, $x = x_0$, $z = z_0$, $m = m_0$, $n = n_0$, $p = p_0$, $q = q_0$ wynoszą:

$$\begin{aligned}
 (26) \quad & \left\{ \begin{aligned}
 C_1 &= q_0, \\
 C_2 &= p_0 - \frac{k_4}{k_3 - k_4} q_0, \\
 C_3 &= n_0 - \frac{k_3}{k_2 - k_3} \left[p_0 - \frac{k_4}{k_2 - k_4} q_0 \right], \\
 C_4 &= m_0 - \frac{k_2}{k_1 - k_2} n_0 + \frac{k_3}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_2}{k_1 - k_2} p_0 - \frac{k_2}{k_1 - k_4} \cdot \frac{k_3}{k_2 - k_4} \cdot \frac{k_4}{k_3 - k_4} q_0 + \\
 &\quad + \frac{k_2}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_3}{k_2 - k_3} \cdot \frac{k_4}{k_3 - k_4} q_0 - \frac{k_2}{k_1 - k_2} \cdot \frac{k_3}{k_2 - k_3} \cdot \frac{k_4}{k_2 - k_4} q_0, \\
 C_5 &= a, \quad C_6 = b.
 \end{aligned} \right.
 \end{aligned}$$

Zwróćmy uwagę na to, że jeśli w przypadku łączenia się hemoglobiny z tlenem udało się nam otrzymać jedynie całki pierwsze wyrażające

stężenie O_2 , Hb_4O_2 , Hb_4O_4 , Hb_4O_6 , Hb_4O_8 w zależności od stężenia Hb (wzory (13)), to tutaj zagadnienie jest znacznie prostsze i możemy otrzymać całki ogólne wyrażające stężenie Hb_4 , Hb_4O_2 , Hb_4O_4 , Hb_4O_6 , Hb_4O_8 i O_2 jako funkcję czasu.

§ 3. Łączenie się hemoglobiny z tlenem i jednoczesny rozpad powstających przy tym połączeń. W świetle zasady Guldberga i Waagego równania szybkości zachodzących tu reakcji chemicznych możemy sformułować w sposób następujący:

$$(27) \quad \left\{ \begin{array}{l} \frac{dz}{dt} = -k'_1zx + k_1m, \\ \frac{dm}{dt} = k'_1zx - k'_2mx + k_2n - k_1m, \\ \frac{dn}{dt} = k'_2mx - k'_3nx + k_3p - k_2n, \\ \frac{dp}{dt} = k'_3nx - k'_4px + k_4q - k_3p, \\ \frac{dq}{dt} = k'_4px - k_4q, \\ \frac{dx}{dt} = -k'_1zx - k'_2mx - k'_3nx - k'_4px + k_1m + k_2n + k_3p + k_4q. \end{array} \right.$$

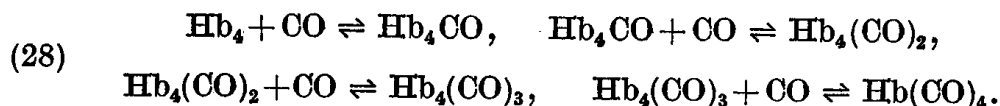
Przy stałym stężeniu tlenu są to równania liniowe i stosując w konkretnych przypadkach znane metody (np. metodę operatorów) możemy je scałkować.

Nie możemy jednak posłużyć się tą metodą w przypadku ogólnym, gdy stężenie tlenu zmienia się jednocześnie ze stężeniem hemoglobiny, bowiem metody operatorów nie można stosować do układów równań różniczkowych nieliniowych (w konkretnym przypadku stopnia drugiego).

Wówczas jest to bardzo skomplikowany układ równań różniczkowych. Metodami elementarnymi nie udało mi się go rozwiązać. Próbowałem zastosować doń metody numeryczne, m. in. metodę Rungego-Kutty. Pokażę to później na przykładzie (przykład 2).

Otrzymawszy na tej drodze kilka początkowych wartości z , m , n , p , q , x przedłużamy rozwiązania stosując np. metodę ekstrapolacji. Otrzymujemy w ten sposób numeryczną zależność stężeń Hb_4 , Hb_4O_2 , Hb_4O_4 , Hb_4O_6 , Hb_4O_8 , O_2 od czasu — w reakcji jednoczesnego łączenia się hemoglobiny z tlenem i rozpadu powstających przy tym połączeń.

§ 4. Reakcja hemoglobiny z tlenkiem węgla. Brown i Hill [7] wykazali, że krzywa dysocjacji hemoglobiny tlenkowęgłowej ma również kształt esowaty. Dzięki pracom kilku innych autorów, a zwłaszcza Roughtona ([5], [12], [13], [16], [18], [19], [28], [29], [30], [35]), wykazano, że teoria Adaira stosuje się i do tej reakcji wyrażając się tu wzorami



Na drodze doświadczalnej wyznaczono 12 stałych równowagi i szybkości reakcji (Roughton), które w piśmiennictwie oznacza się odpowiednio L_1, L_2, L_3, L_4 (stałe równowagi), l'_1, l'_2, l'_3, l'_4 (stałe szybkości łączenia się hemoglobiny z tlenkiem węgla), l_1, l_2, l_3, l_4 (stałe szybkości rozpadu hemoglobiny tlenkowęgłowej). Wstawiając te wartości do wzorów wyprowadzonych dla oksyhemoglobin w miejsce k'_1, k'_2, k'_3, k'_4 i k_1, k_2, k_3, k_4 , możemy zobrazować kinetykę reakcji hemoglobiny z tlenkiem węgla.

PRZYKŁAD 1. Łączenie się hemoglobiny ludzkiej z tlenkiem węgla w temperaturze 37°C i pH 7,1.

Doświadczenie tego typu przeprowadzili Q. H. Gibson i inni [12] w 1955 r. badając *in vitro* przebieg reakcji w roztworze zawierającym w litrze 0,02 mM CO i 0,016 mM Hb (jako jeden milimol hemoglobiny — 1 mM Hb — określamy tę jej ilość, która wiąże w normalnych warunkach ciśnienia i temperatury 22,4 ml O₂ na litr roztworu).

Przeanalizujemy tu na drodze opisanej wyżej przebieg reakcji u jednego z badanych przez Gibsona i współpracowników osobników, dla którego wyniki doświadczalne przedstawili autorzy w swej pracy w formie tabelki. Przyjmiemy za nimi

$$l'_1 = 3,2 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ sek}^{-1}, \quad l'_4 = 6,4 \cdot 10^4 \text{ mM}^{-1} \text{ sek}^{-1}.$$

Pozostałe stałe obliczymy przyjmując częściową statystyczność reakcji i posługując się wzorami (6).

Jak to wynika z określenia mM Hb, przytoczonego wyżej, autorzy przyjęli czterokrotnie większą jednostkę do mierzenia ilości tlenu, niż hemoglobiny. Dlatego też posługując się wyżej wyprowadzonymi wzorami musimy je zmodyfikować mnożąc prawą stronę ostatniego równania (3) i jego całkę pierwszą (12) oraz mianownik całki (17) przez $\frac{1}{4}$. Stała C'_5 równać się będzie $b-a$, natomiast pozostałe wzory nie ulegną zmianie.

Równanie (16) po podstawieniu powyższych wartości przyjmie postać:

$$(29) \quad \frac{dz}{dt} = -3,25 \cdot 10^3 z^2 + 3,49 \cdot 10^3 z^{7/4} - 1,23 \cdot 10^3 z^{3/2} + 5,57 \cdot 10^{32} z^{21} - 12,8 z.$$

Zauważmy, że po wstawieniu wartości początkowej $z_0 = 0,016$ czwarty z kolei wyraz strony prawej będzie wynosił

$$5,57 \cdot 10^{32} \cdot (0,016)^{21} = 1,07 \cdot 10^{-27},$$

podczas gdy wyrazy pozostałe będą rzędu wielkości od 10^{-1} do 10^0 , a więc co najmniej 10^{26} razy większe. W miarę przebiegu reakcji ilość hemoglobiny zredukowanej — z — będzie maleć i jednocześnie różnica między wyrazami będzie jeszcze większa. Dlatego też wyraz ten bez szkody dla dokładności rachunku możemy opuścić. Wówczas (22) można przedstawić następująco

$$(30) \quad t = 4 \int \frac{du}{u(-3,25 \cdot 10^3 u^4 + 3,49 \cdot 10^3 u^3 - 1,23 \cdot 10^3 u^2 - 12,8)}.$$

Mianownik wyrażenia podcałkowego możemy rozbić na czynniki:

$$u(u^2 + 0,0274u + 0,00988)(u^2 - 1,10u + 0,399),$$

po czym całkę (30) rozbijamy na kilka całek, które kolejno wyznaczamy. Po scałkowaniu, zamianie logarytmów naturalnych na dziesiętne i po przywróceniu pierwotnych oznaczeń otrzymujemy

$$(31) \quad t = -0,720 \log z^{1/4} + 0,342 \log(z^{1/2} + 0,0273z^{1/4} + 0,00988) + \\ + 0,0174 \log(z^{1/2} - 1,10z^{1/4} + 0,399) - \\ - 0,0391 \operatorname{arctg}(10,2z^{1/4} + 0,139) - 0,00114 \operatorname{arctg}(3,25z^{1/4} - 1,79) + C,$$

gdzie dla $t = 0$, $z = 0,016$ stała całkowania wynosi $C = 0,0287$.

Korzystając z tego wzoru oraz z wzorów otrzymanych przez wstawienie konkretnych wartości do wyrażeń (14) i (15) otrzymujemy tablicę 1.

Uwaga. Ze wzorów otrzymujemy y , m , n , p , q w mM/l, t zaś w sekundach, natomiast w tablicy dla przejrzystości niektóre z powyższych wartości zamieniono na msek i procenty ogólnej ilości $\text{Hb} + \text{HbCO} = a$.

Przeglądając tablicę 1 można zauważyć kilka faktów. Po pierwsze ze wzrostem t wartości m , n , p rosną, osiągają pewne maksimum i następnie maleją, wartości y i q — rosną, z — maleje. Przede wszystkim jednak rzuca się w oczy bardzo niewielka ilość $\text{Hb}_4(\text{CO})_3 = p$ przez cały czas reakcji. Wartość ta osiąga maksimum jednocześnie z $\text{Hb}_4(\text{CO})_2 = n$. Wywołane jest to tym, iż stała l'_4 jest czterdziestokrotnie większa od stałej l'_3 . Znaczy to, że $\text{Hb}_4(\text{CO})_3$ wolno powstaje, ale szybko ulega zamianie na $\text{Hb}_4(\text{CO})_4$.

Tablica ta obrazuje nam nie tylko przebieg procesu łączenia się hemoglobiny z CO, lecz także przebieg reakcji jednoczesnego powstawania HbCO i jej rozpadu, gdyż, jak to wykazują badania Roughtona [27],

TABLICA 1

Łączenie się 0,016 mM/l hemoglobiny ludzkiej
z 0,02 mM/l CO w temp. 37° C i pH 7,1

t (w msek)	z (w ‰)	y (w ‰)	y (w mM/l)	m (w mM/l)	n (w mM/l)	p (w mM/l)	q (w mM/l)
1,57	90	2,6	0,000415	0,00154	0,000061	0,000001	0,000000
3,48	80	5,4	0,000869	0,00296	0,000256	0,000004	0,000007
5,71	70	8,5	0,00137	0,00418	0,000523	0,000011	0,000026
8,33	60	11,5	0,00184	0,00523	0,00107	0,000023	0,000074
11,9	50	16,6	0,00259	0,00606	0,00179	0,000038	0,000187
15,5	40	21,1	0,00377	0,00659	0,00254	0,000059	0,000406
21,3	30	27,2	0,00434	0,00674	0,00355	0,000085	0,000819
29,8	20	35,4	0,00566	0,00634	0,00471	0,000114	0,00163
36,7	15	40,9	0,00656	0,00583	0,00530	0,000130	0,00234
41,6	12	45,0	0,00720	0,00537	0,00563	0,000139	0,00294
46,1	10	48,3	0,00772	0,00498	0,00582	0,000142	0,00346
48,9	9	50,1	0,00801	0,00476	0,00589	0,000146	0,00377
52,0	8	52,0	0,00833	0,00451	0,00595	0,000148	0,00411
55,6	7	54,2	0,00868	0,00423	0,00599	0,000149	0,00451
59,8	6	56,6	0,00906	0,00392	0,00560	0,000150	0,00497
65,1	5	59,4	0,00950	0,00356	0,00596	0,000149	0,00552
72,2	4	62,6	0,0100	0,00316	0,00587	0,000147	0,00618
81,2	3	66,5	0,0106	0,00269	0,00567	0,000143	0,00702
99,0	2	71,3	0,0114	0,00212	0,00529	0,000133	0,00832
122,7	1	78,4	0,0125	0,00138	0,00449	0,000114	0,00985

[29], czas $t_{1/2}$ (pojęcie analogiczne jak w teorii rozpadu promieniotwórczego, wprowadzone do opisu reakcji Hb z O_2 i z CO przez Millikana [22]) reakcji rozpadu hemoglobiny tlenkowęgłowej u owcy przy pH 7,4 i temperaturze 15°-20°C jest od 750 do 3000 razy dłuższy, niż analogiczna wielkość dla łączenia się Hb z CO. W temperaturze 37°C stosunek ten jest mniejszy, niemniej jednak znaczny.

Przy obliczaniu wartości y , m , n , p , q , z , odpowiadających pośrednim wartościom t , możemy się posłużyć wzorem interpolacyjnym Lagrange'a dla nierównych wartości argumentu. Jest on jednak dość kłopotliwy w użyciu i dlatego przyjmujemy, że w poszczególnych przedziałach funkcja rośnie logarytmicznie, tj. obliczamy dla każdego przedziału wartość l' ze wzoru

$$(32) \quad l'(t_2 - t_1)(b - a) = \ln \frac{b - y_2}{a - y_2} \cdot \frac{a - y_1}{b - y_1}$$

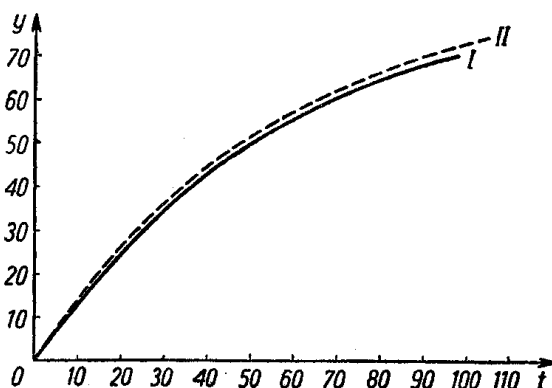
(ten związek jest całką równania reakcji jednocząsteczkowej $Hb + CO \rightarrow HbCO$).

Następnie znając l' dla badanego przedziału obliczymy y :

$$(33) \quad \frac{dy}{dt} = l'(a-y)(b-y),$$

$$(34) \quad y = \frac{a(b-y_1)e^{l'(b-a)(t-t_1)} - b(a-y_1)}{(b-y_1)e^{l'(b-a)(t-t_1)} - (a-y_1)}$$

(również całki tego równania dla $b > a$). W ten sposób obliczono wartości do tablicy 2 stanowiącej porównanie wyników doświadczeń z obliczeniami. Chcąc osiągnąć większą dokładność należy wyjść z tablicy, która będzie zawierała więcej wartości całki (17), niż tablica 1. Można również posłużyć się wykresem (rys. 1), który jednocześnie pozwala nam porównać wartość y znaną doświadczalnie (linia ciągła), z wartością obliczoną na podstawie całki (17) (linia przerywana).



ZM-287

Porównajmy teraz wartości całki (30) (y_4) ze znalezionymi doświadczalnie przez Gibsona (y_1), z obliczonymi na zasadzie teorii Hüfnera z całek równania (33) (y_2) dla $l' = l'_1:4$ oraz przy założeniu, że x równa się stałe $x'_0 = 0,02$ mM/l (y_3) — wzory Roughtona (4) dla stałego stężenia CO. Przedstawia nam to tablica 2.

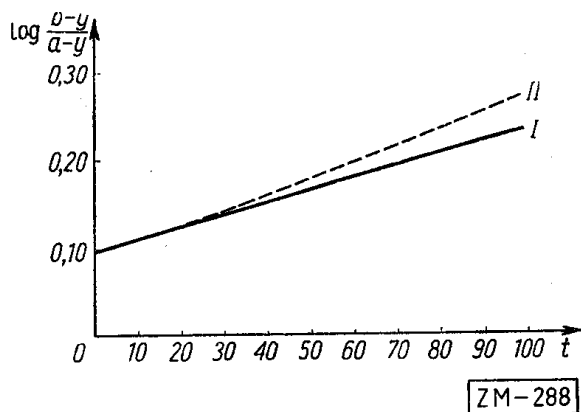
Rys. 1. Łączenie się 0,016 mM/l Hb ludzkiej z 0,02 mM/l CO (37°C, pH 7,1); y — zawartość hemoglobiny tlenowęglowej w procentach, t — czas w msec; wykres I — wartości znalezione doświadczalnie; II — wartości obliczone wg teorii Adaira

TABLICA 2

Łączenie się 0,016 mM/l hemoglobiny ludzkiej z 0,02 mM/l tlenku węgla w temperaturze 37°C i pH 7,1 ($l' = 8,0 \cdot 10^2$, $l'_1 = 3,2 \cdot 10^3$, $l'_4 = 6,4 \cdot 10^4$ mM⁻¹ sek⁻¹)

t (w msec)	y_1 (w %)	y_2 (w %)	y_3 (w %)	y_4 (w %)
14	17,4	18,6	20,6	19,1
28	32,6	32,3	38,9	33,7
42	44,1	38,8	54,8	45,3
56	53,0	49,6	67,4	54,4
70	60,0	55,7	77,2	61,7
84	65,3	62,1	84,3	67,3
98	69,6	64,8	89,9	71,1
Średni kwadrat odchylenia od wyników doświadczalnych		13,3	205,8	2,38

Z tablicy 2 widzimy od razu, że wartości y_3 nie zgadzają się z danymi doświadczalnymi (jest to zresztą zupełnie zrozumiałe, gdyż stężenie CO, które w danym przypadku jest tego samego rzędu co stężenie Hb, nie może być stałe przez cały czas trwania reakcji) i zgodnie z przewidywaniem otrzymujemy wartości za duże. Wartości y_2 (teoria Hüfnera) w początkowych okresach reakcji (powstaje wtedy głównie Hb_4CO) dość dobrze odpowiadają danym doświadczalnym, natomiast w miarę przebiegu reakcji



Rys. 2. Kryterium łańcuchowości reakcji hemoglobiny z tlenkiem węgla; wykres I — krzywa wynikająca z teorii Hüfnera; II — z teorii Adaira

coraz to bardziej od nich się odchylają (wartości za niskie), gdyż coraz więcej powstaje $\text{Hb}_4(\text{CO})_2$, $\text{Hb}_4(\text{CO})_4$. Zmiana wartości l' nie może tego usunąć, co najlepiej widać na rysunku 2 przedstawiającym $\log[(b-y_2)/(a-y_2)]$ i $\log[(b-y_4)/(a-y_4)]$ jako funkcje t .

Pierwsza funkcja jest funkcją liniową i zmiana wartości l' zmieni tylko kąt nachylenia jej wykresu względem osi t nie zmieniając jej kształtu, druga natomiast w miarę wzrostu t coraz

bardziej odchyła się od prostej, co doświadczalnie udowodnił Gibson [12]. Reakcja zatem hemoglobiny z CO nie może być reakcją jedno-stopniową, lecz łańcuchową.

Pozostaje odpowiedzieć na pytanie, dlaczego wartości y_4 nie zgadzają się ściśle z wartościami doświadczalnymi. Gibson, jak to sam podaje, nie oznaczył przed dodaniem CO w badanej hemoglobinie zawartości HbCO . Jak wiemy z badań Sjöstranda (według [12]), u każdego człowieka w związku z katabolizmem grup α -metylenowych $-\text{CH}_2-$ szkieletu porfirynowego, przy przemianie hemoglobiny na werdoglobinę, powstaje pewna ilość CO łącząca się natychmiast z hemoglobiną. Zawartość HbCO we krwi, po wyłączeniu pochodzenia egzogenicznego (tytoń, praca w atmosferze zawierającej większy odsetek CO) może być miarą szybkości rozpadu szkieletu porfirynowego w danym ustroju. U nałogowych palaczy tytoniu, u których zjawia się jeszcze egzogeniczny CO, zawartość HbCO we krwi może dochodzić do 7-10% (według [12]) — a do tych właśnie należał badany osobnik. Gibson twierdzi, iż gdyby dana krew w ogóle nie zawierała HbCO , stała l' równa $\frac{1}{4}l'_1$ wynosiłaby $7,94 \cdot 10^2 \text{ mM}^{-1} \text{ sek}^{-1}$, przy zawartości zaś 10% HbCO wynosiłaby $8,0 \cdot 10^2 \text{ mM}^{-1} \text{ sek}^{-1}$. Przechowanie jednak tych wartości, abstrahując już od wzoru cytowanego przez autora, w którym opuszczono znaki wartości bezwzględnej, tak że

w tej postaci wymaga on przegrupowania, wykazuje, iż pierwsza wartość wynosi nie $7,94 \cdot 10^2 \text{ mM}^{-1} \text{ sek}^{-1}$, lecz $7,368 \cdot 10^2 \text{ mM}^{-1} \text{ sek}^{-1}$, druga zaś $8,018 \cdot 10^2 \text{ mM}^{-1} \text{ sek}^{-1}$; różnica między nimi wynosi więc nie 1%, lecz około 10% ich wartości.

Dlatego też należy zmienić, przyjmując, iż krew osobnika nie zawierała HbCO, wartość l'_1 z $3,2 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ sek}^{-2}$ na $2,9742 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ sek}^{-1}$. Otrzymamy wówczas równanie

$$(35) \quad \frac{dz}{dt} = -3,05 \cdot 10^3 z^2 + 3,22 \cdot 10^3 z^{7/4} - 1,14 \cdot 10^3 z^{3/2} - 11,8z,$$

którego całką jest

$$(36) \quad t = 0,0317 - 0,781 \log z^{1/4} + 0,371 \log(z^{1/2} + 0,0285 z^{1/4} + 0,0103) + \\ + 0,0195 \log(z^{1/2} - 1,08 z^{1/4} + 0,391) - 0,0431 \arctg(9,96 z^{1/4} + \\ + 0,142) - 0,000695 \arctg(3,19 z^{1/4} - 1,73).$$

Orientacyjne obliczenia oparte na teorii Adaira z uwzględnieniem zmiany stężenia tlenu węgla w toku reakcji, przedstawiono w tablicy 3.

TABLICA 3

Łączenie się 0,016 mM/l hemoglobiny ludzkiej
z 0,02 mM/l tlenu węgla w temperaturze 37°
i pH 7,1 ($l'_1 = 2,9742 \cdot 10^3$, $l'_4 = 6,4 \cdot 10^4 \text{ mM}^{-1} \text{ sek}^{-1}$)

t msek	z (w %)	y (w %)
13,0	50	16,2
51,6	10	48,3
72,8	5	58,6

Zgodność więc w początkowej części reakcji jest lepsza, natomiast wymaga korekcji również wartość l'_4 . Korygując w ten sposób zgodnie z wynikami doświadczenia wartości stałych otrzymujemy znacznie lepszą zgodność z danymi doświadczalnymi. Jednocześnie, ponieważ przy tej konkretnej całce (a nie wzorach ogólnych wyprowadzonych poprzednio) opieraliśmy się na hipotezie częściowej statystyczności reakcji, mamy kryterium, wskazujące o ile ta hipoteza odpowiada rzeczywistości.

W podobny sposób możemy posłużyć się wyprowadzonymi wzorami do ilościowego przedstawienia doświadczeń nad reakcją z tlenkiem węgla hemoglobin: owcy (0,06 mM/l dla CO = 0,1 mM/l) w temperaturze 21° i pH 10 (Roughton [29]); wołu (Hb = 1,4 mM/l, CO = 1,0 mM/l) w temperaturze 20° w buforze bornym (Bateman [5]) i znów owcy przy pH 8,6 i w temperaturze 22° (Millikan [22]), oraz innych podobnych eksperymentów [19].

PRZYKŁAD 2. *Reakcja hemoglobiny z tlenem.*

Zajmę się tu doświadczeniami Hartridge'a i Roughtona [15] dotyczącymi reakcji hemoglobiny owcy, rozcieńczonej roztworem siarczku amonu, z tlenem w temperaturze pokojowej i pH 10-11. W oryginalnej pracy autorów mamy po pierwsze tablicę (tablica IV w pracy [15]), zawierającą rezultaty doświadczeń, w tym pH z hemoglobinami pochodzącymi od 3 różnych zwierząt, gdzie wynik doświadczenia przedstawiono tylko jedną liczbą — stałą k' , po drugie wykres dla tej samej temperatury i pH, bez podania jednak, jakich stężeń wyjściowych hemoglobiny i tlenu on dotyczy, oraz z którego zwierzęcia krew pobrano. Kontrola początkowych (a także końcowych) części wykresu za pomocą wzorów wyprowadzonych przez autorów w oparciu na teorii Hünfnera, wykazuje, iż krzywa ta nie dotyczy żadnego z doświadczeń uwzględnionych w tablicy.

Dlatego też posłużę się tutaj jednymi ze stężeń używanych przez autorów ($\text{Hb} = 0,157 \text{ mM/l}$, $\text{CO} = 0,151 \text{ mM/l}$), przy czym wykażę tylko, iż obliczona szybkość reakcji jest tego samego rzędu, co szybkości reakcji uwzględnionych w tabeli, bez pretensji do doskonałej zgodności (brak dokładnych danych). Cytowane doświadczenia przeprowadzono w temperaturze 13°C i pH 10 z krwią zwierzęcia oznaczonego cyfrą II. Wynik ujęto w tabeli stałą k' — dlatego też nie znając żadnych innych stałych (w szczególności stałej k szybkości rozpadu oksyhemoglobiny) posłużę się stałymi wyprowadzonymi przez Roughtona [34] w podobnych warunkach (temp. 19°C , pH 9,3). Reakcja bowiem łączenia się hemoglobiny z tlenem tylko w małym stopniu zależy od temperatury i pH, natomiast większe są różnice osobnicze (Hartridge i Roughton [15]).

Stałe te wynoszą:

$$(37) \quad \begin{aligned} k'_1 &= 24, & k'_2 &= 18, & k'_3 &= 12, & k'_4 &= 106 & (\text{w } \text{mmHg}^{-1} \text{ sek}^{-1}), \\ k_1 &= 75, & k_2 &= 150, & k_3 &= 225, & k_4 &= 12 & (\text{w } \text{sek}^{-1}) \end{aligned}$$

(w oryginalnym tekście — [34] — Roughton podaje mylnie $k_4 = 120$, przy czym $k'_4:k_4 = 8,8 \text{ mmHg}^{-1}$).

Stałe te nie zostały wyprowadzone bez zarzutu. Autor badał wielomian złożony z wyrazów — funkcji wykładniczych (wzór (10) na y dla reakcji Hb z O_2 przy stałym stężeniu tlenu). Po otrzymaniu przez odpowiedni dobór stałych przebiegu zgodnego z wynikiem doświadczenia mnoży *ad hoc* wszystkie stałe wyprowadzone na tej drodze przez pewną liczbę, co jest zupełnie błędne, ponieważ wielomian nie jest funkcją jednorodną stałych k'_1, k'_2, k'_3, k'_4 . Dlatego też stałe wyprowadzone na tej drodze można przyjąć tylko jako pierwsze przybliżenie, praktycznie nawet

dość udale, gdyż krzywa dyssocjacji oksyhemoglobiny wyprowadzona na ich podstawie zgadza się w pewnych granicach z krzywą doświadczalną — stałe równowagi wynoszą:

$$(38) \quad K_1 = k'_1/k_1, \quad K_2 = k'_2/k_2, \quad K_3 = k'_3/k_3, \quad K_4 = k'_4/k_4.$$

Stałe te wprowadzono dla posługiwania się jako jednostką stężenia 1 mmHg/l, czyli 1 torricellim na litr. Jako 1 mmHg/l (1 T/l) hemoglobiny określa się takie jej stężenie, które wiąże całkowicie rozpuszczony w 1 litrze roztworu tlen o ciśnieniu w fazie gazowej, pozostającej w równowadze z fazą ciekłą, wynoszącym 1 mmHg po sprowadzeniu do warunków normalnych.

Mamy oczywiście

$$(39) \quad p = \frac{760 \cdot 22,4}{35,59} c,$$

gdzie 35,59 — współczynnik adsorpcji tlenu przez wodę w temperaturze 13°C, przedstawiający ilość ml O₂ (warunki normalne) rozpuszczającą się pod ciśnieniem 1 atm w litrze wody; 22,4 — objętość 1 mola; gaz w warunkach normalnych wyrażona w litrach; p — ciśnienie danego składnika w mmHg; c — jego stężenie w milimolach na litr. Stąd stężenia wyjściowe wynoszą

$$\text{Hb} = 75,0983 \text{ mmHgl}^{-1}, \quad \text{O}_2 = 72,2283 \text{ mmHgl}^{-1}.$$

Ponieważ również i w tym przypadku, jak to wynika z definicji, stężenie tlenu mierzy się jednostką czterokrotnie większą niż stężenie hemoglobiny, należy ostatnie z równań (27) pomnożyć przez $\frac{1}{4}$.

Tablica 4 przedstawia zmiany w czasie z , m , n , p , q , y obliczone z równań (27) metodą Rungego i Kutty. Wartości te mieszczą się w granicach znalezionych doświadczalnie przez Hartridge'a i Roughtona dla pH 10.

Tablica ta ma tylko charakter orientacyjny i z tego względu przy jej wyznaczaniu wzięto dość duży przedział h . Początkowe 4 wartości znaleziono metodą Rungego i Kutty przyjmując krok równy 0,00005''. Następne wartości znaleziono przedłużając rozwiązanie wzorami ekstrapolacyjnymi Newtona.

Przyjmowano przy tym:

krok 0,00005''	aż do osiągnięcia	0,0005',
„ 0,0001''	„ „ „	0,0018',
„ 0,0002''	„ „ „	0,006',
„ 0,001''	powyżej	0,006'.

TABLICA 4

Łączenie się hemoglobiny owcy z tlenem w temperaturze pokojowej i pH alkalicznym
(t w sek, z, m, n, p, q, x, y i y_1 w mmHg)

t	z	m	n	p	q	x	y	y_1
0	75,10	0	0	0	0	72,23	0	0
0,00005	69,0	5,96	0,19	0,0015	0,0006	70,6	1,59	1,55
0,00010	63,5	10,9	0,71	0,015	0,003	69,1	3,11	3,12
0,00015	58,5	15,1	1,50	0,047	0,014	67,7	4,56	4,58
0,00020	54,1	18,6	2,40	0,096	0,040	66,3	5,95	5,98
0,00025	50,0	21,4	3,46	0,16	0,085	65,0	7,28	6,95
0,00030	46,4	23,8	4,59	0,25	0,17	63,7	8,57	8,62
0,00040	40,1	27,2	6,96	0,44	0,40	61,2	11,0	11,1
0,00050	34,9	29,5	9,34	0,67	0,75	59,3	13,0	13,0
0,0006	30,6	30,9	11,6	0,89	1,24	57,1	15,1	15,4
0,0007	22,9	31,6	13,7	1,13	1,84	55,1	17,1	17,4
0,0008	23,8	31,8	15,6	1,34	2,55	53,2	19,0	19,2
0,0010	19,0	31,2	18,9	1,74	4,26	49,8	22,4	22,5
0,0012	15,5	30,0	21,4	2,05	6,19	46,9	25,6	25,4
0,0014	12,8	28,5	23,1	2,30	8,26	43,9	28,3	28,0
0,0016	10,8	27,0	24,4	2,48	10,4	41,4	30,8	30,3
0,0018	9,30	25,5	25,1	2,61	12,6	39,1	33,1	32,4
0,0020	8,09	24,1	25,6	2,70	14,7	37,1	35,1	34,2
0,0024	6,34	21,6	25,7	2,78	18,7	33,6	38,7	37,5
0,0028	5,19	19,5	25,2	2,77	22,4	30,6	41,6	40,2
0,0032	4,41	17,8	24,4	2,72	25,7	28,2	44,1	42,5
0,0036	3,85	16,5	23,5	2,64	28,6	26,1	46,1	44,5
0,0040	3,45	15,4	22,4	2,55	31,3	24,3	47,9	46,2
0,0044	3,15	14,5	21,4	2,46	33,6	22,8	49,4	47,7
0,0048	2,93	13,7	20,4	2,36	35,7	21,5	50,8	49,0
0,0052	2,76	13,0	19,4	2,27	37,6	20,3	51,9	50,1
0,0056	2,63	12,5	18,5	2,19	39,3	19,3	52,9	51,2
0,0060	2,53	12,0	17,6	2,10	40,8	18,4	53,8	52,1
0,007	2,43	11,5	15,7	1,92	44,0	16,6	55,7	54,0
0,008	2,34	10,4	14,1	1,80	46,5	15,1	57,1	55,4
0,009	2,28	9,77	12,7	1,70	48,6	13,9	58,3	56,6
0,010	2,27	9,30	11,6	1,53	50,3	13,0	59,3	57,6
0,012	2,28	8,59	9,85	1,45	52,9	11,5	60,7	59,0
0,014	2,32	8,01	8,60	1,23	54,9	10,5	61,8	59,9
0,016	2,36	7,58	7,55	1,48	56,0	9,70	62,5	60,6
0,018	2,40	7,20	6,84	1,44	57,3	9,07	63,2	61,1
0,020	2,45	6,90	6,28	1,29	58,2	8,57	63,7	61,4
0,022	2,47	6,66	5,82	1,23	58,9	8,17	64,1	61,7
0,025	2,52	6,34	5,28	1,05	60,3	7,58	64,6	62,0
∞	2,74	5,22	3,73	1,18	62,2	5,95	66,3	62,4

Z tabeli widać, iż podobnie jak przy łączeniu się Hb z CO połączenia zawierającego 3 cząsteczki gazu w jednej drobinie, w tym przypadku Hb_4O_6 , jest w ciągu całego badanego okresu reakcji mało, ilość jego nie

przekracza 4% ogólnej ilości $\text{Hb} + \text{HbO}_2 = a$. Wywołane jest to, podobnie jak i przy tlenku węgla, małą stałą k'_3 , a stosunkowo dużą k'_4 , a także w tym przypadku k_3 . Wielkości m , n , p , podobnie jak i przy HbCO , rosną do pewnego maksimum, po czym maleją, q stale rośnie — natomiast w odróżnieniu od poprzedniej reakcji z przed osiągnięciem swej wartości granicznej maleje nieznacznie poniżej granicy, po czym znów rośnie. Czy taki przebieg reakcji wynikał ze zbyt dużego przedziału całkowania i sumujących się błędów, podobnie jak nieregularne wahania p pod koniec reakcji, trudno powiedzieć. Dokładniejsze wartości można by uzyskać zmniejszając przedział całkowania — co wymagałoby, ze względu na dużą ilość operacji rachunkowych, użycia maszyn do rozwiązywania równań różniczkowych.

Wielkości z , m , n , p , q , y , x dążą do pewnych wartości granicznych, które możemy znaleźć ze wzoru

(40)

$$\frac{y}{z_0} = \frac{[K_1 K_2 K_3 K_4 (p-y)^4 + \frac{3}{4} K_1 K_2 K_3 (p-y)^3 + \frac{1}{2} K_1 K_2 (p-y)^2 + \frac{1}{4} K_1 (p-y)]}{K_1 K_2 K_3 K_4 (p-y)^4 + K_1 K_2 K_3 (p-y)^3 + K_1 K_2 (p-y)^2 + K_1 (p-y) + 1}$$

gdzie p oznacza ciśnienie O_2 na początku reakcji, K_1 , K_2 , K_3 , K_4 stałe równowagi określone we wzorze (38).

Równanie to rozwiążemy na drodze numerycznej i znajdujemy

$$(p-y)_\infty = x_\infty = 5,95 \text{ mmHg l}^{-1}, \quad q_\infty = 62,2186 \text{ mmHg l}^{-1},$$

$$p_\infty = 1,1835 \text{ mmHg l}^{-1}, \quad n_\infty = 3,7295 \text{ mmHg l}^{-1},$$

$$m_\infty = 5,2234 \text{ mmHg l}^{-1},$$

$$z_\infty = 2,7433 \text{ mmHg l}^{-1}, \quad y_\infty = 66,28 \text{ mmHg l}^{-1}.$$

Oczywiście znalezionych na tej drodze wartości nie należy traktować jako granicy, przy której wszelka reakcja ustaje — reakcja toczy się dalej z równą szybkością w obu kierunkach. I tak w każdym ml roztworu w ciągu sekundy $k'_1 z_\infty x_\infty \text{ mmHg Hb}_4$, tj. $1,233 \cdot 10^{17}$, cząsteczek ulega zamianie na Hb_4O_2 i tyleż cząsteczek Hb_4O_2 ulega z powrotem rozpadowi do Hb_4 ; $1,760 \cdot 10^{17}$ cząsteczek Hb_4O_2 zamienia się na Hb_4O_4 i taka sama jest szybkość reakcji odwrotnej; $0,83784 \cdot 10^{17}$ cząsteczek Hb_4O_4 ulega zamianie na Hb_4O_6 i *vice versa*; $2,348 \cdot 10^{17}$ cząsteczek Hb_4O_6 utlenia się do Hb_4O_8 i tyleż cząsteczek Hb_4O_8 ulega z powrotem redukcji. Podam, iż w każdym ml roztworu znajduje się $0,19352 \cdot 10^{17}$ cząsteczek hemoglobiny łącznie z oksyhemoglobina, każda więc cząsteczka bierze

udział w każdej z kolejnych reakcji co najmniej kilkakrotnie w ciągu sekundy. Równowagę tę należy traktować więc nie jako statyczną, lecz jako dynamiczną, i to taką, do której układ zbliża się nieograniczenie.

W tabelicy 4 uwzględniono poza tym wartości y dla reakcji przebiegającej według teorii Hűfnera. Posłużono się całą równania

$$(41) \quad \frac{dy}{dt} = k'(z_0 - y)(x_0 - y) - k(y_0 + y),$$

przy czym zamiast całkować to równanie graficznie, jak to uczynili Hartridge i Roughton [15], posłużono się gotowym wzorem

$$(42) \quad y = \frac{y_1 y_0 (1 - e^{k'/v_1 - v_2/t})}{y_2 - y_1 e^{k'/v_1 - v_2/t}},$$

gdzie

$$2k'y_1 = k'z_0 + k'x_0 + k + \sqrt{k'^2(z_0 - x_0)^2 + 2k'k(z_0 + x_0) + k^2 + 4k'ky_0},$$

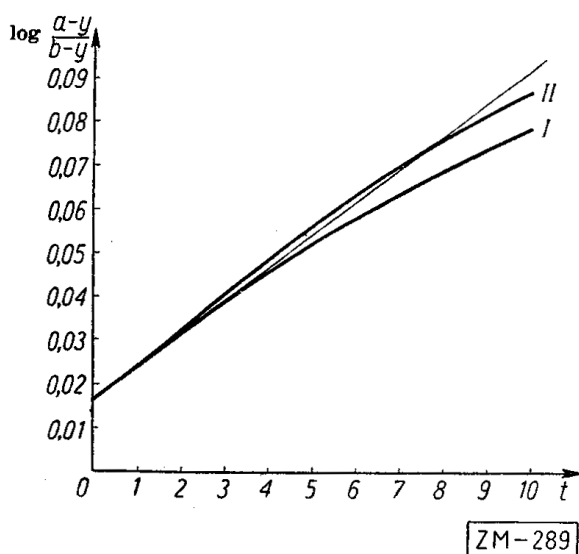
$$2k'y_2 = k'z_0 + k'x_0 + k - \sqrt{k'^2(z_0 - x_0)^2 + 2k'k(z_0 + x_0) + k^2 + 4k'ky_0}.$$

Zgodnie z nowszymi osiągnięciami Roughtona [34], przyjęto $k' = k'_1/4 = 6$, a nie 6,5, jak to pierwotnie przyjmował Roughton. Widzimy, iż układ

dąży w tym przypadku do stanu równowagi wynikającego z hiperbolicznej, a nie esowatej, krzywej dysocjacji oksyhemoglobiny, przy czym stan równowagi leży znacznie niżej: $z_\infty = 12,595 \text{ mmHg l}^{-1}$, $x_\infty = 9,825 \text{ mmHg l}^{-1}$, $y_\infty = 62,403 \text{ mmHg l}^{-1}$.

Różnicę między przebiegiem reakcji według teorii Hűfnera (krzywa I) i według teorii Adaira (krzywa II) widać najwyraźniej na rysunku 3, przedstawiającym zależność między $\log[(a-y)/(b-y)]$ a t .

Z teorii Hűfnera wynika, iż wielkość ta początkowo będzie przebiegała prostoliniowo, później zaś, w miarę coraz



Rys. 3. Reakcja hemoglobiny z tlenem: wykres I — krzywa dla wzorów wynikających z teorii Hűfnera; II — z teorii Adaira

to większego nasilania się procesu rozpadu oksyhemoglobiny, będzie odchylała się, jak to widać na wykresie, ku dołowi; natomiast przy przebiegu łańcuchowym reakcji wzrost tego wyrażenia jest w począt-

kowej części krzywej coraz to szybszy. Zgadza się to z wynikami doświadczeń Roughtona [34], który stwierdził, że wielkość k' rośnie w miarę trwania reakcji.

Pozostaje do rozważenia jeszcze jedno zagadnienie. W chwili obecnej nie umiemy mierzyć stężeń składowych z , m , n , p , q , potrafimy tylko zmierzyć stężenie y i ewentualnie x . Hipoteza częściowej statystyczności reakcji Roughtona jest przypuszczalnie tworem sztucznym, gdyż bardzo prawdopodobnym wydaje się, że nie tylko obecność trzech utlenowanych grup hemowych w cząsteczce hemoglobiny wpływa na reaktywność czwartej, ale również obecność dwu, a nawet tylko jednej utlenowanej grupy (steric hindrance effect Paulinga). W świetle tego proporcje $k'_1:k'_2:k'_3 = 4:3:2$ i $k_1:k_2:k_3 = 1:2:3$ wydają się tworem sztucznym, ułatwiającym nam tylko operacje rachunkowe. Powyżej przedstawione wzory wyprowadzono w oparciu na teorii Adaira — z teorii częściowej statystyczności reakcji korzystano tylko w końcowych partiach pracy dla uproszczenia rachunków. W świetle powyższego wydaje się prawdopodobne, że po znalezieniu metody mierzenia stężenia Hb_4O_6 , choćby tylko w stanie równowagi, będzie można wypowiedzieć się co do słuszności teorii częściowej statystyczności reakcji.

Reakcję hemoglobiny z tlenem zbadano dotychczas w dostępnych mi źródłach w roztworach rozcieńczonych. Wobec wolniejszego przebiegu reakcji odpada wtedy konieczność wyznaczania współczynników aktywności, ponadto można stosować prostsze metody optyczne. W tych jednak roztworach hemoglobina jest nietrwała i nie może istnieć przez czas dłuższy poniżej 20°C (Forbès i Roughton [10], [11]). Dawniejsze metody wymagały dużych ilości krwi (metoda spektroskopu rewersyjnego wymaga około $\frac{1}{2}$ litra krwi do jednego oznaczenia). Postęp techniki doświadczalnej umożliwił Gibsonowi [12] wykonać badania na mniejszych ilościach krwi ludzkiej (20 ml) w temperaturze 37°C. Badania te jednak, przynajmniej w dostępnym mi piśmiennictwie, są niekompletne i nie pozwalają na wyznaczenie stałych.

§ 5. Dalsze uogólnienia. Jak wiemy, cząsteczka hemoglobiny może podlegać nie tylko utlenowaniu (powstawanie oksyhemoglobiny), lecz również i utlenieniu, przy którym powstają związki żelaza trójwartościowego — methemoglobiny — zwane obecnie *hemiglobinami* (analogia do żelazocyjanków i żelazicyjanków chemii nieorganicznej). Hemoglobina reaguje również z wieloma innymi związkami: fluorkami, azydami, cyjankami, siarkowodorem (werdoglobina S), kwasem azotowym (werdoglobina NO₂). Również i hemiglobiny reagują z różnymi połączeniami, np. z nadtlentkami, tworząc peroksydomethemoglobinę, z dwutlenem tworząc choleglobinę. O ile przebieg reakcji prowadzących do powstania hemiglobiny

znamy już dość dokładnie, to badania nad reakcjami hemoglobinu i hemoglobinu z innymi związkami są tylko fragmentaryczne, głównie spektralne, a więc wykonane metodą nie obrazującą, jak już wspomniałem, łańcuchowości reakcji hemoglobiny. Nie wiemy, czy w czterohebowej cząsteczce hemoglobiny reaguje przy tym tylko jeden hem, czy więcej. Wszelkie rozważania dotyczące kinetyki tych reakcji są więc przedwczesne.

Rozważania te mają obok znaczenia ściśle teoretycznego również i praktyczne. Mogą one pomóc w wyjaśnieniu jak działają na hemoglobinę czynniki szkodliwe w pracy zawodowej. Wyniki tych rozważań mogą być przydatne również w praktycznej medycynie, np. do obliczenia czasu przepływu krwi przez kapilary płucne (Roughton według [4]).

Bardzo dziękuję prof. Tadeuszowi Ważewskiemu, prof. Jerzemu Kaulberszowi, prof. Julianowi Perkalowi, dr Zdzisławowi Opiałowi i mgr Franciszkowi Szczotce za przeglądnięcie pracy i cenne uwagi.

Prace cytowane

- [1] G. S. Adair, *Comparison of osmotic pressures of oxyhaemoglobin, reduced haemoglobin and methaemoglobin*, J. Phys. 58 (1924), str. 66.
- [2] — *A critical study of the direct method of measuring of the osmotic pressure of haemoglobin*, Proc. Roy. Soc. A. 108 (1925), str. 627.
- [3] — *Measurements of osmotic pressure of haemoglobin*, Haemoglobin, London 1949.
- [4] W. M. Arnott, *Order and disorder in pulmonary function*, Brit. Med. Journ. 1955, str. 279-284, 339-342.
- [5] J. B. Bateman, F. J. W. Roughton, *The time course of the heat effect in rapid chemical changes. I. Improved apparatus and methods. II. The reaction of haemoglobin with oxygen and carbon monoxide*, Bioch. Journ. 29(1935), str. 2662.
- [6] Ch. Bohr, *Blutgase und respiratorischer Gaswechsel*, Nagel Handbuch der Physiologie I, Braunschweig 1905.
- [7] W. E. L. Brown, A. V. Hill, *The oxygen dissociation curve and its thermodynamical basis*, Proc. Roy. Soc. B. 94 (1923), str. 297.
- [8] D. G. Dervichian, S. Fournet, A. Guinier, *An X-ray investigation of haemoglobin and haemocyanin in aqueous solution*, Haemoglobin, London 1949.
- [9] W. H. Forbès, F. J. W. Roughton, *The equilibrium between oxygen and haemoglobin. I. The oxygen dissociation curve of diluted blood solution*, J. Phys. 71 (1931), str. 229-256.
- [10] — *The equilibrium between oxygen and haemoglobin. II. The oxygen dissociation curve of diluted solutions of horse haemoglobin*, J. Phys. 71 (1931), str. 261-267.
- [11] Q. H. Gibson, F. J. W. Roughton, *The effect of temperature and p-mercuribenzoic acid on the reaction $\text{Hb}_4\text{O}_8 \rightarrow \text{Hb}_4\text{O}_6 + \text{O}_2$* , J. Phys. 122 (1953), str. 45-46.
- [12] Q. H. Gibson, F. Kreuzer, E. Meda, F. J. W. Roughton, *The kinetics of human haemoglobin in solution and in the red blood corpuscle at 37°C*, J. Phys. 129 (1955), str. 65.
- [13] H. Hartridge, F. J. W. Roughton, *The velocity with which carbon monoxide displaces oxygen from its combination with haemoglobin*, Proc. Roy. Soc. B. 94 (1923), str. 336.

- [14] — *The kinetics of haemoglobin. II. The velocity with which oxygen dissociates from its combination with haemoglobin*, Proc. Roy. Soc. A. 104 (1925), str. 395.
- [15] — *The kinetics of haemoglobin. III. The velocity with which oxygen combines with reduced haemoglobin*, Proc. Roy. Soc. A. 107 (1925), str. 654-683.
- [16] — *The rate of distribution of dissolved gases between the red blood corpuscle and its fluid environment. I. Preliminary experiments on the rate of uptake of oxygen and carbon monoxide by sheep corpuscles*, J. Phys. 58 (1924), str. 66.
- [17] R. Hill, H. P. Wolvecamp, *The oxygen dissociation curve of haemoglobin in dilute solution*, Proc. Roy. Soc. B. 120 (1936), str. 484.
- [18] E. M. Killick, *Combination of carbon monoxide with sheep foetal haemoglobin*, J. Phys. 127 (1955), str. 47-53.
- [19] J. W. Legge, F. J. W. Roughton, *Some observations on the kinetics of the haemoglobin in solution and in the red blood corpuscle*, Bioch. J. 47 (1950), str. 43.
- [20] G. Liljestrand, *Physiologie der Blutgase*, Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Berlin 1928, t. VI, cz. I.
- [21] G. A. Millikan, *A simple photo-electric colorimeter*, J. Phys. 79 (1933), str. 152-157.
- [22] — *The kinetics of bloods pigments haemocyanin and haemoglobin*, J. Phys. 158 (1933), str. 199.
- [23] — *The kinetics of muscle haemoglobin*, Proc. Roy. Soc. B. 120 (1936), str. 366.
- [24] P. Nicolson, F. J. W. Roughton, *A theoretical study of the influence of diffusion and chemical reactions velocity on the rate of exchange of carbon monoxide and oxygen between the red blood corpuscle and the surrounding fluid*, Proc. Roy. Soc. B. 138 (1951), str. 241.
- [25] W. Paul, F. J. W. Roughton, *The bottom of oxyhaemoglobin dissociation curve of diluted sheep blood*, J. Phys. 109 (1949), str. 3.
- [26] R. M. F. Perutz, *Recent developments in the X-ray study of haemoglobin*, Haemoglobin, London 1949.
- [27] F. J. W. Roughton, *Diffusion and chemical reaction velocity as joint factors in determining the rate of uptake of oxygen and carbon monoxide by the red blood corpuscle*, Proc. Roy. Soc. B. 111 (1932), str. 1.
- [28] — *The kinetics of haemoglobin. IV. General methods and the theoretical basis for the reactions with carbon monoxide*, Proc. Roy. Soc. B. 115 (1934), str. 451.
- [29] — *The kinetics of haemoglobin. V. Combination of carbon monoxide with reduced haemoglobin*, Proc. Roy. Soc. B. 115 (1934), str. 464.
- [30] — *The kinetics of haemoglobin. VI. Competition of carbon monoxide and oxygen for the haemoglobin*, Proc. Roy. Soc. B. 115 (1934), str. 473.
- [31] — *The kinetics of haemoglobin. VII. Some notes on the reactivity of freshly reduced haemoglobin*, Proc. Roy. Soc. B. 115 (1934), str. 495.
- [32] — *Thermochemistry of the oxygen and haemoglobin. I. Direct measurements of the heat of reaction under various conditions*, Bioch. J. 29 (1925), str. 2604-2621.
- [33] — *The intermediate compound hypothesis in the relation to the equilibria and the kinetics of the reactions of haemoglobin with oxygen and carbon monoxide*, Haemoglobin, London 1949.
- [34] — *The equilibrium between carbon monoxide and haemoglobin at very high percentage saturations*, J. Phys. 126 (1954), str. 359.
- [35] F. J. W. Roughton, J. W. Legge, P. Nicolson, *The kinetics of haemoglobin in solution and the red blood corpuscle*, Haemoglobin, London 1949.

[36] T. Svedberg, R. Fahraeus, *A new method for the determining of the molecular weight of proteins*, The Journ. of the Am. Chem. Soc. 48 (1926), str. 430.

[37] F. Haurowitz, *The bound between haem and globin*, Haemoglobin, London 1949.

II KLINIKA CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH AKADEMII MEDYCZNEJ w KRAKOWIE
(kierownik — prof. dr T. Tempka)

Praca wpłynęła 21. 5. 1958

T. СТРУЗИК (Краков)

ТЕЧЕНИЕ РЕАКЦИИ ГЕМОГЛОБИНА С КИСЛОРОДОМ И УГЛЕКИСЛЫМ ГАЗОМ С МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ТОЧКИ ЗРЕНИЯ

РЕЗЮМЕ

Автор решает методом симметрических составляющих систему дифференциальных уравнений представляющую собой скорость реакции возникновения оксигемоглобина; система дифференциальных уравнений получена на основании принципа Гульдберга и Ваага и теории промежуточных связей Адайра. Выражения для $[Hb_4O_2]$, $[Hb_4O_4]$, $[Hb_4O_6]$, $[Hb_4O_8]$, $[O_2]$ представлены в виде функций от $[Hb_4]$. Далее рассматриваются некоторые частные интегралы системы и приводятся практические методы нахождения насыщенности в функции времени.

Далее автор показывает, что операторные методы можно применять для решения системы дифференциальных уравнений, представляющих течение реакции образования и одновременного распада оксигемоглобина, если насыщенность O_2 является практически постоянной, т. е. $[O_2] \gg [Hb + HbO_2]$. Если же этого упрощения применить нельзя, то система дифференциальных уравнений решается методом Рунге-Кутты.

Аналогичные методы применяются в случае реакции Hb с CO.

Автор приводит примеры применения выведенных методов для анализа опытов опубликованных различными авторами.

T. STRUZIŁ (Kraków)

MATHEMATICAL TREATMENT OF THE KINETICS OF THE REACTION OF HAEMOGLOBIN WITH OXYGEN AND WITH CARBON MONOXIDE

SUMMARY

The author solves by the method of symmetrical components the differential equations of the formation of HbO_2 , derived on the basis of Guldberg and Waage's principle and Adair's intermediate compounds hypothesis. He der-

ives the expressions for $[\text{Hb}_4\text{O}_2]$, $[\text{Hb}_4\text{O}_4]$, $[\text{Hb}_4\text{O}_6]$, $[\text{Hb}_4\text{O}_8]$, and $[\text{O}_2]$ in the terms of $[\text{Hb}_4]$. Then he discusses some particular integrals of the equations and gives a practical method to find the concentrations as functions of time.

He points out that the operator method may be used for the solution of the differential equations of the formation of oxyhaemoglobins and their simultaneous dissociation when O_2 is practically constant, *i. e.* $[\text{O}_2] \gg [\text{Hb} + \text{HbO}_2]$. If we cannot make this simplification the equations may be solved by Runge-Kutta's method.

He employs analogous methods for the reaction of Hb with CO.

He gives examples of the application of his methods to the analysis of experiments published by other authors.
