

PENDEKATAN FARMAKOGENOMIK DALAM PENGEMBANGAN OBAT BARU

Maksum Radji

Departemen Farmasi FMIPA-UI, Universitas Indonesia, Depok.

ABSTRACT

The human population is heterogeneous and consists of populations of immense ethnic diversity. There are considerable allelic differences between human populations as well as individuals within each ethnic group as a result of molecular heterogeneity of the genome. This, in turn, is responsible for differential allelic expression of genes endowing them with polymorphic characters. The molecular diversity within genes is responsible amongst others, of disease resistance or susceptibility or for that matter drug response. Pharmacogenomics is the key to the understanding of differential drug response in different patients in relation to genetic constitution. The revelation of such information at the molecular level would assist the pharmaceutical industry to address a therapy directed to each individual. The objective of this article is to understand the nuances of the genetic repertoire and correlate it with disease gene identification, genes that have been or can be used as drug targets, identify candidate genes for drug development and recent trends in drug discovery.

PENDAHULUAN

Berdasarkan perbedaan sifat-sifat fisiknya, secara antropologis manusia digolongkan dalam berbagai suku dan ras. Penggolongan ini didasarkan atas perbedaan parameter morfologis yang antara lain terdiri dari warna kulit, warna dan tekstur rambut, tinggi badan, bentuk raut muka, bentuk hidung, dan sebagainya, yang membedakan suku-suku tertentu dengan suku lainnya. Dalam pendekatan secara genomik, perbedaan-perbedaan morfologis tersebut ternyata disebabkan oleh adanya beberapa gen yang bertanggung jawab terhadap perbedaan fenotipe dari masing-masing etnik

tersebut (Owen, S and King, M.C. 1999). Perbedaan warna kulit misalnya, disebabkan oleh perbedaan atau diferensiasi ekspresi dari gen *multi-allelic melanocortin stimulating hormone receptor-1* (MC1R) yang dipengaruhi oleh adaptasinya terhadap paparan sinar matahari (Palmer, J.S, et al., 2000). Munculnya beberapa jenis *allele* dan haplotip tersebut disebabkan karena terjadinya beberapa mutasi yang terjadi pada sel reproduksi dari masing-masing individu (Brown, T.A., 1999).

Perbedaan *allele* dan polimorfisme dalam individu disebabkan oleh terjadinya perubahan susunan basa-basa DNA seperti perubahan

Corresponding author : E-mail : maksum@makara.cso.ui.ac.id

salah satu basa DNA, delesi ataupun *rearrangement DNA* dalam salah satu lokus kromosomnya. Ekspresi dari *allele* tertentu tergantung dari struktur dan sekuen regulatornya sehingga kadang kala ekspresinya sangat tinggi sedangkan yang lainnya mungkin mengalami represi. Berdasarkan asumsi bahwa sedemikian besarnya variasi ekspresi dan variasi yang terdapat dalam genom setiap individu maka bisa diperkirakan betapa besarnya diversitas *allele* yang terjadi dalam populasi manusia.

Keterlibatan gen dan protein di dalam perjalanan penyakit dan respon tubuh terhadap obat telah lama menjadi perhatian para praktisi baik dalam bidang kedokteran maupun dalam bidang farmasi. Farmakogenomik merupakan salah satu bidang ilmu yang diyakini dapat menjelaskan bahwa adanya perbedaan respon dari setiap individu terhadap obat yang diberikan sangat erat kaitannya dengan perbedaan genetik dari masing-masing individu tersebut. Semakin banyak informasi yang diketahui tentang peranan genetik dalam respon obat khususnya pada tingkat molekuler akan membantu para peneliti dalam pengembangan obat. Untuk itu dibutuhkan suatu perangkat yang mampu mengidentifikasi suatu *marker* tertentu yang dapat memperkirakan terjadinya respon negatif atau respon positif dalam pengembangan obat yang didasarkan pada pendekatan teknologi genom tersebut.

Dalam artikel ini akan diuraikan

tentang hubungan antara respon obat dengan heterogenisitas genom manusia agar dapat digunakan dalam mengidentifikasi target kerja obat secara molekuler sehingga dapat meningkatkan penemuan dan pengembangan obat serta terapi berdasarkan pendekatan genetik.

HETEROGENISITAS GENOM MANUSIA

DNA atau genom merupakan materi genetik yang amat penting dalam sistem biologis termasuk pada manusia. Informasi genetik yang disandi oleh DNA ini diturunkan dari setiap generasi ke generasi berikutnya mengalami proses mutasi dan seleksi (Sander, C., 2000). Proyek pemetaan genom manusia telah berhasil dilakukan. Dalam laporannya *The International Human Genome Sequencing Consortium* memperkirakan bahwa dari 3 milyar pasang basa genom manusia, terdapat sekitar 30.000 - 35.000 gen fungsional yang menyandi sintesis berbagai jenis protein (Lander E.S. *et al.* 2001, Venter, J.C. *et al.* 2001). Tingginya frekuensi mutasi dan seleksi dari genom tersebut menyebabkan meningkatnya variasi genetik pada populasi manusia.

Varian DNA pertama yang diidentifikasi adalah berdasarkan perbedaan panjang fragmen DNA yang terpotong oleh enzim endonuklease restriksi disebut dengan *restriction fragment length polymorphisms* (RFLPs), yang kemudian disusul

dengan ditemukannya *variable number of tandem repeats* (VNTRs). Perbedaan dalam varian DNA inilah yang kemudian banyak digunakan dalam penentuan sidik jari DNA dalam bidang forensik.

Varian DNA baru yang saat ini lebih banyak dipakai sebagai penanda (*marker*) adalah apa yang disebut sebagai *single nucleotide polymorphisms* (SNPs). SNP terjadi bila satu jenis nukleotida dalam posisi tertentu tersubstitusi dengan jenis nukleotida lainnya pada individu lain. SNPs merupakan penanda utama dalam variasi genom antar individu manusia (Campbell, D.A. *et al.* 2000). Di dalam 3 milyar pasang basa DNA dari genom manusia diperkirakan terdapat sekitar 1.6 juta - 3,2 juta SNPs. Sebagian besar perbedaan manusia dipengaruhi oleh adanya perbedaan SNPs yang terjadi pada genomnya, dan hal ini seringkali dihubungkan dengan adanya perbedaan dalam predisposisinya dalam jenis penyakit tertentu ataupun respon tubuhnya terhadap penggunaan obat (Stoneking, M. 2001). SNPs yang lokasinya terletak pada *coding regions* disebut cSNPs. Dampak cSNPs ini terhadap ekspresi protein yang disintesis adalah : (i) Substitusi basa DNA tersebut tidak menimbulkan perbedaan pada sekuen asam aminonya. (ii) Substitusi basa DNA dapat menyebabkan perubahan dalam sekuen asam aminonya akan tetapi efeknya tidak menyebabkan perubahan yang berarti pada struktur dan fungsi dari protein yang dihasilkan. (iii) Menimbulkan peru-

bahan pada sekuen asam aminonya dan menyebabkan perubahan yang nyata pada struktur dan fungsi protein yang dihasilkan. Beberapa SNPs yang berada pada lokasi *non-coding regions* ternyata juga dapat mempengaruhi stabilitas mRNA dan kecepatan transkripsinya. Perbedaan sekecil apapun dapat mempengaruhi fungsinya oleh sebab itu dapat diduga bahwa perubahan dalam struktur dan fungsi protein yang menjadi target kerja obat akan dapat mempengaruhi respon obat dalam tubuh (Rothberg, B.E.G., 2001).

Beberapa gen yang bertanggung jawab terhadap metabolisme obat adalah gen P450, yang menyandi ekspresi dari enzim-enzim metabolisme obat yaitu CYP2C19, CYP1A1, CYP206, CYP2C9, CYP2E1. Variasi struktur dan fungsi dari enzim-enzim tersebut dapat menyebabkan meningkatnya efek samping dari berbagai jenis obat termasuk anti-depresan, amfetamin, dan beberapa obat golongan *beta-adreno receptor*. Variasi *allele* pada enzim metabolisme obat lainnya yaitu *thiopurine methyl transferase* (TPMT), dapat menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan. Polimorfisme pada enzim seringkali juga dapat meningkatkan efek toksik dari obat dibandingkan dengan individu normal.

Penyakit-penyakit kelainan genetik telah diketahui antara lain disebabkan oleh terjadinya mutasi DNA, dan polimorfisme. Mutasi dan polimorfisme ini dapat terjadi pada *coding regions* dari gen, pada promo-

tor gen ataupun pada sekuen regulator. Ekspansi dari trinukleotida berulang (*trinucleotide repeat*) diketahui merupakan modulator penting dalam ekspresi gen, disamping dinukleotida berulang ataupun *simple tandem repeats* (STRs). Penyakit *fragile X syndrome*, merupakan salah satu contoh sindroma yang disebabkan oleh terjadinya mutasi dari CCG trinukleotida berulang pada gen FMR1. Beberapa jenis kelainan neurologik seperti *myotonic dystrophy*, *spinobulbar muscular atrophy*, *Huntington's disease* dan *spinocerebellar atrophy*, diketahui disebabkan oleh adanya AGC *trinucleotide repeat*. Variasi mutasi dalam suatu gen dapat menyebabkan beberapa kelainan. Berbagai jenis penyakit diketahui berhubungan dengan terjadinya berbagai mutasi DNA. Saat ini diperkirakan sekitar 1500 jenis penyakit yang berkaitan dengan kelainan genetik. (Peltonen, L. and McKusick, V.A. 2001).

STRATEGI PENEMUAN OBAT

Berbagai bidang ilmu berperan penting dalam pengembangan dan penemuan obat antara lain ilmu kimia, farmasetika, farmakologi, mikrobiologi, biokimia, dan teknologi farmasi. Disamping itu peranan biologi molekuler dalam pengembangan obat baru diyakini tidak saja mampu mempercepat penemuan obat, akan tetapi juga mampu menjelaskan proses-proses perkembangan penyakit pada tingkat molekuler dan genetik, sehingga dapat diten-

tukan cara yang dipilih untuk intervensi penyakit tersebut dengan obat yang akan dikembangkannya.

Saat ini terdapat dua cara yang digunakan untuk penemuan bahan obat baru. Yang pertama adalah skrining secara acak. Cara ini biasanya lamban dan memerlukan proses yang panjang. Akan tetapi teknologinya saat ini telah berkembang, dan dilakukan secara otomatis menggunakan teknologi *combinatorial chemistry* dan *high throughput screening* (HTS). Yang kedua adalah dengan menggunakan pendekatan struktur molekul obat disesuaikan dengan struktur target. Struktur target merupakan suatu protein baik berupa reseptor atau enzim ataupun DNA yang dapat ditentukan dan dapat diidentifikasi menggunakan perangkat bioinformatik atau aktivitas farmakologiknya. Jika struktur dari target telah diketahui misalnya ditentukan dengan cara *X-ray crystallography* atau spektroskopi NMR, maka akan dapat ditentukan molekul obat yang dapat secara tepat masuk ke dalam *binding sites* dari target, sehingga kita mampu melakukan simulasi untuk membuktikan adanya interaksi antara obat dengan targetnya. Suatu perangkat lunak untuk melakukan simulasi interaksi obat dengan targetnya ini telah banyak dikembangkan diantaranya adalah *Tripos SYBYL program*, *MSI's Cerius* dan *Insight II molecular modeling software* (Doughty,S. 2000).

Suatu target obat yang baik adalah target yang dapat atau mampu menyeleksi beberapa calon molekul

obat yang secara aktif dapat berinteraksi dengan target sehingga dapat digunakan sebagai obat yang efektif. Beberapa langkah yang ditempuh untuk pengembangan obat adalah :

1. *Identifikasi target*

Target yang harus diidentifikasi adalah suatu daerah tertentu didalam genom yang erat hubungannya dengan manifestasi dan predisposisi penyakit. Salah satu contoh target yang telah diidentifikasi adalah ditemukannya *apolipoprotein E4* sebagai faktor penting dalam penyakit Alzheimer.

2. *Karakterisasi target*

Karakterisasi target adalah suatu cara untuk mengidentifikasi adanya varian-varian dari gen yang terpilih. Cara modern yang digunakan dalam pengembangan obat adalah dengan *high throughput screening* (HTS) dari sejumlah besar bahan kimia yang diproduksi menggunakan teknologi *combinatorial chemistry*. Dalam hal ini sangatlah penting jika kita mampu menemukan varian-varian gen yang mempengaruhi struktur asam amino dan fungsi protein yang diekspresi. Sebagai contoh adalah reseptor dopamin D5 manusia. Dalam beberapa penelitian terbukti bahwa substitusi dari asparagin dengan asam aspartat dapat meningkatkan afinitas reseptor terhadap dopamin. Belakangan ini teknik *DNA microarrays* juga digunakan untuk mempelajari informasi bagaimana beberapa gen diregulasi secara abnormal

pada suatu penyakit tertentu. Misalnya *microarray* yang menggunakan sekitar 100 gen yang berperan dalam proses inflamasi digunakan untuk menguji jaringan rematoid. Hasil analisis menunjukkan bahwa gen yang menyandi interleukin 6 dan beberapa *matrix metallo proteinases* memegang peranan penting dalam inflamasi rematoid. Dalam berbagai percobaan teknik *microarrays* ini akan terus memberikan kontribusi yang penting dalam pemahaman kita terhadap respon tubuh pada pengobatan (Lennon,G.L. 2000).

3. *Validasi target*

Tahapan ini adalah untuk menentukan atau pemilihan obat atau golongan obat yang akan digunakan untuk pengobatan jenis penyakit tertentu.

4. *Sifat farmakogenetik dari molekul*

Enzim spesifik atau reseptor yang berhubungan dengan metabolisme obat dapat dijadikan target. Fungsi dan peranan dari gen target dan kerentanan varian gen dalam mekanisme seluler yang tepat adalah hal yang sangat penting (Roses,A.D. 2000). Dalam perancangan sebuah obat, industri farmasi dihadapkan kepada sejumlah besar sel target obat. Genom manusia diperkirakan mengandung 35.000 jenis gen (Lander, E.S. et al. 2001; Lawrence, R.2001), dan diperkirakan terdapat kira-kira 3 juta *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) di dalam genom manusia yang erat kaitannya dengan

kondisi penyakit atau berpengaruh pada profil farmakokinetik dari penggunaan obat, memberikan pengaruh yang amat besar terhadap keberagaman sel target obat. Penelitian tentang target molekuler ini akan berkembang dengan pesat dan diperkirakan akan meningkat dari sekitar 1000 target obat molekuler dewasa ini, menjadi sekitar 10.000 target (Dean, P.M. 2001). Struktur tiga dimensi dari enzim protease pada *Human Immunodeficiency virus* (HIV), yang merupakan enzim penting dalam replikasi virus HIV, memberikan gambaran yang lebih jelas bagi para peneliti untuk mengetahui konfigurasi molekuler dari protein virus HIV. Para peneliti menggunakan hal ini untuk mendesain suatu obat yang dapat menginaktifkan enzim protease tersebut (Servior, R.F. 2000). Pendekatan seperti itulah yang saat ini lebih dikembangkan dalam penemuan obat baru ketimbang melakukan penelitian yang kurang terarah (*trial and error*).

KANDIDAT GEN DAN PENGEMBANGAN OBAT

Dalam praktek kedokteran saat ini sebagian besar lebih difokuskan kepada "*pengobatan setelah timbulnya penyakit*", sedangkan pendekatan farmakogenomik lebih ditekankan pada "*pencegahan sebelum munculnya suatu penyakit*". Dewasa ini berbagai gen yang bertanggungjawab terhadap munculnya penyakit telah dipetakan di dalam kromosom, dan beberapa

mutasi gen yang menyebabkan berbagai kondisi penyakit sudah teridentifikasi (Majumdar, P.P. 1998).

Terbatasnya pengetahuan akan target obat yang ada pada saat ini sangat mempengaruhi industri farmasi dalam mengembangkan terapi baru. Sekitar 500-an jenis target obat telah dipublikasi untuk jenis obat yang telah dipasarkan (Drew, J. 1999; Drew, J. 2000). Pengetahuan yang lengkap akan gen dan protein manusia akan mempercepat penemuan obat yang sesuai dengan profil target yang diinginkan. Diperkirakan bahwa pola penemuan obat di masa mendatang akan dilakukan melalui penelitian yang berbasis genomik.

Selama ini diperkirakan bahwa perbedaan dalam kapasitas metabolisme obat masing-masing individu disebabkan oleh perbedaan struktur gen tunggal (*monogenic*), dan efek farmakokinetik dari obat. Namun demikian, secara keseluruhan efek farmakologik suatu pengobatan tidaklah bersifat *monogenic*, akan tetapi lebih merupakan efek gabungan dari beberapa gen yang menyandi protein atau enzim-enzim yang bertanggung jawab terhadap jalur metabolisme obat, disposisi, dan responnya. Beberapa penyebab lain seperti patogenesis, keparahan penyakit, interaksi obat, umur, status gisi, fungsi ginjal dan hati, juga menjadi faktor berbagai perbedaan dalam efek dan respon obat. Berbagai faktor tersebut diatas, seperti kelainan bawaan yang menyebabkan perbedaan dalam respon

obat, dan perbedaan polimorfisme secara genetik dalam target obat (reseptor obat), telah diketahui dapat berpengaruh besar terhadap hasil pengobatan dan toksisitas obat (Evans, W.E. and Relling, M.V. 1999). Salah satu contoh adalah dalam pengobatan dengan isoniazid, terdapat perbedaan respon dari beberapa individu berupa perbedaan dalam kecepatan proses asetilasinya terhadap obat tersebut (Weber, W.W. 1997). Profil asetilasi terhadap isoniazid yang merupakan obat anti tuberkulosis ini digolongkan dalam inaktivator cepat dan lambat. Individu yang tergolong dalam inaktivator lambat ternyata aktivitas enzim *N-acetyltransferase*-nya sangat lambat. Perbedaan tersebut ternyata disebabkan oleh adanya variasi genetik dari gen yang menyandi ekspresi dari enzim *N-acetyltransferase*. Bagi individu yang mempunyai kelainan yang disebabkan oleh *autosomal recessive allele*, berupa variasi polimorfik maka aktivitas enzim *N-acetyltransferase* menjadi lambat. Aktivitas enzim *N-acetyltransferase* ini sangat bervariasi untuk setiap suku atau ras. Bagi orang barat (Amerika dan Eropa) 50% dari penduduknya ternyata tergolong inaktivator lambat, sedangkan untuk orang Jepang sebagian besar tergolong inaktivator cepat (Mueller, R.F. and Young, I.D. 2001).

Telaah genetik untuk mempelajari hubungan antara variasi polimorfisme di dalam struktur gen dengan efeknya dalam klinik terus

dikembangkan. Diharapkan melalui pendekatan ini dapat ditingkatkan pemahaman kita dalam penemuan kandidat gen yang dapat dikembangkan sebagai target obat. Sebagai contoh, varian dari *allele* enzim *thiopurine methyltransferase* (TPMT), ternyata erat kaitannya dengan terjadinya reaksi obat yang tidak diinginkan (*adverse drug reactions, ADR*). Sedangkan varian dari target obat lain yaitu enzim *5 lipoxigenase* (ALOX5), yang erat hubungannya dengan fenotipe penyakit asma, juga dapat mempengaruhi respon pengobatan (Drazen, J.M. *et.al.* 1999), dan varian dari gen apolipoprotein E (APOE) erat kaitannya dengan inhibisi terhadap enzim kolinesterase pada penderita Alzheimer.

Respon penggunaan *5-fluorouracil* (5-FU) sebagai kemoterapi untuk kanker kolon ternyata sangat bervariasi. Target enzim untuk 5-FU ini adalah *thymidilate synthetase*. Perbedaan respon ini berkaitan erat dengan adanya polimorfisme gen yang bertanggungjawab terhadap ekspresi enzim *thymidilate synthetase* (TS). Enzim ini sangat penting dalam sintesis DNA yaitu merubah deoksiuridilat menjadi deoksitimidilat. Diketahui bahwa sekuen promotor dari gen *thymidilate synthetase* bervariasi pada setiap individu. Ekspresi yang rendah dari *mRNA TS* berhubungan dengan meningkatnya kemungkinan sembuh dari penderita kanker yang diobati dengan 5-FU. Sedangkan penderita yang ekspresi *mRNA TS* tinggi ternyata tidak mem-

perlihatkan respon pengobatan dengan kemoterapi ini (Leichman *et al.* 1997,). Hasil penelitian serupa ditunjukkan pula pada uji klinik penggunaan 5-FU ini terhadap penderita kanker lambung (Lenz, H.J *et al.* 1996). Genotipe dari gen *TYMS*, yang menyandi ekspresi enzim *thymidilate synthetase*, ditentukan dengan mengamplifikasi gen/DNA dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) yang diisolasi dari 90 penderita kanker kolon yang mendapatkan pengobatan 5-FU. Hasilnya menunjukkan bahwa gen *TYMS* ternyata bersifat polimorfisme, mempunyai *double* (2R) atau *triple*(3R) *tandem repeats* pada 28-bp promoter gen, dan terdapat variasi 6-bp pada 3'-*untranslated region* (3'-UTR). Hasil ini menunjukkan betapa pentingnya melakukan pemetaan genotipe dari gen *TYMS* dari penderita kanker yang akan diobati dengan 5-fluorouracil. Hal ini diperlukan untuk memprediksi respon obat dan efek toksik yang tidak diinginkan akibat penggunaan 5-FU. (Lecomte, T, *et al.* 2004, Pullarkat, S.T, *et al.* 2001). Pemetaan genotipe sangat membantu dalam penentuan dosis obat yang diberikan, memprediksi kemungkinan munculnya efek toksik suatu pengobatan, dan memungkinkan untuk melakukan pengobatan secara individual berdasarkan sifat genotipe seseorang.

Contoh penelitian lainnya adalah perbedaan respon penggunaan walfarin sebagai antikoagulan. Respon terhadap warfarin ternyata sangat

bervariasi antar individu. Penggunaan walfarin yang tidak tepat dosis seringkali menyebabkan perdarahan serius. Perbedaan respon terhadap warfarin yang dimetabolisme oleh enzim sitokrom P450 yaitu CYP2C9, CYP3A5, sangat tergantung pada peran P-glikoprotein yang ekspresinya disandi oleh gen *adenosine triphosphate-binding cassette*, ABCB1 atau juga disebut dengan *multi drug resistance gene 1*, MDR1. Variasi genetik dari gen ABCB1 yang dianalisis dengan teknik *minisequencing* terhadap 210 penderita, menunjukkan bahwa pemilihan dosis yang tepat untuk masing-masing varian genetik sangat penting untuk mendapatkan respon obat yang diinginkan (Wadelius, M, *et al.* 2004).

Berbagai hasil penelitian tentang farmakogenetik dan farmakogenomik ini dapat dilihat dalam website *The Pharmacogenetics and Pharmacogenomics Knowledge Base: PharmGKB*, <http://www.pharmgkb.org> yang memberikan informasi tentang data-data farmakogenetik. Website ini dikelola oleh *Stanford University* yang didanai oleh *National Institute of Health, NIH, USA*). Data penting yang dapat diakses dari situs ini antara lain adalah: (1) variasi manifestasi klinis, (2) variasi farmakodinamik dan respon obat, (3) variasi sifat farmakokinetik, (4) variasi selular maupun molekuler, dan (5) variasi dalam sekuen genetik. Dalam situs ini juga dapat kita dapatkan informasi tentang hubungan

antara struktur gen, respon obat, manifestasi penyakit, data tentang polimorfisme yang diidentifikasi dari berbagai suku dan ras, serta koleksi dari gen target yang erat kaitannya dengan genotip beberapa jenis gen yang sangat penting dalam aspek farmakogenetik, dan pengembangan obat baru (Klein, T.E. and Altman, R.B. 2004).

KESIMPULAN

Pemahaman tentang interaksi antara mekanisme kerja obat dengan gen atau reseptor obat sangat penting dalam rangka memberikan pengobatan yang optimal. Tersedia sistem bioinformatik yang merangkum informasi secara komprehensif data hasil penelitian farmakogenetik dan farmakogenomik yang memberikan informasi adanya varian genotip, polimorfisme antar individu ataupun antar suku dan ras tertentu dapat membantu para peneliti untuk menemukan hubungan antara variasi genetik dengan respon obat yang berbeda. Farmakogenomik dapat memberikan metode yang akurat dalam menentukan dosis obat yang tepat berdasarkan sifat genetik dari seseorang. Di masa yang akan datang tenaga kesehatan akan dapat menganalisis profil genetik dari penderita dan menetapkan terapi obat yang tepat. Sedangkan industri farmasi diharapkan dapat menemukan terapi yang potensial dengan lebih tepat dan terarah melalui pendekatan genomik.

DAFTAR PUSTAKA

- Brown, T.A. (1999) *Molecular Phylogenetics in Genomes*. John Wiley & Sons, Singapore, pp 408.
- Campbell, D.A.; Valdes, A.M. and Spurr, N. (2000). Making Drug Discovery a SN(i)P. *Drug Discov. Today* 5, 388-396.
- Dean, P.M.; Zanders, E.D. and Bailey, D.S. (2001). Industrial-scale, Genomics-based Drug Design and discovery. *Trends in Biotech.* 19(8), 288-292.
- Doughty, S. (2000). Lab Plus International. 14(4), 17-18.
- Drew, J. (1999). Basic Science and Pharmaceutical Innovation. *Nat. Biotechnology* 17, 406.
- Drew J. (2000). Drug Discovery: A Historical Perspective. *Science* 287, 1960-1964.
- Drazen, J.M.; Delisle, M.; Quirion, R.; Aubert, I; Farlow M. and Lahiri, D, (1999). Pharmacogenetic association between ALOX5 promoter genotype and the response to anti-asthma treatment *Nat. Genet.* 22, 168-170.
- Klein, T.E. and Altman, R.B. (2004). PharmGKB: the pharmacogenetics and pharmacogenomics knowledge base. *Pharmacogenomics J.* 4 (1), 1-1.
- Lander, E.S., Linton, L.M. Birren, B. et al (2001). Initial Sequencing and Analysis of the Human Genome. *Nature* 409, 860-921.

- Lawrence, R. (2001). Life after the Human Genome Project. *Drug Discov. Today* 6, 10-12.
- Lecomte, T. Ferraz, J.M. Zinzindohoue, F. Lorient, M.A. Tregouet, D.A. Landi, B. Berger, A. Cugnenc, P.H. Jian, R. Beaune, P. and Laurent-Puig, P. (2004). Thymidylate Synthase Gene Polymorphism Predicts Toxicity in Colorectal Cancer Patients Receiving 5-Fluorouracil-based Chemotherapy *Clin. Cancer Res.*, 10,(17): 5880 - 5885.
- Lennon, G.L. (2000). High-throughput gene expression analysis for drug discovery. *Drug Discov. Today* 5 (2), 59-65.
- Lenz, H.J. Leichman, C.G. Danenberg, K.D. Danenberg, P.V. Groshen, S. Cohen, H. Laine, L. Crookes, P. Silberman, H. Baranda, J. Garcia, Y. Li, J and Leichman, L. (1996). Thymidylate synthase mRNA level in adenocarcinoma of the stomach: a predictor for primary tumor response and overall survival. *J.Clin.Oncol.* 1(1): 176-182.
- Leichman, C.G. Lenz, H.J. Leichman, L. Danenberg, K. Baranda, J. Groshen, S. Boswell, W. Metzger, R. Tan, M. and Danenberg, P.V. (1997). Quantitation of intratumoral thymidylate synthase expression predicts for disseminated colorectal cancer response and resistance to protracted-infusion fluorouracil and weekly leucovorin. *J.Clin.Oncol.* 15, 3223-3229.
- Majumdar, P.P. (1998). People of India: Biological diversity and Affinities. *Evolutionary Anthropology* 6, 100-110.
- Mueller, R.F. and Young, I.D. (2001). Emery's Elements of Medical genetics. Eleventh Edition, Churchill Livingstone, London. pp. 169-175.
- Owen, S and King, M.C. (1999). Genomic Views of Human History. *Science* 286, 451-453.
- Palmer, J.S. Duffy, D.L. Box, N.F. Aitken, J.F. O'Gorman, L.E. Green, A.C. Hayward, N.K. Martin, N.G. and Sturm, R.A. (2000). Melanocortin-1 Receptor Polymorphisms and Risk of Melanoma: Is the Association Explained Solely by Pigmentation Phenotype? *Am. J. Hum. Genet.*, 66:176-186.
- Peltonen, L. and McKusick, V.A. (2001). Genomics and medicine: Dissecting Human Disease in the Postgenomic Era. *Science* 291, 1224-1229.
- Pullarkat, S.T.; Stoehmacher, J.; Ghaderi, V.; Xiong, Y-P; Ingles, S.A.; Sherrod, A; Warren, R.; Tsao-Wei, D.; Groshen, S. and Lenz, H.-J. (2001). Thymidylate Synthetase gene Polymorphism Determines response and toxicity of 5-FU Chemotherapy. *The Pharmacogenomics* j. 1, 65-70.