

Polimorfismos dos genes do receptor de serotonina (5-HT2A) e da catecol-O-metiltransferase (COMT): fatores desencadeantes da fibromialgia?

Josie Budag Matsuda^{1,3}, Flávia Regina Barbosa^{1,4}, Lucas Junqueira Fernandes Morel^{1,4}, Suzelei de Castro França^{1,5}, Sonia Marli Zingaretti^{1,6}, Lucienir Maria da Silva^{2,7}, Ana Maria Soares Pereira^{1,8}, Mozart Marins^{1,9}, Ana Lúcia Fachin^{1,10}

RESUMO

Introdução: A fibromialgia é uma síndrome reumática caracterizada por dor difusa e crônica associada a fadiga, insônia, ansiedade, depressão, perda de memória e tontura. Embora os mecanismos fisiológicos que controlam a fibromialgia não tenham sido estabelecidos, fatores neuroendócrinos, genéticos ou moleculares podem estar envolvidos. **Objetivo:** O objetivo do presente estudo foi caracterizar os polimorfismos dos genes do receptor de serotonina (5-HT2A) e da catecol-O-metiltransferase (COMT) em pacientes brasileiros com fibromialgia, a fim de avaliar sua participação na etiologia da doença. **Material e métodos:** O DNA genômico extraído de 102 amostras de sangue (51 pacientes, 51 controles) foi usado para a caracterização molecular dos polimorfismos dos genes 5-HT2A e COMT, por meio de PCR-RFLP. **Resultados:** A análise molecular dos polimorfismos do gene 5-HT2A demonstrou frequências de 25,49% C/C, 49,02% T/C e 25,49% T/T, nos pacientes com fibromialgia, e 17,65% C/C, 62,74% T/C e 19,61% T/T, no grupo controle, não apresentando diferença significativa entre o grupo de pacientes e o grupo controle. Os polimorfismos do gene da COMT em pacientes com fibromialgia apresentaram uma frequência de 17,65% e 45,10% para os genótipos H/H e L/H, respectivamente. No grupo controle, as frequências foram de 29,42%, para H/H, e 60,78%, para L/H, sem diferença significativa entre ambos os grupos. Entretanto, houve diferença significativa na frequência do genótipo L/L em pacientes (37,25%) e controles (9,8%), o que permitiu a diferenciação entre os dois grupos. **Conclusão:** A frequência do genótipo L/L foi maior nos pacientes com fibromialgia. Apesar de a fibromialgia envolver uma situação poligênica e fatores ambientais, o estudo molecular do SNP rs4680 do gene da COMT pode auxiliar a identificação de indivíduos suscetíveis.

Palavras-chave: catecol-O-metiltransferase, fibromialgia, polimorfismo, gene do receptor de serotonina.

INTRODUÇÃO

A fibromialgia é uma síndrome reumática caracterizada por dor difusa e crônica, frequentemente associada à fadiga, insônia, ansiedade, rigidez matinal, depressão, perda de memória, tontura e dor muscular generalizada.¹ Resulta de anormalidades no processamento central de sinais algícos, provavelmente resultantes da combinação de interações entre neurotransmissores, estressores externos, perfis comportamentais, hormônios e sistema nervoso

simpático.² Em razão da dor e da cronicidade, essa desordem geralmente apresenta efeito negativo na qualidade de vida dos pacientes. A prevalência da fibromialgia na população geral varia de 0,66% a 4,4%,³ sendo 10 a 20 vezes mais frequente nas mulheres,⁴ geralmente afetando indivíduos na faixa etária produtiva (35 a 60 anos). Em estudo feito na América Latina, Senna *et al.*,⁵ em Minas Gerais, Brasil, observaram que a fibromialgia era a segunda doença reumática mais frequente, com prevalência de 2,5%. Portanto, pode ser considerada um importante problema de

Recebido em 07/05/2009. Aprovado, após revisão, em 26/02/2010. Declaramos a inexistência de conflitos de interesse.

1. Unidade de Biotecnologia, Universidade de Ribeirão Preto, SP, Brasil

2. Hospital Electro Bonini, Universidade de Ribeirão Preto, SP, Brasil

3. Fisioterapeuta, Mestre em Biotecnologia (Unaerp)

4. Mestrandos do Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia (Unaerp)

5. Biologista Molecular, Professora Titular da Unidade de Biotecnologia (Unaerp)

6. Biologista Molecular, Professora Titular da Unidade de Biotecnologia (Unaerp)

7. Reumatologista do Centro Clínico Electro Bonini (Unaerp)

8. Professora Titular da Unidade de Biotecnologia (Unaerp)

9. Biologista Molecular, Professora Titular da Unidade de Biotecnologia (Unaerp)

10. Geneticista, Professora Titular da Unidade de Biotecnologia (Unaerp)

Endereço para correspondência: Ana Lúcia Fachin. Unidade de Biotecnologia, Universidade de Ribeirão Preto, SP. Av. Costáble Romano, 2201, 14096-900, Ribeirão Preto – SP – Brasil. Fax: 55 -16-3603-7030. E-mail: asaltoratto@unaerp.br

saúde nas mulheres.⁶ Apesar do elevado número de estudos, não existem métodos diagnósticos ou tratamentos eficazes para essa doença.⁷ Apesar de os mecanismos fisiológicos da fibromialgia ainda não terem sido determinados, fatores neuroendócrinos parecem desempenhar papel importante. Além disso, mecanismos genéticos ou moleculares também podem estar envolvidos.^{8,9} Diversos estudos têm abordado a frequência dessa síndrome nas famílias de pacientes com fibromialgia, sugerindo que fatores genéticos e familiares podem desempenhar papel relevante em sua etiopatogenia.

Uma redução nos níveis de serotonina (5-HT) e de outros neurotransmissores aumenta a sensibilidade a estímulos dolorosos, e pode estar implicada na diminuição do fluxo sanguíneo observada nos músculos e tecidos superficiais de pacientes com fibromialgia. O gene transportador de serotonina tem sido implicado na patogenia de diversas desordens psiquiátricas.^{11,12} Considerando-se a eficácia de inibidores da recaptação da 5-HT no tratamento de dor crônica, a serotonina também pode contribuir para a etiologia da fibromialgia.¹³ A catecol-O-metiltransferase (COMT) é uma enzima que desativa as catecolaminas e os fármacos que contêm catecol.¹⁴ Existem diversos polimorfismos de nucleotídeo único no gene da COMT que levam a alterações funcionais importantes na enzima. A associação entre polimorfismo genético e fibromialgia ainda não está bem estabelecida, mas diversos autores já sugeriram que mutações nesses genes podem representar a base para um novo tratamento farmacológico no futuro.¹⁵ Portanto, o objetivo deste estudo consistiu em avaliar a frequência de polimorfismos dos genes do receptor de serotonina (5-HT_{2A}) e da COMT em pacientes brasileiros com fibromialgia e compará-los ao grupo controle composto por indivíduos saudáveis, a fim de determinar a frequência desses polimorfismos em nossa população.

MATERIAL E MÉTODOS

População do estudo

Cinquenta e um pacientes com fibromialgia atendidos no Centro Clínico Electro Bonini (Unaerp) entre maio de 2005 e julho de 2006 foram incluídos neste estudo. Os critérios de inclusão foram: pacientes com diagnóstico de fibromialgia, de acordo com as diretrizes do American College of Rheumatology (ACR)¹ de 1990, e sem doenças reumáticas. O grupo controle foi formado por 51 voluntários saudáveis. Os componentes do grupo controle eram indivíduos que se consideravam saudáveis e que não apresentavam história de dor crônica. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos da Unaerp (número 008/06) e todos os participantes

assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Os participantes responderam a um questionário com dados a respeito da etiologia da doença (Quadro 1).

Análise molecular dos polimorfismos dos genes do 5-HT_{2A} e COMT

O DNA genômico foi extraído de 5 mL de sangue com EDTA, usando-se o Wizard kit (Promega), de acordo com as instruções do fabricante. Um fragmento de gene do 5-HT_{2A} contendo 352 bp foi amplificado usando primers de Gursoy *et al.*² modificados, HT2AFWD 5'-CCT CAT CTG CTACAAGTT CTG GCT T-3' e HT2A-REV 5'-GCA TTC TGCAGC TTT TTC TCTAGG G-3'. Os primers descritos por Gursoy *et al.*¹⁴ foram utilizados para amplificar um fragmento de 185 bp do gene COMT, de 185 bp. A mistura da reação para a amplificação desses dois genes continha 100-500 ng de DNA, 10 mM de cada primer, 100 mM dNTPs, 1 U *Taq* polimerase (Invitrogen) e 1 mM de MgCl₂ em um volume final de 50 mL. A reação foi realizada no PTC-100 Thermocycler (MJ Research, Waterdown, MA, EUA) nas se-

Quadro 1. Questionário

1. Idade?
2. Profissão?
3. Estado civil?
4. Filhos? Quantos?
5. Há quanto tempo você está sentindo dor?
6. Há quanto tempo recebeu o diagnóstico de fibromialgia?
7. Você já fez, ou está fazendo, tratamento para fibromialgia? Qual?
8. Você está tomando algum anti-inflamatório? Qual? E a dose? Quais são os efeitos colaterais?
9. Você está tomando algum relaxante muscular? Qual? E a dose? Quais são os efeitos colaterais?
10. Que outros tratamentos para dor muscular você já fez ou está fazendo?
() Massagem () Acupuntura () Aplicação de calor ou frio
() Alongamento () Injeções em locais dolorosos
() Outros
11. Está tomando algum antidepressivo? Qual a dose? Quais são os efeitos colaterais?
12. Está tomando algum remédio para ansiedade? Qual a dose? Quais são os efeitos colaterais?
13. Como a dor afetou seu trabalho, lazer e/ou outras atividades?
14. Que outros sintomas, além de dor, você apresenta (fadiga, sonolência, depressão etc.)?
15. Em sua opinião, o que significa sentir dor?
16. Alguém na sua família tem fibromialgia? Qual o seu parentesco com eles?
17. Com que frequência você urina?
18. Algum parente seu tem história de depressão?

guintes condições: desnaturação inicial a 95° C por 3 minutos, seguida de quarenta ciclos a 95° C por 30 segundos, anelamento a 55° C por 30 segundos e a 72° C por 30 segundos para extensão, seguido pela etapa de extensão final a 72° C por 10 minutos.

Para o gene do 5-HT2A, os produtos do PCR foram digeridos com 3 U de *MspI* (Promega) a 37° C, por 18 horas, e separados em agarose gel a 1%. O alelo 1 (alelo T102) correspondia a um produto não digerido do PCR de 352 bp, enquanto o alelo 2 (alelo C102) consistia de dois fragmentos de 220 bp e 132 bp.²

Para os genes da COMT, os produtos do PCR foram digeridos com 3 U da enzima de restrição *Hsp92 II* (Promega) a 37° C, por 18 horas. As bandas foram visualizadas em gel de poliacrilamida a 8%, após serem coradas com brometo de etídio (10 mg/mL) por 20 minutos. O genótipo COMT-L/L foi representado por fragmentos de 114 bp, 35 bp e 35 bp; o genótipo COMT-H/H, por fragmentos de 96 bp, 35 bp, 36 bp e 18 bp; e o genótipo COMT-L/H, por fragmentos de 114 bp, 96 bp, 36 bp, 35 bp e 18bp.¹⁴

Análise dos dados

Os resultados referentes aos polimorfismos foram analisados pelo teste de Tukey com o uso do programa SISVAR.

RESULTADOS

Os dados referentes aos pacientes foram obtidos por meio de um questionário (Quadro 1). A população do estudo era formada por 102 indivíduos da mesma origem étnica e geográfica, incluindo 51 pacientes com diagnóstico de fibromialgia (idade média de 50 ± 12 anos) e 51 controles saudáveis (45 ± 10 anos). Não se observaram diferenças significativas em ambos os grupos (controles e pacientes) com relação a idade, sexo e estado civil. A duração média da fibromialgia foi de 7 ± 6 anos. Com relação à dor muscular, 67% dos pacientes relataram dor por um período de 1-5 anos e 4% se queixaram de dores musculares por mais de 20 anos (Tabela 1).

Com relação ao tratamento farmacológico, 58,94% dos pacientes estavam tomando, ou já haviam tomado, algum tipo de anti-inflamatório para dor muscular, mas relataram que esse tipo de medicamento só produzia alívio temporário. Relaxantes musculares, mais especificamente ciclobenzaprina, estavam sendo utilizados, ou já haviam sido usados, por 69,81% dos pacientes, mas nem todos os pacientes toleravam esse medicamento e relataram efeitos colaterais durante o tratamento. Além disso, 73,58% dos pacientes estavam tomando ou já haviam tomado antidepressivos para o tratamento da fibromialgia. Com

relação aos antidepressivos inibidores da recaptação de serotonina, os pacientes relataram o uso de fluoxetina (48,97%), amitriptilina (5,76%), sertalina (5,76%), paroxetina (1,92%) e citalopram (1,92%), assim como o antidepressivo tricíclico imipramina (9,61%). Apenas 1,96% dos pacientes relatou uso do ansiolítico alprazolam para o tratamento da fibromialgia. Tratamentos alternativos incluíram fisioterapia (38,46%), hidroginástica (25%) e caminhada (23,07%).

Neste estudo, a análise dos polimorfismos do gene do 5-HT2A demonstrou frequências de 25,49%, 49,02% e 25,49%, para os genótipos C/C, T/C e T/T, respectivamente, em pacientes com fibromialgia, e de 17,65%, 62,74% e 19,61%, no grupo controle, sem diferenças significativas nos três genótipos entre pacientes e grupo controle (Tabela 2).

A análise do gene da COMT mostrou frequências de 17,65%, 45,10% e 37,25%, para os genótipos H/H, L/H e L/L, respectivamente, nos pacientes com fibromialgia. Essa proporção foi de 29,42%, 60,78% e 9,80% no grupo controle, sem diferenças significativas nos genótipos H/H e L/H entre ambos os grupos. O resultado mais interessante de nosso estudo foi a diferença significativa na frequência do genótipo L/L entre os pacientes (37,25%) e o grupo controle (9,8%), permitindo a diferenciação entre os dois grupos (Tabela 3).

A análise molecular do polimorfismo do gene 5-HT2A nos pacientes com fibromialgia demonstrou prevalência de 25,49% do genótipo homocigoto selvagem, 49,02% do genótipo heterocigoto e 25,49% do genótipo homocigoto recessivo. O polimorfismo do gene da COMT mostrou prevalência de 17,65% do genótipo homocigoto selvagem, 45,10% de heterocigotos e 37,25% de homocigotos recessivos (com predominância da mutação Met-158-Met) nos pacientes com fibromialgia.

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que a análise molecular do 5-HT2A não mostrou relação deste polimorfismo genético com a fibromialgia na população brasileira. Resultados semelhantes foram relatados por Gursoy *et al.*² em pacientes turcos.

Outro mecanismo relacionado com a fisiopatologia da fibromialgia pode ser a disfunção do gene que codifica a enzima COMT, que desativa a catecolamina, incluindo a dopamina e os fármacos que contêm dopamina.¹⁶ Essa enzima é responsável por doenças neuroendócrinas caracterizadas pela função anormal do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.¹⁴ Existem diferentes polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) que induzem alterações funcionais importantes nessa enzima. O polimorfismo de nucleotídeo único (rs4680) mais bem estudado ocorre no códon

Tabela 1
Características dos pacientes com fibromialgia e controles saudáveis

	Pacientes (n = 51)	Controles (n = 51)
Idade em anos (média ± DP)	50 ± 12	45 ± 10
Duração da doença em anos (média ± SD)	7 ± 6	—
Porcentagem de pacientes que relataram presença de dor muscular (duração em anos)	T (1-5) = 67%	—
	T (5-10) = 15%	—
	T (10-15) = 8%	—
	T (15-20) = 6%	—
	T (> 20) = 4%	—
Gênero (feminino/masculino)	49/2	48/3
Casados	33 (65 %)	31 (60%)

Tabela 2
Frequência dos polimorfismos do gene do receptor de serotonina (5-HT_{2A}) nos pacientes com fibromialgia e controles saudáveis

Genótipo	Pacientes (%)	Controles (%)
C/C	25,49 ^a	17,65 ^a
T/C	49,02 ^a	62,74 ^a
T/T	25,49 ^a	19,61 ^a

Valores médios na mesma linha seguidos por diferentes letras sobrescritas apresentaram diferença significativa (P = 0,05, teste de Tukey).

Tabela 3
Frequência dos polimorfismos da catecol-O-metiltransferase (COMT) nos pacientes com fibromialgia e controles saudáveis

Genótipo	Pacientes (%)	Controles (%)
H/H	17,65 ^a	29,42 ^a
L/H	45,10 ^a	60,78 ^a
L/L	37,25 ^a	9,80 ^b

Valores médios na mesma linha seguidos de letras sobrescritas apresentaram diferença significativa (P = 0,05, teste de Tukey).

158, resultando em uma transição valina para metionina (Val-158-Met). O genótipo H/H (Val-158-Val) produz uma enzima eficaz, enquanto o genótipo L/L (Met-158-Met) produz uma enzima defeituosa, incapaz de metabolizar as catecolaminas do sistema de maneira eficaz.¹⁶ Neste estudo, a análise do SNP (rs4680) do gene da COMT mostrou frequência de 37,25% do genótipo LL (Met-158-Met), nos pacientes, e 9,8% nos controles, demonstrando grande diferença estatística capaz de distinguir ambos os grupos. Gursoy *et al.*¹⁴ observaram uma associação entre a fibromialgia e os genótipos da COMT em pacientes turcos, com 73,85% dos pacientes apresentando ati-

dade enzimática baixa ou intermediária (L/L ou L/H) e 26,2% com atividade enzimática elevada (H/H). O genótipo L/L foi o mais comum nos pacientes estudados. Entretanto, esse genótipo pode ser apenas mais um fator associado à fibromialgia.

Vargas-Alarcon *et al.*⁶ compararam seis SNPs do gene COMT (rs2097903, rs6269, rs4633, rs4818, rs4680 e rs165599) de pacientes da Espanha e do México com fibromialgia. No grupo de pacientes espanhóis, houve associação entre fibromialgia e haplótipo da COMT que já havia sido vinculado à sensibilidade à dor, mas essa associação não foi observada nos pacientes mexicanos. Zubieta *et al.*¹⁷ demonstraram que indivíduos saudáveis com o genótipo Val-1258-Val da COMT são resistentes à dor. O oposto foi observado em indivíduos com polimorfismo Met-158-Met da COMT.⁹ Na Espanha, García-Fructuoso *et al.*¹⁸ observaram que pacientes com fibromialgia e o genótipo Met-158-Met apresentam uma forma mais grave da doença quando comparados com aqueles pacientes com o genótipo Val-158-Val. Entretanto, Tander *et al.*¹⁵ não observaram associação entre fibromialgia e os polimorfismos dos genes do 5-HT_{2A} e da COMT, mas é possível que múltiplas interações de diversos sistemas e vias de neurotransmissores estejam envolvidas na fibromialgia.

Além da associação dos genótipos com as doenças, a caracterização molecular dos polimorfismos nos genes que codificam enzimas, transportadores e receptores para o metabolismo dos fármacos, assim como idade, sexo, nutrição e fatores genéticos, podem contribuir para uma grande variedade de respostas a um fármaco.¹⁹ Sadée e Dai²⁰ associaram polimorfismos nos genes do HTR_{2A} e COMT, entre outros, a respostas a determinados fármacos. Estudos futuros nessa área podem ajudar a estabelecer correlação entre esses polimorfismos e resposta ao tratamento da fibromialgia.

Concluindo, na população brasileira estudada, o polimorfismo do receptor da serotonina não parece estar envolvido diretamente nos mecanismos da fibromialgia. Por outro lado, o genótipo L/L foi mais frequente nos pacientes com fibromialgia do que no grupo controle. Portanto, portadores do genótipo L/L podem ser mais suscetíveis ao desenvolvimento dessa síndrome. Ainda que considerando-se uma situação poligênica e fatores ambientais, o estudo molecular do SNP rs4680 do gene da COMT pode ser útil na identificação de indivíduos suscetíveis.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer aos pacientes e indivíduos do grupo controle que doaram sangue para este estudo e a K. Markendorf, pela revisão do inglês.

REFERÊNCIAS

REFERENCES

1. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL *et al.* The American College of Rheumatology criteria for the classification of fibromyalgia: report of the multicenter criteria committee. *Arthritis Rheum* 1990; 33:160-72.
2. Gursoy S, Erdal E, Herken H, Madenci E, Alasehirli B. Association of T102C polymorphism of the 5-HT2A receptor gene with psychiatric status in fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int* 2001; 21:58-61.
3. Cavalcante AB, Sauer JF, Chalot SD, Assumpção A, Lage LV, Matsutani LA *et al.* The prevalence of fibromyalgia: a literature review. *Rev Bras Reumatol* 2006; 46:40-8.
4. Yunus, MB. Fibromyalgia in men: comparison of clinical features with women. *J Rheumatol* 2000; 27 (2):485-90.
5. Senna ER, De Barros AL, Silva EO, Costa IF, Pereira LV, Ciconelli RM *et al.* Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. *J Rheumatol* 2004; 31:594-759.
6. Vargas-Alarcón G, Fragoso JM, Cruz-Robles D, Vargas An, Vargas AI, Lao-Villadógina, JI *et al.* Catechol-O-Methyl Transferase (COMT) gene haplotypes in Mexican and Spaniard patients with fibromyalgia. *Arthritis Res Ther* 2007; 9:R110.
7. Martinez JE, Ferraz MB, Saio EI, Atra E. Avaliação seqüencial do impacto de fibromialgia e artrite reumatóide na qualidade de vida. *Rev Bras Reumatol* 1994; 34:309-16.
8. Wolfe F, Russell IJ, Vipraio G, Ross K, Anderson JF. Serotonin levels, pain threshold, and fibromyalgia symptoms in the general population. *J Rheumatol* 1997; 24:555-9.
9. Russell IJ. Advances in fibromyalgia: possible role for central neurochemicals. *Am J Med Sci* 1998; 315:377-84.
10. Buskila D, Sarzi-Puttini P. Biology and therapy of fibromyalgia. Genetic aspects of fibromyalgia syndrome. *Arthritis Res Ther* 2006; 8(5):218.
11. Heils A, Teufel A, Petri S, Stöber G, Riederer P, Bengel D *et al.* Allelic Variation of Human Serotonin Transporter Gene Expression. *J Neurochem*. 1996; 66:2621-4.
12. Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S *et al.* Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996; 24: 1527-31.
13. Lenzinger E, Neumeister A, Praschak-Riedera N, Fuchs K, Gerhard E, Willeit M *et al.* Behavioral effects of tryptophan depletion in seasonal affective disorder associated with the serotonin transporter gene? *Psychiatry Res* 1999; 85:241-6.
14. Gursoy S, Erdal E, Herken H, Madenci E, Alasehirli B, Erdal N. Significance of catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int* 2003; 23:104-7.
15. Tander B, Gunes S, Boke O, Alayli G, Kara N, Bagci H *et al.* Polymorphisms of the serotonin-2A receptor and catechol-O-methyltransferase genes: a study on fibromyalgia susceptibility. *Rheumatol Int* 2008; 28:685-91.
16. Mannisto PT, Kaakkola S. Catechol-O-methyltransferase (COMT) biochemistry, molecular biology, pharmacology, and clinical efficacy of new selective COMT inhibitors. *Pharmacol Rev* 1999; 51:593-628.
17. Zubieta JK, Heitzeg MM, Smith YR, Bueller JA, Xu K, Xu Y *et al.* COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. *Science* 2003; 299:1240-3.
18. Garcia-Fructuoso FJ, Lao-Villadoniga JI, Beyer K, Santos C. Relación entre genotipos del gen catechol-o-metil transferasa y la gravedad de la fibromialgia. *Reumatol Clin* 2006; 2:168-72.
19. Shastry BS. Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine. *Pharmacogenomics J* 2006; 6:16-21.
20. Sadée W, Dai Z. Pharmacogenetics/genomics and personalized medicine. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 207-14.