

# 高能輻射对机体作用的能力学問題

林克椿

(北京医学院)

## 引言

### 一、生物能力学概述

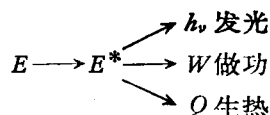
生物能力学是生物物理学中的一个重要分支。概括地说,它是从能量的观点来探讨生命活动机制的一门学科。更具体地说,它所研究的内容有下列两个方面:第一是研究各种外界物理因素(各种能源)作用于机体后能量如何被吸收、能量的效应及强烈能量的防护问题,也就是外界物理因素对机体的作用问题;第二是探讨被机体所吸收的能量如何进行传递、如何转变为其它形式和如何被机体利用的问题,也就是生物体内的物理及物化过程。

生物能力学可以从宏观和微观二种不同的角度加以研究。宏观生物能力学利用物理学中的热力学定律来探讨机体内的能量状态及能量转换,又称为生物热力学。它从整体观念出发,即由大量分子所组成的集体来考虑问题,而不牵涉到个别分子的微细变化。由微观角度来研究生物能力学的是量子生物学,它利用量子论和量子力学,从分子的水平来探讨机体内的能量转移与转变的微细机构。

在讨论高能辐射对机体作用的能力学问题之前,先简单介绍一下生物能力学的基本观点:

**1. 任何生物过程的发生在于分子转变为电子激发态** 分子的运动形式有转动、振动和电子能级的变化等三种。根据量子论的观点,不论那一种能级都是量子化的,亦即能级是分立的,能量的变化是跳跃式的而不能连续变化。其中转动能级和振动能级的变化都很小,很难为机体所利用。而当电子能级变化时所释放的能量较大,约在1—20电子伏特之间,适合于机体所能利用的数值。因此,生物能力学特别着重讨论电子能级的变化,也就是电子激发态的问题。

机体内高分子物质所具有的能量在其未以发光、生热、做功等消耗以前,是一种隐藏形式的能量,可以用 $E$ 来表示。当分子吸收外界能量以后,便升高了电子能级,即进入激发态,用 $E^*$ 表示。能力学就是讨论 $E$ 和 $E^*$ 之间相互转变以及与其有关的问题的。分子处于激发态以后,丢失其能量的方式是多种多样的,它可以以光子的形式将多余能量发射出来——发光,可以把多余能量转变为机械能、电能等等而做功,也可以以热的形式耗散——生热。



**2. 机体内能量的利用与分子跃迁为长寿三重态有关** 在电子被激发时,如果自旋(电子绕着通过本身的轴而产生自转,称为自旋)改变了方向,这时它所处的状态其能量往往分裂为三个相差不多的等级,故称为三重态。如果单纯激发而不改变电子自旋的方向,就称为单态。每个单态都有和它相应的三重态,而且三重态能级一般都比与其相应的单态要低。它的特点首先表现在寿命较长:一般单态寿命为 $10^{-8}$ — $10^{-9}$ 秒,而三重态的寿命则可以从 $10^{-3}$ 秒到几秒之久。这是因为电子在跃迁后改变了自旋,和原来的配对电子自旋相同,按量子力学规则,同

一能级上最多只能有二个自旋相反的电子。现在一个电子(处于三重态)要跃迁到基态,就不能和原来的配对电子共处于同一能级了,所以这种跃迁称为被禁跃迁。所谓“被禁”也就是产生这种跃迁几率很小的意思。也因为这个缘故,处于三重态的电子寿命是较长的。寿命较长,则其为机体利用的机会也越大。其次,因为出现了二个不配对电子之故,分子的化学性质类似双基,比较活泼而容易和其它分子成键。此外,因三重态能级比单态低,更接近于机体所能利用的能量范围。从这几方面看来,三重态是机体利用能量的关键问题。

**3. 三重态的实现与结构水有关** 由最低的激发单态向基态跃迁时所发的光为荧光,而由相应的三重态向基态跃迁时则发出磷光。三重态能级既然比相应的单态低,则磷光波长必大于荧光(根据  $\lambda = \frac{c}{\nu}$ , 式中  $\lambda$  为波长,  $\nu$  为频率,  $c$  为光速),而磷光的存在就成为三重态的重要标志之一。斯曾特·格尔吉(A. Szent-Györgi)发现许多荧光物质的水溶液在低温下出现三重态。换句话说,三重态的出现与低温(一般在零下  $80^{\circ}\text{C}$  以下)下的水(即冰)有关。而冰实际上只是有序结构的水而已。斯曾特·格尔吉进一步认为,在机体中三重态的实现,也应和水结构有关。用核磁共振技术以及介电常数的测定可以证明,常温条件下固体表面的水是有一定顺序的。1955年贾科布桑(Jacobson)证明,在DNA大分子附近  $1000\text{Å}$  以内的水也是有序结构水。离DNA分子越远处,水的顺序性越差;温度越高,则顺序性也越差,  $40^{\circ}\text{C}$  以上水结构才完全破坏。因此可以有理由推想,三重态在机体内也是可以实现的。

## 二、高能辐射的特点

高能辐射包括高能电磁辐射( $X, \gamma$ 射线)和高能粒子( $\alpha, \beta$ , 中子等)。前者的本质为电磁波,而后者则是具有一定静止质量的实物。高能是指射线的能量远大于可见光和紫外线的能量,可达后者的几千倍、几万倍之多。由此可见,高能辐射本身的能量大大超过了使分子电离、激发、化学键断裂所需的能量。因此射线作用于物质后往往三者均可发生。而且紫外线和可见光与物质作用时往往是使某一种分子电离或激发,是具有选择性的。而高能辐射与物质作用的原始动作则是没有选择性的。

由于高能辐射的能量很大,所以每一次引起电离或激发时只需消耗其一部分能量,因此要消耗完其全部能量必须使许多分子电离和激发。所以开始是单一能量的高能辐射,在与物质作用之后由于使物质电离、激发不断耗能之故,便形成了一堆包括不同能量的粒子。所产生的生物学效应,也是含有不同能量粒子作用的结果。由于上述两方面的原因,高能辐射对机体的作用比一般光生物学中所讨论的情况要复杂,因而也困难得多。

## 三、从能力学角度研究高能辐射生物学作用的意义

过去在研究高能辐射的原发作用时,比较偏重于研究高能辐射的电离作用,特别是自由基的作用。事实表明,只限于研究自由基的作用和水在电离时的产物是不够的,有很多问题仍然不能得到解决。我们知道,平均说起来,当每一个分子电离时,同时会产生两个激发分子。当离子复合时或自由基与分子相互作用时,还可以引起激发。因此激发态在原发反应中所起的作用,显然是不可忽视的一个重要方面。高能辐射与物质的原始物理作用是无选择性的,但其损伤却是有选择性的。所谓电离辐射的高效应现象,正是表现了从无选择的物理过程转变为对重要大分子的有选择性作用的结果,而这种选择性作用又和大分子本身的性质有关。生物高分子是有一定结构的大分子,和杂乱无章的分子不同,在有序分子中能量被吸收后又可以转移到其它部分,而使高分子的某个重要基因或化学键破坏。因此,关于辐射能的吸收与转移

的研究,在闡明原发反应的机制方面将起重要的作用。此外电离輻射的化学防护也和能力学密切相关。只有了解到能量如何被机体吸收、利用、轉移等以后,才能提出更有效的防护方法。反之,找到了有效的防护方法,也会有助于更进一步地了解其作用机制。夺取激发能不使被激发的物质发光称之为猝熄。寻找猝熄剂对于电离輻射的防护是有很重大意义的。

### 高能輻射下的激发与能量轉移

在高能輻射下能否产生激发分子?有没有能量轉移現象?这是研究高能輻射作用中首先需要回答的問題。

电子激发态的實驗証据之一,就是在外因作用下物质所发的荧光現象。卡耳曼和福尔斯特(H. Kallmann & M. Furst, 1950)用1毫居里鐳的 $\gamma$ 射綫照射置于磁杯中的溶液,根据用光电倍增管和检流計所探测到的荧光来了解有无激发态(所进行的測量是一种相对測量,用5.5克葱晶作为标准)。从他們对許多純溶剂和溶液所作的實驗結果可以看出下列現象:

1. 純溶剂(例如水、二甲苯等)的荧光极弱,在其中加入少量荧光物质(葱、联三苯等)后,荧光可以大大加强。所加入的荧光分子数与溶剂分子数相比是微乎其微的,但荧光强度却比純溶剂的强度大几倍、几十倍。因此,这不能解释为电离輻射直接照到溶质上引起荧光,而是由于溶剂分子吸收射綫能量,然后再向溶质分子轉移,使溶质分子发光的緣故。

2. 荧光强度与溶液浓度有关。从實驗結果可以看出,当浓度較低时,荧光强度与浓度接近于正比关系。因此曲綫是逐漸上升的。但当浓度到达一定值之后,荧光强度就不再增大,浓度繼續增大时荧光强度反而减弱。这种現象是因为已被激发的荧光分子可以和其它未激发分子碰撞,碰撞时便以热的形式损失一部分激发能,这种現象称为浓度猝熄現象。实际上浓度猝熄現象一直都在和溶剂分子的传能过程相竞争。曲綫的上升部分表示在溶质分子較少的情况下,传能过程占优势,而后半部則是浓度猝熄更占优势的结果。

3. 在溶液中加入某些物质(杂质)时荧光也可以减弱,这种現象称为杂质猝熄。如在葱的二甲苯溶液中加入少量萘时,葱的荧光就会减弱。

卡耳曼和福尔斯特的實驗說明了高能輻射作用下激发现象的确是存在的,而且在系統中能量可以进行轉移。更值得注意的是溶液中荧光的猝熄現象。猝熄現象不一定对于机体都是有利的,如原过程是损伤过程,猝熄現象是有利的;如果原过程是正常过程,則猝熄就成为造成损伤的原因。研究荧光現象的重要性并不在于物质本身的发光,而是說明易激发分子的存在,更重要的还是猝熄現象和猝熄剂(杂质)的問題,它能說明能量利用的途径和改变状况。

前已述及,机体内能量的利用不是通过激发单态而是通过三重态来实现的。因此繼續寻找高能輻射下的三重态(即亚稳定状态)是能力学中的一个关键問題。三重态的存在以其所发的磷光为标志。1960年埃曼努埃利(Эмануэль)曾报导过他的研究結果。他用400克鐳当量鈷的 $\gamma$ 射綫在液体氮温度下来照射1%卵白蛋白、0.01% DNA和0.01% RNA,并用光电倍增管和各種滤光板来檢驗磷光,得出磷光光譜曲綫。这三种溶液在照射后都能发出磷光,其波长范围为400—600毫微米,主要是在400—500毫微米,其中在400、440、470、495毫微米处磷光强度有明显的变化。这說明在高能輻射下蛋白质及核酸中有三重态存在,并且三重态有几种不同的等級。同时他也用紫外綫作为激发光源,研究上述物质的磷光光譜,所得結果与 $\gamma$ 射綫結果相符。埃曼努埃利还利用示波器观察短時間閃光照射溶液后磷光的衰減現象,发现不論用紫外綫还是用高能輻射照射溶液时磷光强度都按指数規律下降,由此測得的半寿期也相同。其中卵白蛋白的半寿期为6.6秒, RNA为2.5秒, DNA为2.4秒。

上列事实说明,无论在低能辐射下还是在高能辐射下蛋白质都存在有亚稳定状态,并且其激发态是相同的。这一点在研究高能辐射的生物学作用时具有很重大的意义。它说明光生物学的研究结果(至少部分地)是可以用于电离辐射的。

处于激发态的大分子,其能量可以转移。这一现象早在1939年就已发现。斯维德堡(Svedberg)与布罗霍耳特(Brohult)发现,当 $\alpha$ 粒子穿过血清蛋白大分子时,不论最初吸收能量的部位如何,最终总是使大分子分裂为相等的二半。亚历山大(P. Alexander)更详细地研究了这一问题,他发现用 $\gamma$ 射线照射聚甲基丙烯酸甲酯时可发生大分子的降解,计算出使其主链断裂所需之能量为61电子伏。若加入10%丙烯酸硫脲或苯胺,再于同样条件下照射,则所需能量比以前大大增加(加丙烯酸硫脲后需143电子伏,加苯胺后需152电子伏)。同样,照射聚异丁烯时需17电子伏才能破坏主链,若照射20%苯乙烯和80%异丁烯的聚合物则需32电子伏。对上述现象的解释是,原被照射物质将所吸收的能量向所加入的物质进行转移,因而需要消耗更多能量才能发生原来的反应。类似的现象是很多的,如照射直链烃后发生交联作用,产生难溶物质。但加入癸烷、芳香萘环物质后再要产生交联作用所需能量就增大。CO-肌红蛋白复合物不管是该分子的那部分受照射吸收能量后,都可使CO脱掉。这也可用复合物的任何部分吸收能量后都将能量转移到CO与肌红蛋白相连的键上使其脱离来解释。关于能量在蛋白质中转移的问题,已经有了很详细的综合评论(符拉季米罗夫«Ю. А. Владимиров»等,1957)。深入研究这一问题,是了解生物体受光、电离辐射等作用的关键。

以上事实证明,在大分子中辐射能被吸收后的转移、聚集现象是存在的。能量究竟通过什么途径转移?关于这个问题,目前还正在争论之中。大体说来可以分为激发能的转移和电子转移两大派。前一种看法可以用弗尔斯特(Th. Förster)所提出的共振转移机制作为代表。他认为具有电偶极矩的分子振动时在其周围产生电磁场,因此一个分子的激发能可借电磁场的作用转移给另一分子。这种类型的转移不伴有光量子的吸收和再发射过程。产生共振转移的条件是,距离在100 Å以内,物质本身要能发荧光,而且给能者的荧光光谱与受能者的吸收光谱应该相重叠。弗尔斯特认为,对于蛋白质和核酸分子来说,这些条件都是具备的,因此在蛋白质中能够实现这种转移。当距离小到2—5 Å时,由于电子云有较大部分的重叠,激发能可进行重叠转移。

另一派主张蛋白质中激发能的转移是电子转移。所应用的理论是物理学中的能带理论。有序结构的分子彼此影响,使每个分子的能级和孤立分子相比都略有移动,整个晶体各态的能级由全体分子所组成,这时就由略有差异的许多能级组成为几个能带。一个能带中的每个能级上最多只能有二个自旋反向的电子。如果一个能带中的每一能级上都已经有了二个电子,这种能带就称为满带,反之就称为空带。满带中的电子不能自由运动,电子受激发后可以进入激发带,而激发带一般都是空带。空带中的电子和在满带内留下的“空穴”都可以参与导电。空带与满带的间隔不大的物质是半导体,依靠热运动的能量或吸收外界能量后都可以使满带中的电子进入空带,因此半导体的导电性与温度密切相关,它遵从下列规律:

$$\chi = \chi_0 e^{-\frac{E}{2kT}},$$

式中 $\chi$ 为导电率, $E$ 为活化能, $k$ 为玻尔兹曼常数, $T$ 为半导体的温度(以绝对温度表示)。有人测出蛋白质的导电性与温度的关系,结果与上式符合。同时蛋白质是有序大分子,因此认为蛋白质具有半导体的性质。此外由于难免有杂质存在,在杂质处能量减小形成“陷阱”,电子在空带中运动时有可能陷入“陷阱”之中,这是能量储存作用的起源。在后面还会提到,这种陷落作用可以解释生物能力学中的某些现象。

## 从生物能力学的观点探討某些与高能輻射有关的问题

**1. 对影响放射敏感性的若干因素之分析** 从能力学角度来探討氧效应、温度效应和水的作⽤等⽅⾯的問題,还只是开始,这里主要介紹的是埃杜斯(Эйдус)的观点。

(1) 氧的作⽤ 过去认为高能輻射中的氧效应是氧参与水的分解作⽤、形成  $\text{HO}_2$  等自由基的结果。但是,也有反对意见,因为在照射后也就是自由基已经不再存在时再加入氧也是同样有效的。此外,照射干的样品(例如照射干的胰蛋白酶)也有氧效应。看来并不能把氧的作⽤完全归结为氧参与水的分解作⽤。

埃杜斯认为,任何一个系统受照射时都可以产生长寿命激发态,这是造成损伤的根源。在有氧的条件下,氧便和处于长寿命激发态的高分子起作⽤,这就是损伤的开端。他作过这样的实验:将干燥的肌凝蛋白在无氧条件下受照射后检查其 ATP 酶的活性,发现活性正常。然后在低温下保持一定时间后再加入氧,则活性突然降低。他的解释是:照射时出现肌凝蛋白的长寿命亚稳态,这时高分子本身并未遭受破坏;加入氧后,氧与长寿命亚稳态的大分子作⽤,因而使酶失活。他进一步把物质在照射时出现的不配对电子分为三相: I 相是不稳定的,在照射期间就可以失去激发能; II 相便是易受氧作⽤的长寿命激发态; III 相不受氧的作⽤,而与温度效应有关。埃杜斯还发现,氧的作⽤与水有关,只有在含水条件下,才能出现氧效应。

氧如何起作⽤? 这一问题还有待深入探討。氧是一种顺磁性分子,在基态时就是三重态,其外围两个不配对电子所产生的磁场不能互相抵消,所以它能使处于三重态的其它分子的电子自旋反向,因而使激发能释放出来,这是一种可能的解释。关于这一论点的旁证之一就是 NO 的作⽤。NO 的效应与氧类似,有时甚至可以 1:1 的比例替代氧,而产生同样的效应。NO 也是顺磁性基团。把 NO 和氧进行比较可以发现,虽然它们的化学性质很不相同,但同为顺磁性基团这一点,却是从物理学的角度理解氧作⽤的一把钥匙。

(2) 温度效应 温度升高时损伤加剧。埃杜斯用  $\gamma$  射线照射肌凝蛋白和胃蛋白酶溶液,然后使之干燥,用顺磁共振仪检查时可以发现有吸收谱线。这表示在照射后大分子本身的三重态(双基)的确是存在的。照射肌凝蛋白溶液后,在低温下将它保存下来,然后加高温度到  $20^\circ\text{C}$  时就出现温度后作⽤现象,ATP 酶活性在这温度下 24 小时内完全丧失。胃蛋白酶的活性在  $54^\circ\text{C}$  时 6 小时内完全丧失。温度作⽤也和水密切相关。如果用  $\gamma$  射线照射胃蛋白酶,则在  $100^\circ\text{C}$ — $130^\circ\text{C}$  之间其失活规律就和未经照射的对照样品相同。埃杜斯认为,温度作⽤与 III 相不配对电子有关,它的特点是能保持很长时间,而且不受氧的影响。值得提出的是,根据计算改变水的氢键取向(破坏水结构)的活化能为 13 大卡/克分子,而温度效应的活化能则为 12.8 大卡/克分子,这二者非常接近,所以温度作⽤与水结构的破坏有关。水结构能够稳定三重态,水结构的破坏将导致激发能的释放。

关于温度作⽤也可以从热发光理论来考虑。晶体、蛋白质、核酸中的大分子含有杂质,形成陷阱。激发电子落入陷阱是能量的储存,加温的作⽤在于使电子获得足够能量逸出陷阱之外,因而重现其损伤作⽤。

**2. 防护机制** 由能力学角度看,凡是能接受激发能的物质,就有可能产生防护效应。其条件是,防护剂的电离电位应低于主体物质的电离电位;转移过程应能和分解过程竞争,即前者速度应大于后者;同时防护剂本身内转换现象的效率应很高,所谓内转换就是通过无辐射跃迁将能量很快转变为热的过程。亚历山大实验中丙烯酸硫脲和苯胺对于聚甲基丙烯酸甲酯来说,实际上就起了防护作⽤。埃杜斯认为,防护作⽤的产生,是因为防护剂夺取了激发的、处于长寿命亚稳态的主体物质分子的能量之故。他的实验根据是将肌凝蛋白在照射前后和肌纤蛋白

复合起来(复合程度根据粘滞性估计),观察 ATP 酶活性的变化。所用剂量为 75000 伦。单独照射肌凝蛋白时活性降为 35%。实验结果如下:

- (1) 肌凝蛋白与肌纤蛋白复合后 ATP 酶活性不受影响;
- (2) 先照射肌凝蛋白再加入肌纤蛋白后活性能保存 50—60%;
- (3) 肌凝蛋白照射后,保存在冰箱中若干小时后再与肌纤蛋白复合时,仍然表现保护作用。由此可见,复合与保护作用有关,实验中也证明复合程度越大则保护效果越好。

斯默勒和艾维利(B. Smaller & E. Avery)将酵母在重水中培养,用顺磁共振仪分别检查酵母和防护剂 MEA 的讯号。发现水、酵母、MEA 都有自己特异的讯号。酵母经照射后加入 MEA 则吸收峰降低,但水的吸收谱则不受影响。这说明 MEA 的防护作用是对激发的酵母的作用,而不是对水的作用。他们所做的实验有力地支持了埃兹斯观点。

### 结 束 语

生物能力学的发展,目前还只刚刚处于开始阶段,并没有形成为一门系统的、比较成熟的学科。用生物能力学的观点来研究电离辐射对机体的作用问题,也只是初露头角。但是,从现在已经得到的结果来看,这是一个重要的、很有前途的方向。自从 1957 年出版了斯曾特-格尔吉的“生物能力学”一书,总结了过去在这方面所进行过的工作和一系列看法之后,引起人们很大的注意。1959 年在英国专门召开过一次能量转移问题(特别是生物体内的能量转移问题)的会议。1960 年,美国也开过一次类似的会,范围更广一些,而且特别着重在辐射作用下的能力学问题,认为这是一个值得重视的方向。由此可见,努力开展这方面的工作是非常必要的。

但是,要真正深入地探讨能力学,还有许多问题有待澄清,特别是有关能力学本身的一些基本问题。可以举出这样几个方面:例如活体中是否存在三重态的实验证据;能量转移的机制;在一个具体的分子中能量究竟如何转移?最终在何处产生效应?生物组织的亚显微结构和分子结构在传递能量中起什么作用?生物体内的结构水在能量转移中究竟起到多大作用等等。为了深入开展能力学的研究,还必须掌握必要的技术,例如顺磁共振、核磁共振、荧光光谱、闪光光解(flash-photolysis)分析等等。

### 参 考 文 献

- [1] A. Szent-Györgyi: Bioenergetics (1957).
- [2] C. Reid: Excited States in Chemistry and Biology (1957).
- [3] П. А. Привалов: К Вопросу о Состоянии и Роли Воды в Биологических Системах, Биофизика 3, 6, 738 (1958).
- [4] H. Kallmann and M. Furst: Fluorescence of Solutions Bombarded with High Energy Radiation, Phys. Rev., 79, 5, 857 (1950).
- [5] Н. М. Эмануэль: Метастабильные Состояния Белки и Нуклеиновых Кислот, Возникающие под Действием Излучения Докл. АН СССР 131, 5, 1168 (1960).
- [6] P. Alexander and A. Chalesby: Energy Transfer in Macromolecules Exposed to Ionizing Radiations, Nature, 173, 578 (1954).
- [7] Ю. А. Владимиров, С. В. Конев: О Возможности Миграции Энергии в Молекуле Белки, Биофизика, 2, 1, 3 (1957).
- [8] Th. Förster: Transfer Mechanisms of Electronic Excitation Energy, Rad. Res. Suppl., 2, 326 (1960).
- [9] M. H. Cardew and D. D. Eley: The Semiconductivity of Organic Substances, Disc. Farad. Soc., 27, 134 (1959).
- [10] Л. Х. Эйдус, Е. Э. Ганасси: Анализ Некоторых Основных Физических Факторов, Изменяющих Радиочувствительность, Биофизика, 5, 5, 523 (1960).
- [11] Л. Х. Эйдус: Миграционный Механизм Защиты от Лучевого Воздействия, Биофизика, 2, 5, 573 (1957).
- [12] B. Smaller and E. C. Avery: Radiation Protection and Free Radicals, Nature, 183, 539 (1959).