

Оригинальные работы

УДК: 616-056.3

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ACE И PLA2G7 У ДЕТЕЙ С ПИЩЕВОЙ АНАФИЛАКСИЕЙ

Н.В. Есакова¹, Т.С. Окунева¹, Е.К. Саакян², Н.С. Кондратьева², З.Г. Кокаева²,
Е.А. Климов^{2,3}, А.Н. Пампура¹

¹ ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии» ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», г. Москва

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, г. Москва

³ Университетская диагностическая лаборатория, г. Москва

Ключевые слова: пищевая аллергия, анафилаксия, фактор активации тромбоцитов (ФАТ), ФАТ-ацетилгидролаза, ангиотензинпревращающий фермент (АПФ), транскрипционная активность гена, атопический дерматит, латентная сенсibilизация

Цель. Выявить особенности экспрессии генов PLA2G7 и ACE у пациентов с пищевой анафилаксией (вне анафилактической реакции).

Материалы и методы. В исследование включены 27 детей с диагнозом «пищевая анафилаксия», группу сравнения составили 35 детей с атопическим дерматитом. В группу контроля вошли 35 детей без аллергических заболеваний, которые были распределены на 2 подгруппы: K1 — с отсутствием сенсibilизации (n=26), K2 — с латентной сенсibilизацией (n=9). Выделение РНК из цельной крови осуществлялось с использованием наборов Trizol RNA Prep (ООО «Лаборатория Изоген», г. Москва). Для получения кДНК использовался набор MMLV RT kit (ЗАО «Евроген», г. Москва). ПЦР в режиме реального времени проводилось на приборе CFX-96 (Bio-Rad, USA) с использованием смеси для ПЦР qPCRmix-HS (ЗАО «Евроген», г. Москва). Праймеры и зонды синтезированы ООО «ДНК-синтез» (г. Москва).

Результаты. У пациентов с анафилаксией выявлено снижение экспрессии гена PLA2G7 относительно детей групп контроля ($p < 0,05$). Показано снижение экспрессии гена PLA2G7 и частоты обнаружения экспрессии гена ACE у пациентов с анафилаксией средней и тяжелой степени тяжести относительно детей с анафилаксией легкой степени ($p < 0,05$). В ходе исследования выявлена взаимосвязь экспрессии генов PLA2G7 и ACE с клинической картиной анафилаксии.

Заключение. Снижение уровня мРНК генов PLA2G7 и ACE у детей с пищевой анафилаксией может рассматриваться как биомаркер риска тяжелой анафилаксии.

Введение

Многочисленные проблемы в вопросах диагностики и лечения такого потенциально смертельного состояния, как анафилаксия, продолжают существовать повсеместно. В этой связи актуальным представляется изучение роли ряда медиаторов и ферментов, участвующих в развитии анафилактических реакций [1–3]. В частности, особый интерес вызывает исследование фактора активации тромбоцитов (ФАТ) и разрушающего его фермента — ацетилгидролаза фактора активации тромбоцитов.

Адрес для корреспонденции

Н.В. Есакова

E-mail: env007@rambler.ru

По литературным данным, уровни ФАТ и ФАТ-ацетилгидролазы в сыворотке крови пациентов коррелируют с тяжестью анафилактических реакций, а ингибирование связывания ФАТ с его рецепторами уменьшает тяжелые симптомы анафилаксии [2, 3]. Кроме того, имеются единичные исследования, демонстрирующие роль ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) в развитии симптомов и тяжести анафилаксии [4, 5]. К сожалению, подобные работы единичны, и большая их часть выполнена в момент эпизода анафилаксии, что крайне затрудняет интерпретацию и использование полученных результатов в клинической практике. В этой связи особую практическую ценность и актуальность приобретают исследования у пациентов, страдающих анафилаксией, вне эпизода анафилактической реакции.

Вышеизложенное обосновало цель настоящего исследования — выявить особенности транскрипционной активности генов *PLA2G7* (кодирующего ФАТ-ацетилгидролазу) и *ACE* (кодирующего АПФ) у пациентов с пищевой анафилаксией (вне эпизода анафилактической реакции).

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе отделения аллергологии и клинической иммунологии ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии» ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» за период с 2011 по 2013 г.

В исследование включены 27 детей (16 мальчиков и 11 девочек) с диагнозом «пищевая анафилаксия» (вне эпизода анафилаксии) в возрасте от 8 мес до 15 лет (Me=6 лет [$Q_1 - 3$; $Q_3 - 11$]). Диагноз анафилаксии был выставлен ретроспективно на основании медицинской документации и анализа данных, полученных путем анкетирования пациентов и их родителей посредством разработанного авторами опросника, включающего клинические критерии диагностики анафилаксии, изложенные в согласительном документе Европейской академии аллергологии и клинической иммунологии — ЕААСТ [6]. Тяжесть анафилаксии оценивалась как: 1 — легкая, 2 — средняя и 3 — тяжелая в соответствии со стандартными критериями тяжести [6]. Всем пациентам проводилось аллергологическое обследование, включающее определение концентрации специфических IgE иммунофлуоресцентным методом (ImmunoCAP 100 (Phadia AB, Швеция)). Спектр аллергенов определялся индивидуально. У всех пациентов выявлялась сенсibilизация к пищевым аллергенам, с которыми были связаны анафилактические реакции.

Группу сравнения составили 35 детей (23 мальчика и 12 девочек) с атопическим дерматитом в возрасте от 5 мес до 17 лет (Me=5 лет [$Q_1 - 4$; $Q_3 - 9$]).

В группу контроля вошли 35 детей без аллергических заболеваний, которые были распределены на 2 подгруппы (K1 и K2): K1 — с отсутствием сенсibilизации ($n=26$; возраст Me=5 лет [$Q_1 - 4$; $Q_3 - 7$]), K2 — с латентной сенсibilизацией ($n=9$; возраст Me=5 лет [$Q_1 - 4$; $Q_3 - 7$]).

Выявление возможной сенсibilизации у детей контрольной группы осуществлялось определением иммунофлуоресцентным методом концентрации специфических IgE в сыворотке крови (Phadiatop®, ImmunoCap 100 (Phadia AB, Швеция)).

Исследование было одобрено Локальным комитетом по этике при ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт педиатрии и детской хирургии» МЗ РФ (протокол № 42/13) и соответствует принципам, изложенным в декларации Хельсинкского соглашения. Информированное согласие было получено от всех пациентов либо от их родителей и опекунов.

Для анализа транскрипционной активности (уровень мРНК) генов *PLA2G7* и *ACE* использовалась цельная кровь пациентов. У детей с анафилаксией забор крови осуществлялся вне эпизода анафилактической реакции. Выделение РНК из цельной крови осуществлялось с использованием наборов Trizol RNA Prep (ООО «Лаборатория Изоген», г. Москва). Для получения кДНК использовался набор MMLV RT kit (ЗАО «Евроген», г. Москва). Праймеры и зонд для кДНК гена *PLA2G7* разработаны нами и синтезированы ООО «ДНК-синтез» (г. Москва): F: GGACAAGTCTTGGCTCTACCTTA; R: TGCTCTTTGCCGTACCTGC; probe: FAM-ACCCTGAAACAAGAGGAGGAGACACAT-BHQ1. Праймеры и зонд для кДНК гена *ACE* разработаны нами и синтезированы ООО «ДНК-синтез» (г. Москва): F: 5'-CACCTACAGCGTGGCCACT-3'; R: 5'-GTACATAGACCTCCACGAGTC-3'; probe: 5'-VIC-CAGGCTGCCCGGCTCAATGG-BHQ2-3'. В качестве референсного использован ген «домашнего хозяйства» GAPDH (праймеры и зонд разработаны и синтезированы ООО «ДНК-синтез», г. Москва). Стандарты для ПЦР в режиме реального времени готовили наработкой ампликонов в плазмиде pAL-TA (ЗАО «Евроген», г. Москва), после выделения и очистки плазмиду разводили в 100, 1000 и 10 000 раз. ПЦР в режиме реального времени проводилось на приборе CFX-96 (Bio-Rad, USA) с использованием смеси для ПЦР qPCRmix-HS (ЗАО «Евроген», г. Москва). Условия ПЦР общие для обоих генов: 94 °C, 3 мин, затем 45 циклов: 94 °C, 20 с, 60 °C, 15 с и 72 °C, 30 с. Эксперименты проводили в трехкратной повторности для каждого образца.

Для выравнивания уровня экспрессии генов *PLA2G7* и *ACE* в образцах рассчитывали параметр $\Delta\Delta C_T$ по формуле ($\Delta C_T(PLA2G7; ACE)$ минус $\Delta C_T(GAPDH)$), где ΔC_T — среднее значение повторностей эксперимента (реакции ПЦР ставили в трех повторностях для каждого образца). Для количественной оценки уровня экспрессии использовали параметр $2^{-\Delta\Delta C_T}$, отражающий уровень экспрессии генов *PLA2G7* и *ACE* в исследуемых образцах. Для визуализации параметра $2^{-\Delta\Delta C_T}$ использовали $\lg 2^{-\Delta\Delta C_T}$, позволяющий оценить порядок изменения экспрессии генов *PLA2G7* и *ACE*. Все расчеты проводили в Excel (Microsoft Office 2010).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с вычислением медианы (Me) верхнего и нижнего квартилей [Q_1 , Q_3]. Достоверность различий при сравнении двух групп вычисляли по формулам непараметрической статистики (критерий Фишера, U-тест) с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 8.0. Критической величиной уровня значимости считали $p=0,05$.

Результаты

Транскрипционная активность гена *PLA2G7* была достоверно снижена в группе пациентов с

анафилаксией ($Me=0,045$ [$Q_1 - 0,001$; $Q_3 - 0,193$]) относительно подгруппы контроля K1 (без сенсibilизации) ($Me=0,127$ [$Q_1 - 0,033$; $Q_3 - 1,71$]) и детей подгруппы контроля K2 (с латентной сенсibilизацией) ($Me=6,9$ [$Q_1 - 0,6$; $Q_3 - 17$]) ($p<0,05$; Манна–Уитни, U-тест). В группе детей с atopическим дерматитом также отмечалось снижение экспрессии гена *PLA2G7* ($Me=0,018$ [$Q_1 - 0,004$; $Q_3 - 0,116$]) относительно детей контрольных подгрупп ($p<0,05$; Манна–Уитни, U-тест). Достоверных различий в транскрипционной активности исследуемого гена у детей с анафилаксией и пациентов с atopическим дерматитом выявлено не было ($p>0,05$; Манна–Уитни, U-тест). Обращала на себя внимание высокая степень экспрессии гена *PLA2G7* у детей подгруппы контроля с латентной сенсibilизацией (K2) ($Me=6,9$ [$Q_1 - 0,6$; $Q_3 - 17$]), относительно подгруппы детей без сенсibilизации (K1) ($p<0,05$; Манна–Уитни, U-тест).

При определении транскрипционной активности гена *ACE* у части детей исследуемых групп отмечалась потеря экспрессии (экспрессия не определялась) (рис. 1). Частота выявления экспрессии гена

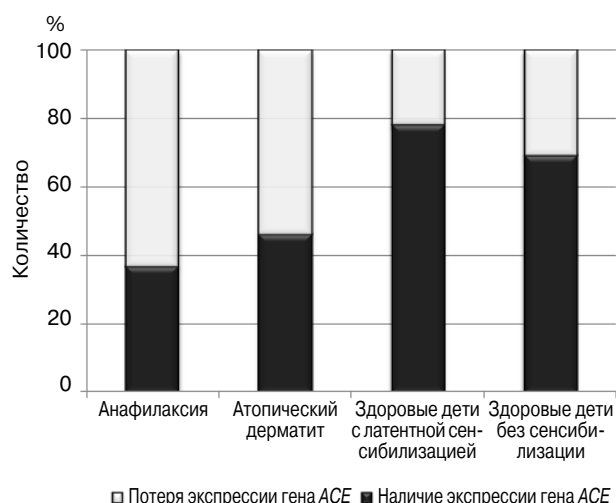


Рис. 1. Частота обнаружения и потери экспрессии гена *ACE* в исследуемых группах

ACE в группе пациентов с пищевой анафилаксией составила 37% ($n=10$) и была достоверно ниже частоты обнаружения экспрессии исследуемого гена в контрольных подгруппах детей как без сенсibilизации (K1) 69% ($n=18$), так и с латентной сенсibilизацией (K2) 78% ($n=7$) ($p<0,05$; критерий Фишера). В группе детей с atopическим дерматитом частота обнаружения экспрессии гена *ACE* составила 46% ($n=16$) и достоверно отличалась от таковой в подгруппе контроля (K1) без сенсibilизации ($p<0,05$; критерий Фишера). Достоверных различий в частоте выявления экспрессии исследуемого гена у детей с atopическим дерматитом относительно пациентов с пищевой анафилаксией и подгруппы контроля с

латентной сенсibilизацией (K2) выявлено не было ($p>0,05$; критерий Фишера).

Уровень транскрипционной активности гена *ACE* в группах пациентов с анафилаксией, больных с atopическим дерматитом и в контрольной подгруппе детей без сенсibilизации (K1) достоверно не различался ($p>0,5$; Манна–Уитни, U-тест), при этом медиана экспрессии гена *ACE* в данных группах была одинаковой и составила $Me=0,02$. Медиана экспрессии исследуемого гена в контрольной подгруппе детей с латентной сенсibilизацией (K2) ($Me=0,28$ [$Q_1 - 0,005$; $Q_3 - 16,56$]) была выше более чем в 10 раз относительно транскрипционной активности гена *ACE* в группах пациентов с анафилаксией, с atopическим дерматитом и в контрольной подгруппе детей без сенсibilизации (K1), однако достоверных различий выявлено не было ($p>0,5$; Манна–Уитни, U-тест).

В ходе дальнейшего исследования проведен анализ экспрессии генов *PLA2G7* и *ACE* у пациентов с анафилаксией различной степени тяжести.

Уровень транскрипционной активности гена *PLA2G7* был достоверно снижен в группе детей с тяжелой анафилаксией ($n=8$) ($Me=0,001$ [$Q_1 - 0,0002$; $Q_3 - 0,004$]) и в группе пациентов с анафилаксией средней степени тяжести ($n=10$) ($Me=0,03$ [$Q_1 - 0,005$; $Q_3 - 0,08$]), по сравнению с детьми с анафилаксией легкой степени ($n=9$) ($Me=0,19$ [$Q_1 - 0,16$; $Q_3 - 0,38$]), ($p<0,05$; Манна–Уитни, U-тест) (рис. 2).

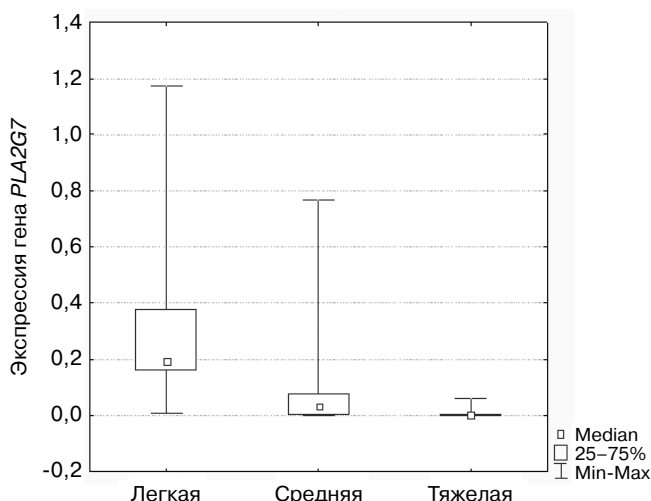


Рис. 2. Экспрессия гена *PLA2G7* у детей с анафилаксией различной степени тяжести

У детей со средней и тяжелой анафилаксией ($n=18$) транскрипционная активность гена *PLA2G7* была снижена более чем в три раза ($Me=0,005$ [$Q_1 - 0,0005$; $Q_3 - 0,06$]) относительно таковой в группе детей с atopическим дерматитом ($p<0,05$). Следует отметить, что бронхиальная астма встречалась достоверно чаще (67%) в группе детей со средней и тяжелой степенью тяжести анафилаксии по сравне-

нию с группой детей с анафилаксией легкой степени (13%) ($p < 0,05$; Манна–Уитни, U-тест).

Частота обнаружения экспрессии гена *ACE* в группах пациентов с легкой ($n=9$), средней ($n=10$) и тяжелой ($n=8$) степенью тяжести анафилаксии достоверно не различалась ($p > 0,05$; критерий Фишера) и составила 55% ($n=5$), 20% ($n=2$) и 38% ($n=3$) соответственно. Экспрессия гена *ACE* была достоверно снижена в группе ($n=5$) детей с тяжелой и среднетяжелой анафилаксией ($Me=0,004$ [$Q_1 - 0,0006$; $Q_3 - 0,005$]), относительно пациентов ($n=5$) с анафилаксией легкой степени тяжести ($Me=0,06$ [$Q_1 - 0,02$; $Q_3 - 0,196$]) ($p < 0,05$; Манна–Уитни, U-тест).

В процессе анализа мы попытались выявить взаимосвязь транскрипционной активности генов *PLA2G7* и *ACE* с клинической картиной анафилаксии.

У детей ($n=6$), имеющих в анамнезе клинические симптомы со стороны сердечно-сосудистой системы (падение артериального давления, выраженная тахикардия/брадикардия) при развитии анафилактических реакций, уровень экспрессии гена *PLA2G7* был достоверно снижен ($Me=0,001$ [$Q_1 - 0,000001$; $Q_3 - 0,005$]) по сравнению с экспрессией данного гена ($Me=0,08$ [$Q_1 - 0,006$; $Q_3 - 0,3$]) у пациентов ($n=21$) с анафилаксией, протекающей без симптомов со стороны сердечно-сосудистой системы ($p < 0,05$; Манна–Уитни, U-тест).

Экспрессия гена *ACE* у пациентов, имеющих в анамнезе выраженные жизнеугрожающие отеки языка, мягких тканей ротоглотки ($n=10$), выявлялась лишь у одного ребенка (10%), при этом частота обнаружения экспрессии исследуемого гена у детей с анафилаксией с легкими локализованными отеками или без таковых в анамнезе ($n=17$) составила 53% ($p < 0,05$; критерий Фишера).

На заключительном этапе работы проводился корреляционный анализ транскрипционной активности генов *PLA2G7* и *ACE* в исследуемых группах. Достоверная корреляция генов *PLA2G7* и *ACE* определялась в группе детей с анафилаксией, пациентов с atopическим дерматитом и детей контрольной подгруппы с латентной сенсibilизацией (K2) ($R=0,8$, $p < 0,05$; $R=0,6$, $p < 0,05$; $R=0,9$; $p < 0,05$; по методу Спирмена, соответственно). В контрольной подгруппе детей без сенсibilизации (K1) взаимосвязи экспрессии исследуемых генов не наблюдалось.

Обсуждение

На сегодняшний день проведен ряд работ, посвященных изучению роли ФАТ и ФАТ-ацетилгидролазы в патогенезе анафилаксии [2, 3, 7, 8]. Ранее Vadas и соавторы [2] показали, что в момент анафилактического приступа в сыворотке крови пациентов был отмечен высокий уровень ФАТ и низкий уровень ФАТ-ацетилгидролазы, которые коррелировали с тяжестью анафилактических реакций. Pravettoni и соавторы при анализе базального уровня ФАТ-

ацетилгидролазы у пациентов с анафилаксией к яду насекомых (вне эпизода анафилаксии) продемонстрировали схожие результаты [3]. В другом исследовании анафилаксии на модели животных (мыши) Agias и соавторы [9] определили, что ингибирование связывания ФАТ с его рецепторами уменьшает тяжелые симптомы анафилаксии, а в сочетании с антигистаминными препаратами почти полностью купирует развитие анафилактической реакции. Ферментативная инактивация ФАТ в момент анафилактической реакции у мышей за счет повышения ФАТ-ацетилгидролазы снижает риск летальной анафилаксии [10], а дефицит ФАТ-ацетилгидролазы в свою очередь повышает риск развития тяжелой и фатальной анафилаксии [8].

Учитывая, что активность ФАТ-ацетилгидролазы напрямую зависит от транскрипционной активности гена *PLA2G7*, в ходе нашего исследования мы определяли уровень мРНК гена *PLA2G7* у пациентов с анафилаксией вне приступа анафилактической реакции, предполагая, что снижение экспрессии данного гена определяет низкий уровень ФАТ-ацетилгидролазы в период анафилактического приступа. Подобных исследований до настоящего времени не проводилось. Было показано, что уровень транскрипционной активности данного гена был достоверно снижен не только у детей с анафилаксией, но и у пациентов с atopическим дерматитом относительно детей контрольных подгрупп. В ходе работы был также выявлен высокий уровень транскрипционной активности гена *PLA2G7* у детей с латентной сенсibilизацией, по нашему мнению, возможно, именно повышение экспрессии данного гена у этой группы пациентов в определенной степени препятствует развитию клинических манифестаций atopии.

Доказанным фактором риска развития тяжелой и фатальной анафилаксии, особенно у детей, является бронхиальная астма [11]. Мутации гена ФАТ-ацетилгидролазы, связанные со снижением активности соответствующего фермента, повышают риск развития у европейцев тяжелой бронхиальной астмы и atopии в целом [12–14]. По результатам настоящего исследования, бронхиальная астма достоверно чаще имела место у детей с тяжелой и среднетяжелой анафилаксией. Более того, в ходе исследования была выявлена взаимосвязь степени тяжести анафилаксии с уровнем экспрессии гена *PLA2G7*, при этом у пациентов с тяжелой и среднетяжелой анафилаксией экспрессия исследуемого гена была значительно снижена относительно детей с анафилаксией легкой степени тяжести, пациентов с atopическим дерматитом и детей без аллергических заболеваний. Таким образом, можно предположить, что снижение транскрипционной активности гена *PLA2G7* у пациентов с анафилаксией (вне эпизода анафилактической реакции) является маркером, ассоциированным с тяжестью анафилаксии.

Эффекты ФАТ при развитии анафилаксии в значительной степени определяют изменения работы со стороны сердечно-сосудистой системы в виде снижения коронарного кровотока, гиповолемии, повышения сосудистой проницаемости, нарушения функции миокарда, миграции и активации нейтрофилов и эозинофилов в пределах сердечной ткани, а также синдрома аллергической стенокардии и аллергического инфаркта миокарда, в настоящее время известного как синдром Kounis [1, 15]. Мутации гена ФАТ-ацетилгидролазы ассоциированы с наличием у пациентов инсульта, атеросклероза и инфаркта миокарда [16]. Кроме того, ФАТ является основным фактором развития диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), которое может иметь место в случае фатальной анафилаксии [17]. В ходе настоящего исследования у детей с анафилаксией, имеющих в анамнезе клинические симптомы со стороны сердечно-сосудистой системы при развитии анафилактических реакций, было выявлено значительное снижение транскрипционной активности гена *PLA2G7* относительно пациентов с анафилаксией без признаков поражения сердечно-сосудистой системы.

Имеются единичные исследования, посвященные изучению роли АПФ в развитии анафилактических реакций [4, 18, 19]. Так, были продемонстрированы низкие уровни АПФ в сыворотке крови больных с анафилаксией к яду насекомых [18, 19]. Summers и соавторы установили, что у пациентов, имеющих в анамнезе выраженный отек глотки и гортани при развитии острых аллергических реакций после употребления арахиса и орехов деревьев, уровни АПФ в сыворотке крови были значительно снижены относительно пациентов с пищевой аллергией к арахису и орехам без подобных симптомов в анамнезе [4]. В свою очередь, Varney и соавторы в своей работе продемонстрировали, что наличие таких клинических симптомов, как выраженный, жизнеугрожающий отек мягких тканей и глубокая гипотензия у пациентов с пищевой, лекарственной и инсектной анафилаксией, в значительной степени зависит от аллельной формы гена *ACE*, которая определяет активность и период полураспада брадикинина [5].

В результате настоящей работы было установлено, что для больных с пищевой анафилаксией (вне анафилактической реакции) характерно снижение частоты обнаружения экспрессии гена *ACE* (ответственного за активность АПФ) в клетках крови относительно детей контрольных подгрупп без аллергических заболеваний. Уровень транскрипционной активности гена *ACE* достоверно коррелировал с тяжестью анафилактических реакций. Более того, были получены данные относительно связи экспрессии исследуемого гена с клинической картиной анафилаксии. Пациенты с анафилаксией, имеющие

в анамнезе выраженные жизнеугрожающие отеки, имели снижение частоты обнаружения экспрессии гена *ACE* в сравнении с детьми, у которых были локальные отеки или таковые отсутствовали.

Таким образом, снижение уровня мРНК генов *PLA2G7* и *ACE* в клетках крови детей с пищевой анафилаксией (вне анафилактической реакции) может являться биомаркером развития тяжелой анафилаксии. Вероятно, полученные данные обосновывают перспективность использования фармакотерапии, блокирующей эффекты ФАТ в момент анафилактической реакции. Кроме того, представленные результаты предполагают разработку новых методов профилактики анафилаксии, основанную на индукции базисной активности генов *PLA2G7* и *ACE*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kounis N.G., Soufras G.D., Hahalis G. Anaphylactic Shock: Hypersensitivity Associated Syndrome Seems to be the Primary Cause. *N. Am. J. Med. Sci.* 2013, v. 5, p. 631-636.
2. Vadas P., Perelman B., Liss G. Platelet-activating factor, histamine, and tryptase levels in human anaphylaxis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013, v. 131, p. 144-149.
3. Pravettoni V., Piantanida M., Primavesi L. et al. Basal platelet-activating factor acetylhydrolase: Prognostic marker of severe Hymenoptera venom anaphylaxis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014, v. 133, p. 1218-1220.
4. Summers C.W., Pumphrey R.S., Woods C.N. et al. Factors predicting anaphylaxis to peanuts and tree nuts in patients referred to a specialist center. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008, v. 121, p. 632-638.
5. Varney V.A., Warner A., Ghosh A. et al. IgE-mediated anaphylaxis to foods, venom, and drugs: influence of serum angiotensin converting enzyme levels and genotype. *J. Allergy (Cairo)*. 2012, v. 4, p. 1-9.
6. Muraro G.R., Clark A., Eigenmann P. et al. The management of anaphylaxis in childhood: position paper of the European academy of allergology and clinical immunology. *Allergy*. 2007, v. 62, p. 857-871.
7. Vadas P., Gold M., Perelman B. et al. Platelet-activating factor, PAF acetylhydrolase, and severe anaphylaxis. *N. Engl. J. Med.* 2008, v. 358, p. 28-35.
8. Vadas P., Gold M., Liss G. et al. PAF acetylhydrolase deficiency predisposes to fatal anaphylaxis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003, v. 111, p. 206.
9. Arias K., Baig M., Colangelo M. et al. Concurrent blockade of platelet-activating factor and histamine prevents life-threatening peanut-induced anaphylactic reactions. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009, v. 124, p. 307-314.
10. Fukuda Y., Kawashima H., Saito K. et al. Effect of human plasma-type platelet-activating factor acetylhydrolase in two anaphylactic shock models. *Eur. J. Pharmacol.* 2000, v. 390, p. 203-207.
11. Simons F.E., Arduoso L.R., Bilò M.B. et al. World Allergy Organization anaphylaxis guidelines: summary. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011, v. 127, p. 587-593.
12. Hiramoto M., Yoshida H., Imaizumi T. et al. A mutation in plasma platelet-activating factor acetylhydrolase (*Val279>Phe*) is a genetic risk factor for stroke. *Stroke*. 1998, v. 28, p. 2417-2420.
13. Satoh N., Asano K., Naoki K. et al. Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase deficiency in Japanese patients with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999, v. 159, p. 974-979.

14. Kruse S., Mao X.Q., Heinzmann A. et al. The *Ile198Thr* and *Ala379Val* variants of plasmatic PAF-acetylhydrolase impair catalytical activities and are associated with atopy and asthma. *Am. J. Hum. Genet.* 2000, v. 66, p. 1522-1530.
15. Braquet P., Touqui L., Shen T.Y., Vargaftig B.B. Perspectives in platelet-activating factor research. *Pharmacol. Rev.* 1987, v. 39, p. 97-145.
16. Yamada Y., Ichihara S., Izawa H. et al. Association of a *G994→T(Val279→Phe)* polymorphism of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene with myocardial damage in Japanese patients with nonfamilial hypertrophic cardiomyopathy. *J. Hum. Genet.* 2001, v. 46, p. 436-441.
17. Choi I.H., Ha T.Y., Lee D.G. et al. Occurrence of disseminated intravascular coagulation (DIC) in active systemic anaphylaxis: role of platelet-activating factor. *Clin. Exp. Immunol.* 1995, v. 100, p. 390-394.
18. Hermann K., Ring J. The renin-angiotensin system and hymenoptera venom anaphylaxis. *Clin. Exp. Allergy.* 1993, v. 23, p. 762-769.
19. Hermann K., Tschirnschnitz M., Eschenbach C., Ring J. Histamine, tryptase, norepinephrine, angiotensinogen, angiotensin-converting enzyme, angiotensin I and II in plasma of patients with hymenoptera venom anaphylaxis. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1994, v. 104, p. 379-384.

Статья поступила 23.01.2014 г., принята к печати 22.01.2015 г.
Рекомендована к публикации Е.С. Феденко

ACE AND PLA2G7 GENES EXPRESSION IN CHILDREN WITH A HISTORY OF FOOD ANAPHYLAXIS

Esakova N.V.¹, Okuneva T.S.¹, Saakyan E.K.², Kondratieva N.S.², Kokaeva Z.G.², Klimov E.A.^{2,3}, Pampura A.N.¹

¹ Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

² Department of Genetics, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow

³ Universitydiagnostic Laboratory, Ltd, Moscow

Key words: anaphylaxis, food allergy, platelet-activating factor (PAF), PAF-acetylhydrolase, angiotensin-converting enzyme (ACE), gene transcriptional activity, atopic dermatitis

Background. The aim of this study was to evaluate transcriptional activity of *PLA2G7* (platelet-activating factor acetylhydrolase) and *ACE* (angiotensin-converting enzyme) genes in patients with a history of anaphylaxis.

Methods. 97 children were enrolled in the study: 27 children with a history of food anaphylaxis; 35 children with atopic dermatitis; 35 children without allergic diseases: 26 children were IgE-negative, 9 children were IgE-positive («Phadia 100»; «Phadia AB», Sweden).

RNA was extracted from blood samples with Trizol RNA Prep kits («Isogen», Russia). cDNA production was performed with MMLV RT kit («Evrogen», Russia). Real-time PCR was held with CFX-96 device («Bio-Rad», USA) and qPCRMix-HS PCR mix («Evrogen», Russia). Oligonucleotide primers and probes were synthesized at «DNK-Sintez» (Russia).

Results. In children with a history of food anaphylaxis decrease in *PLA2G7* gene expression was detected comparing to control groups ($p < 0,05$). Transcriptional activity of *PLA2G7* and detection rate of *ACE* gene expression were lower in children with moderate/severe anaphylaxis comparing with mild anaphylaxis children ($p < 0,05$). The study revealed relationship of *PLA2G7* and *ACE* gene expression and clinical features of anaphylaxis.

Conclusion. Reduction of blood cells *PLA2G7* and *ACE* mRNA levels in children with a history of food anaphylaxis may be considered to be a biomarker of severe anaphylaxis.