

IMPLIKASI KLINIS VARIASI JUMLAH *COPY* GEN CYP2D6

Clinical Implications of CYP2D6 Gene Copy Number Variation

Anggi Gayatri^{1*}, Purwastyastuti Ascobat¹, Rianto Setiabudy¹

¹Departemen Farmakologi dan Terapeutik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

*Corresponding author : gayatri.anggi@ui.ac.id

ABSTRAK

Enzim CYP2D6 adalah salah satu varian sitokrom P450 (CYP450) yang berperan dalam metabolisme obat di hati. Isoform ini berperan dalam memetabolisme 25% obat yang saat ini beredar di pasaran. Aktivitas CYP450 dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti usia, jenis kelamin, fungsi organ pemetabolisme, jenis dan derajat penyakit, serta variasi genetik. Salah satu faktor penentu aktivitas CYP2D6 adalah sifat gene CYP2D6 yang sangat polimorfik. Faktor penentu polimorfisme gen CYP2D6 adalah mutasi pada nukleotida tunggal (*single nucleotide polymorphisms* (SNPs)) dan variasi jumlah *copy* (*copy number variation* (CNV)) gen CYP2D6. Kejadian mutasi gen dan variasi jumlah *copy* gen CYP2D6 dapat meningkatkan atau menurunkan aktivitas enzim CYP2D6 yang selanjutnya dapat menurunkan atau meningkatkan efikasi obat yang merupakan substrat CYP2D6 ataupun dapat menimbulkan toksisitas obat. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengevaluasi hubungan mutase SNPs gen CYP2D6 dengan efek obat. Dalam tinjauan kali ini akan dibahas mengenai pengaruh variasi jumlah *copy* (*copy number variation*) gen CYP2D6 terhadap efek terapi ataupun efek samping obat.

Kata Kunci: CYP450, *copy number variation*, *single nucleotide polymorphisms*, mutasi gen

ABSTRACT

The CYP2D6 is a variant of cytochrome P450 (CYP450) which plays a role in drug metabolism in the liver. This isoform has a role in metabolizing 25% of drugs currently on the market. CYP450 activity can be influenced by various factors such as age, sex, organ function, type and degree of disease, and genetic variation. One of the determining factors for CYP2D6 activity is the highly polymorphic nature of the CYP2D6 gene. The determinants of CYP2D6 gene polymorphism are mutations in single nucleotide polymorphisms (SNPs) and *copy number variation* (CNV) of the CYP2D6 gene. The occurrence of gene mutations and variations in CYP2D6 gene *copy number* can increase or decrease the activity of CYP2D6 enzymes which in turn can reduce or increase the efficacy of CYP2D6 substrate or can cause drug toxicity. Several studies have been conducted to evaluate the relationship between SNPs of CYP2D6 gene and drug effects. In this article, we reviewed the association of *copy number variations* of the CYP2D6 gene and drug effects.

Keywords: CYP450, *copy number variation*, *single nucleotide polymorphisms*, gene mutation

PENDAHULUAN

Metabolisme obat adalah salah satu proses farmakokinetik yang menentukan respon tubuh terhadap obat yang diberikan. Enzim pemetabolisme utama dalam tubuh manusia adalah Sitokrom P450

(CYP450). Aktivitas CYP450 ditentukan oleh beberapa faktor seperti variasi genetik, jenis kelamin, usia, serta jenis dan derajat penyakit (Zanger and Schwab, 2013). CYP2D6 adalah salah satu isoform CYP450 yang berfungsi memetabolisme 25% obat

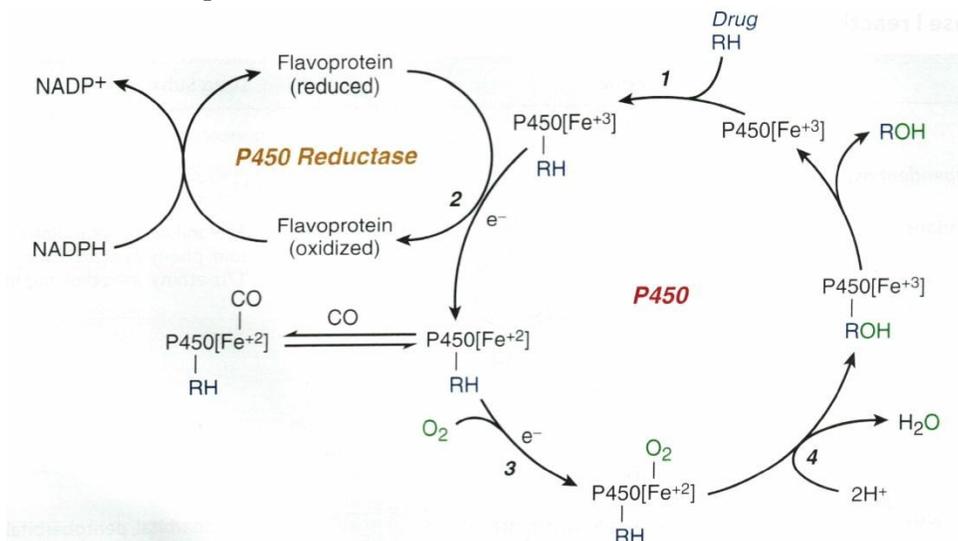
yang beredar di pasaran. Salah satu penentu aktivitas enzim CYP2D6 adalah karakteristik gen CYP2D6 yang sangat polimorfik dan dapat berbeda antar populasi. Polimorfisme gen CYP2D6 dapat ditentukan oleh mutasi pada gen berupa *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) dan variasi jumlah *copy* gen CYP2D6 (Zanger, Raimundo and Eichelbaum, 2004; Ramamoorthy and Skaar, 2011). Variasi aktivitas CYP2D6 pada masing-masing individu perlu menjadi perhatian khusus bagi para dokter yang memberikan obat sebab dapat menyebabkan peningkatan atau penurunan efek obat yang diberikan. Para ahli telah banyak meneliti pengaruh SNPs terhadap aktivitas enzim CYP2D6 dan pengaruhnya terhadap efek obat. Dalam artikel review kali ini akan dibahas mengenai pengaruh variasi jumlah *copy* (*copy number variation*) gen CYP2D6 terhadap efek obat.

Metabolisme Obat

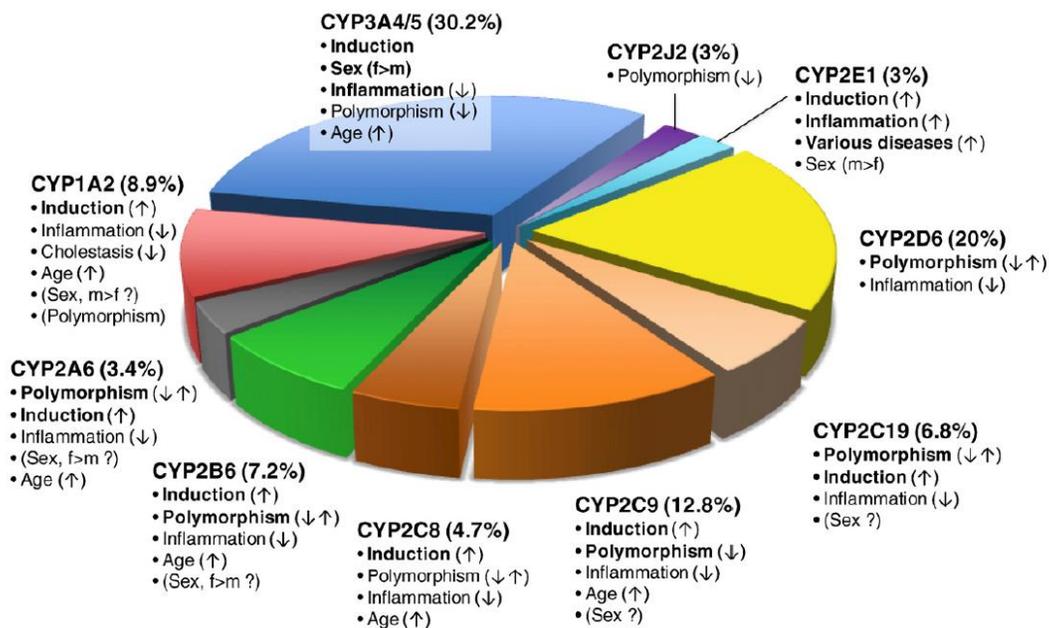
Metabolisme obat adalah usaha tubuh untuk mengubah obat menjadi lebih polar, sehingga mudah diekskresi melalui ginjal. Hasil metabolit obat dapat menjadi tidak aktif, menjadi aktif, atau bahkan menjadi lebih aktif daripada obat asalnya. Proses metabolisme obat diperantarai oleh enzim

yang terutama terdapat di hati, dan dalam jumlah kecil juga terjadi di organ lain seperti dinding usus (Buxton and Benet, 2011; Correia, 2012).

Secara umum metabolisme dapat dibagi menjadi dua fase. Reaksi fase 1 terjadi di mikrosom hati. Reaksi yang terjadi pada fase ini yaitu reaksi oksidasi, reduksi, dan hidrolisis. Dua enzim yang berperan pada reaksi fase satu adalah *NADPH-cytochrome P450 oxidoreductase* (POR) dan sitokrom P450 (CYP450). Proses oksidasi pada fase satu juga memerlukan NADPH dan molekul oksigen. Berdasarkan skema siklus oksidasi pada reaksi fase 1 pada Gambar 1, menjelaskan bahwa CYP450-teroksidasi [CYP450 (Fe^{3+})] akan membentuk kompleks dengan substrat obat. NADPH mendonorkan elektron pada flavoprotein P450 reduktase, yang kemudian akan mereduksi kompleks CYP450-teroksidasi. Elektron kedua diberikan oleh NADPH melalui P450 reduktase yang sama, yang akan mereduksi molekul oksigen dan membentuk kompleks substrat-CYP450 (Fe^{2+})-teraktivasi oksigen. Kompleks ini kemudian akan memberikan oksigen pada substrat obat untuk membentuk produk teroksidasi (Buxton and Benet, 2011; Correia, 2012).



Gambar 1. Siklus CYP450 pada Proses Oksidasi Obat.



Gambar 2. Persentase Peran Isoform CYP450 dalam Tubuh Manusia (Zanger and Schwab, 2013)

Enzim CYP450 terdiri dari banyak isoform. Isoform utama yang memetabolisme sekitar 50% obat adalah CYP3A4. Sementara itu isoform CYP2D6, yang jumlahnya di dalam tubuh manusia diperkirakan hanya sekitar 5 %, berperan dalam memetabolisme 25% obat yang ada saat ini. Isoform lain yang diketahui berperan memetabolisme obat yaitu CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, dan CYP2E1. Tiap isoform akan memetabolisme berbagai jenis obat tergantung pada substrat masing-masing (Correia, 2012). Kontribusi masing-masing isoform dapat dilihat pada Gambar 2.

Reaksi fase 2 merupakan reaksi konjugasi dengan berbagai molekul, seperti asam glukoronat, sulfat, glutation, asam amino, atau asetat. Reaksi fase 2 juga memerlukan berbagai enzim transferase, seperti *uridine 5'-diphosphate* (UDP)-*glucuronosyltransferase* (UGTs), *sulfotransferase* (SULTs), *N-acetyltransferase* (NAT), dan *glutathione transferase* (GSTs) (Buxton and Benet, 2011; Correia, 2012).

Laju atau aktivitas metabolisme dapat dipengaruhi oleh faktor genetik dan non-genetik. Faktor non-genetik yang dapat mempengaruhi yaitu usia, jenis kelamin, fungsi hati, ritme sirkadian, suhu tubuh, nutrisi dan obat lain yang digunakan. Metabolisme obat juga erat kaitannya dengan sifat atau karakteristik gen yang mengekspresikan aktivitas enzim pemetabolisme. Variasi gen inilah yang dapat menyebabkan perubahan aktivitas enzim pemetabolisme (Correia, 2012). Beberapa enzim pemetabolisme obat yang aktivitasnya diketahui dapat dipengaruhi oleh polimorfisme genetik adalah CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, dan CYP3A5, CYP2A6, dan CYP2B6 (Zanger and Schwab, 2013)

Enzim CYP2D6 dan Polimorfisme Gen CYP2D6

Beberapa obat yang merupakan substrat isoenzim CYP2D6 yaitu dekstrometorfan, metoprolol, berbagai antiaritmia, antidepresan, antipsikotik, dan beberapa turunan morfin. Enzim ini tidak dapat diinduksi oleh obat tertentu, tetapi dapat diinhibisi oleh obat tertentu, seperti fluoksetin dan

kuinidin (Zanger and Schwab, 2013). Karena perannya yang cukup besar, maka perubahan aktivitas enzim CYP2D6 karena berbagai sebab dapat berpengaruh terhadap respon pasien terhadap obat-obat yang diberikan. Salah satu faktor penentu aktivitas CYP2D6 yang tidak dapat dimodifikasi adalah variasi genetik.

Polimorfisme genetik adalah variasi sekuens DNA yang terdapat pada lebih dari atau sama dengan 1% populasi. Polimorfisme genetik merupakan salah satu faktor terpenting yang menyebabkan variabilitas respons individu terhadap obat. Keadaan ini dapat menyebabkan terjadinya variasi pada target terapi, proses transport ataupun metabolisme obat. Variasi pada proses metabolisme obat dapat menyebabkan perubahan kadar obat dalam plasma dan jaringan, yang kemudian dapat menyebabkan perubahan respons obat (Ma and Lu, 2011; Relling and Giacomini, 2011).

Aktivitas enzim CYP2D6 ditentukan oleh gen CYP2D6 yang terdapat pada kromosom 22q13.1 dan bersifat sangat polimorfik. Polimorfisme gen CYP2D6 ditentukan oleh mutasi pada gen, yang dapat berupa *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) dan variasi jumlah *copy* gen CYP2D6 (Zanger, Raimundo and Eichelbaum, 2004; Ramamoorthy and Skaar, 2011). SNPs adalah polimorfisme yang terjadi akibat variasi/mutasi pada nukleotida tunggal; sedangkan variasi jumlah *copy* adalah variasi jumlah *copy* suatu gen yang harusnya secara normal satu gen memiliki 2 *copy*. Dampak polimorfisme terhadap aktivitas CYP2D6 memperlihatkan pengaruh paling besar dibandingkan enzim sitokrom yang lain. Hal ini terutama karena spektrum variasi genetik yang lebar dan kecilnya pengaruh lingkungan dan faktor non-genetik. Secara umum variabilitas aktivitas enzim CYP2D6 pada individu dapat dibedakan menjadi *poor metabolizer*, *intermediate metabolizer*,

extensive metabolizer dan *ultrarapid metabolizer* (Zanger, Raimundo and Eichelbaum, 2004).

Variasi genetik yang paling sering terjadi adalah *single nucleotide polymorphism substitutions* (SNPs) dan SNP insersi/delesi. SNPs dapat dibagi menjadi dua, yaitu tipe *coding* dan *non-coding*. Tipe *coding nonsynonymous* SNPs dapat menyebabkan substitusi nukleotida sehingga dapat menyebabkan perubahan kodon asam amino. Perubahan kodon asam amino dapat menyebabkan perubahan struktur, stabilitas, afinitas substrat protein, atau bahkan merupakan stop codon. Tipe *coding synonymous* SNPs tidak mengubah kodon asam amino, tapi kemungkinan memiliki konsekuensi fungsional. Tipe *non-coding* mungkin terdapat pada promoter, intron, atau fungsi regulasi yang lain. Perubahan ini dapat memengaruhi proses transkripsi, *splicing*, atau proses lainnya. SNP insersi/delesi dapat memiliki pengaruh yang sama dengan SNPs, sehingga juga dapat menyebabkan perubahan kodon asam amino (Relling and Giacomini, 2011).

Gen CYP2D6 terdiri atas 9 ekson dan 8 intron. Sejauh ini telah diketahui puluhan alel dan subvarian alel gen CYP2D6 yang berhasil diidentifikasi (*Human Cytochrome P450 Allele Nomenclature*

Committee:

www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm). Variasi alel terbentuk dari kombinasi antara SNPs, insersi/delesi, dan konversi gen. Beberapa varian alel gen CYP2D6 yang telah diketahui yaitu:

- a. Alel dengan aktivitas enzim normal (gen fungsional), yaitu *1, *2, *33, dan *35
- b. Alel dengan aktivitas enzim menurun, yaitu *9, *10, *17, *29, *41, *59
- c. Alel nonfungsional, yaitu *3, *4, *5 - *8, *11 - *16, *18 - *21, *36, *38, *40, *42, *44, *56, dan *62
- d. Alel fungsional yang belum dapat ditentukan, yaitu *22 - *28, *30 - *32, *34, *37, *39, *43, *45 - *55, *70, *71, *73, dan *747

Copy Number Gen CYP2D6

Copy number variation (CNV) adalah variasi jumlah *copy* suatu gen dari jumlah normal dua *copy* dalam genom spesifik pada satu individu tertentu. Perbedaan jumlah *copy* tersebut dapat terjadi akibat delesi atau multiplikasi (Ramamoorthy and Skaar, 2011). *The Human CNV Project* mengidentifikasi bahwa *copy number variation* terdapat pada 12% dari keseluruhan genom manusia, dan kemungkinan hal ini berperan pada penyebab penyakit, respons terhadap obat dan toksisitas obat pada manusia. CNV pada gen CYP2D6 dan CYP2C19 merupakan contoh CNV yang mempengaruhi respons dan toksisitas obat (He, Hoskins and McLeod, 2011).

CNV gen CYP2D6 diketahui memiliki peran dalam menentukan respons dan toksisitas obat pada pasien. CNV berbagai varian alel dapat mengubah aktivitas enzim CYP2D6. Misalnya, tiga *copy* alel fungsional *1 dan *2 akan memperlihatkan peningkatan aktivitas enzim dan diklasifikasikan sebagai *ultrarapid metabolizer* (Aklillu *et al.*, 1996; Ramamoorthy and Skaar, 2011). Perubahan aktivitas enzim ini tidak selalu terjadi, karena perubahan tersebut tergantung pada alel yang mengalami perbedaan jumlah *copy*. Misalnya jika terdapat individu dengan varian alel *10 (termasuk individu *intermediate metabolizer*). Multiplikasi alel *10, tidak mengubah aktivitas enzim CYP2D6. Oleh karena itulah fenotip sebaiknya ditentukan dengan mempertimbangkan peran SNPs dan CNV (Ishiguro *et al.*, 2004; Kiyotani *et al.*, 2010).

Berdasarkan variasi SNPs dan *copy number* gen CYP2D6, individu dapat dibedakan menjadi empat kelompok berdasarkan aktivitas enzim CYP2D6:

a. Individu *ultrarapid metabolizer* (UM) memiliki lebih dari 2 *copy* gen fungsional (aktif mengkode enzim).

b. Individu *extensive metabolizer* (EM) merupakan individu dengan fenotip normal. Kelompok individu ini memiliki 2 *copy* gen fungsional.

c. Individu *intermediate metabolizer* (IM) hanya memiliki satu alel atau *copy* gen fungsional.

d. Individu *poor metabolizer* (PM) memiliki gen yang mengalami defek atau delesi (*null allele*), sehingga enzim pemetabolisme tidak berfungsi (Zanger and Schwab, 2013).

Metode Kuantifikasi Jumlah Copy Gen CYP2D6

Untuk menentukan jumlah *copy* gen CYP2D6 diperlukan teknik dan alat tertentu dengan biaya yang tidak sedikit. Beberapa metode yang dapat digunakan untuk kuantifikasi jumlah *copy* gen adalah *southern blotting*, *long-PCR* (*polymerase chain reaction*) dan *real-time quantitative PCR* (Cantsilieris, Baird and White, 2013).

Southern blotting merupakan teknik yang pertama kali ditemukan untuk mendeteksi sekuens spesifik DNA. Pada prinsipnya pelaksanaan teknik ini dibagi menjadi 3 tahap. Pertama, yaitu memisahkan fragmen DNA target menggunakan teknik elektroforesis. Pemisahan DNA dilakukan dengan enzim restriksi dan DNA akan terpisah sesuai dengan besar molekulnya. Kedua adalah mentransfer DNA hasil tahap pertama ke membran nitroselulosa atau nilon. Tahap yang terakhir adalah mengikat fragmen DNA target menggunakan *strand* dengan urutan basa komplementer (*antisense*) (Nicholas and Nelson, 2013).

Metode PCR pertama kali dikembangkan menggunakan DNA polimerase (Taq) dari *Thermus aquaticus*. Taq ini memiliki keterbatasan ketika digunakan untuk amplifikasi fragmen DNA (*amplicon*) yang panjang. Taq tersebut baik digunakan untuk amplifikasi DNA dengan panjang basa 2 sampai 3 kb. Padahal pada beberapa keadaan dibutuhkan amplifikasi pada keseluruhan panjang gen, termasuk pada penilaian jumlah *copy* gen.

Untuk mengatasi masalah tersebut, saat ini telah dikembangkan metode *long-PCR*, yang mengkombinasi penggunaan DNA polimerase dengan enzim *proofreading* (misalnya Pfu). Dengan metode ini fragmen DNA yang diamplifikasi dapat lebih dari 20 kb pada genom manusia. *Long-PCR* dapat dijadikan pengganti metode *southern blotting* yang secara teknis lebih sulit dan membutuhkan waktu lebih lama (Keeney, 2011).

Real-time qPCR (*quantitative PCR*) merupakan pengembangan dari metode *real-time PCR* dengan hasil kuantitatif. Akumulasi produk yang dihasilkan dari *real-time PCR* ini akan tergambar sebagai kurva amplifikasi sigmoid. Semakin banyak DNA yang dihasilkan maka semakin rendah nilai siklus kuantifikasinya (dilambangkan sebagai Cq). Metode ini memiliki beberapa kelebihan dibanding metode lain, yaitu biaya yang lebih murah, peralatan dan bahan habis pakai yang digunakan lebih sedikit, waktu pengerjaan yang lebih singkat, dan sensitivitas tinggi (Barbara, Vandesompele and Hellemans, 2010).

Pengaruh Jumlah Copy Gen CYP2D6 terhadap Efek Terapi Obat

Hubungan efikasi obat dengan jumlah *copy* gen CYP2D6 telah dibuktikan oleh penelitian Candiotti *et al.*, yang mengevaluasi pengaruh variasi jumlah *copy* gen CYP2D6 terhadap efek ondansetron pada pasien wanita pasca operasi. Ondansetron merupakan substrat enzim CYP2D6. Kegagalan terapi dengan ondansetron didapati terutama pada individu ultrarapid metabolizer, yang memiliki jumlah *copy* alel fungsional ≥ 3 . Semakin cepat metabolisme ondansetron, maka akan semakin rendah kadar ondansetron dan semakin tinggi kadar metabolit inaktifnya, sehingga efektivitas obat akan menurun. Hipotesis ini terbukti pada penelitian Candiotti

et al., yang menyimpulkan bahwa persentase kejadian muntah pada subjek pasca operasi dengan jumlah tiga *copy* gen CYP2D6 yang mendapat ondansetron lebih tinggi secara bermakna dibandingkan dengan subjek yang memiliki jumlah *copy* dua (30,4% vs 13,6%; $p = 0,034$), tetapi kejadian mual tidak berbeda bermakna antara kedua kelompok subjek tersebut (Candiotti, Bimbach and Lubarsky, 2005)

Tamoksifen adalah modulator reseptor estrogen yang bersifat selektif, yang bekerja sebagai antagonis pada reseptor estrogen di jaringan payudara. Obat ini diresepkan sebagai farmakoterapi untuk kanker payudara yang memiliki reseptor estrogen. Tamoksifen adalah substrat enzim CYP2D6 yang merupakan prodrug sehingga perlu dimetabolisme oleh CYP2D6 untuk dapat menjadi obat aktif. Fungsi CYP2D6 adalah mengubah N-desmetiltamoksifen (metabolit primer tamoksifen) menjadi endoksifen. Endoksifen merupakan bentuk aktif tamoksifen dan memiliki afinitas terhadap reseptor estrogen 10 kali lipat dibandingkan tamoksifen. Kadar endoksifen lebih tinggi pada individu UM yang memiliki beberapa *copy* alel fungsional CYP2D6 dibandingkan individu EM yang hanya memiliki 2 *copy* alel CYP2D6 (He, Hoskins and McLeod, 2011).

Penelitian yang hampir mirip juga dilakukan di Jerman, yang melakukan analisis variasi gen CYP2D6 pada 492 subjek kanker payudara. Pada akhir studi disimpulkan bahwa subjek yang memiliki alel fungsional CYP2D6 lebih dari dua *copy* (*1/*1xN, *2/*1xN dan *1/*2xN) dan diklasifikasikan sebagai UM akan mendapat manfaat terbesar dari pemberian tamoksifen pada analisis kesintasan Kaplan-Meier. Sementara itu, subjek yang

termasuk *poor metabolizer* (tidak memiliki *copy* alel fungsional CYP2D6) memiliki luaran yang paling tidak baik dibandingkan subjek *extensive metabolizer* (*hazard ratio*, 2.77; 95% *confidence interval* 1.31–5.89) (Schroth *et al.*, 2010).

Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Motamedi *et al.*, diketahui bahwa persentase subjek pasien kanker payudara yang sensitif terhadap tamoksifen dan memiliki 2 *copy* gen CYP2D6 lebih besar daripada kelompok dengan satu *copy* (OR kejadian resistensi tamoksifen = 0,759 dan 0,853). Berdasarkan hal tersebut, diperkirakan bahwa jumlah *copy* gen CYP2D6 dapat memengaruhi sensitivitas terhadap tamoksifen (Motamedi *et al.*, 2012).

Hubungan *copy* number gen CYP2D6 dengan efek obat juga dievaluasi pada subjek yang mendapatkan nortriptilin, yaitu antidepresan trisiklik yang memiliki mekanisme kerja sebagai penghambat reuptake norepinefrin. Pada penelitian yang dilakukan oleh Dalen *et al.*, diketahui bahwa kadar plasma nortriptilin lebih rendah dan bersihannya meningkat pada subjek seiring dengan peningkatan jumlah *copy* gen CYP2D6. Namun hasil ini tidak diikuti dengan perbedaan respon di antara subjek yang memiliki jumlah *copy* gen berbeda. Hal ini terjadi kemungkinan karena adanya faktor lain yang dapat mempengaruhi efikasi nortriptilin sebagai antidepresan (Dalen *et al.*, 1998).

Pengaruh Jumlah Copy Gen CYP2D6 terhadap Toksisitas Obat

Kodein adalah obat turunan opioid yang memiliki efek analgesik dan antitusif. Kodein merupakan prodrug yang perlu diaktifkan oleh CYP2D6 hingga menjadi morfin dan dapat

berfungsi sebagai analgetik. Kirchheiner *et al.*, mendapatkan bahwa setelah pemberian kodein 30 mg sebagai dosis tunggal, kadar plasma morfin lebih tinggi secara bermakna pada pasien UM dibandingkan EM. Peningkatan kadar ini sejalan dengan kejadian efek samping sedasi yang dialami oleh 91% pasien UM dan hanya 50% pada pasien EM. Efek samping berat tidak didapatkan pada studi ini karena studi menggunakan dosis rendah (Kirchheiner *et al.*, 2007; He, Hoskins and McLeod, 2011). Dampak efek samping yang fatal perlu diwaspadai pada penggunaan dosis tinggi.

SIMPULAN

CYP2D6 adalah enzim pemetabolisme lebih dari 25% obat yang beredar di pasaran. Aktivitas enzimnya dapat dipengaruhi oleh mutasi gen CYP2D6, baik berupa *single nucleotide polymorphisms* dan/atau variasi jumlah *copy* gen CYP2D6. Aktivitas CYP2D6 yang bervariasi antar individu dapat menyebabkan tidak tercapainya respon terapi ataupun terjadinya toksisitas yang dapat berbahaya bagi pasien. Oleh karenanya variasi genetik enzim CYP2D6 perlu menjadi pertimbangan pemberian obat yang merupakan substrat CYP2D6. Sayangnya karena pemeriksaan SNPs dan jumlah *copy* gen CYP2D6 memerlukan biaya yang mahal, teknik yang sulit dan alat tertentu, maka hal ini belum menjadi prioritas di negara-negara berkembang.

DAFTAR PUSTAKA

Aklillu, E. *et al.* (1996) 'Frequent Distribution of Ultrarapid Metabolizers of Debrisoquine in An Ethiopian Population Carrying Duplicated and Multiduplicated Functional CYP2D6 Alleles', *Pharmacol Exp Ther*, 278(1), pp. 441–446.

- Barbara, D., Vandesompele, J. and Hellemans, J. (2010) 'Accurate and Objective Copy Number Profiling Using Real-time Quantitative PCR', *Methods*, 50(4), pp. 262–270. doi: 10.1016/j.ymeth.2009.12.007.
- Buxton, I. L. and Benet, L. Z. (2011) 'Pharmacokinetics: The Dynamics of Drug Absorption, Distribution, Metabolism, and Elimination', in *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 12th Ed. New York: McGraw Hill Medical.
- Candiotti, K. A., Bimbach, D. J. and Lubarsky, D. A. (2005) 'The Impact of Pharmacogenomics on Postoperative Nausea and Vomiting', *Anesthesiology*, 102, pp. 543–549. doi: 10.1097/00000542-200503000-00011.
- Cantsilieris, S., Baird, P. N. and White, S. J. (2013) 'Molecular methods for genotyping complex copy number polymorphisms', *Genomics*, 101(2), pp. 86–93. doi: 10.1016/j.ygeno.2012.10.004.
- Correia, M. (2012) 'Drug Biotransformation', in *Basic and Clinical Pharmacology*. 12th Ed. New York: McGraw Hill Medical.
- Dalen, P. *et al.* (1998) '10-hydroxylation of Nortriptyline in White Persons With 0,1,2,3 and 13 Functional CYP2D6 Genes', *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 6(4), pp. 444–452. doi: 10.1016/S0009-9236(98)90040-6.
- He, Y., Hoskins, J. M. and McLeod, H. L. (2011) 'Copy Number Variants in Pharmacogenetic Genes', *Trends in Molecular Medicine*, 17(5), pp. 244–251. doi: 10.1016/j.molmed.2011.01.007.
- Ishiguro, A. *et al.* (2004) 'Metabolic activity of dextromethorphan O-demethylation in healthy Japanese volunteers carrying duplicated CYP2D6 genes: duplicated allele of CYP2D6*10 does not increase CYP2D6 metabolic activity', *Clinica Chimica Acta*, 344(1–2), pp. 201–204. doi: 10.1016/j.cccn.2004.03.002.
- Keeney, S. (2011) 'Long-PCR Amplification of Human Genomic DNA', in *PCR Mutation Detection Protocols*. 2nd Ed. Birmingham: Humana Press.
- Kirchheiner, J. *et al.* (2007) 'Pharmacokinetics of Codeine and Its Metabolite Morphine in Ultra-rapid Metabolizers Due To CYP2D6 Duplication', *The Pharmacogenomics Journal*, 7, pp. 257–265. doi: doi.org/10.1038/sj.tpj.6500406.
- Kiyotani, K. *et al.* (2010) 'Limited Effects of Frequent CYP2D6*36.*10 Tandem Duplication Allele on in Vivo Dextromethorphan Metabolism in a Japanese Population', *European Journal of Clinical Pharmacology*, 66(10), pp. 1065–1068. doi: 10.1007/s00228-010-0876-4.
- Ma, Q. and Lu, A. (2011) 'Pharmacogenetics, Pharmacogenomics, and Individualized Medicine', *Pharmacological Reviews*, 6(2), pp. 437–459. doi: 10.1124/pr.110.003533.
- Motamedi, S. *et al.* (2012) 'Tamoxifen Resistance and CYP2D6 Copy Numbers in Breast Cancer Patients', *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 13(12), pp. 6101–6104. doi: 10.7314/APJCP.2012.13.12.6101.

- Nicholas, M. W. and Nelson, K. (2013) 'North, South, or East? Blotting Techniques', *The Journal of Investigative Dermatology*, 133(7), p. e10. doi: 10.1038/jid.2013.216.
- Ramamoorthy, A. and Skaar, T. C. (2011) 'Gene Copy Number Variations: It Is Important To Determine Which Allele Is Affected', *Pharmacogenomics*, 12(3), pp. 299–301. doi: 10.2217/pgs.11.5.
- Relling, M. and Giacomini, K. (2011) 'Pharmacogenetics', in *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 12th Ed. New York: McGraw Hill Medical.
- Schroth, W. *et al.* (2010) 'CYP2D6 Polymorphism As Predictors of Outcome in Breast Cancer Patient Treated With Tamoxifen: Expanded Polymorphism Coverage Improves Risk Stratification', *Clinical Cancer Research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 16(17), pp. 4468–4477. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-0478.
- Zanger, U. M., Raimundo, S. and Eichelbaum, M. (2004) 'Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry', *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 369(1), pp. 23–37. doi: 10.1007/s00210-003-0832-2.
- Zanger, U. M. and Schwab, M. (2013) 'Cytochrome P450 Enzymes in Drug Metabolism: Regulation of Gene Expression, Enzyme Activities, and Impact of Genetic Variation', *Pharmacology & Therapeutics*, 138(1), pp. 103–141. doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.12.007.