

**ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ
ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΑΚΟΥ ΠΑΡΑΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ
ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (EPR)**

Τι μελετάμε;

- Ελεύθερες ρίζες σε στερεά, υγρά ή αέρια
- Άτομα με μη συμπληρωμένη εξωτερική στοιβάδα (H, N) ή μόρια με ασύζευκτα e
- Ιόντα των μετάλλων μετάπτωσης που μπορεί να έχουν και μέχρι 5 ή 7 ασύζευκτα e
- Μέταλλα και ημιαγωγούς με ασύζευκτα e στην ζώνη αγωγιμότητας
- Ασύζευκτα ηλεκτρόνια που έχουν συνήθως μικρό χρόνο ζωής αλλά έχουν σημαντικό ρόλο σε αντιδράσεις (π.χ οξείδωσης, κατάλυσης, πολυμερισμού και φωτοσύνθεσης)

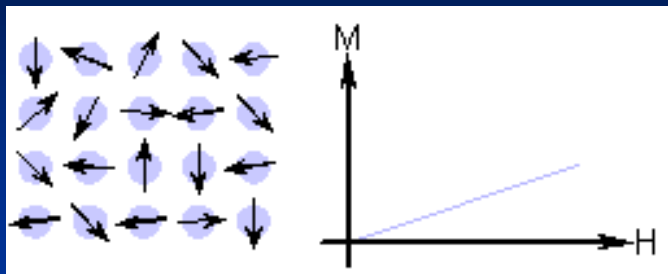
Μετρήσιμες φυσικές ποσότητες

- Διαφορά ενέργειας μεταξύ καταστάσεων spin
- Πυρηνικές σταθερές «hyperfine coupling»

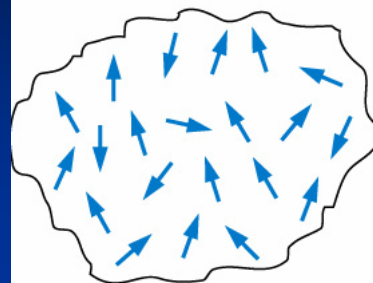
Διαθέσιμες πληροφορίες

- Κατάσταση spin , S , του παραμαγνητικού κέντρου
- Μέγεθος των «υπέρλεπτων» αλληλεπιδράσεων
- Zero-field splitting of half-integer $S > 1/2$ states
- Πιθανή ταυτότητα του παραμαγνητικού κέντρου
(free radical; metals in metal cluster)
- Πιθανή ταυτότητα των υποκαταστατών

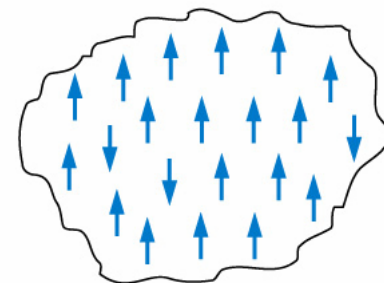
- Υπαρξη σήματος
 - Από ποια είδη?
 - Εξάρτηση από τη χημική δόμη
- Μορφή γραμμών σήματος
 - Εξάρτηση από το φυσικό περιβάλλον (κίνηση)
- g-value – χαρακτηριστικό των χημικών ειδών
- Spin-spin coupling – σύζευξη πυρήνα ηλεκτρονίων
- Spin-spin coupling – σύζευξη μεταξύ ηλεκτρονίων
- Χρόνοι αποδιέγερσης
- Ενταση σήματος – ποσοτική αναλυτική μέθοδος



Magnetic field absent



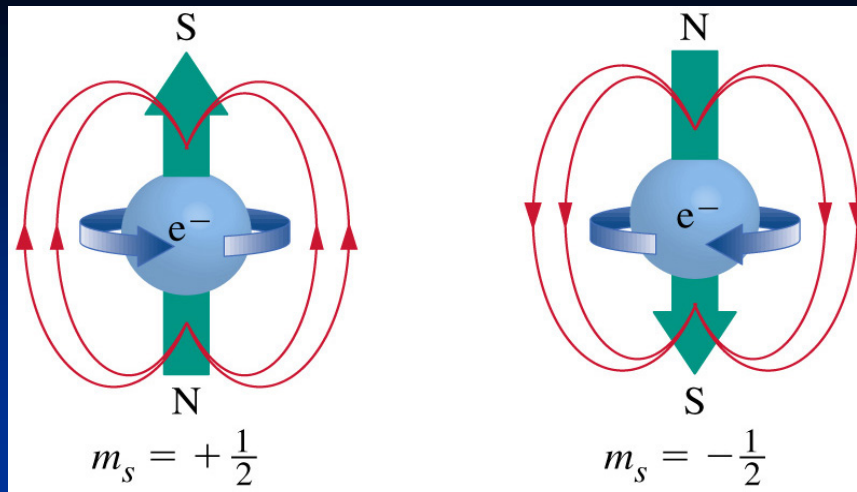
In presence of magnetic field



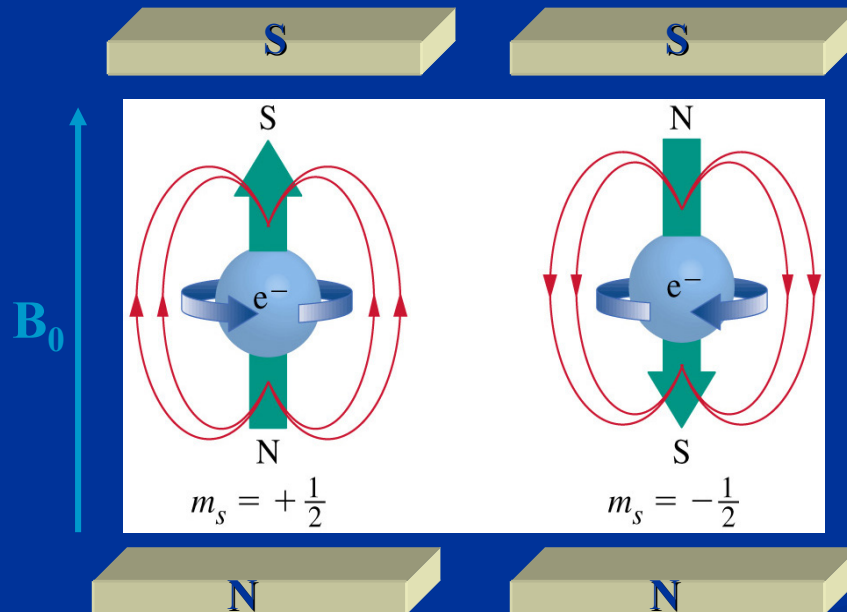
Paramagnetism

1 H																	2 He																																																																																																																																																																			
Ferromagnetic Antiferromagnetic <tr><td colspan="18"> Paramagnetic Diamagnetic </td></tr> <tr><td>3 Li</td><td>4 Be</td><td colspan="16"></td><td>5 B</td><td>6 C</td><td>7 N</td><td>8 O</td><td>9 F</td><td>10 Ne</td></tr> <tr><td>11 Na</td><td>12 Mg</td><td colspan="16"></td><td>13 Al</td><td>14 Si</td><td>15 P</td><td>16 S</td><td>17 Cl</td><td>18 Ar</td></tr> <tr><td>19 K</td><td>20 Ca</td><td>21 Sc</td><td>22 Ti</td><td>23 V</td><td>24 Cr</td><td>25 Mn</td><td>26 Fe</td><td>27 Co</td><td>28 Ni</td><td>29 Cu</td><td>30 Zn</td><td>31 Ga</td><td>32 Ge</td><td>33 As</td><td>34 Se</td><td>35 Br</td><td>36 Kr</td></tr> <tr><td>37 Rb</td><td>38 Sr</td><td>39 Y</td><td>40 Zr</td><td>41 Nb</td><td>42 Mo</td><td>43 Tc</td><td>44 Ru</td><td>45 Rh</td><td>46 Pd</td><td>47 Ag</td><td>48 Cd</td><td>49 In</td><td>50 Sn</td><td>51 Sb</td><td>52 Te</td><td>53 I</td><td>54 Xe</td></tr> <tr><td>55 Cs</td><td>56 Ba</td><td>57 La</td><td>72 Hf</td><td>73 Ta</td><td>74 W</td><td>75 Re</td><td>76 Os</td><td>77 Ir</td><td>78 Pt</td><td>79 Au</td><td>80 Hg</td><td>81 Tl</td><td>82 Pb</td><td>83 Bi</td><td>84 Po</td><td>85 At</td><td>86 Rn</td></tr> <tr><td>87 Fr</td><td>88 Ra</td><td>89 Ac</td><td colspan="15"></td><td colspan="6"></td></tr> <tr><td colspan="3"></td><td>58 Ce</td><td>59 Pr</td><td>60 Nd</td><td>61 Pm</td><td>62 Sm</td><td>63 Eu</td><td>64 Gd</td><td>65 Tb</td><td>66 Dy</td><td>67 Ho</td><td>68 Er</td><td>69 Tm</td><td>70 Yb</td><td>71 Lu</td><td colspan="2"></td></tr>																		Paramagnetic Diamagnetic																		3 Li	4 Be																	5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne	11 Na	12 Mg																	13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar	19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr	37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe	55 Cs	56 Ba	57 La	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn	87 Fr	88 Ra	89 Ac																									58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu		
Paramagnetic Diamagnetic																																																																																																																																																																																				
3 Li	4 Be																	5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne																																																																																																																																																													
11 Na	12 Mg																	13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar																																																																																																																																																													
19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr																																																																																																																																																																			
37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe																																																																																																																																																																			
55 Cs	56 Ba	57 La	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn																																																																																																																																																																			
87 Fr	88 Ra	89 Ac																																																																																																																																																																																		
			58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu																																																																																																																																																																				

Περιοδικός πίνακας που παρουσιάζει το είδος της μαγνητικής συμπεριφοράς του κάθε στοιχείου σε T δωμάτιου

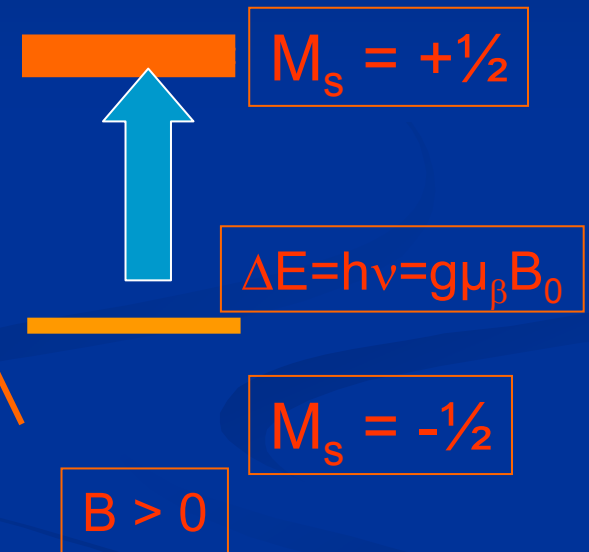
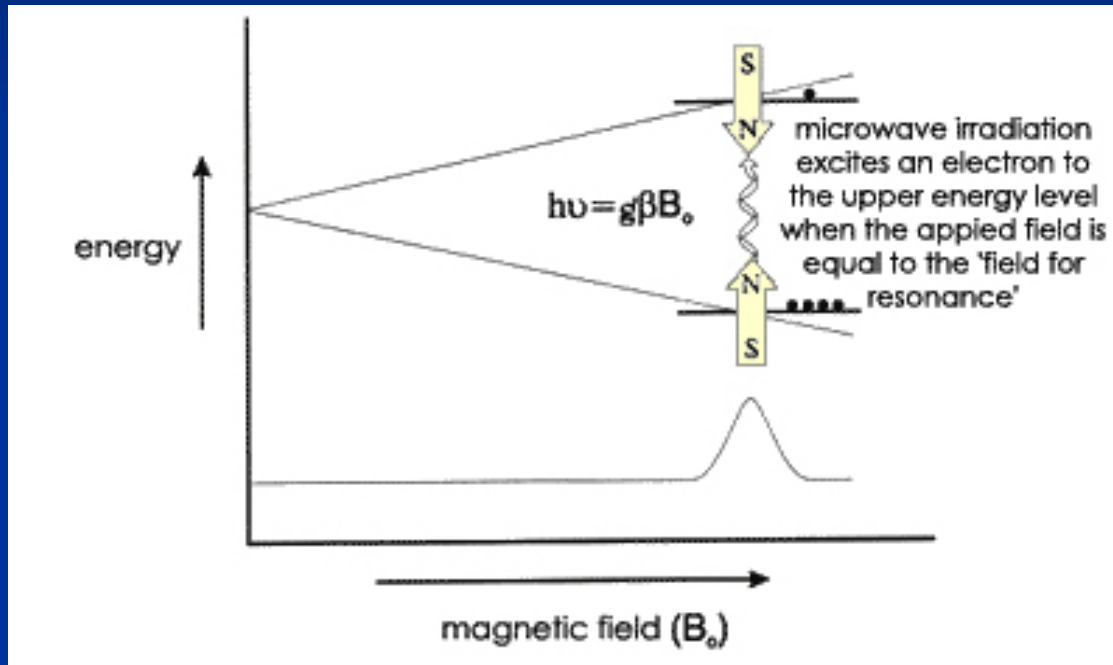


Η ιδιοπεριστροφή του ηλεκτρονίου δημιουργεί ένα μαγνητικό πεδίο



Παρουσία εξωτερικού Μαγνητικού προσανατολίζονται παράλληλα ή αντιπαράλληλα στο B . Κάθε προσανατολισμός αντιστοιχεί σε διαφορετική ενέργεια

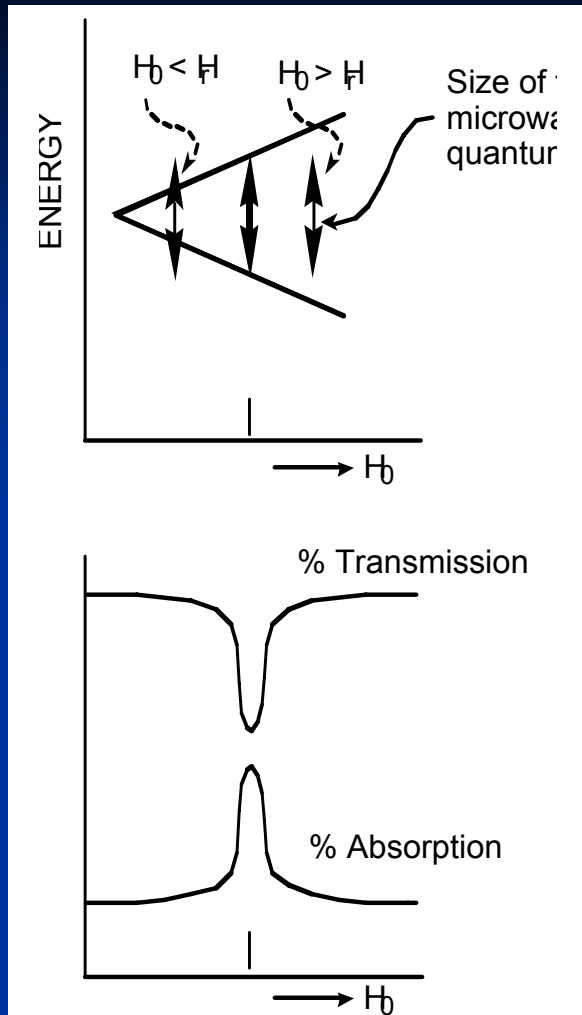
Zeeman Energy Level Splitting



h Planck's constant $6.6260755 \times 10^{-34}$ J.sec
 ν frequency (GHz or MHz)
 μ_b Bohr magneton (9.2741×10^{-24} J/T)
 B_0 magnetic field (Gauss or T)

Ο παράγοντας g

- Είναι μια χαρακτηριστική ιδιότητα για κάθε σύστημα με ασύζευκτα ηλεκτρόνια
- $g = 2$ για ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο

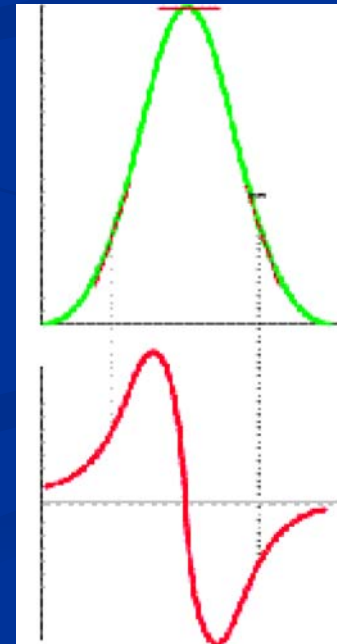


Στο EPR,

- το ν είναι σταθερό (X band, $\sim 9\text{-}10\text{ GHz}$)
- H_0 μεταβάλλεται.
- Επιλέγουμε το H_0 να περιλαμβάνει τη θεωρητική τιμή H_r όπου $\Delta E = h\nu$
- Το g είναι ο σημαντικός παράγοντας που υπολογίζεται ενώ όλοι οι άλλοι παράγοντες είναι σταθεροί ($h/b = 714.484\text{ G GHz}^{-1}$) ή τίθενται (X-band, $\nu \sim 9.2\text{ GHz}$).

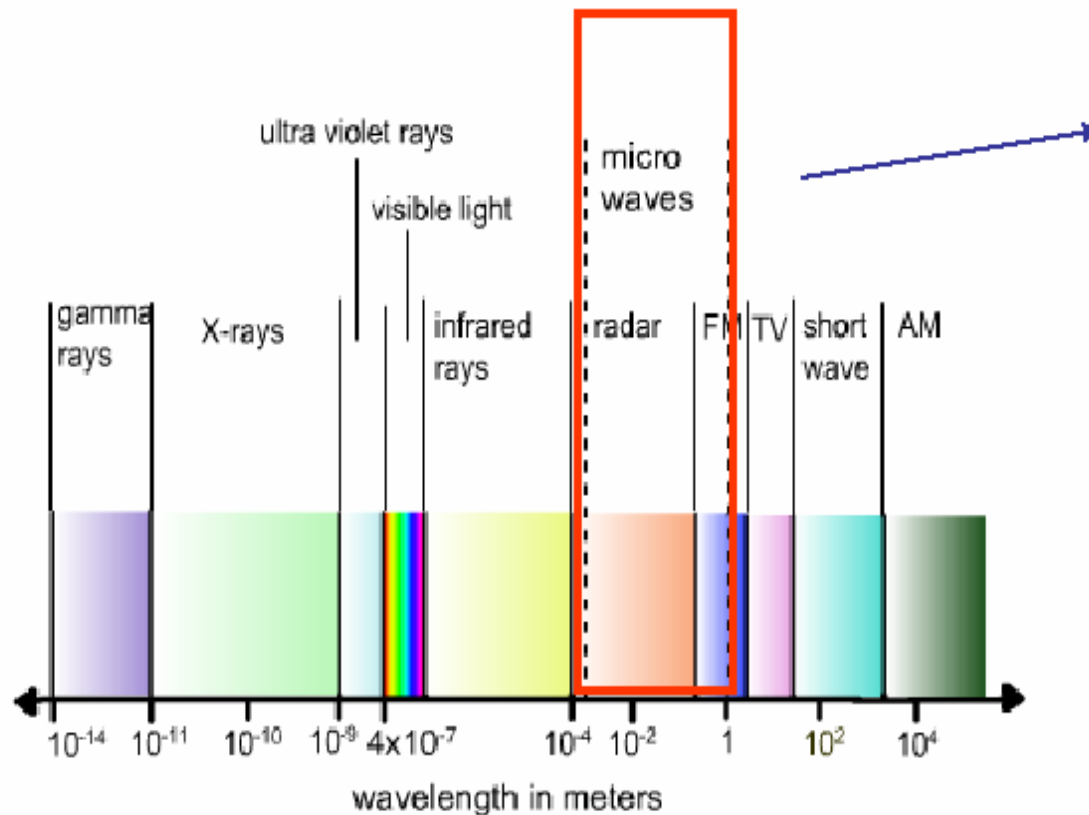
Απορρόφηση

1^η παράγωγος

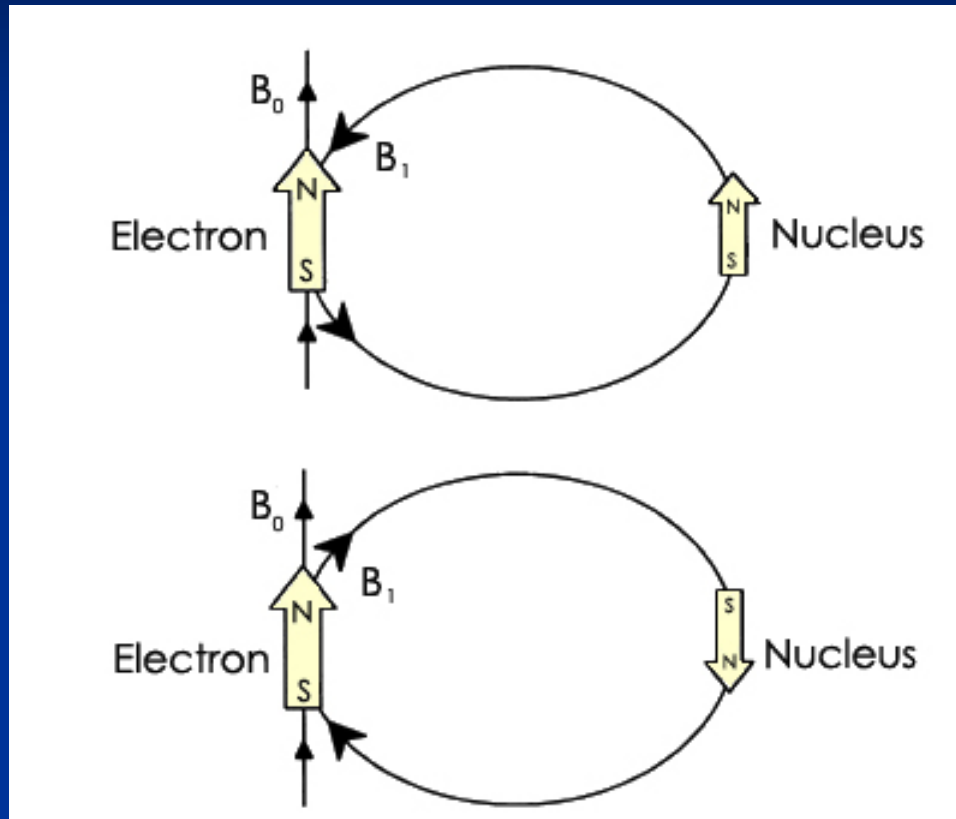


Μικροκυματική ακτινοβολία

Ακτινοβολία με μήκος κύματος $0,1 < \lambda < 100\text{cm}$. Στο EPR $1\text{-}100\text{GHz}$



Designation	Frequency range
L band	1 to 2 GHz
S band	2 to 4 GHz
C band	4 to 8 GHz
X band	8 to 12 GHz
K _u band	12 to 18 GHz
K band	18 to 26 GHz
K _a band	26 to 40 GHz
Q band	30 to 50 GHz
U band	40 to 60 GHz
V band	50 to 75 GHz
E band	60 to 90 GHz
W band	75 to 110 GHz
F band	90 to 140 GHz
D band	110 to 170 GHz



Το spin του e επηρεάζεται
από τοπικά μαγνητικά πεδία
που προέρχονται

❖ από αλληλεπιδράσεις με
πυρηνικά spin

❖ από γειτονικά
παραμαγνητικά κέντρα

❖ από το πεδίο των
υποκαταστατών στα
σύμπλοκα

❖ από τροχιακή στροφορμή

Συντονισμός

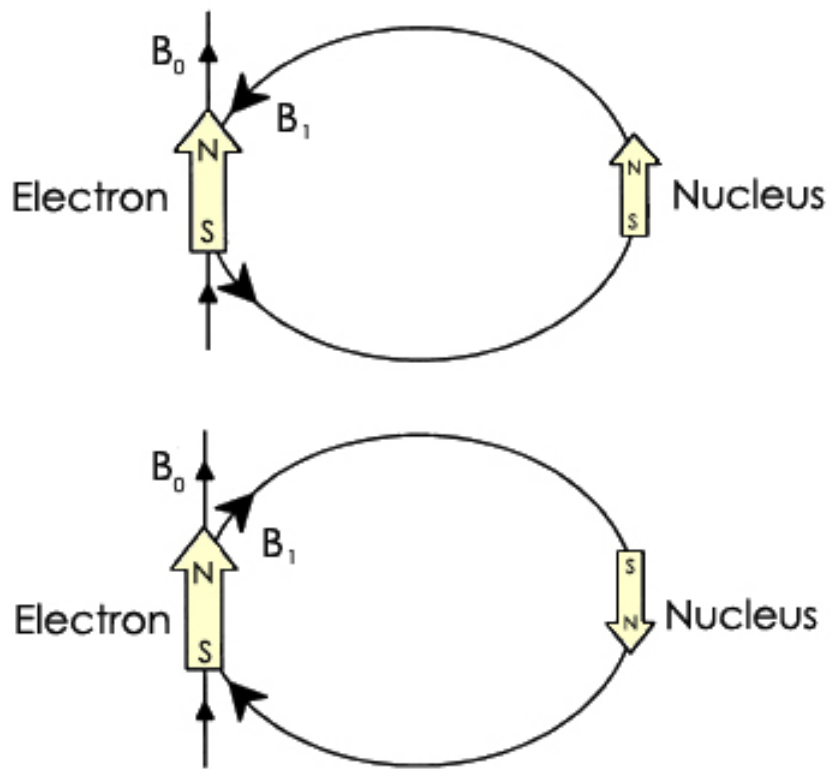
$$g_e = \frac{h\nu}{(B_0 + B_{\text{τοπικά}})\beta_e}$$

Στο πείραμα EPR καταγράφεται η ένταση του εξωτερικού Μαγνητικού πεδίου . Ο παράγοντας g που υπολογίζεται πειραματικά είναι

$$g_{\text{eff}} = \frac{h\nu}{B_{\text{τοπ}} \cdot \beta_e}$$

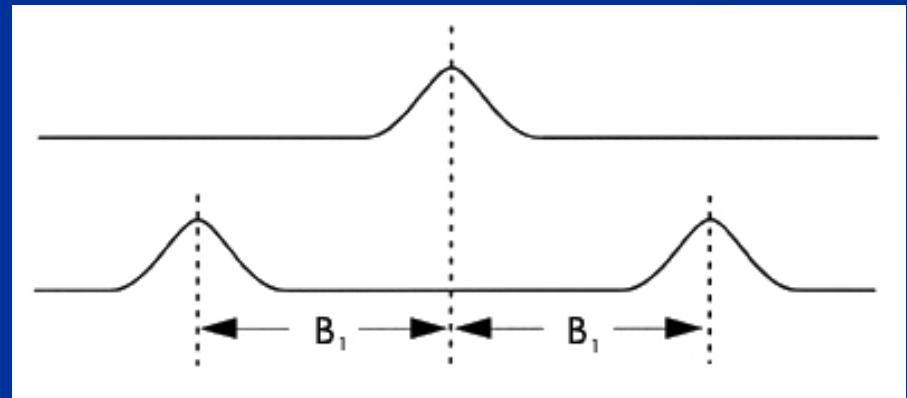
Σε ισχυρά τοπικά πεδία ο παράγοντας $g_{\text{eff}} \neq g_e (2.0023)$

Hyperfine Coupling



I : πυρηνικό σπιν
Σήμα $N = 2I + 1$

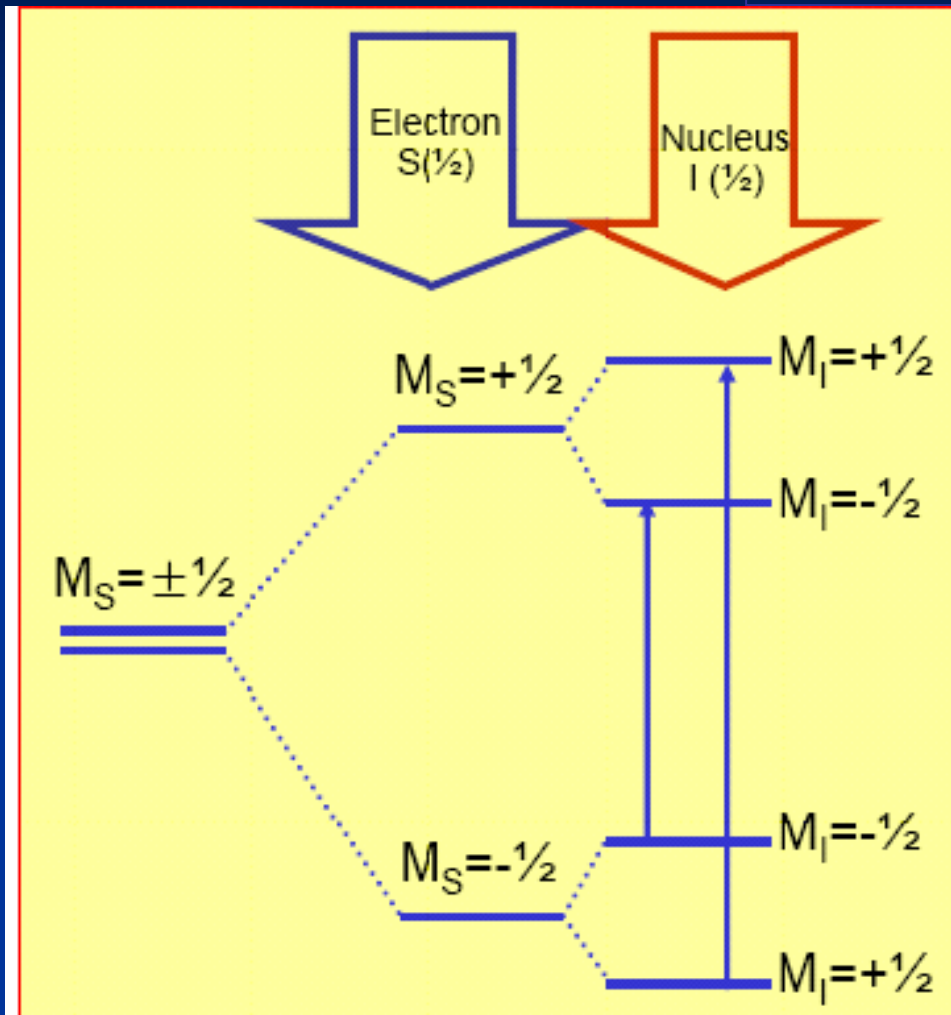
Πυρηνικό spin $\frac{1}{2}$ (πυρήνας H)



«Splitting» στο σήμα του EPR λόγω του τοπικού μαγνητικού πεδίου που προέρχεται από ένα κοντινό πυρήνα

Κανόνες επιλογής
 $\Delta M_S = \pm 1; \Delta M_I = 0$

Hyperfine Coupling



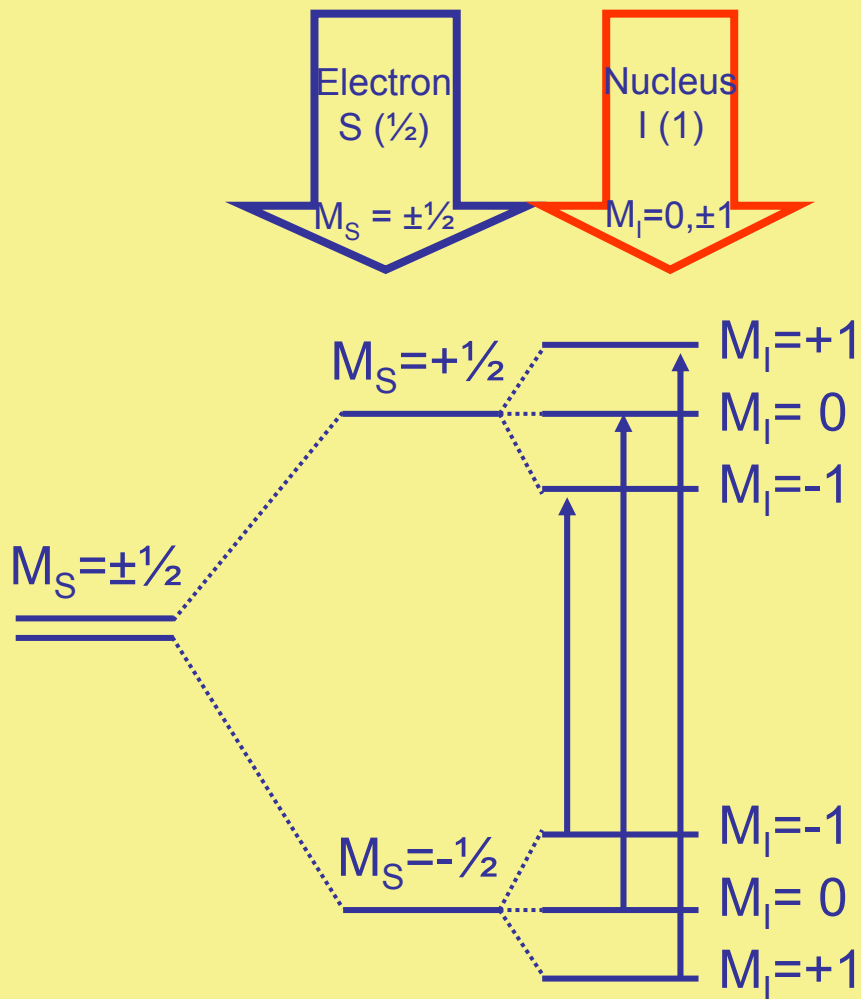
$S=1/2;$
 $I=1/2$
Doublet

$H_{fc} = A_{iso}$



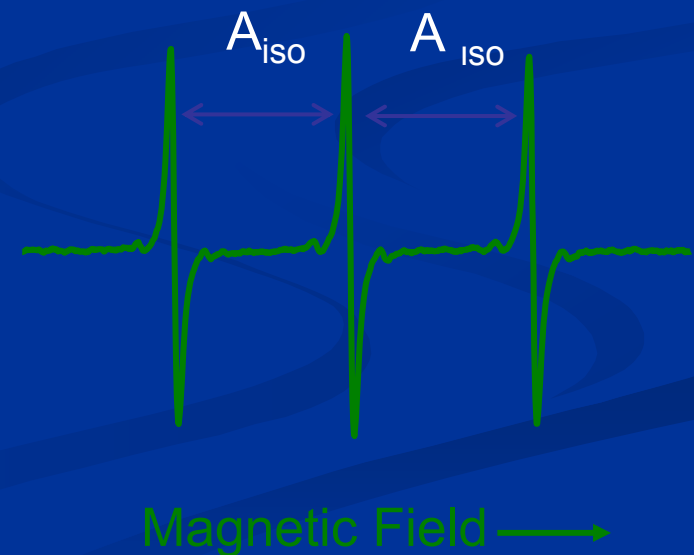
Magnetic Field $\longrightarrow$

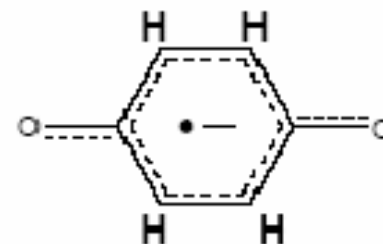
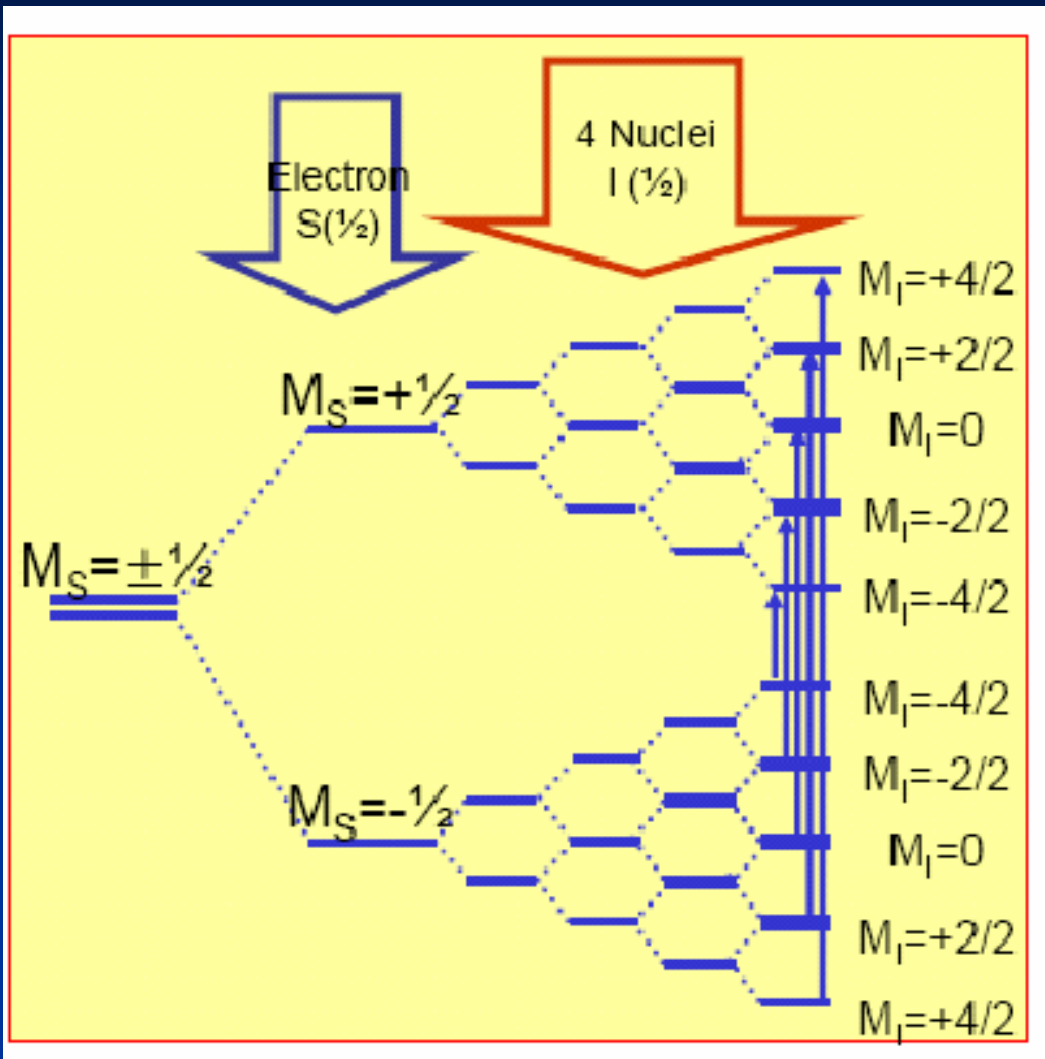
Hyperfine Coupling



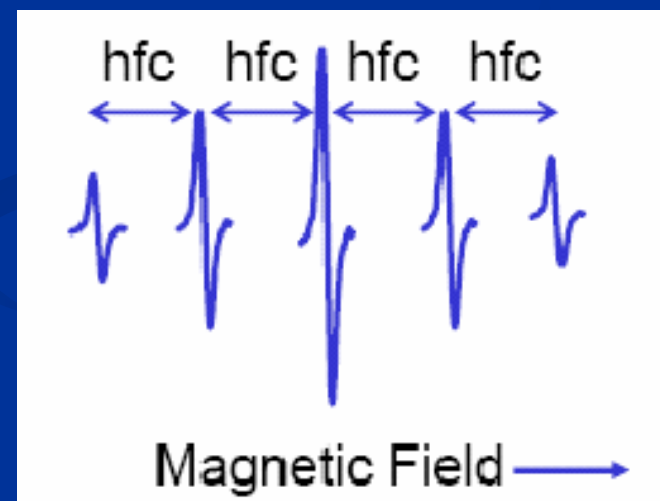
Selection Rule
 $\Delta M_S = \pm 1; \Delta M_I = 0$

$S=1/2;$
 $I=1$
Triplet





$S = 1/2;$
 $I = 1/2 \times 4$
 Quintet



Κανόνες
 επιλογής
 $\Delta M_S = \pm 1; \Delta M_I = 0$

Για μονήρες e σε ισότροπο σύστημα

- Σύζευξη με πυρήνα με spin $n/2$ δίνει $(n+1)$ γραμμές στο φάσμα ίσης έντασης και απόστασης
- Σύζευξη με n ισοδύναμους πυρήνες με spin $1/2$ δίνει $(n+1)$ γραμμές στο φάσμα με γραμμές που ακολουθούν τη κατανομή του τριγώνου Pascal $(1+x)^N$ (N ισοδύναμοι πυρήνες)

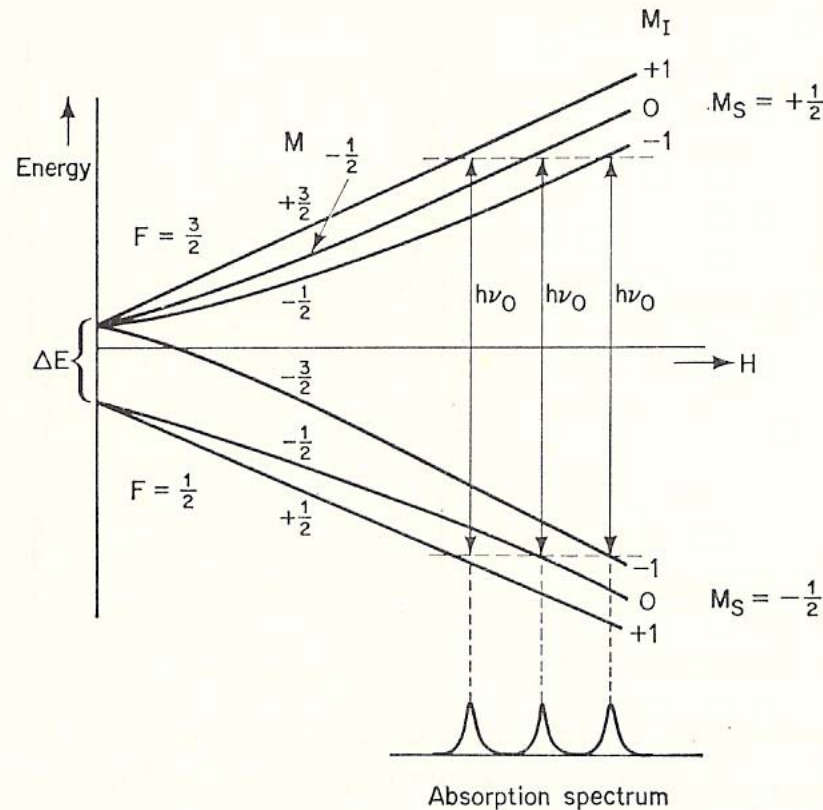
		1	1						
		1	2	1					
		1	3	3	1				
		1	4	6	4	1			
		1	5	10	10	5	1		
		1	6	15	20	15	6	1	
		1	7	21	35	35	21	7	1

Σύζευξη με μη ισοδύναμους πυρήνες δίνει φάσμα με γραμμές που δίνονται από τη σχέση $(2mI_i+1).(2nI_j+1)$

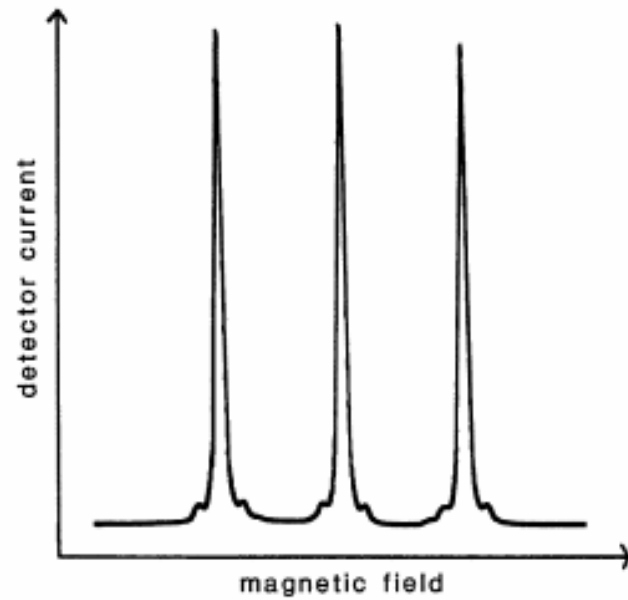
I_i, I_j =πυρηνικό spin

n, m =αριθμός των πυρήνων

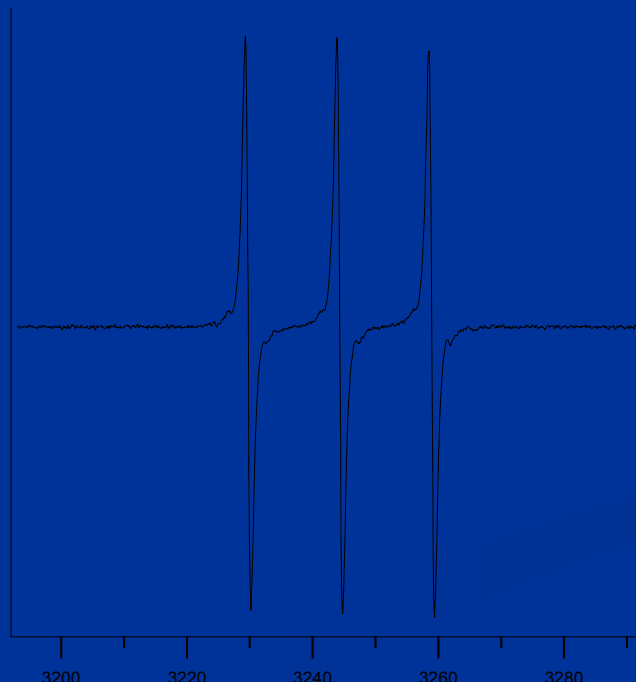
Hyperfine Lines for a Nitroxyl Radical



Electron and nuclear spin energy levels for $(\text{SO}_3)_2\text{NO}^{2-}$ (Fremy's salt) in a low magnetic field.



απορρόφηση



1^η παράγωγο

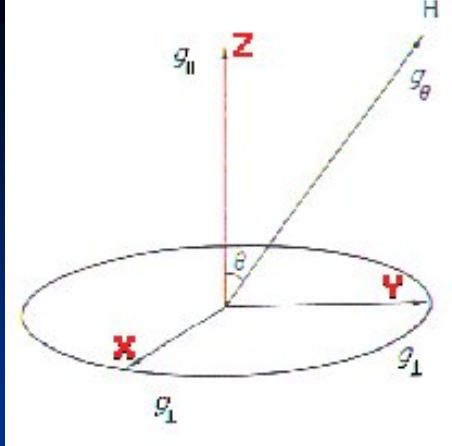
Ανισοτροπία Zeeman

■ Ισότροπο περιβάλλον.

Η τιμή του g είναι η ίδια για όλες τις διευθύνσεις (διαλύματα)

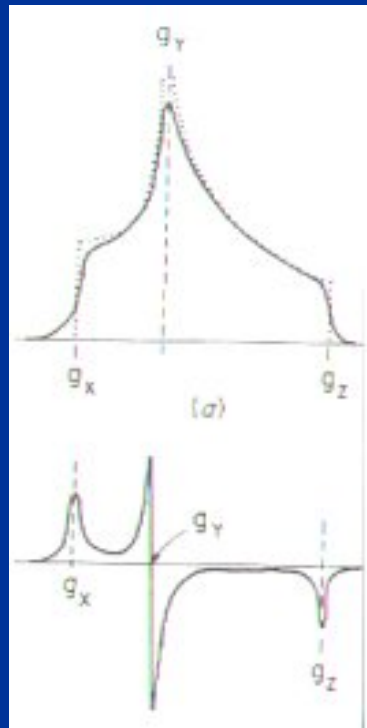
□ Ανισότροπο περιβάλλον

Η τιμή του g είναι διαφορετική στις τρεις συνιστώσες (g_{xx} , g_{yy} , g_{zz}) (στερεά, διαλύματα σε χαμηλές θερμοκρασίες)



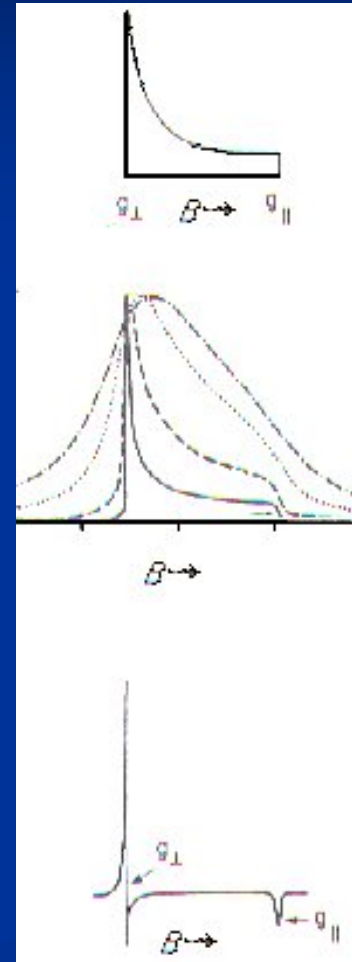
Ισότροπο

$$g_{xx} = g_{yy} = g_{zz}$$



Ρομβικό

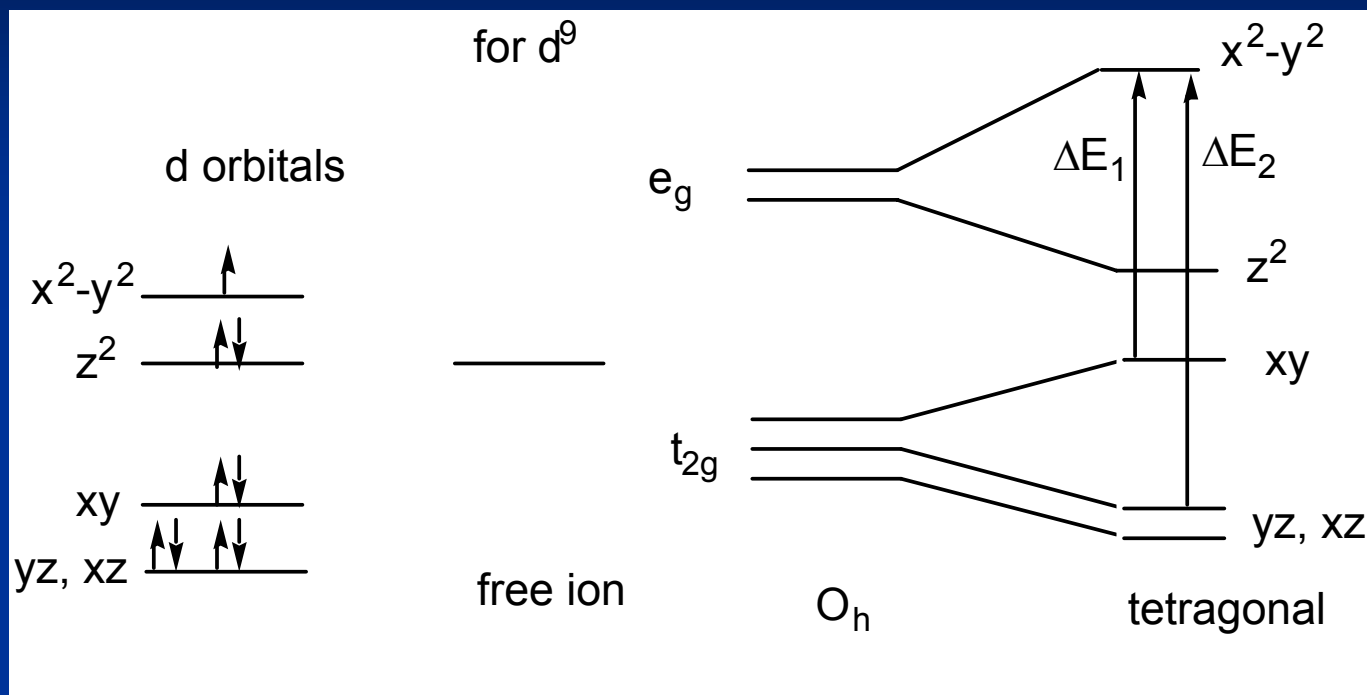
$$g_{xx} \neq g_{yy} \neq g_{zz}$$



Αξονικό

$$g_{xx} = g_{yy} \neq g_{zz}$$

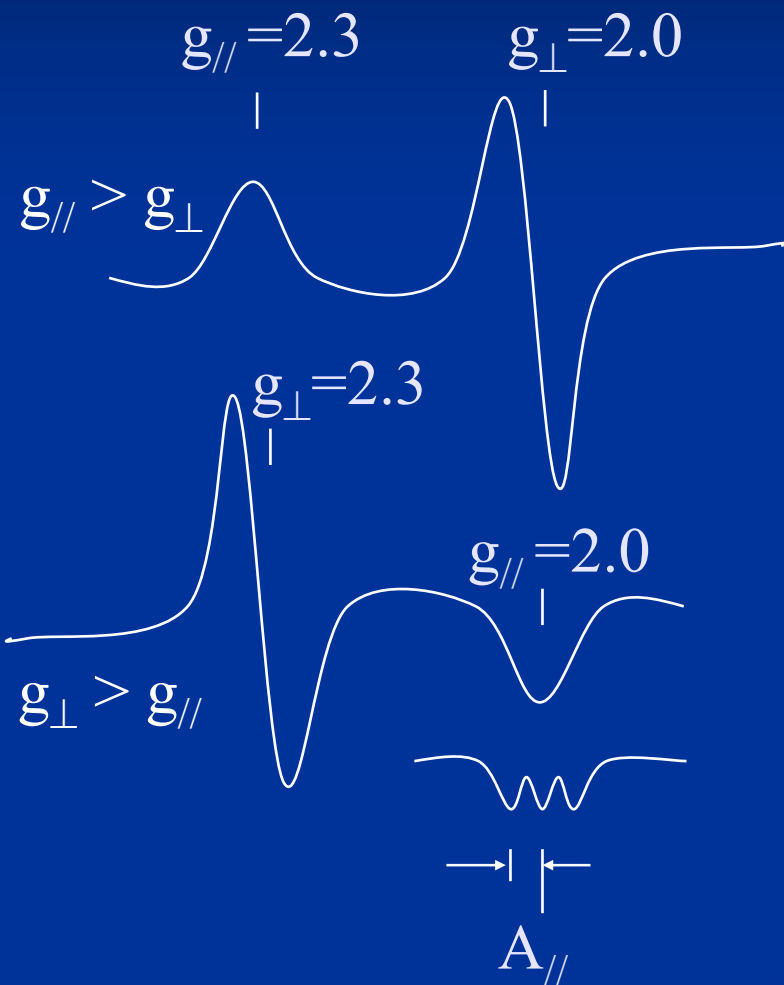
Υπολογισμός g



Cu(II), (d^9), σε τετραεδρικό πεδίο (λ είναι η σταθερά σύζευξης spin τροχιακού:

$$g_z = g_e [1 - 4 \lambda / \Delta E_1]; \Delta E_1 \text{ η διαφορά ενέργειας μεταξύ } d_{xy} \text{ και } d_{x^2-y^2}^2$$

$$g_{x,y} = g_e [1 - \lambda / \Delta E_2]; \Delta E_2 \text{ είναι η διαφορά ενέργειας μεταξύ } d_{xz, yz} \text{ και } d_{x^2-y^2}^2$$



Τιμή g & συμμετρία : δείχνει που είναι το ασύζευκτο e

Μονήρη e^- στο dx^2-y^2 τροχιακό
Υπονοεί $Ni(I)$ (d^9) με δομή ανάλογη του F_{430}

Μονήρη e^- στο dz^2 τροχιακό
Υποδυκνύει $Ni(III)$ (d^7) με δομή όμοια του F_{430}

A: υπέρλεπτο σχάσιμο. Μέγας αριθμός υποδυκνύει μονήρη e^- κοντά σε πυρήνα που αλληλεπιδρά ισχυρά

- Όσο πιο μεγάλο το A , τόσο μεγαλύτερη η αλληλεπίδραση ή περισσότερο χρόνο μένει το e σε τροχιακό που αλληλεπιδρά με το ανάλογο τροχιακό του αλληλεπιδρώντος πυρήνα. Το σχάσιμο αντανακλά το περιβάλλον του e και χρησιμοποιείται για να αναγνωρίσουμε τον τύπο του μορίου που περιέχει το e και την ηλεκτρονιακή του κατανομή. Η κατάσταση περιγράφεται από ένα Χαμιλτονιανό τελεστή.
- $H = A S I + gbHS + D [Sz^2 - 35/12 + E/D (Sx^2 - Sy^2)]$.

E/D είναι η ρομβικότητα (η αναλογία μεταξύ του D , παράμετρος αξονικού σχασίματος, και του E , η παράμετρος ρομβικού σχασίματος).

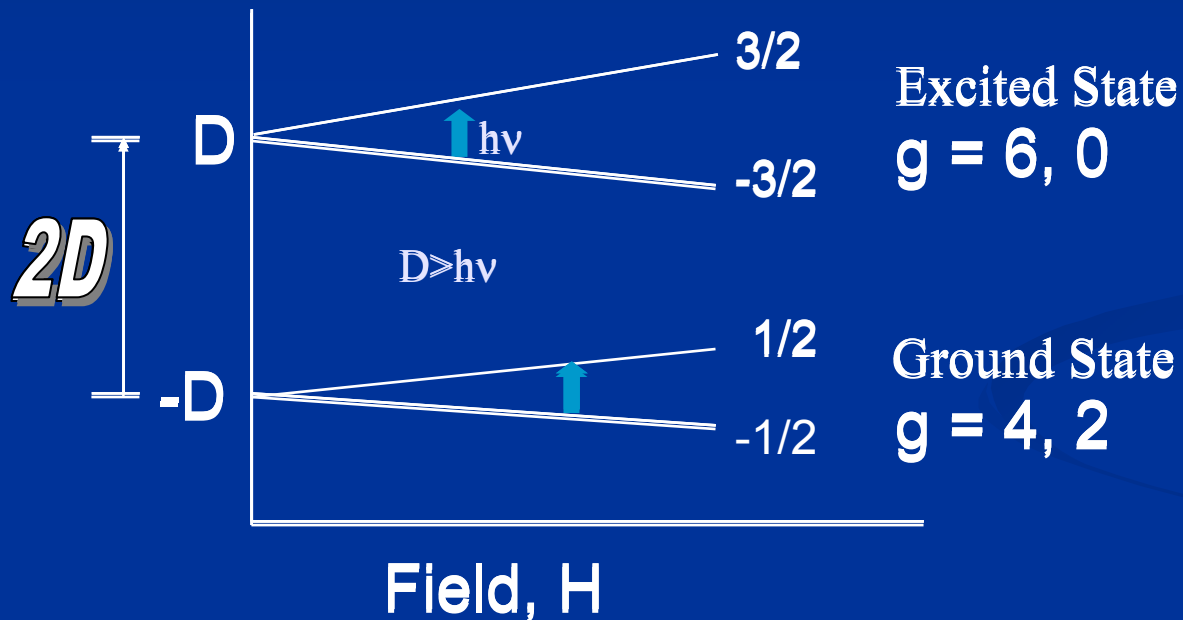
$E/D = 0$ για αξονικό σύστημα

$E/D = 1/2$ για ρομβικό σύστημα....

- Για ένα αξονικό σύστημα ($E/D = 0$),
- $H = D [S_z^2 - 1/3 S(S+1)] + g_0 \mu_B H$
- Εάν $S = 3/2$, π.χ., 4 μονήρη e. Τα ενεργειακά επίπεδα αντιστοιχούν σε $S_z = -3/2, -1/2, 1/2$ και $3/2$.
- Η ενέργεια για το $+$ ή $-3/2$ επίπεδο θα είναι:
 $D[9/4 - 1/3(3/2 * 5/2)] = D[9/4 - 5/4] = D$
- Η ενέργεια για το $+$ ή $-1/2$ επίπεδο θα είναι : $-D$.

Το μέγεθος του ZFS υπολογίζεται από το EPR.

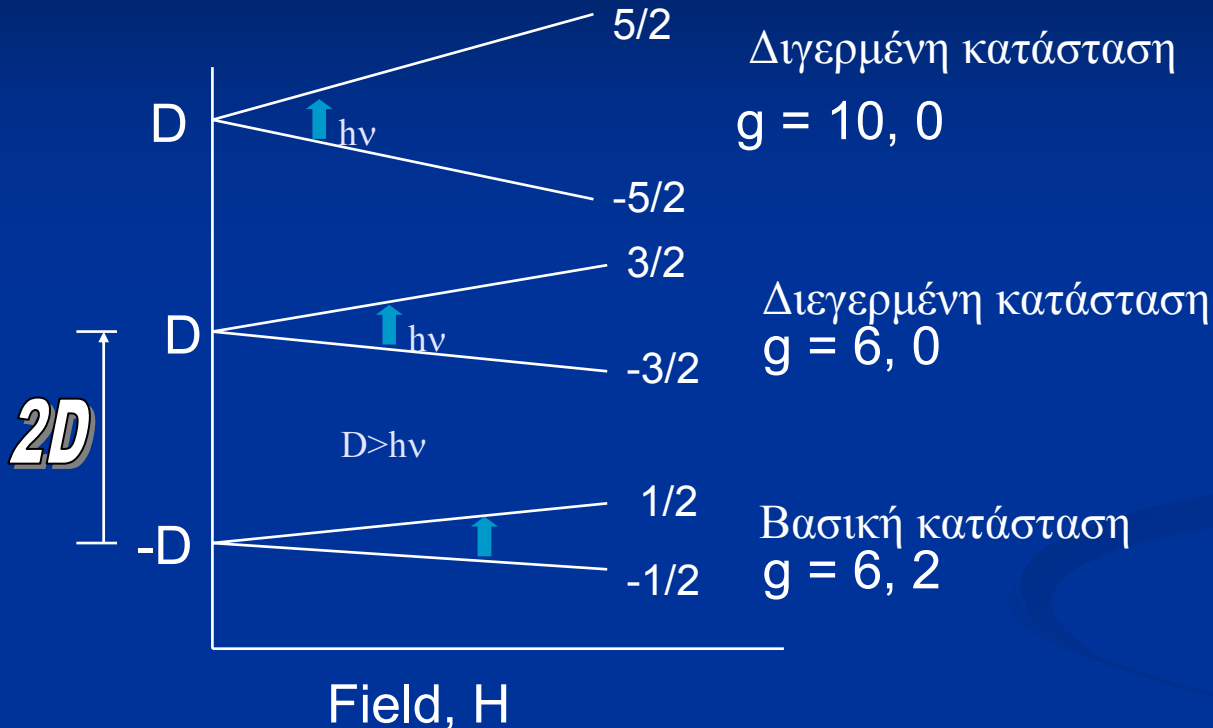
Η κατανομή ακολουθεί τη κατανομή Boltzman. Μειώνοντας τη θερμοκρασία κατά το ίδιο ποσό ενέργειας όπως η ZFS και υπολογίζοντας το πλάτος του σήματος EPR μπορεί να υπολογιστεί η τιμή του ZFS



High spin Fe^{3+} , 5 ασύζευκτα d ηλεκτρόνια ($S=5/2$):

$$H = D [S_z^2 - 35/12 + E/D (S_x^2 - S_y^2)] + g_0 \beta S H$$

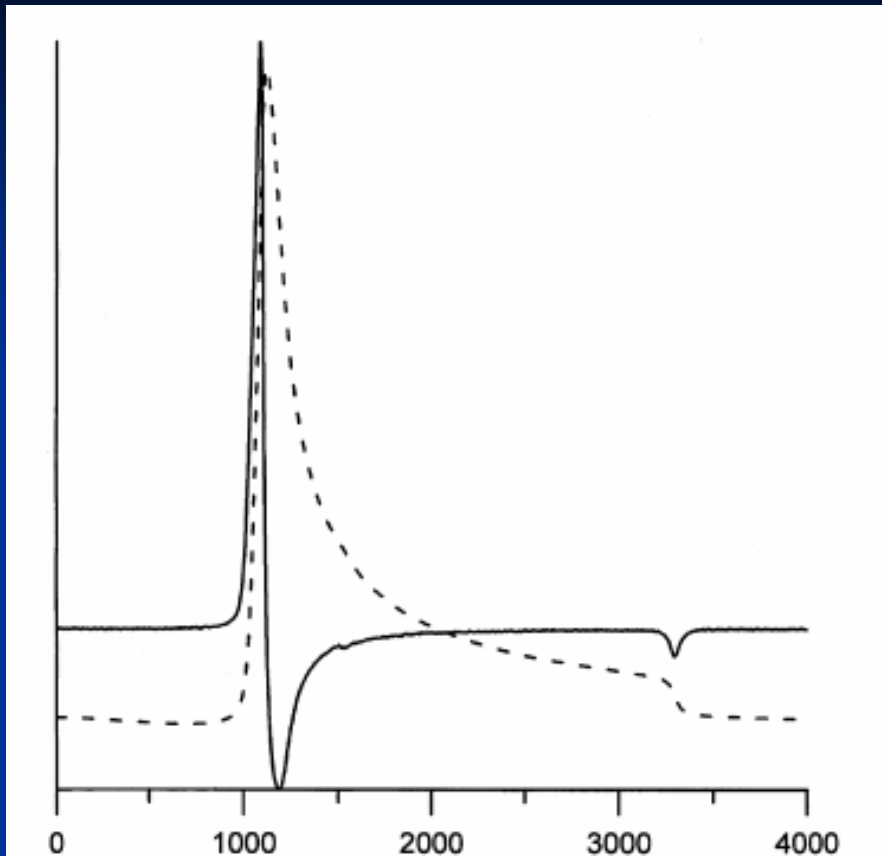
$S = 5/2$, αξονικά



Η ισχύς του ZFS και η ρομβικότητα εξαρτάται από τη φύση του υποκαταστάτη

Στη μυογλοβίνη, $E/D = 0$ – αξονικό περιβάλλον. Βλέπουμε σήματα σε $g = 6$ και $g = 2$ (από τη χαμηλότερη διπλέτα)

Στη rubredoxin, $E/D = 1/3$, ρομβικό σύστημα. Παρατηρούμε σήματα σε $g = 9.4$ (από τη χαμηλότερη διπλέτα σε χαμηλή θερμοκρασία) και σε 4.3 (από τη μεσαία διπλέτα).

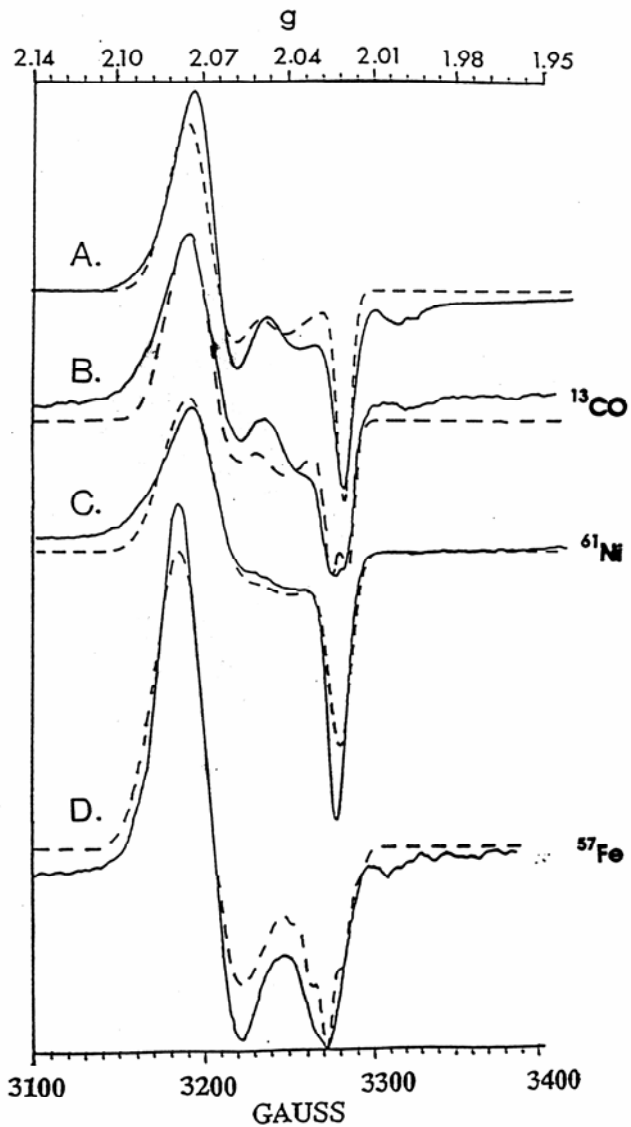


Αξονικό, υψηλού spin Fe(III),
στη μεταλλοπορφυρίνη,
διάλυμα σε χαμηλή θ

$g = 6$ και $g = 2$.

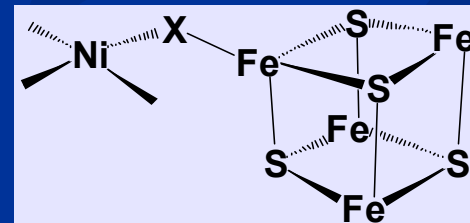
Διακεκκομένη : Απορρόφηση

Συνεχής : 1^η παράγωγο



NiFe-CO species

- Η πρώτη ανακάλυψη μεταλλικού cluster στη βιολογία που περιέχει Ni και Fe (1985)



Isotope	Nuclear Spin (<i>I</i>)	% Abundance
¹ H	1/2	99.9
² H	1	0.02
¹² C	0	98.9
¹³ C	1/2	1.1
¹⁴ N	1	99.6
¹⁵ N	1/2	0.37
¹⁶ O	0	99.8
¹⁷ O	5/2	0.037
³² S	0	95.0
³³ S	3/2	0.76
⁵¹ V	7/2	99.8
⁵⁵ Mn	5/2	100
⁵⁶ Fe	0	91.7
⁵⁷ Fe	1/2	2.19
⁵⁹ Co	7/2	100
⁵⁸ Ni & ⁶⁰ Ni	0	68 & 26
⁶¹ Ni	3/2	1.19
⁶³ Cu & ⁶⁵ Cu	3/2	69 & 31
⁹⁵ Mo & ⁹⁷ Mo	5/2	16 & 9
¹⁸³ W	1/2	14.4

Εφαρμογές του EPR στην βιοανόργανη

- Δυνατότητα προσδιορισμού μη συζευγμένων ηλεκτρονίων σε ρίζες χωρίς να είναι γνωστή η φύση της ρίζας
- Σε βιολογικά μόρια (μεταλλοπρωτεΐνες) μπορεί να γίνει αναγνώριση συγκεκριμένης οξειδωτικής κατάστασης και κατάσταση υποκατάστασης
- Χρήση της EPR φασματοσκοπίας στην κατανόηση των βασικών χημικών μηχανισμών πολλών ασθενειών
(Parkinson's Disease, birth asphyxia, stroke, septic shock, kidney damage and coronary heart disease)
- EPR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την μέτρηση ελευθέρων ριζών σε βιολογικά συστήματα (*in vivo or ex vivo*), καθώς επίσης για την μέτρηση και τη χαρτογράφηση του O₂ στους ιστούς, του pH και της οξειδοαναγωγικής κατάστασης

Εφαρμογές του EPR στην βιοτεχνολογία

- Στα βιολογικά συστήματα μόνο λίγες ουσίες είναι παραμαγνητικές (ελεύθερες ρίζες, NO, O₂, και κάποιες μεταλλοπρωτεΐνες)
- Εισαγωγή παραμαγνητικών «probes(Spin – labels)»
- Πολλά παραμαγνητικά είδη στα βιολογικά συστήματα δίνουν χαρακτηριστικά EPR σήματα (fingerprint)
- Μαγνητικοί πυρήνες: ¹H, ¹⁴N

DNA: Μελέτη των νουκλεότιδικων κέντρων με ελεύθερες ρίζες όπως κατιόντα γουανίνης, θυμίνης και ανιόντα κυτοσίνης που δημιουργούνται κατά την οξειδωτική ή αναγωγική «καταστροφή» του DNA

Χρήση ολιγουνεοκλοτιδίων (spin labels) που αλληλεπιδρούν με το DNA

RNA: Αντίστοιχα με το DNA, spin – labeled ολιγονουκλεοτίδια για την μελέτη της δομής και των αλληλεπιδράσεων του RNA. (RNA + ribonuclease P, RNA + metal ions)

Πρωτεΐνες:

Ενεργότητα των ενζύμων

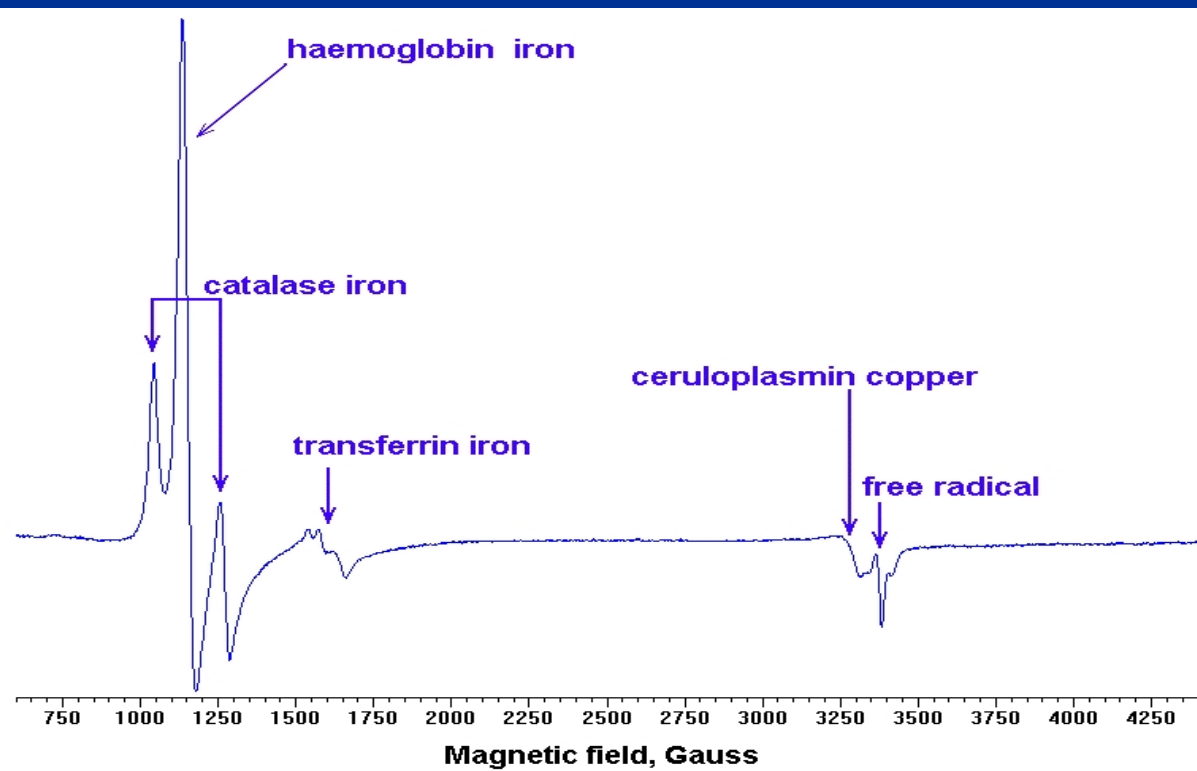
Μεβράνες

Spin labeling EPR

Imaging

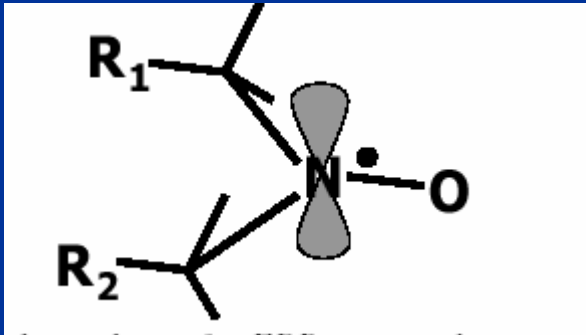
EPR φάσμα του αίματος

Πρωτεΐνες του αίματος περιέχουν μεταλλικά κέντρα

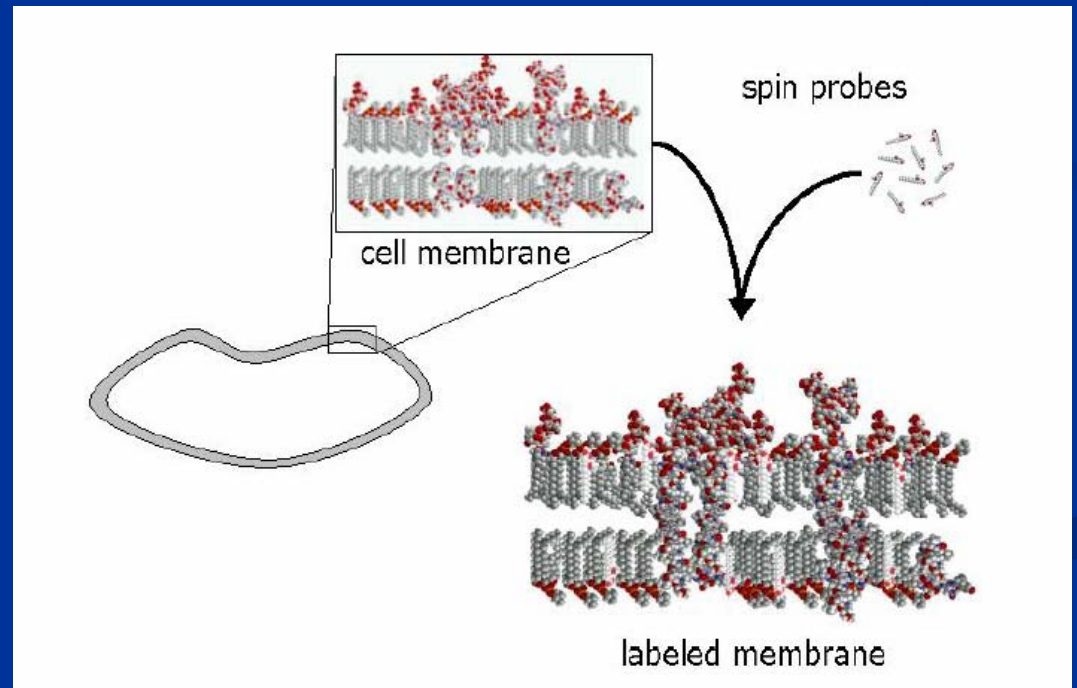


Με EPR ανιχνεύεται με μεγάλη ακρίβεια η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης, της τρανσφερρίνης, της ceruloplasmin, της καταλάσης, της αιμοσφαιρίνης κ.α

Spin labeling EPR



*Nitroxide radical as a
basis for EPR spin probe*



Big Samples



- Sometimes you cannot make your samples smaller

If you think you're gonna make me *in-vitro* to fit me in an X-band cavity, you've got another thing coming!

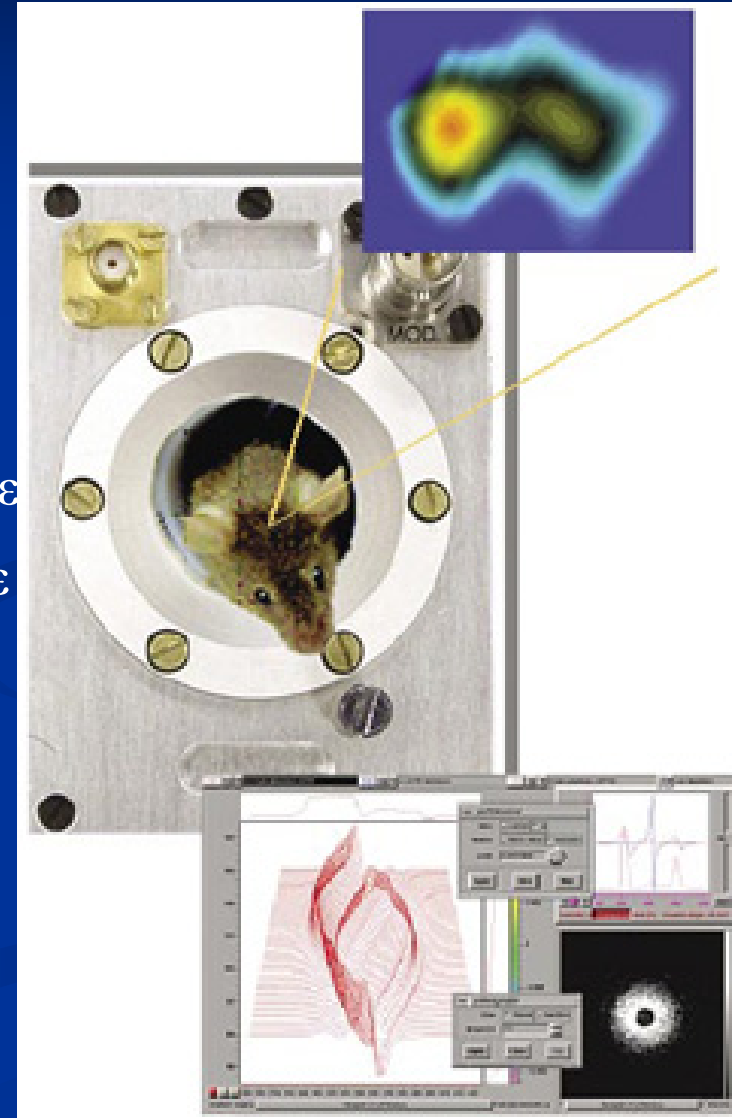


- Large and lossy samples require lower frequencies



Εφαρμογές του EPR-Imaging

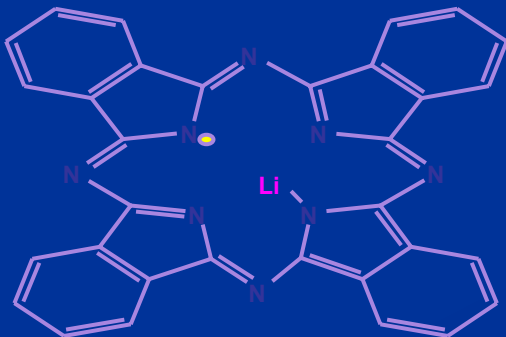
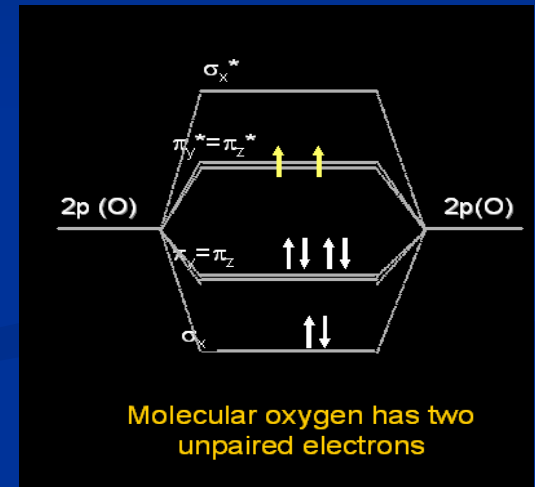
- Χρήση «srying probe» ώστε να ληφθούν κάποιες πληροφορίες
- Γίνεται η εισαγωγή στο ζώο (με ένεση) ενός γνωστού «free radical probe»
- Η αλλαγή στο «προφίλ του EPR» που συνδέεται με κάποια σωματική λειτουργία, παρακολουθείται σε σχέση με το χρόνο ή κάποια άλλη παράμετρος
- Οι μετρήσεις πραγματοποιούνται *in real-time* and *in vivo*.



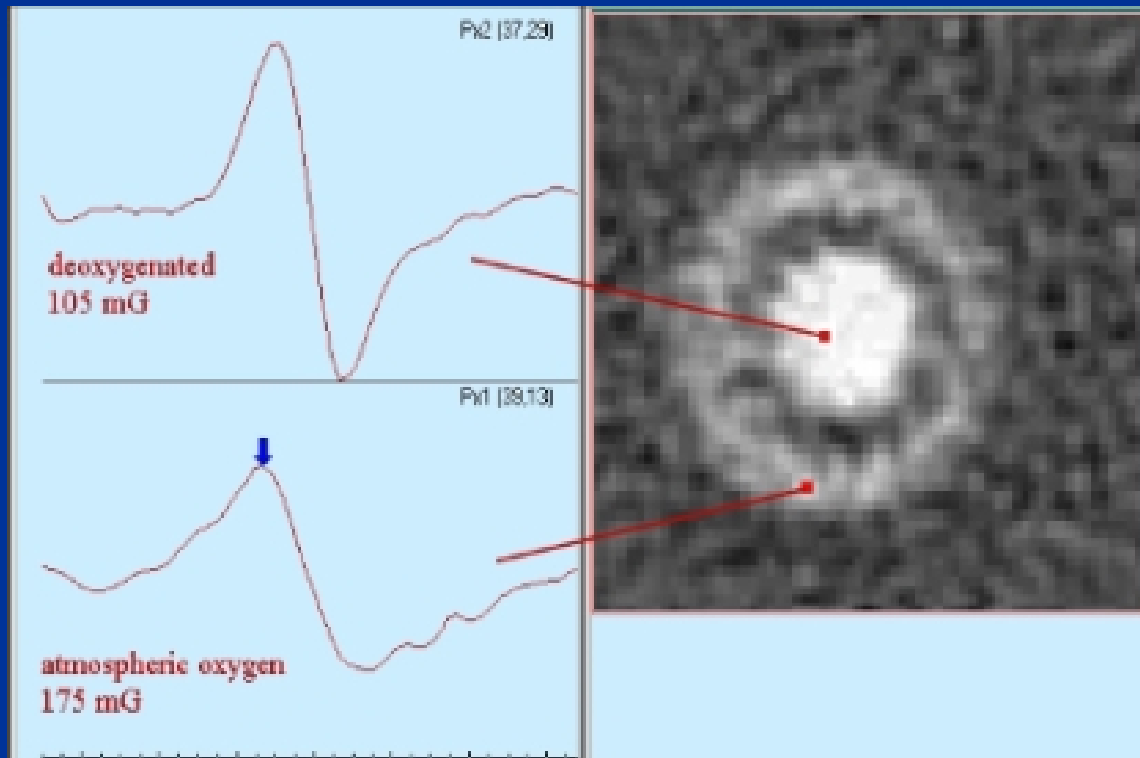
Εφαρμογές του EPR-Imaging

Οξυμετρία: «spatial mapping» της συγκέντρωσης O_2

- Το μοριακό οξυγόνο είναι παραμαγνητικό
- Το O_2 δίνει ισχυρά EPR σήματα στην αέρια φάση
- Προβλήματα με την μέτρηση O_2 διαλυμένο σε υγρά (πολύ πλατιές κορυφές)
- Μοριακό οξυγόνο μπορεί να μετρηθεί με EPR σε βιολογικά συστήματα με την έμμεση οξυμετρία (χρήση probes) Lithium phthalocyanine (LiPc), glucose char

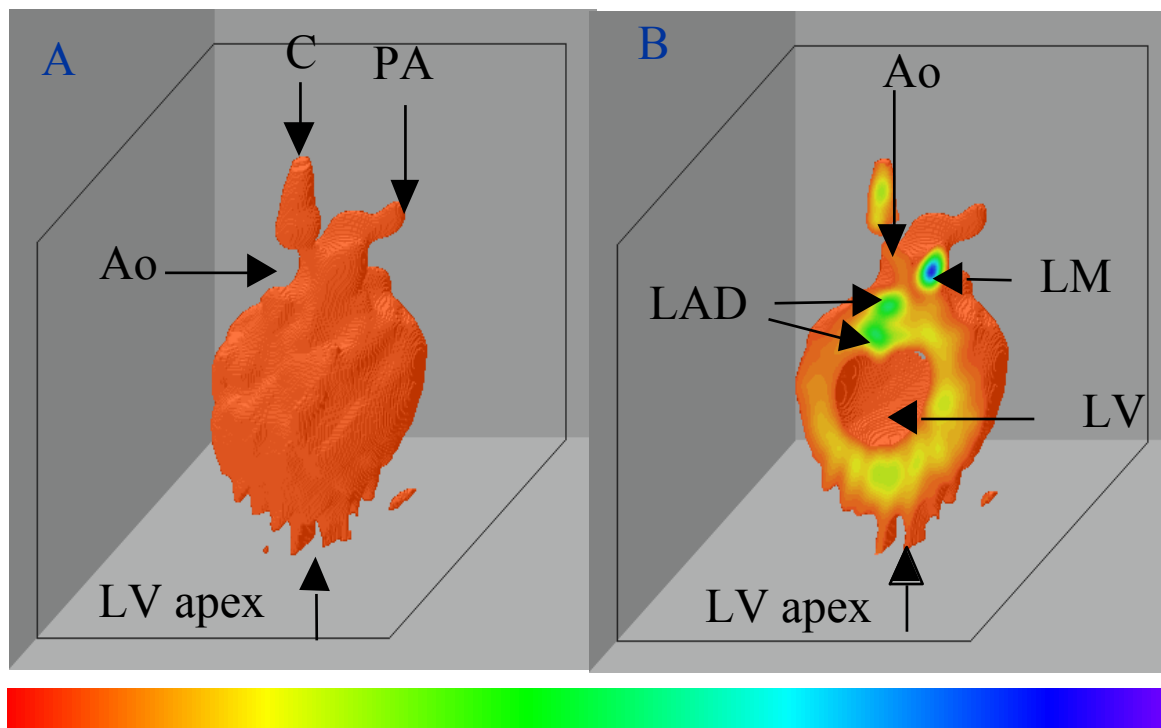


Οξυμετρία: «spatial mapping» της συγκέντρωσης O_2



3D EPR image δύο ομόκεντρων δοκιμαστικών με το ίδιο δείγμα. Ο εσωτερικός σωλήνας είναι απο-οξυγονωμένο ενώ ο εξωτερικός είναι σε pO_2 ατμοσφαιρική πίεσης

3D Image καρδιάς ποντικού με glucose char



3D EPR image ισχαιμικής καρδιάς ποντικού εμποτισμένη με glucose char (oximetry label). **A**: Full view **B**: Κάθετη διατομή που παρουσιάζει την εσωτερική δομή της καρδιάς
.Ao, aortic root; C, cannula; PA, pulmonary artery; LM, left main coronary artery; LAD, left anterior descending artery; LV, left ventricular cavity.