

УДК 577.112.825.083.3:612.017.1:616-097.3-056.43  
DOI 10.20538/1682-0363-2016-1-69-78

## СОВРЕМЕННЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ПИЩЕВОЙ НЕПЕРЕНОСИМОСТИ

Розенштейн М.Ю.<sup>1</sup>, Розенштейн А.З.<sup>1</sup>, Кондаков С.Э.<sup>2</sup>, Черевко Н.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Клиника *ImtinoHealth Int.*, г. Нью-Йорк (США)

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва

<sup>3</sup> Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

### РЕЗЮМЕ

Представлен обзор современных лабораторных методов диагностики пищевой непереносимости. Обсуждаются достоинства и недостатки различных критериев (маркеров), используемых для выявления пищевой непереносимости в различных инструментальных тестах. Показано, что методы, основанные на исследовании реакции специфических антител к тестируемым пищевым антигенам, наиболее точны, надежны и представительны для диагностики пищевой непереносимости с целью использования в практической медицине.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** пищевая непереносимость, cito-тест, prime-тест, ALCAT, NuTron-тест, гемокод, РОЭ-тест, MRT-тест, ИФА на IgG (IgG4), pinnet-тест.

### Введение

Нарушение иммунологической толерантности к любому пищевому продукту ведет к появлению пищевой непереносимости (ПН), потенциально проявляющейся совокупностью замедленных иммунопатологических реакций в иммунной системе (ИС) на соответствующие пищевые антигены (пАГ) [1–3]. По определению, патогенез ПН реализуется с участием цитотоксического, клеточно-опосредованного и иммунокомплексного типов иммунопатологических реакций, развивающиеся в особых условиях дозозависимого поступления пАГ во внутреннюю среду организма, исключая реакции I типа классической аллергии, которые опосредуются иммуноглобулинами класса E [4]. Длительное поступление и контакт подобных пАГ с иммунокомпетентными клетками приводят к хроническому воспалению и, как следствие, к развитию ряда неинфекционных персистирующих заболеваний (НПЗ), известных как «болезни цивилизации» [5]. По современным литературным данным, до 80% населения развитых стран имеет различные виды ПН [6, 7].

Современные инструментальные методы диагностики ПН перенесены в условия *in vitro* лабораторной диагностики. Цель различных методов одина:

выявление пищевых антигенов-антагонистов, являющихся потенциальной причиной иммунологического хронического воспаления в патогенезе НПЗ. Практическая значимость таких методик сводится к формированию элиминационных диет для пациентов с НПЗ как нефармакологического метода терапии [8–12].

Основной трудностью, с которой сталкиваются врачи-клиницисты, использующие результаты диагностики ПН для построения элиминационных диет, является то, что вне зависимости от метода диагностики ПН практически стандартом является представление конечных результатов диагностических мероприятий в виде «красно-желто-зеленого» или «красно-зеленого» списка продуктов, подлежащих избирательному исключению из рациона на срок 3–6 мес.

Врачам-клиницистам, не являющимся специалистами в лабораторной диагностике, сложно разобраться в правомерности и диагностической значимости многочисленных коммерческих методик диагностики ПН при отсутствии четко установленных понятий и критериев оценки. Понимание этого позволит сравнивать результаты тестирования ПН разными методами, использованными для одного пациента, судить об объективности математической модели представления результатов, критериях оценки эффективности соблюдения элиминационной диеты и адекватности полученных результатов и границах их применимости.

✉ Черевко Наталья Анатольевна, e-mail: [chna@0370.ru](mailto:chna@0370.ru)

Известно, что классическая диетология основана на подсчете калорий, комбинаторном подборе нутриентов, выработке физиологических норм питания и общих рекомендациях, формирующих «пирамиды» и «тарелки» питания для всех вне зависимости от конкретного человека. Иммунодиетология предлагает иной инструментарий, базирующийся на принципах оценки пищевой антигенности с учетом индивидуальной иммунологической толерантности к пищевому антигену и возможностью формирования элиминационной диеты нового типа. Результатом является исключение иммунологического воспаления, опосредованного диагностированными агрессивными пищевыми антигенами на территории лимфоидной системы кишечника, способного трансформироваться в системное воспаление. Несмотря на ряд нерешенных методологических вопросов, более чем 50-летний опыт применения для пациентов элиминационных диет, предложенных по результатам тестирования ПН, показал несомненную клиническую эффективность и перспективность данного направления в лечении большинства неинфекционных персистирующих заболеваний.

Целью работы является аналитический обзор и попытка классификации современных методов диагностики ПН по принципу селекции используемых маркеров с представлением общего подхода к пониманию, интерпретации и возможности практического использования врачами результатов тестирования. Все современные инструментальные тесты на ПН можно условно разделить на два типа: клеточные (исследование изменения клеток крови) и гуморальные (исследование антител), которые отличаются выбором маркера, характеризующего взаимодействие ПАГ с объектом исследования.

Исторически клеточные тесты (КТ) были первыми технологическими тестами, внедренными в клиническую практику по ПН. Методология КТ сводится к оценке изменений морфологии или метрических характеристик лейкоцитов крови (распределения по размерам, объемам, повреждениям) после взаимодействия с ПАГ по сравнению с референтным образцом крови без добавления антигена.

Лейкоциты являются клетками-мишенями 2-го типа иммунопатологических реакций на различные антигены: пищевые, лекарственные, бактериальные, аутоантигены. Данные взаимодействия с ПАГ на мембране лейкоцитов вероятны и обоснованы наличием рецепторов к Fc-фрагментам специфических антител IgG и IgM, которые и фиксируются на рецептор в виде иммунного комплекса ПАГ+АТ. Далее иммунный комплекс активирует систему комплемента, которая и приводит к антитело-зависимому специфическому нарушению морфологии и цитолизу лейкоцита [4]. Рассмотрим основные методологические принципы, лежащие в основе конечной оценки КТ на ПН.

**Cito-тест** – практически первый технологический метод диагностики ПН. Был разработан в 1960-х гг. В.Т. Брайан и М.П. Брайан [13, 14] и получил название лейкоцитотоксический тест (цитотоксический тест). В основе теста лежит исследование морфологии лейкоцитов и эритроцитов в образцах крови *in vitro*, смешанных с ПАГ. Инструментом для исследования является микроскоп, регистратором – человеческий глаз. Физическими параметрами, определяемыми в процессе тестирования, являются абсолютное число поврежденных клеток крови (лейкоцитов, эритроцитов) и относительный размер локальной области зоны наблюдения, заполненной измененными клетками крови в пределах поля зрения микроскопа [15].

**Prime-тест** был разработан М. Ловендал в США в 1996 г. в Preventive Care Center (Калифорния), является технологической модификацией cito-теста [16]. Выделенную область в поле зрения микроскопа разделяют на четыре равные части и подсчитывают количество поврежденных клеток крови в каждом поле зрения микроскопа.

При количестве поврежденных лейкоцитов, занимающих менее одной четверти выделенного поля, или отсутствии морфологических изменений лейкоцитов данный ПАГ считается непатогенным. При количестве поврежденных клеток, занимающих менее двух четвертей поля, продукт обладает малой патогенной способностью. При количестве поврежденных лейкоцитов, занимающих три четверти или все поле зрения, продукт считается средне- или сильнопатогенным и подлежит исключению из рациона пациента при формировании элиминационной диеты.

В цитотоксических КТ для обработки выходных данных используется 4-зональная модель классической аллергологии [17, 18]. В соответствии с данной моделью диапазон измерений 0–1,0 разбивается на четыре равных поддиапазона: (обозначения зон: 0,25; 0,5; 0,75; 1,0) и критерий «норма – патология» соответствует 0,5 шкалы измерений.

Преимуществом цитотоксических тестов являются простота и дешевизна инструментария, возможность исследования процессов взаимодействия образцов крови с любыми химическими субстанциями, а также возможность наблюдения последствий эффектов взаимодействия ПАГ с различными клетками крови.

К недостаткам относятся: субъективизм зрительной оценки исследователя-лаборанта, отсутствие достоверности специфического взаимодействия объектов опыта, длительное время одного анализа, невозможность одновременной оценки реакций по истечению контрольного времени инкубации с несколькими ПАГ, низкая повторная воспроизводимость результатов и их ручная обработка, невозможность доставки крови из удаленных мест проживания пациентов в лабораторию и ограниченные сроки хранения крови.

**Тест ALCAT** (antigen leukocyte antibody test) был разработан в American Medical Testing Laboratories

в США в 1990-х гг., в настоящее время маркируется на мировом рынке компанией Cell Science Systems (ALCAT Diagnostic Systems) [19–21]. Технологической разновидностью ALCAT является NuTron-тест [22]. В тесте ALCAT автоматизирован подсчет конечных маркеров реакций 2-го типа взаимодействия клеток крови и пАГ: линейных размеров или распределения по размерам лейкоцитов по результатам взаимодействия образца крови с пАГ. Образец цельной крови собирают в пробирку, содержащую цитрат для предотвращения свертывания. Цитратную кровь хранят при комнатной температуре в течение 36 ч. Равные количества суспензии крови распределяют в нескольких кюветах, содержащих экстракты тестируемых продуктов и контрольные образцы. Суспензии крови с экстрактами отсасывают из каждой кюветы с помощью вакуумного насоса и пропускают через модифицированный счетчик Коултера, в котором осуществляется определение размеров и объема частиц по аналогу с известными принципами проточной цитометрии [23]. Регистрация размеров клеток основана на изменении электрического сопротивления цепи при движении в ламинарном потоке через малую диафрагму. Компьютерная программа позволяет получать распределение клеток по размерам и вычислять все статистические моменты распределений до и после взаимодействия образцов крови с пАГ. Определение критерия «норма – патология» производится следующим образом:

- вычисляется среднее значение отклонения  $\Delta c$  размера клеток крови в образцах крови с пАГ по сравнению с образцом крови без пАГ;

- при величине отклонения среднего размера клеток в  $i$ -м образце крови с тестируемым пАГ  $\Delta i$  меньше, чем  $\Delta c$  ( $\Delta i < \Delta c$ ), реакция считается негативной (продукт попадает в «зеленый список»);

- при значении  $\Delta i$ , находящемся в пределах одного стандартного отклонения выше среднего, результат теста обозначается 1+ и рассматривается в качестве слабой реакции на тестируемый продукт;

- при значении  $\Delta i$ , находящемся в пределах между одним и вторым стандартным отклонением выше среднего, результат теста обозначается 2+ и рассматривается как положительная реакция на тестируемый продукт;

- при значении  $\Delta i$ , находящемся в диапазоне выше двух стандартных отклонений от среднего, результат теста обозначается MPOS и рассматривается как сильно выраженная, положительная реакция.

Таким образом, в тесте ALCAT, как и в cito-тестах обработка данных производится по 4-зональной модели с обозначениями зон: 0, 1+, 2+, MPOS. Критерий «норма – патология» определяется по уровню 0,5 шкалы измерений.

Тест ALCAT имеет европейские сертификаты ISO N13485:2003, ISO N13485:2003.

К недостаткам теста относятся: низкая воспроизводимость результатов, длительное время

единичного анализа, отсутствие возможности исследования динамики ПН (графическое сравнение результатов тестирования до и после элиминационной диеты), невозможность доставки цитратной крови из удаленных мест проживания пациентов в лабораторию и ограниченные сроки хранения крови.

**Гемокод.** Тест разработан в НИИ биомедицинской химии им. В.И. Ореховича РАМН (г. Москва) [24]. Метод основан на регистрации и оценке изменения функциональной активности клеток крови (в частности мембранных процессов перекисного окисления липидов и образования активных форм кислорода) в присутствии пАГ по интенсивности хемилюминесценции. Клинические исследования диагностической значимости гемокода на кафедре гастроэнтерологии и диетологии Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования показали неудовлетворительные результаты [25]. Чувствительность метода оказалась равной 44%; специфичность (надежность) – 32%. Авторами исследования сделано однозначное заключение: метод диагностики ПН «Гемокод» не готов к использованию в клинической практике и требует дальнейшего изучения.

**Тест реакции оседания эритроцитов (РОЭ), РОЭ-тест,** на ПН был разработан группой российских ученых и врачей в 1994–1995 гг., запатентован в РФ в 1998 г. и одобрен Минздравом РФ [26–29].

Основан на физиологической защитной функции эритроцитов крови связывать и элиминировать патологические иммунные комплексы (АГ+АТ) из кровотока за счет специфической фиксации их мембранным Fc $\gamma$ -рецептором к IgG и CR1-рецептором к C3b-компоненту комплемента. Конечным маркером теста является разница в положениях границы раздела сыворотки и плотной фракции крови (эритроцитов), регистрируемой в капилляре с кровью, смешанной с экстрактом продукта (пАГ в физиологическом растворе) и без него, в процессе реакции осаждения эритроцитов крови.

Референтным значением является положение границы раздела в капилляре с кровью без пищевого экстракта. Так как феномен оседания эритроцитов является критерием острого и хронического воспаления в медицине, то самым серьезным недостатком РОЭ-теста для диагностики ПН является смещение результатов РОЭ у пациентов с наличием системных заболеваний, беременных и пациентов, получающих противовоспалительную стероидную и нестероидную терапию, а также лечение, связанное с контролем свертывающей системы крови. Также к недостаткам РОЭ-теста можно отнести невысокую воспроизводимость результатов, отсутствие возможности исследования динамики ПН (графическое сравнение результатов тестирования до и после элиминационной диеты) и общие недостатки для всех клеточных тестов – невозможность доставки цитратной крови из удаленных мест

проживания пациентов в лабораторию и ограниченные сроки хранения крови.

**Тест MRT** (mediator release nest) был разработан в 2004 г. в Oxford Biomedical Technologies Inc. (США) [30–32]. В тесте методом проточной цитометрии с использованием рассеивания лазерного излучения на клетках крови измеряется размер лейкоцитов и отношение объемов сыворотки  $V_2$  к плотной фракции крови  $V_1$  ( $V_1 + V_2 = V_3 = const$ ) до и после внесения экстракта продукта (раствора пАГ) в кювету с кровью. Референсным является отношение объема сыворотки  $V_2$  к плотной фракции крови  $V_1$  без добавок в кювету с кровью. Обработка данных ведется согласно 4-зональной модели. По данным авторов отмечаются высокая чувствительность 94,5%, специфичность 91,1% и воспроизводимость 90,0% результатов MRT-теста.

К недостаткам MRT-теста относятся отсутствие возможности исследования динамики ПН (графическое сравнение результатов тестирования до и после элиминационной диеты) и традиционная невозможность хранения и перевозки образцов крови пациентов на дальнее расстояние от лаборатории. В настоящее время основным методом определения реакции взаимодействия антиген – антитело стал иммуноферментный вариант анализа, обозначаемый английским термином ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), широко признанный в аллергологии и иммунологии в качестве базовой оценки иммунологических реакций антиген – антитело с высокой избирательностью, воспроизводимостью и специфичностью [2, 3, 36].

В иммуноферментных тестах (ИТ) маркером диагностики является величина концентрации  $c$  (мг/мл) специфических иммуноглобулинов класса G (IgG) или подкласса G4 (IgG4) [33]. Выбор данных маркеров основан на знаниях иммунологических механизмов поддержания гомеостаза основных систем жизнеобеспечения человека. Любой чужеродный антиген после распознавания ИС потенцирует синтез специфических антител G, определяя собственный путь элиминации из организма. По разным причинам недорасщепленные до мономеров пАГ путем транцитоза попадают в компорты системы кишечника и нарушают механизмы индуцированной высокодозовой толерантности. В условиях нарушения толерантности, связанной с изменением полноценности пищеварения антигена (нарушением ферментативных систем), изменением дозы и частоты его поступления, активируется синтез всех подклассов (1, 2, 3, 4) защитных антител IgG. Некоторые авторы считают, что основную роль контроля элиминации пАГ в условиях физиологически запрограммированной толерантности к пищевым антигенам играют антитела субкласса IgG4, но достоверных данных, подтверждающих эти представления, не приводится. Для элиминации повышенного количества пАГ с нарушенными свойствами запускается защитный механизм обра-

зования иммунных комплексов с синергизмом процессов тканевого фагоцитоза [4].

Отметим, что специфические IgG составляют 75–80% от всех иммуноглобулинов и 10–20% общего белка сыворотки крови. Нормальные границы концентраций общего IgG в крови составляют 7,0–16,0 г/л, а его подклассов: IgG1 4,9–11,4 г/л; IgG2 1,5–6,4; IgG3 0,2–1,1; IgG4 0,08–1,4 г/л [34, 35]. Период полураспада IgG в условиях отсутствия специфического антигена составляет около 23–25 сут, полный распад растягивается на 3–6 мес.

В ИТ сыворотка крови пациента инкубируется в лунках стандартной иммунологической панели с сорбированными в 96 лунках пАГ [37]. Специфические IgG-антитела связываются с гомологичным пАГ, неспецифические антитела удаляются при тщательной промывке. Связанные специфические антитела распознаются добавляемыми в систему вторыми антителами к гомологичным у человека тяжелым цепям IgG, конъюгированным с ферментом пероксидаз.

Далее производится инкубация с раствором субстрата для фермента и хромогена, окисляемым в процессе проведения реакции (в настоящее время наиболее распространен тетраметилбензидин (ТМБ)), что приводит к появлению окраски раствора. Для остановки ферментативной реакции применяют «стоп-реагент» (обычно серную кислоту), который добавляют во все исследуемые и контрольные пробы в равных количествах. Оптическая плотность образцов измеряется спектрофотометрически на длине волны 450 нм (для красителя ТМБ). Концентрация специфических IgG-антител пропорциональна измеряемой интенсивности окрашивания или оптической плотности (ОП) раствора.

Необходимо отметить, что в иммунологических тестах измеряются безразмерные величины ОП. Размерность концентраций специфических антител (мг/мл) вводится при линеаризации экспериментальных данных на основе калибровочной кривой, строящейся в координатах  $c$  (IgG) $_i$ , мг/мл, – ОП $_i$ , где  $c$  (IgG) $_i$  – ряд известных  $i$ -х значений концентраций IgG [38]. В подавляющем большинстве лабораторий мира результат теста (ELISA IgG) обрабатывается согласно принятой в аллергологии 4-зональной модели аналогично тесту ELISA IgE на классическую аллергию немедленного типа (иммунопатологические реакции I типа) [34, 35, 39]. Критерий «норма – патология» определяется на уровне половины диапазона шкалы измерений для 4-зональной модели или по усмотрению конкретной лаборатории в 7-зональной модели.

Как показали собственные исследования авторов на статистически представительных выборках пациентов, обработка данных ИФА на IgG по зональным моделям с произвольно выбранным значением критерия «норма – патология» приводит к 100%-й ошибке в определении продуктов-антагонистов в 30 случаях из 100 и к 70%-й ошибке в 50 случаях из 100. Эти данные не могут не сказываться на результатах лечения элиминационными диета-

ми, построенными по результатам теста. В строгой интерпретации результат теста (ELISA IgG), представляющий собой модель интегральной IgG-реакции иммунной системы конкретного человека на разное количество тестируемых ПАГ, должен рассматриваться как цельный персонифицированный иммунный ответ (IgG)*n* и математически корректно обрабатываться в соответствии с подходом, предложенным авторами, вне зависимости от используемых коммерческих тест-систем [12, 40, 41].

В настоящее время ИФА на ПН, основанный на определении специфических IgG, является наиболее широко используемым тестом в международной клинической практике. На рынке РФ данный вид теста предлагается под различными коммерческими брендами, отличающимися по большей части используемыми наборами ПАГ и ценой: «Имупро300» (Германия), «Биомерика» (США), «Инвитро» (РФ), «Иммунохелс» (РФ), «Алутест» (РФ), «Д-р Фуке» (Германия), G-test и др. К данному типу анализа относится модификация *york test*, известная как **pinner-тест**, в которой вместо стандартной панели используется микроформатный вариант ELISA IgG [37].

К достоинствам теста ELISA IgG относятся: высокая чувствительность 92–95%, специфичность 86–89%, воспроизводимость 95–97%, возможность исследования динамики изменений состояний ИС до и после элиминационной диеты [42, 43]; возможность работы с микроколичествами (менее 5,0 мкл) сыворотки, сохранения сыворотки без потери качества анализа в течение длительного времени в замороженном виде, дистанционного тестирования пациента с использованием технологии «пятен сухой крови» (*dry blood spots technology*) [44, 45].

Данные исследований, проведенных на представительных выборках пациентов в Йоркском университете (The University of York, UK), показали высокую эффективность использования элиминационных диет, разработанных на основе теста ELISA IgG, для лечения различных неинфекционных персистирующих заболеваний. Научные исследования по выявлению корреляций между результатами теста и симптомами ряда конкретных НПЗ приведены в работах [8–11, 46–51].

К недостаткам метода можно отнести отсутствие стандартов изготовления ПАГ, невозможность тестировать органические и неорганические субстанции, которые не иммобилизуются на полистироловых тест-панелях.

## Заключение

С нашей точки зрения, наиболее корректные методы диагностики ПН основаны на оценке величины концентрации специфических антител в иммуноферментных тестах. Данные тесты высокоспецифичны, точны и статистически достоверно воспроизводимы.

Принципиальными преимуществами иммуноферментных тестов являются:

1. Возможность использования микроколичеств «сухой крови» ( $\leq 5,0$  мкл) для анализа статистически представительных выборок тестируемых ПАГ ( $n \geq 100$ ).

2. Возможность проведения количественной и качественной оценки динамики интегральных иммунных ответов и эффективности лечения до и после применения элиминационной диеты.

## Практические рекомендации

Корректное определение критерия «норма – патология» в диагностике ПН возможно только на основе рассмотрения функции распределения плотности вероятности элементарных «откликов», регистрируемых в конкретном тесте. В этом аспекте методология определения критерия «норма – патология» на основе математической и логистической модели ImmunoHealth™ [40, 42] отражает все современные требования практической медицины.

Результат любого лабораторного теста на ПН, проводимого *in vitro*, всегда имеет вероятностный характер вследствие модельного характера самого эксперимента. Использование результатов лабораторного теста на ПН без квалифицированного и профессионально подготовленного врача может приводить к нулевым или негативным результатам, что часто и наблюдается в клинической практике. Только понимание сути физической модели конкретного теста на ПН в сочетании с корректной обработкой данных, грамотной интерпретацией результатов, сопоставленных с симптомами заболевания и анамнезом конкретного пациента является необходимой и достаточной основой для построения персонифицированной элиминационной диеты, позволяющей снять избыточную антигенную нагрузку с иммунной системы, восстановить процессы иммунной толерантности к ПАГ и привести к положительному результату лечения. Установленные результаты иммунной реакции для определенного ПАГ должны быть сопоставлены лечащим врачом с частотой употребления соответствующего пищевого продукта и функциональными показателями работы пищеварительной системы пациента.

На наш взгляд, ситуация, сложившая в данный момент в области диагностики ПН, естественна и характерна для появления, развития и становления нового направления в медицине: иммунодиетологии.

## Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## Литература

1. Brostoff J., Challacombe S.J. Food allergy and intolerance. Saunders, 2002. 276 p.
2. Skypala I., Venter C. Food hypersensitivity: diagnosing and managing food allergies and intolerance. Wiley-Blackwell, 2009. 371p.

3. Барановский А.Ю., Назаренко Л.И., Райхельсон К.Л. Пищевая непереносимость. СПб.: Диалект, 2006. 133 с.
4. Roit A. Essential immunology. Wiley-Blackwell, 2006. 496 p
5. Розенталь В.М., Воейков В.А., Волков А.В., Кондаков С.Э., Новиков К.Н. Роль подбора индивидуального питания в экологической реабилитации человека // Материалы III международной конференции «Экополис 2000: Экология и устойчивое развитие города», Москва, МГУ, 24–25 ноября 2000. М.: Изд-во РАМН, с. 243–247.
6. Young E., Stoneham M.D., Petruckevitch A. et al. A population study of food intolerance // Lancet. 1994. V. 343 (8906). P. 1127–1130.
7. York Test Laboratories Reveal. The UK's Top Ten Intolerant Foods – Two Out Of Three Brits Are Intolerant To Cow's Milk And Eggs // Medical News Today. 05 August, 2008.
8. Atkinson W., Sheldan T.A., Sbaath N., Whorwell P.J. Food elimination on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: A randomized controlled trial // Gut. 2004. V. 53. P. 1459–1464.
9. Pelsser L.M., Frankena K., Toorman J. et al. Effects of a restricted elimination diet on the behavior of children with attention-deficit hyperactivity disorder (INCA study): a randomized controlled trial // Lancet. 2011. V. 377. P. 494–503.
10. Hong Guo, Tao Jiang, Jinliang Wang et al. The value of eliminating foods according to food-specific immunoglobulin G antibodies in irritable bowel syndrome with diarrhea // Journal of International Medical Research. 2012. V.40. P. 204–210.
11. Elif Ilgaz A., Pinar Y.D. et al. IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome // Headache. 2012. American Headache Society.
12. Розенштейн М.Ю., Розенштейн А.З., Кондаков С.Э., Черевко Н.А. Методологический подход к созданию персонализированной элиминационной диеты при пищевой непереносимости, обусловленной иммунопатологическими реакциями III типа // Бюллетень сиб. мед. 2015. Т. 14, №. 4. С. 60–67.
13. Bryan W.T., Bryan M.P. Cytotoxic reactions in the diagnosis of food allergy // Laryngoscope. 1969. V. 79. P. 1453–1472.
14. Bryan W.T., Bryan M.P. The application of In vitro cytotoxic reactions to clinical diagnosis of food allergy // Laryngoscope. 1996. V. 70. P. 810–824.
15. Кошкина И.А., Полетаева А.А., Полетаев А.Б. Пищевая непереносимость: клиническая значимость и лабораторная диагностика // TERRA MEDICA, Всероссийский междисциплинарный медицинский журнал. 2014. № 3. С. 20–25.
16. Lovendale M. Testing for delayed food and chemical allergies helps people improve their health // American Journal of Preventive Care. 1999. V. 4, fall.
17. Bindsvlev-Jensen C., Ballmer-Weber B.K., Bengtsson U., Blanco C., Ebner C., Houribane J. et al. Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods – position paper from the European Academy of Allergology and Clinical Immunology // Allergy. 2004. V. 59. P. 690–697.
18. Howanitz J.H., Howanitz P.J. Laboratory medicine: test selection and interpretation // New York eds., Churchill Livingstone, 1991. P. 6–8.
19. Sandberg D. H., Beck M. and Pasula M.: ALCAT: a new blood test for food sensitivities. Presented at the Annual William Beaumont Gastrointestinal Symposium, October, 1985. Published in the Proceedings.
20. Solomon B.A. The ALCAT test – a guide and barometer in the therapy of environmental and food sensitivities // Environmental Medicine. 1990. V. 9. P. 54–59.
21. Fell P.J., Soulsby S., Brostoff J. Cellular responses to food in irritable bowel syndrome – an investigation of the ALCAT test // J. Nutr. Med. 1991. V. 2. P. 143–149.
22. Kingsley P., Stoakes I. The Nutron Diet // Penguin Books Ltd., 144 p.
23. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Проточная цитометрия, как современный метод анализа в биологии и медицине // Медицинская иммунология. 2007. Т. 9, № 4–5. С. 373–378.
24. Семенова Н.В., Медведев С.Н., Решетова Н.В. // Медицинская кафедра. 2002. № 4. С. 128–133.
25. Барановский А.Ю., Назаренко Л.И. Пищевая аллергия (диагностика и лечение) // СПб.: Фарос Плюс, 2003. 41 с.
26. Воейков В.А. Физико-химические и физиологические аспекты реакции оседания эритроцитов // Успехи физиол. наук. 1998. Т. 29, № 4. С. 55–73.
27. Воейков В.А., Кондаков С.Э., Розенталь В.М., Волков А.В и др. Способ диагностики индивидуальной чувствительности организма к пищевым продуктам // Патент РФ (RU 2152616 С1).
28. Воейков В.А., Гурфинкель Ю.И., Кондаков С.Э., Дмитриев А.Ю. Применение метода измерения динамики оседания крови в клинической практике // II съезд биофизиков России: тез. докл. М., 1999. Т. 2. С. 655–656.
29. Токарев А.А., Мельников М.Я., Кондаков С.Э. Седиментация форменных элементов крови. Модель активной коллоидной системы // Вестник МГУ. Сер. 2, химия. 2008. Т. 48, № 4. С. 238–240.
30. Demoly P., Lebel B., Arnoux B. Allergen-induced mediator release tests // Allergy. 2003. V. 58. P. 553–558.
31. Williams F. Use of the LEAP mediator release test to identify non-IgE mediated immunologic food reactions that trigger diarrhea predominant IBS symptoms results in marked improvement of symptoms through use of an elimination diet // American College of Gastroenterology, Annual Scientific & Educational Meeting, Orlando, FL. November, 2004.
32. Pasula M.J. The patented mediator release test (MRT); a comprehensive blood test for inflammation caused by food and food-chemical sensitivities // Townsend Letter. January, 2014.
33. Schroeder H.W., Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins // J. Allergy Clin. Immunol. 2010. V. 125. P. 41–52.
34. Vidarsson G., Dekkers G., Rispen T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. Fron-

- tiers in immunology, immunotherapies and vaccines. October, 2014. V. 5, article 520. P. 1–17.
35. Aksu G. *et al.* Serum immunoglobulin (IgG, IgM, IgA) and IgG subclass concentrations in healthy children: a study using nephelometric technique // The Turkish Journal of Pediatrics. 2005. V. 47. P. 19–24.
  36. Егоров А.М., Оситов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилова Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высшая школа, 1991. 288 с.
  37. David Wild. The Immunoassay handbook: theory and applications of ligand binding, ELISA and related techniques. Newnes, 2013. 1036 p.
  38. Свежова Н.В., Шаркова В.Е., Громов Д.Б., Головаченко В.А., Полянцев Д.Г. Методы математической обработки данных в иммуноферментном анализе // Клиническая лабораторная диагностика. 2008. № 1. с. 3–10.
  39. Rajan T.V. The Gell – coombs classification of hypersensitivity reactions: a re-interpretation // Trends in Immunology. 2003. 24 (7). P. 376–379.
  40. Розенштейн М.Ю., Ихалайнен Е.С., Кондаков С.Э., Прокопцева О.С., Розенштейн А.З. Применение методологии неспецифических биосенсоров в иммунологии на примере интерпретации титров специфических IgG человека // Вестник МГУ. Сер. 2, химия. 2011. Т. 52, № 3. С. 230–236.
  41. Розенштейн М.Ю., Розенштейн А.З., Кондаков С.Э., Черевко Н.А. Диагностика пищевой гиперчувствительности, опосредованной иммунопатологическими реакциями III типа // Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18), № 2. С. 150–153.
  42. Розенштейн М.Ю., Розенштейн А.З., Кондаков С.Э., Черевко Н.А. Динамика специфических IgG к пищевым антигенам – как персонализированный маркер состояния иммунной системы человека // Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18), № 2. С. 153–155.
  43. Розенштейн М.Ю., Розенштейн А.З., Кондаков С.Э., Черевко Н.А. Динамика специфических IgG к пищевым антигенам – маркер состояния иммунной системы человека // Медикус. 2015. № 4 (4). С. 31–34.
  44. Michaela A. Riddell, Graham B. Byrnes, Jennie A. Leydon, & Heath A. Kelly. Dried venous blood samples for the detection and quantification of measles IgG using a commercial enzyme immunoassay // Bulletin of the World Health Organization. 2003. V. 8. P. 701–707.
  45. Lin Y.Q., Khetarpal R., Zbang Y., Song H., Li S.S. Combination of ELISA and dried blood spot technique For the quantification of large molecules using exenatide as a model // J. Pharmacol. Toxicol Methods. 2011. V. 64 (2). P. 124–128.
  46. Geoffrey Hardman, Gillian Hart. Dietary advice based on food-specific IgG results // Nutrition & Food Science. 2007. V. 37 ( 1). P.16–23.
  47. Bentza S., Hausmann M., Piberger H., Kellermeier S., Paul S. *et al.* Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in crohn’s disease: a double-blind cross-over diet intervention study // Digestion. 2010. V. 81. P. 252–264.
  48. Alpay K., Ertas M., Orban E.K. *et al.* Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: A clinical double-blind, randomized, cross-over trial // Cephalalgia. 2010. V. 30. P. 829–837.
  49. Wilders-Truschnig M., Mangge H., Lieners C. *et al.* IgG antibodies against food antigens are correlated with inflammation and intima media thickness in obese juveniles // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 2008. V. 116. P. 241–245.
  50. Arroyave Herndandez C.M., Echavarría Pinto M., Montiel H.L. Food allergy mediated by IgG antibodies associated with migraine in adults // Rev. Allerg. Mex. 2007. V. 54. P. 162–168.
  51. Sameer Zaar, Lynne Mincher *et al.* Food-specific IgG4 antibody-guided exclusion diet improves symptoms and rectal compliance in irritable bowel syndrome // Scandinavian Journal of Gastroenterology. 2005. V. 40. P. 800–807.

Поступила в редакцию 15.01.2016 г.  
Утверждена к печати 25.01.2016 г.

**Розенштейн Марина Юзефовна** – PhD, врач диетолог-эндокринолог клиники ImmunoHealth Int. (г. Нью-Йорк, США).  
**Розенштейн Аркадий Зильманович** – д-р физ.-мат. наук, управляющий партнер клиники ImmunoHealth Int. (г. Нью-Йорк, США).

**Кондаков Сергей Эмильевич** – д-р фарм. наук, вед. науч. сотрудник кафедры химической кинетики химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова (г. Москва).

**Черевко Наталья Анатольевна** (✉) – д-р мед. наук, доцент кафедры иммунологии и аллергологии СибГМУ (г. Томск).

✉ Черевко Наталья Анатольевна, e-mail: chna@0370.ru

МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1; СибГМУ, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

## MODERN METHODS OF FOOD INTOLERANCE TESTING

Rosensteyn M.Yu.<sup>1</sup>, Rosensteyn A.Z.<sup>1</sup>, Kondakov S.E.<sup>2</sup>, Cherevko N.A.<sup>3</sup><sup>1</sup> ImmunoHealth Int., New York, USA<sup>2</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation<sup>3</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

## ABSTRACT

An analytical review of modern methods of food intolerance diagnostics based on interpretation of markers used in the various tests is presented. It is shown that tests based on observation of the reaction of specific antibodies of the immune system to food antigens tested, are the most accurate, reliable and representative for the diagnosis of food intolerance.

**KEY WORDS:** food intolerance, cito-test, prime-test, ALCAT, NuTron-test, gemocode, ESD-test, MRT-test, ELISA IgG (IgG4), pinner-test.

*Bulletin of Siberian Medicine, 2016, vol. 15, no. 1, pp. 69–78*

## References

1. Brostoff J., Challacombe S.J. Food Allergy and Intolerance // Saunders, 2002. 276 p.
2. Skypala I., Venter C. Food hypersensitivity: diagnosing and managing food allergies and intolerance. Wiley-Blackwell, 2009. 371 p.
3. Baranovskiy A.Y., Nazarenko L.I., Raichelson K.L. *Pischevaja neperenosimost* [Food intolerance]. St.-Petersburg, Dialect Publ., 2006. 133 p. (in Russian).
4. Roit T. Essential immunology. Wiley-Blackwell, 2006. 496 p.
5. Rosenstal V.M., Voeikov V.L., Volkov A.V., Kondakov S.E., Novikov K.N. *Rol podbora individualnogo pitaniya v ekologicheskoi reabilitacii cheloveka* [The role of nutrition in the selection of individual human environmental rehabilitation]. *Materiali III megdunarodnoi konferencii "Ekopolis 2000: ekologiya i ustoichivoe razvitie goroda* [Ecopolis 2000: Ecology and sustainable development of the city]. Moscow, MSU, Nov. 24–25, 2000, RAMS, pp. 243–247. (in Russian).
6. Young E., Stoneham M.D., Petrukevitch A et al. A population study of food intolerance // *Lancet*. 1994. V. 343 (8906). P. 1127–1130.
7. York Test Laboratories Reveal. The UK's Top Ten Intolerant Foods – Two Out Of Three Brits Are Intolerant To Cow's Milk And Eggs // *Medical News Today*. 05 August, 2008.
8. Atkinson W., Sheldon T.A., Shaath N., Whorwell P.J. Food elimination on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: A randomized controlled trial // *Gut*. 2004. V. 53. P. 1459–1464.
9. Pelsser L.M., Frankena K., Toorman J. et al. Effects of a restricted elimination diet on the behavior of children with attention-deficit hyperactivity disorder (INCA study): a randomized controlled trial // *Lancet*. 2011. V. 377. P. 494–503.
10. Hong Guo, Tao Jiang, Jinliang Wang et al. The value of eliminating foods according to food-specific immunoglobulin G antibodies in irritable bowel syndrome with diarrhea // *Journal of International Medical Research*. 2012. V. 40. P. 204–210.
11. Elifilgaz A., Pinar Y.D. et al. IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome // *Headache*. 2012. American Headache Society.
12. Rosensteyn M.Yu., Rosensteyn A.Z., Kondakov S.E., Cherevko N.A. *Metodologicheskii podhod k sozdaniyu personificirovanoi eliminacionoi dieti pri pischevoi neperenosimosti obuslovennoi immunopatologicheskimi reakcijami III Tipa* [New methodological approach to the creation of a personalized elimination diet in food intolerance caused by Type III immunopatological reactions]. *Bulleten Sibirskoi Medicini – The Bulletin of Siberian Medicine*, 2015, vol. 14, no. 4, pp. 60–67. (in Russian).
13. Bryan W. T., Bryan M. P. Cytotoxic reactions in the diagnosis of food allergy // *Laryngoscope*. 1969. V. 79, P. 1453–1472.
14. Bryan W.T., Bryan M.P. The application of In vitro cytotoxic reactions to clinical diagnosis of food allergy // *Laryngoscope*. 196. V. 70. P. 810–824.
15. Koshkina I.A., Poletaeva A.A., Poletaev A.B. *Pischevaja neperenosimost: klinicheskaja znachimost i laboratornaja diagnostic* [Food intolerance: clinical significance and laboratory diagnostics]. *TERRA-MEDICA, Vserossiiski Mezdisciplinarni Zurnal – Russian Interdisciplinary Medical Journal TERRA-MEDICA*, 2014, no.3, pp. 20–25. (in Russian).
16. Lovendale M. Testing for delayed food and chemical allergies helps people improve their health // *American Journal of Preventive Care*. 1999. V. 4, fall.
17. Bindslev-Jensen C., Ballmer-Weber B.K., Bengtsson U., Blanco C., Ebner C., Hourihane J. et al. Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods – position paper from the European Acade-



- my of Allergology and Clinical Immunology // Allergy. 2004. V. 59. P. 690–697.
18. Howanitz J.H., Howanitz P.J. Laboratory medicine: test selection and interpretation // New York eds., Churchill Livingstone, 1991. P. 6–8.
  19. Sandberg D. H., Beck M. and Pasula M.: ALCAT: a new blood test for food sensitivities. Presented at the Annual William Beaumont Gastrointestinal Symposium, October, 1985. Published in the Proceedings.
  20. Solomon B.A. The ALCAT test – a guide and barometer in the therapy of environmental and food sensitivities // Environmental Medicine. 1990. V. 9. P. 54–59.
  21. Fell P.J., Soulsby S., Brostoff J. Cellular responses to food in irritable bowel syndrome – an Investigation of the ALCAT test // J. Nutr. Med. 1991. V. 2. P. 143–149.
  22. Kingsley P., Stoakes I. The Nutron Diet // Penguin Books Ltd., 144 p.
  23. Haidukov S.V., Zurochka A.V. Protochnaja zitometrija kak sovremennij metod analiza v biologii i medizine [Flow cytometry is a modern method of analysis in biology and medicine]. *Medizinskaja Immunologija – Medical Immunology*, 2007, vol. 9, no. 4–5, pp. 373–378. (in Russian).
  24. Semenova N.V., Medvedev S.N., Reshetova N.V. *Medizinskaja kafedra – Medical Department*, 2002, no.4, pp.16–17, 128–133.
  25. Baranovskiy A. Y., Nazarenko L.I. *Pischevaja allergija (diagnostika i lechenie)*. [Food Allergy (diagnosis and treatment)]. St.-Pt., Faros Plus Publ., 2003, 41 p.
  26. Voikov V.L. *Fisiko himicheskie I fiziologicheskie aspekt reakcii osedaniya eritrocitov*. [Physico-chemical and physiological aspects of the erythrocyte sedimentation reaction]. *Uspechi Fiziologicheskich Nauk – Advances of Physiological Sciences*, 1998, vol. 29, no. 4, pp. 55–73.
  27. Voikov V.L., Kondakov S.E., Rosenstal V.M., Volkov A.V. et al. *Sposob diagnostiki individualnoi chuvstvitelnosti organizma k pischevim productam* [A method of diagnosis of an organism individual sensitivity to food]. Patent *Rossija (2152616C1) Patent RF (2152616C1)*.
  28. Voikov V.L., Gurfinkel Y.I., Kondakov S.E., Dmitriev A.Y. *Primenenie metoda izmerenija dinamiki osedaniya krovi v klinicheskoi practice* [Application of the blood sedimentation measuring method in clinical practice]. II siezd biofizikov Rossii, teziisi docladov – II Congress of Russian biophysicists. Abstracts. Moscow, 1999, vol. 2, pp. 655–656. (in Russian).
  29. Tokarev A.A., Melnikov M.J., Kondakov S.E. *Sedimentacija formenich elementov krovi. Model kolloidnoi sistemi* [Sedimentation of the blood cells. Active colloidal system model]. *Vestnik MGU – MSU Messenger, Chemistry*, 2008, vol. 48, no. 4, pp. 238–240. (in Russian).
  30. Demoly P., Lebel B., Arnoux B. Allergen-induced mediator release tests // Allergy. 2003. V. 58. P. 553–558.
  31. Williams F. Use of the LEAP mediator release test to identify non-IgE mediated immunologic food reactions that trigger diarrhea predominant IBS symptoms results in marked improvement of symptoms through use of an elimination diet // American College of Gastroenterology, Annual Scientific & Educational Meeting, Orlando, FL. November, 2004.
  32. Pasula M.J. The patented mediator release test (MRT); a comprehensive blood test for inflammation caused by food and food-chemical sensitivities // Townsend Letter. January, 2014.
  33. Schroeder H.W, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins // J. Allergy Clin. Immunol. 2010. V. 125. P. 41–52.
  34. Vidarsson G., Dekkers G., Rispen T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Frontiers in immunology, immunotherapies and vaccines*. October, 2014. V. 5, article 520. P. 1–17.
  35. Aksu G. et al. Serum immunoglobulin (IgG, IgM, IgA) and IgG subclass concentrations in healthy children: a study using nephelometric technique // *The Turkish Journal of Pediatrics*. 2005. V. 47. P. 19–24.
  36. Egorov A.M., Osipov A.P., Dzantiev B.B., Gavrilova E.M. *Teoriya i practica immunofermentnogo analiza* [Theory and practice of ELISA], Moscow, High School Publ., 1991, 288 p. (in Russian).
  37. David Wild, *The Immunoassay Handbook: Theory and applications of ligand binding, ELISA and related techniques*, // Newnes, 2013, 1036 p.
  38. Svegova N.V., Sharkova V.E, Gromov D.B., Golovachenko V.A., Polincev D.G. *Metodi matematicheskoi obrabotki dannich v immunofermentnom analize* [Methods of mathematical data in ELISA]. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostica – Clinincal laboratory diagnostic*, 2008, no.1, pp. 3–10.
  39. Rajan T.V. The Gell – coombs classification of hypersensitivity reactions: a re-interpretation // *Trends in Immunology*. 2003. 24 (7). P. 376–379.
  40. Rozenshtein M., Ihalainen E.S., Kondakov S.E., Prokoptseva O.S., Rozenshtein A.Z. *Primenenie metodologii nespecificheskich biosensorov v immunologii na primere interpretacii titrov cpecificheskich IgG cheloveka* [Application of Nonspecific Biosensors Methodology for Right Choice of Diagnostic Criteria for Food Allergy and Intolerance on the Basis of Specific Human IGG Determination]. *Vestnik MGU – MSU Messenger, Chemistry*, 2011, vol. 52, no. 3, pp. 230–236. (in Russian).
  41. Rosensteyn M.Y., Rosensteyn A.Z., Kondakov S.E., Cherevko N.A. *Diagnostica pischevoi giperchuvstvitelnosti, oposredovanoi immunopatologicheskimi reakcijami III tipa* [Diagnosis of food hypersensitivity mediated by Type III immune pathological reactions]. *Rossiiskii Immunologicheskii Zurnal – Russian Immunological Journal*, 2015, vol. 9 (18), no. 2, pp. 150–153. (in Russian).
  42. Rosensteyn M.Y., Rosensteyn A.Z., Kondakov S.E., Cherevko N.A. *Dinamika specificheskich IgG k pichevim antigenam – kak personificirovanni marker sostojanija immunoj sistemi cheloveka* [Dynamics of the specific IgE to food antigens – as a personalized marker of a human immune system]. *Rossiiskii Immunologicheskii Zurnal – Russian Immunological Journal*, 2015, vol. 9 (18), no. 2, pp. 153–155. (in Russian).
  43. Rosensteyn M.Y., Rosensteyn A.Z., Kondakov S.E., Cherevko N.A. *Dinamika specificheskich IgG k pichevim*

- antigenam- kak personalizirovanni marker sostojanija immunoj sistemi cheloveka* [Dynamics of the specific IgE to food antigens – as a personalized marker of a human immune system]. *Medikus – Medicus*, 2015, no. 4 (4), pp. 31–34. (in Russian).
44. Michaela A. Riddell, Graham B. Byrnes, Jennie A. Leydon & Heath A. Kelly. Dried venous blood samples for the detection and quantification of measles IgG using a commercial enzyme immunoassay // *Bulletin of the World Health Organization*. 2003. V. 8. P. 701–707.
  45. Lin Y.Q., Khetarpal R., Zhang Y., Song H., Li S.S. Combination of ELISA and dried blood spot technique For the quantification of large molecules using exenatide as a model // *J. Pharmacol. Toxicol Methods*. 2011. V. 64 (2). P. 124–128.
  46. Geoffrey Hardman, Gillian Hart. Dietary advice based on food-specific IgG results // *Nutrition & Food Science*. 2007. V. 37 ( 1). P.16–23.
  47. Bentza S., Hausmann M., Piberger H., Kellermeier S., Paul S. et al. Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study // *Digestion*. 2010. V. 81. P. 252–264.
  48. Alpay K., Ertas M., Orhan E.K. et al. Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: A clinical double-blind, randomized, cross-over trial // *Cephalalgia*. 2010. V. 30. P. 829–837.
  49. Wilders-Truschig M., Mangge H., Lieners C. et al. IgG antibodies against food antigens are correlated with inflammation and intima media thickness in obese juveniles // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. 2008. V. 116. P. 241–245.
  50. Arroyave Hernandez C.M., Echavarrá Pinto M., Montiel H.L. Food allergy mediated by IgG antibodies associated with migraine in adults // *Rev. Allerg. Mex*. 2007. V. 54. P. 162–168.
  51. Sameer Zaar, Lynne Mincher et al. Food-specific IgG4 antibody-guided exclusion diet improves symptoms and rectal compliance in irritable bowel syndrome // *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2005. V. 40. P. 800–807.

Rosensteyn Mari Ya., ImmunoHealth Int., New York, USA.

Rosensteyn Arcady Z., ImmunoHealth Int., New York, USA.

Kondakov Sergey E., Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation.

Cherevko Nataliy A. (✉), Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

✉Cherevko Nataliy A., e-mail: chna@0370.ru