

УДК 577.3

ДИОДНАЯ ЛАЗЕРНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ – НАПРАВЛЕНИЕ В СОЗДАНИИ ЭФФЕКТИВНЫХ ИЗМЕРИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИИ В БИОЛОГИЧЕСКИХ И МЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

© 2019 г. Я.Я. Понуровский, В.Я. Заславский, А.И. Надеждинский, М.В. Спиридонов,
Д.Б. Ставровский, Ю.П. Шаповалов, А.А. Карабиненко*, Ю.М. Петренко*

Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 38

**Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России,
117997, Москва, ул. Островитянова, 1*

E-mail: Ponur1960@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.03.2019 г.

После доработки 07.05.2019 г.

Принята к публикации 08.05.2019 г.

Представлены наиболее важные принципы диодной лазерной спектроскопии, на основе которых могут создаваться принципиально новые измерительные системы для разнообразных биологических и медицинских применений. В частности, методом диодной лазерной спектроскопии в его первичной аппаратной реализации зарегистрировано испускание молекул газа, среди которых доминирует аммиак, с кожного покрова рук. С помощью другого специального измерительного комплекса диодной лазерной спектроскопии определены свойства выдыхаемого воздуха пациентов с разным состоянием их организма. Показано, что при изменении функционального состояния организма происходят опосредованные изменения газового состава молекулярных веществ, содержащихся в выдыхаемом воздухе, а их количественное содержание существенным образом вариабельно и индивидуализировано. Сделано заключение, что с помощью метода диодной лазерной спектроскопии можно изучать особенности функциональных свойств человеческого организма и по ним оценивать его состояние для определения наличия или отсутствия в нем патологических процессов, находящихся на различных стадиях их выраженности. Приводятся клинико-экспериментальные данные на этот счет.

Ключевые слова: диодные лазеры, диодная лазерная спектроскопия, неинвазивная диагностика, газовые биомаркеры.

DOI: 10.1134/S000630291906005X

Есть несколько принципиально важных позиций, на основании которых были разработаны методы диодной лазерной спектроскопии (ДЛС) и которые привели к возможности создания аппаратных измерительных систем. Из перечня позиций, обосновывающих метод ДЛС, самым важным является наличие диодных лазеров с определенными частотными характеристиками. Диапазон излучения диодных лазеров очень широк — от ультрафиолетовой до далекой инфракрасной частотной области спектра. Надо отметить, что в настоящее время распространенность в мире лазеров, и в большой мере полупроводниковых, приобрела такие масштабы, что уже

уместно наше время определить как эпоху лазеров. Становление этой эпохи произошло за сравнительно короткий срок после важного события. За разработку нового принципа усиления и генерации электромагнитных волн и создание молекулярных генераторов и усилителей советским физикам Н.Г. Басову и А.М. Прохорову в 1959 г. была присуждена Ленинская премия, а в 1964 г. им и американскому физiku Ч.Т. Таунсу была присуждена уже Нобелевская премия по физике: «... for fundamental work in the field of quantum electronics, which has led to the construction of oscillators and amplifier based on the maser-laser principle». Именно этот год может считаться годом рождения эпохи лазеров. Дальнейшее ее взросление и становление шло по линии поиска эффективных технологий по их созданию. Значительной вехой

Сокращения: ДЛС — диодная лазерная спектроскопия, ЖКТ — желудочно-кишечный тракт, ЯБоб — язвенная болезнь в фазе обострения, ЯБрем — язвенная болезнь в фазе ремиссии, ЧСС — частота сердечных сокращений.

на этом пути явились работы группы исследователей США, СССР, Канады и других стран.

Первая работа о возможности использования полупроводников для создания лазера была опубликована в 1959 г. Н.Г. Басовым с коллегами [1]. В 1961 г. он же предложил использовать для накачки *p-n*-переходы [2]. Считается, что первый полупроводниковый инжекционный лазер создал Р. Холл в 1962 г. [3]. Отметим, что нобелевская лекция Н.Г. Басова была посвящена полупроводниковым лазерам [4]. Следующим важным шагом в развитии диодных лазеров было использование в них гетероструктур [5]. Это стало большим достижением, так как позволило реализовать их работу при комнатной температуре. До этого лазеры могли работать при температуре жидкого азота, а срок службы их был невелик и никто не мог предсказать такое яркое сегодняшнее будущее этим ненадежным тогда лазерам.

Первоначально такие лазеры назывались «полупроводниковыми инжекционными». Впоследствии общепринятым стал термин «диодный лазер» (diode laser), который мы здесь и используем. Для работы лазера нужны три компонента: активная среда, накачка и резонатор. Доминирует сегодня способ накачки непосредственно электрическим током — инжекция.

Нужно иметь в виду следующее. С физической точки зрения существует важная разница между полупроводниковыми и другими типами лазеров, в которых используются переходы между изолированными уровнями энергии отдельных атомов, молекул, ионов, примесных центров. В полупроводниковом лазере используются переходы между разрешенными энергетическими зонами кристалла или переходы, осуществляемые непосредственно в самой зоне проводимости. Поскольку в полупроводниковом лазере возбуждаются и излучают коллективно атомы, составляющие кристаллическую решетку, сам лазер может обладать очень малыми размерами. Следует подчеркнуть, что существующие в настоящее время типы диодных лазеров перекрывают огромный спектральный диапазон от ближнего ультрафиолетового до терагерцового диапазона, где располагаются полосы поглощения различных молекул, важных для спектроскопических целей. Это позволяет на единой аппаратной и методической основе обеспечить их детектирование, используя единые аппаратные и методические средства. Таким образом, регистрировать различные молекулы можно в разных спектральных диапазонах, используя различные типы диодных лазеров. На основе использования таких лазеров и возник принципиально новый метод диодной лазерной спектроскопии с большими возможностями. Первые сообщения о спектрах высокого разрешения молекул с помощью диодных лазеров были опубли-

кованы в 1970 г. [6]. С этого момента можно отсчитывать историю широкого применения диодной лазерной спектроскопии. А.В. Mantz создал в лаборатории Лос-Аламос (США) первый коммерческий ДЛС для определения спектра поглощения UF₆. Этот грант положил начало его компании Laser Analytics, которая в течение многих лет доминировала в области разработки ДЛС-систем для разных применений. Широкое распространение получили устройства с лазерными диодами применительно к космосу, космическим исследованиям и к решению разных космических задач. В частности, понять, что происходит с атмосферой Земли в условиях глобального потепления и к чему это может привести, можно, изучая атмосферу других планет солнечной системы и в первую очередь атмосферу Венеры. В этом направлении метод ДЛС представляется перспективным для применения в целевых космических программах. Образно говорят, что человеческий организм — это тоже космос, подчеркивая этим и его сложность, и то, как он функционирует, а также и трудности в его изучении, как и в случае с космосом. Очевидно, что и перспективы метода ДЛС для медицинских применений также весьма значительны. Большой вклад в разработку и развитие метода ДЛС внесла группа исследователей Отдела диодной лазерной спектроскопии Института общей физики им. А.М. Прохорова РАН, ставших лауреатами Государственной премии СССР в 1985 г. за цикл работ «Перестраиваемые лазеры на полупроводниках $A_{IV}B_{VI}$ и молекулярная спектроскопия высокого разрешения на их основе». Долгое время этот отдел института возглавлял нобелевский лауреат академик А.М. Прохоров, впоследствии его возглавил доктор физико-математических наук, профессор А.И. Надеждинский, выступающий в числе авторов данной статьи. А.И. Надеждинский был и в числе первых создателей ДЛС, применившим его для измерения спектров поглощения молекул. Что касается практического применения области диодной лазерной спектроскопии, то в нашем понимании в нее входят:

- физика диодных лазеров применительно к спектроскопическим исследованиям;
- физика различных объектов, исследуемых методом ДЛС;
- подсистемы ДЛС.

Можно отметить, что применение аппаратных систем на полупроводниковых диодных лазерах набирает обороты, в том числе стали появляться работы по медицине, в частности по исследованию газового состава выдыхаемого воздуха человека [7].

Естественно, возникает и потребность в изложении принципов как собственно самих диодных лазеров, так и направления — диодной лазерной

спектроскопии, создаваемой на их основе. Ясно, что знание принципов, которые являются основой ДЛС, способствует формированию качественных аппаратных измерительных систем, нацеленных на разные применения в медико-биологических исследованиях. Также известно, что знание принципов ДЛС есть необходимое условие для квалифицированного проведения исследований с применением сложных и наукоемких измерительных систем. В связи с изложенным целью работы явилось освещение наиболее важных вопросов, с акцентом на важность понимания того, как создаются и функционируют измерительные системы, реализующие принципы диодной лазерной спектроскопии, а также проанализировать новые экспериментальные данные, которые были получены при применении разных приборных реализаций метода ДЛС.

ДИОДНАЯ ЛАЗЕРНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ И ДИОДНЫЕ ЛАЗЕРЫ, НА КОТОРЫХ ОНА БАЗИРУЕТСЯ

Имеются принципиально важные позиции, которые лежат в основе ДЛС — это наличие диодных лазеров, многопроходной кюветы, фотодетектора инфракрасного диапазона, управляющие и организующие системы как аппаратного, так и программного характера. Очевидно, что первой и главной позицией в этом комплексе являются диодные лазеры.

О полупроводниковых диодных лазерах и их принципах. Вначале необходимо обсудить один важный вопрос достоверности тех исходных теоретических представлений, которые послужили основой и путеводной нитью при создании полупроводниковых диодных лазеров. Для этого следует вспомнить важный момент, относящийся к зонной теории полупроводников, широко используемой для объяснений принципов действия диодных лазеров и создаваемых на их основе измерительных систем диодной лазерной спектроскопии. При этом понимание принципов работы диодных лазеров во многом базируется именно на понимании зонной теории полупроводников. Прогресс с развитием технологий в совершенствовании диодных лазеров в плане сознательного изменения их свойств в нужном направлении, а также и в создании таковых на новых принципах получены благодаря этой теории. Хотя зонная теория и оказалась столь полезной, надо, однако, отметить, что она сильно упрощена. Условно говоря, это некое приближение к истинной квантовой теории. В этом можно убедиться, обратившись к ее истокам и вспомнив важный момент, относящийся к зонной теории полупроводников.

Как известно, матричная механика Гейзенберга и, в большей мере, теория Шредингера с его знаменитыми уравнениями явились первыми ко-

личественными формулировками основных принципов квантовой механики и сыграли, особенно последняя, важную роль в ее развитии. Вместе с тем нерелятивистская теория Шредингера во многих отношениях является упрощенной теорией, ибо основана на нескольких допущениях. Во-первых, в ней не рассматриваются факты зарождения и исчезновения микрочастиц и считается, что в любом физическом процессе число микрочастиц данного типа остается постоянным. Во-вторых, согласно этой теории, скорость движения микрочастиц настолько мала, что становится возможным считать их движение не релятивистским. Эти допущения следует считать сильными, так как из опыта известно, что процессы рождения и аннигиляции частиц действительно происходят, а настоящая фундаментальная теория должна базироваться на принципах специальной теории относительности. Это сделанное замечание относится к вопросу использования уравнения Шредингера и достоверности данных, получаемых на его основе с учетом его приближенного характера. Далее, уровень достоверности при использовании этого уравнения зависит еще и от способа решения этого уравнения, т. е. от допускаемой при этом степени приближенности. Как уже было отмечено, из квантовой механики известно, что для теоретического исследования любой системы частиц и, в частности, для вычисления возможных значений ее энергии надо решить соответствующее дифференциальное уравнение Шредингера в частных производных. Оно содержит столько переменных, сколько степеней свободы имеет рассматриваемая система. Для полупроводника все электроны и атомные ядра, входящие в его состав, определяют и его число степеней свободы, а значит, и число переменных этого уравнения, которое достигает значений порядка десяти в двадцать третьей степени. Поэтому решают его только приближенно, принимая во внимание только наиболее характерные черты такой сложной системы и абстрагируясь от сравнительно менее существенных деталей.

По числу и виду принятых упрощений так называемая зонная теория представляет собой решение самой простой квантово-механической задачи, которая базируется на ряде основных приближений, известных как «зонное приближение». Первое упрощение касается ядер. Так как они обладают большой массой по сравнению с электронами, то их принимают за неподвижные источники электрического поля, действующего на электроны. Второе упрощение касается расположения ядер в пространстве: оно считается строго упорядоченным, периодическим, ядра располагаются точно в узлах идеальной кристаллической решетки материала. Третье упрощение заключается в том, что взаимодействие электро-

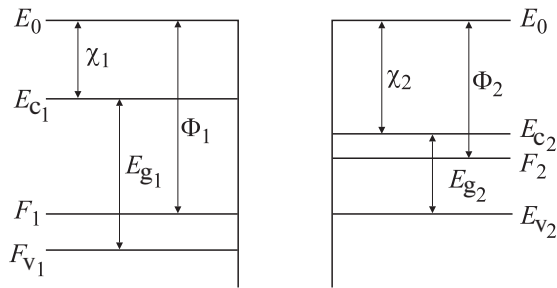


Рис. 1. Вид энергетических диаграмм, получаемых из решения уравнения Шредингера для задачи движения электрона в периодическом потенциальном силовом поле для двух разных полупроводников, слева с широкой запрещенной зоной, справа с узкой (индексы 1 и 2 относятся соответственно к левой и правой частям рисунка).

нов и ядер друг с другом заменяется некоторым эффективным внешним полем, т. е. электроны, взаимодействующие по закону Кулона с ядрами и друг с другом, заменяются системой независимых электронов, движущихся в некотором определенном поле, которое складывается из поля ядер и эффективного поля, приближенно описывающего взаимодействие между электронами. В следующем упрощении многоэлектронная задача сводится к одноэлектронной. Хотя для этих упрощений имеются определенные обоснования, тем не менее, они остаются допущениями.

Итак, квантово-механическая задача о системе электронов сводится к задаче об одном электроном, движущемся во внешнем электрическом потенциальном поле $U(\mathbf{r})$, где $\mathbf{r}(x,y,z)$ — радиус-вектор данной точки пространства. Явный вид функции, описывающей это поле, не известен, что не позволяет прямо решать уравнение Шредингера. Однако некоторые простые суждения по ее поводу можно сделать априорно. Следует вначале заметить, что вся рассматриваемая система зарядов в кристаллическом полупроводнике в целом нейтральна, т. е. общее число зарядов валентных электронов по величине равно и противоположно по знаку заряду всех атомных остовов. Поэтому есть основания полагать, что не только остовы, но и электроны будут располагаться в пространстве полупроводника периодически. Следовательно, поле, создаваемое данной системой зарядов, должно быть периодически в пространстве $U(\mathbf{r}) = U(\mathbf{r} + \mathbf{a}_n)$, т. е. потенциальная энергия электрона в кристалле инвариантна относительно сдвига на вектор кристаллической решетки $\mathbf{a}_n$. Таким образом, представляется, что это задача о движении электрона в периодическом поле. Стационарные состояния электрона в такой задаче уже можно определить на основе решения известного стационарного уравнения Шредингера следующего вида:

$$\{-\hbar^2/2m\nabla^2\psi(\mathbf{r}) + U(\mathbf{r})\psi(\mathbf{r})\} = E\psi(\mathbf{r}).$$

Из решения соответствующей квантово-механической задачи на основе уравнения Шредингера вытекает зонная энергетическая структура, состоящая из одной неразрешенной зоны и двух разрешенных зон, т. е. структура, свойственная полупроводникам. Появление такой зонной энергетической структуры обусловлено характером электрического силового поля в полупроводнике, которое действует на его электроны и имеет некоторую определенную пространственную периодичность. Именно представления о характере зонной структуры энергетического спектра полупроводников в зависимости от их состава, свойств и структуры явились той основой, на которой развились идеи и технологии, приведшие к созданию лазеров и их широкой распространенности в мире. Значения энергий, находящиеся в запрещенной зоне, не относятся к собственным значениям гамильтониана, т. е. в отсутствие внешних полей электрон в идеальном кристалле такой энергией обладать не может. В силу этого и стало употребительным название «запрещенная зона». Представляется удивительным как при неточности самого уравнения Шредингера и сильных упрощениях, сделанных, чтобы его можно было как-то решить, а также приблизительности, используемой уже в процессе его решения, получается нечто достоверное и чрезвычайно полезное. Это нечто есть энергетическая зонная диаграмма, представленная на рис. 1, которая и является результатом решения отмеченной квантово-механической задачи. Левая часть на этом рисунке относится к полупроводникам, имеющим широкую запрещенную зону, а правая часть — к полупроводникам с узкой запрещенной зоной. На рисунке стрелками с соответствующими обозначениями отмечены важные характеристические параметры, отражающие свойства разных полупроводников.

Из рис. 1 видно, что возможные энергии электронов в периодическом силовом поле распределяются только зонально, по двум отдельным разрешенным зонам, одна выше E_{c1} слева и E_{c2} справа, другая ниже E_{v1} слева и E_{v2} справа, соответственно для левой и правой частей рисунка. Между ними существует еще одна запрещенная энергетическая зона (между E_c и E_v), обладать энергией из которой электрон вообще не может. E_{g1} и E_{g2} — ширина запрещенной зоны, χ_1 и χ_2 — электронное сродство, ϕ_1 и ϕ_2 — это работа выхода, Φ_1 и Φ_2 — уровень Ферми или электрохимический потенциал, который можно рассматривать как некую характерную энергию, зависящую от типа полупроводника, его состава и состояний. Верхняя разрешенная зона высоких энергий определяется как зона проводимости, а самая нижняя разрешенная зона низких энергий опре-

делается как валентная зона, а между разрешенными зонами располагается запрещенная зона или зона запрещенных энергий. На рис. 1 представлена именно такая зонная структура энергий электрона, движущегося в периодическом силовом поле в идеальной кристаллической решетке для двух разных полупроводников. Энергетическое расстояние между нижней границей зоны проводимости (E_c) и верхней границей валентной зоны E_v соответственно для левой и правой частей рис. 1, определяет ширину запрещенной зоны. Здесь необходимо заметить, что в понимании зонной структуры полупроводников важная роль принадлежит понятию зоны Бриллюэна, но это уже специальный вопрос вне нашей статьи. Полученный результат о зонной энергетической структуре, свойственной полупроводникам, представляется удивительным: во-первых, как при таком приблизительном теоретическом сопровождении эмпирики смогли им руководствоваться и на его основе и следующих из него разнообразных идей достичь таких ошеломляющих результатов по созданию полупроводниковых диодных лазеров с рекордными характеристическими параметрами и как были угаданы пути их дальнейшего совершенствования. Электроны из зоны проводимости могут взаимодействовать с дырками валентной зоны, и этот процесс связывания электронов с дырками, т.е. процесс их рекомбинации, является чрезвычайно важным, так как он может сопровождаться электромагнитным излучением и поэтому заслуживает здесь более предметного рассмотрения. Как осуществляется переход электронов с зоны проводимости в валентную зону и осуществляется там их рекомбинация с излучением, схематично можно понять из рис. 2. Но вначале, говоря о рекомбинации вообще и рекомбинации, сопровождающейся электромагнитным излучением, необходимо отметить следующее. Во-первых, процессы рекомбинации можно разделить на две группы, прямую рекомбинацию «зона — зона» и рекомбинацию с участием примесей и дефектов. В первом случае свободный электрон из зоны проводимости рекомбинирует со свободной дыркой в валентной зоне в одном элементарном акте. Во втором случае свободные электроны рекомбинируют со связанными дырками на примесях или дефектах, а свободные дырки — со связанными электронами. При прямой рекомбинации «зона — зона» при переходе электрона из зоны проводимости в валентную зону всегда должны выполняться законы сохранения энергии и квазиимпульса. Если E и $\mathbf{K}'$ — энергия и квазиволновой вектор электрона в начальном состоянии в зоне проводимости, а E и $\mathbf{K}$ — их значения в конечном состоянии в валентной зоне, то должны выполняться следующие соотношения:

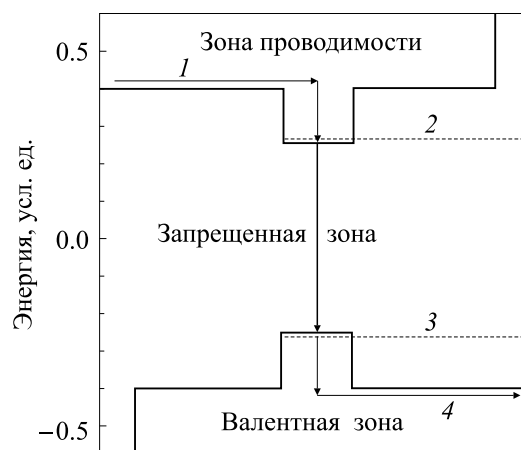


Рис. 2. Пример межзонного перехода с излучением фотона (переход 2—3).

$$E(\mathbf{K}') = E(\mathbf{K}) + \Delta E;$$

$$\hbar \mathbf{K}' = \hbar \mathbf{K} + \Delta \mathbf{p}.$$

Эти соотношения означают, что отведена освобождающаяся энергия ΔE и обеспечено изменение квазиимпульса, определяемого законами сохранения. Процессы, обеспечивающие выполнение законов сохранения, могут быть различными. При испускании кванта излучения — фотона с определенной частотой ν будет иметь место следующее:

$$\Delta E = h\nu \text{ и } |\Delta \mathbf{p}| = h\nu/c.$$

Этот случай определяется как излучательная рекомбинация. С учетом последнего законы сохранения энергии и квазиимпульса электрона при прямом переходе «зона — зона» выступают как законы резонансной излучательной рекомбинации и имеют следующий вид:

$$E(\mathbf{K}') = E(\mathbf{K}) + h\nu,$$

$$\hbar \mathbf{K}' = \hbar \mathbf{K} + h\nu/c.$$

Избыточная энергия и квазиимпульс в самом простом случае могут быть переданы колебаниям решетки. Наиболее простым и наглядным способом можно представить тот факт, что энергия колеблющейся решетки может изменяться только порциями, используя для этого понятие кванта — $h\nu_{\text{ф}}$. Такие кванты энергии называются фононами. Представление о фононах было введено И.Е. Таммом [8]. Если фотоны не участвуют в обмене энергией и квазиимпульсом, такие рекомбинации называются безизлучательными. Возможны также процессы, когда энергия и квазиимпульс, освобождаемые при рекомбинации, передаются третьей свободной частице, электрону (в электронных полупроводниках) или дырке (в дырочных полупроводниках), такие процессы называются ударной рекомбинацией или Оже-ре-

комбинацией. Вероятность различных типов рекомбинаций зависит от энергетической структуры кристалла, а также от концентрации электронов и дырок. При этом процессы разного типа могут сосуществовать. Темп или скорость прямой рекомбинации «зона – зона» пропорционален произведению концентраций электронов и дырок, т. е. подчиняется тому же закону, что и скорость бимолекулярных химических реакций. Коэффициент пропорциональности по определению есть коэффициент рекомбинации. Излучательные процессы рекомбинации, происходящие с участием акустических колебаний решетки, могут происходить как с поглощением, так и с испусканием фононов. Для однофононных процессов обозначим частоту фонона как $\nu_{\text{ф}}$, а квазиволновой вектор как $\mathbf{q}$. Тогда законы сохранения энергии и квазиимпульса при междозонных переходах с поглощением или испусканием фотона и фонона ($\nu_{\text{ф}}$) примут следующий вид:

$$E_c(p') = E_v(p) + h\nu \pm h\nu_{\text{ф}};$$

$$p' = p \pm \hbar \mathbf{q}.$$

В законах резонансного излучения фотона с участием фононов плюс относится к случаю испускания фонона, а минус, естественно, к его поглощению. Указанные выше условия резонансных междозонных переходов остаются справедливыми и для случаев внутризонных переходов, только надо иметь в виду, что вместо значений энергии E_c и E_v должны использоваться значения энергий, характеризующих исходное состояние энергии и конечное, куда был осуществлен переход, аналогичное предположение верно и для квазиимпульса.

Квантово-размерные структуры, пример зонной диаграммы квантово-размерной гетероструктуры. Ширина запрещенной зоны зависит от состава твердого раствора. В квантово-размерной гетероструктуре энергия электронов квантуется. Используя современные технологии, можно создавать гетероструктуры с любым наперед заданным набором свойств. В работе Ж.И. Алферова «История и будущее полупроводниковых гетероструктур» в отношении полупроводниковых лазеров подробно изложены вопросы гетероструктур, их истории и будущего [9]. Необходимо заметить, что его прогноз в отношении будущего полупроводниковых гетероструктур вполне оправдался. Современные квантово-каскадные лазеры, принцип действия которых тоже основан на полупроводниковых гетероструктурах, стали целым научно-технологическим направлением, быстро развивающимся во всем мире. Это направление относится к созданию лазеров на основе специального набора гетеропереходов, повторяемых пока скачкообразно большое число раз.

На рис. 2 приведен пример зонной диаграммы квантово-размерной гетероструктуры. В ней ширина запрещенной зоны зависит от состава твердого раствора. Приведены положения и переходы электрона в гетероструктуре. Еще раз отметим, что в квантово-размерной гетероструктуре энергия электронов квантуется, как показано пунктиром на рис. 2. Условно показано движение электрона в зоне проводимости до рекомбинации (1–2), в процессе рекомбинации (2–3) и в валентной зоне (3–4). Переход электрона 2–3 сопровождается высвечиванием кванта света. Первый квантовый каскадный лазер был изобретен и продемонстрирован в Bell Labs (США) в 1994 г. [10]. За последующие годы подобные лазеры прошли большой путь развития и совершенствования, их распространенность достигла больших высот. В них за счет специальной вариативной конфигурации границы между зоной проводимости и запрещенной зоной создаются условия для возможных излучательных переходов внутри зоны проводимости. В своей работе 2002 г. известный создатель этого типа лазеров J. Faist обозначил пройденный путь их развития от простых форм к сложным [11]. В этой же работе он выступил с важным утверждением: «Квантово-каскадный лазер является одним из лучших примеров квантового устройства, в котором фундаментальные свойства, такие как длина волны излучения, являются не внутренним свойством полупроводника, а результатом дизайна эпитаксиальных слоев». Это означает, что дизайн стал определяющим фактором в деле создания квантово-каскадных лазеров, приоритет признается за дизайном, а не за фундаментальными свойствами самих полупроводников.

На рис. 3 схематически показаны случаи, когда активный регион, в котором происходит излучение, базируется на одной квантовой яме, на двух квантовых ямах и на трех. В общих чертах смысл процесса излучения в квантовых ямах из рисунка представляется вполне понятным. Для большей детализации и уточнений можно обратиться к первоисточникам: по вопросам одной квантовой ямы к работе [12], двух квантовых ям – к работе [13] и трех – к работе [14].

Как было отмечено в работе [11], современный подход к созданию полупроводниковых лазеров – это дизайн. Пример схем излучательных моносонных переходов представлен на рис. 4, на котором приведена энергетическая диаграмма по дизайну, предложенному в работе [15] для полупроводникового квантово-каскадного лазера с длиной волны излучения 7,5 мкм.

У лазера с распределенной обратной оптической связью на верхней поверхности имеется решетка для выбора режима генерации.

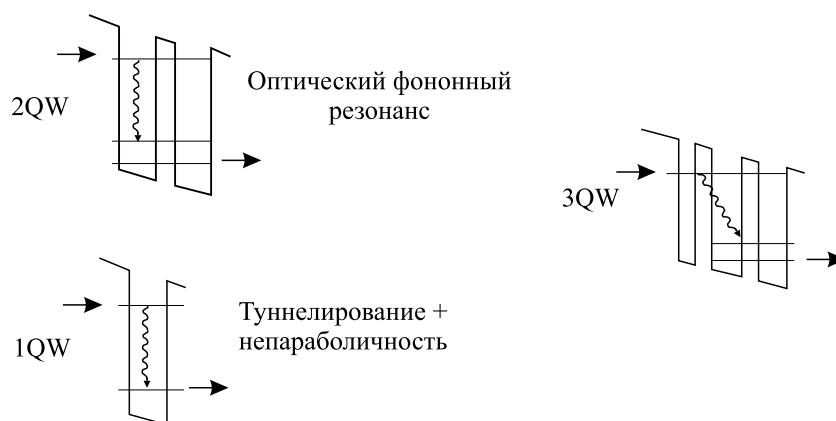


Рис. 3. Схематическое представление различных активных регионов, описанных в литературе, состоящих из одной квантовой ямы (1QW), двух квантовых ям (2QW), трех квантовых ям (3QW).

В целом можно обозначить основные черты, определяющие и характеризующие дизайн, и они таковы. Чередующаяся последовательность ям и барьеров следуют в направлении, перпендикулярном плоскостям слоев, а направление распространения генерируемого лазером излучения направлено параллельно этим слоям. Таким образом, дизайн — это чередование ям и барьеров, отличающихся по толщине. В зоне проводимости полупроводников, как известно, имеет место сплошной спектр энергий, т. е. электрон может в ней иметь практически любую энергию. Однако в этой зоне в слое чередующихся барьеров и ям ситуация другая. В ямах зоны проводимости создаются условия, при которых электрон в них может иметь только дискретные значения энергий, зависящие от глубины ям, их толщины и характеристик соседствующих с ними барьеров. В междуба-

рьерных ямах электрон может переходить с более высокого уровня энергий на более низкий уровень, при этом разностная энергия может быть излучена в виде фотона. Чередование ям и барьеров конструируется так, чтобы создавались специальные функциональные регионы для эффективного процесса такого излучения фотонов. Общий дизайн определяется дизайном инжектора и дизайном активного региона (см. рис. 2). Все ямы и все барьеры по величине имеют одну и ту же соответственно глубину и высоту. Ширина ям и барьеров определяется толщиной слоев соответствующего полупроводникового материала, для ям это AlInAs, а для барьеров — GaInAs. Создание многослойной и покаскадной структуры стало возможным благодаря развитию планарно-эпитаксиальных технологий. Таким образом, при создании лазеров возможно большое разнообразие

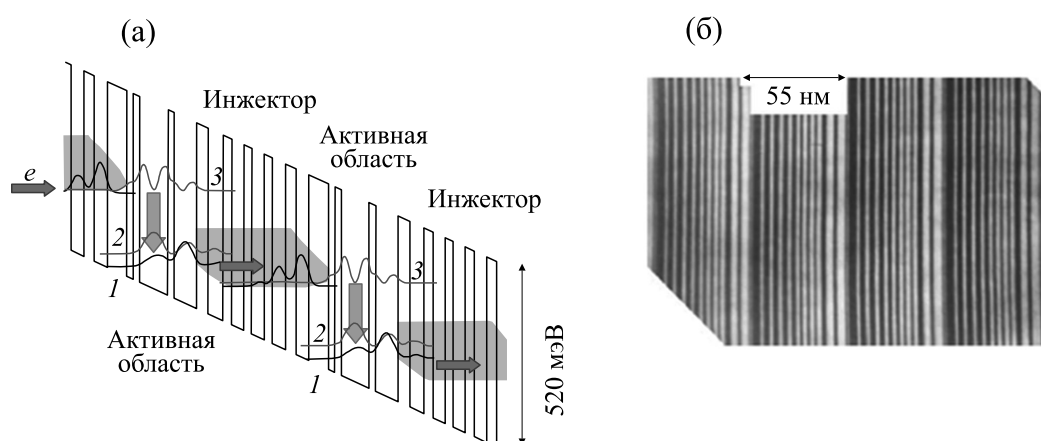


Рис. 4. (а) — Энергетическая диаграмма квантового каскадного лазера, излучающего при $k = 7,5$ лм. Каждая ступень (инжектор плюс активная область) имеет толщину 55 нм. Показаны уровни энергии и соответствующие распределения вероятностей, полученные из решения уравнения Шредингера. Энергетические ямы и барьеры изготовлены из сплавов AlInAs и GaInAs соответственно. (б) — Изображение части структуры в просвечивающем электронном микроскопе. Белые и черные контрастные области представляют ямы и барьеры соответственно.

дизайнов, определяющих свойства их излучений. В результате на рынке сейчас представлены в большом разнообразии полупроводниковые диодные лазеры, отличающиеся по типам и по различным характеристикам (длинам волн, мощности и другим). Комбинируя их, можно компоновать различные измерительные системы для разных сфер предназначения.

О диодной лазерной спектроскопии. Любая изолированная газовая молекула обладает свойством поглощать или излучать электромагнитные волны, причем со своим особым спектром поглощения или соответственно излучения. Все эти спектры лежат в инфракрасном диапазоне. По поводу таких свойств газовых молекул могут быть следующие объяснения. Атомы в составе молекул находятся в постоянном движении, зависящем от температуры. Колебательные и вращательные движения молекул собственно и приводят к появлению полос поглощения (спектров) в инфракрасной области. Понимание природы их появления легко объясняется с позиций гармонического осциллятора. Теория гармонического осциллятора имеет в физике весьма большое значение, потому что уравнения движения многих непохожих физических систем формально эквивалентны уравнениям движения системы гармонических осцилляторов, очень слабо взаимодействующих друг с другом. В первом приближении, когда взаимодействием между осцилляторами можно пренебречь, квантовая теория таких систем математически эквивалентна весьма простой теории для системы совершенно независимых гармонических осцилляторов. Последняя система допускает весьма простой анализ, так как каждый осциллятор ведет себя так, как будто остальные осцилляторы отсутствуют. Очевидно, что если мы можем описать поведение одного из них, мы можем описать и поведение любого их числа. Отметим также, что все молекулы имеют колебательные степени свободы, свойства которых с хорошим приближением описываются теорией гармонического осциллятора. Выражаясь с большой общностью, можно сказать, что теория гармонического осциллятора применима к системам, которые удовлетворяют линейным или приближенно линейным уравнениям движения. Идеал спектроскопии: узкая частотная линия излучения, перестраиваемая в широкой области спектра. В наибольшей степени ей по критерию монохроматичности удовлетворяет излучение, генерируемое именно диодными лазерами, определившими новое направление в спектроскопии, получившее название диодная лазерная спектроскопия. Что касается широкого диапазона перестройки частоты излучения, то и здесь проблемы нет: большая область частотной перестройки достигается путем использования линейки различных диодных лазеров и последовательными

включениями и выключениями генерации их излучения в автоматизированном режиме по ходу проведения спектроскопических исследований. В работе [15] в предельно упрощенном виде представлен диодный лазерный спектрометр, поэтому на рис. 5 приводится более функциональная схема, объясняющая принцип его действия.

В верхней части рис. 5 представлены основы диодной лазерной спектроскопии с изображением многопроходной кюветы [16], являющейся необходимым атрибутом высокоточной диодной лазерной спектроскопии, а ниже — принцип измерения газовой компоненты атмосферной пробы [17–19]. F_0 и F_1 — интенсивности излучения от диодного лазера и на выходе многопроходной кюветы с исследуемым газом. При создании современных аппаратных измерительных комплексов на основе метода ДЛС существуют некоторые принципы, следуя которым их создатели добиваются и высокой чувствительности, и высокой точности в определении супернизкого содержания газовых молекул в разных объектах. При аппаратной реализации метода ДЛС одним из них, имеющим важное значение, является принцип временного периодического накопления полезного сигнала над шумами. Критерияльной основой для оценки эффективности этого процесса является вычисление дисперсии Аллана, определяющей зависимость измеренной концентрации газа (ее погрешности) от времени усреднения [20]. Необходимость применения при этом многопроходной кюветы также должна рассматриваться как еще один важный принцип [21,22].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Инструментальные (приборные) средства измерений. На рис. 5 была представлена общая схема измерительных устройств, построенных на принципах ДЛС. По этому принципу были созданы аппаратные средства, использующие многоходовые кюветы разного типа (кюветы Чернина и Эрриота), позволяющие в клинических условиях определять содержание NH_3 и H_2O в потовых испарениях с кожных покровов ладонной поверхности рук [23]. Подобным образом измерялось содержание разнообразных метаболитов в порциях выдыхаемого воздуха у пациентов с различными патологическими процессами в организме на разных их стадиях развития. Выдыхаемый воздух помещался путем выдоха порций воздуха пациентом в специальную емкость с запорным устройством. Газовый состав порций выдыхаемого воздуха ($^{12}\text{CO}_2$, $^{13}\text{CO}_2$, CH_4 , NH_3 , H_2S) определяли на опытно-конструкторской разработке многокомпонентного диодно-лазерного спектрометра, выполненной в ИОФ РАН им. А.М. Прохорова. В установке были использованы перестраиваемые

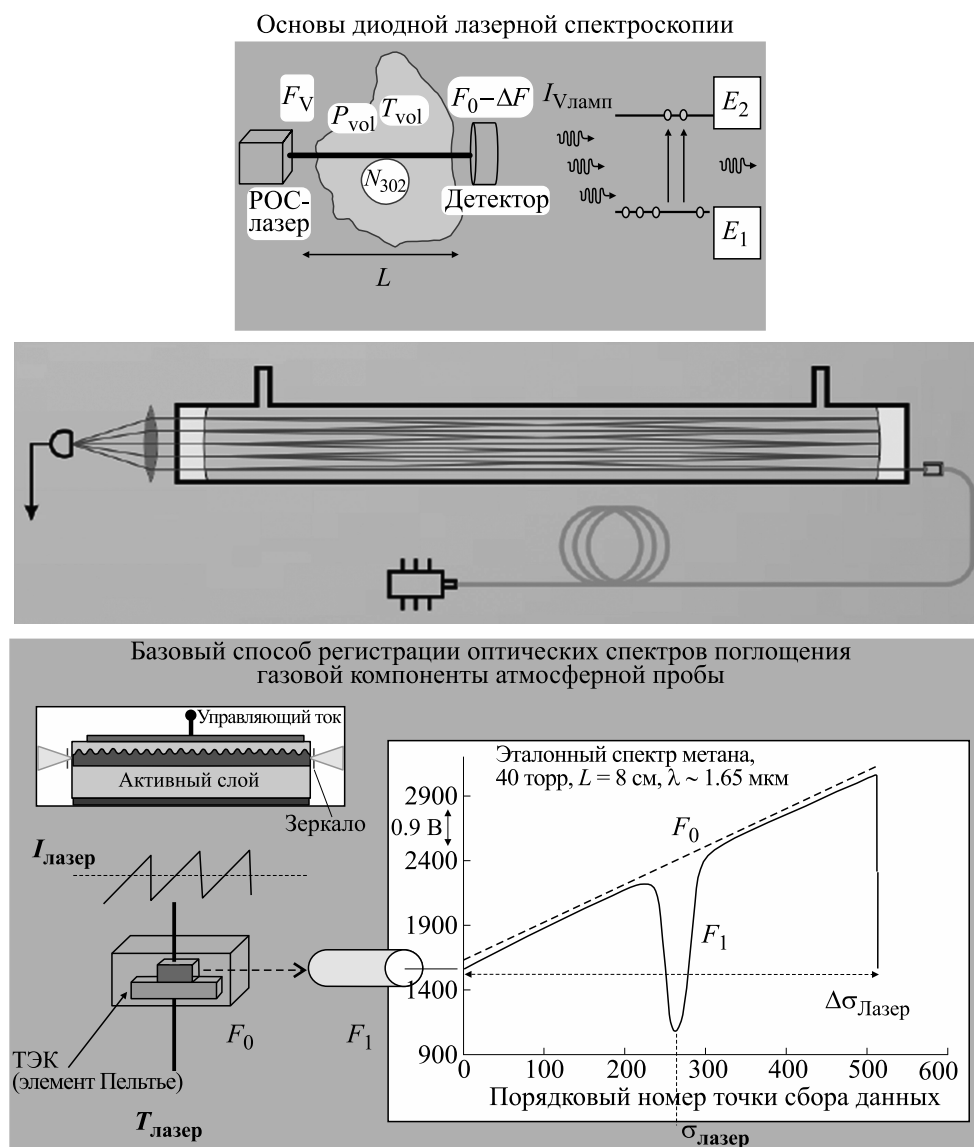


Рис. 5. Схематическое представление принципа действия диодного лазерного спектрометра.

диодные лазеры, работающие в ближнем инфракрасном диапазоне и обладающие высокой степенью монохроматичности ($\Delta\nu/\nu \sim 10^{-7}$). За счет накачки током диодного лазера импульсом с длительностью 1–5 мс происходит сканирование излучения по частоте. Это позволяет прописать полосу поглощения молекул. В этом диапазоне располагаются молекулярные полосы поглощения, образуемые составными колебаниями и обертонами основных молекулярных переходов (таблица).

На рис. 6 представлен внешний вид и конфигурация измерительного комплекса для определения аммиака и паров воды в испарениях с ладоней рук. Другого типа измерительный комплекс, основанный на принципах ДЛС, был разработан

и применялся для определения газовых метаболитов выдыхаемого воздуха с использованием многоходовой кюветы Эрриота («закрытого типа») [25].

Клинический материал (пациенты и участники исследования). В терапевтических отделениях ГКБ им. В.М. Буянова были обследованы 98 пациентов (добровольцев, давших информированное согласие) в возрасте от 19 до 78 лет (мужчин — 59, женщин — 39), проходящих курс лечения с различной патологией внутренних органов, находящихся в удовлетворительном состоянии и без признаков декомпенсации хронических заболеваний. Были исследованы порции выдыхаемого воздуха у 18 практически здоровых доноров (9 мужчин и 9 женщин в возрасте от 18 до 30 лет); у 27 пациентов (15 мужчин и 12 женщин в воз-

Идентификация спектральных линий на основе данных из базы HITRAN-2012 [24]

Молекула	$^{12}\text{CO}_2$	$^{13}\text{CO}_2$	H_2S	CH_4	$^*\text{NH}_3$	H_2O	$^*\text{NH}_3$
ν, cm^{-1}	6233,1829	6233,7708	6233,9633	6057,0996	6612,6725	6612,0341	6612,7258

Примечание. ν – Волновое число перехода; $^*\text{NH}_3$ – мультиплетная структура, представлены сильные линии мультиплета.

расте от 24 до 53 лет) с язвенной болезнью в фазе обострения (ЯБоб) без учета локализации, но с доказанной инвазией *H. pylori* в гастробиоптатах; у 31 пациента (21 мужчин и 10 женщин в возрасте от 28 до 78 лет) с язвенной болезнью в фазе ремиссии (ЯБрем), с постязвенными рубцовыми изменениями и симптомами гастродуоденита; у 25 пациентов (16 мужчин и 9 женщин в возрасте от 35 до 62 лет) с субкомпенсированным циррозом печени класса В и С по Чайлд-Пью. Исследования проб выдыхаемого воздуха проводили при различных функциональных состояниях пациентов – в покое (натошак), при щадящей физической нагрузке в виде приседаний до достижения частоты сердечных сокращений (ЧСС) 140 уд/мин. (по международному протоколу проведения щадящей физической нагрузки PVC₁₇₀), в периоде восстановления, а также при пищевой нагрузке, состоящей из стандартной смеси аминокислот, входящих в состав зондового питания больных, и нагрузке карбамидом. Одновременно фиксировали показатели пульсоксиметрии (SpO_2 , ЧСС), величину артериального давления, частоту дыхательных движений, содержание глюкозы в крови. Воздействие нагрузочных факторов существенно изменяло содержание состава биомаркеров выдыхаемого воздуха. Наиболее существенно и закономерно на пике нагрузки по отношению к исходным показателям в покое изменя-

лись параметры CO_2 , CH_4 , NH_3 , ЧСС, частота дыхательных движений, пульсоксиметрический показатель насыщения тканей кислородом (SpO_2), глюкоза крови. На начальном этапе эксперимента были проведены исследования однократных проб выдыхаемого воздуха у 70 человек (37 мужчин и 33 женщин) в возрасте от 18 до 78 лет с различной патологией внутренних органов, находящихся в фазе ремиссии заболеваний и адаптированного покоя обследуемых.

НЕКОТОРЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ДИОДНОЙ ЛАЗЕРНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Как отмечалось, целью исследований было определение диагностического потенциала метода диодной лазерной спектроскопии путем измерения газообразных метаболитов для клинических целей применительно к различным функциональным состояниям человека.

На начальном этапе была проведена оценка выделения аммиака и паров воды в потовых испарениях с ладоней рук. На рис. 7 представлена картина изменения содержания аммиака в потовых испарениях в зависимости от капиллярного кровообращения после обработки рук водно-мыльным раствором.

На рис. 7б представлены типовые кривые содержания водяного пара трех последовательных измерений со снятием и наложением рук на измерительное окно прибора. Характерным для этих данных является более высокий уровень содержания паров воды на втором измерении. По оси абсцисс одно деление соответствует одной минуте. По оси ординат содержание аммиака (нбар) и паров воды (мбар). На рис. 7а до обработки их водно-мыльным раствором (А) и после него (В) цифрами 1, 2, 3 и 4 обозначены моменты наложения и снятия рук с измерительных окон: 1, 3 – исходные моменты начала измерения содержания аммиака в потовых испарениях с ладоней рук; 2, 4 – моменты снятия ладоней рук с измерительных окон. Как видно из приведенных данных, содержание испаряемого аммиака существенно ниже, чем содержание паров воды, которое существенно зависит от нейровегетативной функции микрососудов, влияющих на транскапиллярный обмен. В случаях повреждения азотовыделительной функции почек содержание выделяющегося аммиака

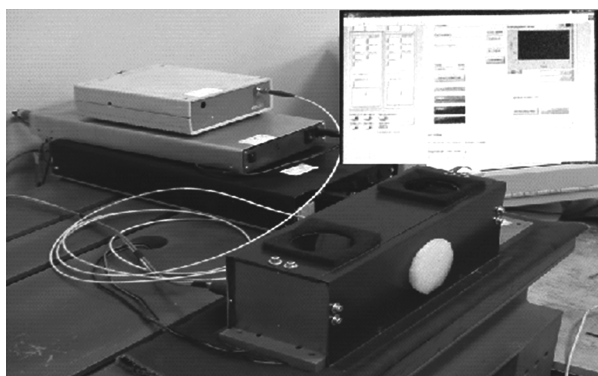


Рис. 6. Внешний вид экспериментальной установки по измерению содержания аммиака в потовых испарениях с ладоней рук, созданной на основе принципов ДЛС. На фото в верхней части прибора расположены измерительные окна для взятия проб испарений с ладоней рук.

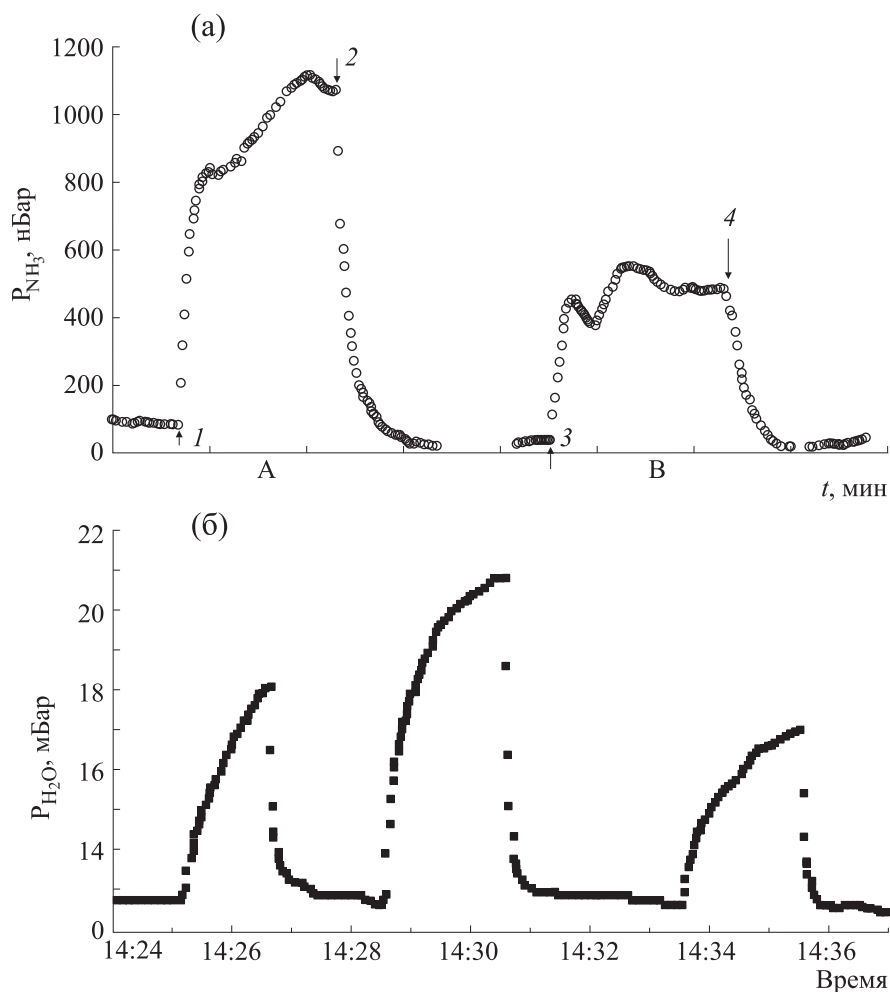


Рис. 7. Регистрируемое содержание аммиака (а) и паров воды (б) в потовых испарениях с ладоней рук.

существенно увеличивается, что может служить дополнительным признаком нарушения азото-выделительного обмена. Нижние уровни регистрируемого аммиака и паров воды соответствуют уровню их содержания в окружающей среде (базисные уровни).

Анализ газовых метаболитов выдыхаемого воздуха. Анализ газовых метаболитов выдыхаемого воздуха осуществляли на другом типе аппаратной реализации метода ДЛС, чем в случае с регистрацией испускания газовых молекул с кожи рук.

На начальном этапе работы были проведены исследования однократных проб выдыхаемого воздуха у 80 человек (37 мужчин и 43 женщин) в возрасте от 18 до 78 лет с различной патологией внутренних органов, находящихся в фазе ремиссии различных заболеваний внутренних органов и адаптированного покоя обследуемых. Были получены данные по содержанию углекислого газа (CO_2) и метана (CH_4) в выдыхаемом воздухе (см. рис. 8). Из рис. 8 видно, что среднее содержание

CO_2 в выдыхаемом воздухе составляет 14675 ppm, а CH_4 — 0,67 ppm. При этом отмечалось десятикратное увеличение содержания CH_4 у практически здоровых лиц, что, возможно, было связано с повышенной массой тела и преимущественным мясным питанием, которое способствует образованию метана в кишечнике. Вместе с тем обнаруживается ряд особенностей в содержании отдельных регистрируемых в выдыхаемом воздухе веществ, связанных, вероятно, с наличием той или иной патологии. Далее будут описаны эти особенности, обусловленные патологическими процессами в организме пациентов.

Следует отметить, что значительное увеличение содержания метана в выдыхаемом воздухе наблюдалось у трех пациентов с хронической болезнью почек второй-третьей степени вследствие снижения их детоксикационной функции, у трех пациентов с гипертонической болезнью третьей степени, высоким риском и явлениями нефросклероза, а также у пяти пациентов при неполном разрешении полисегментарной пневмонии. Зна-

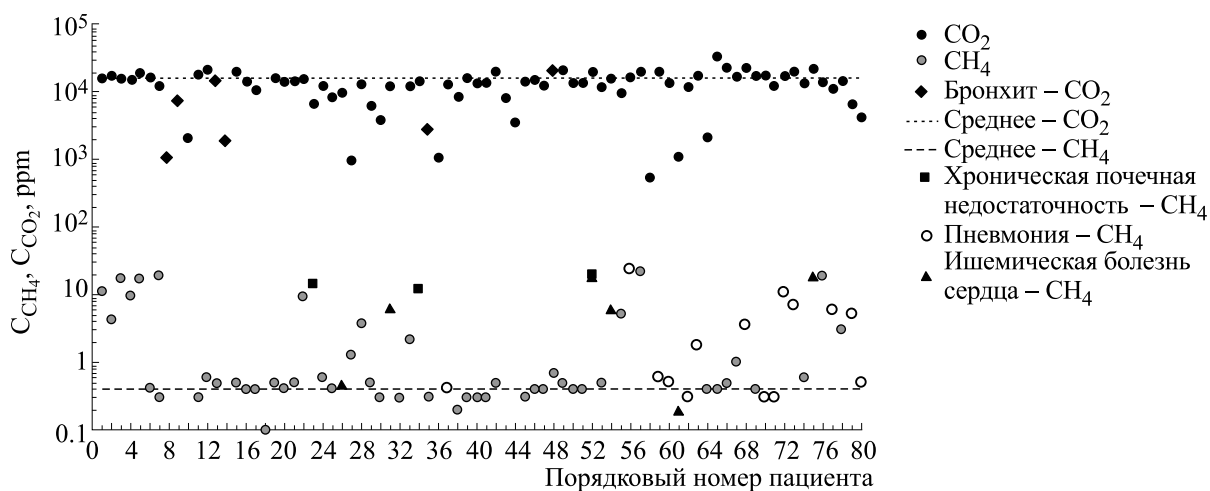
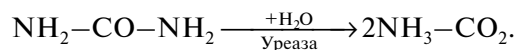


Рис. 8. Реальное распределение молекулярного состава углекислого газа и метана в однократно взятых пробах выдыхаемого воздуха у 80 пациентов-добровольцев в состоянии комфортного покоя.

чимое снижение (в пять-десять раз) содержания CO_2 в пробах выдыхаемого воздуха наблюдалось у одиннадцати курящих пациентов со стихающим обострением хронического обструктивного бронхита, что, вероятно, было связано с состоянием бронхообструкции и замещением молекул CO_2 на молекулы CO у курящих пациентов в выдыхаемом воздухе. У восемнадцати пациентов-добровольцев было проведено исследование проб выдыхаемого воздуха при принудительном изменении функционального состояния организма, вызванной дозированной физической нагрузкой (20–30 приседаний до достижения ЧСС = 140 уд/мин или отказа от продолжения нагрузки). В дальнейшем в работе были проведены исследования всех пациентов, разделенных на группы в зависимости от состояния патологических процессов в них на предмет качественно-количественной оценки химического состава выдыхаемого воздуха. Необходимо сразу заметить, что характер поведения содержания исследуемых веществ в выдыхаемом воздухе, в их совокупности и взаимосвязях, и его закономерности оценить затруднительно без применения специальных аналитических подходов, например, нейросетевого метода анализа многопризнаковых данных [26]. Поэтому в данной работе такой аналитической задачи не ставилось.

Феномен, связанный с выведением CO_2 и NH_3 в выдыхаемом воздухе, при проведении карбамидного дыхательного «уреазного» теста. Проведение дыхательного теста с карбамидом, за счет его разложения на NH_3 и CO_2 под воздействием уреазы, выделяемой бактерией *Helicobacter pylori*, предусматривал контроль выделяющегося аммиака в соответствии с протекающей химической реакцией:



Стандартное время проведения такого уреазного дыхательного теста, проводимого общепринятым электрохимическим способом, составляет девять минут с момента перорального приема карбамида, т.е. контролируется концентрация NH_3 в выдыхаемом воздухе в конце девятой минуты исследования. При этом при проведении этого теста контроль уровня CO_2 в выдыхаемом воздухе не предусмотрен. Сравнение по концентрации NH_3 производят следующим образом:

1. Определяют максимальное значение концентрации NH_3 до начала гидролиза и максимальное значение концентрации NH_3 в период активного гидролиза мочевины.

2. Вычисляют средние значения концентрации NH_3 до начала гидролиза и в период активного гидролиза мочевины.

3. Далее находят разницу средних значений концентраций NH_3 до начала гидролиза и в период активного гидролиза мочевины.

4. Если $\Delta \geq 5$, то пациента относят к категории НР+ (инфицирован), если $\Delta < 2$, то пациента относят к категории НР– (не инфицирован). При $\Delta \geq 2$ и $\Delta < 5$ заключение об инфицированности пациента сделать нельзя. У разных пациентов, в зависимости от степени инфицированности и физиологических особенностей организма, реакция ферментативного гидролиза мочевины может протекать по-разному, а именно, иметь начальный и максимальный прирост содержания NH_3 в выдыхаемом воздухе в разные моменты времени. Исследования показали, что период максимального прироста содержания NH_3 начинается на пятой-седьмой минуте после приема

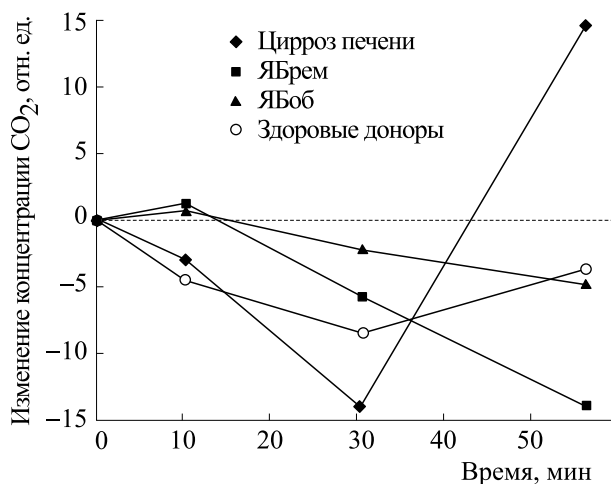


Рис. 9. Динамика изменения концентрации CO₂ в выдыхаемом воздухе после приема стандартной дозы раствора карбамида (500 мг) в течение часа у здоровых доноров (кружки), у пациентов с ЯБоб (треугольники) и ЯБрем (квадраты) и с циррозом печени в фазе субкомпенсации (ромбы).

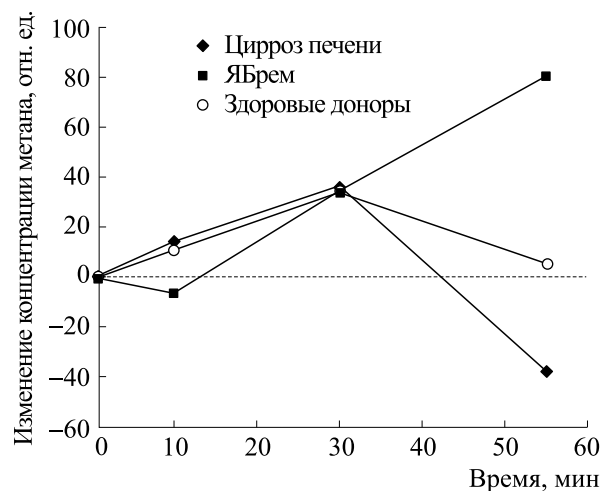


Рис. 10. Динамика изменения концентрации метана в выдыхаемом воздухе после приема стандартной дозы раствора карбамида (500 мг) у здоровых доноров (кружки), у пациентов с ЯБрем (квадраты) и с циррозом печени (ромбы).

мочевины, а проведение обследования на девятой минуте позволяет диагностировать инфекцию НР. Было показано, что в начальный период времени (до одной-полтора минут после приема мочевины) содержание NH₃ остается на уровне, совпадающем с исходным.

Наибольший интерес представляла динамика содержания CO₂, CH₄ и NH₃ в выдыхаемом воздухе в трех группах пациентов с патологией желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) по сравнению со здоровыми добровольцами после приема стандартной дозы карбамида 500 мг в течение 60 мин исследования (рис. 9, 10 и 11).

Впервые нами были получены данные (рис. 9), отражающие динамику содержания CO₂ в выдыхаемом воздухе в течение часа после приема стандартной дозы карбамида. Из приведенного рисунка видно, что наиболее значительные изменения проявляются у больных с субкомпенсированным циррозом печени по сравнению с другими обследуемыми пациентами. Вероятнее всего, это связано с нарушением метаболической функции у пациентов с циррозом печени.

Данные о характере изменения концентрации CH₄ в выдыхаемом воздухе у пациентов с различной патологией при проведении теста с карбамидом в динамике через 10, 30 и 55 мин после перорального приема карбамида приведены на рис. 10.

Видно, что содержание метана в выдыхаемом воздухе различно в зависимости от характера патологического процесса у пациентов по сравнению со здоровыми людьми. У здоровых испыты-

мых на 10-й и 30-й минутах происходит умеренное повышение уровня метана и его снижение до исходного уровня к 55-й минуте. У больных с ЯБрем наблюдается измененная кривая с небольшим снижением к 10-й минуте, а затем неуклонное повышение с достижением максимума к 55-й минуте. Это можно объяснить активизацией метанообразующих бактерий в ЖКТ под воздействием карбамида. У больных с компенсированным циррозом печени кривая концентрации метана в выдыхаемом воздухе к 10-й и 30-й минуте

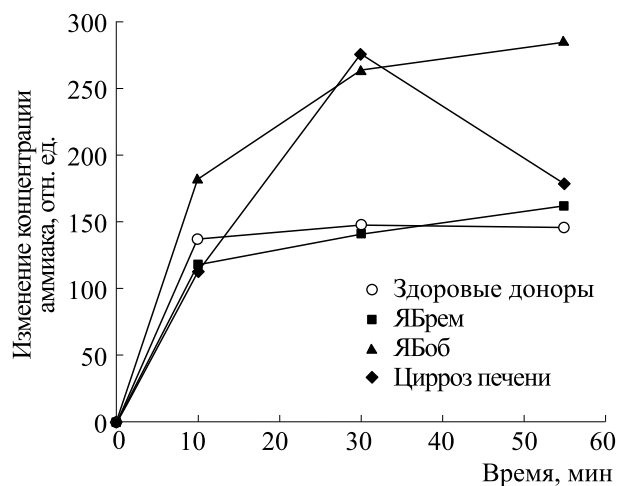


Рис. 11. Динамика изменения концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе после приема раствора стандартной дозы раствора карбамида (500 мг) в течение часа у здоровых доноров (кружки), у пациентов с ЯБоб (треугольники), ЯБрем (квадраты) и с циррозом печени в фазе субкомпенсации (ромбы).

увеличивалась, а затем наблюдалось существенное снижение ее концентрации (на 40% от исходной величины). Это косвенно характеризует нарушение детоксикационной функции печени или связано с активизацией портального сброса крови в венозную систему.

Данные по содержанию NH_3 в выдыхаемом воздухе в динамике при разных патологиях представлены на рис. 11.

У больных ЯБоб кривая продолжает расти и после 30-й минуты. У больных ЯБрем кривая динамики NH_3 в выдыхаемом воздухе также нарастает, но менее значимо, и сравнима с кривой динамики NH_3 выдыхаемого воздуха у здоровых доноров, что также подтверждает эндоскопическую ремиссию язвенной болезни. Данные о содержании аммиака в выдыхаемом воздухе в интервале времени, превышающем девять минут после приема карбамида, в литературе не встречаются. Поэтому мы проследили динамику выведения аммиака из организма в выдыхаемом воздухе в течение одного часа исследования (рис. 11) и выявили следующие закономерности. У здоровых лиц выведение аммиака к 10-й минуте после приема карбамида показывает значительный рост (свыше 140% от исходного). Это согласуется с показателями NH_3 стандартного уреазного теста. Такая же закономерность прослеживается у пациентов с ЯБрем.

Эту особенность можно объяснить невысокой хеликобактерной активностью в гастродуоденальном сегменте ЖКТ. У больных с ЯБоб к 10-й минуте концентрация аммиака повышается более чем на 180% от исходного уровня и далее стремится выйти на плато на уровне 260–280% от исходного уровня. Это обусловлено повышенной хеликобактерной активностью, подтверждаемой гистоморфологическим исследованием биоптатов слизистой желудка. У больных циррозом печени в фазе субкомпенсации также выявляется нарастание концентрации аммиака вплоть до 30-й минуты после приема карбамида (более чем на 270% от исходного уровня), с последующим существенным снижением уровня NH_3 к 55-й минуте, приближающегося к уровню NH_3 у здоровых испытуемых. Выявляемая особенность выведения аммиака в выдыхаемом воздухе отражает нарушение дезаминирующей функции печени и не связана с хеликобактерной активностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе обсуждены принципы, положенные в основу метода диодной лазерной спектроскопии, позволяющей определить молекулярный состав испарений, формирующихся с поверхности кожи и слизистых оболочек человека, что позволяет отнести этот метод к задачам медицинской диагно-

стики. На основе современных теоретических разработок метода диодной лазерной спектроскопии в Институте общей физики им. А.М. Прохорова РАН были созданы два экспериментальных приборных устройства. Они патентно защищены, что свидетельствует об обоснованности их конструкции, позволяющей их применение для целей биологии и медицины. Эти ДЛС-устройства для изучения биомаркеров выдыхаемого воздуха обладают уникальными свойствами — неинвазивностью; простотой проведения обследования; возможностью одновременного анализа нескольких биомаркеров выдыхаемого воздуха; высокой чувствительностью к компонентам выдыхаемого воздуха; мобильностью, позволяющей проводить исследования в различных условиях, что важно для мониторингового и скринингового наблюдения. Последнее характеризует данный метод как инновационный и высокотехнологичный. Применение газоанализа биомаркеров выдыхаемого воздуха позволяет использовать метод ДЛС как для динамического контроля лечения, так и для скрининговой диагностики скрыто протекающих заболеваний ЖКТ по выявлению «групп риска» с целью более детального обследования для уточнения патологии.

Приведены полученные методом ДЛС экспериментальные данные о газовом составе испарений с кожи ладоней рук и в пробах выдыхаемого воздуха у пациентов в зависимости от состояния их организма в норме и при различных патологиях. Открыт ряд феноменов, связанных с содержанием некоторых веществ, выделяемых организмом, и их поведения в многокомпонентном составе. Испарения с кожи рук могут рассматриваться как выделительная функция организма, поэтому входящие в их состав газовые молекулы, регистрируемые приборами ДЛС, могут иметь диагностическое значение. Нами методом ДЛС с использованием многоходовой кюветы Эрриота были измерены концентрации газообразных метаболитов выдыхаемого воздуха при разных патологиях. Так, исходная концентрация NH_3 у пациентов с патологией ЖКТ была в 6,0 и 2,5 раза выше, чем у здоровых испытуемых. У пациентов с заболеваниями ЖКТ нарушался процесс выведения NH_3 в выдыхаемом воздухе, что проявлялось в изменении ответной реакции на шадящую физическую нагрузку. Это обусловлено нарушением нормальной метаболической функции у пациентов с патологией ЖКТ. К примеру, у пациентов с циррозом печени нарушены функции дезаминирования и переаминирования аминокислот, поступающих в печень по *vena portae* из кишечника. В результате происходит накопление токсичного NH_3 в организме, а органы выделения (почки, кожа, легкие, ЖКТ) не справляются с очищением организма. В наших исследованиях применялся также тест на пищевую нагрузку (набор аминокислот для зондового питания

больных). С помощью данного теста мы контролировали, как происходит метаболизм веществ, поступающих вместе с пищей, особенно белков и аминокислот. У здоровых доноров тест на пищевую нагрузку выявил закономерное увеличение содержания аммиака в выдыхаемом воздухе в 3,3 раза по сравнению с исходной. У пациентов с патологией ЖКТ выведение аммиака нарушается, что приводит к увеличению его содержания в выдыхаемом воздухе вне зависимости от нагрузочных тестов (как физической, так и пищевой нагрузки). Это объясняется тем, что при наличии гастродуоденальных язв как при обострении, так и на стадии ремиссии наиболее вероятно хеликобактерное повреждение ЖКТ, сопровождающееся высокой уреазной активностью, а у больных с циррозом печени в фазе субкомпенсации имеются необратимые тяжелые повреждения метаболической (дезаминирующей) функции печени. Тест с карбамидом используется в уреазном дыхательном тесте для определения хеликобактерной активности. Карбамид (мочевина), поступающая перорально в ЖКТ, вступает в реакцию с *Helicobacter pylori* и распадается на CO_2 и NH_3 под действием фермента уреазы. Далее часть метаболитов выходит в газообразном состоянии через пищевод в ротовую полость, а часть всасывается через ЖКТ в кровь, которая несет метаболиты к органам выделения — почкам, коже, легким. Также наблюдается резкое увеличение концентрации NH_3 в выдыхаемом воздухе у пациентов с язвенной болезнью в фазе обострения. В проведенном исследовании было отмечено, что диодно-лазерная спектрометрия позволяет измерить концентрацию аммиака с большей чувствительностью, чем дыхательный уреазный тест. Было отмечено, что время прироста содержания NH_3 не ограничивается девятью минутами, а продолжается до 30-й минуты, где наблюдается его максимальная концентрация у здоровых доноров. У пациентов с язвенной болезнью концентрация NH_3 продолжает расти даже спустя 30 мин, что объясняется бурной реакцией уреазы *Helicobacter pylori* с карбамидом и нарушением функции нормального метаболизма NH_3 . Таким образом, повышение концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе у пациентов с язвенной болезнью, выявляемое методом ДЛС, показывают высокую уреазную активность *Helicobacter pylori*, что косвенно указывает на хеликобактерное повреждение слизистой оболочки желудка у данных пациентов. Динамическое наблюдение за концентрацией аммиака в выдыхаемом воздухе показывает, что содержание NH_3 продолжает нарастать после приема карбамидов и после стандартных девяти минут исследования, принятого в уреазном тесте. Это позволяет делать косвенное суждение об обострении или ремиссии гастродуоденальных язв и эффективности лечения. У больных с язвенной болезнью также наблюдает-

ся постоянный рост содержания CH_4 после приема карбамидов, что, вероятно, связано с его биостимулирующей функцией на метанообразующие бактерии кишечника. Было замечено, что концентрация метана увеличивается до 30-й минуты, а далее начинает снижаться у здоровых доноров до исходного значения, а у пациентов с циррозом печени — до значений ниже исходного уровня. Содержание CH_4 в выдыхаемом воздухе также может отображать тип питания человека: у «мясоедов» наблюдается высокое содержание метана, у вегетарианцев же концентрация CH_4 в выдыхаемом воздухе значительно ниже. Нами также замечено, что у лиц с высоким содержанием метана в выдыхаемом воздухе на его повышение существенное влияние оказывает задержка продвижения кишечного содержимого, клинически выявляемое как кишечный запор и метеоризм. Таким образом, если объединить сведения о нескольких газообразных метаболитах, определяемых у здоровых доноров, то обнаружится, что относительно исходных характеристик содержание NH_3 и CH_4 в выдыхаемом воздухе увеличивается, образуя пик на 30-й минуте, а уровень CO_2 — уменьшается, образуя на 30-й минуте «провал», но по истечению часа содержание CO_2 и CH_4 в выдыхаемом воздухе возвращается к исходным значениям, а содержание NH_3 — постепенно снижается. У пациентов с циррозом печени мы наблюдаем повышение концентраций NH_3 и CH_4 и снижение концентрации CO_2 в выдыхаемом воздухе до 30-й минуты, а после 30-й минуты концентрации NH_3 и CH_4 в выдыхаемом воздухе снижаются, а концентрация CO_2 — увеличивается. У пациентов с язвенной болезнью концентрация NH_3 , так же как и концентрация CH_4 , в выдыхаемом воздухе повышается в течение часа, при этом концентрация CO_2 выдыхаемого воздуха на девятой минуте незначительно повышается, а далее снижается в течение часа. В ходе исследования была выявлена интересная закономерность в динамике содержания газообразных веществ в выдыхаемом воздухе в течение часа после приема раствора карбамидов у здоровых людей. Было обнаружено, что динамика концентрации NH_3 имеет три выраженных пика. Первый пик выявляется на девятой минуте и, вероятно, характеризует желудочную фазу метаболизма карбамидов. Второй пик определяется на 30-й минуте и, вероятно, характеризует кишечную фазу метаболизма карбамидов. Третий пик наблюдается на 50-й минуте и, возможно, характеризует печеночную фазу метаболизма карбамидов. Но в доступной нам литературе подобная динамика газообразных метаболитов выдыхаемого воздуха не описана. Таким образом, исследование газов выдыхаемого воздуха в покое и при тестовых нагрузках позволяет выявить характерные сдвиги со стороны кардиореспираторной системы и определить степень физической работоспособности испытуе-

мого, а по обмену NH_3 — судить о метаболической функции печени, почек, кожи и легких. Метод ДЛС в разных вариантах его реализации в настоящее время еще не нашел широкого внедрения в практику исследований, связанных с определением сверхнизких концентраций различных молекул в составе газовых смесей. Из проведенного исследования видно, что ДЛС молекул выдыхаемого воздуха является инновационным объективным качественным и количественным методом диагностики метаболических нарушений в организме человека. Также выявлена тесная взаимосвязь между процессами, происходящими в системе пищеварения, метаболизации продуктов всасывания из кишечника в печени и газами в составе выдыхаемого воздуха.

По результатам исследований можно отметить следующее.

1. Определение биомаркеров в выдыхаемом воздухе методом ДЛС характеризует своеобразный «метаболический профиль» и подтверждает закономерную связь выявляемых биомаркеров с метаболическими процессами, происходящими в организме, в зависимости от функционального состояния.

2. Выявляемый в выдыхаемом воздухе биомаркер CH_4 по происхождению является кишечным газом, образующимся вследствие «метанового брожения», содержание которого при нагрузке карбамидом сначала нарастает (к 30-й минуте), а затем возвращается к исходному уровню у здоровых доноров; у пациентов с ЯБрем этот биомаркер продолжает тенденцию к дальнейшему нарастанию, в то время как у пациентов с циррозом печени в фазе субкомпенсации уровень метана существенно снижается. При физической нагрузке в выдыхаемом воздухе этих групп пациентов наблюдается существенное снижение уровня CH_4 по сравнению с исходным.

3. У больных с заболеваниями ЖКТ выявлено увеличение концентрации NH_3 при измерениях натощак по сравнению со здоровыми донорами (в шесть раз у пациентов с ЯБоб и в два раза у пациентов с ЯБрем). Это позволяет использовать данный метод для оценки состояний ремиссии или обострения ЯБ.

4. Метод ДЛС при сравнительном анализе содержания NH_3 в выдыхаемом воздухе при нагрузке карбамидом показал лучшую чувствительность по сравнению с дыхательным уреазным тестом (почти в два раза), а именно:

а) у пациентов с доказанной инфицированностью *H. pylori* отмечено увеличение концентрации NH_3 в два раза относительно исходной концентрации после приема стандартной дозы карбамида.

б) у пациентов с ЯБ в фазе ремиссии после приема карбамида наблюдается незначительное увеличение концентрации NH_3 в пределах погрешности при одновременном увеличении продукции CH_4 (что, вероятно, связано с биостимулирующей функцией карбамида на метанообразующие бактерии).

5. Полученные методом ДЛС данные показывают его перспективность с диагностической и прогностической значимостью в скрининговых и клиничко-функциональных исследованиях.

Проведенное исследование доказывает диагностическую значимость изучения биомаркеров в выдыхаемом воздухе при различных функциональных состояниях человека, не требующих специальной подготовки и условий проведения исследования: в покое (натощак) и при различных нагрузках (физическая нагрузка, пищевая нагрузка, нагрузка карбамидом).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствовали этическим стандартам Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. N. G. Basov, B. M. Vul, and Yu. M. Popov, Soviet JETP (USSR) **37**, 585 (1959).
2. N. G. Basov, O. N. Krokhin, and Yu. M. Popov, Soviet JETP (USSR) **40**, 1897 (1961).
3. R. H. Hall, G. E. Fenner, J. D. Kingsley, et al., Phys. Rev. Lett. **9**, 366 (1962).
4. N. G. Basov, *Semiconductor lasers (Nobel Lecture, December 11, 1964)* (1964).
5. Zh. Alferov, V. Khalfin, and R. Kazarinov, Fizika Tverdogo Tela **8**, 3102 (1966).
6. E. D. Hinkley, Appl. Phys. Lett. **16**, 351 (1970).
7. A. A. Karabinenko, Yu. M. Petrenko, L. Yu. Ilchenko, et al., East. Eur. Sci. J. **1** (29), 30 (2018).
8. I. Tamm, Zs. Phys. **60** (5–6), 345 (1930).
9. Ж. И. Алферов, Физика и техника полупроводников **32** (1), 3 (1998).
10. J. Faist, F. Capasso, D. Sivco, et al., Science **264**, 553 (1994).
11. J. Faist, D. Hofstetter, M. Beck, et al., IEEE J. Quantum Electron. **38**, 533 (2002).
12. J. Faist, F. Capasso, C. Sirtori, et al., Phys. Rev. Lett. **76**, 411 (1996).

13. C. Sirtori, J. Faist, F. Capasso, et al., IEEE Photon. Technol. Lett. **9**, 294 (1997).
14. J. Faist, F. Capasso, C. Sirtori, et al., Nature **387**, 777 (1997).
15. R. F. Curl, F. Capasso, C. Gmachl, et al., Chem. Phys. Lett. **487**, 1 (2010).
16. Spec. Issue *Selected Papers 7th Int. Conf. on Tunable Diode Laser Spectroscopy*, Ed. by M. W. Sigrist and F. K. Tittel, Appl. Phys. B **100** (2) (2010).
17. Spec. Issue *Papers from Int. Conf. on Tunable Diode Laser Spectroscopy*, Ed. by A. I. Nadezhdinskii, V.G. Tyuterev and A.W. Mantz, Spectrochim. Acta Part A **52** (8) (1996).
18. A. G. Berezin, A. I. Nadezhdinskii, D. B. Stavrovskii, et al., Appl. Phys. B **90**, 317 (2008).
19. A. I. Nadezhdinsky, Ya. Ya. Ponurovsky, and A. S. Kuzmichev, Appl. Phys. B **109**, 505 (2012).
20. A. I. Nadezhdinskii and Ya. Ya. Ponurovskii, Phys. Wave Phenomena **26** (3), 1 (2018).
21. V. Ya. Zaslavskii, A. I. Nadezhdinsky, Ya. Ya. Ponurovsky, and S. M. Chernin, Quantum Electron. **41** (1), 81 (2011).
22. A. S. Kuzmichev, A. I. Nadezhdinsky, Ya. Ya. Ponurovsky, Quantum Electron. **41** (7), 650 (2011).
23. <http://www.dls.gpi.ru/rus/conf/TDLS2013/Posters/TDLS2013%20Ponurovskiy.pdf>.
24. L. S. Rothman, I. E. Gordon, I. Babikov, et al., J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer **130**, 4 (2013).
25. A. A. Karabinenko, A. A. Bogomolova, A. I. Nadezhdinsky, et al., East. Eur. Sci. J., № 4, 48 (2016).
26. А. А. Карабиненко, Ю. М. Петренко, Г. И. Сторожаков и Н. М. Широхова, Вестн. РАМН, № 1–2, 69 (2014).

Diode Laser Spectroscopy for Creating Effective Measuring Systems and Their Use in Biological and Medical Research

Ya.Ya. Ponurovskii*, V.Ya. Zaslavskii*, A.I. Nadezhdinskii*, M.V. Spiridonov*, D.B. Stavrovskii*, Yu.P. Shapovalov*, A.A. Karabinenko, and Yu.M. Petrenko****

**Prokhorov General Physics Institute, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 38, Moscow, 119991 Russia*

***Pirogov Russian National Research Medical University, ul. Ostrovitianova 1, Moscow, 117997 Russia*

In this paper we present most important principles of diode laser spectroscopy that allow for creating fundamentally new measuring systems for the diverse applications in biology and medicine. With the use of diode laser spectroscopy method and its primary hardware implementation the emission of gas molecules from hand skin was registered and ammonia skin emission was dominant. With the help of another special measuring complex of diode laser spectroscopy the properties of exhaled air from patients in different states were determined. It is shown that when the functional state of the organism changes, gas composition of molecular substances which are present in the exhaled air alters indirectly, and their levels vary significantly depending on the health status of the individual. Our findings suggest that with the use of diode laser spectroscopy it is possible to study the specific functional properties of the human body facilitating assessment of the health status of the individual to determine whether or not pathological processes occur in the body at various stages of their severity. The paper presents clinical and experimental data in this regard.

Keywords: diode lasers, diode laser spectroscopy, non-invasive diagnostics, gas biomarkers