

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ И ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ / PHYSICO-CHEMICAL AND GENERAL BIOLOGY

Оригинальная статья / Original article

УДК 616.33-018

DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-1-133-139

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ПРОЦЕССОВ ОБРАЗОВАНИЯ ГАЗООБРАЗНЫХ БИОМАРКЕРОВ ПРИ ПЕРСИСТИРОВАНИИ ИНФЕКЦИИ *Helicobacter pylori*

© М.А. Дмитриенко*, А.И. Гинак**

*ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики»,

Российская Федерация, 199034, г. Санкт-Петербург, 18-я линия В.О., д. 3, а/я 9.

**Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),

Российская Федерация, 190013, г. Санкт-Петербург, Московский проспект, д. 26.

*Цель – разработка основ биотехнологической модели процессов, происходящих в желудке человека при персистенции в нем колоний бактерии *Helicobacter pylori* (HP). Наблюдения *in vivo* проводились на двух группах обследуемых: у 10 добровольцев от 22 до 55 лет с известным HP-статусом изучались параметры ротовой жидкости до и после приема ими раствора карбамида. Кроме того, у 62 человек с неустановленным HP-статусом в возрасте от 5 до 64 лет была исследована активность уреалитической микрофлоры ротовой полости. Определение уровня аммиака проводилось линейно-колористическим методом (предел чувствительности 0,3 мг/м³) и с помощью градуированного электрохимического сенсора (предел чувствительности 1,4 мг/м³). Проведен анализ биохимических путей образования газообразного биомаркера – аммиака при ферментативном гидролизе нагрузочной дозы (500 мг) карбамида уреазой HP. Сопоставлением результатов выделения аммиака в ротовой полости и желудке и времени выхода аналита установлена лимитирующая стадия процесса – образование аммиака в желудке. Доказано наличие уреазопродукторов в ротовой полости и установлена необходимость учета их вклада в образование аммиака в результате побочных процессов гидролиза мочевины. Предложен механизм процесса образования аммиака и рассчитан его материальный баланс. На основе стандартной биосистемы бактерии *Helicobacter pylori* построена биотехнологическая модель процесса образования газообразного аммиака как биомаркера присутствия HP при диагностике заболеваний желудочно-кишечного тракта человека. Это позволяет строить аналитический алгоритм обнаружения персистенции бактерии и разрабатывать новые диагностические приборы.*

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, диагностика, аммиак, биомаркер, биотехнологическая модель.

Формат цитирования: Дмитриенко М.А., Гинак А. И. Биотехнологическая модель процессов образования газообразных биомаркеров при персистенции инфекции *Helicobacter pylori* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7, N 1. С. 133–139. DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-1-133-139

PROCESSES OF GASEOUS BIOMARKERS FORMATION IN PERSISTENT *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION – BIOTECHNOLOGICAL MODEL

© М.А. Dmitrienko*, А.И. Ginak**

*Association of Medicine and Analytics” Co. Ltd,

box 9, 3, 18 line V.O., Saint-Petersburg, 199034, Russia.

**St. Petersburg State Technological Institute (technical university),

190013, 26, Moskovsky prospect, Saint-Petersburg, 190013, Russia.

*To development a foundation of biotechnological process models occurring in the human stomach with the persistence of the *Helicobacter pylori* (HP) bacteria colonies. Observations *in vivo* were carried out on two groups of subjects: in 10 volunteers (22–55 years old) with known HP-status oral fluid parameters before and after ingesting a urea solution were studied. In addition, urease activity of urealiticum microflora of the oral*

cavity was investigated in 62 persons with unknown HP status (5 - 64 years old). Determining the level of ammonia was carried out by linearly coloristic method (detection limit 0.3 mg/m³) and by using a calibrated electrochemical sensor (detection limit 1,4 mg/m³). The biomarker pathways of ammonia resulted from the enzymatic hydrolysis of 500 mg urea by HP urease was analyzed. The levels of ammonia in mouth and stomach and the release time of the analyte were compared. The limit stage is the formation of ammonia in the stomach. The presence of urease producers in the oral cavity and the necessity of the addition of their products as a result of side reactions of urea hydrolysis were demonstrated. The process mechanism of ammonia forming and its mass balance were proposed. Based on the standard biosystem of *Helicobacter pylori*, a model of the derivation of gaseous ammonia as a biomarker of HP presence in the diagnosis of human gastrointestinal tract diseases was created. It allows an algorithm of analytical detection of the bacteria persistence to be built and the new diagnostic tools to be developed.

Key words: *Helicobacter pylori*, diagnostics, ammonia, biomarker, biotechnological model

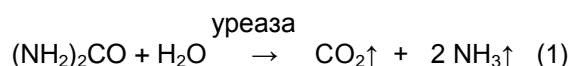
For citation: Dmitrienko M.A., Ginak A.I. Processes of gaseous biomarkers formation in persistent *Helicobacter pylori* infection – biotechnological model. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* [Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology]. 2017, vol. 7, no 1, pp. 133–139. DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-1-133-139 (in Russia)

ВВЕДЕНИЕ

Диагностика по газовым метаболитам (биомаркерам) – новое, стремительно развивающееся направление в медицине. Оно основано на идентификации летучих соединений, выделяемых человеком в процессе жизнедеятельности. Клиническое изучение патологических состояний человека в сопоставлении с химическим составом соединений, особенно аномальных, в выдыхаемом воздухе, позволяет развивать способы диагностики многих болезней.

Некоторые заболевания желудка – гастрит, дуоденит, язвенная болезнь желудка, рак желудка – этиологически связаны с персистенцией бактерии *Helicobacter pylori* (HP) [1].

Основной биохимической реакцией, позволяющей HP существовать в агрессивном окружении в желудке, является ферментативный гидролиз мочевины (карбамида). Реакцию катализирует уреазы (карбамид-аминогидралаза, ЕС 3.5.1.5, CAS 9002-13-5), продуцируемая бактериальными клетками HP. Под действием уреазы происходит гидролиз мочевины, всегда присутствующей в биологических жидкостях, с образованием щелочных продуктов (реакция 1):



Тем самым нейтрализуется сильноокислительное окружение в местах локализации колоний бактерий HP.

Проявление уреазной активности является биохимическим признаком наличия уреалитиков, при этом «самым мощным продуцентом уреазы в мире патогенных бактерий» является именно *H. pylori* [2]. В связи с этим биохимический метод диагностики хеликобактериоза по

продуктам реакции (1) занимает существенное место среди методов определения HP. Наиболее часто проводится определение по диоксиду углерода [3].

В основе рассматриваемого в настоящей статье метода лежит определение аммиака в качестве маркера присутствия HP. Знание механизма и кинетики происходящих в организме процессов позволяет предложить алгоритм аналитической процедуры и на этой основе разработать диагностические тесты, приборы и системы [4].

Цель данного исследования – построение биотехнологической модели процесса образования аммиака при персистенции инфекции HP.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Наблюдения *in vivo* проводили на двух группах обследуемых. Определение уровня аммиака в обеих группах осуществляли линейно-колористическим методом (предел чувствительности 0,3 мг/м³) и с помощью градуированного электрохимического сенсора (предел чувствительности 1,4 мг/м³). Статистическая обработка данных велась с помощью MS Excel, значимость различий оценивалась с помощью двухвыборочного t-критерия в случае несвязанных выборок и парного t-критерия (доверительная вероятность не менее 95%) при использовании одной и той же группы объектов.

I. У 10 добровольцев в возрасте от 22 до 55 лет (2 мужчин, 8 женщин) с известным HP-статусом изучали параметры ротовой жидкости до и после приема ими раствора карбамида.

Уровень pH ротовой жидкости, определенный натошак, составил $7,122 \pm 0,105$, $n = 10$. Полоскание водой не привело к достоверному смещению pH ($7,222 \pm 0,141$ и $7,330 \pm$

0,270, $n = 5$), в то время как чистка зубов с зубной пастой, свободной от карбамида, сместила уровень pH с $7,022 \pm 0,102$ до $7,172 \pm 0,158$; через 30 мин pH стал уже $7,282 \pm 0,157$, $n = 5$. В двух последних экспериментах различия статистически значимы.

Проглатывание 50 мл 1%-го раствора карбамида сдвинуло среднее значение pH в щелочную сторону, до $7,863 \pm 0,135$ ед., смещение осталось и после определения нагрузочного уровня, т.е. через 8 мин после приема карбамидной нагрузки, $7,465 \pm 0,121$, что также статистически значимо отличалось от начального уровня pH ротовой жидкости.

II. У 62 человек с неустановленным НР-статусом в возрасте от 5 до 64 лет была исследована активность уреалитической микрофлоры ротовой полости [5]. Каждый из обследованных получил подробные указания по процедурам подготовки и проведения анализа (прием нагрузочной пробы, прополаскивание ротовой полости, режим дыхания и т.п.).

Обследованные интенсивно прополаскивали рот 50 мл 1% раствора карбамида, после чего у них определялся уровень аммиака в ротовой полости. 57 из 62 чел. (92%) показали значимое повышение уровня аммиака – до 20 ppm и более. Доверительные интервалы для параметра биномиального распределения в этом случае составили $91,0 \pm 1,8\%$ при доверительной вероятности не менее 95% [5].

Обследование пациентов с хроническим гастритом [6] также показало, что у 9 из 16 обследованных пациентов (56%) уровень аммиака в воздухе ротовой полости после прополаскивания ее раствором карбамида увеличился. Для уменьшения погрешности, вносимой процессом гидролиза карбамида в ротовой полости, в процедуру метода была внесена стадия прополаскивания ротовой полости дистиллированной водой, а также было рекомендовано увеличить объем раствора нагрузки до 100 мл.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ротовая полость – это первая часть пищеварительного тракта, куда поступает пища. Внутренняя поверхность ротовой полости выстлана эпителием слизистой оболочки, увлажненным ротовой жидкостью. Согласно литературным данным, pH смешанной слюны обычно составляет 6,8–7,4, иногда приводится диапазон 5,25–8,00 [7, 8]. Колебания pH слюны у одного человека зависят от скорости секреции, гигиенического состояния полости рта, сопутствующих заболеваний, а также от принимаемой им пищи. В составе слюны могут находиться такие важные продукты обмена, как мочевина, ионы аммония, бактериальные уреазы, продуцируемые микрофлорой ротовой поло-

сти, а также вещества, оказывающие ингибирующее или промотирующее действие на ферменты. Прием раствора карбамида изменяет состав ротовой жидкости. В свою очередь, свойства ротовой жидкости обследуемого человека и состояние его ротовой полости также может оказывать влияние на результат анализа.

Полученные нами результаты согласуются с литературными данными о наличии уреазопродуцентов в ротовой полости [7], причем это могут быть как бактерии НР, так и другие уреалитики. Поэтому следует принимать во внимание возможность развития побочных процессов гидролиза мочевины за счет оральной уреазопродуцирующей микрофлоры.

Легко оценить теоретические количества аммиака, продуцируемого в ротовой полости. Специальными опытами было показано, что в ротовой полости из 100 мл нагрузочной пробы мочевины удерживается в среднем 4,3 мл, что составляет 4,3% от его общего количества [9]. При 100%-м гидролизе этот карбамид превращается в 0,72 ммоль аммиака.

Раствор карбамида находится в ротовой полости 1–2 с, далее поступает через пищевод в желудок. Таким образом, ротовую полость и пищевод при попадании в них жидкости можно рассматривать как реактор идеального вытеснения, в котором образуется не более 4,3% от теоретически возможного количества аммиака. В условиях минимального газообмена с внешней средой в ротовой полости газообразный аммиак превращается в ион аммония слюны и поступает в желудок.

В желудке же образуется 15,23 ммоль аммиака, который, ретроградно попадая в ротовую полость, будет ингибировать гидролиз карбамида оральной микрофлоры продуктом реакции [10], что дополнительно уменьшит влияние побочной реакции гидролиза карбамида в ротовой полости.

Основное место локализации НР в желудочно-кишечном тракте человека – желудок. С биотехнологической точки зрения желудок является реактором идеального смешения, где происходит процесс ферментативного гидролиза карбамида под действием уреазы НР. Тошачковый желудок не содержит жидкой и твердой пищи, которая может препятствовать движению раствора мочевины. Препятствием оказывается слой слизи, под которым располагаются бактерии НР. Для проникновения карбамида через нее к колониям НР требуется несколько секунд. Время диффузии зависит от толщины слоя слизи, эта величина с возрастом пациента увеличивается.

В случае, когда хеликобактерные клетки менее доступны и находятся в ямках, а также

если большинство бактериальных клеток существуют в кокковой форме из-за неблагоприятных для НР условий (например, при значении рН меньше 2 или больше 8, воздействии антибиотиков, антацидов, крепкого алкоголя и т.д.), транспортная стадия удлиняется.

Следующий процесс – адгезия карбамида на мембране НР, где и содержится большая часть уреазы.

Примерное суммарное время, необходимое для транспортировки карбамида, составляет 1–2 мин. Оно складывается из времени, требуемого на проглатывание раствора карбамида и стекание его по пищевой трубке, далее – на распространение его по поверхности желудка, проникновение под слой слизи, частично – в ямки слизистой оболочки желудка, где также находятся клетки НР, а затем – на диффузию в периплазматическое пространство бактерии.

При всей существенности стадии транспортировки карбамида, определяющим процессом, несомненно, является каталитический гидролиз мочевины в присутствии уреазы НР. Реакция протекает по двухсубстратному механизму, субстратами являются вода и карбамид.

При этом активный центр уреазы может образовывать как тройной фермент-субстратный комплекс сразу с двумя субстратами (ES_1S_2), так и последовательно комплексы сначала с одним, а затем с другим субстратом, разделенные каким-либо необратимым химическим превращением [11]. Второй путь представляется нам более реальным по причине малой вероятности образования тройного комплекса. Так как при гидролизе карбамида оба субстрата находятся в избытке, можно считать, что реакция протекает в стационарном режиме.

Транспортирование газообразного аммиака детально описано и подтверждено моделированием процесса [12]. Согласно стехиометрическому уравнению и материальному балансу при 100%-м превращении карбамида, в желудке образуется 15,23 ммоль аммиака и 7,62 ммоль углекислого газа, что составляет в целом 511,5 мл газовой фазы. Часть аммиака растворяется в желудочном соке, объем которого обычно составляет от 50 до 150 мл. Потери аммиака за счет растворения не превышают 3 ммоль.

При этом значение рН на поверхности слизистой оболочки желудка (СОЖ) смещается в щелочную сторону, достигая нейтральных значений 5–6 единиц рН.

Местоположение основной части колоний уреазопродукторов определяет время прохож-

дения реакции гидролиза карбамида и, как результат, время выхода продуктов реакции [13]. Таким образом, кинетика образования метаболитов позволяет определить локализацию уреазопродукторов, а также дифференцировать уреалитиков ротовой полости от целевых уреалитиков желудка, в частности, персистирующих там бактерий НР.

Образовавшиеся в ходе ферментативного гидролиза продукты выводятся из желудка по разным механизмам: диоксид углерода, по видимому, попадает в кровоток, переносится с кровью в легкие и удаляется с выдыхаемым воздухом.

Аммиак частично переходит в ионную форму, но преимущественно выходит из желудка ретроградно, через пищевод в ротовую полость. Экспериментальное подтверждение этого процесса было получено нами неоднократно [6, 13], показана также теоретическая возможность такого выхода [14].

Сочетая теоретические установки, результаты моделирования отдельных этапов *in vitro* и экспериментальные подтверждения, полученные *in vivo*, можно построить модель происходящих процессов.

В норме, т.е. у практически здорового человека, уровень аммиака в выдыхаемом воздухе не превышает фоновых значений ($0,5\text{--}1,0\text{ мг/м}^3$). При появлении сбоев в орнитинном цикле мочевины (цикле Кребса-Хенселейта) и патологии в утилизации NH_3 , образующегося в организме млекопитающих во многих биохимических процессах, содержание аммиака в выдыхаемом воздухе увеличивается, достигая $2000\text{--}3000\text{ ppb}$ ($1,4\text{--}2,1\text{ мг/м}^3$). Сбои могут быть в реакциях катаболизма аминокислот или синтеза мочевины в печени, а также при метаболическом ацидозе или других нарушениях экскреции мочевины.

Сравнение уровня аммиака в выдыхаемом человеком воздухе с показателями нормы позволяет судить о наличии патологических процессов в печени или почках, для определения инвазии НР необходимо спровоцировать образование аммиака в реакции ферментативного катализа уреазой бактерии [15].

Концентрация аммиака в воздухе ротовой полости $[\text{NH}_3]_{\Sigma}$ (рисунок) складывается из четырех компонентов:

$$[\text{NH}_3]_{\Sigma} = [\text{NH}_3]_{\text{ex}} + [\text{NH}_3]_{\text{eq}} + [\text{NH}_3]_{\text{or}} + [\text{NH}_3]_{\text{es}}, \quad (2)$$

где $[\text{NH}_3]_{\text{ex}}$ – экзогенный аммиак, поступающий со вдыхаемым воздухом; $[\text{NH}_3]_{\text{eq}}$ – равновесный аммиак, образующийся из находящегося в биологических жидкостях иона аммония.

Ротовая полость

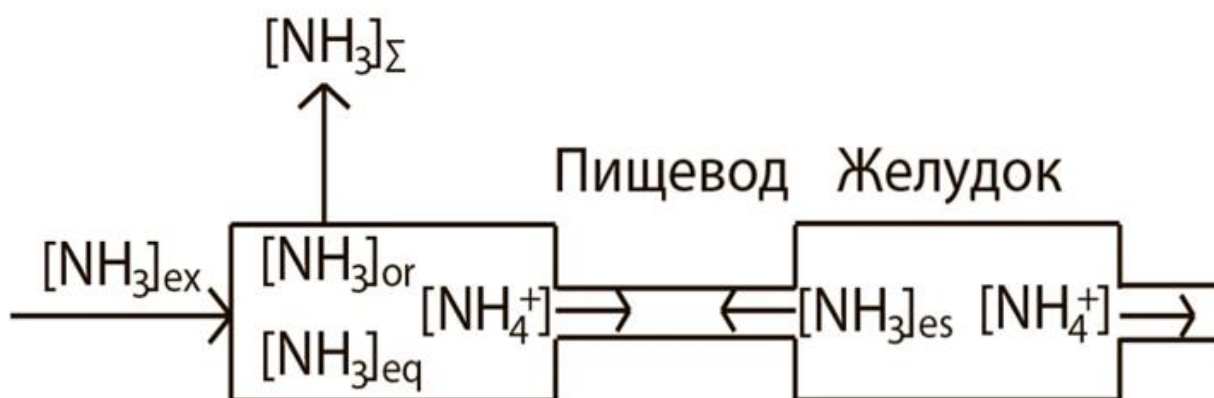
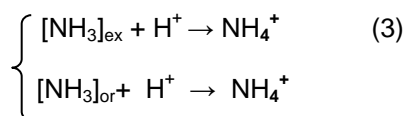


Схема образования аммиака в верхних отделах ЖКТ

$\text{NH}_4^+; [\text{NH}_3]_{\text{or}}$ – аммиак, образующийся при гидролизе мочевины уреалитической микрофлорой орофарингеальной области; $[\text{NH}_3]_{\text{es}}$ – аммиак, поступающий в ротовую полость через пищевод из желудка в результате гидролиза мочевины желудочной уреалитической микрофлорой

При этом в ротовой полости протекают следующие реакции (3), выводящие аммиак из газовой фазы:



Ротовая жидкость с растворенным в ней аммиаком поступает в желудок.

Суммарный уровень аммиака $[\text{NH}_3]_{\Sigma}$ в ротовой полости является величиной динамической, зависящей от уровня pH ротовой жидкости; концентрации NH_4^+ и мочевины в ротовой жидкости; наличия уреалитической микрофлоры в ротовой полости и проявляемой ею уреазной активности; температуры ГВС в ротовой полости; степени вентилируемости ротовой полости и др.

Для целей диагностики инфекции НР имеет значение аммиак $[\text{NH}_3]_{\text{es}}$, поступающий в

ротовую полость из желудка после гидролиза в нем порции мочевины бактериальной уреазой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе стандартной биосистемы бактерии *Helicobacter pylori* проведен анализ биохимических путей образования газообразного биомаркера – аммиака при ферментативном гидролизе нагрузочной дозы 500 мг карбамида уреазой НР. Сопоставлением результатов выделения аммиака в ротовой полости и в желудке, а также времени выхода аналита, установлена лимитирующая стадия процесса – образование аммиака в желудке.

Доказано наличие уреазопродукторов в ротовой полости и установлена необходимость учета их вклада в образование аммиака в результате побочных процессов гидролиза мочевины.

Предложен механизм процесса образования аммиака и рассчитан его материальный баланс.

Таким образом, построенная биотехнологическая модель процесса образования газообразного аммиака как биомаркера присутствия НР позволяет строить алгоритм обнаружения персистенции бактерии и разрабатывать диагностические приборы.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Хомерики С.Г., Касьяненко В.И. Лабораторная диагностика инфекции *Helicobacter pylori*. СПб.: ООО «АМА», 2011. 110 с.
2. Жебрун А.Б. Инфекция *Helicobacter pylori*. СПб.: Феникс, 2006. С. 380.
3. Holton J., Figura N., Vaira B. *Helicobacter pylori*. An Atlas of Investigation and Management.

Oxford: Clinical Publishing, 2012. 152 p.

4. Dmitrienko M., Parolova N. Invasive and non-invasive biochemical tests for *Helicobacter pylori* diagnosing // *Helicobacter*. 2016. V. 21, N 1. P. 98.

5. Быков С.Э., Быков А.С., Дмитриенко М.А. Исследование активности оральной уреазы

литической микрофлоры // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2014. N 2 (102). С. 69а.

6. Baryshnikova N.V., Uspensky Y.P., Smirnova A.S., Dmitrienko M., Bykov S. Helicobacter pylori in oral cavity in patients with chronic gastritis // *Helicobacter*. 2012. V. 17 (Suppl.1). P. 90.

7. Вавилова Т.П. Биохимия тканей и жидкостей полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 208 с.

8. Андреева Т. Б. Опыт изучения функции больших слюнных желез человека // *Стоматология*. 1965. N 2. С. 14–18.

9. Быков С.Э., Быков А.С. Уреазная активность оральной микрофлоры // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2014. N 3 (103). С. 61–66.

10. Уэбб Л. Ингибиторы ферментов и метаболизма. Общие принципы торможения. М.: Мир, 1966. 863 с.

11. Варфоломеев С.Д., Пожитков А.Е. Активные центры гидролаз: основные типы структур и механизм катализа // *Вестник Моск.*

ун-та. 2000. Сер. 2. Химия. Т. 41, N 3. С. 147–156.

12. Быков А.С., Быков С.Э., Барышникова Н.В., Гинак А.И. Модель транспорта аммиака из желудка в ротовую полость при гидролизе карбамида в присутствии гастральной уреазы // *Практическая медицина*. 2014. 1 (77). С. 133–137.

13. Быков А.С., Быков С.Э., Гинак А.И. Трансэзофагеальный метод неинвазивной диагностики хеликобактериоза // *Практическая медицина*. 2014. 3 (79). С.166–168.

14. Быков А.С., Быков С.Э., Гинак А.И. Некоторые вопросы применения неинвазивных диагностических тестов на хеликобактериоз по составу воздуха ротовой полости // *Известия СПбГТИ (ТУ)*. 2014. N 24 (50). С. 49–52.

15. Дмитриенко М.А., Дмитриенко В.С., Корниенко Е.А., Паролова Н.И., Коломина Е.О., Аронова Е.Б. Основные биохимические и клинические аспекты неинвазивного теста ХЕЛИК // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2016. N 8 (132). С. 75–81.

REFERENCES

1. Khomeriki S.G., Kas'yanenko V.I. *Laboratornaya diagnostika infektsii Helico-bacter pylori [Laboratory diagnostics of Helicobacter pylori infection]*. Saint-Petersburg, AMA Co Ltd, 2011, 110 p.

2. Zhebrun A.B. *Infektsiya Helicobacter pylori [Helicobacter pylori infection]*. Saint-Petersburg, Fenix Publ., 2006. 380 p.

3. Holton J., Figura N., Vaira B. *Helicobacter pylori. An Atlas of Investigation and Management*. Oxford: Clinical Publishing, 2012. 152 p.

4. Dmitrienko M., Parolova N. Invasive and non-invasive biochemical tests for *Helicobacter pylori* diagnosing. *Helicobacter*. 2016. V. 21, N 1. p. 98.

5. Bykov S.E., Bykov A.S., Dmitrienko M.A. Study of oral urealiticum microflora activity. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya* [Experimental and clinic gastroenterology]. 2014. vol. 102, no. 2, p.69a. (in Russian)

6. Baryshnikova N.V., Uspensky Y.P., Smirnova A.S., Dmitrienko M., Bykov S. Helicobacter pylori in oral cavity in patients with chronic gastritis. *Helicobacter*. 2012. V. 17 (Suppl.1). p. 90.

7. Vavilova T.P. *Biokhimiya tkanei i zhidkosti polosti rta: [Biochemistry of mouth cavity's tissues and liquids: tutorial]*. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2008. 208 p.

8. Andreeva T. B. Assignment of human major salivary glands study. *Stomatologiya* [Stomatology]. 1965. No. 2. pp. 14–18. (in Russian)

9. Bykov S.E., Bykov A.S. A Study of urease activity of mouth cavity microflora. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya* [Experimental and clinic gastroenterology]. 2014.

vol. 103, no. 3, p.61-66. (in Russian)

10. Webb L. *Enzyme and metabolic inhibitors. General principles of inhibition*. Academic Press, 1963, 1060 p. (Russ. ed.: Uebb L. *Ingibitory fermentov i metabolizma. Obshchie printsipy tormozheniya*. Moscow, Mir Publ., 1966. 863 p.)

11. Varfolomeev S.D., Pozhitkov A.E. Hydro-lases active sites: basic types of structures and catalysis mechanism. *Vestnik Mosk. un-ta Ser. 2. Khimiya* [Moscow University Chemistry Bulletin]. 2000. vol. 41, no. 3. pp. 147–156. (in Russian)

12. Bykov A.S., Bykov S.E., Baryshnikova N.V., Ginak A.I. Model of transport of ammonia released during urea hydrolysis in the presence of gastric urease from the stomach to the mouth cavity. *Prakticheskaya meditsina* [Practical medicine]. 2014. vol.77. no.1, pp. 133–137. (in Russian)

13. Bykov A.S., Bykov S.E., Ginak A.I. Transesophageal technique of the non-invasive diagnostics for Helicobacter pylori contamination. *Prakticheskaya meditsina* [Practical medicine]. 2014. vol.79. no.3, pp.166-168. (in Russian)

14. Bykov A.S., Bykov S.E., Ginak A.I. Some questions of usage of non-invasive diagnostic tests for helicobacteriosis by composition of mouth cavity air. *Izvestiya SPbGTI* [Bulletin of SPSIT(TU)]. 2014. no. 24 (50). pp. 49–52. (in Russian)

15. Dmitrienko M.A., Dmitrienko V.S., Kornienko E.A., Parolova N.I., Kolomina E.O., Aronova E.B. Key biochemical and clinical aspects of non-invasive HELIC test. *Ekspierimental'naya i Klinicheskaya gastroenterologiya* [Experimental and clinic gastroenterology]. 2016. vol. 132, no. 8, pp. 75–81. (in Russian)

Критерии авторства

Дмитриенко М.А., Гинак А.И. сформулировали цели и задачи, выполнили экспериментальную работу (кроме [5]), на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Дмитриенко М.А., Гинак А.И. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Принадлежность к организации

Марина А. Дмитриенко

ООО «Ассоциация Медицины
и Аналитики»
Российская Федерация, 199034,
г. Санкт-Петербург, 18-я линия В.О.,
д.3, а/я 9.
К.т.н., генеральный директор
m_dmitrienko@amamed.ru

Анатолий И. Гинак

Санкт-Петербургский государственный
технологический институт
(технический университет),
Российская Федерация, 190013,
г. Санкт-Петербург, Московский проспект, д.
26
Д.х.н., академик РАЕН, профессор кафедры
молекулярной биотехнологии
mbt@liti-gti.ru

Поступила 15.02.2017

Contribution

Dmitrienko M.A., Ginak A.I. have formulated purpose and objectives, carried out the experimental work (except [5]), on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Dmitrienko M.A., Ginak A.I. have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

AUTHORS' INDEX
Affiliation

Marina A. Dmitrienko

“Association of Medicine and Analytics” Co.
Ltd.
box 9, 3, 18 line V.O., Saint-Petersburg,
199034, Russian Federation
PhD, SciD, CEO, m_dmitrienko@amamed.ru
m_dmitrienko@amamed.ru

Anatolii I. Ginak

St. Petersburg State Technological Institute
(technical university),
Molecular biotechnology department
190013, 26, Moskovsky prospect, Saint-
Petersburg, 190013, Russian Federation
PhD, SciD, member of Russian Academy of
Natural Science, professor, mbt@liti-gti.ru
mbt@liti-gti.ru

Received 15.02.2017