

Новые возможности для анализа биологической роли водорода, метана и других биомаркеров активности микробиоты кишечника при использовании перестраиваемой диодной лазерной спектроскопии поглощения и селективных сенсоров водорода и кислорода

© Я.Я. Понуровский¹, Д.Б. Ставровский¹, И.В. Широков², Ф.И. Романихин², Г.Н. Бондаренко², А.В. Литвинов³, М.О. Этрекова³, А.А. Карабиненко⁴, В.А. Килимник⁵, О.С. Медведев^{2,6}

¹ Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН,
119991 Москва, Россия

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
119991 Москва, Россия

³ Национальный исследовательский ядерный университет „МИФИ“,
115409 Москва, Россия

⁴ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова,
117997 Москва, Россия

⁵ Санкт-Петербургский государственный университет аэрокосмического приборостроения,
190000 Санкт-Петербург, Россия

⁶ НИИ экспериментальной кардиологии им. В.Н. Смирнова
Национального медицинского исследовательского центра кардиологии им. Е.И. Чазова,
121552 Москва, Россия

e-mail: jakov@nsc.gpi.ru

Поступила в редакцию 28.12.2023 г.

В окончательной редакции 17.01.2024 г.

Принята к публикации 05.03.2024 г.

Представлен аппаратно-программный комплекс, состоящий из многоканального перестраиваемого диодного лазерного спектрометра высокого разрешения для измерения содержания газов $^{12}\text{CO}_2$, $^{13}\text{CO}_2$, CH_4 , NH_3 , H_2S и H_2O , а также сенсоров водорода и кислорода для проведения *on-line* измерений выдыхаемых газов. Он позволяет непрерывно (каждую секунду) неинвазивно измерять состав биомаркеров микробиоты кишечника как в опытах на лабораторных животных, так и в клинических исследованиях на человеке. Первые опыты показали возможность применения прибора для изучения как выдыхаемого воздуха, так и кишечного газа. Важным преимуществом разработанного нового метода регистрации газов является непрерывность измерения состава газов, а также многоканальность по регистрируемым компонентам, позволяющая оценить особенности ферментативной активности микробиоты кишечника и косвенно судить о ее таксономическом составе.

Ключевые слова: водородно-метановый дыхательный тест, вода, насыщенная водородом и метаном, окислительный стресс, сенсор водорода, диодный лазерный многоканальный спектрометр, диагностика.

DOI: 10.61011/OS.2024.03.58150.35-24

Введение

В последние годы резко повысился интерес к изучению роли совокупности микроорганизмов толстого кишечника (микробиоты) у животных и человека и их способности к генерации ряда метаболитов, которые способны осуществлять как протективное, так и провоцирующее воздействие на развитие метаболических, сердечно-сосудистых и других неинфекционных заболеваний [1]. Общее количество микроорганизмов в организме человека превышает общее количество соматических клеток в 1.3–2.3 раза в зависимости от возраста и состояния организма [2]. Плотность микробных клеток по ходу желудочно-кишечного тракта (ЖКТ)

неоднородна. В желудке она наименьшая и составляет 10^2 – 10^3 microbial cells/ml, что, видимо, связано с высокой кислотностью содержимого; в двенадцатиперстной кишке и верхних отделах тонкой кишки эта величина достигает 10^3 – 10^6 , что связывают с относительно высокой скоростью прохождения содержимого; в нижних отделах тонкого кишечника — 10^7 – 10^9 ; максимальная концентрация определяется в толстой кишке — 10^{10} – 10^{13} microbial cells/ml [3,4].

Компоненты пищи, прежде всего сложные углеводы, пищевые волокна, не усваиваемые нашим организмом в тонкой кишке, достигают толстой кишки, где подвергаются ферментации микробиотой, которая обладает значительно большим набором ферментов для их

утилизации. В результате их метаболизма в толстой кишке образуется большое количество низкомолекулярных соединений, газовых биомаркеров (водорода, метана и сероводорода), коротко-цепочечных жирных кислот и других [5]. Существует линейная зависимость между скоростью образования водорода в кишке и его уровнем в выдыхаемом воздухе. Образующийся в результате ферментации неперевариваемых углеводов (т.е. тех, которые не всасываются в тонкой кишке) водород всасывается в кровь. Через легкие выделяется около 21–65% образованного в кишке водорода, что является основанием для использования водородного дыхательного теста для неинвазивной оценки газообразующей функции микробиоты толстой кишки [6,7].

Измерение уровня водорода в выдыхаемом воздухе применяется для определения времени ороректального транзита, диагностики синдрома избыточного бактериального роста (СИБР) в тонкой кишке, лактазной недостаточности и непереносимости углеводов (фруктозы, галактозы, сорбитола) [8,9]. Однако в большинстве работ отмечается существенный разброс полученных данных, что не позволяет говорить о референсных значениях уровня водорода в выдыхаемом воздухе у здорового человека [10]. В настоящее время проводятся исследования в Америке и Европе, на основании которых создаются клинические рекомендации для стандартизации метода проведения водородного дыхательного теста в клинике, а также интерпретации полученных результатов [11,12]. Особенно важно внедрение методов непрерывной регистрации уровня водорода и метана при определении СИБР, так как метод основан на представлении о более раннем появлении водорода или метана в выдыхаемом воздухе при появлении повышенных количеств микроорганизмов в тонкой кишке, когда еще основная масса тестирующего объема углеводов не достигла толстой кишки, в которой находится значительно больше микроорганизмов, и количество выделяемого газа также превышает количество, которое может образоваться в тонкой кишке [6].

В связи с этим особое значение имеет точное время появления даже малого количества газовых биомаркеров в выдыхаемом воздухе. Существующие в настоящее время методы измерения концентрации водорода и метана в выдыхаемом воздухе, основанные на применении электрохимических датчиков или газовой хроматографии, не позволяют точно определить начало появления водорода или метана в выдыхаемом воздухе, так как измерения проводятся один раз в 15 или 20 min, что описано в американских [13], европейских [12] или российских руководствах по выполнению диагностического теста на СИБР. Подобное временное разрешение явно недостаточно для регистрации начальных фаз появления газовых биомаркеров в выдыхаемом воздухе. Для увеличения точности времени появления газовых биомаркеров в выдыхаемом воздухе требуется практически непрерывная регистрация их уровня, что достижимо при использовании перестраиваемой диодной лазерной

спектроскопии поглощения и селективного полупроводникового сенсора водорода. Цель работы состояла в разработке аппаратно-программного комплекса, состоящего из многоканального диодного лазерного спектрометра высокого разрешения для измерения содержания газов $^{12}\text{CO}_2$, $^{13}\text{CO}_2$, CH_4 , NH_3 , H_2S и H_2O , а также сенсоров водорода и кислорода для проведения *on-line* измерений выдыхаемых газов.

Материалы и методы

Многоканальный диодный лазерный спектрометр (ДЛС АЗ-05) был создан на базе ранее разработанных приборов для измерения газовых смесей в многопроходных кюветах типа Эррио [14,15]. На рис. 1, *a* представлены принципиальная блок-схема ДЛС АЗ-05 и на рис. 1, *b* — фотография внешнего вида. Блок лазерного излучения (1), работающий на длинах волн с перестройкой в окрестности линий поглощения детектируемых молекул, состоит из модуля диодного лазера (5), волоконного разветвителя (6) для разветвления излучения лазера в приемно-передающий канал и канал сравнения, кюветы сравнения с интерферометром Фабри-Перо (7), детектора сигнала сравнения (8). Блок управления, приема и обработки данных (2) выполнен в виде трех модулей, а именно цифрового программируемого модуля (9), модуля цифро-аналоговых и аналогово-цифровых преобразователей (ЦАП и АЦП) (10) и модуля преобразователей аналоговых сигналов (11). Многопроходная оптическая кювета (3) и детектор аналитического сигнала (4) предназначены для измерения концентраций газов. Параметры многопроходной оптической кюветы: тип кюветы — Эррио, базовая длина — 30 см, полная длина оптического пути — 28 м, объем — 2 л. Кювета вакуумированная, выполнена из нержавеющей стали. Модуль (5) представляет собой диодный лазер (ДЛ) с распределенной обратной связью с выходом излучения в одномодовое волокно, генерирующий в ближнем ИК диапазоне длин волн. В приборе были использованы три перестраиваемых диодных лазера с распределенной обратной связью на длины волн генерации 1.651, 1.512 и 1.604 μm (LD-PD INC, Сингапур, <http://ld-pd.com/>). Кювета сравнения длиной 20 см, выполнена из жаропрочного стекла и используется как элемент сравнения при вычислении концентрации газа. Она заполнялась исследуемыми газами CH_4 , CO_2 , H_2S и NH_3 при парциальном давлении 30, 100, 75 и 35 Torr соответственно. Полное давление газов в кювете при разбавлении азотом составляло 350 Torr. Детекторы аналитического сигнала (4) и сигнала сравнения (8) — это фотодиоды InGaAs pin с диаметром активной площадки 2 mm (Beijing Lightsensing Technologies Ltd, Китай. <http://en.lightsensing.com>). Волоконно-оптический кабель (12) выполнен в виде кварцевого одномодового волоконного световода с потерями оптического излучения на длине волны 1.55 μm не более 0.25 dB/km.

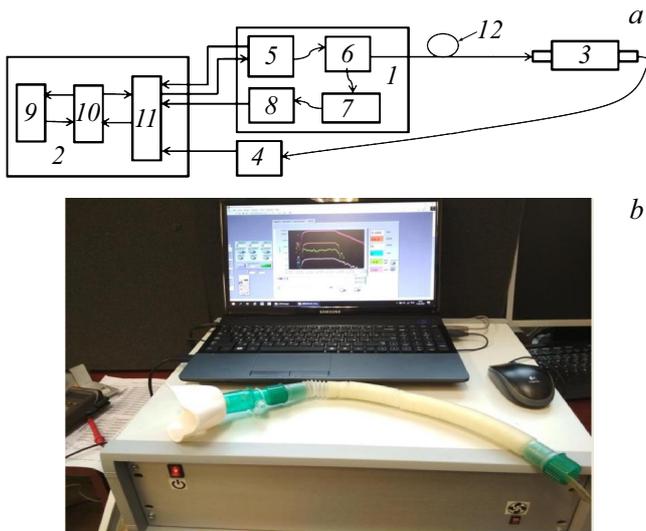


Рис. 1. *a* — принципиальная блок-схема ДЛС АЗ-05, *b* — фотография внешнего вида.

Цифровой программируемый модуль (9) и модуль ЦАП и АЦП (10) реализованы на базе платы ввода/вывода NI USB-6343 (National Instruments, США, <https://www.ni.com>).

Диодный лазер (5) по команде цифрового программируемого модуля (9) и модуля ЦАП и АЦП (10) генерирует последовательность коротких импульсов на длине волны, совпадающей с линией поглощения детектируемого газа. Импульсы тока накачки диодного лазера трапециевидные, длительностью 1–4 ms, частота повторения не более 200 Hz, позволяют дополнительно проводить сканирование излучения в области центра линии поглощения, захватывая весь контур линии и обеспечивая тем самым высокую селективность к выбранной газовой компоненте. С помощью детектора сигнала сравнения (8) производится настройка прибора, а именно выведение диодного лазерного излучателя в заданный диапазон длин волн при изменении температуры термоэлемента Пельтье, на котором расположен диодный лазер. Управление током термоэлемента Пельтье осуществляется из цифрового программируемого модуля (9) через модуль ЦАП и АЦП (10) и модуль преобразователей аналоговых сигналов (11). Электрический сигнал от датчика температуры на термоэлементе Пельтье поступает в цифровой программируемый модуль (9) через модуль преобразователей аналоговых сигналов (11) и через модуль ЦАП и АЦП (10). Основная часть излучения диодного лазера от волоконного разветвителя попадает в волоконно-оптический кабель (12) и далее на вход многопроходной оптической кюветы (3). Излучение диодного лазера после кюветы коллимируется на фотоприемник детектора аналитического сигнала. Далее сигнал от детектора усиливается, оцифровывается (10, 11) и с помощью цифрового программируемого модуля (9) производится вычисление концентрации детектируемого

газа. В таблице представлены технические характеристики ДЛС АЗ-05.

Измерение концентрации газов

При моделировании спектров поглощения и выборе оптимальных спектральных диапазонов регистрации примесей выдыхаемых газов использовалась спектральная база данных „NITRAN-2020“ [16]. Согласно закону Бугера-Ламберта, интенсивность $I(\nu)$ поглощенного в среде излучения на частоте ν связана с интенсивностью падающего излучения $I_0(\nu)$, коэффициентом поглощения $\kappa(\nu)$, концентрацией газа c и длиной трассы l следующей формулой:

$$I(\nu) = I_0(\nu) \exp(-\kappa(\nu)cl), \quad (1)$$

где оптическая плотность $D^*(\nu) = \kappa(\nu)cl$.

Форма контура коэффициента поглощения $\kappa(\nu)$ зависит от уширения линии поглощения молекулы буферным газом, в нашем случае атмосферой, и имеет лоренцев профиль линии:

$$\kappa(\nu) = S_{ij}f(\nu - \nu_0), \quad (2)$$

$$f(\nu - \nu_0) = (b_l/\pi) / ((\nu - \nu_0)^2 + b_l^2), \quad (3)$$

где S_{ij} — интенсивность колебательно-вращательной линии, на которой происходит поглощение лазерного излучения. Спектральные параметры колебательно-вращательной линии молекул: интенсивность S_{ij} , ν_0 — частота линии, b_l — лоренцева столкновительная полуширина линии при моделировании спектров поглощения брались из спектральной базы данных NITRAN. Для отобранных образцов выдыхаемых газов был определен химический состав проб: $\text{CO}_2 = 40000 \text{ ppm}$, $\text{H}_2\text{O} = 2\%$, $\text{CH}_4 = 2.5 \text{ ppm}$, $\text{NH}_3 = 0.50 \text{ ppm}$, $\text{H}_2\text{S} = 0.2 \text{ ppm}$, полное давление = 630 Torr, $T_{\text{возд}} = 35^\circ\text{C}$, были построены модельные спектры поглощения этих газов в области генерации диодных лазеров и найдены аналитические спектральные области регистрации газов. Для газов $^{12}\text{CO}_2$, $^{13}\text{CO}_2$, H_2S и H_2O это диапазон $6232.5\text{--}6235.2 \text{ cm}^{-1}$ для CH_4 $6054.2\text{--}6059 \text{ cm}^{-1}$ для NH_3 , H_2O $6611.5\text{--}6613.6 \text{ cm}^{-1}$.

Алгоритм измерения концентрации при амплитудной модуляции тока накачки диодного лазера

Перестройка частоты генерации диодного лазера осуществлялась периодическими импульсами тока накачки специальной формы (трапециевидная форма импульса, длительность импульса 1–4 ms, частота повторения 60 Hz), которые подробно рассмотрены в [17]. Импульсы тока накачки модулировали по амплитуде с частотой, равной частоте дискретизации АЦП платы NI USB-6343

Технические характеристики ДЛС АЗ-05

№ п/п	Наименование параметра	Наличие функции или значение параметра
1	Спектральный диапазон измерения концентраций $^{12}\text{CO}_2$, $^{13}\text{CO}_2$, CH_4 , NH_3 , H_2S , H_2O	1.28–1.65 μm
2	Мощность излучения ДЛ, менее	10 mW
3	Стабильность частоты излучения, не хуже	0.0005 cm^{-1}
4	Спектральное разрешение, не хуже	0.0004 cm^{-1}
5	Абсолютная погрешность измерения концентраций/диапазон измерения $^{12}\text{CO}_2$ $^{13}\text{CO}_2$ CH_4 NH_3 H_2S H_2O	20 ppm* /0–20% 20 ppm /0–20% 0.2 ppm /0–1% 0.01 ppm /0–50 ppm 0.7 ppm /0–20 ppm 0.01% /0–100%
7	Время измерения концентрации газов, не более	100 ms
8	Размер, не более	45 cm(Ш) × 27 cm(Д) × 20 cm(В)
9	Вес, не более	8.0 kg
10	Потребляемая мощность ДЛС, не более	120 W

Примечание. * ppm — одна миллионная часть (million^{-1}).

ОЕМ. Полоса пропускания предусилителей фотоприемников аналитических каналов оптимизировалась под частоту дискретизации и составляла 111 kHz. Глубина амплитудной модуляции подбирались таким образом, чтобы обеспечить частотный сдвиг излучения лазера на полуширину линий поглощения газа и максимальный контраст поглощения.

В дальнейшем проводилась математическая обработка амплитудно-модулированных сигналов:

1) логарифмирование частотно сдвинутых компонент сигналов в соответствии с законом Бугера-Ламберта-Бера;

2) автокорреляционная свертка сигнала реперного сигнала R_{xx} и кросскорреляционная свертка реперного сигнала с аналитическим R_{xy} , эта процедура обеспечивает дополнительную фильтрацию полезного сигнала, зашумленного помехой;

3) линейная подгонка кросскорреляционной функции по автокорреляционной и нахождение коэффициента совпадения функций α :

$$R_{xy} = \alpha R_{xx}. \quad (4)$$

Коэффициент совпадения α пропорционален неизвестной концентрации исследуемого газа C , которая определяется по формуле

$$C = \frac{\alpha P_R L K_R}{P_A L_A} \cdot 10^2, \quad (5)$$

где C — концентрация анализируемого газа в %, P_R, P_A — парциальное давление газа в канале сравнения

и в аналитическом канале соответственно, L_R, L_A — оптические длины кювет сравнения и многоходовой кюветы соответственно. Представленная процедура вычисления концентрации существенно ограничивает различные низкочастотные (вибрационные, фликкерные) шумы приёмно-регистрирующего тракта ДЛС-АЗ-05 [18].

Сенсоры водорода и кислорода

В качестве чувствительного элемента в газоанализаторе водорода используется МДП (металл-диэлектрик-полупроводник)-структура типа Pd-SiO₂-Si, емкость которой изменяется при взаимодействии с газом [19]. Технология изготовления чувствительного элемента представляет собой сочетание микроэлектронной технологии изготовления транзисторов и лазерной технологии напыления тонких пленок. Основой МДП-сенсора является структура, представляющая собой конденсатор, состоящий из пластины кремния, диэлектрического слоя SiO₂ и палладиевого металлического электрода (затвора). Такой конденсатор обладает емкостью C . Температура конденсатора поддерживается в диапазоне 100–150°C с помощью миниатюрного пленочного резистивного нагревателя и стабилизируется электронным блоком с помощью терморезистора. Принцип действия сенсора состоит в следующем. При осаждении молекул исследуемого газа на поверхности затвора (Pd) $C-U$ -характеристика смещается по оси U . При поддержании на конденсаторе постоянного напряжения, $U_{\text{см}}$, наблюдается изменение емкости ΔC , кото-

Основные технические характеристики сенсора водорода:

Диапазон измеряемых концентраций	0.1–1000 ppm,
Время отклика	0.1–5 min,
Рабочая температура	140°C,
Срок службы	5 лет.

Основные технические характеристики сенсора кислорода:

Диапазон измеряемых концентраций	0.1–30%,
Время отклика	3–12 s,
Условия эксплуатации	$T = -35 + 50^\circ\text{C}$,
Давление	630–800 Torr,
Срок службы	4 года.

рое преобразуется электронным блоком в аналоговый (или цифровой) сигнал [20].

Для измерения концентрации кислорода использовался серийный электрохимический сенсор „Оксик-3“ фирмы ООО „Оксоний“, Санкт Петербург (<http://www.oxonsens.ru/>). Принцип работы датчика построен на изменении электрического напряжения пропорционально парциальному давлению кислорода в воздухе рабочей зоны. Взаимодействие пробы с датчиком происходит за счёт диффузионного метода проникновения газовой смеси.

Результаты и обсуждение

Для исследования газового состава выдыхаемого воздуха была разработана специальная герметичная система забора и фильтрации воздуха в многопроходную кювету ДЛС АЗ-05 и сенсоры O_2 и H_2 . Использовались три микронасоса для распределения потоков исследуемого воздуха в многоходовую кювету, сенсор водорода и сенсор кислорода. Скорость потока воздуха для каждого канала регулировалась расходомерами. Отдельно для сенсора водорода использовался угольный фильтр для удаления влаги, паров аммиака и сероводорода. Для предотвращения скачков давления и непрерывной, ламинарной подачи воздуха в многопроходную кювету дополнительно был введен буферный объем с клапанами сброса давления. Многопроходная кювета была сделана вакуумированной, чтобы обеспечить герметичность всей системы напуска и предотвратить поддув атмосферного воздуха из фланцев зеркал, кранов и т.д.

Пилотное тестирование разработанной системы было проведено на крысах для регистрации момента выхода кишечных газов из толстой кишки. Задняя часть крысы помещалась в герметизированный пенал из оргстекла, который вентилировали воздухом со скоростью 2 l/min. Газ, выходящий из пенала, поступал в систему подачи воздуха и затем в многопроходную кювету и сенсоры H_2 и O_2 . Типичный результат опытов на крысах представлен на рис. 2. На рисунке видно, что с разным

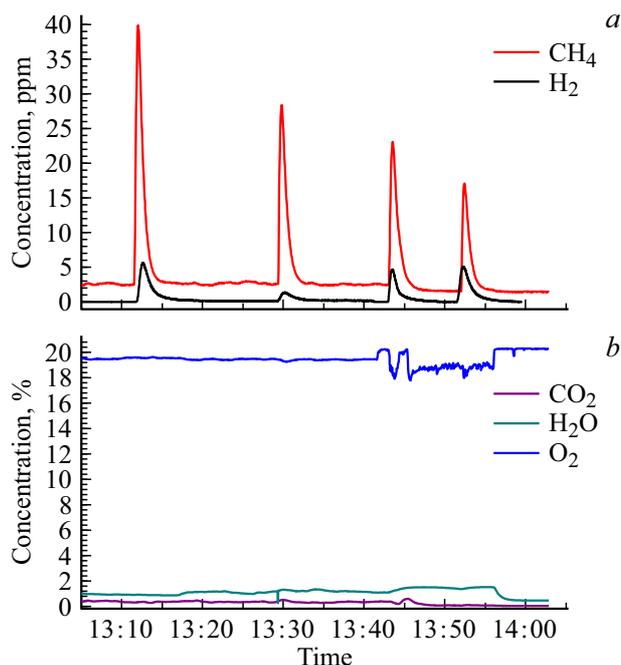


Рис. 2. Регистрация кишечных газов у крысы: *a* — изменения содержания CH_4 и H_2 , *b* — изменения содержания CO_2 , H_2O и O_2 .

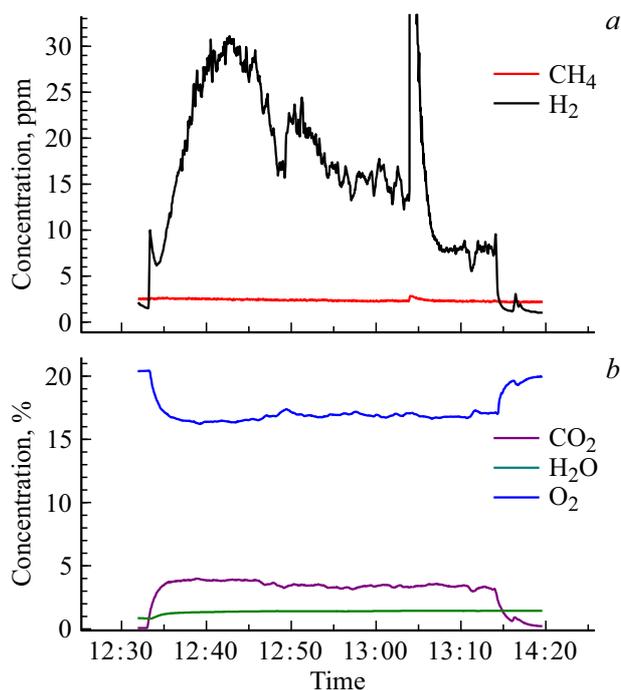


Рис. 3. Дыхательный тест у человека, выпившего стакан насыщенной водородом воды: *a* — изменения содержания газов CH_4 и H_2 , *b* — изменения содержания газов CO_2 , H_2 и O_2 .

интервалом во времени регистрировались повышения концентраций водорода и метана, что отражает наличие в микробиоте как водород-генерирующих бактерий, так и метан-генерирующих микроорганизмов. При тестиро-

вании других крыс были выявлены особи, у которых регистрировали избирательный выброс кишечного газа, содержащего только водород. Таким образом, с использованием непрерывной регистрации состава кишечных газов можно сделать заключения о разном составе микроорганизмов микробиоты на основании неинвазивного метода.

Пилотные исследования на человеке проводили на трех здоровых добровольцах различного возраста (от 25 до 80 лет). Забор выдыхаемого человеком воздуха осуществлялся непрерывно через герметичную дыхательную маску, снабженную клапанами вдоха/выдоха. Далее выдыхаемый воздух через систему фильтрации и подачи воздуха поступал в измерительные каналы лазерного спектрометра ДЛС АЗ-05. После 10-минутной регистрации фоновых уровней газов в выдыхаемом воздухе испытуемый выпивал стакан воды (200 ml), насыщенной водородом (концентрация водорода в воде составляла от 1.0 до 1.4 ppm). Измерение выдыхаемых газов продолжали в течение 40 min. На рис. 3 представлен результат проведения исследования у человека, выпившего стакан насыщенной водородом воды.

Снижение концентрации кислорода и повышение концентрации углекислого газа позволяет оценить так называемый дыхательный коэффициент, т.е. особенности метаболизма у конкретного индивидуума — степень метаболизма жиров или углеводов. Водород, всосавшийся из принятой воды, быстро всасывается в кровь и выделяется через легкие.

Пик концентрации водорода отмечается через 10–12 min после приема воды, а полное удаление водорода из организма происходит через 45–60 min. С учетом того, что вся кровь, снабжающая желудочно-кишечный тракт у человека, поступает через портальную вену в печень, появляется возможность оценить степень захвата водорода, обладающего антиоксидантными свойствами, печенью, и таким образом косвенно оценить степень оксидативного стресса в ткани печени [21].

Выводы

Описанный в настоящей работе перестраиваемый диодный лазерный спектрометр позволяет непрерывно (каждую секунду) неинвазивно измерять состав биомаркеров микробиоты кишечника как в опытах на лабораторных животных, так и в клинических исследованиях на человеке. Первые опыты показали возможность применения прибора для изучения как выдыхаемого воздуха, так и кишечного газа. Важным преимуществом разработанного метода является как непрерывность измерения состава газов, так и многоканальность, позволяющая оценить особенности ферментативной активности микробиоты кишечника и косвенно судить о ее таксономическом составе.

Соблюдение этических стандартов

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

Финансирование работы

Исследования по разработке многоканального ДЛ-спектрометра, сенсора водорода, а также проведение водородно-метановых дыхательных тестов поддержаны грантом РФФИ № 19-19-00712.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] R. Singh, J. Fedacko, O. Medvedev, T. Truong, T. Kuropatkina, L. Shogenova, S. Chibisov, G. Halabi, E. Kharlitskaya, G. Ak-BawareedElkilany, O. Elmarghi. *World Heart J.*, **14** (4), 305 (2022).
- [2] R.C. Robertson, A.R. Manges, B.B. Finlay, A.J. Prendergast. *Trends Microbiol.*, **27** (2), 131 (2019). DOI: 10.1016/j.tim.2018.09.008
- [3] M. Mailhe, D. Ricaboni, V. Vitton, J.-M. Gonzalez, D. Bachar, G. Dubourg, F. Cadoret, C. Robert, J. Delerce, A. Levasseur, P.-E. Fournier, E. Angelakis, J.-C. Lagier, D. Raoult. *BMC Microbiol.*, **18** (2), 157 (2018). DOI: 10.1186/s12866-018-1304-7
- [4] О.С. Медведев. *Успехи современной биологии*, **142** (4), 349 (2022). DOI: 10.31857/S004213242204007X
- [5] K. Kalantar-Zadeh, K.J. Berean, R.E. Burgell, J.G. Muir, P.R. Gibson. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, **16** (12), 733 (2019). DOI: 10.1038/s41575-019-0193-z
- [6] M.D. Levitt, *N. Engl. J. Med.*, **281** (3), 122 (1969). DOI: 10.1056/NEJM196907172810303
- [7] S.U. Christl, P.R. Murgatroyd, G.R. Gibson, J.H. Cummings. *Gastroenterology*, **102** (4 Pt 1), 1269 (1992).
- [8] W. Shin. *Anal. Bioanal. Chem.*, **406** (16), 3931 (2014). DOI: 10.1007/s00216-013-7606-6
- [9] Е.А. Корниенко, С.С. Кубалова, М.А. Дмитриенко, И.Э. Джагацпаян. *Педиатрия*, **4** (1), 9 (2013).
- [10] M. Di Stefano, C. Mengol, M. Bergonzi, E. Pagani, G.R. Corazza. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, **17** (Suppl 2), 36 (2013).
- [11] A. Rezaie, M. Buresi, A. Lembo, H. Lin, R. McCallum, S. Rao et al. *Am. J. Gastroenterology*, **112** (5), 775 (2017). DOI: 10.1038/ajg.2017.46
- [12] H.F. Hammer, M.R. Fox, J. Keller, S. Salvatore, G. Basilisco, J. Hammer et al. *United European Gastroenterol. J.*, **10** (1), 15 (2022). DOI: 10.1002/ueg.2.12133
- [13] M. Pimentel, R.J. Saad, M.D. Long, S.S. Rao. *Am. J. Gastroenterol.*, **115** (2), 165 (2020). DOI: 10.14309/ajg.0000000000000501

- [14] A.I. Nadezhdinskii, Ya.Ya. Ponurovskii. *Quant. Electron.*, **49** (7), 613 (2019). DOI: 10.1070/QEL16776
- [15] A.I. Nadezhdinskii, Ya.Ya. Ponurovskii. *Phys. Wave Phenom.*, **26**, 169 (2018). DOI: 10.3103/S1541308X18030019
- [16] I.E. Gordon, L.S. Rothman, R.J. Hargreaves et al. *JQSRT*, **277**, 107949 (2020). DOI: 10.1016/j.jqsrt.2021.107949
- [17] М.А. Большов, Ю.А. Курицын, В.В. Лигер, В.Р. Мироненко, Я.Я. Понуровский. *Журн. аналит. химии*, **78** (10), 867 (2023). DOI: 10.31857/S0044450223100055
- [18] A.I. Nadezhdinskii, Y.Y. Ponurovskii. *Laser Phys.*, **33** (5), 55001 (2023). DOI: 10.1088/1555-6611/acc23d
- [19] B.A. Bolodurin, V.Yu. Korchak, A.V. Litvinov, A.A. Mikhailov, D.A. Nozdrya, Yu.V. Pomazan, D.V. Filipchuk, M.O. Etrekova. *Russian J. General Chemistry*, **88**, 2732 (2018). DOI: 10.1134/S1070363218120435
- [20] A. Litvinov, N. Samotaev, M. Etrekova, A. Ivanova, D. Filipchuk. *J. Electrochem. Soc.*, **168**, 017503 (2021). DOI: 10.1149/1945-7111/abd5fb
- [21] A. Shimouchi, K. Nose, M. Shirai, T. Kondo. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **737**, 245 (2012). DOI: 10.1007/978-1-4614-1566-4_36