



Бычкова Н.В.^{1,2}✉, Неронова Е.Г.¹, Калашникова А.А.¹, Калинина Н.М.^{1,2}

¹ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова, Санкт-Петербург, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Возможности комплексной лабораторной диагностики генетической предрасположенности к непереносимости лактозы и глютена и сенсibilизации к аллергенам пшеничной муки и коровьего молока

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Бычкова Н.В. – набор и статистическая обработка материала, концепция и дизайн исследования, обзор литературы; Неронова Е.Г. – набор материала, обзор литературы; Калашникова А.А. – создание базы данных, редактирование рукописи; Калинина Н.М. – редактирование рукописи.

Подана: 27.03.2023

Принята: 02.05.2023

Контакты: bnv19692007@yandex.ru

Резюме

Введение. Целиакия; не связанная с целиакией непереносимость глютена (NCGS); зависящая от пшеницы анафилаксия, вызванная физическими нагрузками (WDEIA); лактазная недостаточность; аллергия к коровьему молоку и пшенице имеют сходные симптомы и сложны в диагностике. Использование современных лабораторных методов исследования может помочь в решении этой проблемы.

Цель. Доказать эффективность комплексной лабораторной оценки генетической предрасположенности и сенсibilизации к пищевым аллергенам в диагностике заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Материалы и методы. У пациентов с гастроинтестинальными симптомами ($n=148$) определяли полиморфизм 13910T>C в гене MCM6 и проводили HLA-генотипирование локусов DQA1 и DQB1 (ДНК-технология, Россия). Выявляли сенсibilизацию к аллергенам пшеницы и коровьего молока в тесте активации базофилов с оценкой количества Т-лимфоцитов 2-го типа иммунного ответа (Allergenecity kit, Navios, Beckman-Coulter, США).

Результаты. Генетическая предрасположенность к непереносимости глютена обнаружена у 37% лиц. Среди них значительно чаще отмечалось повышение содержания Т-клеток 2-го типа, что подтверждает наследственную природу особенностей иммунного ответа при целиакии. Гиперчувствительность к аллергену пшеницы определена у 29%. Маркеры лактазной недостаточности – у 89% пациентов. Гиперчувствительность к аллергену коровьего молока – у 39%. Около 50% лиц с предрасположенностью к непереносимости глютена или лактазной недостаточности не имели сенсibilизации к обоим аллергенам. Сенсibilизация к молоку часто сочеталась с предрасположенностью к лактазной недостаточности (38% vs 4%, $p<0,001$). Сенсibilизация



к пшенице преобладала у лиц без предрасположенности к развитию целиакии (39% vs 10%, $p < 0.001$). Поскольку при отсутствии гаплотипов DQ2/DQ8 диагноз целиакии маловероятен, выявление сенсibilизации к пшенице свидетельствует о наличии аллергии, включая WDEIA или NCGS.

Заключение. Применение комплексного тестирования с аллергенами пшеницы и коровьего молока позволило лабораторно подтвердить анамнестические данные у 96% пациентов с желудочно-кишечными симптомами и дать им рекомендации по элиминационной диете.

Ключевые слова: генетическая предрасположенность, сенсibilизация, тест активации базофилов, пшеница, коровье молоко

Nataliya V. Bychkova^{1,2}✉, Elizaveta G. Neronova¹, Anastasia A. Kalashnikova¹,
Nataliya M. Kalinina^{1,2}

¹ Nikiforov's All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine,
Saint Petersburg, Russia

² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Opportunities of Comprehensive Laboratory Diagnosis of Genetic Predisposition to Lactose and Gluten Intolerance and Sensitization to Wheat Flour and Cow's Milk Allergens

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Nataliya V. Bychkova – material collection and statistical processing, research concept and design, literature review; Elizaveta G. Neronova – material collection, literature review; Anastasia A. Kalashnikova – database creation, manuscript editing; Nataliya M. Kalinina – manuscript editing.

Submitted: 27.03.2023

Accepted: 02.05.2023

Contacts: bnv19692007@yandex.ru

Abstract

Introduction. Celiac disease, non-celiac gluten sensitivity (NCGS), wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis (WDEIA), lactase deficiency, cow's milk allergy, and wheat allergy have similar symptoms and are difficult for diagnostic. Modern laboratory methods can help to overcome this challenge.

Purpose. To substantiate the effectiveness of comprehensive laboratory assessment of genetic predisposition and sensitization to food allergens in the diagnosis of gastrointestinal diseases.

Materials and methods. In patients presenting gastrointestinal symptoms ($n=148$), the 13910 T>C polymorphism in MCM6 gene was determined, and HLA genotyping of the DQA1 and DQB1 was performed (DNA technologies, Russia). A sensitization to wheat and cow's milk allergens was detected in the basophil activation test with an assessment of the number of T-lymphocytes of type 2 immune response (Allergenicity kit, Navios, Beckman-Coulter, USA).

Results. A genetic predisposition to gluten intolerance was found in 37% of individuals. Among them, an increase in T2 cells was noted much more often, confirming the hereditary nature of the immune response features in celiac disease. Wheat hypersensitivity was determined in 29%. Markers of lactase deficiency were found in 89% of patients. Cow's milk hypersensitivity was discovered in 39%. About 50% of individuals with a predisposition to gluten intolerance or lactase deficiency were not sensitized to both allergens. Milk sensitization was often associated with a predisposition to lactase deficiency (38% vs 4%, $p < 0.001$). Wheat sensitization predominated in individuals without predisposition to celiac disease (39% vs 10%, $p < 0.001$). As the diagnosis of celiac disease is unlikely in the absence of DQ2/DQ8 haplotypes, the detection of wheat sensitization is indicative for allergies including WDEIA or NCGS.

Conclusion. The use of comprehensive testing with wheat and cow's milk allergens allowed to confirm anamnestic findings in 96% of patients with gastrointestinal symptoms by laboratory means and to give them recommendations for a nutritional treatment.

Keywords: genetic predisposition, sensitization, basophil activation test, wheat, cow's milk

■ ВВЕДЕНИЕ

По некоторым оценкам, до 20% жителей Земли сталкиваются с проблемой пищевой непереносимости [1] и количество их неуклонно возрастает [2]. Существующие объективные сложности диагностики патологии желудочно-кишечного тракта, связанной с возможной аллергической сенсибилизацией различного генеза или генетически обусловленной ферментативной несостоятельностью, требуют использования нескольких лабораторных методов для подтверждения причины заболевания.

В основе развития ряда заболеваний желудочно-кишечного тракта лежит специфическая реакция на глютен – белок, содержащийся в различных злаках, в частности пшенице, овсе, ячмене. У пациента возможны: IgE-зависимая и не-IgE-опосредованная аллергия; целиакия – генетически обусловленное мультифакторное заболевание; не связанная с целиакией непереносимость глютена (NCGS); а также зависящая от пшеницы анафилаксия, вызванная физическими нагрузками (WDEIA) [3].

Несмотря на различные патогенетические механизмы, эти заболевания имеют схожие клинические проявления. Пациенты предъявляют жалобы на дискомфорт в животе, диарею, повышенную утомляемость, слабость, тошноту, вздутие живота, повышенное газообразование. Помимо связи с глютеневой энтеропатией эти симптомы могут сопровождать некоторые инфекционные заболевания желудочно-кишечного тракта, наблюдаться при аутоиммунных и опухолевых процессах.

Лактазная недостаточность – отсутствие или недостаточная активность фермента лактазы, синтезируемого в тонкой кишке. В результате мутаций в гене, кодирующем лактазу, энтероциты не могут полноценно расщеплять лактозу – молочный сахар, что также способствует вздутию живота, боли, тошноте, диарее и сопровождается воспалительными явлениями в желудочно-кишечном тракте. Выраженность симптомов зависит от генотипа пациента, степени повреждения энтероцитов, от того, в каком виде (ферментированность, осмоляльность и жирность пищи) лактоза поступает в организм, состава микрофлоры кишечника и его моторной функции и т. д. [4].



Сложности сугубо анамнестической диагностики заболеваний желудочно-кишечного тракта состоят в том, что лактоза и глютен, помимо молочных и хлебных изделий, могут одновременно содержаться в различных готовых продуктах – колбасах, сосисках, завтраках быстрого приготовления, готовых соусах и т. д., что делает крайне сложным проведение диагностических и лечебных элиминационных мероприятий.

Следовательно, для полноценной специфической диагностики заболеваний желудочно-кишечного тракта необходимо проводить комплексное исследование, используя для этого в том числе возможности современной лаборатории.

Для генетической диагностики целиакии хорошо зарекомендовала себя оценка аллелей локусов HLA-DQA1 и HLA-DQB1. Наличие гаплотипов DQ2/DQ8 связано с высоким риском развития целиакии [5], диагноз подтверждается серологическими и морфологическими методами. Для генетической диагностики непереносимости лактозы исследуют полиморфизм rs4988235 в гене MCM6 (-13910 T>C), варианты которого связаны с лактазной недостаточностью.

Так, пациенты с генотипом C/C данного полиморфизма (-13910 T>C) не способны к усвоению лактозы, носители генотипа C/T имеют варибельный уровень усвоения молочного сахара, гомозиготные носители генотипа T/T характеризуются хорошей переносимостью лактозы [6].

Методы, широко используемые для выявления причинно-значимых факторов при аллергии с поражением кожи, такие как оценка специфических иммуноглобулинов класса E, кожные тесты, оказываются малоэффективными для решения этой задачи при кишечных проявлениях гиперчувствительности к пищевым продуктам [7, 8]. Наиболее высокочувствительным и специфичным методом оценки сенсибилизации к различным аллергенам, в том числе к белкам пшеничной муки [7–9] и коровьего молока [10–12] при IgE и не-IgE-зависимых механизмах гиперчувствительности, признан клеточный тест активации базофилов.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Доказать эффективность комплексной лабораторной оценки генетической предрасположенности и сенсибилизации к пищевым аллергенам в диагностике заболеваний желудочно-кишечного тракта.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 148 пациентов, направленных гастроэнтерологом в связи с жалобами на дискомфорт в животе, диарею, повышенную утомляемость, слабость, тошноту, вздутие живота, повышенное газообразование (средний возраст – 41 год, от 17 до 79 лет, мужчин 57, женщин 91).

Генетическую диагностику лактазной недостаточности и предрасположенности к целиакии проводили путем определения полиморфизма -13910 T>C в гене MCM6, ассоциированного с непереносимостью лактозы, и HLA-генотипирования локусов DQA1 и DQB1. Исследования выполняли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием реагентов фирмы «ДНК-Технология», Россия. Выделение ДНК для генотипирования производили из лейкоцитов цельной крови с использованием набора реагентов «Проба-рапид-генетика» фирмы

«ДНК-технология» по прилагаемой к реагентам методике. Реакцию проводили на амплификаторе «ДТ-прайм», (ДНК-технология). Учет результатов реакции выполнялся прибором в автоматическом режиме.

Всем обследованным лицам осуществляли постановку теста активации базофилов с аллергенами пшеничной муки и коровьего молока (Siemens) в разведении 1:25 в течение не более 2 часов от момента забора крови в вакутейнеры с гепарином литья с использованием набора реактивов AllergenCity kit (Beckman-Coulter, США) методом проточной цитометрии (Navios, Beckman-Coulter, США). Популяцию базофилов выявляли в многоцветном протоколе с использованием моноклональных антител к CD3/CD294/CD203c, а их активацию оценивали на основании возрастания экспрессии CD203c после стимуляции аллергенами *in vitro* в соответствии с инструкцией к коммерческой тест-системе. Оценивали наличие или отсутствие сенсibilизации к аллергену (cut off индекса активации базофилов $>1,1$), уровень спонтанной и индуцированной антителами к комплексу IgE/FcεR1 активации базофилов (позитивный контроль теста), а также количество Т-лимфоцитов 2-го типа иммунного ответа с фенотипом CD3⁺CD294⁺. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета Statistica 12.0 (StatSoft) с определением описательных статистик (средних значений, стандартной ошибки), частотный анализ – с использованием четырехпольных таблиц сопряженности на основании критерия χ^2 Пирсона.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди обследованных лиц только у 4% пациентов не удалось выявить факторы, предрасполагающие или связанные с непереносимостью молочных и злаковых продуктов, – не было найдено генетической предрасположенности к лактазной недостаточности и непереносимости глютена, а также сенсibilизации к изученным аллергенам в тесте активации базофилов.

При анализе результатов пациентов в отношении аллергии / непереносимости белков злаков было выявлено, что отрицательный результат молекулярно-генетического и аллергологического обследования наблюдался у 60 пациентов (40,5%).

Генетические маркеры непереносимости глютена (комбинации аллелей HLA DQA1*0501/DQB1*02 и DQA1*0201/DQB1*02, кодирующие молекулы HLA-DQ2 и комбинация HLA аллелей DQA1*0301/DQB1*0302, которые кодируют молекулы HLA-DQ8) обнаружены у 54 человек (36,5%). Данные пациенты были направлены на подтверждающую серологическую диагностику. В работе итальянских авторов [13] при обследовании 78 пациентов с желудочно-кишечными симптомами носителями HLA DQ2 были 27% обследованных.

В нашем исследовании сенсibilизация к аллергену пшеничной муки по результатам теста активации базофилов выявлена у 43 человек (29,1%), средний индекс активации базофилов составил $2,32 \pm 1,1$. По данным немецких коллег [8], чувствительность и специфичность теста активации базофилов для определения сенсibilизации к различным белкам пшеницы у пациентов с WDEIA по сравнению с контрольными субъектами были хорошими для ω 5-глиадинов (100%, 70% соответственно) и глютена (75%, 90% соответственно). Mansueto P. с соавторами [14] выявили активацию базофилов *in vitro* у 66% пациентов с NCGS, что сочеталось с внутриэпителиальным лимфоцитозом и инфильтрацией эозинофилов в двенадцатиперстной и толстой



кишке. В то же время Bucci C. с соавторами [15, с. 7] не определили активацию базофилов *in vitro* с аллергенами пшеницы у пациентов с NCGS, возможно, в результате использования неоптимальной концентрации аллергенов или излишне высокого порога позитивности.

При отсутствии гаплотипов DQ2/DQ8 диагноз целиакии крайне маловероятен, а подтверждение сенсibilизации к белкам пшеницы в тесте активации базофилов свидетельствует о наличии аллергии, включая WDEIA или NCGS, диагностика которой вызывает наибольшие сложности.

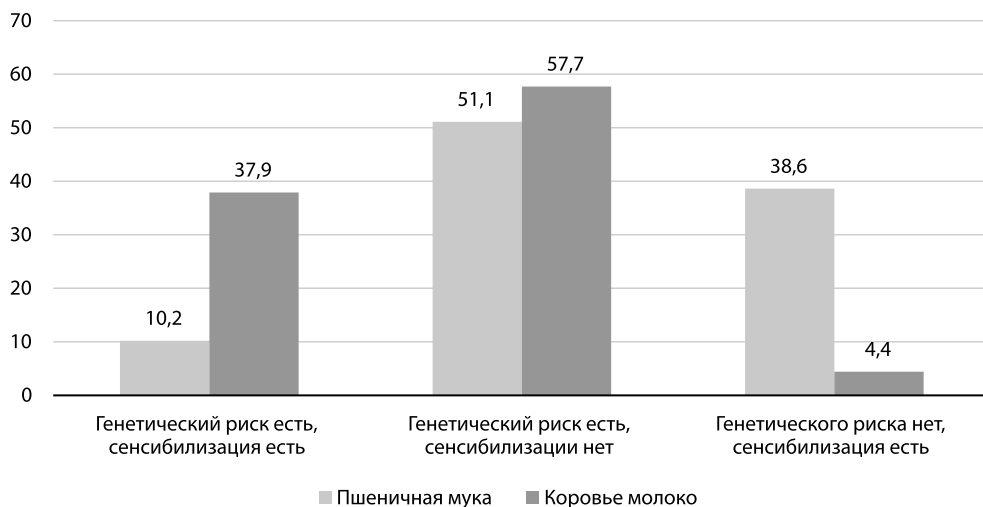
Анализ результатов обследования пациентов в отношении аллергии / непереносимости молочных продуктов показал, что лишь у 11 лиц (7,4%) не было подтверждено ни предрасположенности к лактазной недостаточности, ни сенсibilизации к аллергену коровьего молока. Маркеры лактазной недостаточности выявлены у 131 обследованного пациента (88,5%). Молекулярно-генетический анализ показал, что генотип C/C (-13910 T>C) встречался у 65 пациентов (43,9%), C/T (-13910 T>C) у 66 лиц (44,6%), T/T (-13910 T>C), обуславливающий хорошую переносимость лактозы, только у 17 человек (11,5%). Сенсibilизация к аллергену коровьего молока в тесте активации базофилов обнаружена у 58 пациентов (39,2%), средний индекс активации базофилов составил $2,78 \pm 1,4$. Наши данные согласуются с результатами, полученными при обследовании педиатрической популяции, о том, что лактазная недостаточность встречается чаще, чем сенсibilизация к белкам коровьего молока (32% и 19% соответственно) [16]. Схожие с нашими данные получены коллегами и в отношении распределения гомо- и гетерозиготных аллелей гена лактазы LCT – гомозиготные носители CC (-13910 T>C) и гетерозиготные CT (-13910 T>C) были выявлены в 44,7% и 36,2% соответственно, пациенты с генотипом TT (-13910 T>C) выявлены в 19,1% [16].

В выполненном исследовании при сравнении результатов обоих тестов в том случае, когда наблюдали положительный результат хотя бы одного метода, было получено распределение пациентов по группам, отображенное на рисунке. Примерно в половине случаев при наличии генетической предрасположенности к непереносимости глютена или лактазной недостаточности у пациентов не выявляли сенсibilизации в отношении обоих исследованных аллергенов (см. рисунок).

В двух других группах наблюдали противоположные тенденции между результатами лабораторных тестов в отношении аллергенов коровьего молока и пшеничной муки. Сенсibilизация к аллергену коровьего молока часто сочеталась с наличием предрасположенности к лактазной недостаточности (37,9% пациентов против 4,4%, $p < 0,001$), в то время как сенсibilизация к аллергену пшеничной муки наблюдалась, как правило, у пациентов без повышенного риска развития целиакии (38,6% пациентов против 10,2%, $p < 0,001$) (см. рисунок).

В то же время, согласно данным польских авторов [17], непереносимость лактозы, определяемая по активности лактазы в биопсийном материале, реже встречалась у детей с диагностированной IgE-зависимой аллергией на молочные белки. Дефицит лактазы наблюдался у 6 из 48 пациентов в группе пациентов с аллергией, у здоровых детей он выявлен в 20%. При этом средние показатели активности лактазы в группе пациентов с аллергией были ниже, чем у здоровых детей.

Спонтанная и индуцированная антителами к комплексу IgE/FcεR1 активация базофилов в обследованной группе находилась в пределах референтного интервала и составила $1,3 \pm 0,6\%$ и $46,1 \pm 20,8\%$ соответственно.



Частота встречаемости (%) пациентов в группах с наличием/отсутствием генетической предрасположенности к развитию целиакии и лактазной недостаточности и подтвержденной сенсibilизацией к соответствующим аллергенам пшеничной муки и коровьего молока
Occurrence rate (%) of patients in groups with or without genetic predisposition to celiac disease and lactase deficiency and confirmed sensitization to corresponding wheat flour and cow's milk allergens

Параллельно с оценкой сенсibilизации к аллергенам в тесте активации базофилов оценивали Т-лимфоциты 2-го типа иммунного ответа, которые являются одними из центральных клеток, поддерживающих аллергическое воспаление немедленного и замедленного типов, а также эозинофильное и нейтрофильное воспаление [18]. В обследованной группе этот показатель составил $1,5 \pm 1,0\%$ и находился на верхней границе референтного интервала (0,3–1,5%). Была выявлена положительная связь генетической предрасположенности к развитию непереносимости глютена и уровня Т-лимфоцитов 2-го типа – значительное повышение (более 2,8% от лимфоцитов) этой популяции клеток наблюдалось в 3,5 раза чаще в группе пациентов с предрасположенностью, чем у лиц без генетических особенностей – 14,3% против 4,4%, $p < 0,05$. Т-хелперы 2-го типа могут стимулировать дифференцировку В-лимфоцитов в плазматические с секрецией антител к глиадину, трансклутаминазе и эндомизию, которые считаются ключевыми характеристиками активной целиакии [19]. Дополнительно цитотоксические Т-лимфоциты 2-го типа могут участвовать в воспалении и повреждении слизистой кишечника.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время нет четких диагностических маркеров и достаточного количества двойных слепых плацебо-контролируемых исследований для подтверждения анамнестических жалоб пациентов. Требуется углубленное изучение патогенетических особенностей заболеваний, связанных с употреблением молочных и злаковых продуктов. Будущие исследования должны быть направлены на выявление биомаркеров диагностики причин непереносимости продуктов и прогнозирования



реакции на диетотерапию. В настоящее время генетические маркеры высокого риска непереносимости глютена и лактазной недостаточности постепенно входят в рутинную диагностику пациентов с желудочно-кишечными симптомами. Следует отметить возможности теста активации базофилов для определения сенсibilизации к этим аллергенам, который показывает лучшие результаты по сравнению с определением специфических иммуноглобулинов Е и данными кожного тестирования.

В нашем исследовании использование молекулярно-генетического и аллергологического тестирования с аллергенами пшеничной муки и коровьего молока позволило лабораторно подтвердить анамнестические данные в 96% случаев пациентов с желудочно-кишечными симптомами для назначения элиминационной диеты. Выявлено, что лактазная недостаточность сочетается с наличием сенсibilизации к белкам коровьего молока, а гиперчувствительность к белкам пшеничной муки диагностируется у пациентов гастроэнтерологического профиля без генетической предрасположенности к непереносимости глютена. Повышенное количество Т-лимфоцитов 2-го типа у пациентов с высоким риском развития целиакии подтверждает наследственную природу особенностей иммунного ответа при этом заболевании.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Tuck C.J., Biesiekierski J.R., Schmid-Grendelmeier P. Food Intolerances. *Nutrients*. 2019;11(7):1684. doi: 10.3390/nu11071684
2. Rubin J.E., Crowe S.E. Celiac Disease. *Ann Intern Med*. 2020;172(1):ITC1-ITC16. doi: 10.7326/AITC202001070
3. McAllister B.P., Williams E., Clarke K. A Comprehensive Review of Celiac Disease/Gluten-Sensitive Enteropathies. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2019;57(2):226–243. doi: 10.1007/s12016-018-8691-2
4. Misselwitz B., Butter M., Verbeke K. Update on lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and clinical management. *Gut*. 2019;68(11):2080–2091. doi: 10.1136/gutjnl-2019-318404
5. Caio G., Volta U., Sapone A. Celiac disease: a comprehensive current review. *BMC Med*. 2019;17(1):142. doi: 10.1186/s12916-019-1380-z
6. Bernardes-Silva C.F., Pereira A.C., de Fátima Alves da Mota G. Lactase persistence/non-persistence variants, C/T_13910 and G/A_22018, as a diagnostic tool for lactose intolerance in IBS patients. *Clin Chim Acta*. 2007;386(1–2):7–11. doi: 10.1016/j.cca.2007.07.012
7. Heine R.G. Gastrointestinal food allergies. *Chem Immunol Allergy*. 2015;101:171–180. doi: 10.1159/000371700
8. Gabler A.M., Gebhard J., Eberlein B. The basophil activation test differentiates between patients with wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis and control subjects using gluten and isolated gluten protein types. *Clin Transl Allergy*. 2021;11(6):e12050. doi: 10.1002/ctlt2.12050
9. Gabler A.M., Gebhard J., Norwig M.C. Basophil Activation to Gluten and Non-Gluten Proteins in Wheat-Dependent Exercise-Induced Anaphylaxis. *Front Allergy*. 2022;3:822554. doi: 10.3389/falgy.2022.822554
10. Rubio A., Vivinus-Nébot M., Bourrier T. Benefit of the basophil activation test in deciding when to reintroduce cow's milk in allergic children. *Allergy*. 2011;66(1):92–100. doi: 10.1111/j.1398-9995.2010.02432.x
11. Ruinemens-Koerts J., Schmidt-Hieltjes Y., Jansen A. The Basophil Activation Test reduces the need for a food challenge test in children suspected of IgE-mediated cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy*. 2019;49(3):350–356. doi: 10.1111/cea.13307
12. Kim Y.H., Kim Y.S., Park Y. Investigation of Basophil Activation Test for Diagnosing Milk and Egg Allergy in Younger Children. *J Clin Med*. 2020;9(12):3942. doi: 10.3390/jcm9123942
13. Quaglia S., De Leo L., Ziberna F. Intestinal-mucosa anti-transglutaminase antibody assays to test for genetic gluten intolerance. *Cell Mol Immunol*. 2014;11(6):617–20. doi: 10.1038/cmi.2014.32
14. Mansueto P., Seidita A., D'Alcamo A. Non-celiac gluten sensitivity: literature review. *J Am Coll Nutr*. 2014;33(1):39–54. doi: 10.1080/07315724.2014.869996
15. Bucci C., Zingone F., Russo I. Gliadin does not induce mucosal inflammation or basophil activation in patients with nonceliac gluten sensitivity. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11(10):1294–1299.e1. doi: 10.1016/j.cgh.2013.04.022
16. Kryuchko T., Nesina I., Tkachenko O. Diagnostic algorithm and peculiarities of monitoring for infants with disorders of the gastrointestinal tract. *Wiad Lek*. 2017;70(2 pt 2):275–281.
17. Wiecek S., Wos H., Horowska-Ziaja S. Lactose Intolerance in Children with IgE-Dependent Allergy to Milk Proteins. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol*. 2016;29(2):86–90. doi: 10.1089/ped.2016.0654
18. Bychkova N. CD3+CD294+ T-lymphocytes of the 2nd type of immune response and their role in the development of allergic inflammation. *Medical Immunology*. 2022;24(5):935–946. doi: 10.15789/1563-0625-CCO-2543. (in Russian)
19. Sharma N., Bhatia S., Chunduri V. Pathogenesis of Celiac Disease and Other Gluten Related Disorders in Wheat and Strategies for Mitigating Them. *Front Nutr*. 2020;7:6. doi: 10.3389/fnut.2020.00006