

两个重要的高血压个体化用药相关基因多态位点及检测方法的研究进展

魏晓纯¹, 何震宇^{2*}

¹广东药科大学临床药学院, 广东 广州

²广东药科大学基础医学院, 广东 广州

收稿日期: 2024年3月25日; 录用日期: 2024年4月19日; 发布日期: 2024年4月28日

摘要

高血压病是最常见的慢性心血管病, 市场上降压药物种类繁多, 但不同个体相关的药物代谢基因存在多态性, 导致疗效千差万别。CYP2C9基因1075 A > C位点和ADRB1基因1165 G > C位点是对高血压治疗药物疗效有重要影响的两个位点, 本文对其临床意义、检测方法进行综述。

关键词

CYP2C9基因, ADRB1基因, 基因多态性, 基因检测

Advances in Polymorphic Loci and Detection Methods for Two Important Hypertension Individualized Medication-Related Genes

Xiaochun Wei¹, Zhenyu He^{2*}

¹School of Clinical Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou Guangdong

²School of Basic Medical Sciences, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou Guangdong

Received: Mar. 25th, 2024; accepted: Apr. 19th, 2024; published: Apr. 28th, 2024

Abstract

Hypertension is the most common chronic cardiovascular disease, and there are many types of antihypertensive drugs on the market, but there are polymorphisms in the drug metabolism genes

*通讯作者。

文章引用: 魏晓纯, 何震宇. 两个重要的高血压个体化用药相关基因多态位点及检测方法的研究进展[J]. 生物医学, 2024, 14(2): 298-305. DOI: 10.12677/hjbm.2024.142033

associated with different individuals, resulting in a wide range of therapeutic efficacy. 1075 A > C locus of CYP2C9 gene and 1165 G > C locus of ADRB1 gene are the two loci that have an important influence on the efficacy of antihypertension drugs, and this paper provides a review of their clinical significance, and the methods used to detect them.

Keywords

CYP2C9 Gene, ADRB1 Gene, Gene Polymorphism, Genetic Testing

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

高血压是我国最常见的慢性疾病之一, 该病与人体动脉血压持续偏高有关, 以人体内流动血液对血管壁的压力值持续高于正常范围(收缩压 ≥ 130 mmHg 和/或舒张压 ≥ 80 mmHg)为主要特征[1]。根据《中国心血管健康与疾病报告 2022》显示, 我国高血压患病总人数约为 2.445 亿, 18 岁及以上成年人高血压粗患病率为 27.9%, 且呈上升趋势[2]。但我国人群高血压患者的知晓率、治疗率和控制率分别为 51.6%、45.8%和 16.8%, 近年来有显著提高但仍处于较低水平。

目前市面上用于控制原发性高血压最常见的药物为 β 受体阻滞剂和血管紧张素 II 受体阻滞剂(ARB) [3]。近年研究发现降压药的疗效除了受患者的年龄、生活习惯、用药依从性、合并用药情况、疾病的进展等多种因素影响外, 经过大量临床实践证明, 携带不同基因型的患者, 降压药物对其治疗效果、患者对药物的耐受性及用药后所产生的毒副作用存在着明显的个体化差异[4] [5], 各类药物相关受体及其相关代谢酶的差异是造成人体对药物反应产生个体差异的根本原因。截至目前, 已知的高血压的遗传结构包括约 30 个单基因罕见变异及至少 1500 个单核苷酸变异[6]。

CYP2C9 是一种细胞色素 P450 酶, 有研究表明, CYP2C9 是催化氯沙坦、厄贝沙坦等血管紧张素 II 受体阻滞剂氧化的主要 P450 同工酶[7] [8] [9]。在我国人群 CYP2C9*3 是主要的等位基因突变点[10], 频率约为 3.3%。临床研究表明, 杂合子(CYP2C9*1/*3)个体对沙坦类药物的代谢转换率仅为野生型的一半, 突变型纯合子(CYP2C9*3/*3)个体只有野生型纯合子的 4%~6%。

ADRB1 属于 G 蛋白偶联受体超家族, 是心肌细胞表达的最重要的肾上腺素受体之一, 它通过 G 蛋白 - 腺苷酸环化酶 - 环腺苷酸 - 蛋白激酶 A (PKA)信号通路来调节血压。在中国, ADRB1 基因在人群中的敏感型高达 70% [11], 它对美托洛尔等 β 受体阻滞剂的疗效具有重要影响。研究表明, 不同基因型患者在服用美托洛尔药物后的治疗效果纯合突变型 CC > 杂合型 GC > 纯合野生型 GG [12]。

1.1. CYP2C9 基因多态位点

细胞色素 P450 超家族是人体代谢药物的主要酶, 催化多种内、外源物质的代谢[13]。CYP 由多个亚家族组成, 其中 CYP2C9 是第二亚家族中的一个重要成员, 占肝微粒体 P450 蛋白总量的 20%。CYP2C9 基因位于染色体 10q24.2 上, 全长为 55 kb, 由 490 个氨基酸残基组成。据统计, 约有 15%的临床药物代谢受 CYP2C9 的影响。较早发现的突变等位基因是 CYP2C9*2、CYP2C9*3、CYP2C9*4、CYP2C9*5 及 CYP2C9*6, 其中 CYP2C9*2 (rs1799853)和 CYP2C9*3 (rs1057910)等位基因使 CYP2C9 代谢酶活性降低[14]。

有研究表明 CYP2C9 基因突变使酶的催化活性下降, Michaelis-Menten 常数(Km)升高即该酶与底物亲和力下降, 或最大反应速率(Vmax)下降, 导致药物的体内清除率(Vmax/Km)下降[15], 不过 CYP2C9*2 对药物体内清除率的影响要弱于 CYP2C9*3。CYP2C9*3 对不同的药物催化代谢能力的影响不尽相同, 具有显著的底物依赖性。当一个人同时携带两个功能降低的等位基因时, 如 CYP2C9*2/*2、CYP2C9*3/*3、CYP2C9*2/*3, 都会使药物代谢酶活性降低。经研究证实, CYP2C9 基因在抗惊厥药、抗凝药、抗高血压药、非甾体抗炎药和降血糖药的代谢中发挥着重要作用, 而当人体内 CYP2C9 基因存在变异时, 将使上述药物的副作用发生频率增加。

CYP2C9*2 和 CYP2C9*3 等位基因为常见单核苷酸多态性(SNP), 在许多种族中均存在, 但其等位基因分布频率存在种族间差异[16], 在白种人中, CYP2C9*2 和*3 的等位基因频率明显高于其他人种。在中国人群, CYP2C9*3 是主要的等位基因突变点, 其频率约为 3.3%。CYP2C9*3 是 CYP2C9 基因第 7 号外显子的 1075 位碱基 A 突变为 C, 导致其编码蛋白质一级结构的第 359 位异亮氨酸(Ile)被亮氨酸(Leu)所取代。由此所导致的 CYP2C9 基因所表达的酶空间结构和功能的改变最终致使 CYP2C9 酶活性出现下降甚至丧失, 其对底物的代谢清除能力发生根本变化。研究发现 CYP2C9*3 等位基因会大大降低氯沙坦、厄贝沙坦等血管紧张素 II 受体阻滞剂治疗高血压效果, 甚至影响它们与其它种药物联合使用时的疗效, 因此携带 CYP2C9*3 突变体的患者应建议使用其他类型的降压药以达到更好的降压效果。国内有研究者采用 PCR-熔解曲线法对 1236 例原发性高血压患者的 CYP2C9*3 位点基因多态性进行分析, 对年龄和性别分组进行统计学分析, 得出结论: 高血压患者中等位基因 A 频率为 95.11%, 等位基因 C 频率为 4.89%, 均高于健康人群中的发生频率, 而年龄及性别无统计学意义[17]。国外研究者的一项研究比较了各地区与巴基斯坦人群中 CYP2C9 多态性频率差异, 欧洲各国人群的 CYP2C9*2 频率明显较高, 而中国人群的 CYP2C9*3 等位基因频率低于巴基斯坦人群[18]。

1.2. ADRB1 基因多态位点

β -肾上腺素能受体(ADRB)是一种在交感神经系统(SNS)中起关键作用的细胞表面受体, 其中 β_1 -肾上腺素能受体主要分布于心脏, 功能为调节心血管系统的生理和病理生理状态[19]。ADRB1 是一种 G 蛋白偶联受体, 在人体心肌细胞膜中大量表达, ADRB1 基因定位于染色体 10q24-q26, 于 1987 年从人体胎盘 cDNA 文库中克隆出来。ADRB1 是所有市售的 β -肾上腺素能受体阻滞剂的主要蛋白靶标。ADRB1 包含 Arg389Gly 和 Ser49Gly 两个非同义多态性。大量研究数据表明, ADRB1 基因单核苷酸多态性位点 Arg389Gly 对心血管疾病的影响更为显著[20] [21]。根据 Arg389Gly 多态性位点核苷酸序列 G1165C 点突变碱基的改变, 可形成 3 种基因型: 纯合野生型(Gly/Gly, GG)、杂合型(Arg/Gly, CG)及纯合突变型(Arg/Arg, CC)。研究表明, ADRB1 (rs1801253)位点基因多态性与高血压疾病的发展治疗密切相关[22], ADRB1 (1165 G > C)基因多态性可影响 β 受体阻滞剂美托洛尔的降压效果, Gly389Gly 基因型患者对美托洛尔的反应明显优于杂合 ADRB1 突变(Arg389Gly)的患者, 即与 GG、GC 型患者相比, CC 型患者服用美托洛尔降压药的降压效果更显著。研究发现, ADRB1 基因多态性存在种族差异, 欧美白种人群 ADRB1 基因多态性发生频率为 71.0%~78.0%, 而在美黑种人群发生频率为 58.0%。一项研究针对中国青阳地区人群 ADRB1 基因多态性进行统计, ADRB1 (1165 G > C)基因在青阳的突变频率为 74.29%, 突变基因型患者对美托洛尔的反应明显优于野生纯合子患者(约 3 倍) [23]。孙思雨、尚茂林对安徽蚌埠地区原发性高血压人群的 ADRB1 (1165 G > C)基因多态性分布频率进行研究, 发现突变型纯合子 CC、杂合子 CG、野生型纯合子 GG 的频率分别为 59.39%、35.38%、5.23% [24]。重庆永川区原发性高血压人群 ADRB1 (1165 G > C)突变型等位基因频率为 77.5% [25]。厦门地区原发性高血压人群 ADRB1 (1165 G > C)突变型等位基因频率为 57.76% [26]。

2. ADRB1 及 CYP2C9 基因多态位点的分型技术

原发性高血压是一种多基因遗传性疾病, 患者血压升高的病理生理机制受遗传和环境因素的影响, 因此产生许多基因中间表型。对降压药的相关代谢酶、转运蛋白和受体的遗传变异进行个体化检测, 可实现精准化个体降压治疗。血管紧张素受体拮抗剂和 β 受体阻断剂类药物相关基因是 CYP2C9 和 ADRB1, 因此对这两个靶点进行检测可有效提高降压药物治疗效果。

人类基因组中存在着广泛的多态性, 最简单的多态形式是发生在基因组水平上的单个核苷酸变异, 即单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)。SNP 所表现的多态性只涉及到单个碱基的变异, 这种变异可由单个碱基的转换或颠换所引起, 通常是一种二等位基因的即二态的遗传变异[27]。SNP 分布广泛, 在包含 30 亿个碱基的人类基因组中, 平均每 1000 个碱基就有一个 SNP。由于 SNP 的二态性, 在基因组筛选中 SNP 往往只需+/-的分析, 而不用分析片段的长度, 利于发展自动化技术筛选或检测 SNP。以下为 CYP2C9 基因与 ADRB1 基因多态位点常用检测方法。

2.1. PCR 直接测序法

PCR 直接测序法是 PCR 产物测序常用的循环测序法, 具有操作简便、易自动化、测序效率高、模板需要量小等特点。测序时将 ddNTP 加入 PCR 反应体系, 利用核素或荧光素标记的引物引导扩增, 从而产生不同长度的可区分 DNA 片段, 然后就能对 PCR 产物进行直接测序分析。其中 Sanger DNA 测序作为测定核酸序列的金标准被广泛应用。目前, Sanger 测序自动化通常可支持生成高达 800~1000 bp 的核酸序列[28]。

由于 PCR 直接测序法操作简便快捷, 常用于 CYP2C9 及 ADRB1 基因多态位点的检测。Sebastian Giraldo-Ocampo 等人[29]对 CYP2C9 基因外显子 2、3、5 和 7 进行 Sanger 测序, 结果检测到了 CYP2C9*2、CYP2C9*3、CYP2C9*8、CYP2C9*9、CYP2C9*11、CYP4F2*3、rs12777823 和 VKORC1*2 多态位点。马思清等[30]采用聚合酶链反应限制性片段多态性(PCR-RFLP)和 Sanger 测序分别对 NPC1L1 rs2073548、p53 rs1042522、VKORC1 rs9923231 和 CYP2C9*1/*3 多态性进行基因分型, 两种方法所得结果无明显统计学差异, 但 Sanger 测序法对试剂和仪器的规格要求更高。

2.2. 聚合酶链反应(PCR)-荧光探针法

实时荧光定量 PCR 是临床常使用的核酸检测工具之一, 它包括两种方式, 即荧光染料或荧光标记的探针对 PCR 产物进行标记跟踪, 实时监控反应过程, 并结合相应的软件对产物进行分析。荧光探针法是在 PCR 体系中加入一个 5'端标记有荧光报告基团, 3'端标记有淬灭基团的探针, 在探针完整时, 报告基团发射的荧光信号被淬灭基团吸收, 因此检测不到荧光信号; 在 PCR 的延伸阶段, 由于聚合酶的 5'端到 3'端外切酶活性, 探针被酶切降解, 使报告基团和淬灭基团分离, 从而发出荧光信号被荧光监测系统接收。荧光探针仅在与靶标结合时才会发出荧光信号, 即每形成一个荧光信号就有一条 DNA 链完成扩增, 实现了序列的定性和定量检测[31]。荧光探针法具有特异性强, 灵敏度高, 可用于多重 PCR 检测等优点。由于荧光染料法对引物特异性要求高, 易受非特异性扩增产物影响, 故科研多选择荧光探针法。

肖志琳等[32]采用聚合酶链反应(PCR)-荧光探针检测 7 个遗传多态性位点(CYP2D6*10、ADRB1、CYP2C9*3、AGTR1、ACE、CYP3A5*3 和 NPPA), 对基因型指导组和临床经验指导组治疗前后进行比较, 得出结论: 运用药物基因组学指导的高血压患者个体化用药可获得更有效的治疗效果。Elvira Muslimova 等人[33]采用实时荧光定量 PCR 技术评估 126 名慢性冠状动脉疾病患者 ADRB1 基因表达水平。然而, 实时荧光定量 PCR 检测存在一定的局限性, 它们不能在单个反应中同时检测多个不同靶标, 且荧光探针

成本高, 探针设计难度大。

2.3. 聚合酶链反应(PCR)-限制性片段长度多态性法

该方法将被测基因片段经 PCR 扩增后通过 RFLP (restriction fragment length polymorphism) 技术来检测基因多态位点。其利用限制性内切酶识别并切开特定 DNA 分子序列, 产生特定的限制性片段, 而当被检测的基因发生多态位点变异, 且限制性内切酶识别位点刚好发生了碱基置换时, 则会导致酶切位点的增加或减少, 使用同一限制性内切酶切割产生数量不等、长度不一的酶切片段[34]。这些不同分子量的酶切片段在一定电场强度、一定浓度的琼脂糖凝胶中的迁移速率不同, 最终分离出各个酶切条带, 即可分析该检测基因的多态性结果。PCR-RFLP 技术使目的基因的含量和相对特异性得到了显著提高, 基因分型检测更加简便快捷。

Abdoljalal Marjani [35]等人采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术对 140 名 Sistani 居民的 CYP2C9 进行基因分型, 得到 CYP2C9*1、CYP2C9*2 和 CYP2C9*3 的等位基因频率分别为 76.1%、16.1% 和 7.8%。Kalpana Sr [36]采用常规 PCR-RFLP 方法对 91 例连续人工瓣膜血栓形成患者进行 VKORC1、CYP2C9 和 CYP4F2 基因分型。Elvira Muslimova [37]评估 ADRB1 基因在心肌中的表达水平, 使用实时聚合酶链反应对 ADRB1 进行基因分型。PCR-RFLP 技术广泛运用于基因分型研究, 但由于缺乏酶切内对照序列, 当酶切不完全时极易出现错误结果。

2.4. 等位基因特异性 PCR 法

扩增阻滞突变系统 PCR (Amplification Refractory Mutation System PCR, ARMS-PCR), 又称为等位基因特异性 PCR (Allele-Specific PCR, AS-PCR)是由 Newton 等人首先提出并用来检测已知基因多态位点的方法。PCR 过程中引物延伸从 3'端开始, 在已知基因突变点条件下设计两条含有特定核苷酸序列的引物, 引物 3'端碱基能与目的基因碱基互补配对, 进行 PCR 扩增时如果得到 PCR 扩增产物, 表明被测基因含有该种突变, 为突变型。反之, 引物与模板之间碱基形成错配, 没有特异扩增带出现即为野生型。AS-PCR 技术敏感性高, 可检测低于 1%的突变, 且无需特殊设备。Imadeldin Elfakid 研究组[38]和 Meha P Mehta 研究组[39]均采用过等位基因特异性 PCR 法进行 CYP2C9*3 多态性基因分型。

2.5. 高分辨率溶解曲线分析技术

高分辨率溶解曲线法(high-resolution melting analysis, HRM)是一种通过特定染料与扩增后产物结合后形成的溶解峰进行分析检测的方法。HRM 利用荧光染料可以嵌入并结合到双链 DNA 上, 通过实时检测双链核苷酸升温过程中荧光染料和 PCR 扩增产物结合情况, 生成高分辨率溶解曲线, 从而对基因进行分型检测。Ewa Moric-Janiszewska 等人[40]在研究中采用高分辨率溶解聚合酶链反应(HRM-PCR)分析检测 ADRB1 和 CYP2D6 基因多态性。Taimour Langae 研究组[41]采用高分辨率溶解分析技术对心血管药物相关遗传基因(CYP2C9、CYP2C19、CYP4F2、SLCO1B1 和 VKORC1)进行分型检测, 并运用荧光探针法进行验证, 结果表明基于 HRM 分析的基因分型组合表现良好。

2.6. 基因芯片法

基因芯片法(gene chip)是将 DNA 片段固定到硅芯片等固相支持物上, 借助杂交方式, 检测杂交信号来进行序列测定的方法。首先在一块芯片表面固定已知序列的靶核苷酸探针, 经荧光标记的待测 DNA 片段会与芯片上的核酸探针互补配对, 从而将目标序列固定下来, 然后通过检测芯片上的荧光信号确定基因的 SNP 分型。陈克平等[42]在抗高血压 β 受体阻滞剂治疗高血压实验中采用基因芯片法对高血压患者的 ADRB1 基因进行分型评估。

2.7. KASP 法

竞争性等位基因特异性 PCR (Kompetitive Allele-Specific PCR) 是基于引物末端碱基的特异性匹配对 SNP 进行检测的方法。KASP 法原理与荧光探针法相似, 利用等位基因特异性引物进行 PCR 扩增, 检测扩增产物的荧光信号。KASP 法通过独特的 ARM PCR 原理让所有检测位点使用通用荧光引物扩增, 大大降低了试剂成本, 同时提高了准确度和转化率。Celia Castaño-Amores 等人[43]在研究中就采用了等位基因特异性杂交探针 KASP 对 ADRB1 基因的 SNP 进行分型。

3. 评述与展望

传统给药方式一般采用按体重给药或按以往经验剂量给药, 这种给药方式没有考虑到患者自身基因变异所导致的无效用药及产生的不良反应。随着药物基因组学研究的不断深入, 许多疾病的治疗更强调“因人而异”和“量体用药”, 高血压作为影响我国人民健康的一大“杀手”, 各种类型降压药的有关基因及基因型被发现并运用于个体化精准用药。但目前对基因多态性与降压药物的疗效和副作用之间的关系并没有统一的结论。而对患者进行高血压降压药物的相关基因型评估时需同时考虑多个基因, 开发新型可联合检测多个基因多态性的方法, 可以更好地帮助患者选择降压药物。

基金项目

- 1) 广东药科大学 2020 年线上线下混合式一流本科课程立项建设项目;
- 2) 2022 年广东药科大学大学生创新训练项目(编号: 202210573018);
- 3) 2022 年国家级大学生创新训练项目(编号: 202210573014);
- 4) 广东药科大学 2023 年度本科教学质量与教学改革工程项目;
- 5) 广东药科大学基础医学院 2023 年度教育教学质量提升工程项目。

参考文献

- [1] 蔡军, 孙英贤, 李明玉, 等. 中国高血压临床实践指南[J]. 中华心血管病杂志, 2022, 50(11): 1050.
- [2] 国家心血管病中心. 中国心血管健康与疾病报告 2022[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2023.
- [3] 黄昌日, 郑明善, 金文俊. 降压药物相关基因组学研究进展[J]. 中国药物经济学, 2020, 15(6): 125-128.
- [4] Lupton, S.J., Chiu, C.L. and Lind, J.M. (2011) A Hypertension Gene: Are We There Yet? *Twin Research and Human Genetics*, **14**, 295-304. <https://doi.org/10.1375/twin.14.4.295>
- [5] 个体化用药遗传咨询指南[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 31(5): 321-333. <https://doi.org/10.19577/J.1007-4406.2022.05.001>
- [6] Garimella, P.S., Du Toit, C., Le, N.N. and Padmanabhan, S. (2023) A Genomic Deep Field View of Hypertension. *Kidney International*, **103**, 42-52. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2022.09.029>
- [7] Eadon, M.T., Maddatu, J., Moe, S.M., Sinha, A.D., Ferreira, R.M., Miller, B.W., Sher, S.J., Su, J., Pratt, V.M., Chapman, A.B., Skaar, T.C. and Moorthi, R.N. (2022) Pharmacogenomics of Hypertension in CKD: The CKD-PGX Study. *Kidney360*, **3**, 307-316. <https://doi.org/10.34067/KID.0005362021>
- [8] Chen, K., Xiao, P., Li, G., Wang, C. and Yang, C. (2021) Distributive Characteristics of the CYP2C9 and AGTR1 Genetic Polymorphisms in Han Chinese Hypertensive Patients: A Retrospective Study. *BMC Cardiovascular Disorders*, **21**, Article No. 73. <https://doi.org/10.1186/s12872-021-01895-w>
- [9] Rasool, G.S., Al-Awadi, S.J., Hussien, A.A. and Al-Attar, M.M. (2024) Genetic Variation of CYP2C9 Gene and Its Correlation with Cardiovascular Disease Risk Factors. *Molecular Biology Reports*, **51**, Article No. 105. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-09151-4>
- [10] Yu, B.N., Luo, C.H., Wang, D., Wang, A., Li, Z., Zhang, W., Mo, W. and Zhou, H.H. (2004) CYP2C9 Allele Variants in Chinese Hypertension Patients and Healthy Controls. *Clinica Chimica Acta*, **348**, 57-61. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.04.028>
- [11] Petersen, M., Andersen, J.T., Jimenez-Solem, E., Broedback, K., Hjelvang, B.R., Henriksen, T., Frandse, E., Forman,

- J.L., Torp-Pedersen, C., Kober, L. and Poulsen, H.E. (2012) Effect of the Arg389Gly β_1 -Adrenoceptor Pol Ymorphism on Plasma Renin Activity and Heart Rate, and the Genotype-Dependent Response to Metoprolol Treatment. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, **39**, 779-785. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2012.05736.x>
- [12] Liu, J., Liu, Z.-Q., Yu, B.-N., Xu, F.-H., Mo, W., Zhou, G., Liu, Y.-Z., Li, Q. and Zhou, H.-H. (2006) β_1 -Adrenergic Receptor Polymorphisms Influence the Response to Metoprolol Monotherapy in Patients with Essential Hypertension. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **80**, 23-32. <https://doi.org/10.1016/j.clpt.2006.03.004>
- [13] Gonzalez, F.J. (2005) Role of Cytochromes P450 in Chemical Toxicity and Oxidative Stress: Studies with CYP2E1. *Mutation Research*, **569**, 101-110. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.04.021>
- [14] Rettie, A.E., Haining, R.L., Bajpa, M., et al. (1999) A Common Genetic Basis for Idiosyncratic Toxicity of Warfarin and Phenytoin. *Epilepsy Research*, **35**, 253-255. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(99\)00017-0](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(99)00017-0)
- [15] Ieiri, I., Tainaka, H., Morita, T., et al. (2000) Catalytic Activity of Three Variants (Ile, Leu, and Thr) at Amino Acid Residue 359 in Human CYP2C9 Gene and Simultaneous Detection Using Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis. *Therapeutic Drug Monitoring*, **22**, 237-244. <https://doi.org/10.1097/00007691-200006000-00001>
- [16] Mirzaev, K., Abdullaev, S., Akmalova, K., Sozaeva, J., Grishina, E., Shuev, G., Bolieva, L., Sozaeva, M., Zhuchkova, S., Gimaldinova, N., Sidukova, E., Serebrova, S., Asoskova, A., Shein, A., Poptsova, M., Suleymanov, S., Burashnikova, I., Shikaleva, A., Kachanova, A., Fedorin, D. and Sychev, D. (2020) Interethnic Differences in the Prevalence of Main Cardiovascular Pharmacogenetic Biomarkers. *Pharmacogenomics*, **21**, 677-694. <https://doi.org/10.2217/pgs-2020-0005>
- [17] 王申, 张舜华, 薛薇, 王鹏飞, 任格, 陈传军. 沙坦类药物代谢酶 CYP2C9 的基因遗传多态性在高血压患者中的分布特征[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2021, 13(6): 712-715.
- [18] Ahmed, S., Altaf, N., Ejaz, M., Altaf, A., Amin, A., Janjua, K., Khan, A.U., Imran, I. and Khan, S. (2020) Variations in the Frequencies of Polymorphisms in the CYP2C9 Gene in Six Major Ethnicities of Pakistan. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 19370. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76366-x>
- [19] Zhang, Y., Wang, W.E., Zhang, X., et al. (2019) Cardiomyocyte PKA Ablation Enhances Basal Contractility While Eliminates Cardiac β -Adrenergic Response without Adverse Effects on the Heart. *Circulation Research*, **124**, 1760-1777. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313417>
- [20] Mulerova, T., Uchasova, E., Ogarkov, M. and Barbarash, O. (2020) Genetic Forms and Pathophysiology of Essential Arterial Hypertension in Minor Indigenous Peoples of Russia. *BMC Cardiovascular Disorders*, **20**, Article No. 169. <https://doi.org/10.1186/s12872-020-01464-7>
- [21] Sun, X., Zhou, M., Wen, G., Huang, Y., Wu, J., Peng, L., Jiang, W., Yuan, H., Lu, Y. and Cai, J. (2021) Paroxetine Attenuates Cardiac Hypertrophy via Blocking GRK2 and ADRB1 Interaction in Hypertension. *Journal of the American Heart Association*, **10**, E016364. <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.016364>
- [22] Thomas, C.D. and Johnson, J.A. (2020) Pharmacogenetic Factors Affecting β -Blocker Metabolism and Response. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, **16**, 953-964. <https://doi.org/10.1080/17425255.2020.1803279>
- [23] Wang, Z., Hou, J., Zheng, H., Wang, D., Tian, W., Zhang, D. and Yan, J. (2023) Genetic and Phenotypic Frequency Distribution of ACE, ADRB1, AGTR1, CYP2C9*3, CYP2D6*10, CYP3A5*3, NPPA and Factors Associated with Hypertension in Chinese Han Hypertensive Patients. *Medicine (Baltimore)*, **102**, E33206. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000033206>
- [24] 孙思雨, 尚茂林. 蚌埠地区高血压病人药物基因多态性的分布[J]. 蚌埠医学院学报, 2022, 47(7): 912-916.
- [25] 徐筑君, 蔡道翠. 重庆永川区高血压患者降压药相关基因分布研究[J]. 心血管病防治知识, 2022, 12(7): 30-34.
- [26] 林玲, 葛高顺. 厦门地区原发性高血压患者抗高血压药物相关基因多态性分析与基因导向用药的疗效评估[J]. 内蒙古医学杂志, 2023, 55(10): 1161-1169.
- [27] 黄留玉. PCR 最新技术原理、方法及应用[M]. 第2版. 北京: 化学工业出版社, 2010: 38-298.
- [28] Crossley, B.M., Bai, J., Glaser, A., Maes, R., Porter, E., Killian, M.L., Clement, T. and Toohey-Kurth, K. (2020) Guidelines for Sanger Sequencing and Molecular Assay Monitoring. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **32**, 767-775. <https://doi.org/10.1177/1040638720905833>
- [29] Giraldo-Ocampo, S., Diaz-Ordoñez, L., Silva-Cuero, Y.K., Gutierrez-Medina, J.D., Candeló, E., Diaz, J.A. and Pachajoa, H. (2023) Frequency of Polymorphisms in the CYP2C9, VKORC1, and CYP4F2 Genes Related to the Metabolism of Warfarin in Healthy Donors from Cali, Colombia. *Medicine (Baltimore)*, **102**, E34204. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000034204>
- [30] Ma, S., Luo, Z., Zhou, X., Zhou, H., Chen, L. and Zhang, W. (2022) Effect of NPC1L1 Polymorphism on Warfarin Stable Dose in Chinese Patients under Heart Valve Replacement Surgery. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **49**, 212-218. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13599>
- [31] Marras, S.A. (2008) Interactive Fluorophore and Quencher Pairs for Labeling Fluorescent Nucleic Acid Hybridization

- Probes. *Molecular Biotechnology*, **38**, 247-255. <https://doi.org/10.1007/s12033-007-9012-9>
- [32] Xiao, Z.L., Yang, M., Chen, X.B., Xie, X.M. and Chen, M.F. (2022) Personalized Antihypertensive Treatment Guided by Pharmacogenomics in China. *Cardiovascular Diagnosis and Therapy*, **12**, 635-645. <https://doi.org/10.21037/cdt-22-154>
- [33] Muslimova, E., Rebrova, T., Kondratieva, D., Korepanov, V., Sonduev, E., Kozlov, B. and Afanasiev, S. (2022) Expression of the β 1-Adrenergic Receptor (ADRB1) Gene in the Myocardium and β -Adrenergic Reactivity of the Body in Patients with a History of Myocardium Infraction. *Gene*, **844**, Article ID: 146820. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146820>
- [34] 王廷华, 刘佳, 夏庆杰. PCR 理论与技术[M]. 第3版. 北京: 科学出版社, 2013: 42-152.
- [35] Marjani, A. and Gharanjik, A.M. (2018) Genetic Polymorphism of CYP2C9 among Sistani Ethnic Group in Gorgan. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, **33**, 208-213. <https://doi.org/10.1007/s12291-017-0660-7>
- [36] Sr, K., G, B., Jain, S., Moorthy, N., Manjunath, S.C. and Christopher, R. (2019) Prosthetic Valve Thrombosis—Association of Genetic Polymorphisms of VKORC1, CYP2C9 and CYP4F2 Genes. *Medicine (Baltimore)*, **98**, E14365. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014365>
- [37] Muslimova, E., Rebrova, T., Kondratieva, D., Korepanov, V., Sonduev, E., Kozlov, B. and Afanasiev, S. (2022) Expression of the β 1-Adrenergic Receptor (ADRB1) Gene in the Myocardium and β -Adrenergic Reactivity of the Body in Patients with a History of Myocardium Infraction. *Gene*, **844**, Article ID: 146820. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146820>
- [38] Elfaki, I., Mir, R., Abu-Duhier, F.M., Jha, C.K., Ahmad, Al-Alawy, A.I., Babakr, A.T. and Habib, S.A.E. (2020) Analysis of the Potential Association of Drug-Metabolizing Enzymes CYP2C9*3 and CYP2C19*3 Gene Variations with Type 2 Diabetes: A Case-Control Study. *Current Drug Metabolism*, **21**, 1152-1160. <https://doi.org/10.2174/1389200221999201027200931>
- [39] Mehta, M.P., Gajjar, N.D., Patel, R.J., Joshi, L.P. and Shah, G.B. (2023) Prevalence of CYP2C9 and CYP2C19 Variants and the Impact on Clopidogrel Efficacy in Patients Having CYP2C19*2 Variant. *Indian Journal of Pharmacology*, **55**, 27-33.
- [40] Moric-Janiszewska, E., Smolik, S., Szydłowski, L. and Kapral, M. (2023) Associations between Selected ADRB1 and CYP2D6 Gene Polymorphisms in Children with Ventricular and Supraventricular Arrhythmias. *Medicina (Kaunas)*, **59**, Article No. 2057. <https://doi.org/10.3390/medicina59122057>
- [41] Langae, T., El Roubay, N., Stauffer, L., Galloway, C. and Cavallari, L.H. (2019) Development and Cross-Validation of High-Resolution Melting Analysis-Based Cardiovascular Pharmacogenetics Genotyping Panel. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, **23**, 209-214. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2018.0298>
- [42] Chen, K., Li, Y., Yang, C., Xiao, P., Li, G. and Xu, Y. (2023) CYP2D6 and ADRB1 Genetic Polymorphisms and the Selection of Antihypertensive Beta-Receptor Blockers for Hypertensive Patients. *American Journal of Cardiovascular Disease*, **13**, 264-271.
- [43] Castaño-Amores, C., Antúnez-Rodríguez, A., Pozo-Agundo, A., García-Rodríguez, S., Martínez-González, L.J. and Dávila-Fajardo, C.L. (2023) Genetic Polymorphisms in ADRB1, ADRB2 and CYP2D6 Genes and Response to Beta-Blockers in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **169**, Article ID: 115869. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115869>