

ЭЛЕКТРОННЫЙ ПАРАМАГНИТНЫЙ РЕЗОНАНС

Сущность ЭПР

- ЭПР – электронный парамагнитный резонанс
- Резонансное поглощение электромагнитной энергии в сантиметровом или миллиметровом диапазоне длин волн веществами, содержащими парамагнитные частицы

Поглощение электромагнитного излучения имело избирательный (резонансный) характер => открытое явление получило название электронного парамагнитного резонанса.

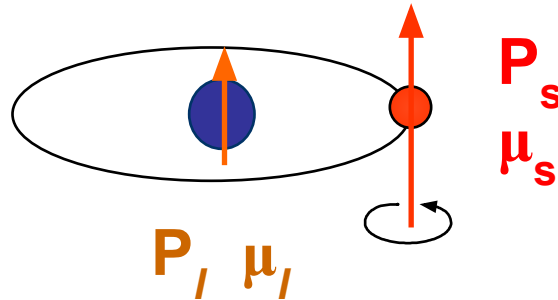
Условие возникновения ЭПР:

Наличие у частиц нескомпенсированных магнитных моментов, обусловленных спином неспаренных электронов

Электронный парамагнитный резонанс

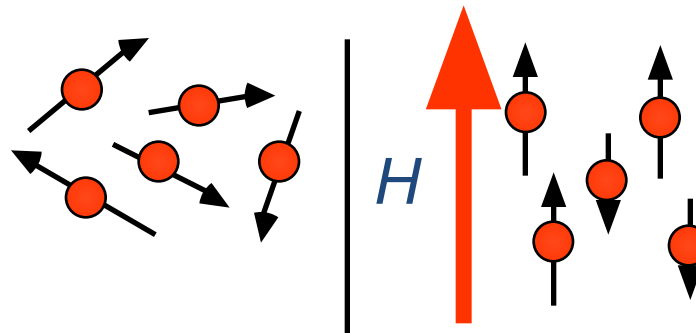
Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР, EPR, ESR) - один из основных прямых методов обнаружения и идентификации (изучения строения) **свободных радикалов** и комплексов **металлов переменной валентности**, имеющих **неспаренный электрон** на молекулярной орбитали.

В основе метода лежит резонансное поглощение электромагнитного излучения Атом водорода неспаренными электронами, помещенными в магнитное поле.



Ориентация электронных спинов в магнитном поле

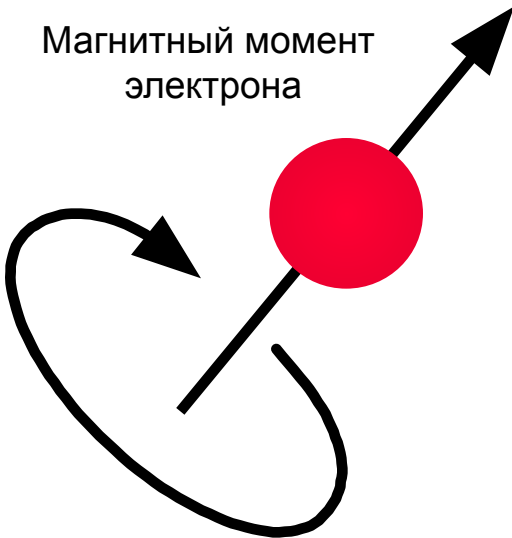
В отсутствие внешнего магнитного поля все механические и магнитные спиновые моменты электрона ориентированы случайным образом



В отсутствие магнитного поля

При включенном магнитном поле

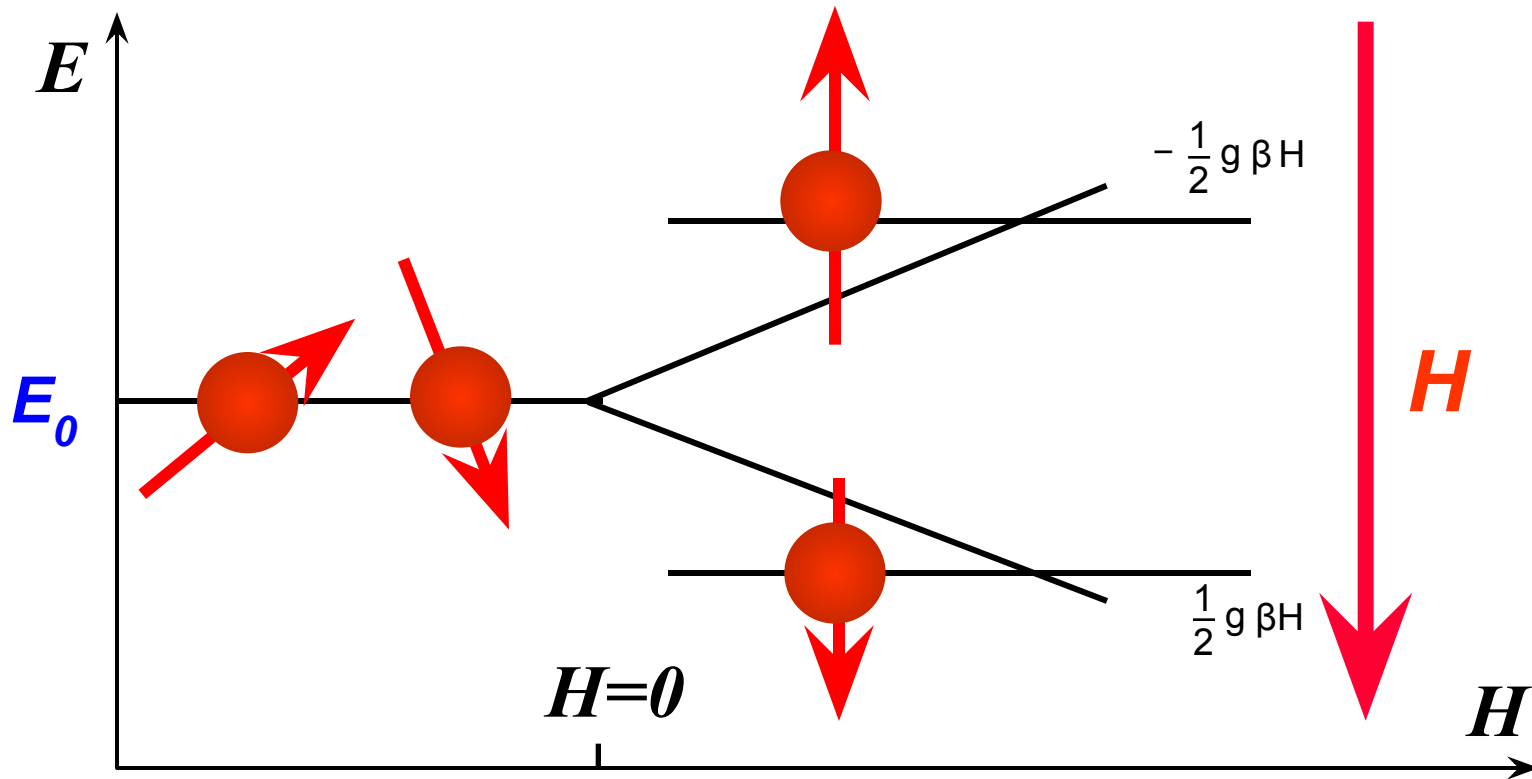
Магнитный момент электрона



В присутствии внешнего магнитного поля они могут быть ориентированы только двумя способами:

по полю или **против поля.**

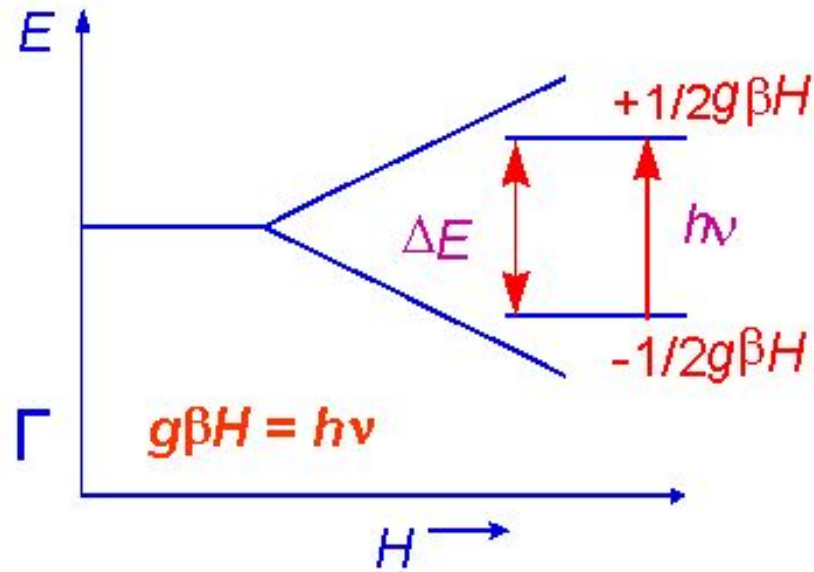
Расщепление энергетических уровней в магнитном поле (эффект Зеемана)



В отсутствие внешнего магнитного поля электроны ориентированы случайным образом и имеют практически одинаковую энергию (E_0)

При наложении магнитного поля магнитные моменты электронов ориентируются по полю или против поля. Их энергии изменяются, а энергетический уровень расщепляется на два.

Расщепление энергетических уровней электронов в магнитном поле (эффект Зеемана)



Энергия
электрона
в
магнитном
поле

$\Delta E = g\beta H$ - Разница энергии между уровнями

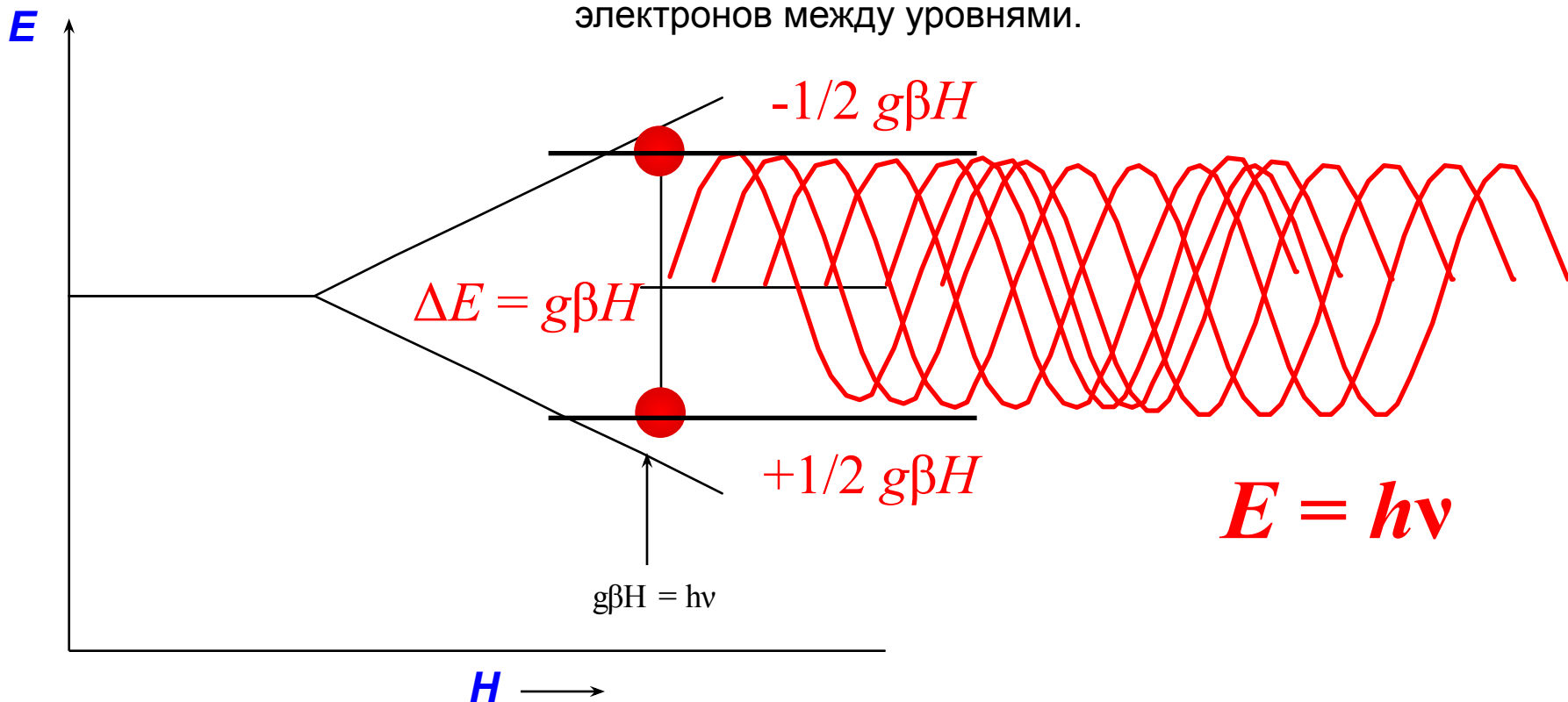
H - напряженность магнитного поля

β - магнетон Бора

g – фактор спектроскопического расщепления

Поглощение электромагнитных волн (явление ЭПР)

Система, где электроны распределены между двумя энергетическими уровнями, может **поглощать электромагнитное излучение**. При определенных значениях величины энергии падающего кванта ($h\nu$), будут происходить переходы электронов между уровнями.



Поглощение будет происходить при условии равенства энергий поглощаемого кванта и энергии перехода между уровнями, т.е. когда

$$h\nu = g\beta H$$

Это выражение называется – основным уравнением резонанса

ЭПР: парамагнитные частицы

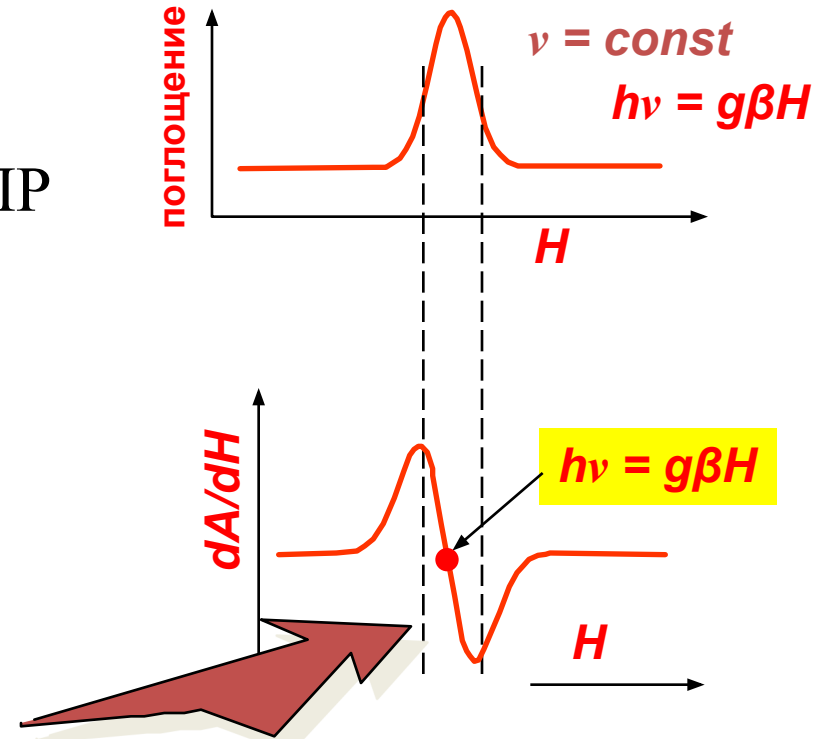
- Атомы и молекулы, как правило, с нечётным числом электронов
- Свободные радикалы
- Ионы с частично заполненными внутренними электронными оболочками
- Примесные атомы

Открытие ЭПР

- 1922 г. – первые соображения о возможности существования ЭПР
- 30-е гг. – первые попытки экспериментально обнаружить ЭПР
- Метод электронного парамагнитного резонанса был открыт в 1944 г. в Казанском Университете Е.К. Завойским. Он заметил, что монокристалл CuCl_2 , помещенный в постоянное магнитное поле поглощает радиоволны в микроволновом диапазоне.
- Пионерами применения ЭПР в биологических исследованиях в России были
- Л.А. Блюменфельд и А.Э. Калмансон (1958).

Что такое сигнал ЭПР ?

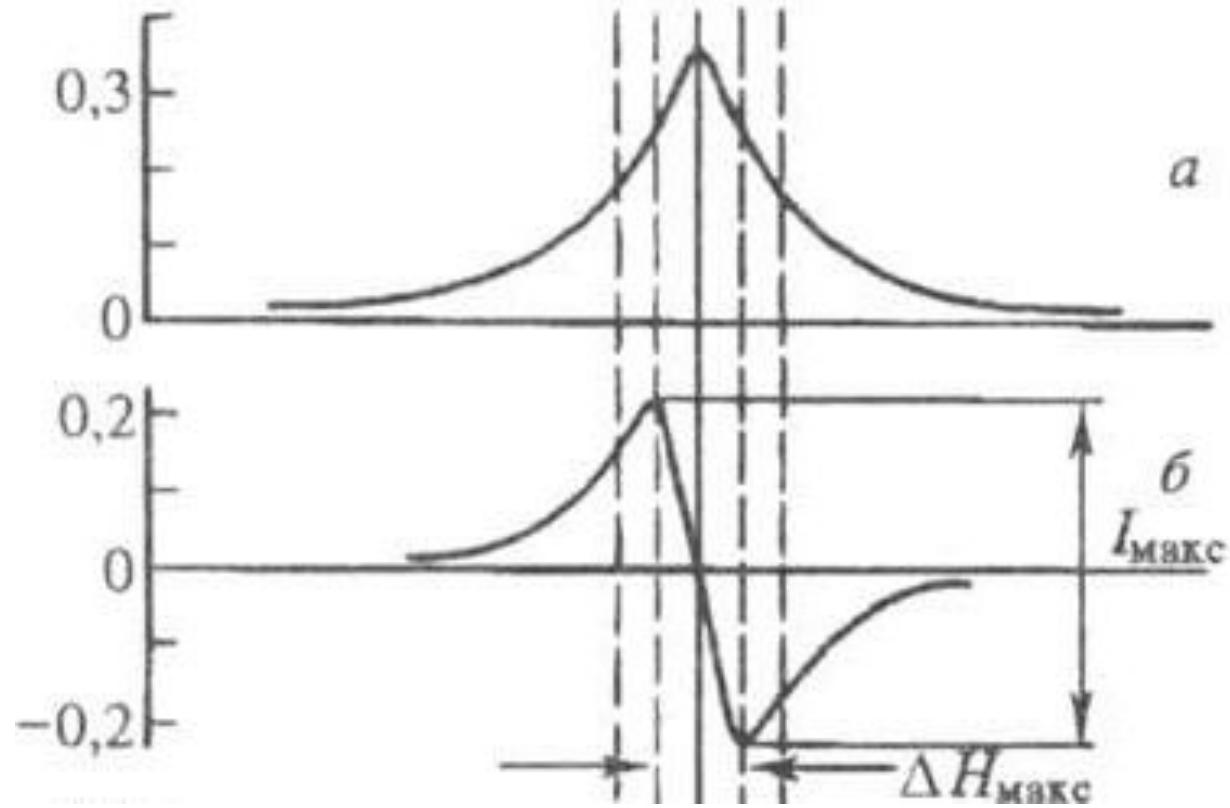
В результате усиления сигнала ЭПР (путем его модуляции) мы получаем не поглощение A , а - первую производную поглощения по полю dA/dH .



Вот это мы называем сигналом ЭПР

СПЕКТРЫ ЭПР

$I_{\text{погл}}$



$$I_{\text{погл}} = f(H)$$

$$V = \text{const}$$

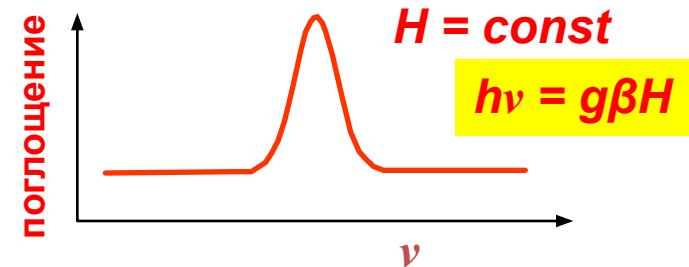
Первая производная dI/dH

dI/dH

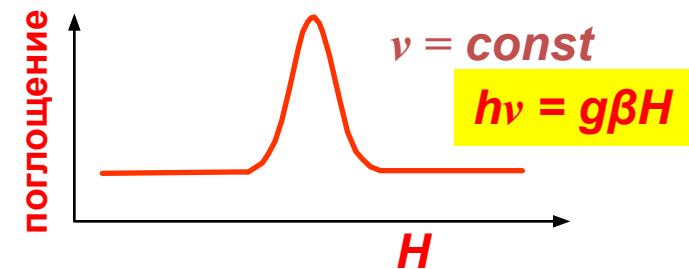
Как получить сигнал ЭПР ?

Поглощение электромагнитных волн в радиоспектрометре ЭПР можно определять двумя способами:

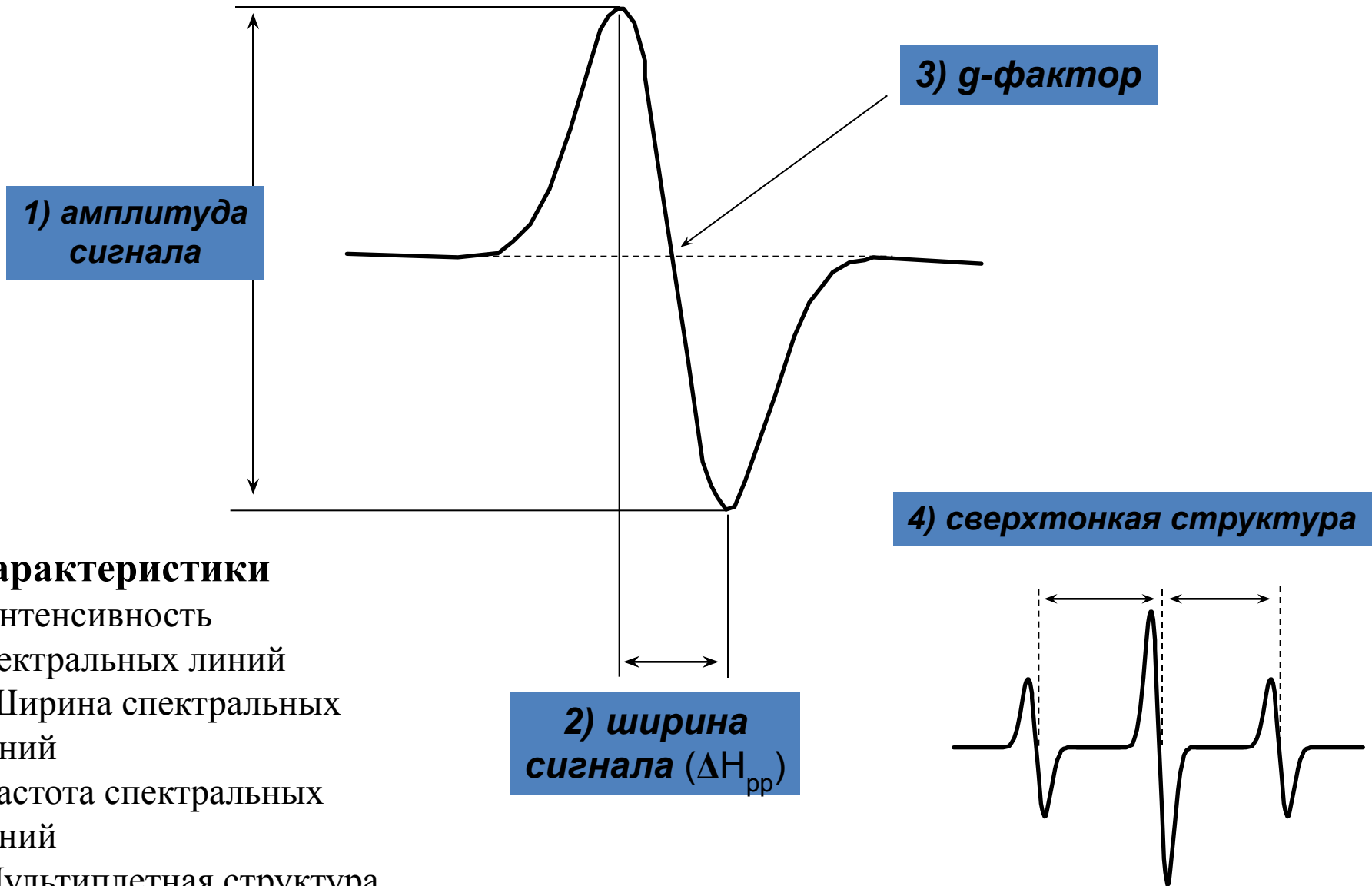
1 - При постоянном магнитном поле, мы можем **изменять частоту излучения**. Максимальное поглощение будет наблюдаться при резонансе, когда $h\nu = g\beta H$. При этом ожидаемый спектр будет таким:



2 - По техническим причинам мы поступаем по другому: мы используем микроволновое излучение при постоянной частоте волн и **изменяем магнитное поле**.

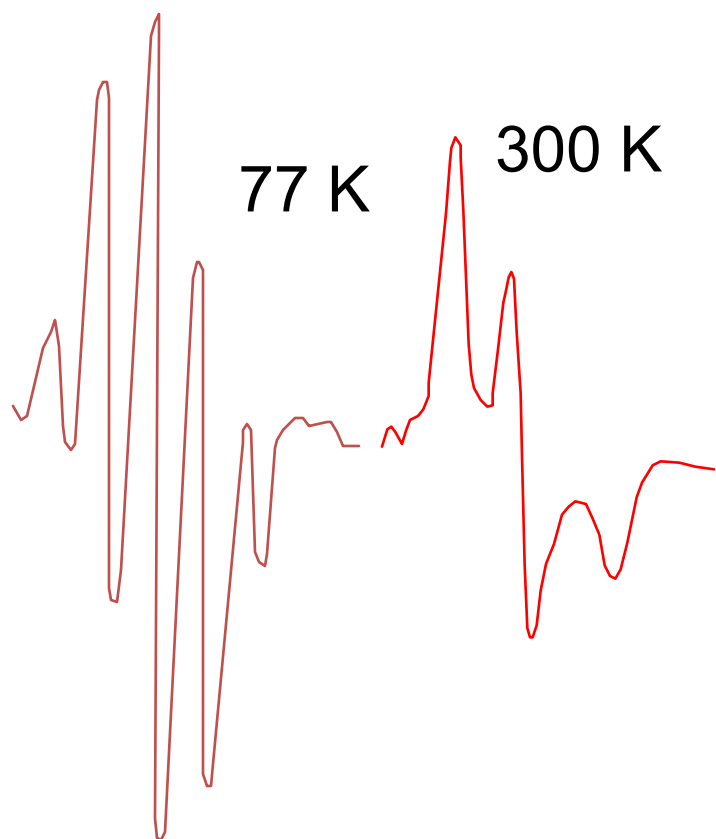


Основные характеристики сигнала ЭПР

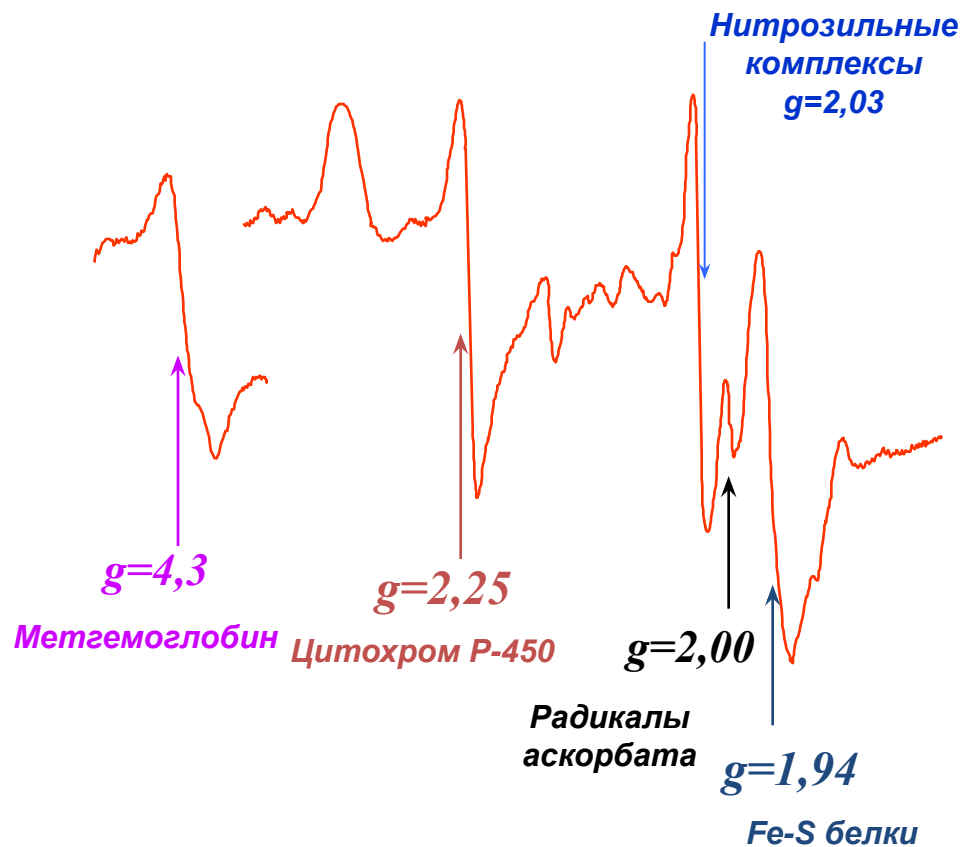


Примеры сигналов ЭПР

УФ облученный цистеин

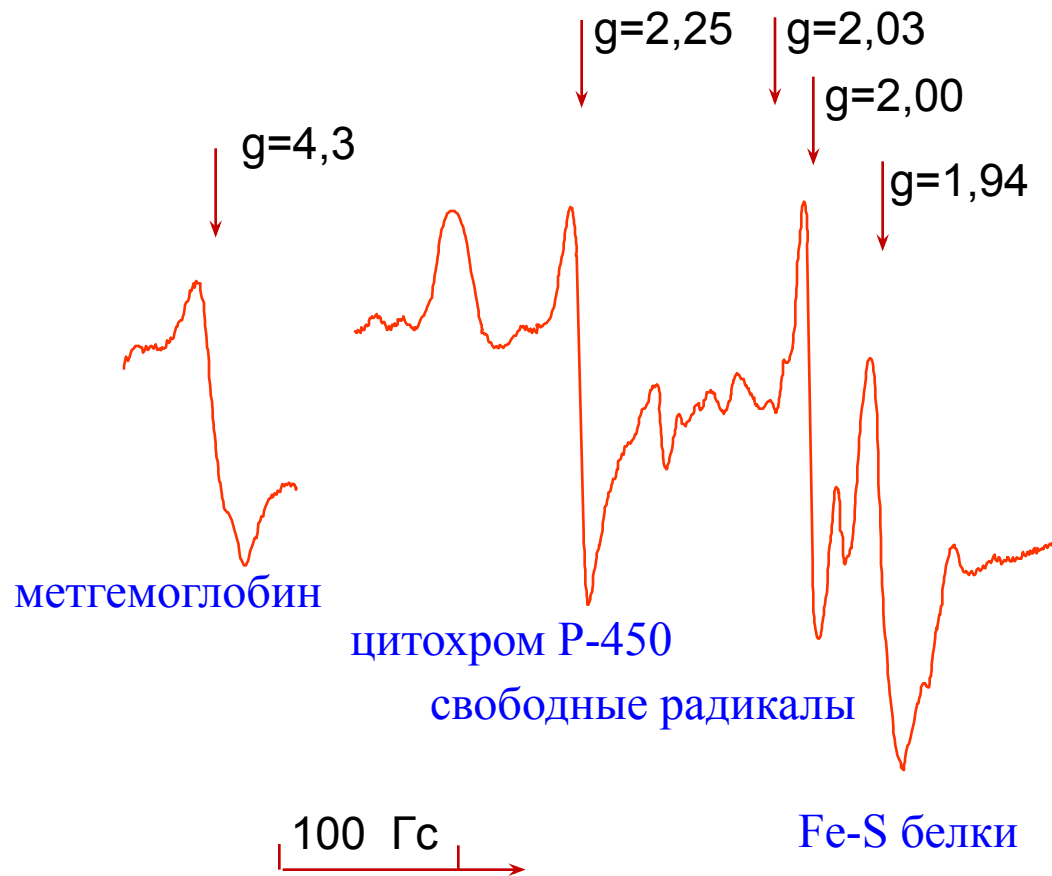


Печень крысы при 77 K



Спектр ЭПР печени крысы

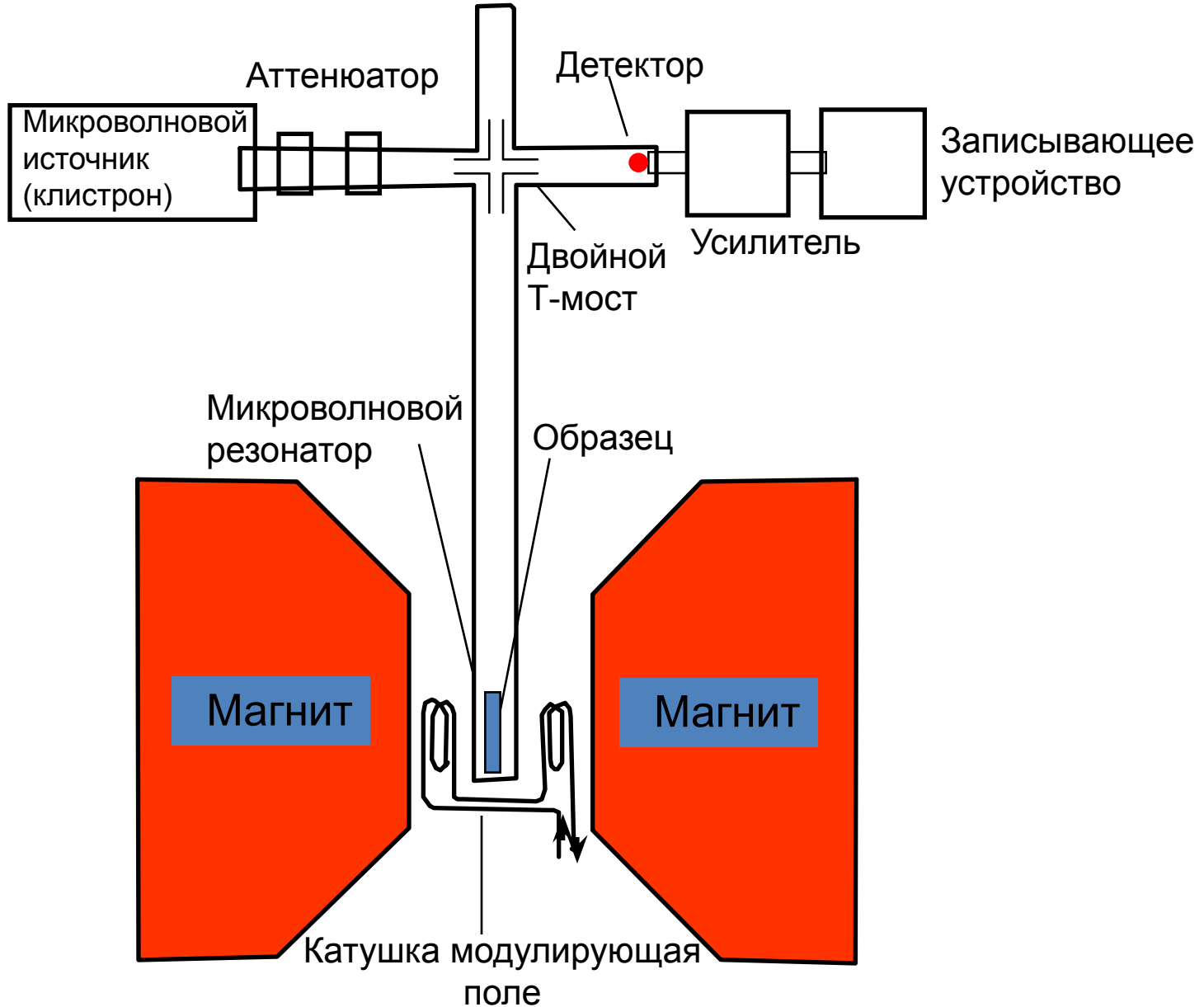
Если взглянуть на спектр ЭПР, например, печени крысы, то можно увидеть сигналы цитохрома Р-450, сигнал метгемоглобина и сигнал свободных радикалов, принадлежащий семихинонным радикалам аскорбиновой кислоты и флавинов. Благодаря коротким временам релаксации сигналы ЭПР металлопротеинов можно наблюдать только при низкой температуре, например, температуре жидкого азота (77 К).



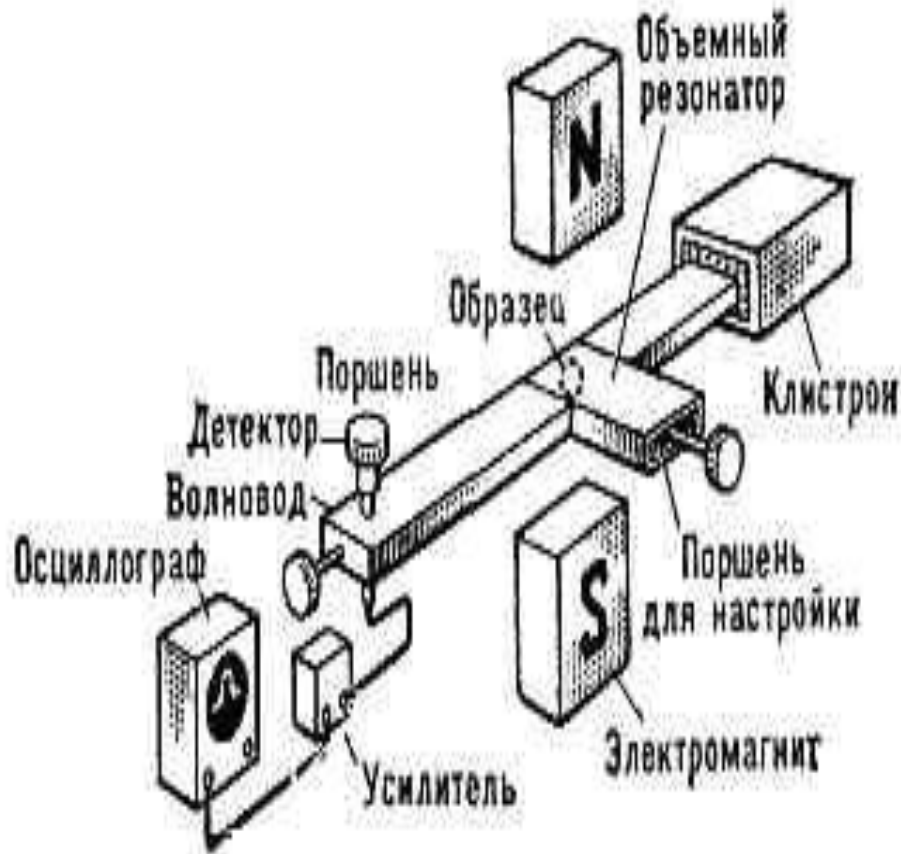
Спектрометры ЭПР: основные элементы

- Генератор электромагнитного излучения
- Волноводы
- Объемные резонаторы
- Электромагнит
- Детектор электромагнитного излучения
- Электронный усилитель сигнала
- Регистрирующее устройство

ЭПР спектрометр



Спектрометры ЭПР



Достоинства ЭПР - спектроскопии

- Более высокая чувствительность
- Возможность определять природу и концентрацию примесных атомов
- Возможность устанавливать модели образующихся вокруг примесей координационных многогранников и в итоге иметь информацию о реальной структуре
- Простота анализа спектров с помощью магнитных параметров на основе молекулярных структур
- Чувствительность спектральных характеристик к электронному распределению, молекулярной ориентации, природе окружения и молекулярным движениям

Применение ЭПР

- Биология: исследование макромолекулярных комплексов и субклеточных структур, клеток, отдельных органов животных и растений, а также целые организмы; изучение биоэнергетических систем
- Химия: изучение свободных радикалов; Изучение локализованных неспаренных электронов
- Другие применения: прогнозирование продуктивности скважин; восстановление хронологии извержений вулканов; определения скоростей поднятия гранитных массивов

Ультразвуковое исследование

- ◆ Ультразвуковое исследование (УЗИ) — неинвазивное исследование организма человека или животного с помощью ультразвуковых волн.





Физическая основа УЗИ — **пьезоэлектрический эффект**. При деформации монокристаллов некоторых химических соединений (кварц, титанат бария) под воздействием ультразвуковых волн, на поверхности этих кристаллов возникают противоположные по знаку электрические заряды — *прямой пьезоэлектрический эффект*. При подаче на них переменного электрического заряда, в кристаллах возникают механические колебания с излучением ультразвуковых волн. Таким образом, один и тот же пьезоэлемент может быть попеременно то приёмником, то источником ультразвуковых волн. Эта часть в ультразвуковых аппаратах называется акустическим преобразователем или датчиком.

- Ультразвук распространяется в средах в виде чередующихся зон сжатия и расширения вещества. Звуковые волны, в том числе и ультразвуковые, характеризуются периодом колебания — временем, за которое молекула (частица) совершает одно полное колебание; частотой — числом колебаний в единицу времени; длиной — расстоянием между точками одной фазы и скоростью распространения, которая зависит главным образом от упругости и плотности среды. Длина волны обратно пропорциональна её частоте. Чем меньше длина волн, тем выше разрешающая способность ультразвукового аппарата. В системах медицинской ультразвуковой диагностики обычно используют частоты от 2 до 10 МГц. Разрешающая способность современных ультразвуковых аппаратов достигает 1-3 мм.

- ◆ Ультразвуковые колебания при распространении *подчиняются законам геометрической оптики*. В однородной среде они распространяются прямолинейно и с постоянной скоростью. На границе различных сред с неодинаковой акустической плотностью часть лучей отражается, а часть преломляется, продолжая прямолинейное распространение. Чем выше градиент перепада акустической плотности граничных сред, тем большая часть ультразвуковых колебаний отражается. Так как на границе перехода ультразвука из воздуха на кожу происходит отражение 99,99 % колебаний, то при ультразвуковом сканировании пациента необходимо смазывание поверхности кожи водным желе, которое выполняет роль переходной среды. Отражение зависит от угла падения луча (наибольшее при перпендикулярном направлении) и частоты ультразвуковых колебаний (при более высокой частоте большая часть отражается).

- ◆ Для исследования органов брюшной полости и забрюшинного пространства, а также полости малого таза используется частота 2,5 — 3,5 МГц, для исследования щитовидной железы используется частота 7,5 МГц.
- ◆ Особый интерес в диагностике вызывает использование *эффекта Доплера*. Суть эффекта заключается в изменении частоты звука вследствие относительного движения источника и приемника звука. Когда звук отражается от движущегося объекта, частота отраженного сигнала изменяется (происходит сдвиг частоты).

- ◆ Генератором ультразвуковых волн является датчик, который одновременно играет роль приемника отраженных эхосигналов. Генератор работает в импульсном режиме, посылая около 1000 импульсов в секунду. В промежутках между генерированием ультразвуковых волн пьезодатчик фиксирует отраженные сигналы.

Ультразвуковой датчик

- ◆ В качестве детектора или трансдюсора применяется сложный датчик, состоящий из нескольких сотен мелких пьезокристаллических преобразователей, работающих в одинаковом режиме. В датчик вмонтирована фокусирующая линза, что дает возможность создать фокус на определенной глубине.

- ◆ **Линейные датчики** используют частоту 5-15 МГц. *Преимуществом* линейного датчика является полное соответствие исследуемого органа положению самого трансдюсора на поверхности тела. *Недостатком* линейных датчиков является сложность обеспечения во всех случаях равномерного прилегания поверхности трансдюсора к коже пациента, что приводит к искажениям получаемого изображения по краям. Также линейные датчики за счет большей частоты позволяют получать изображение исследуемой зоны с высокой разрешающей способностью, однако глубина сканирования достаточно мала (не более 11 см). Используются в основном для исследования поверхностно расположенных структур — щитовидной железы, молочных желез, небольших суставов и мышц, а также для исследования сосудов.

- ◆ **Конвексный датчик** использует частоту 1,8-7,5 МГц. Имеет меньшую длину, поэтому добиться равномерности его прилегания к коже пациента более просто. Однако при использовании конвексных датчиков получаемое изображение по ширине на несколько сантиметров больше размеров самого датчика. Для уточнения анатомических ориентиров врач обязан учитывать это несоответствие. За счет меньшей частоты глубина сканирования достигает 20-25 см. Обычно используется для исследования глубоко расположенных органов — органы брюшной полости и забрюшинного пространства, мочеполовой системы, тазобедренные суставы.

- ◆ **Секторный датчик** работает на частоте 1,5-5 МГц. Имеет ещё большее несоответствие между размерами трансдюсера и получаемым изображением, поэтому используется преимущественно в тех случаях, когда необходимо с маленького участка тела получить большой обзор на глубине. Наиболее целесообразно использование секторного сканирования при исследовании, например, через межреберные промежутки. Типичным применением секторного датчика является эхокардиография — исследование сердца.

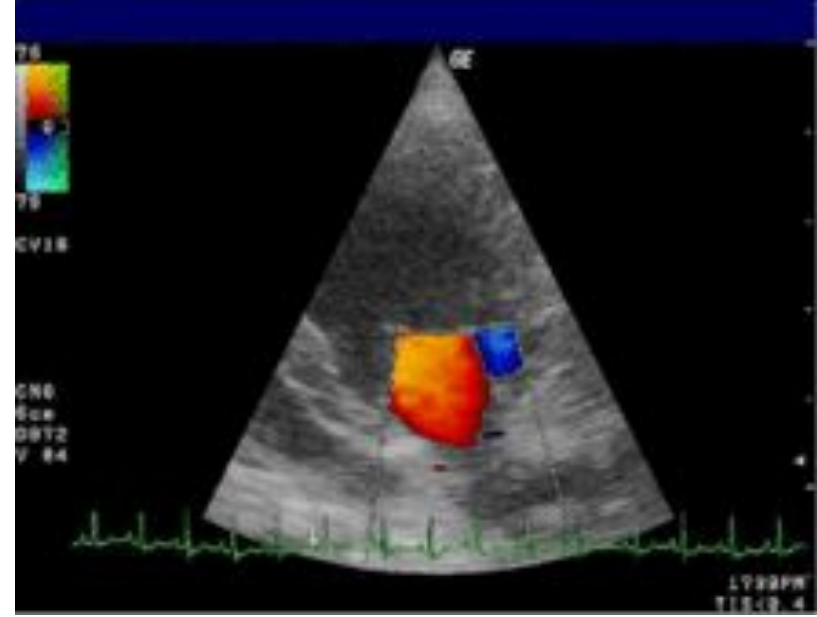
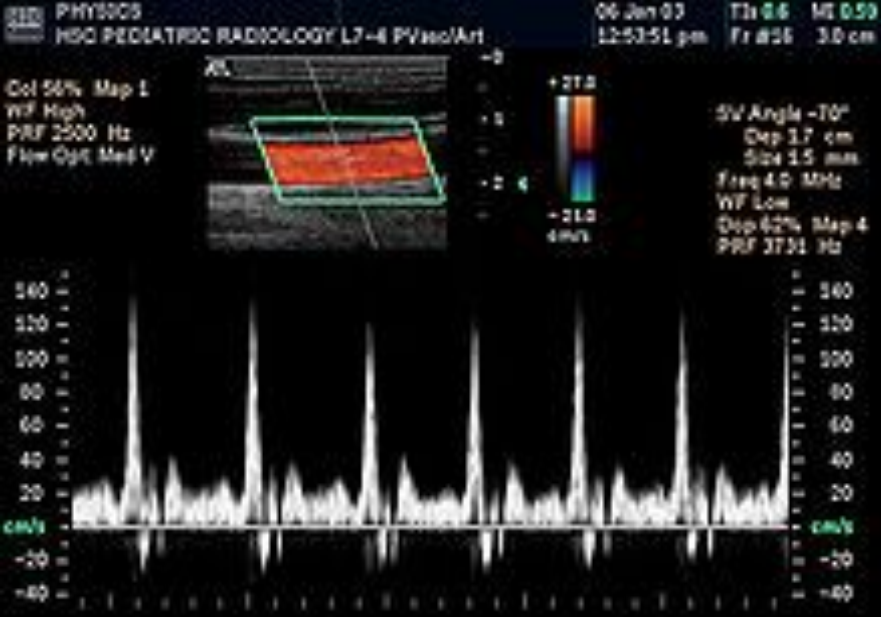


◆ Методики ультразвукового исследования

Отраженные эхосигналы поступают в усилитель и специальные системы реконструкции, после чего появляются на экране телевизионного монитора в виде изображения срезов тела, имеющие различные оттенки черно-белого цвета. Оптимальным является наличие не менее 64 градиентов цвета черно-белой шкалы. При позитивной регистрации максимальная интенсивность эхосигналов проявляется на экране белым цветом (эхопозитивные участки), а минимальная — чёрным (эхонегативные участки). При негативной регистрации наблюдается обратное положение. Выбор позитивной или негативной регистрации не имеет значения. Изображение, получаемое при исследовании, может быть разным в зависимости от режимов работы сканера. Выделяют следующие режимы:

А-режим. Методика даёт информацию в виде одномерного изображения, где первая координата, это амплитуда отраженного сигнала от границы сред с разным акустическим сопротивлением, а вторая расстояние до этой границы. Зная скорость распространения ультразвуковой волны в тканях тела человека, можно определить расстояние до этой зоны, разделив пополам (так как ультразвуковой луч проходит этот путь дважды) произведение времени возврата импульса на скорость ультразвука.

- ◆ **В-режим.** Методика даёт информацию в виде двухмерных серошкальных томографических изображений анатомических структур в масштабе реального времени, что позволяет оценивать их морфологическое состояние.
- ◆ **М-режим.** Методика даёт информацию в виде одномерного изображения, вторая координата заменена временной. По вертикальной оси откладывается расстояние от датчика до лоцируемой структуры, а по горизонтальной — время. Используется режим в основном для исследования сердца. Дает информацию о виде кривых, отражающих амплитуду и скорость движения кардиальных структур.



- ◆ Допплерография
- ◆ Спектральный Допплер Общей Каротидной Артерии
- ◆ Увеличенный компьютером Транскраниальный доплер



- ◆ **Допплерография** - методика основана на использовании эффекта Допплера. Сущность эффекта состоит в том, что от движущихся объектов ультразвуковые волны отражаются с измененной частотой. Этот сдвиг частоты пропорционален скорости движения лоцируемых структур — если движение направлено в сторону датчика, то частота увеличивается, если от датчика — уменьшается.

Потоковая спектральная доплерография (ПСД)

- ◆ Предназначена для оценки кровотока в относительно крупных сосудах и камерах сердца. Основным видом диагностической информации является спектрографическая запись, представляющая собой развертку скорости кровотока во времени. На таком графике по вертикальной оси откладывается скорость, а по горизонтальной — время. Сигналы, отображающиеся выше горизонтальной оси, идут от потока крови, направленного к датчику, ниже этой оси — от датчика. Помимо скорости и направления кровотока, по виду доплеровской спектрограммы можно определить характер потока крови: ламинарный поток отображается в виде узкой кривой с четкими контурами, турбулентный — широкой неоднородной кривой.

◆ **Непрерывная (постоянноволновая) ПСД**

Методика основана на постоянном излучении и постоянном приеме отраженных ультразвуковых волн. При этом величина сдвига частоты отраженного сигнала определяется движением всех структур на пути ультразвукового луча в пределах глубины его проникновения. Недостаток: невозможность изолированного анализа потоков в строго определенном месте. Достоинства: допускает измерение больших скоростей потоков крови.

◆ **Импульсная ПСД**

Методика базируется на периодическом излучении серий импульсов ультразвуковых волн, которые, отразившись от эритроцитов, последовательно воспринимаются тем же датчиком. В этом режиме фиксируются сигналы, отраженные только с определенного расстояния от датчика, которые устанавливаются по усмотрению врача. Место исследования кровотока называют контрольным объёмом. Достоинства: возможность оценки кровотока в любой заданной точке.

Цветовое доплеровское картирование (ЦДК)

- ◆ Основано на кодировании в цвете значения доплеровского сдвига излучаемой частоты. Методика обеспечивает прямую визуализацию потоков крови в сердце и в относительно крупных сосудах. Красный цвет соответствует потоку, идущему в сторону датчика, синий — от датчика. Темные оттенки этих цветов соответствуют низким скоростям, светлые оттенки — высоким. Недостаток: невозможность получения изображения мелких кровеносных сосудов с маленькой скоростью кровотока. Достоинства: позволяет оценивать как морфологическое состояние сосудов, так и состояние кровотока по ним.

Энергетическая доплерография (ЭД)

- ◆ Методика основана на анализе амплитуд всех эхосигналов доплеровского спектра, отражающих плотность эритроцитов в заданном объёме. Оттенки цвета (от темно-оранжевого к жёлтому) несут сведения об интенсивности эхосигнала. Диагностическое значение энергетической доплерографии заключается в возможности оценки васкуляризации органов и патологических участков. Недостаток: невозможно судить о направлении, характере и скорости кровотока. Достоинства: отображение получают все сосуды, независимо от их хода относительно ультразвукового луча, в том числе кровеносные сосуды очень небольшого диаметра и с незначительной скоростью кровотока.

Комбинированные варианты

- ◆ Применяются также и комбинированные варианты, в частности:
- ◆ ЦДК+ЭД — конвергентная цветовая доплерография
- ◆ В-режим УЗИ + ПСД (или ЭД) — дуплексное исследование

◆ **Трёхмерное доплеровское картирование и трёхмерная ЭД**

Методики, дающие возможность наблюдать объемную картину пространственного расположения кровеносных сосудов в режиме реального времени в любом ракурсе, что позволяет с высокой точностью оценивать их соотношение с различными анатомическими структурами и патологическими процессами, в том числе со злокачественными опухолями. В этом режиме используется возможность запоминания нескольких кадров изображения. После включения режима исследователь перемещает датчик или изменяет его угловое положение, не нарушая контакта датчика с телом пациента. При этом записываются серии двухмерных эхограмм с небольшим шагом (малое расстояние между плоскостями сечения). На основе полученных кадров система реконструирует псевдотрёхмерное изображение только цветной части изображения, характеризующее кровоток в сосудах. Поскольку при этом не строится реальная трехмерная модель объекта, при попытке изменения угла обзора появляются значительные геометрические искажения из-за того, что трудно обеспечить равномерное перемещение датчика вручную с нужной скоростью при регистрации информации. Метод позволяющий получать трёхмерные изображения без искажений, называется методом трёхмерной эхографии (3D).

◆ **Эхоконтрастирование**

Методика основана на внутривенном введении особых контрастирующих веществ, содержащих свободные микропузырьки газа (диаметром менее 5 мкм при их циркуляции не менее 5 минут). Полученное изображение фиксируется на экране монитора, а затем регистрируется с помощью принтера.

В клинической практике методика используется в двух направлениях.

◆ **Динамическая эхоконтрастная ангиография**

Существенно улучшается визуализация кровотока, особенно в мелких глубоко расположенных сосудах с низкой скоростью кровотока; значительно повышается чувствительность ЦДК и ЭД; обеспечивается возможность наблюдения всех фаз контрастирования сосудов в режиме реального времени; возрастает точность оценки стенотических поражений кровеносных сосудов.

Тканевое эхоконтрастирование

Обеспечивается избирательностью включения эхоконтрастных веществ в структуру определенных органов. Степень, скорость и накопление эхоконтраста в неизменённых и патологических тканях различны. Появляется возможность оценки перфузии органов, улучшается контрастное разрешение между нормальной и пораженной тканью, что способствует повышению точности диагностики различных заболеваний, особенно злокачественных опухолей.

Терапевтическое применение ультразвука в медицине. Помимо широкого использования в диагностических целях, ультразвук применяется в медицине как лечебное средство.

Ультразвук обладает действием:

- ◆ противовоспалительным, рассасывающим
- ◆ анальгезирующим, спазмолитическим
- ◆ кавитационным усилением проницаемости кожи

Фонофорез — сочетанный метод, при котором на ткани действуют ультразвуком и вводимыми с его помощью лечебными веществами (как медикаментами, так и природного происхождения). Проведение веществ под действием ультразвука обусловлено повышением проницаемости эпидермиса и кожных желез, клеточных мембран и стенок сосудов для веществ небольшой молекулярной массы, особенно — ионов минералов бишофита.

Удобство ультрафонофореза медикаментов и природных веществ:

- ◆ лечебное вещество при введении ультразвуком не разрушается
- ◆ синергизм действия ультразвука и лечебного вещества
- ◆ Показания к ультрафонофорезу бишофита: остеоартроз, остеохондроз, артриты, бурситы, эпикондилиты, пяточная шпора, состояния после травм опорно-двигательного аппарата; невриты, нейропатии, радикулиты, невралгии, травмы нервов.
- ◆ Наносится бишофит-гель и рабочей поверхностью излучателя проводится микро-массаж зоны воздействия. Методика лабильная, обычная для ультрафонофореза (при УФФ суставов, позвоночника интенсивность в области шейного отдела — 0,2-0,4 Вт/см², в области грудного и поясничного отдела — 0,4-0,6 Вт/см²).

- ◆ Ультразвуковое исследование в целом считается безопасным способом получения информации
- ◆ Отчёт 875 Всемирной организации здравоохранения за 1998 г. поддерживает мнение, что ультразвук безвреден: «Диагностическое ультразвуковое исследование плода признаётся безопасным, эффективным и в высокой степени гибким способом получением изображения, позволяющим выявить клинически существенную информацию о большинстве частей тела быстрым и рентабельным способом». Несмотря на отсутствие данных о вреде ультразвука для плода, Управление по контролю качества продуктов и лекарств (США) рассматривает рекламу, продажу или аренду ультразвукового оборудования для создания «видео плода на память», как нецелевое, несанкционированное использование медицинского оборудования.

Применение ультразвука для диагноза

при серьёзных повреждениях головы позволяет хирургу определить места кровоизлияний. При использовании переносного зонда можно установить положение срединной линии головного мозга примерно в течение одной минуты. Принцип работы такого зонда основывается на регистрации ультразвукового эха от границы раздела полушарий.

- ◆ Офтальмология
- ◆ Ультразвуковые зонды применяются для измерения размеров глаза и определения положения хрусталика.
- ◆ Внутренние болезни
- ◆ Ультразвуковое исследование играет важную роль в постановке диагноза заболеваний внутренних органов, таких как:
 - ◆ брюшная полость и забрюшинное пространство
 - ◆ Печень, жёлчный пузырь и желчевыводящие пути
 - ◆ поджелудочная железа, селезёнка, почки
 - ◆ органы малого таза
 - ◆ мочеточники
 - ◆ мочевого пузыря
 - ◆ предстательная железа

◆ **Преимущества проведения УЗИ**

- ◆ Ультразвуковая диагностика совершенно безвредна, и ее можно проводить так часто, как требуется. Это очень важно, особенно когда нужно знать, как реагирует организм на лечение. Рассмотрим причины, почему именно УЗИ-диагностику чаще всего используют для обследования детей:
- ◆ полное отсутствие радиации;
- ◆ УЗИ — безболезненная процедура, в ходе исследования не травмируется кожа, ребенку не надо вводить токсичное контрастное вещество;
- ◆ можно проводить многократно даже на протяжении одного дня;
- ◆ высокая достоверность полученной информации;
- ◆ быстрота исследования;
- ◆ не требует сложной подготовки, детей не нужно фиксировать