

讲 座

顺 磁 成 像

赵 保 路

(中国科学院生物物理研究所,北京)

提 要

顺磁 (ESR) 成像是正在发展的新技术。本文介绍了 ESR 成像的基本原理,应用现状和发展前景。ESR 成像在克服了目前技术上存在的一些困难之后,必然会迅速发展起来并得到广泛的应用。

关键词 顺磁共振 ESR 成像,体内 ESR

成像技术是科学研究的一个重要手段,也是医学上一个重要的诊断方法。如X光成像,核磁成像等,现在已经被广泛应用。但X光成像对人体有射线损伤。核磁(NMR)成像消除了X光成像这一缺点,但核磁成像的灵敏度低(NMR仅为ESR的1/1800),需要时间长,分辨率低(只有毫米数量级)。因而从八十年代初,不少先进国家的一些实验室开始发展ESR成像技术,现在已经取得了一些进展。现就ESR成像的基本原理,应用现状和未来发展作一介绍。

一、基本 原 理

顺磁成像是在顺磁共振波谱仪的基础上发展起来的。处于磁场中的顺磁性物质,其自旋能级将发生分裂,外加微波场到这一样品上,处于低能级上的电子吸收能量跃迁到高能级上,在ESR波谱仪上就可以观察到ESR波谱信号。ESR成像技术是在ESR波谱仪稳定磁场上又加上一个梯度磁场,使得处在磁场不同位置的顺磁性物质的ESR信号分开。然后根

据顺磁性物质的不同形状,做若干个投影。将这些资料输入计算机,作卷积的Fourier变换,将波谱转换为顺磁样品的图像。

1. ESR 成像仪的基本结构^[1]

图1中,微波振荡器,可以根据需要产生不

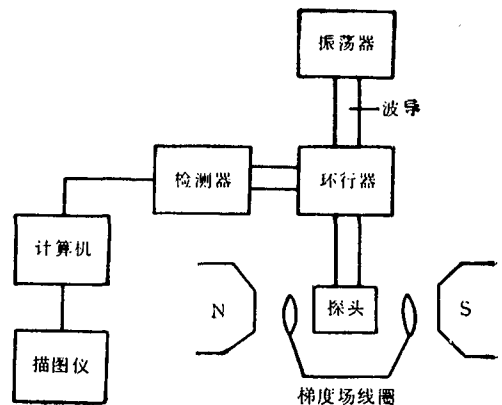


图1 ESR 成像仪的原理方框图

同频率的微波,如L波段频率大约为1.85GHz,X波段频率为9.5GHz。波导,用来传播微波。环行器,可以将波导传来的微波送到探头,再从探头接收到的信号传给检测器。探头,用以

探测磁场中的顺磁样品,产生 ESR 共振信号。N, S, 为产生磁场的电磁铁。检测器, 用来检测 ESR 共振信号。计算机系统, 用于实现 Fourier 变换等数据处理。描图仪, 用于成像的最后一步。

2. 梯度磁场的作用

在 NMR 成像和 ESR 成像中都需要一个梯度磁场。为什么一定需要这一梯度磁场呢? 在电子自旋共振时, 顺磁样品放在一个均匀磁场中。不论样品形状如何, 它们都处在同一大小的磁场中, 满足共振条件

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

所以只能在磁场为 $H_r = h\nu/g\beta$ 时, 观察到一个顺磁共振信号, 得不到有关该顺磁样品的大小和形状的信息。但是如果沿磁场方向加一个梯度为 $A(G)/mm$ 的磁场。在该方向上相距 $B mm$ 的 a, b 两点磁场强度将相差 $AB(G)$ 。处于 b 点和 a 点的同一顺磁样品的共振磁场分别为:

$$H_b = h\nu/g\beta = H_r,$$

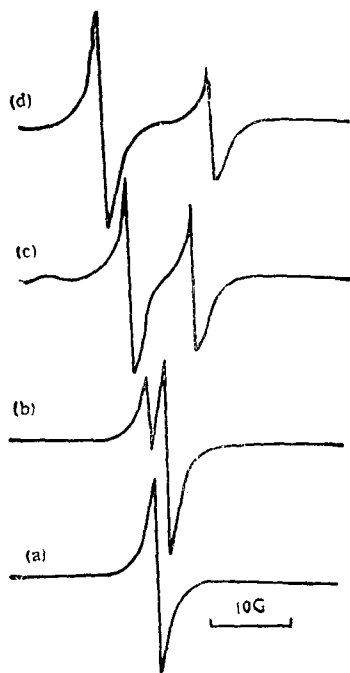


图2 DPPH 样品的 ESR 波谱

(a) 没有梯度场存在时的 ESR 信号; (b) (c) (d) 是施加了一个 $2.7 G/mm$ 梯度磁场后, 两 DPPH 样品分别相距 $0.9, 3.0$ 和 $5.0 mm$ 所得到的 ESR 波谱^[2]

$$H_a = h\nu/g\beta - AB = H_r - AB$$

显而易见, a 点的共振磁场比 b 点低 $AB(G)$ 。也就是说, 在 ESR 波谱上 a 点和 b 点分开了一定距离。图 2 为相距不同距离的几个 DPPH 样品在有和没有梯度场存在时的 ESR 波谱。由图可以看出, 在无梯度场存在时, 不论样品之间相距多远, 都只能得到一个信号。而加上梯度场后, 相距不同距离的样品就可以清楚地表现出来。由上式还可看出, 梯度场越大, 分辨率越好。但由图可以看出, 加梯度场后会使得 ESR 波谱明显加宽, 进而导致灵敏度下降。

3. 探头的选择

做 ESR 实验, 样品放在谐振腔中。由于样品体积和形状的不同, 做 ESR 成像实验, 要采用各种形式的探头。目前文献报道中多采用有行波螺旋天线^[3], 单圈平面环^[4]和裂环共振子^[5]等形式的探头。这几种探头各具优缺点。其中以单圈平面环灵敏度最高, 使用也方便。

单圈平面环与两条直线传输共振体系等价。在这两条传输线之间电磁能量是以驻波形式贮存的。在平面环的一端磁场最高。实验结果表明, 对频率在 $1.8-1.9 GHz$ 的微波, 平面环的直径约 $0.7 cm$, 两线间隙约 $0.8 mm$, 直线长约 $4.1 cm$ 为最佳尺寸。其结构如图 3 所示。这种探头可以浸在样品中, 插入导管中或直接放到样品表面。

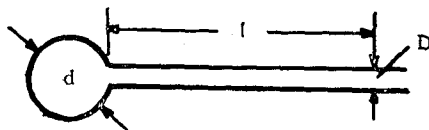


图3 单圈平面环探头示意图

微波频率为 $1.8-1.9 GHz$ 时, 环直径 d 为 $0.7 cm$, 两线间隙 D 为 $0.8 mm$, 线长 l 为 $4.1 cm$, 灵敏度最大^[4]

4. 利用卷积差(Convolution Difference)提高分辨率^[6]。

做 ESR 成像时, 由于 ESR 波谱的固有线宽和超精细分裂, 使得谱线迭加, 造成分辨率降低, 使分析复杂化。利用卷积差方法可以提高分辨率。其原理和过程为, 对一个罗伦兹谱线, Fourier 变换时乘上 e^{-at} (这里 a 为常数, t

为时间), 其结果仍为罗伦兹线型 $L(a)$; 同样用 e^{bt} 做 Fourier 变换得另一罗伦兹线型 $L(b)$ 。 $L(b)$ 减 $L(a)$ 可得一变窄的谱线 L ,

$$L = L(b) - L(a) = [F_b(t) \times e^{-bt}] - [F_a(t) \times e^{-at}]$$

$F_a(t)$ 和 $F_b(t)$ 是 ESR 波谱积分线的 Fourier 变换, $[\]$ 表示 Fourier 变换操作。再经过滤波和反投影将信号重新建立起来。经卷积差处理之后, 谱线明显变窄, 重叠减少。图 4 表示氮氧自由基超精细分裂两个低场峰积分谱经卷积差处理前后的情况。由图可以清楚地看出卷积差的功能。卷积差前, 谱线很宽, 相互重叠, 经过卷积差, 谱线变窄, 两谱线分开。这就大大提高了 ESR 成像的分辨率。

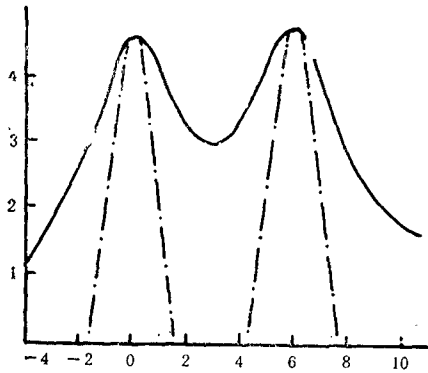


图 4 用卷积差处理前(实线)后(虚线)的 ESR 波谱的积分线^[9]

5. 利用弛予时间和翻转角度梯度法的 ESR 成像

除了上面描述的利用连续波 ESR 信号和外加梯度磁场做 ESR 成像外, Eaton 实验室又发展了利用自旋回波检测和弛予时间及翻转角度梯度法实现的 ESR 成像^[7,8,9]。和前面介绍的 ESR 成像不同的是, 在此用 $90^\circ-\tau-180^\circ-\tau$ 回波序列形成两个脉冲自旋回波。用该方法得到的 ESR 成像与 τ 值的大小有关。当 τ 值小时 (如 $\tau = 300\text{ns}$), 具有短自旋弛予时 T_2 的样品信号很强, 随着 τ 值的增加 (如 $\tau > 2000\text{ns}$), 样品信号就减小到零。利用这一方法, 通过改变 τ 值实现对具有不同弛予时间样品的成像。同样利用自旋晶格弛予时间 T_1 , 通过

$180^\circ-\tau-90^\circ-T-180^\circ-T$ 回波形成三个脉冲自旋回波实现 ESR 成像。在这个脉冲序列中, 磁化强度被第一个脉冲反转, 改变 τ 值, 通过一个标准二脉冲回波取样磁化强度的 Z 分量。使用不同 τ 值, 得到具有不同 T_1 样品的 ESR 成像。利用这种方法, 他们成功地得到具有不同弛予时间的煤、辐照的石英玻璃, 氮氧自由基的 ESR 成像。另外他们还发展了波谱空间三维 ESR 成像。这样既可以看到顺磁样品在空间的分布情况, 同时还可以清楚地看到顺磁样品的超精细分裂^[10]。

二、ESR 成像应用现状

ESR 成像是八十年代初发展起来的。虽然有了很大发展, 但仍有很多工作处于方法和技术的摸索阶段, 如提高分辨率的卷积差方法等。在已经建立起来的有关方法的基础上, 开展了一些应用研究。目前的多数应用是在一些模型体系上开展的。下面举几个例子说明一下目前 ESR 成像应用的现状。

1. 用 ESR 成像研究聚丙烯酰胺胶体中的扩散过程

将圆柱形聚丙烯酰胺胶体放入氮氧自由基 TEMPOL 溶液中 5 min, 拿出擦干后, 再放入玻璃管中。将玻璃管放在单圈平面环中。通过旋转作九个穿过横截面的投影。用 Fourier 变换, 卷积差和滤波反投影得到二维成像。图 5 表示 5 mmol/L TEMPOL 溶液在直径为 5 mm 9% 聚丙烯酰胺胶体横截面上扩散了 9 min, 19 min, 39 min 和 60 min 的 ESR 波谱轮廓图的成像。由图可以看出 TEMPOL 在这种胶体中扩散的快慢和均匀性。同样将 5mmol/L TEMPOL 溶液放在聚丙烯酰胺胶体柱的中心, 可以得到 TEMPOL 由内向外扩散的成像图。由此图计算的扩散常数 $D = 3.7 \pm 0.7 \times 10^{-6}\text{cm}^2/\text{s}$ 。这是和 TEMPOL 分子在该胶体中自由运动相一致的^[11]。将 TEMPOL 溶液放在胶体的一侧, 可以得到 TEMPOL 在该胶体中不均匀扩散的 ESR 成像。该工作的方法和原理可以推广应用用于一些神经组织和其它生物材料上去^[12]。

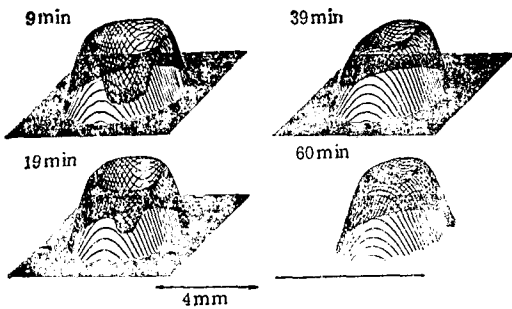


图5 5 mmol/L TEMPOL 溶液在聚丙烯酰胺中扩散的横截面的 ESR 成像

2. 用 ESR 成像非损伤性地研究固体高分子材料的溶胀和扩散

用包含 5—10 mmol/L TEMPOL 的 DMF/水和甲苯/DMF 分别溶胀聚苯乙烯和聚碳酸酯。在 L 波段 (1.6 GHz) 利用单圈平面环探头,取九个投影。用卷积差提高分辨率。ESR 成像表明,用纯水作溶剂时,这两种材料都不溶胀,TEMPOL 也不能进入这两种材料。随着有机溶剂比例的增加,这两种材料溶胀加快,TEMPOL 进入速率加大。当高分子棒是均匀没有任何损伤时,其 ESR 成像就是均匀的。当有裂痕时,经溶胀后,其 ESR 成像就是不均匀的^[13]。这样用 ESR 成像就可以观察和探测高分子材料的内部结构和损伤情况。还可以用它检测固体高分子材料中配料的均匀性,跟踪颜料在固体高分子材料中的迁移情况。ESR 成像为高分子化学和高分子物理研究提供了一个非损伤性的有效方法。

3. 固体缺陷中心的 ESR 成像

天然钻石中的顺磁 P_1 中心是由氮杂质引起的。很适合作 ESR 成像。成像结果发现这些 P_1 中心主要集中在钻石的边缘^[14]。辐照也可以在钻石中产生顺磁中心,用 ESR 成像检测辐照在钻石中引起的损伤。X 辐照石英形成的空穴中心可以产生一个 $g = 2.003$ 的 ESR 信号。用这一信号得到了与石英管形状很相符的 ESR 成像^[14]。另外用辐照磷酸钙可以捕集住氢原子。用捕集的氢原子也得到了很清晰的 ESR 成像^[14]。

我在 Berliner 教授实验室工作期间,他们

正将 ESR 成像技术用在检测动物身体上的肿瘤组织。他们已经得到长在大鼠尾部肿瘤的清晰图像。

三、发展前景

ESR 成像目前正处在一个活跃的发展时期。在成像的方法和技术方面不断有新的设想和设备提了出来。从方法学来看,主要有两种 ESR 成像,一是用连续波的 ESR 成像,二是用脉冲回波检测的弛豫时间 ESR 成像。在数据处理上都采用了卷积的 Fourier 变换和去卷积的反变换,从而得到 ESR 成像。为了克服 X 波段对样品体积的限制和由水引起的热效应。现在已经建立起一些 L 波段 ESR 波谱仪。这就为 ESR 成像在体内的应用开通了道路。因为在 L 波段,样品尺寸可以很大,甚至整个动物和人体都可以放入。另外 L 波段微波的热效应大大减小,使得体内 ESR 成像成为可能。发展体内 ESR 成像是 ESR 成像研究的一个重要应用目标。但目前一个主要困难是体内没有足够高浓度的顺磁性物质。NMR 成像的灵敏度虽然没有 ESR 成像高,但体内却有浓度足够高的 H(约 110 mol/L)。要做体内 ESR 成像,需要向体内注入一种顺磁性物质(如氮氧自由基)。这样就出现两个问题,一是这些顺磁性物质是否对机体有毒;二是这些顺磁性物质在体内是否稳定。如果能找到一种稳定又无毒的顺磁性物质,将使体内 ESR 成像向前大大迈进一步。ESR 成像的另外一个应用领域就是研究高分子材料的结构和一些有机材料在材料中的扩散。这项研究目前已经在一些领域开始应用。今后必将会得到更多的研究成果。

最后应当指出,ESR 成像在我国已经有了发展。武汉大学正在研究 L 波段 ESR 成像装置。吉林大学正在用 ESR 成像方法研究氮氧自由基在材料中的扩散。

参 考 文 献

- 1 Nishikawa H *et al.* *J Magn Reson*, 1985; 62: 79

(下转第 289 页)

性质有关。然而捕捉的自由基信号强度还与AM本身的浓度密切相关(图3)。AM浓度过高反而不利于自由基信号的捕捉。人血白细胞也有类似的现象。这可能是由于测试体系中细胞密度过大,从而淬灭了一部分自由基信号的缘故。由此说明实验中选择细胞的最佳测试浓度是十分重要的。

参 考 文 献

1 Gordon S In: Marfred L Karnovsky *et al* eds, *Phagocytosis-past and future*, 1982: 287—293
 2 Campbell PA. *J Leukocyte Biology*, 1984; 36: 293
 3 Rinshert IJ. *J Lab Clin Med*, 1979; 93(3): 361

4 Hume DA, Gordon S. *Life Chem Repts*, 1982; 1: 1
 5 Babior BM, Kipnes RS, Curnutte JT. *J Clin Invest*, 1973; 52: 741
 6 Buettner GR, Oberley LW. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1978; 83(1): 69
 7 Rosen H, Klebanoff SJ. *J Clin Invest*, 1979; 64: 1725
 8 Bannister JV, Bellavite P, Serra MC *et al*. *FEBS Letters*, 1982; 145: 323
 9 Coloeick SP, Kaplan NO. *Methods in enzymology*, Orlando San Diego San Francisco New York London Toronto Montreal Sydney Tokyo San Paulo, 1984; 105: 232
 10 Brain JD, Frank R. *J Applied Physiology*, 1973; 34(1): 75
 11 Green MR, Hill HAO, Okolw-Zubkiwska MJ *et al*. *FEBS Letters*, 1979; 100: 23

[本文于1989年5月20日收到]

STUDY OF THE PRODUCTION OF HYDROXYL RADICAL BY STIMULATED ALVEOLAR MACROPHAGES OF RAT WITH ESR SPECTROSCOPY

Hu Lianping Sun Cunpu Cong Jianbo Gong Yifen Wu Ke Wu Dechang
 (Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Science, Beijing)

ABSTRACT

The characterizations of oxygen radicals released from alveolar macrophages (AM) of rats and related measurement conditions were observed with the technique of ESR in this experiment. The results were summarized as follows.

1. Of PMA, BCG, ConA and cis-platinum, the first two stimulated AM to produce hydroxyl radical.
2. AM stimulated by different agents had different kinetics of the release of the hydroxyl radical. The release peak from AM appeared at min. two after stimulating AM with PMA, with BCG the release peak delayed obviously.
3. 5×10^7 AM/ml proved the fit concentration for trapping the signal of the hydroxyl radical from AM in this experiment.
4. There was a great influence of DETAPAC or EDTA on the intension of the signal.

Key words macrophage, free radicles

(上接第280页)

2 Eaton S S, Eaton G R. *J Magn Reson*, 1984; 59: 477
 3 Feldmen A *et al*. *Phys Med Biol*, 1975; 20: 602
 4 Froncisz W, Hyde J S. *J Magn Reson*, 1982; 47: 55
 5 Hardy W N, Whitehead L A. *Rev Sci Instrum*, 1981: 52: 213
 6 Fujii H, Berliner L J. *J Magn Reson*, 1986; 69: 68
 7 Eaton G R, Eaton S S. *J Magn Reson*, 1986; 67: 73
 8 Eaton G R, Eaton S S. *J Magn Reson*, 1987; 71: 271
 9 Eaton G R, Eaton S S. *J Magn Reson*, 1986; 67: 561

10 Maltempo M M *et al*. *J Magn Reson*, 1987; 72: 449
 11 Berliner L J, Fujii H. *J Magn Reson*, 1986; 69: 68
 12 Cleary D A *et al*. *J Magn Reson*, 1988; 79: 474
 13 Berliner L J *et al*. *J Polymer Sci*, 1986; 24: 587
 14 Zommerfelds W, Hoch M J R. *J Magn Reson*, 1986; 67: 177

[本文于1989年6月16日收到]