

Комиссарова С. М.¹, Чакова Н. Н.², Крупнова Э. В.², Михаленко Е. П.²,
Чеботарева Н. В.², Кругленко С. С.², Арабей А. А.¹, Мрочек А. Г.¹

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ADRB2 С МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

¹ РНПЦ «Кардиология», г. Минск, Беларусь
² Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь

Komissarova S. M.¹, Chakova N. N.², Krupnova E. V.², Mikhalenko E. P.²,
Tchebotareva N. V.², Kruglenko S. S.², Arabey A. A.¹, Mrochek A. G.¹

ASSOCIATION OF ADRB2 GENE POLYMORPHISM WITH MORPHOFUNCTIONAL ALTERATIONS IN PATIENTS WITH HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY

¹ RSPC «Cardiology», Minsk, Belarus
² Genetics and Cytology Institute of the NAN of Belarus, Minsk, Belarus

РЕЗЮМЕ
Цель. Анализ ассоциации клинической картины и функциональных нарушений с полиморфизмом гена ADRB2 у пациентов, страдающих ГКМП.
Материал и методы. В исследование были включены 89 пациентов с ГКМП (69 мужчин и 20 женщин, средний возраст 46,7±15,7 года), среди них у 56 диагностирована обструктивная форма, у 33 пациентов – необструктивная форма заболевания. В контрольную группу вошли 104 здоровых донора, сопоставимых по возрасту и полу с больными ГКМП.
Оценивали клиническую картину заболевания, определяли эхокардиографические показатели и параметры суточного мониторирования ЭКГ. У всех пациентов проводили анализ полиморфизма гена ADRB2.
Результаты. Изучена ассоциация клинической картины, структурных и функциональных особенностей миокарда левого желудочка с полиморфизмом гена ADRB2 у больных с гипертрофической кардиомиопатией. Выявлено, что комбинация генотипов Arg16rg/Gln27Gln является

SUMMARY
Objective. Analysis of a clinical picture and functional dysfunctions with ADRB2 gene polymorphism in patients with PHCM.
Materials and methods. 89 patients with PHCM were included in the study (69 males and 20 females, mean age 46,7±15,7), among which 56 had been diagnosed with the obstructive form, 33 patients had a non-obstructive form of the disease. The control set included 104 healthy donors adequate in age, and gender with PHCM.
The clinical picture of the disease was assessed, echocardiographic indicators and daily ECG monitoring parameters were specified. The ADRB2 gene polymorphism analysis was made in all patients.
Results. The association of the clinical picture, structural and functional LV myocardial peculiarities with ADRB2 gene polymorphism in patients with PHCM. It was revealed that the combination of Arg16rg/Gln27Gln genotypes is a risk genotype and is associated with the appearance of adverse clinical manifestations of the disease. The combination of Gly16Gly/Glu27Glu genotypes is protective and is

генотипом риска и ассоциируется с возникновением неблагоприятных клинических проявлений заболевания. Комбинация генотипов Gly16Gly/Glu27Glu является протективной и свидетельствует о благоприятном прогнозе заболевания.
Заключение. Полученные результаты выявили ассоциацию полиморфизма гена ADRB2 с клиническими, структурными и функциональными нарушениями у больных с ГКМП, что позволит не только прогнозировать риск возникновения неблагоприятных клинических проявлений заболевания, но и оптимизировать лечение β-адреноблокаторами пациентов с ГКМП.
Ключевые слова: гипертрофическая кардиомиопатия, полиморфизм гена ADRB2.

indicative of favorable prognosis.
Conclusion. The results obtained have revealed the association of the ADRB2 gene polymorphism with clinical, structural and functional dysfunctions in patients with PHCM which will allow making prognoses of adverse clinical manifestations risk and improving β- adrenoblocker treatment of PHCM patients.
Key words: hypertrophic cardiomyopathy, ADRB2 gene polymorphism.

Контактная информация:

Комиссарова Светлана Михайловна ¹	вед. науч. сотр., к.м.н.
Чакова Наталья Николаевна ²	вед. науч. сотр., к.б.н.
Крупнова Эвелина Вячеславовна ²	ст. науч. сотр., к.б.н.
Михаленко Елена Петровна ²	науч. сотр., к.б.н.
Чеботарева Наталья Вячеславовна ²	м.н.с.
Кругленко Светлана Сергеевна ²	
Арабей Анастасия Анатольевна ¹	м.н.с.
Мрочек Александр Геннадьевич	Академик ¹

¹ РНПЦ «Кардиология», ул. Р.Люксембург, 110, 220036 Минск, Беларусь.
Функциональная группа клинической патофизиологии кровообращения.
Kom_svet@mail.ru тел. 8 (017) 222-22-35

² Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, ул. Академическая д.27, 220070 Минск, Беларусь. Лаборатория генетики человека. Тел. 8 (017) 284-19-18

АННОТАЦИЯ

Изучена ассоциация клинической картины, структурных и функциональных особенностей миокарда левого желудочка с полиморфизмом гена ADRB2 у больных с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП). Выявлено, что комбинация генотипов Arg16rg/Gln27Gln является генотипом риска и ассоциируется с возникновением неблагоприятных клинических проявлений заболевания. Комбинация генотипов Gly16Gly/Glu27Glu является протективной и свидетельствует о благоприятном прогнозе заболевания.

The association of clinical presentation, myocardial structural and functional characteristics with ADRB2 gene polymorphism in patients with hypertrophic cardiomyopathy has been studied. The Arg16rg/Gln27Gln gene combination was found to be risk genotype and is associated with unfavorable clinical manifestations of the disease. Gly16Gly/Glu27Glu genotype combination is protective and is indicative of a favorable prognosis of the disease

Основными факторами, определяющими течение гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП), являются мутации в генах белков саркомера [1]. В настоящее время активно ведутся поиски генетических факторов, так называемых генов-модификаторов, которые могут влиять на процесс фенотипической реализации этих мутаций [2]. Установлено, что гены-модификаторы имеют полиморфные аллели (вариации последовательности ДНК), которые кодируют белки с различной функциональной активностью. Идентифицирован ряд генов, претендующих на эту роль. Подтверждено влияние генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС): ангиотензиногена, ангиотензин-превращающего фермента, рецептора ангиотензина II типа 1 и синтетазы альдостерона на развитие гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ). Большое значение в формировании фенотипических проявлений ГКМП имеет также высокая активность симпатического отдела вегетативной нервной системы (СОВНС). Его активация ведет к развитию ГЛЖ как непосредственно за счет активации рецепторов СОВНС, так и опосредованно за счет активации РААС. Поэтому гены, кодирующие элементы СОВНС, в первую очередь гены адренорецепторов, являются одними из основных генов-модификаторов, которые могут влиять на клиническую картину ГКМП [3].

В настоящее время большое внимание уделяется изучению полиморфизма гена ADRB2, который находится в области 5q31-32 5-й хромосомы. В сердце β 2-АР представлены как в желудочках, так и в предсердиях. В значительном количестве эти рецепторы экспрессируются на мембранах пейсмекерных клеток, что указывает на их важную роль в регуляции ритма сердца. В кодирующей части гена ADRB2 выявлено 12 полиморфизмов, 5 из которых приводят к замене аминокислоты: Arg16Gly, Gln27Glu, Val34Met, Thr164Ile и Ser220Cys. Все эти маркеры связывают с функциональными свойствами рецептора. В исследовании [4,5] показано влияние полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu не только на уровень артериального давления, но и развитие гипертрофии ЛЖ.

Целью настоящего исследования был анализ ассоциации клинической картины и функциональных нарушений с полиморфизмом гена

ADRB2 у пациентов, страдающих ГКМП.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 89 пациентов с ГКМП (69 мужчин и 20 женщин, средний возраст $46,7 \pm 15,7$ года), среди них у 56 диагностирована обструктивная форма, у 33 пациентов – не-обструктивная форма заболевания. Семейная форма заболевания выявлена у 26 пробандов, отягощенный анамнез имели 44,3% больных с ГКМП (28,9% сочетание ГКМП и АГ, 15,4% сочетания ГКМП и ИБС). В контрольную группу вошли 104 здоровых донора, сопоставимых по возрасту и полу с больными ГКМП.

Оценивали клиническую картину заболевания, в частности такие параметры, как функциональные классы (ФК) сердечной недостаточности (СН), систолическое (САД) и диастолическое (ДАД) артериальное давление. Определяли следующие эхокардиографические (ЭхоКГ) параметры: толщину миокарда межжелудочковой перегородки (ТМЖП) и задней стенки левого желудочка (ТЗСЛЖ), конечный систолический и диастолически размеры (КСР и КДР) левого желудочка (ЛЖ), размер левого предсердия (ЛП), наличие обструкции выносящего тракта ЛЖ (ВТЛЖ), индекс массы миокарда (ИММ).

По данным суточного мониторингирования ЭКГ анализировались следующие показатели: средняя ЧСС, уд/мин, общее количество желудочковой и суправентрикулярной эктопической активности за сутки, наличие сложных нарушений ритма. Оценивали показатели, характеризующие ишемию миокарда: количество эпизодов ишемии, суммарную длительность ишемии в течение суток, глубину депрессии сегмента ST.

У всех пациентов проводили анализ полиморфизма гена ADRB2. Выделение тотальной ДНК из лейкоцитов периферической крови выполняли методом Mathew [6]. Полиморфизмы A46G (Arg16Gly) и C79G (Gln27Glu) в гене ADRB2 изучали с использованием метода ПЦР-ПДРФ анализа. Последовательности использованных в работе праймеров и условия ПЦР представлены в таблице 1 [7]. Полимеразную цепную реакцию проводили на амплификаторе MyCycler™ Thermal cycler (BIORAD).

Таблица 1. Последовательность праймеров и программа проведения ПЦР

Ген	Последовательность праймера	Программа проведения ПЦР	Размер продукта
ADRB2	F: 5'gaacggcagcgccttctgtggcaccat3'	940С–2мин, [940С–30с, 640С–45с, 720С–1мин] x35 иклов, 720С–7мин	242 п.н.
	R: 5'ctgccaggcccatgaccagatcag3'		

Таблица 1. Распределение частот встречаемости различных генотипов β 2-адренорецептора у больных ГКМП

Генотипы 16(Arg> Gly) 27(Gln>Glu)	Количество больных ГКМП	
	n	%
Arg16Arg	21	23,3
Arg16Gly	44	48,9
Gly16Gly	25	27,8
Аллель Arg16	86	47,8
Аллель Gly16	94	52,2
Gln27Gln	32	35,5
Gln27Glu	46	51,1
Glu27Glu	12	13,3
Аллель Gln27	110	61,1
Аллель Glu27	70	39,9

Амплифицированный фрагмент длиной 242 п.н. подвергали рестрикционному расщеплению эндонуклеазами Eco130I (Fermentas) и SatI (Fermentas) для выявления точечных нуклеотидных замен A46G и C79G, соответственно. Продукты амплификации фракционировали в 2,5% агарозном геле с бромистым этидием и визуализировали в УФ-свете (рис. 1).

Статистическая обработка материала проводилась с использованием программного пакета «Statistica for Windows 6.0» и «SPSS Statistics 17». Об ассоциации генотипов с возникновением клинических проявлений ГКМП судили по величине отношения шансов (OR), которую рассчитывали по стандартной формуле $OR = (A/B)/(C/D)$, где A и B – количество больных, имеющих и не имеющих мутантный генотип, соответственно, и C и D – количество человек в контрольной группе, имеющих и не имеющих мутантный генотип. OR указан с 95%-ным доверительным интервалом (95% CI) [8]. Для сравнения значений клинических показателей между группами пациентов с различными генотипами использовали t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

На первом этапе работы была проанализирована частота встречаемости различных генотипов Arg16Gly и Gln27Glu β 2-АР у обследованных нами пациентов с ГКМП. Распределение частот встречаемости различных генотипов β 2-АР представлено в таблице 1.

В литературе описано неравновесное сцепление между 16 и 27 кодонами [9], т.е. случайное распределение частот аллелей по этим сайтам, которое может быть обусловлено не только тесным генетическим сцеплением генов, но и наличием адаптивного преимущества конкретной комбинации аллелей. Носители гомозиготного генотипа Glu27Glu практически всегда имеют гомозиготный генотип Gly16Gly, гаплотип Arg16Glu27 встречается чрезвычайно редко (менее 1% в популяции). В нашем исследовании все индивидуумы, гомозиготные по Glu27Glu, были гомозиготны по Gly16Gly (рис. 1), комбинации генотипов Arg16Gly/Glu27Glu и Arg16Arg/Glu27Glu отсутствовали.

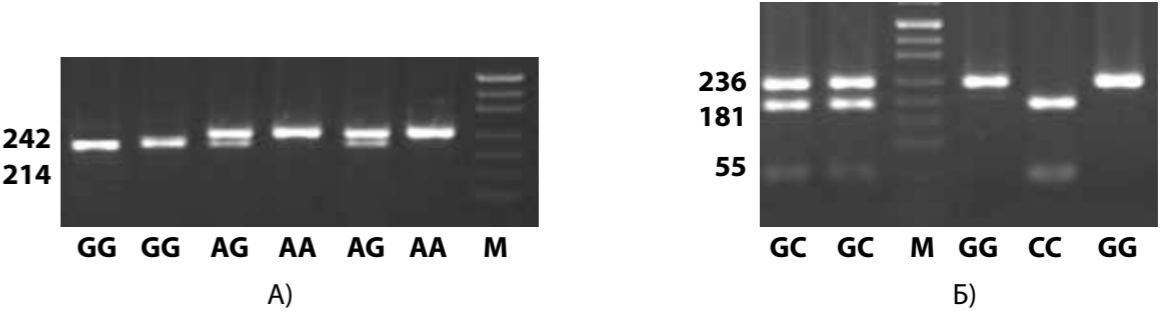


Рисунок 1. Электрофореграмма фрагментов рестрикции гена β 2-АР

А) электрофореграмма гидролиза эндонуклеазой Eco130I (Styl);
Б) электрофореграмма гидролиза эндонуклеазой SatI (Fnu4HI).

Таблица 3. Клинические и эхокардиографические показатели у больных ГКМП с различными генотипами β2-AP

Показатели	Генотип Arg16Gly			Генотип Gln27Glu		
	Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly	Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu
ФК СН, n (%)	-	8 (67,0%)	4 (33,0%)	2 (17,0%)	7 (58,0%)	3 (25,0%)
I	-	8 (67,0%)	4 (33,0%)	2 (17,0%)	7 (58,0%)	3 (25,0%)
II	9 (26,0%)	16(47,0%)	9 (26,0%)	13 (38,0%)	18 (53,0%)	3 (9,0%)
III	12(31,0%)	16(41,0%)	11 (28,0%)	15 (38,0%)	19 (49,0%)	5 (13,0%)
ЧСС, уд/мин	68,0±4,42	70,2±2,88	69,6±2,38	67,1±3,02	72,2±2,85	65,8±2,66
САД, мм рт. ст.	134,3±3,8	131,3±2,9	130,6±3,35	133,0±3,06	130,3±2,54	134,5±6,89
ДАД, мм рт.ст.	85,5±2,56	81,9±1,65	83,0±1,91	83,9±1,91	82,4±1,57	83,6±3,57
ЛП, см	44,5±1,55	44,1±0,97	43,7±1,21	44,2±1,21	44,3±0,91	43,3±2,04
ТМЖП, см	19,3±0,80	20,1±0,65	18,7±0,80	19,1±0,63	19,9±0,68	19,3±0,87
КДР, см	51,4±2,22	50,3±0,90	50,9±1,00	50,9±1,70	51,0±0,81	49,1±1,75
КСР, см	32,4±2,12	31,0±1,09	30,8±1,14	31,9±1,64	31,1±0,98	30,9±2,30
ФВ, %	61,4±1,91	59,8±1,49	64,1±2,03	62,5±1,71	60,3±1,44	62,1±2,98
ИММ, г/м²	182±13,2	174,9±8,8	173,0±10,8	171,0±9,96	186,5±8,74	148±11,4*
ГДВТЛЖ >30	63,5±4,53	61,9±4,48	73,2±7,00	64,87±4,05	65,6±4,78	61,3±11,39
ГДВТЛЖ <30	15,0±2,58	9,7±1,56	10,2±1,82	13,6±2,10	10,0±1,50	9,12±2,51
Е/А	1,25±0,13	1,35±0,10	1,45±0,22	1,28±0,12	1,27±0,09	1,86±0,39
ВИР, мс	118,1±6,7	118,1±8,2	115,3±10,2	115,33±5,9	121,53±8,9	107,18±6
DT, мс	192±14,5	165,5±6,6	186,2±20,4	190,7±11,6	170,6±11,2	171,3±16,5

* – значимые различия по критерию t-Стьюдента, p<0,05

Анализ связи клинической картины, гемодинамических и эхокардиографических показателей с генетическим полиморфизмом β2-AP в 16 и 27 кодонах представлен в таблице 3. Было выявлено, что средние уровни таких показателей, как ЧСС, САД, ДАД, а также величина ЛП, ТМЖП, КДР, КСР, ФВ и ГДВТЛЖ не зависят от генотипа β2-AP в исследуемых кодонах. Достоверные различия наблюдались лишь в отношении показателя ИММ:

у носителей генотипа Glu27Glu среднее значение этого показателя (148,1±11,39 г/м2) было ниже, чем у индивидуумов с другими вариантами генотипов, при этом различия с носителями генотипа Gln27Glu были достоверными (t =2,67, p<0,05). У больных, имеющих комбинацию генотипов Arg16Arg/Gln27Gln, величина ИММ составила 182,0±13,2 г/м2, тогда как у пациентов с комбинацией генотипов Gly16Gly/Glu27Glu значение это-

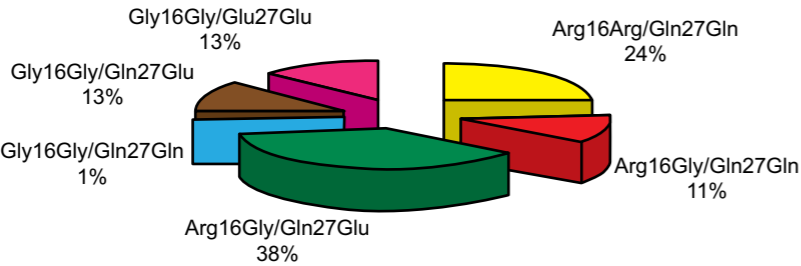


Рис. 1. Распределение частот встречаемости различных комбинаций генотипов 16(Arg>Gly) и 27(Gln>Glu) гена β2-AP у больных ГКМП

Таблица 4. Незначимые нарушения ритма сердца по данным суточного мониторинга у больных ГКМП с различными генотипами β2-AP

Показатель	Генотип Arg16Gly			Генотип Gln27Glu		
	Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly	Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu
ЖЭ	64,9±21,0* (17 чел.)	26,8±7,6 (35 чел.)	29,6±12,1 (23 чел.)	53,0±15,0* (11 чел.)	32,3±9,4** (39 чел.)	12,3±3,31 (25 чел.)
НЭ	41,1±13,4 (19 чел.)	33,1±6,9 (37 чел.)	39,4±10,8 (19 чел.)	34,4±9,34 (28 чел.)	33,5±7,0 (37 чел.)	55,2±18,2 (10 чел.)

* – значимые различия по критерию t-Стьюдента, p<0,05

го параметра было 148,1±11,39 г/м².

Выявлено, что у больных с I ФК СН не встречался генотип Arg16Arg, а генотип Gln27Gln встречался реже, чем у пациентов из II и III ФК СН.

У 12,4% пациентов с ГКМП по данным суточного мониторинга ЭКГ были выявлены жизнеугрожающие нарушения ритма: пароксизмы неустойчивой желудочковой тахикардии (ЖТ), частая желудочковая одиночная и групповая экстрасистолия (ЖЭ), сочетание желудочковой и суправентрикулярной эктопической активности. У 87,6 % при суточном мониторинге ЭКГ регистрировалась непатологическая желудочковая и суправентрикулярная активность. На основании клинической значимости этих результатов нами были выделены две группы больных ГКМП с различными типами аритмий: 1 группа – клинически значимые аритмии (групповая или одиночная ЖЭ более 300 экстрасистол в сутки, пароксизмальные желудочковые и суправентрикулярные нарушения ритма), 2 группа – незначимые желудочковые и суправентрикулярные аритмии (одиночные экстрасистолы до 300 в сутки), не имеющие клинического значения и не влияющие на прогноз. В этих группах определяли влияние генотипов в 16 и 27 кодонах на значимость нарушений ритма сердца (таблица 4,5).

Анализ генетического полиморфизма в 27 кодоне показал, что в группе больных с незначимыми аритмиями у носителей генотипа Gln27Gln

наблюдалось наибольшее среднее значение ЖЭ, у носителей Gln27Gln – наименьшее, а у гетерозиготных носителей Gln27Glu – промежуточное (таблица 4). При исследовании генетического полиморфизма в 16 кодоне было показано, что у носителей генотипа Arg16Arg среднее значение ЖЭ было выше в 2,2-2,4 раза, чем у больных с другими вариантами генотипов, при этом различия с носителями генотипа Arg16Gly были достоверными.

У пациентов со значимыми аритмиями (таблица 5), которые ассоциируются с риском внезапной смерти у данной категории больных, не встречался генотип Gln27Gln, а генотип Gly16Gly был выявлен только у одного пациента.

В отношении показателей ишемии миокарда по данным суточного мониторинга ЭКГ (таблица 6) выявлено достоверное повышение продолжительности депрессии сегмента ST у пациентов с генотипами Arg16Arg по сравнению с носителями гетерозиготного генотипа Arg16Gly.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ген β2-AP характеризуется выраженным природным полиморфизмом, обусловленным различиями в последовательности нуклеотидов. Полученные результаты по изучению влияния генетического полиморфизма β2-AP на клинические и морфофункциональные параметры сердца у больных ГКМП указывают на наличие связи по-

Таблица 5. Значимые нарушения ритма сердца по данным суточного мониторинга у больных ГКМП с различными генотипами β2-AP

Показатель	Генотип Arg16Gly			Генотип Gln27Glu		
	Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly	Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu
ЖЭ	2691,0±1649,1 (4 чел.)	2025,8±820,3 (6 чел.)	9090,0±9090 (1 чел.)	2388,6±1312,7 (5 чел.)	3344,3 ±1401,7 (6 чел.)	-
НЭ	2000,0±1697,0 (2 чел.)	538,0±±98,5 (3 чел.)	901,0±901,0 (1 чел.)	2000,0±1697,0 (2 чел.)	628,0± 114,39 (4 чел.)	-

Таблица 6. Показатели ишемии миокарда по данным суточного мониторирования у больных ГКМП с различными генотипами Arg16Gly гена β 2-АР

Показатель	Генотип Arg16Gly			Генотип Gln27Glu		
	Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly	Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu
Количество эпизодов ишемии	3,6 \pm 0,50	3,2 \pm 0,48	4,1 \pm 1,10	3,8 \pm 0,54	3,5 \pm 0,41	2,7 \pm 0,70
Продолжительность эпизодов ишемии, мин	95,5 \pm 13,0*	60,5 \pm 10,2	89,3 \pm 19,3	80,7 \pm 10,9	77,0 \pm 12,9	64,3 \pm 17,3

* – значимые различия по критерию t-Стьюдента, $p < 0,05$

лиморфных вариантов в 16 и 27 кодонах с такими показателями, как ФК СН по классификации NYHA, ИММ, нарушения ритма и степень выраженности ишемии миокарда при суточном мониторировании ЭКГ. Анализ комбинаций аллельных вариантов полиморфизмов генов ADRB2 показал, что комбинация генотипов Gly16Gly/Glu27Glu ассоциирована с более благоприятной клинической картиной заболевания и степенью выраженности ГЛЖ, тогда как комбинация Arg16Arg/Gln27Gln связана с более тяжелой клинической картиной, более выраженным ремоделированием ЛЖ и наличием значимых нарушений ритма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что генотип Arg16Arg/Gln27Gln является генотипом «риска» и ассоциируется с возникновением неблагоприятных клинических проявлений заболевания. Комбинация генотипов Gly16Gly/Glu27Glu является протективной и свидетельствует о благоприятном прогнозе заболевания.

Поскольку известно [9], что полиморфные варианты генов β -АР связаны не только с фенотипическими особенностями заболевания, но и с эффективностью лечения β -адреноблокаторами, то очень важно провести исследование ассоциации генетического полиморфизма β -АР с чувствительностью пациентов к лекарственным препаратам, что позволит оптимизировать лечение β -адреноблокаторами у пациентов с ГКМП.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sipola P, Vanninen E, Aronen H.J. et al. Cardiac adrenergic activity is associated with left ventricular hypertrophy in genetically homogeneous subject with hypertrophic cardiomyopathy. *J Nucl Med*. 2003; 44: 487–493.
2. Моисеев В.С. Достижения и спорные вопросы в изучении кардиомиопатии и миокардитов.

Практический врач. Прил. к журн «Медикал маркет» 1996; 4:4–10.

3. Brodde O.E. Beta-1 and beta-2 adrenoreceptor polymorphisms: functional importance, impact on cardiovascular disease and drug responses. *Pharmacol Ther*. 2008; 117:1–29.
4. Dishy V., Sofowora G.G., Xie H-G et al. The effect of common polymorphisms of the beta-2-adrenergic receptor on agonist-mediated vascular desensitization. *N Eng J Med* 2001; 345: 1030–1035.
5. Reihnsaus E., Innis M., MacIntyre N., Liggett S.B. Mutations in the gene encoding for the beta 2-adrenergic receptor in normal and asthmatic subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1993; 8: 334–339.
6. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucaryotic DNA. in Walker JM.NJ (ed): *Methods in Molecular Biology*, Clifton: Human Press 1984; 2, № 4: 31–34.
7. Aynacioglu A.S., Cascorbi I., Güngör K. and al. Population frequency, mutation linkage and analytical methodology for the Arg16Gly, Gln27Glu and Thr164Ile polymorphisms in the β 2-adrenergic receptor among Turks. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1999; 48, № 5: 761–764.
8. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология: Основы доказательной медицины. М.: Медиа Сфера; 2004. 347.
9. Johnson J.A., Terra S.G. Beta-adrenergic receptor polymorphisms: cardiovascular disease associations and pharmacogenetics. *Pharm Res*. 2002; 19, №12: 1779–1787.