

LITERATURE REVIEW : INOVASI TERAPI POLYCYSTIC OVARY SYNDROME (PCOS) MENGUNAKAN TARGETED DRUG THERAPY GEN CYP19 RS2414096

Ellena Maggyvin, Melisa Intan Barliana

ellenamaggyvin20@gmail.com

Diserahkan 09/02/2019, diterima 17/02/2019

Abstrak

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) adalah kelainan endokrin yang berdampak pada sistem reproduksi wanita. Wanita dengan penyakit PCOS memiliki risiko infertilitas yang tinggi. Terapi yang saat ini digunakan berupa terapi hormon, *laparoscopic ovarian drilling*, dan *in-vitro fertilization*. Akan tetapi, ketiga terapi tersebut terfokus pada terapi simptomatis dan kurang efektif dalam mengatasi infertilitas terkait PCOS. Penulisan secara *literature review* dengan mencari jurnal-jurnal relevan yang berkaitan dengan PCOS pada *Google Scholar*, *Pubmed*, *Medline*, *Biomed Central*, *NCBI*, dengan kata kunci seperti *polysystic ovary syndrome*, *infertility*, dan *gene therapy* untuk pengobatan PCOS berbasis gen. Terapi yang lebih sensitif, spesifik, dan akurat dibutuhkan dalam penanganan infertilitas terkait PCOS. *Targeted drug therapy* gen CYP19 rs2414096 merupakan inovasi terapi yang sensitif, spesifik, dan akurat pada penderita PCOS. Gen CYP19 bertanggung jawab terhadap sintesis enzim aromatase yang berkaitan erat dengan tingkat hormon androgen. Abnormalitas pada gen CYP19 menyebabkan kegagalan sintesis enzim aromatase, berdampak pada penyakit PCOS dan infertilitas. Prinsip dari *targeted drug therapy* gen CYP19 rs2414096 adalah memperbaiki gen CYP19 abnormal pada rs2414096 dengan menyisipkan urutan basa normal DNA gen CYP19 dalam vektor adenovirus yang bekerja spesifik terhadap target gen CYP19 pada ovarium. Inovasi *targeted drug therapy* gen CYP19 rs2414096 diharapkan dapat menjadi terapi yang sensitif, spesifik, dan akurat dalam pengobatan PCOS serta mencegah infertilitas penderita PCOS.

Kata kunci: Infertilitas, Gen CYP19 rs2414096, PCOS, *Targeted Drug Therapy*

Abstract

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is an endocrine disorder that affects female reproductive system. Women with PCOS have high risk of infertility. Current therapies for PCOS are hormone therapy, *laparoscopic ovarian drilling*, and *in-vitro fertilization*. However, these therapies are focused on symptomatic therapies and less effective against PCOS-related infertility. This paper was written as literature review using relevant journals related to PCOS in *Google Scholar*, *PubMed*, *Medline*, *BioMed Central*, *NCBI*, with keywords such as *polysystic ovary syndrome*, *infertility*, dan *gene therapy* for gene-based treatment for PCOS. Sensitive, specific and accurate therapy is needed to treat PCOS-related infertility. Innovation of targeted drug therapy CYP19 rs2414096 gene is a sensitive, specific and accurate therapy for treating patients with PCOS. CYP19 gene responsible for synthesis of aromatase enzyme that related with the level of androgen hormone. CYP19 gene abnormality causes synthesis failure of aromatase enzyme, which impact on PCOS and infertility. The principle of targeted drug therapy CYP19 rs2414096 gene is repairing abnormal CYP19 gene at rs2414096 by inserting normal DNA base sequence of CYP19 gene in adenovirus vectors that works specifically against CYP19 gene target in the ovary. Targeted drug therapy CYP19 rs2414096 gene expected to be a sensitive, specific and accurate in treating PCOS and prevent PCOS-related infertility.

Keywords: Infertility, CYP19 rs2414096 gene, PCOS, *Targeted Drug Therapy*

PENDAHULUAN

Menurut *World Health Organization* (WHO), infertilitas adalah suatu penyakit sistem reproduksi yang didefinisikan oleh kegagalan untuk mencapai kehamilan klinis setelah 12 bulan atau lebih melakukan hubungan seksual tanpa kontrasepsi (Zegers *et al.*, 2009). Pada tahun 2010, diperkirakan terdapat 48,5 juta pasangan di seluruh dunia mengalami infertilitas. Sebesar 1,9% wanita berusia 20-44 tahun yang mengalami gangguan kehamilan, menderita infertilitas primer dan 10,5% wanita lainnya mengalami infertilitas sekunder (Mascarenhas *et al.*, 2012). Sayangnya, infertilitas yang merupakan hal tabu yang cenderung diabaikan dalam permasalahan reproduksi dunia (Gerrits, 2012).

Infertilitas menjadi sumber penderitaan sosial dan psikologis terutama bagi wanita. Sekitar 25% dari kasus infertilitas pada wanita disebabkan oleh masalah ovulasi. Hal ini disebabkan oleh ketidakseimbangan *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle-Stimulating Hormone* (FSH), cedera pada hipotalamus atau kelenjar pituitari (di mana LH/FSH diproduksi), tumor hipofisis, dan kelebihan atau kekurangan berat badan. Kondisi hormonal lain yang dapat menyebabkan infertilitas termasuk masalah tiroid, diabetes, *Polycystic Ovary Syndrome* (PCOS), *Premature*

Ovarian Failure (POF), dan *Cushing's Syndrome* (Cedars and Jaffe, 2009).

Pada tahun 2015, dari 8.612 wanita rentang usia 28-33 tahun, sebanyak 5,8% diantaranya mengalami PCOS dan sebanyak 309 wanita penderita PCOS tersebut mengalami infertilitas. Data tersebut membuktikan bahwa hampir 72% wanita penderita PCOS mengalami infertilitas (Joham *et al.*, 2015). Infertilitas pada PCOS disebabkan karena anovulasi, dimana perkembangan folikel hanya mencapai ukuran 10 mm (Barbosa *et al.*, 2016).

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) merupakan gangguan endokrin yang ditandai dengan menstruasi yang tidak teratur, hiperandrogenisme, dan polikistik ovarium (Sirmans and Pate, 2014). PCOS merupakan penyakit *gynecological endocrinopathy* yang menjadi penyebab paling umum dari infertilitas karena anovulasi (Barbosa *et al.*, 2016).

PCOS berkembang ketika ovarium distimulasi untuk memproduksi jumlah hormon androgen yang berlebih, terutama testosteron dengan cara melepaskan hormon LH yang berlebih pada kelenjar pituitari anterior (Kabel, 2016). Hal tersebut mengganggu perkembangan folikel. Nilai LH yang berlebih inilah yang dianggap menjadi penyebab utama dari hipergonadisme ovarium PCOS dalam efek stimulan dari

LH pada sel *theca* (Balen, 2004). Kenaikan level insulin berkontribusi secara langsung menyebabkan abnormalitas yang terlihat pada hipotalamus-pituitari-ovarium yang berdampak secara langsung pada terjadinya PCOS dengan mekanisme hiperinsulinemia yang meningkatkan frekuensi sekresi GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*), produksi LH melebihi FSH, meningkatnya produksi androgen ovarium, menurunnya pematangan folikel, dan menurunnya ikatan *sex-hormone binding globulin* (SHBG). Faktor-faktor ini berkontribusi dalam perkembangan PCOS (Nafye *et al.*, 2010; Sharquie *et al.*, 2007).

Meningkatnya potensial steroidogenik dari sel *theca* akan meningkatkan aktivitas enzim aromatase (CYP19) yang bekerja dengan mengode sitokrom p450 aromatase pada ovarium yang bertugas mengonversi testosteron menjadi estradiol yang diinduksi dengan FSH selama perkembangan folikel awal (Diamanti-Kandarakis, 2008).

Terapi farmakologi yang telah digunakan dalam menangani PCOS antara lain *ovulatory dysfunction-related infertility* (klomifen sitrat, metformin, *aromatase inhibitor*, dan glukokortikoid), gangguan menstruasi (progestin siklik dan kombinasi oral kontrasepsi seperti estrogen dan progestin), dan *androgen related*

symptom (anti-androgen, glukokortikoid, *gonadotropin-releasing hormone agonist*, oral kontrasepsi seperti etinil estradiol) (Badawy and Elnashar, 2011). Kekurangan dari pengobatan PCOS yang digunakan saat ini diantaranya penurunan fertilitas, biaya yang relatif mahal, *embryotoxic*, dan menyebabkan *Ovarian Hyperstimulation Syndrome* (OHSS) (Wong, 2011).

In-vitro fertilization (IVF) dapat menjadi pilihan terakhir bagi pasangan yang ingin memiliki keturunan atau menjadi pilihan pertama apabila terdapat penyakit penyerta pada wanita (endometriosis yang parah) dan pria (*azoospermia*). Kekurangan dari terapi ini adalah prosesnya yang invasif, rumit, mahal, dan dapat menyebabkan OHSS (Badawy and Elnashar, 2011).

Untuk mendapatkan solusi pengobatan PCOS, *targeted drug therapy* gen CYP19 rs2414096 dapat menjadi pilihan terapi PCOS karena sifatnya yang sensitif, spesifik, dan akurat, serta efek sampingnya yang minim.

METODE

Review ini menggunakan metode *literature review* dengan mencari jurnal-jurnal relevan yang berkaitan dengan PCOS pada Google Scholar, Pubmed, Medline, Biomed Central, NCBI, dengan kata kunci seperti *polysystic ovary*

syndrome, infertility, dan *gene therapy* untuk pengobatan PCOS berbasis gen.

HASIL

Hingga saat ini telah banyak metode pengobatan untuk PCOS, tetapi pemilihan terapi hanya simptomatik dengan pembagian gejala sesuai dengan

3 kategori besar, yaitu gangguan berhubungan dengan menstruasi, gejala berhubungan dengan androgen, dan infertilitas. Jenis pengobatan yang ada saat ini beserta kekurangan dan kelebihanannya ditunjukkan dengan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kelebihan dan Kekurangan Pengobatan PCOS Saat Ini (Badawy *and* Elnashar, 2011; Barbosa *et al.*, 2016; Dhaliwal *et al.*, 2011; Azargoo *et al.*, 2012).

Jenis Terapi	Terapi	Keuntungan	Kerugian
Terapi Tradisional	<i>Clomiphene Citrate</i>	Terapi lini pertama PCOS	Memiliki efek anti-oestrogenik yang mempengaruhi kehamilan Resistensi terhadap CC banyak ditemui Mahal Perlu monitoring ekstra Injeksi dilakukan harian, tidak praktis Risiko <i>Ovarian Hyperstimulation syndrome</i> (OHSS)
	Gonadotropin	Mempercepat kehamilan	Risiko besar setara dengan prosedur operasi
	<i>Laparoscopic ovarian drilling</i> (LOD)	Lebih murah dibanding gonadotropin Mengurangi risiko OHSS Murah	Kurang efektif dalam meningkatkan ovulasi Meningkatkan risiko keguguran dan diabetes gestational Efek samping pada gastrointestinal tract (GIT)
Terapi Alternatif	Obat-obatan sensitivitas insulin (Metformin)		
	Metformin + (Gonadotropin/Letrozole)	Lebih efektif dibanding LOD Mempertebal dinding endometrial secara signifikan	Embriotoksik
	Inhibitor aromatase (Letrozole)	Menginduksi ovulasi tanpa efek anti-oestrogenik	
	Kombinasi <i>Clomiphene Citrate</i> + Metformin	Efektif menginduksi ovulasi Meningkatkan sensitivitas insulin	Efek anti-estrogenik pada endometrium Interfensi pada fungsi <i>corpus luteum</i> Mahal
Terapi Alternatif	In Vitro Fertilization (IVF)	Terapi efektif untuk infertilitas	

Tingkat keberhasilan tidak
dapat ditentukan secara pasti
Risiko OHSS tinggi

PEMBAHASAN

Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS) atau yang dikenal dengan sindrom gangguan ovarium, diartikan sebagai gangguan *endocrinopathy* pada wanita dengan usia produktif, di mana terdapat proses ovulasi yang terhambat akibat tingginya kadar hormon androgen dalam tubuh.

Banyaknya efek samping obat, tingginya faktor risiko penyakit lain, juga keterbatasan dan harga yang kurang terjangkau menyebabkan pengaplikasian pengobatan yang ada saat ini masih kurang efektif. Maka dari itu, diperlukan suatu metode terapi baru yang lebih tepat, efektif, dan selektif dalam proses kerjanya, sehingga pengobatan menjadi lebih efektif dan tepat sasaran. Salah satu metode yang mungkin dikembangkan adalah terapi gen.

Terapi gen merupakan terapi dengan menyisipkan materi genetik ke dalam sel untuk berkompetisi atau menggantikan gen abnormal atau untuk memproduksi protein fungsional. Pada gen yang termutasi seperti pada PCOS, gen terapi dapat digunakan untuk memasukkan salinan gen normal untuk mengembalikan fungsi dari protein awal (Genetic Home Reference, 2016). Salah

satu gen yang berperan penting dalam patogenesis PCOS adalah gen CYP19.

CYP19 merupakan suatu kompleks enzim yang berfungsi untuk mengonversi androgen (C19) menjadi estrogen (C18). Kompleks enzim ini terdiri dari sitokrom P450 aromatase (P450arom) dan sitokrom NADPH P450 reduktase yang dikode oleh gen CYP19 pada kromosom 15p21.1. Aromatase (P450 arom) merupakan enzim kunci dalam sintesis estrogen dengan mengatalisis konversi testosteron dan androstenedion menjadi estradiol dan estrone secara terpisah. Ekspresi dari CYP19 pada sel granulosa berperan penting dalam perkembangan folikel (Panda *et al.*, 2016; Zaree *et al.*, 2015).

Dilaporkan bahwa adanya polimorfisme pada satu nukleotida/*single nucleotide polymorphism* (SNP) dari gen CYP19 berhubungan dengan konsentrasi androgen pada serum darah wanita. Beberapa penelitian melaporkan adanya korelasi antara SNP rs2414096 dalam gen CYP19 dengan hiperandrogenisme. Hiperandrogenisme merupakan salah satu patofisiologi dari CYP19 yang digunakan dalam penegakan diagnosis PCOS (Jin *et al.*, 2009).

TGTTACCCTCAAAAAAGACTCC
[A/G] TTTAAGAAAAGGCTCTTA
↓ AGCT
rs2414096

Perbedaan distribusi alel A terjadi pada pasien PCOS. Polimorfisme pada satu basa yang terletak pada rs2414096. Basa guanine (G) seharusnya mengisi urutan basa pada rs2414096, tetapi pada pasien PCOS terjadi mutasi SNP menjadi basa adenin (A) (NCBI, 2016). Menurut penelitian Petry *et al* (2005), distribusi alel A yang lebih banyak pada wanita muda berhubungan dengan peningkatan konsentrasi testosteron yang berkaitan dengan hiperandrogenisme sebagai salah satu patofisiologi dari PCOS (Petry *et al.*, 2005).

Keberhasilan dari terapi gen ditentukan dari efektivitasnya dalam mengantarkan gen ke sel target. Teknik transfer gen menggunakan suatu vektor yang dapat mengantarkan gen ke sel target secara spesifik. Karakteristik dari vektor yang ideal adalah sangat spesifik, memiliki kemampuan mengantarkan satu atau lebih gen secara efektif, dan tidak dikenali oleh sistem imun tubuh untuk menghindari reaksi pertahanan tubuh, serta dapat mengekspresikan gen dalam jangka waktu yang dibutuhkan (National Institute of Health, 2016; Hasan *and* Savita, 2014).

Vektor secara umum dibagi menjadi 2 kelompok besar, yaitu vektor viral dan vektor non-viral. Berikut kelebihan dan kekurangan tipe-tipe vektor dalam terapi gen.

Tabel 2. Kelebihan dan Kekurangan Tipe-tipe Vektor (Scheller *et al.*, 2012; Wirth *and* Seppo, 2014; Walther *and* Ulrike, 2016; Sibbald, 2001).

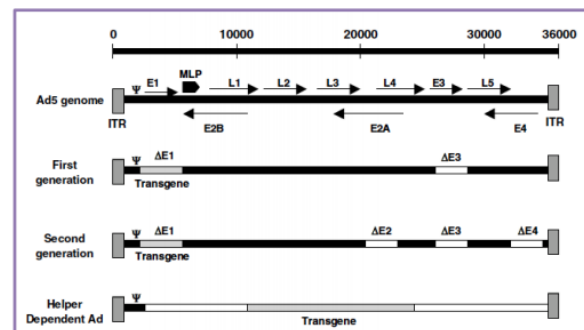
Tipe Vektor	Metode	Kelebihan	Kekurangan/Risiko
Non-Viral	Polimer	Toksitas rendah Relatif aman Manufaktur mudah Tidak ada batasan ukuran penyisipan DNA	Efektifitas dan spesifisitas terhadap target rendah
	<i>Naked DNA</i>	Toksitas rendah Formulasi mudah Tidak membutuhkan biaya besar	Efisiensi dan kemampuan transfeksi rendah
Viral	Retroviral	Kapasitas transgen 7-8 kb Integrasi stabil ke DNA host <i>Recombinant virus titer</i> 10 ⁶ -10 ⁷ pfu/mL Daya infeksi sel luas Manipulasi genom viral relatif mudah	Tidak menginfeksi <i>non-dividing</i> sel Integrasi ke dalam genom host sulit dikendalikan Stabilitas vektor rendah

Viral	Lentiviral	Menginfeksi <i>dividing</i> dan <i>non-dividing</i> sel Ekspresi gen stabil Kapasitas hingga 10 kbp	Potensial terjadi mutagenesis
	Adenovirus	Titer virus tinggi (10^{10} pfu/mL) Ekspresi gen tinggi Kapasitas hingga 7-8 kb Menginfeksi <i>dividing</i> dan <i>non-dividing</i> sel Tidak terintegrasi dengan genom host → risiko mutagenesis rendah <i>Self-limiting infection</i>	Menginduksi respon imun Ekspresi gen sementara
	Adeno-associated viral	Menginfeksi <i>dividing</i> dan <i>non-dividing</i> sel Potensial integrasi pada sel target Non-patogen, sifat imunogenik rendah	Kapasitas transgen terbatas (4 kb) Virus titer rendah Membutuhkan adenovirus atau herpes virus untuk bereplikasi Hanya spesifik pada kromosom 19

Berdasarkan uraian di atas, dipilih vektor viral, yaitu adenovirus sebagai vektor terapi gen CYP19. Vektor adenovirus telah diketahui efisien, dapat menginfeksi *dividing* dan *non-dividing* sel, dan dapat diproduksi dalam skala besar. Adenovirus bersifat stabil dan memiliki kapasitas hingga 7-8 kilobase pairs (1 KB = 1000 pasangan basa DNA) (Coukos and Steven, 2001).

Untuk mengatasi kekurangan yang dimiliki adenovirus telah ditemukan vektor adenovirus generasi ketiga/ *gutless/helper-dependent adenovirus* dengan tingkat imunogenik yang rendah. Jenis adenovirus generasi ketiga memiliki sistem *helper-dependent adenovirus*, satu vektor (*helper*) mengandung seluruh gen viral yang dibutuhkan untuk replikasi namun telah

dibuat suatu kondisi cacat pada domain pembungkusnya sehingga tidak memungkinkan untuk dibungkus dalam suatu virion. Vektor yang kedua hanya mengandung bagian akhir dari genom viral, yaitu ITR (*Inverted Terminal Repeat*) yang berfungsi untuk memulai replikasi DNA, urutan gen terapi (32-37 kb), dan *packaging signal* (Ψ) (Rosewell *et al.*, 2011; Stephan *et al.*, 2002).



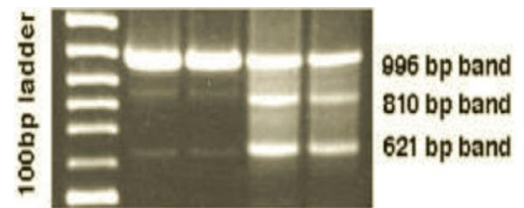
Gambar 1. Vektor Adenovirus (Wong *et al.*, 2013).

Proses konstruksi terapi berbasis gen CYP19 untuk SNP rs2414096 dimulai dengan melakukan amplifikasi dari perbaikan urutan basa pada posisi rs2414096. Basa DNA yang mengisi urutan basa pada posisi rs2414096 adalah basa guanine (G). Urutan basa nitrogen normal diamplifikasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan metode pemeriksaan enzimatik yang sederhana untuk amplifikasi fragmen DNA spesifik dari suatu kompleks DNA (Gabriyan and Nidhi, 2013).

Reaksi PCR membutuhkan *template* DNA, urutan basa primer, nukleotida, dan *DNA polymerase*. *DNA polymerase* merupakan enzim kunci yang menghubungkan nukleotida untuk membentuk produk yang diinginkan dari pemeriksaan menggunakan PCR. Nukleotida mencakup 4 basa nitrogen (adenin, guanin, sitosin, dan timin) sebagai *building blocks* yang digunakan *DNA polymerase* untuk membentuk produk PCR. Urutan basa primer merupakan fragmen DNA pendek yang melengkapi DNA target yang akan dideteksi dan diamplifikasi (Gabriyan and Nidhi, 2013).

Setelah proses amplifikasi, dilakukan analisis terhadap urutan basa DNA yang telah terbentuk dengan elektroforesis gel *agarose* yang dapat

memisahkan produk DNA berdasarkan ukuran basa (Ma *et al.*, 2006).



Gambar 2. Hasil visualisasi urutan basa DNA hasil amplifikasi dan standar (Gabriyan and Nidhi, 2013).

Selanjutnya dilakukan pengurutan/*sequencing* DNA untuk menganalisis urutan DNA normal yang diinginkan (Munshi, 2012).

Urutan basa DNA hasil amplifikasi yang telah dianalisis kemudian disisipkan ke dalam vektor 3rd *generation* adenovirus. Proses ligasi DNA ke dalam vektor dilakukan dengan mereaksikan DNA vektor dengan DNA sisipan (rasio 1:1/5:1) di dalam larutan *buffer* ligase dan *water-nucleas free*, kemudian dilakukan inkubasi 22°C selama 10 menit (Thermo Scientific, 2012). Vektor adenovirus yang telah memiliki urutan basa DNA sisipan dihantarkan melalui injeksi secara langsung ke ovarium, di mana terdapat gen CYP19 sebagai target terapi (Bunker, 2014). Beberapa penelitian terkait terapi gen dengan target pada ovarium menunjukkan bahwa vektor adenovirus punya spesifisitas yang baik pada ovarium (Russel, 2016).

Dengan demikian, vektor adenovirus yang berisi gen terapi dapat bekerja secara spesifik terhadap target terapi gen CYP19. Terapi dengan metode berbasis gen ini diharapkan dapat mengatasi kekurangan-kekurangan dari metode pengobatan yang telah ada, terutama sebagai alternatif terapi PCOS yang selama ini masih didasarkan pada terapi simptomatik dengan efek samping yang cukup besar serta kurang spesifik. Untuk itu digunakan terapi gen yang memiliki efek samping yang sangat minim, namun dapat bekerja dengan sensitif dan spesifik, serta tepat sasaran.

Mengingat begitu tingginya angka infertilitas setiap tahunnya, dan kurangnya pengetahuan masyarakat akan PCOS, dibuktikan dengan tingginya angka infertilitas karena PCOS terutama di Indonesia, sehingga seringkali terapi yang diberikan pada pasien masih kurang efektif dan spesifik. maka dari itu diharapkan adanya perhatian yang lebih dari pemerintah untuk mencegah kenaikan angka infertilitas karena PCOS dengan dilakukannya pengobatan yang efektif dan spesifik untuk mengatasi PCOS sehingga dapat menaikkan angka harapan hidup dan kualitas sumber daya manusia. Untuk itu metode terapi berbasis gen merupakan alternatif terapi yang sangat berpotensi untuk dikembangkan. Terlebih, dengan adanya terapi PCOS berbasis gen diharapkan

angka infertilitas akibat PCOS dapat ditekan, sehingga secara tidak langsung juga meningkatkan kualitas hidup dan meringankan tekanan psikologis penderita.

Program ini sejalan dengan program perbaikan dunia yaitu SDGs (*Sustainable Development Goals*) yang terdapat dalam poin ke-3 mengenai kesehatan yang berfokus pada peningkatan kesehatan masyarakat salah satunya dari kesehatan reproduksi. Terapi gen berbasis *targeted drug therapy* diharapkan dapat menjadi solusi terapi PCOS yang banyak menyerang wanita hingga menyebabkan infertilitas.

SIMPULAN

PCOS merupakan salah satu penyebab gangguan reproduksi berupa infertilitas. Dalam penanganannya, metode terapi saat ini cenderung berfokus pada terapi farmakologi dan hormonal yang selain memberikan efek samping yang besar, juga dinilai masih kurang efektif dalam menurunkan angka infertilitas pada wanita. maka dari itu, terapi berbasis gen muncul sebagai alternatif terapi yang ada. Susunan basa nitrogen gen CYP19 rs2414096 normal akan menggantikan susunan gen yang termutasi sehingga dapat mereduksi kadar hormon testosteron penyebab PCOS. Terapi gen berbasis *targeted drug therapy* pada gen CYP19 rs2414096

diharapkan dapat menjadi solusi terapi alternatif yang tepat, efektif, dan efisien dalam mengatasi *polycystic ovary syndrome* (PCOS) dan menurunkan angka infertilitas pada wanita.

SARAN

Dibutuhkan studi dan pengembangan lebih lanjut mengenai *targeted drug delivery* sebagai metode terapi gen yang lebih efektif, spesifik, dan aman dalam pengobatan PCOS. Selain itu, uji preklinik dan klinik harus dilakukan untuk memastikan keamanan dan efektivitas dari terapi gen CYP19 rs2414096.

DAFTAR PUSTAKA

- Azargoo A, Toussy JA, Darbanan FF. 2012. Pregnancies Following The Use of Sequential Treatment of Metformin and Incremental Doses of Letrozole in Clomiphene-resistant Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Iran J Reprod Med*. 10(1):33-40.
- Badawy A, Elnashar A. 2011. Treatment Options for Polycystic Ovary Syndrome. *International Journal of Women's Health*. 3:25-35. doi:10.2147/IJWH.S11304
- Balen A. 2004. *The Pathophysiology of Polycystic Ovary Syndrome: Trying to Understand PCOS and Its Endocrinology*. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 18(5): 685-706.
- Barbosa G, Cunha de Sa LBP, Rocha DRTW, Arbex AK. 2016. Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and Fertility. *Open Journal of Endocrine and Metabolic Diseases*, 6:58-65. <http://dx.doi.org/10.4236/ojemd.2016.61008>
- Bunker DLJ. 2014. Delivery Techniques in Gene Therapy: A Brief Overview. *J Phys Chem Biophys*. 4(3). ISSN: 2161-0398.
- Cedars M, Jaffe RB. 2009. Infertility and Women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 90(4). Available at <http://dx.doi.org/10.1210/jcem.90.4.9997>
- Coukos G, Steven C. 2001. Gene Therapy for Ovarian Cancer. *ONCOLOGY*. Available online at <http://www.cancernetwork.com> [Accessed on 20 Desember 2016].
- Dhaliwal LK, Suri V, Gupta KR, Sahdev S. 2011. Tamoxifen: An Alternative to Clomiphene in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *J Hum Reprod Sci*. 4(2):76-79.
- Diamanti-Kandarakis E. 2008. Polycystic Ovarian Syndrome: Pathophysiology, Molecular Aspects and Clinical Implications. *Expert Rev Mol Med*. 30(10): e3. doi: 10.1017/S1462399408000598.
- Gabriyan L, Nidhi, A. 2013. Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR). *J Invest Dermatol*. 133(3): e6.
- Genetics Home Reference (GHR). 2016. *Help Me Understand Genetics Gene Therapy*. Amerika Serikat: Lister Hill National Center for Biomedical Communications.
- Gerrits T. 2012. Biomedical infertility care in low resource countries:

- Barriers and Access. *FVV in ObGyn*. Monograph:1-6.
- Hasan N, Savita S. 2014. Gene Therapy: Current Status and Future Perspectives. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*. 5(9): 586-595.
- Jin JL, Jing S, Hui JG, *et al.* 2009. Association Between CYP19 Gene SNP rs2414096 Polymorphism and Polycystic Ovary Syndrome in Chinese Women. *BMC Medical Genetics*. 10:139.
- Joham AE, Teede HJ, Ranasinha S, *et al.* 2015. Prevalence of Infertility and Use of Fertility Treatment in Women with Polycystic Ovary Syndrome: Data from A Large Community-based Cohort Study. *J Womens Health (Larchmt)*. 24(4):299-307. doi: 10.1089/jwh.2014.5000.
- Kabel AM. 2016. Polycystic Ovarian Syndrome: Insights into Pathogenesis, Diagnosis, Prognosis, Pharmacological and Non-Pharmacological Treatment. *J Pharma Reports*. 1: 103.
- Ma HB, Kuan JS, George C, *et al.* 2006. Application of Real-time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). *The Journal of American Science*. 2(3): 1-15.
- Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, *et al.* 2012. National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *PLoS Med*. 9(12):e1001356. doi:10.1371/journal.pmed.1001356.
- Munshi A. 2012. *DNA Sequencing – Methods and Applications*. Croatia : Creative Commons Attribution.
- Nafye Y, Sevtap K, Muammer D, Emre O, Senol K, *et al.* 2010. The Effect of Serum and Intrafollicular Insulin Resistance Parameters and Homocysteine Levels of Nonobese, Nonhyperandrogenemic Polycystic Ovary Syndrome Patients on *In-vitro* Fertilization Outcome. *Fertil Steril*. 93: 1864-1869.
- NCBI. 2016. rs2414096. Available at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs2414096> [Accessed on 21 Desember 2016].
- National Institutes of Health. 2016. Gene Therapy. Available at <https://ghr.nlm.nih.gov/> [Accessed on 20 Desember 2016].
- Panda PK, Riya R, Rahul R, *et al.* 2016. *Genetics of PCOS: A Systematic Bioinformatics Approach To Unveil The Proteins Responsible for PCOS*. India : Elsevier.
- Petry CJ, Ong KK, Michelmores KF, *et al.* 2005. Association of Aromatase (CYP 19) Gene Variation With Features of Hyperandrogenism in Two Populations of Young Women. *Human Reproduction*. 20(7): 1837-1843.
- Rosewell A, Francesco V, Philip Ng. 2011. Helper-Dependent Adenoviral Vectors. *J Genet Syndr Gene Ther*. doi:10.4172/2157-7412.S5-001.
- Russell W. 2016. Adenovirus Gene Therapy for Ovarian Cancer. Available at <http://jnci.oxfordjournals.org/> [Accessed on 21 Desember 2016].
- Scheller EL, Villa-Diaz LG, Krebsbach PH. 2012. Gene Therapy:

- Implications for Craniofacial Regeneration. *The Journal of Craniofacial Surgery*. 23(1): 333-337.
- Sharquie KE, Al-Bayatti AA, Al-Ajeel AI, Al-Bahar AJ, Al-Nuaimy AA. 2007. Free Testosterone, Luteinizing Hormone/Follicle Stimulating Hormone Ratio and Pelvic Sonography in Relation to Skin Manifestations in Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *Saudi Med J*. 28: 1039-1043.
- Sibbald, B. 2001. Death but One Unintended Consequence of Gene Therapy Trial. *CMAJ*. 164:1612.
- Sirmans SM, Pate KA. 2014. Epidemiology, Diagnosis, and Management of Polycystic Ovary Syndrome. *Clinical Epidemiology*. 6:1-13. doi:10.2147/CLEP.S37559.
- Stephan AV, Kelly KH. 2002. Adenoviral Gene Therapy. *The Oncologist*. 7:46-59.
- Wong CM, Emily R, Joseph KB, *et al*. 2013. The Role of Chromatin in Adenoviral Vector Function. *Viruses*. 5: 1500-1515.
- Thermo Scientific. 2012. *DNA Insert Ligation (sticky-end and Protocol blunt-end) into Vector DNA*. Available at https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/MAN001190_6_DNAert_Ligation_Vector_DNA_UG.pdf [Accessed on 22 Desember 2016].
- Walther W, Ulrike S. 2016. Viral Vectors for Gene Transfer. *Drugs*. 60(2): 249-271.
- Wirth T, Seppo YH. 2014. Gene Therapy Used in Cancer Treatment. *Biomedicines*. 2(2): 149-162.
- Wong S. 2011. Management of Infertility in The Setting of Polycystic Ovary Syndrome. *Australian Medical Student Journal*. 2(2):45-48
- Zaree M, Shahnazi V, Fayezi S, Darabi M, Mehrzad-Sadaghiani M, *et al*. 2015. Expression Levels of PPAR γ and CYP-19 in Polycystic Ovarian Syndrome Primary Granulosa Cells: Influence of ω -3 Fatty Acid. *Int J Fertil Steril*. 9(2):197-204.
- Zegers HF, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, *et al*. 2009. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO). *Fertility and Sterility*. 24(11):2683-2687.