

# Применение перестраиваемых диодных лазеров для высокочувствительного анализа газообразных биомаркеров в выдыхаемом воздухе

Е.В.Степанов, В.А.Миляев

*Дано обоснование применения перестраиваемых диодных лазеров для высокочувствительного анализа газообразных биомаркеров в выдыхаемом воздухе в целях биомедицинской диагностики. Описаны основные принципы работы и устройство лазерного анализатора, предназначенного для исследований состава выдыхаемого воздуха. Приведены результаты детектирования газообразных биомаркеров в выдыхаемом воздухе, в том числе результаты клинических исследований, демонстрирующие диагностические возможности предложенного подхода.*

**Ключевые слова:** перестраиваемые диодные лазеры, молекулярная спектроскопия высокого разрешения, биомаркеры, анализ состава выдыхаемого воздуха, медицинская диагностика.

## 1. Введение

Одним из перспективных направлений применения перестраиваемых диодных лазеров (ПДЛ) является высокочувствительный газовый анализ биологически активных эндогенных молекул-метаболитов, образующихся в живых организмах и участвующих в газообмене, а именно в процессе внешнего дыхания. Как известно, помимо молекул  $O_2$ ,  $N_2$ ,  $H_2O$  и  $CO_2$  в выдыхаемом воздухе содержатся также следы более 600 летучих соединений, образующихся при обмене веществ в ходе биохимических реакций и выводимых из организма при дыхании [1]. Концентрации этих веществ в выдыхаемом воздухе, как правило, существенно ниже  $1 \text{ мг/м}^3$ . Механизмы и закономерности образования и транспорта некоторых из них обладают высокой специфичностью, что позволяет использовать такие молекулярные соединения в качестве естественных биомаркеров. Непрерывность дыхания и высокая эффективность газообмена между кровью и воздухом легких обеспечивают возможность оперативного контроля исследуемых процессов. Отличительной особенностью данного диагностического подхода является неинвазивность, т.е. отсутствие вторжения в организм, что обеспечивает ряд преимуществ при проведении фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований.

Применение ПДЛ для микроанализа состава выдыхаемого воздуха основано на возможности достижения с помощью лазеров данного типа высоких аналитических характеристик, требуемых для решения этой задачи. ПДЛ позволяют проводить измерения объемных концентраций ряда газообразных веществ в диапазоне  $10^{-4} - 10^{-8} \%$  с постоянной времени  $1 - 10 \text{ с}$  [2, 3] при высокой селективности и нечувствительности к содержанию в анализируемой пробе основных атмосферных компонентов ( $O_2$ ,  $N_2$ ,

$H_2O$  и  $CO_2$ ). Детектирование веществ в пробе выдыхаемого воздуха может осуществляться без предварительного концентрирования или обогащения. Используемые принципы анализа универсальны для определения различных газообразных соединений.

Указанные характеристики реализуются, как известно, благодаря низкому уровню амплитудных шумов ПДЛ, узкой (ширина менее  $0.001 \text{ см}^{-1}$ ) линии генерации и широкодиапазонной перестройке частоты (до  $\sim 200 \text{ см}^{-1}$  за счет изменения температуры). В сочетании с широкой спектральной областью, в которой работают ПДЛ на основе различных химических соединений, это позволяет настраиваться на оптимальную для анализа спектральную область, без искажений регистрировать тонкую структуру колебательно-вращательных (КВ) полос поглощения исследуемого вещества и точно измерять параметры отдельных линий поглощения.

Перечисленные выше аналитические характеристики ПДЛ достигаются при условии хорошо разрешенной КВ структуры молекулярных спектров, что определяет круг исследуемых объектов и области возможного использования диодной лазерной спектроскопии для целей биомедицинской диагностики, основанной на анализе выдыхаемого воздуха. Во-первых, это детектирование следов достаточно легких газообразных молекул-метаболитов типа  $CO$ ,  $NO$ ,  $NO_2$ ,  $N_2O$ ,  $NH_3$ ,  $H_2O_2$ ,  $C_2H_4$ ,  $C_2H_6$ ,  $CH_2O$ ,  $CH_4$ ,  $CH_3OH$ ,  $C_2H_5OH$ ,  $CS_2$ ,  $H_2S$ ,  $C_5H_{12}$ ,  $C_2H_6$ ,  $CH_2OHS$  в диапазоне их объемных концентраций  $10^{-7} - 10^{-4} \%$ ; во-вторых, – высокоточная регистрация изотопических модификаций ряда молекул, обогащенных элементами  $D$ ,  $^{13}C$ ,  $^{15}N$ ,  $^{18}O$ , и  $^{35}S$ ; в-третьих, – долговременный мониторинг состава выдыхаемого воздуха, а также его анализ в процессе одного дыхательного цикла, при котором невозможно накопление или обогащение анализируемой газовой смеси, и, в-четвертых, – исследования газообмена на малых лабораторных животных и растений.

В данной работе рассмотрены некоторые аспекты использования ПДЛ для целей биомедицинской и клинической диагностики и приведены результаты их практического применения.

Институт общей физики им. А.М.Прохорова РАН, Россия, 119991 Москва, ул. Вавилова, 38; e-mail: Stepanov@kapella.gpi.ru

Поступила в редакцию 30 апреля 2002 г., после доработки – 27 сентября 2002 г.

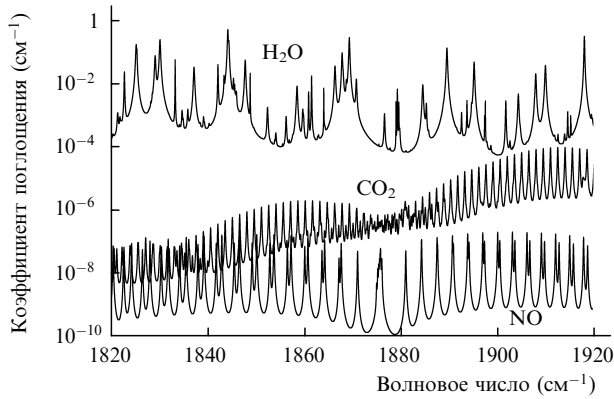


Рис.1. Спектры поглощения H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> и NO в области 5–6 мкм при концентрациях, соответствующих составу выдыхаемого воздуха (H<sub>2</sub>O – 6 %, CO<sub>2</sub> – 3 %, NO – 10<sup>-6</sup> %).

### 2. Спектроскопия исследуемых молекул и выбор аналитической линии

При использовании спектральных методов для анализа состава выдыхаемого воздуха особого внимания требует выбор аналитической линии поглощения. Это обусловлено повышенными (более 3 %) концентрациями H<sub>2</sub>O и CO<sub>2</sub> в выдыхаемом воздухе по сравнению с таковыми в атмосферном воздухе и перекрытием (интерференцией) спектров этих мешающих молекул со спектрами исследуемых веществ. Типичная ситуация показана на рис.1, где приведены спектры коэффициента поглощения NO, CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O в диапазоне 5–6 мкм (1820–1920 см<sup>-1</sup>) для экспериментальных условий, соответствующих анализу выдыхаемого воздуха. Видно, что резонансное поглощение CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O на несколько порядков может превышать поглощение исследуемого NO. Кроме того, положение многих интенсивных линий NO, которые могли бы быть использованы для анализа, совпадает с положением линий H<sub>2</sub>O и CO<sub>2</sub>. Аналогичная ситуация имеет место в области 9–11 мкм, используемой для детектирования молекул <sup>14</sup>NH<sub>3</sub>, <sup>15</sup>NH<sub>3</sub> и C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, и в диапазоне 3–3.5 мкм, используемом для анализа углеводородов, а также в других спектральных областях. При такой интерференции КВ спектров выбор оптимальной для анализа линии поглощения проводится с помощью алгоритма, основанного на определении условий сохранения в спектре поглощения экстремума, обусловленного нало-

жением крыльев аналитической и мешающей линий. Этот подход детально описан в [4], где показано, что если слабая аналитическая линия лоренцевской формы с интенсивностью S<sub>a</sub> и коэффициентом уширения буферным газом γ<sub>a</sub> находится на расстоянии δ от существенно более интенсивной линии мешающего газа с параметрами S<sub>i</sub> и γ<sub>i</sub>, то упомянутый выше экстремум будет исчезать при концентрации анализируемого вещества

$$c_a \propto \frac{S_i}{S_a} \left( \frac{\gamma_i}{\delta} p \right)^2 \left( \frac{\gamma_a}{\delta} p \right)^{n+1} c_i,$$

где c<sub>i</sub> – концентрация мешающего газа; p – общее давление исследуемой газовой смеси; n – степень дифференцирования спектра (n = 0, 1, 2). Данное соотношение позволяет сравнивать аналитические характеристики различных линий и оценивать степень повышения чувствительности детектирования при переходе от прямой регистрации спектра к регистрации его производных, а также при снижении давления исследуемой газовой смеси. С его помощью, в частности, было установлено, что наилучшими для анализа содержания CO, NO, <sup>14</sup>NH<sub>3</sub>, <sup>15</sup>NH<sub>3</sub>, CH<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> в выдыхаемом воздухе являются линии поглощения, параметры которых представлены в табл.1.

### 3. Чувствительность газового анализа с использованием ПДЛ

В то время как предельно достижимая чувствительность детектирования резонансного поглощения с помощью ПДЛ обусловлена их шумовыми характеристиками (квантовые шумы, релаксационные колебания, флуктуации подвижности носителей и конкуренция мод [5, 6, 7]), на практике ограничивающими факторами являются, как правило, шумы системы регистрации, быстроедействие и динамический диапазон процедуры оцифровки спектров, а также оптические интерференционные помехи [2, 3]. В случае импульсно-периодической накачки ПДЛ и цифровой регистрации молекулярных спектров пропускания, используемых в настоящей работе, для уменьшения влияния этих факторов применяется ряд аппаратных и программных методов [8, 9]. Аппаратное дифференцирование и интегрирование спектров пропускания позволяют сузить радиочастотную полосу детектирования сигнала. Первое, кроме того, ведет к увеличению контрастности спектра и сдвигу динамического диа-

Табл.1. Параметры линий поглощения, оптимальных для детектирования ряда газообразных биомаркеров в выдыхаемом воздухе.

Молекула	Диапазон концентраций* в выдыхаемом воздухе	Требуемая чувствительность (ppb)	Спектральный диапазон (мкм)	Полоса	Оптимальная аналитическая линия			
					Идентификация	Частота центра линии (см <sup>-1</sup> )	Интенсивность линии (10 <sup>-19</sup> см/молек.)	Коэффициент уширения (см <sup>-1</sup> ·атм <sup>-1</sup> )
CO	0.1–10 ppm	5	4.7	1–0	P(5) – P(10) R(5) – R(10)	2100–2180	3–4	0.06
NO	3–1000 ppb	0.5	5.5	1–0	P(7.5)	1850.17	1.03	0.0598
<sup>14</sup> NH <sub>3</sub>	1–200 ppb	1	10.3	v <sub>2</sub> (0100a – 0000s)	sO(3.3)	967.346	5.45	0.075
			9.3	v <sub>2</sub> (0100a – 0000s)	Мультиплет aR(4)	1065.6	6.34	0.075
<sup>15</sup> NH <sub>3</sub>	1–1000 ppb	1	9.2	v <sub>2</sub> (0100a – 0000s)	sR(3.3)	1079.3	5.20	0.075
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	1–100 ppb	1	9.8	v <sub>7</sub>	P(9.7)	1023.688	0.314	0.087
CH <sub>4</sub>	1–100 ppm	50	3.3	v <sub>3</sub> (00011001 – 00000000)	Триплет R(3)	3057.7	1.2–2.1	0.06

\*1 ppb = 10<sup>-7</sup> %, 1 ppm = 10<sup>-4</sup> %.

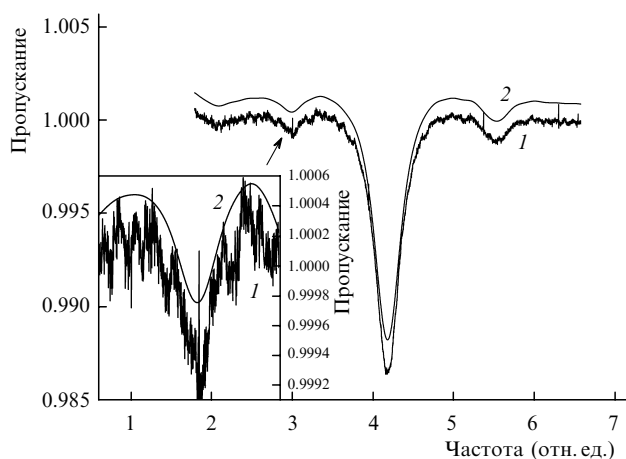


Рис.2. Применение процедуры ФПФ к спектру пропускания CO<sub>2</sub>, полученному с помощью ПДЛ (1 – измеряемый спектр, 2 – спектр после фильтрации).

пазона детектирования в область малых сигналов. С аналогичной целью используется также и программное дифференцирование [9].

Программные методы повышения чувствительности основаны на выделении полезной составляющей зарегистрированного в цифровом виде сигнала из высокочастотных шумов и помех с помощью цифровой фильтрации, например на основе преобразования Фурье (ФПФ). За счет ФПФ может быть увеличено отношение сигнал-шум при регистрации резонансной линии поглощения на фоне белого шума и снижена относительная амплитуда модуляций интерференционного характера [9]. В качестве иллюстрации эффективности данного подхода на рис.2 показан результат фильтрации предварительно оцифрованного спектра пропускания CO<sub>2</sub>, зарегистрированного с помощью ПДЛ в районе 2280 см<sup>-1</sup>. Поглощение в интенсивной линии CO<sub>2</sub> составляет ~1.4 %, а в ее левом сателлите – примерно 0.075 % при ширине обеих линий ~230 точек. Интенсивность интерференционной помехи с полупериодом ~50 точек до фильтрации составляла ~0.03 %, а пиковая амплитуда белого шума – примерно 0.02 %. К данному спектру была применена процедура ФПФ с шириной фильтра 100 точек. На врезке выделен участок, соответствующий левому сателлиту. Видно, что ФПФ привело к существенному подавлению белого шума и снижению периодической интерференционной помехи. Если до фильтрации отношение сигнал-шум при регистрации сателлита составляло ~3, то после фильтрации оно возросло, по оценкам, более чем в 30 раз.

#### 4. Анализатор микросостава выдыхаемого воздуха на основе ПДЛ

Лазерный анализатор содержания газообразных микрокомпонентов выдыхаемого воздуха представляет собой высокочувствительный ИК спектрометр высокого разрешения. Типичная схема такого анализатора показана на рис.3. В зависимости от спектрального диапазона в качестве источников ИК излучения могут использоваться лазеры на основе соединений A<sup>III</sup>V<sup>V</sup> или A<sup>IV</sup>V<sup>VI</sup> различной структуры. Для регистрации спектров в нашем случае применяется импульсно-периодический режим токовой накачки ПДЛ. При использовании лазеров на основе двойных гетероструктур характерная длительность

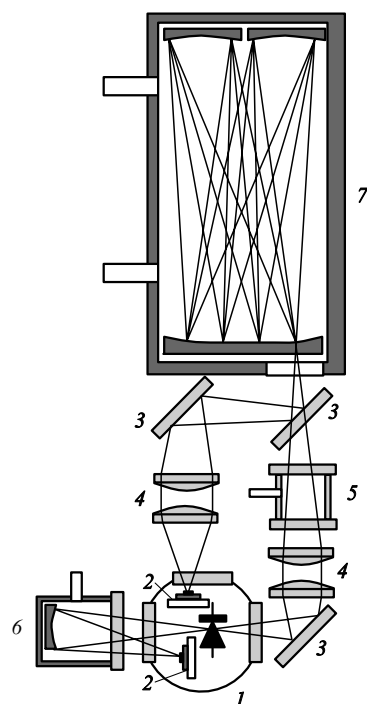


Рис.3. Оптическая схема высокочувствительного газоанализатора на основе ПДЛ:

1 – ПДЛ в криостате; 2 – ИК фотоприемники в криостате; 3 – поворотные зеркала; 4 – двухлинзовые ИК объективы; 5 – калибровочная кювета; 6 – реперная кювета; 7 – многоходовая аналитическая кювета.

импульсов накачки составляет 3–10 мс, а частота их повторения – от 50 до 200 Гц [9]. При таком режиме в каждом лазерном импульсе происходит сканирование частоты генерации вдоль всего исследуемого спектрального участка (протяженностью, как правило, 10–30 см<sup>-1</sup>), что обусловлено периодически повторяющимся нестационарным разогревом лазерного кристалла в течение токового импульса. Высокая воспроизводимость процесса перестройки лазерной частоты от импульса к импульсу обеспечивается точной (с погрешностью менее 0.001 К) стабилизацией температуры хладопровода, на котором размещен ПДЛ, и высокой воспроизводимостью параметров токовых импульсов. Это позволяет накапливать регистрируемый сигнал для увеличения отношения сигнал-шум. Спектральное разрешение анализатора, определяемое шириной линии генерации и стабильностью перестроечной кривой, составляет ~3 × 10<sup>-4</sup> см<sup>-1</sup>.

Лазерное излучение проходит через аналитическую многоходовую кювету, содержащую исследуемую газовую смесь, и фокусируется на быстродействующий ИК фотоприемник (CdHgTe или InSb). Для регистрации спектров пропускания используются схемы на основе быстродействующих 8-битных АЦП, позволяющие оцифровывать регистрируемый спектр с временным разрешением до 50 нс. Динамический диапазон цифровой регистрации спектра может быть увеличен до 12–16 бит за счет накопления сигнала одновременно с контролируемым свипированием электрического нуля [9].

Концентрация исследуемого вещества определяется по амплитуде резонансного поглощения в аналитической линии в соответствии с законом Бугера – Ламберта – Бера при учете параметров ее контура, определяемых вкладом столкновительного и доплеровского уширения.

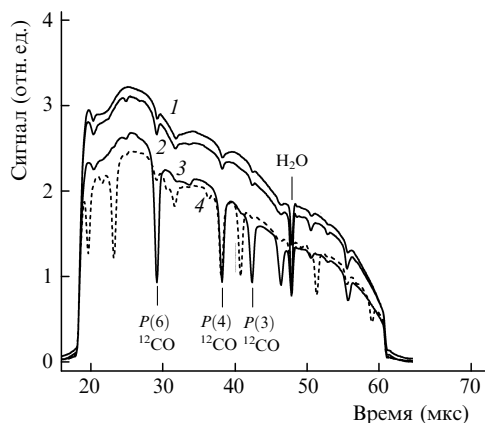


Рис.4. Лазерные спектры пропускания атмосферного воздуха (1), выдыхаемого воздуха (2), калибровочной смеси CO–воздух (3) и смеси  $^{13}\text{C}$ –воздух (4) вблизи частоты  $2120\text{ см}^{-1}$ .

## 5. Примеры использования ПДЛ в биомедицинской диагностике

Разработанные методы и системы на основе ПДЛ были апробированы при анализе содержания в выдыхаемом воздухе эндогенно образуемых молекул CO, NO,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4$ . Приведем наиболее интересные с точки зрения биомедицинской диагностики данные, полученные при детектировании в выдыхаемом воздухе таких биомаркеров, как CO и NO [10–12].

**Эндогенный CO в выдыхаемом воздухе.** CO образуется в организме в результате ферментативного распада гемсодержащих структур [13]. Он буферизируется и транспортируется из мест образования в легкие за счет обратимого соединения с миоглобином и гемоглобином, конкурируя при этом с  $\text{O}_2$ . Скорость выделения CO с выдыхаемым воздухом зависит как от темпа его продукции, так и от эффективности связывания буферными системами, которая, в свою очередь, зависит от pH среды, насыщения тканей кислородом и содержания некоторых веществ в организме. В результате проведенного нами цикла исследований были выявлены основные закономерности выделения эндогенного CO из организма человека с дыханием.

Типичный лазерный спектр пропускания CO, регистрируемый с помощью ПДЛ и используемый для измерения концентрации этого соединения в выдыхаемом воздухе, показан на рис.4. Дана идентификация линий поглощения  $^{12}\text{C}$ . Здесь же приведен спектр пропускания изотомера  $^{13}\text{C}$ , используемый для идентификации линий поглощения основного изотопа и частотной привязки регистрируемого спектра с погрешностью  $\sim 10^{-3}\text{ см}^{-1}$ . Чувствительность детектирования объемной концентрации CO в выдыхаемом воздухе составила  $\sim 5 \times 10^{-7}\%$ , а быстродействие – 5 с.

Лазерный анализ позволяет проводить как статические, так и динамические исследования содержания CO в выдыхаемом воздухе. Результаты, демонстрирующие возможность непрерывного и долговременного мониторинга с быстродействием, близким к быстродействию, реализуемому при регистрации в реальном масштабе времени, приведены на рис.5. Исследовалось выделение CO при физической нагрузке и гипервентиляции. Для анализа выдыхаемый испытуемым воздух прокачивался через кювету лазерного анализатора, при этом для обеспече-

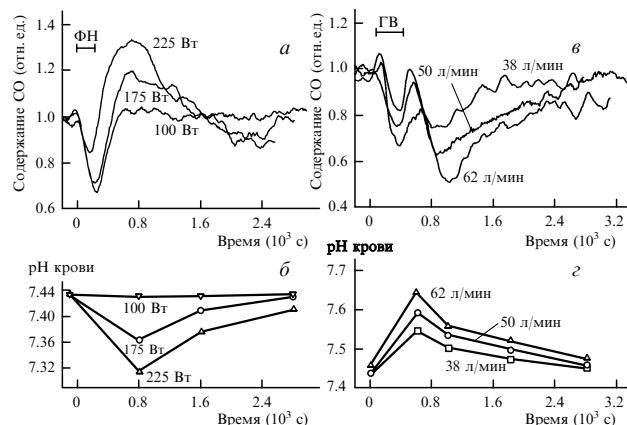


Рис.5. Динамика содержания CO (а, в) и кислотности крови (б, з) при физической нагрузке (ФН) различной мощности (а, б) и гипервентиляции (ГВ) различной глубины (в, з).

ния свободного дыхания использовалась небольшая буферная емкость.

На рис.5,а показана динамика концентрации CO в выдыхаемом воздухе при физической нагрузке различной мощности (велозергметрия). Видны характерные падения концентрации CO в процессе пятиминутной физической нагрузки, связанные с повышенной вентиляцией легких, и ее рост в период релаксации после упражнений с большой нагрузкой (175 и 225 Вт). Напротив, после двухминутной гипервентиляции (рис.5,в) происходит падение содержания CO в выдыхаемом воздухе. Оба эффекта, наблюдаемые в этих двух разных физиологических тестах, имеют общую природу – изменение концентрации  $\text{CO}_2$  и других продуктов метаболизма в крови, влияющих на ее кислотно-щелочное состояние. В случае физической нагрузки их содержание в крови растет, а при гипервентиляции – падает. Соответствующим образом меняется pH крови (рис.5,б и з). Выделение CO с выдыхаемым воздухом чувствительно к этим изменениям химического состава крови, поскольку от них зависит сила связывания CO клетками крови. Таким образом, лазерный анализ содержания CO в выдыхаемом воздухе может быть использован как метод неинвазивного мониторинга изменений химического состава крови и ее газотранспортных свойств. Он применим в исследованиях по нормальной и гипербарической физиологии, спортивной медицине, при изучении функционального состояния организма человека в измененной газовой среде.

Были исследованы также изменения выделений эндогенного CO, обусловленные рядом заболеваний (рис.6). Для этих целей концентрация CO в выдыхаемом испытуемыми воздухе измерялась при естественном дыхании в состоянии покоя. Использовался статический режим анализа с отбором проб выдыхаемого воздуха в промежуточную емкость объемом 2–3 л. Видно, что усредненные по группам патологических состояний данные указывают на уменьшение выделения CO при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), фиброзах легких, анемии и бронхиальной астме (БА). Существенное увеличение выделения CO по сравнению с нормой наблюдается при поражениях печени, что обусловлено усиленным метаболизмом билирубина и связанным с ним разрушением гемсодержащих структур [13]. Полученные результаты демонстрируют перспективность использования в целях клинической диагностики выдыхаемого

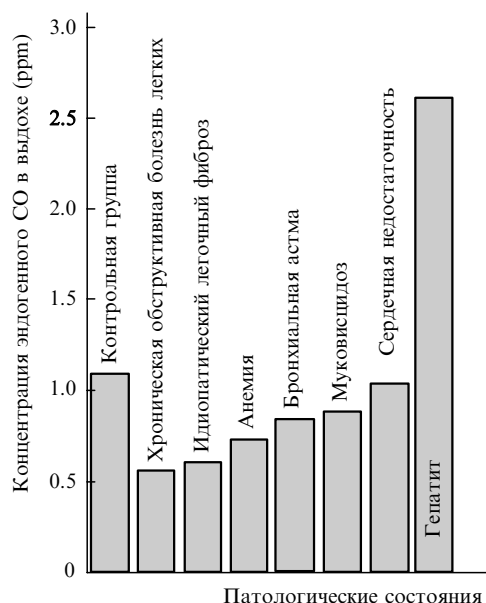


Рис.6. Средние концентрации эндогенного СО в выдыхаемом воздухе для контрольной группы и при различных патологических состояниях.

СО в качестве маркера некоторых заболеваний.

**Эндогенный NO в выдыхаемом воздухе.** NO играет важную роль в целом ряде биохимических процессов, происходящих в организме. Эта молекула участвует в передаче нервных импульсов и в регуляции тонуса кровеносных сосудов, а также, являясь мощным оксидантом, оказывает бактериостатическое действие при воспалительных процессах [11, 14]. Лазерный анализ NO может оказаться полезным для диагностики и терапии ряда заболеваний, сопровождающихся воспалительными процессами. Например, детектирование содержания NO в выдыхаемом воздухе актуально при исследовании заболеваний дыхательных путей (БА, ХОБЛ), а определение концентрации этого соединения в желудке – при заболеваниях органов пищеварения (гастритах). Концентрация NO в этих случаях изменяется в диапазоне 1 – 1000 мкг/м<sup>3</sup> и может быть измерена при высоком содержании воды и СО<sub>2</sub> с помощью анализатора на основе ПДЛ.

Детектирование следов NO в выдыхаемом воздухе с чувствительностью ~ 1 мкг/м<sup>3</sup> проводилось с использованием дифференцирования регистрируемых спектров пропускания. На рис.7,*а* показан спектр пропускания выдыхаемого воздуха курильщика в области 1850 см<sup>-1</sup>, получаемый при прямой регистрации. Содержание NO значительно превышает норму и составляет около 50 мг/м<sup>3</sup>. Видны мешающие измерению малых количеств NO линии поглощения СО<sub>2</sub> и Н<sub>2</sub>О. На рис.7,*б* приведен дважды дифференцированный спектр назального воздуха, отобранного из носовых ходов, где концентрация NO составляет ~ 1 мг/м<sup>3</sup>. Видно существенное улучшение контрастности спектра, позволяющее повысить чувствительность анализа до единиц мкг/м<sup>3</sup>.

При использовании биомаркера NO для диагностики заболеваний органов дыхания [10, 11, 13] необходимо различать его содержание в начальной и конечной порциях каждого выдоха [15]. В нашем случае для этого был применен так называемый альвеолярный отсекатель, позволяющий механически разделять воздух, выделяемый в течение каждого выдоха, на фракции и постепенно нака-

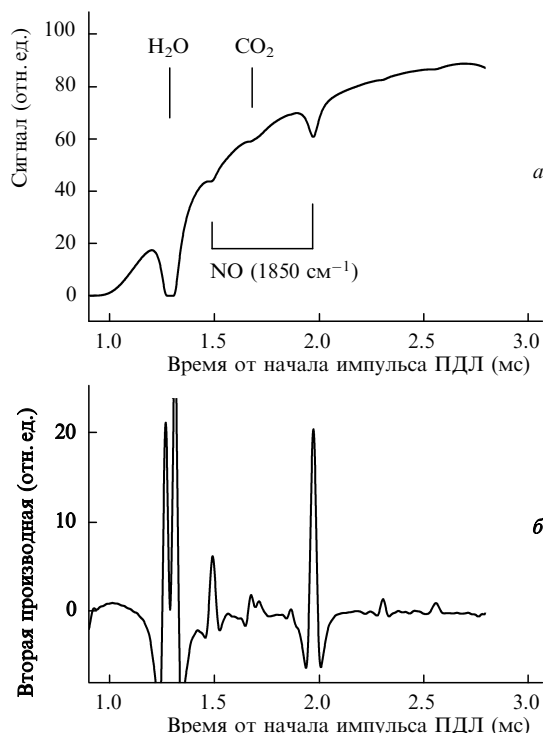


Рис.7. Лазерный спектр пропускания воздуха, выдыхаемого курильщиком, вблизи частоты 1850 см<sup>-1</sup> при концентрации NO, равной ~ 50 мг/м<sup>3</sup> (*а*) и вторая производная спектра пропускания назального воздуха при концентрации NO, равной ~ 1 мг/м<sup>3</sup>.

пливать в кювете воздух из исследуемого отдела дыхательных путей. На рис.8 показан результат использования отсекателя при измерении концентрации NO. До его включения измерялась усредненная по выдоху концентрация NO (начальное плато). После включения и при отборе пробы для анализа из начальной порции выдоха наблюдался рост концентрации NO, обусловленный более высоким уровнем продукции этого соединения в верхних дыхательных путях, включая носовые ходы. При отборе конечной порции выдоха (альвеолярной) происходило снижение концентрации NO в исследуемой пробе относительно усредненного значения.

На рис.9 приведены результаты исследований содержания NO в выдыхаемом воздухе при различных заболе-

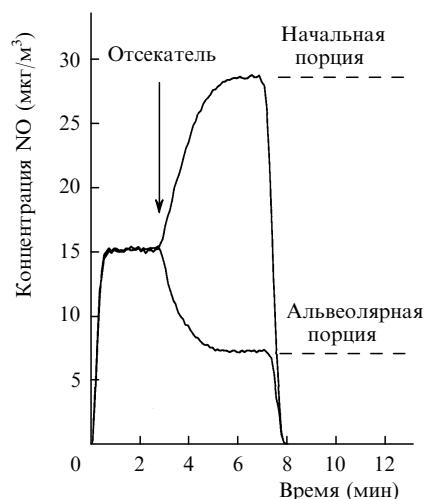


Рис.8. Динамика концентрации NO в отбираемой пробе выдыхаемого воздуха при применении альвеолярного отсекателя.

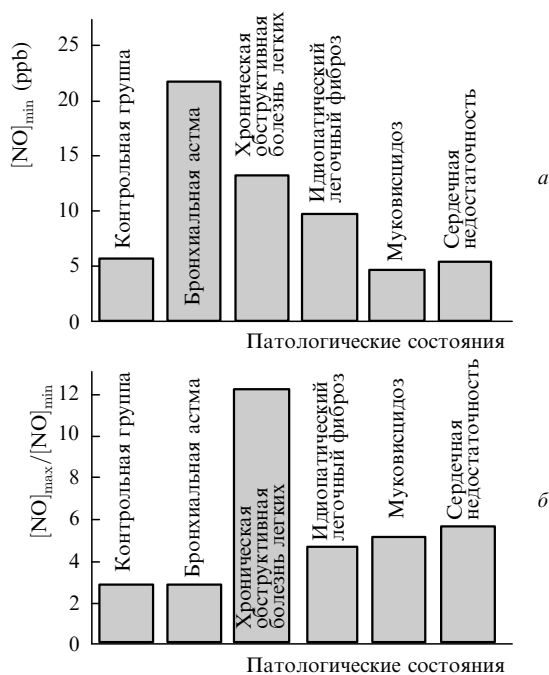


Рис.9. Средние концентрации  $[\text{NO}]_{\text{min}}$  в конечной порции выдоха (а) и средние отношения концентраций  $[\text{NO}]_{\text{max}}/[\text{NO}]_{\text{min}}$  в начальной и конечной порциях выдоха (б) для ряда патологических состояний.

ваниях. Из рис.9,а видно, что среднее по группе испытуемых значение концентрации NO в конечной порции выдыхаемого воздуха повышается при БА, ХОБЛ и фиброзах. Из рис.9,б следует, что для дифференцирования БА и ХОБЛ может быть дополнительно определено отношение концентраций NO в начальной и конечной порциях выдыхаемого воздуха. Это отношение при ХОБЛ, в отличие от БА, существенно превышает норму.

Применение NO в качестве маркера может оказаться перспективным при исследовании воздействия на организм человека различных факторов, приводящих к воспалительным реакциям. Так, нами было продемонстрировано увеличение концентрации NO в выдыхаемом воздухе у группы испытуемых при регулярном использовании мобильных телефонов [15].

Простота и неинвазивность данного метода диагностики обуславливают перспективность его использования как для оперативного определения тяжести заболевания, так и для сопровождения терапии и выбора эффективной схемы лечения.

## 6. Заключение

Применение лазерных методов высокочувствительного спектрального анализа газообразных молекул-биомаркеров в выдыхаемом воздухе перспективно в диагностических исследованиях как фундаментального, так и

прикладного (клинического) характера. Использование возможностей ПДЛ в этой области позволяет расширить круг исследуемых объектов и решаемых задач, открывает перспективу для внедрения новых методических подходов в медикобиологических исследованиях (измерения в реальном времени, долговременный непрерывный мониторинг, неинвазивность, массовые скрининговые обследования, применение новых нагрузочных тестов и т. п.). Использование для диагностики заболеваний наряду с традиционными предложенного метода может обеспечить неинвазивность, оперативность и экономическую эффективность исследований. При соответствующем развитии данного метода он может быть использован для корреляционной диагностики заболеваний, диагностики с применением стабильных изотопов, сопровождения и оптимизации терапевтических воздействий различного характера, диагностики экстремальных физиологических состояний (в спорте, космонавтике и т. п.), для фармакологических исследований, в том числе с использованием лабораторных животных, для оценки воздействия загрязнений окружающей среды (например, при экологическом мониторинге) и для скрининговых эпидемиологических тестов.

Авторы признательны Ю.Г.Селиванову за предоставленные для настоящей работы образцы ПДЛ на основе солей свинца.

1. Phillips M., Herrera J., Krishnan S., Zain M., Greenberg J., Cataneo R.N. *J. Chromatogr. B*, **729**, № 1-2, 75 (1999).
2. Fried A., Drummond J.R., Henry B., Fox J. *Appl. Opt.*, **30**, 1916 (1991).
3. Werle P. *Infr. Phys. Techn.*, **37**, № 1, 59 (1996).
4. Степанов Е.В. *Препринт ИОФАН № 4* (М., 2002).
5. Yamamoto Y. *IEEE J. Quantum Electron.*, **19**, № 1, 34 (1983).
6. Ямомото Е. В кн. *Физика полупроводниковых лазеров*. Под ред. Х.Такумы (М.: Мир, 1989, с. 68).
7. Тинонэ Н. В кн. *Физика полупроводниковых лазеров*. Под ред. Х.Такумы (М.: Мир, 1989, с. 99).
8. Засавицкий И.И., Косичкин Ю.В., Крюков П.В., Надеждинский А.И., Прохоров А.М., Степанов Е.В., Тищенко А.Ю., Шотов А.П. *ЖТФ*, **54**, № 8, 1542 (1984).
9. Степанов Е.В. *Препринт ИОФАН № 2* (М., 2002).
10. Марков Х.М. *Успехи физиологических наук*, **27**, № 4, 30 (1996).
11. Вознесенский Н.А., Дулин К.С., Сахарова Г.М., Соодаева С.К., Степанов Е.В., Шулагин Ю.А., Чучалин А.Г., Ягмуров Б.Х. В сб. *Всероссийского научного общества пульмологов: Актуальные проблемы пульмонологии*. Под ред. А.Г.Чучалина (М.: Универсум Паблишинг, 2000, с. 738).
12. Тиунов А.А., Кустов В.В. *Продукты метаболизма при радиационном поражении* (М.: Атомиздат, 1980).
13. Харитонов С.А., Барнс П.Дж., Чучалин А.Г. *Пульмонология*, № 3, 7 (1997).
14. Persson M.G., Zetterstrom O., Agrenius V., Ihre E., Gustafsson L.E. *Lancet*, **343**, 146 (1994).
15. Binhi V.N., Fillion-Robin M., Stepanov E.V. *Proc. V Intern. Congress of the European BioElectromagnetic Association (EBEA)* (Helsinki, Finland, 2001, p. 299).