

Глава 1

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ТЕРМОДИНАМИКА

Важнейшее свойство живых организмов заключается в их способности улавливать, преобразовывать и запасать энергию в различных формах. Общие законы, определяющие превращения энергии, изучаются термодинамикой.

Законы термодинамики универсальны для неживой и живой природы, но, формулируя их, мы не исследуем конкретной сущности процессов, происходящих при нагревании воды или при развитии эмбриона. Термодинамика наука феноменологическая (от слова «феномен» — явление).

Феноменологические теории, в отличие от атомно-молекулярных, изучают закономерности, не связанные с конкретной структурой вещества.

Любую часть окружающего нас мира, которую мы хотим исследовать и описать с позиций термодинамики, называют системой. В качестве примера интересующих нас термодинамических систем можно назвать клетку, митохондрию, сердце, организм, биосферу. Следует, однако, отметить, что методы термодинамики приложимы только к макроскопическим системам, состоящим из большого числа частиц. Система, которая не может обмениваться со средой ни энергией, ни веществом, называется изолированной, если происходит обмен только энергией, то система называется замкнутой, а если и энергией и веществом — открытой. Живой организм в целом система открытая. И лишь в отдельных частях клетки могут существовать условия, характерные для замкнутой и даже изолированной системы. Рассматривая применение законов термодинамики к биологическим проблемам, нам придется напомнить некоторые понятия и уравнения, известные из курса физической химии.

1.1. Первый и второй законы термодинамики

Согласно первому закону термодинамики, различные виды энергии могут переходить друг в друга, но при этих превращениях энергия не исчезает и не появляется из ничего. Это означает, что для замкнутой системы $\Delta U = \Delta Q - W$, где ΔU — изменение внутренней энергии системы; ΔQ — тепло, поглощенное системой; W — работа, совершенная системой над ее окружением.

Внутренняя энергия отличается от теплоты и работы тем, что она всегда меняется одинаково при переходе из одного состояния в другое независимо от пути перехода.

Применимость первого закона термодинамики к живым системам была продемонстрирована в начале этого века Рубнером. В серии работ с микроорганизмами Рубнер показал, что энергия, поступающая в бактерии с пищей, разделяется в процессе потребления на две части: 1) выделяющуюся в среду в виде тепла и энергии, содержащейся в продуктах жизнедеятельности; 2) запасаемую в клеточном материале (эта энергия выявляется с помощью сжигания объектов в калориметрической бомбе). Сумма этих двух частей равна

внутренней энергии поступающей пищи. Аналогичные экспериментальные подтверждения первого начала термодинамики были получены Этуотером при изучении теплового баланса человека с помощью калориметра, представляющего собой изолированную камеру, куда помещался человек.

Изменение тепловой энергии ΔQ изолированной системы пропорционально абсолютной температуре (T); коэффициент пропорциональности называется изменением энтропии (ΔS): $\Delta Q = T\Delta S$. Согласно второму закону термодинамики, энтропия изолированной системы возрастает в необратимом процессе и остается неизменной в обратимом процессе. Рост энтропии при самопроизвольных процессах означает переход системы, состоящей из большого числа молекул, в более вероятное состояние. Для характеристики систем, состоящих из большого числа частиц, используется понятие термодинамической вероятности ω . Термодинамическая вероятность равна числу микросостояний, которыми может быть обеспечено данное макросостояние. Для примера рассмотрим, сколько микросостояний может иметь система, в которой 4 молекулы: a, b, v, z — распределяются по разные стороны мембраны. Каждому макросостоянию системы соответствует своя термодинамическая вероятность. Например, макросостоянию 2/2, в котором по каждую сторону мембраны находятся по две молекулы, соответствуют 6 микросостояний ($\omega = 6$): $ab/vz, av/bz, az/bv, vz/ab, bz/av, bv/az$. Аналогично можно подсчитать термодинамическую вероятность других макросостояний:

Макросостояние:	0/4	1/3	2/2	3/1	4/0
ω	1	4	6	4	1

Видно, что для макросостояния 2/2 число микросостояний ω максимально и равно 6.

Совершенно ясно, что система в каждый данный момент времени вероятнее всего окажется в состоянии с максимальным ω , т. е. состоянии 2/2. И поэтому самопроизвольные процессы будут идти в сторону этого макросостояния. Сравнительно нетрудно показать, что между величиной w и энтропией существует соотношение

$$S = k \ln w, \quad (1.1)$$

где k — постоянная Больцмана.

Это соотношение означает, что энтропия есть мера неупорядоченности системы: стремление энтропии к росту связано с тенденцией системы перейти в состояние с большей термодинамической вероятностью, т.е. менее упорядоченное. Примеры перехода систем в наиболее вероятное состояние показаны на рис. 1.

Из второго закона термодинамики следует невозможность превратить при постоянной температуре тепловую энергию в механическую работу. Работа

связана с однонаправленным перемещением тел (зарядов и масс), т.е. с движением всех входящих в данное тело молекул в одном направлении. Именно поэтому кинетическую энергию летящего тела в принципе можно целиком превратить в работу. В работу можно превратить электрическую энергию, представляющую собой однонаправленное движение ионов или электронов в электрическом поле.

Тепловая энергия обусловлена хаотическим движением частиц, сумма векторов скорости которых в любом направлении равна нулю (рис. 1, а, состояние II). Поэтому кинетическая энергия этого теплового движения частиц не может быть непосредственно использована для работы.

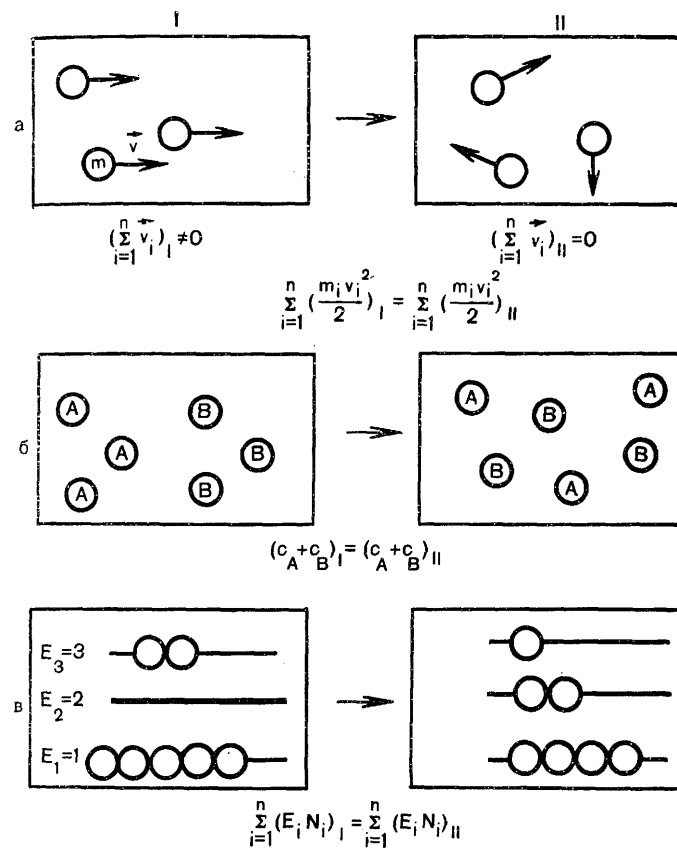


Рис. 1. Примеры перехода систем в наиболее вероятное состояние в направлении $I \rightarrow II$ ($S_{II} > S_I$).

а — изменение ориентации частиц (превращение кинетической энергии движущегося тела в тепло);

б — изменение распределения частиц в пространстве (диффузия);

в — изменение распределения частиц по энергетическим уровням;

m_i — масса i -й частицы; \vec{V}_i и V_i — вектор скорости и его модуль i -й частицы;

C_A , C_B — концентрация частиц типа А и В соответственно; E_i — энергия i -го энергетического уровня в условных единицах; N_i — число частиц на i -м энергетическом уровне; n — число частиц в системе.

1.2. Превращение энергии в живой клетке

Солнечные лучи, поглощаясь зеленым листом, осуществляют процессы фотосинтеза, при которых энергия света $E_c = nh\nu$ (где n — число поглощенных хлорофиллом фотонов; ν — частота электромагнитных колебаний) превращается в химическую энергию E_x , «запасенную» в органических соединениях, например, в глюкозе.

Химическая энергия глюкозы превращается в ходе клеточного окисления частично в тепло, а частично — в другую форму химической энергии, в энергию макроэргических связей АТФ. За счет гидролиза АТФ может происходить перенос веществ из области меньшей в область большей концентрации (осмотическая работа), перенос ионов в область более высокого электрического потенциала (электрическая работа), в организме животного — сокращение мышц (механическая работа). При этом происходит перевод части химической энергии АТФ в осмотическую электрическую и механическую энергию.

В дальнейшем нам понадобятся приводимые в табл. 1 формулы и понятия, описывающие изменение количеств различных форм энергии и соответствующую этому работу при переходе системы из некоторого состояния 1 в состояние 2.

Таблица 1 Основные формы энергии в биосистемах

Форма энергии	Энергия в расчете:	
	на 1 молекулу	на 1 моль
Электрическая	$ze(\varphi_2 - \varphi_1)$	$zF(\varphi_2 - \varphi_1)$
Осмотическая	$kT \ln \frac{c_2}{c_1}$	$RT \ln \frac{c_2}{c_1}$
Химическая	$\mu_{o,2}^1 - \mu_{o,1}^1$	$\mu_{o,2}^1 - \mu_{o,1}^1$

Примечание. e — заряд электрона ($1,6 \cdot 10^{-19}$ Кл); F — заряд моля одновалентных ионов (число Фарадея) $F = N_A \cdot e = 9,65 \cdot 10^7$ Кл/кмоль; N_A — число молекул в моле вещества (число Авогадро), $N_A = 6,02 \cdot 10^{26}$ кмоль $^{-1}$; z — заряд иона в единицах элементарного заряда; R — универсальная газовая постоянная, равная $8,31 \cdot 10^3$ Дж/(кмоль·К); T — абсолютная температура (К); c — молярная концентрация; k — постоянная Больцмана, $k = 1,38 \cdot 10^{-23}$ Дж/К; φ — электрический потенциал; $\mu_{o,1}^1$ ($\mu_{o,1}^1$) и $\mu_{o,2}^1$ ($\mu_{o,2}^1$) — химические потенциалы в состоянии 1 и 2.

1.3. Свободная энергия и электрохимический потенциал

Электрическая, осмотическая и химическая энергии могут быть использованы для совершения работы, т.е. для направленного перемещения тела против действующих на него сил. Количественной мерой превращения

этих видов энергии служит изменение так называемой свободной энергии. Тепловая энергия при постоянной температуре может быть использована для совершения работы. Протекание химических реакций в жидкой фазе не изменяет давления, но может вызывать изменение объема. Поэтому для таких систем вместо изменения внутренней энергии системы используется изменение ее энтальпии (ΔH), которое равно $\Delta U + p\Delta V$, где p — давление, ΔV — изменение объема. Между изменением свободной энергии ΔG и изменением энтальпии ΔH при постоянном давлении и температуре существует соотношение, вытекающее из первого и второго законов термодинамики:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S. \quad (1.2)$$

В физико-химических системах изменение свободной энергии обычно описывают через изменение электрохимического потенциала $\bar{\mu}$:

$$\Delta G = m \cdot \Delta \bar{\mu} \quad (1.3)$$

где m — количество вещества (моли) в системе. Изменение электрохимического потенциала при переходе системы из состояния 1 в 2 определяется изменением химической, осмотической и электрической энергий (см. табл. 1):

$$\Delta \bar{\mu} = \mu_{02} - \mu_{01} + RT \ln \left(\frac{c_2}{c_1} \right) + zF(\varphi_2 - \varphi_1) \quad (1.4)$$

Физический смысл электрохимического потенциала заключается в том, что его изменение равно работе, которую необходимо затратить, чтобы:

а) синтезировать 1 моль вещества (состояние 2) из исходных веществ (состояние 1) и поместить его в растворитель (слагаемое $\mu_{02} - \mu_{01}$);

б) сконцентрировать раствор от концентрации c_1 до c_2 (слагаемое $RT \ln \left(\frac{c_2}{c_1} \right)$);

в) преодолеть силы электрического отталкивания, возникающие при наличии разности потенциалов ($\varphi_2 - \varphi_1$) между растворами [слагаемое $zF(\varphi_2 - \varphi_1)$].

Заметим, что эти слагаемые могут быть как положительными, так и отрицательными.

Рассмотрим в качестве примера, как изменяется величина электрохимического потенциала при переносе ионов Na через мембрану нервной клетки. Этот процесс совершается ферментом Na^+ , K^+ -АТФ-азой и обеспечивается энергией гидролиза АТФ. Ион натрия при этом переносится из клетки наружу. Концентрация Na^+ внутри клеток (c_1) равна 0,015 моль/л, а снаружи (c_2) — 0,15 моль/л. Осмотическая работа на каждый моль перенесенного иона равна при 37°C $RT \ln (0,15/0,015) = 5,9$ кДж/моль.

Внутри клетки электрический потенциал составляет $\varphi_1 = -60$ мВ, если принять наружный потенциал $\varphi_2 = 0$. Электрическая работа составляет: $zF\Delta\varphi = 9,65 \times 10^4$ Кл/моль $\cdot 60 \cdot 10^{-3}$ В = 5,8 кДж/моль.

Так как с Na^+ при его переносе через мембрану в конечном счете не происходит никаких химических превращений и он оказывается примерно в таком же водном окружении, что и раньше, то $\Delta\mu_0 = 0$. Отсюда по уравнению (1.4) находим $\Delta\mu = 0 + 5,9 + 5,8 = 11,7$ кДж/моль.

1.4. Второй закон термодинамики и условие равновесия

Второй закон термодинамики гласит, что в изолированной системе не может увеличиваться свободная энергия. Иначе говоря, в системе, где $\Delta H = 0$ [см. уравнение (1.2)], $\Delta G = -T\Delta S \leq 0$. Пока энергетические превращения в данной системе сопровождаются переходами разных видов энергии друг в друга без их перехода в тепло, $\Delta G = 0$, все эти процессы обратимы. Как только часть энергии превратится в тепловую, процесс становится необратимым в той степени, в которой произошел этот переход. Понятие обратимости процесса тесно связано с понятием динамического равновесия. Равновесие — это такое состояние системы, при котором каждая частица может переходить из некоторого состояния 1 в некоторое состояние 2 и обратно, но в целом доля состояний 1 и состояний 2 в системе не изменяется. В физико-химических (а следовательно, биологических) системах равновесны процессы, при которых $\Delta\bar{\mu} = \Delta G/m = 0$, т.е.

$$\mu_{02} - \mu_{01} + RT \ln \left(\frac{c_2}{c_1} \right) + zF(\varphi_2 - \varphi_1) = 0 \quad (1.5)$$

В равновесии могут находиться субстраты (А) и продукты (В) биохимической реакции ($A \leftrightarrow B$) или ионы по две стороны мембраны.

Остановимся на приложениях уравнения (1.5):

1) *Уравнение константы химического равновесия.* При чисто химической реакции $\varphi_2 = \varphi_1$, и в состоянии равновесия

$$-RT \ln \left(\frac{[B]}{[A]} \right) = \mu_{0B} - \mu_{0A}, \text{ или } \Delta\mu_0 = -RT \ln K, \quad (1.6.)$$

где K — константа химического равновесия; μ_{0A} , μ_{0B} — химические потенциалы состояний А и В.

2) *Уравнение равновесного мембранного потенциала (уравнение Нернста).* Если клеточная мембрана проницаема для какого-либо одного иона (обычно она хорошо проницаема для K^+ , иногда для Cl^-), то на мембране устанавливается равновесный так называемый нернстовский потенциал φ_M , определяемый как разность $(\varphi_2 - \varphi_1)$. В водной среде по обе стороны мембраны для иона $\mu_{01} = \mu_{02}$ и в равновесии:

$$\varphi_M = \varphi_2 - \varphi_1 = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_1}{c_2}, \quad (1.7)$$

где $c_1(\phi_1)$, $c_2(\phi_2)$ — концентрации K^+ (электрические потенциалы) снаружи и внутри клетки соответственно. При 310 К (37°C) получаем приблизительно $\phi_M = 60 \times \lg\left(\frac{c_1}{c_2}\right)$ мВ. В дальнейшем нам часто придется встречаться с выражением $\phi_M zF/RT$, назовем его безразмерным потенциалом:

$$\phi_M = \phi_M zF/RT = \phi_M ze/kT. \quad (1.8)$$

Теперь уравнение Нернста (1.7) можно записать в более компактной форме:

$$\phi_M = \phi_2 - \phi_1 = \ln \frac{c_1}{c_2}. \quad (1.9)$$

3) *Распределение Больцмана.* Если в молекуле существуют два энергетических электронных уровня с энергиями E_1 и E_2 , то можно найти заселенность этих уровней электронами в состоянии равновесия. Как и в предыдущем случае, считая $\Delta\mu_0 = 0$, получаем уравнение, аналогичное (1.7). Из электростатики известно, что энергия заряженной частицы в электрическом поле (в данном случае в собственном внутреннем поле молекулы) $E = zF\phi N_A$.

Подставив это выражение в (1.7), получаем (для электрона $z = -1$):

$$-(E_2 - E_1) = kT \ln \frac{c_1}{c_2}, \quad \text{или} \quad n_1 / n_2 = e^{-\Delta E / kT}, \quad (1.10)$$

где n_1 и n_2 — число частиц на двух энергетических уровнях в состоянии равновесия;

$$\Delta E = E_2 - E_1.$$

1.5. Экспериментальное определение термодинамических параметров биологических систем

Для определения термодинамических параметров биологических систем используются два метода: определение теплопродукции (калориметрия) и измерение констант равновесия. Так как объект, находящийся в калориметре, не производит работы, изменение энергии (энтальпии) можно считать равным количеству выделившегося тепла ΔQ . Так находят изменение энтальпии (ΔH), например, в ходе изучаемого биофизического процесса или биохимической реакции.

Независимо от этого производят вычисление свободной энергии процесса (реакции) по уравнению (1.3) и величины $\Delta\mu_0$ по уравнению (1.6) на основании определения константы равновесия K , т.е. измерения равновесных концентраций субстратов и продуктов реакции.

Зная ΔH , температуру T и ΔG , можно по уравнению (1.2) рассчитать изменение энтропии в данном процессе (ΔS).

Существует также другой подход к изучению термодинамических параметров процесса, основанный на измерении констант равновесия при

разных температурах. Этот метод пригоден только в том случае, когда ни изменение энтальпии системы (ΔH), ни изменение энтропии (ΔS) от температуры не зависят. В этом случае из уравнений (1.6) и (1.2) получаем для 1 моля вещества:

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}.$$

Это соотношение называется *уравнением Вант-Гоффа*. График зависимости $\ln K$ от $1/T$ представляет собой прямую линию, пересекающую ось абсцисс в точке $\Delta S/\Delta H$, ось ординат — в точке $\Delta S/R$.

Как известно, для построения прямой достаточно знания координат двух точек. Поэтому часто ΔH и ΔS и находят, определив константу равновесия всего при двух температурах.

Для гидролиза АТФ при рН = 7,0 и 37°C этим способом было найдено $\Delta H = 20$ кДж/моль, $\Delta S = 0,0396$ кДж/(моль · град).

1.6. Второй закон термодинамики и живые организмы

В литературе неоднократно высказывалось удивление по поводу того, что в живых организмах в ходе их роста и развития может происходить увеличение упорядоченности, которое, казалось бы, противоречит второму закону термодинамики. Противоречие это кажущееся.

С одной стороны, как справедливо указывают многие авторы (Л.А. Блюменфельд, Л.А. Николаев и др.), понятие энтропии вообще нецелесообразно использовать, когда речь идет о порядке в макроскопическом смысле, скажем, о дифференциации клеток, специализации клеточных структур и т.д. С другой стороны, организм постоянно совершает работу и растет, следовательно, общее количество свободной энергии в нем должно увеличиваться, что на первый взгляд противоречит второму закону термодинамики. Такой вывод, однако, основан на недоразумении. Свободная энергия не может увеличиваться лишь в изолированных системах. Ни один живой организм не является изолированной системой. Организм питается и с пищей (а растения и со светом) потребляет свободную энергию, которую потом расходует. В полном смысле слова изолированной можно считать систему организм–среда. Внутри такой системы в ее «живой» части, т.е. в организме, свободная энергия может увеличиваться, а энтропия — соответственно уменьшаться, но при обязательном условии одновременного его увеличения в неживой части системы. Так, например, развитие зеленых растений на Земле происходило благодаря увеличению энтропии в системе Солнце–Земля. Известно, что и в состоянии покоя, и при выполнении работы может происходить рост и развитие организма, но одновременно идет непрерывное выделение тепла живыми организмами. Эта теплота диссипации представляет собой результат окисления веществ, заключенных в пище, которое

сопровождается ростом энтропии, значительно большим, чем снижение энтропии за счет роста организма и дифференцировки его клеток.

1.7. «Энергосопрягающие» системы клетки

Итак, изменение свободной энергии в ходе любого процесса определяет направление этого процесса: он идет в сторону уменьшения G . Например, для гидролиза фосфатной связи в комплексе Mg^{2+} -АТФ при рН 7,0 и 37°C по схеме $АТФ + H_2O \rightarrow АДФ + \Phi$ (где Φ — ион фосфорной кислоты) получено значение $\Delta G = -30,5$ кДж/моль. В реакции $АДФ + H_2O \rightarrow АМФ + \Phi$, $\Delta G = 30$ кДж/моль.

Значительное понижение свободной энергии при гидролизе АТФ и АДФ побудило биохимиков назвать эти соединения богатыми энергией, или макроэргическими.

Однако в живой клетке протекает множество реакций, которые сопровождаются увеличением свободной энергии ($\Delta G > 0$). Например, синтез пептидной связи при образовании дипептида: *аланин + глицин* → *аланилглицин* характеризуется $\Delta G = 17,2$ кДж/моль, а фосфорилирование глюкозы при гликолизе по схеме *глюкоза + Φ* → *глюкозо-6-фосфат + H_2O* характеризуется $\Delta G = 13,4$ кДж/моль.

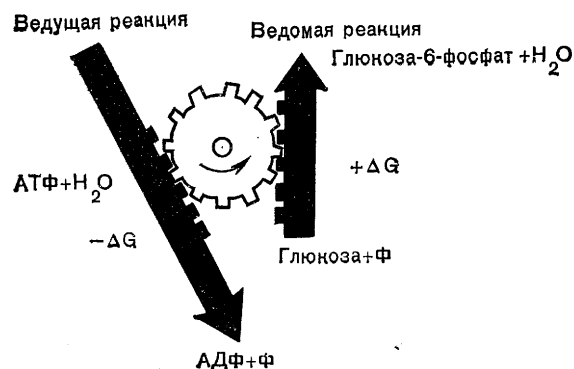


Рис. 2. Схема сопряжения химических реакций.

Эти процессы не могут идти самопроизвольно, они протекают за счет сопряжения с другими химическими реакциями, изменение свободной энергии которых отрицательно. Объединив первую и последнюю реакции, можно записать: $АТФ + \text{глюкоза} \rightarrow АДФ + \text{глюкозо-6-фосфат}$. Складывая изменения свободной энергии реакций при их совместном протекании, получаем для фосфорилирования глюкозы с участием АТФ: $\Delta G = -30,5$ кДж/моль + $13,4$ кДж/моль = $-17,1$ кДж/моль.

Этот пример иллюстрирует основной способ преобразования энергии в клетке: химическая работа совершается путем подключения к реакции с «неблагоприятным» изменением свободной энергии реакций с большим отрицательным изменением свободной энергии (рис. 2). Чтобы осуществлять такое «сопряжение» процессов, клетке пришлось создать в ходе эволюции

специальные молекулярные «энергопреобразующие» устройства, которые представляют собой ферментные комплексы, как правило, связанные с мембранами.

1.8. Особенности организмов как термодинамических систем

При применении термодинамики к биологическим системам необходимо учитывать особенности организации живых систем: 1) биологические системы открыты для потоков вещества и энергии; 2) процессы в живых системах в конечном счете имеют необратимый характер; 3) живые системы далеки от равновесия; 4) биологические системы гетерофазны, структурированы и отдельные фазы могут иметь небольшое число молекул.

Все это отличает биологические системы от изолированных и близких к состоянию равновесия систем, в которых, как это делалось в предыдущих разделах, рассматриваются обратимые процессы в гомогенной среде, содержащей огромное множество молекул. Для более адекватного описания свойств биологических систем во многих случаях полезно применение термодинамики необратимых процессов, основателями которой считают лауреатов Нобелевской премии по химии Л. Онзагера и И. Пригожина.

В отличие от классической термодинамики, в термодинамике необратимых процессов рассматривается ход процессов во времени. Фундаментальное понятие классической термодинамики — равновесное состояние. В термодинамике необратимых процессов столь же важным понятием можно считать стационарное состояние системы.

Различие между равновесием и стационарным состоянием хорошо видно на примере ионного баланса клетки. Концентрация K^+ внутри клеток теплокровных примерно в 15 раз выше, чем во внеклеточной среде, но это не приводит к выходу этих ионов из клетки, так как на клеточной мембране имеется потенциал со знаком минус внутри клетки, который удерживает K^+ от выхода из цитоплазмы. Система близка к равновесию, условия которого описываются известным уравнением Нернста (1.7).

Иная ситуация с ионами Na^+ . Их концентрация в клетке примерно в 15 раз меньше, чем в окружающей среде. Постоянный градиент концентрации и разность потенциалов на мембране приводят к тому, что имеется хотя и небольшое, но постоянное просачивание ионов Na^+ в клетку. Тем не менее, постоянная концентрация ионов Na^+ в клетке поддерживается насосами, выкачивающими этот ион и работающими за счет энергии гидролиза АТФ. Из этого примера видно, что в отличие от термодинамического равновесия стационарное состояние характеризуется:

- 1) постоянным притоком веществ в систему и удалением продуктов обмена (в данном случае — приток АТФ и удаление Na^+);
- 2) постоянной затратой свободной энергии, которая поддерживает постоянство концентраций веществ в системе;

3) постоянством термодинамических параметров (включая внутреннюю энергию и энтропию) системы, находящейся в стационарном состоянии.

Система в стационарном состоянии является открытой системой и может существовать лишь за счет притока энергии извне (в форме АТФ в нашем примере) и оттока энергии в окружающую среду (в нашем случае в форме тепла). В биологических системах наиболее важными потоками являются потоки вещества и электрических зарядов.