

ANALISIS POLIMORFISME GEN (eNOS) DAN ESTRADIOL PADA PENDERITA ENDOMETRIOSIS

Analysis of Endometriosis Patients on Gene Polymorphism (eNOS) and Estradiol

Metri Lidya¹, Elvia Metti¹, Murniati Muchtar¹, Yolanda Syahdia², Rani Intan
Permata³

¹Jurusan Keperawatan, Poltekkes Kemenkes Padang

²Program Studi Kebidanan, Program Magister Fakultas Kedokteran, Universitas
Andalas

³Puskesmas Lubuk Kilangan Padang

*Email: metrilidya1@gmail.com

ABSTRACT

Endometriosis is characterized by inflammation and is an estrogen-dependent disease that affects 6-10% of women during their reproductive years and up to 50% of women who received fertility treatment. The purpose of this study was to determine the relationship between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (eNOS) and levels of the hormone estradiol. This type of research is an analytic observational study with a comparative cross-sectional study design where the dependent and independent variables are obtained simultaneously. The research was conducted in hospitals types B and C in Padang city and the Biomedical Laboratory of FK Unand. The population is all patients in the obstetrics and gynecology department of the hospital. Samples were taken sequentially that met the inclusion and exclusion criteria for a sample of 40 people. Data analysis was univariate, and bivariate with a chi-square test. The results showed that there was an Enos gene polymorphism in endometriosis patients and most in the GG genotype casein, most endometriosis patients had high estradiol levels (>40 pg/ml) and there was a relationship between eNOS gene polymorphism with estradiol levels in the blood serum of endometriosis patients $p = 0.04$. It can be concluded that there was an Enos gene polymorphism in endometriosis patients and most in the GG genotype casein. Patients with endometriosis have high estradiol levels. There was a relationship between estradiol levels and the eNOS gene in endometriosis patients.

Keywords: endometriosis, eNOS, levels of estradiol

ABSTRAK

Endometriosis di karakteristik dengan suatu inflamasi dan penyakit yang berkaitan dengan dengan estrogen yang memengaruhi 6-10% wanita selama masa reproduksinya dan hingga 50% wanita yang menerima perawatan kesuburan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil analisis gen endothelial nitric oxide synthase (eNOS) dan kadar hormon estradiol pada penderita endometriosis. Jenis penelitian observasional analitik cross-sectional dimana variabel dependen dan independen diperoleh secara bersamaan. Penelitian dilakukan di RS tipe B dan C di kota Padang dan Laboratorium Biomedik FK Unand. Populasinya seluruh pasien di bagian ginekologi rumah sakit. Sampel merupakan wanita usia subur yang menderita endometriosis diambil secara berurutan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi jumlah sampel 40 orang. Analisis data secara univariat dan bivariat dengan uji chi-square. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya polimorfisme gen Enos pada pasien endometriosis dan paling banyak pada pasein genotip GG, paling banyak pasien endometriosis memiliki kadar estradiol yang tinggi (>40 pg/ml) dan ada hubungan

antara polimorfisme gen eNOS dengan kadar estradiol pada serum darah penderita endometriosis $p=0,04$. Dapat disimpulkan bahwa adanya polimorfisme gen Enos pada pasien endometriosis dan paling banyak pada pasien genotip GG. Pasien penderita endometriosis memiliki kadar estradiol yang tinggi. Terdapat hubungan antara kadar Estradiol dengan gen eNOS pada penderita endometriosis.

Kata kunci: endometriosis, gen eNos, kadar estradiol

PENDAHULUAN

Endometriosis adalah penyakit kronis, menyakitkan, dan melemahkan di mana endometrium seperti sel-sel kelenjar dan stroma tumbuh di luar rongga rahim. Endometriosis diperkirakan menyerang sekitar 10% hingga 15% wanita usia reproduksi, sedangkan prevalensi ini meningkat hingga 70% pada wanita dengan nyeri panggul kronis[1]. Di AS, menurut survei terbaru dari National Hospital Discharge Survey, 11,2% dari semua wanita berusia antara 18 dan 45 tahun yang dirawat di rumah sakit karena penyebab genitourinari didiagnosis menderita endometriosis, dan sekitar 10,3% wanita yang telah menjalani operasi ginekologi memiliki endometriosis [2]. Endometriosis adalah penyakit dengan beban yang tinggi di Eropa, dan di AS telah ditunjukkan bahwa di Eropa, biaya tahunan rata-rata untuk setiap pasien, termasuk perawatan kesehatan dan hilangnya produktivitas, adalah sekitar 10.000, sedangkan di AS, biaya perawatan kesehatan 63% lebih tinggi dibandingkan rata-rata perempuan[3].

Endometriosis adalah pertumbuhan jaringan endometrium baik kelenjar maupun stroma-nya di luar kavum uteri atau di dalam miometrium. Bila jaringan endometrium terdapat di dalam miometrium disebut dengan adenomiosis. Lokasi endometriosis sering ditemukan pada peritoneum pelvis, tetapi dapat ditemukan juga di tempat lain seperti ovarium dan ligamentum utero-sakral. Pada pemeriksaan penanda tumor CA125 ditemukan meningkat. Oleh karena itu dibutuhkan penegakkan diagnosis yang cepat pada endometriosis[4].

Endometriosis sangat sering terjadi dalam ovarium, ligamentum latum, permukaan peritoneum dari kavum douglas termasuk ligamentum uterosakral, serviks posterior, dan dalam septum rektovagina. Meskipun terdapat variasi tempat yang besar, 60% pasien dengan endometriosis mempunyai keterlibatan ovarium. Endometriosis masih respons terhadap stimulasi hormonal, ditandai dengan jaringan tersebut berubah sesuai dengan siklusnya. Endometriosis akan berproliferasi, bersekresi, dan meluruh sesuai dengan siklus menstruasi. Peluruhan dan perdarahan memicu terbentuknya adhesi fibrosa dan akumulasi dari pigmen hemosiderin[4].

Endometriosis memiliki respons terhadap stimulasi hormonal, ditandai dengan jaringan yang berubah sesuai dengan siklusnya. Endometriosis akan berproliferasi, bersekresi, dan meluruh sesuai dengan siklus menstruasi. Peluruhan dan perdarahan memicu terbentuknya adhesi fibrosa dan akumulasi dari pigmen hemosiderin. Endometriosis adalah penyakit yang tergantung pada estrogen[4].

Data *National Swedish Cancer* (2006) menyatakan adanya peningkatan risiko terjadinya karsinoma ovarium sebesar 2,5 kali pada wanita endometriosis yang melakukan *follow up* diatas 10 tahun. Ness juga menyatakan wanita yang terkena karsinoma ovarium 1,7 kali dengan riwayat endometriosis. Sedangkan Brinton menyatakan adanya risiko keganasan ovarium pada wanita endometriosis sebesar 4kali setelah dilakukan *follow up* selama 10 tahun[5]. Pada wanita dengan endometriosis, terjadi peningkatan jumlah leukosit dan makrofag didalam dan di sekitar implan endometrium dan cairan peritoneal. Sel-sel ini mensekresi sitokin (*interleukin* 1, 6, dan 8; *tumor necrosis factor*, RANTES) dan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) ke dalam lingkungan peritoneal, yang kemudian merekrut sekitar kapiler dan leukosit. Efek utamanya adalah proliferasi implan endometriosis dengan peningkatan pasokan vascular[6].

Pada penelitian Cahyono, eNos telah dilaporkan dan dianggap terlibat dalam perkembangan endometriosis. eNOS (Glu298Asp polimorfisme) akan memengaruhi kerentanan individu dalam endometriosis.[7] eNOS memainkan peran dalam pengembangan endometriosis melalui peningkatan angiogenetik, karena angiogenesis adalah penting untuk kelangsungan hidup jaringan endometrium ektopik di luar rahim serta perkembangan endometriosis. eNOS perlu diperiksa karena akan memberikan gambaran hubungan polimorfisme gen eNOS dengan risiko kejadian endometriosis. Penelitian Michail (2015) tentang peran polimorfisme gen pada endometriosis dan IL-1 β dan 8-OH-dG di cairan folikuler telah banyak dilaporkan dengan hasil yang berbeda-beda, namun penelitian tentang eNOS (polimorfisme genotipe), IL-1 β dan 8-OH-dG pada serum darah manusia dengan endometriosis masih sangat terbatas[8].

Estrogen adalah hormon steroid karbon 18 yang terdiri dari estron (E1), Estradiol (E2), dan estriol (E3). Estrogen yang paling poten adalah estradiol dan merupakan produk dari ovarium. Kadar estradiol serum meningkat selama fase folikuler pada siklus menstruasi dan meningkat secara paralel pada pertumbuhan folikel. Estradiol terutama ditemukan terikat dalam aliran darah dengan protein pembawa. Estradiol dikatakan memiliki potensi mitogenik estradiol yang memicu pertumbuhan dan proses inflamasi pada lesi endometriosis.[9] Angka kejadian penderita endometriosis dari beberapa rumah sakit di Indonesia sebagai berikut, Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Moewardi (Surakarta) pada tahun 2001 melalui bedah ginekologi ditemukan endometriosis berkisar 13,6%; di RSUD Dr. Sutomo (Surabaya) angka kejadian endometriosis kelompok infertilitas berdasarkan penelitian yang dilakukan di RSUD Dr. Soetomo Surabaya, didapatkan hasil bahwa pasien dengan infertilitas disertai endometriosis yaitu berkisar 44%, [5] dan di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado Januari 2016 – September 2017. Prevalensi endometriosis pada wanita usia reproduksi bervariasi antara 3-10%. Pada kelompok wanita infertilitas angka kejadian sekitar 9-50%. Rumah Sakit Dr. M. Djamil merupakan Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) yang merupakan rujukan utama yang ada di Sumatera Barat didapatkan data kasus penyakit endometriosis tahun 2018 sebanyak 382 kasus atau sekitar 25 sampai 30 orang penderita endometriosis datang berobat tiap bulannya. Oleh karena itu, data di RSUP Dr. M. Djamil bisa menjadi gambaran endometriosis di Sumatera Barat.

Dalam penelitian ini novelty yang didapatkan adalah ditemukannya polimorfisme genEnos dan kadar hormon *Estradiol* yang bisa dijadikan acuan bagi tenaga kesehatan untuk dilakukan pemeriksaan labor dan hasilnya bisa mendeteksi sedini mungkin kejadian endometriosis sehingga tenaga kesehatan dapat dengan segera melakukan tindakan pengobatan untuk mempercepat proses penyembuhan pasien. Adapun tujuan penelitian ini adalah tentang polimorfisme gen *endothelial nitric oxide synthase (eNOS)* dan hubungannya dengan kadar hormon estradiol.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain Cross-sectional comparative study. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2023 sampai November 2023, di RSUP.Dr.M.Djamil Padang, RSIA Swasta di Kota Padang dan Laboratorium Biomedik FK Unand. Populasi pasien di bagian poli obstetri ginekologi di RSUP.Dr.M.Djamil Padang dan RSIA Swasta. Sampel penelitian penderita endometriosis yang didiagnosis sesuai dengan kriteria ASRM (*American Society Of Reproductive Medicine*). Pengambilan sampel dilakukan setelah pasiendiagnosis dan menyetujui tindakan pengambilan darah. Jumlah sampel sebanyak 40 orang. Cara pengambilan sampel dilakukan dengan cara konsekutif sesuai dengan kriteria inklusi: penderita endometriosis dan pasien normal non endometriosis yang datang ke RS, pasien yang setuju mengikuti penelitian dengan menandatangani *informed consent*. dan kriteria eksklusi: penderita dengan KB hormonal penderita dengan sulih hormon,

Penderita yang telah diterapi dengan terapi hormonal endometriosis sebelumnya dalam kurang lebih kurun waktu 6 bulan terakhir dan Penderita dengan *polycystic ovarian syndrome* (PCOS).

Pengambilan darah dilakukan setelah menandatangani surat persetujuan. Pengambilan darah sebanyak 5 ml dan dikirim ke Laboratorium Biomedik FK UNAND. Kemudian, pemeriksaan ELISA untuk memeriksa kadar hormon estradiol menggunakan EIA Kit. Untuk memeriksa polimorfisme eNOS dilakukan dengan teknik pemeriksaan PCR-RFLP. Data dianalisis dengan menggunakan analisis statistik inferensial untuk menguji hipotesis penelitian. Analisis univariat digunakan untuk mengetahui karakteristik subjek penelitian. secara deskriptif dengan menghitung distribusi frekuensi dan proporsi. Selanjutnya, data ditampilkan dalam bentuk tabel dan narasi. Analisis bivariat meliputi variabel terikat dan variabel bebas, dan variabel terikat dengan variabel luar. Uji statistik menggunakan *chi-square* untuk mengetahui ada tidaknya hubungan dua variabel dengan *confidence interval* (CI) 95% dengan $\alpha=0.05$. Untuk melihat hubungan variabel yang diteliti dilakukan uji *Chi-Square*. Setelah etical clearance keluar tanggal 7 Juli 2023 dengan No : 43.01/KEPK – UNP/IV/ 2023 langsung dilakukan penelitian dan pengambilan sampel darah penderita endometriosis

HASIL

1. Analisa Univariat

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Polimorfisme Gen eNOS pada Serum Darah Penderita Endometriosis

Variabel	Jumlah (n)	Persentase (%)
GG	27	67,5
GT	8	20
TT (Ref)	5	12,5
Total	40	100

Pada tabel 1 didapatkan bahwa adanya polimorfisme gen Enos pada pasien endometriosis genotip GG sebanyak 27 orang (67,5%). Pada pasien endometriosis genotip GT sebanyak 8 orang (20%). Pada pasien endometriosis genotip TT sebanyak 5 orang (12,5%). dengan nilai CI 95%= 1,39-16,03, dan $p=0,02$.

Tabel 2. Distribusi Frekuensi Kadar Estradiol pada Serum Darah Penderita Endometriosis

Variabel	Jumlah (n)	Persentase (%)
Rendah (< 20 pg/ml)	1	2,5
Normal (20-40 pg/ml)	4	10,0
Tinggi (>40 pg/ml)	35	87,5
Jumlah	40	100,0

Berdasarkan tabel 1 didapatkan kadar estradiol pada serum darah penderita endometriosis normal sebanyak 4 pasien (10%), rendah < 20 pg/ml sebanyak 1 pasien (2,5%) dan tinggi > 40 pg/ml sebanyak 35 pasien (87,5%).

2. Analisa bivariat

Tabel 3. Hubungan polimorfisme gen eNOS dengan kadar Estradiol

eNos	Kadar Estradiol			Total	p-value
	Rendah (%)	Normal (%)	Tinggi (%)		
GG	0(0%)	0(0%)	27(67,5%)	27(67,5%)	0,04
GT	1(2,5%)	4(10%)	3(7,5%)	8(20%)	
TT	0(0%)	0(0%)	5(12,5%)	5(12,5%)	
Total	1(2,5)	4(10%)	35(87,5)	40(100%)	

Berdasarkan tabel 3 didapatkan adanya polimorfisme gen Enos pada pasien endometriosis genotip GG sebanyak 27 orang (67,5%). Pada pasien endometriosis genotip GT sebanyak 8 orang (20%). Pada pasien endometriosis genotip TT sebanyak 5 orang (12,5%). Penderita endometriosis paling banyak mengalami polimorfisme gen eNOS terhadap estradiol yaitu gen GG. Hasil uji statistik tabel 3 didapatkan nilai $P = 0,04$ maka $p < \alpha (0,05)$ dapat disimpulkan ada hubungan antara polimorfisme gen eNOS dengan kadar estradiol pada serum darah penderita endometriosis.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya polimorfisme gen Enos dan terdapat hubungan antara kadar Estradiol dengan gen eNOS pada penderita endometriosis. Sejalan dengan penelitian Cahyono (2015) menyatakan bahwa penemuan kadar NOS meningkat pada pasien endometriosis [7]. Kadar IL-1Beta, NO dan 8-OH-dG pada pasien endometriosis lebih tinggi dibanding pasien normal. Polimorfisme gen eNOS dengan alel GG dan gabungan GG/GT tersering ditemukan pada endometriosis [7]. Saat ini, bukti kuat telah ditemukan yaitu polimorfisme dari exon 7 nukleotida nomer 894 di gen endotel NOS (eNOS) yang dihubungkan dengan endometriosis. Oleh karena itu, variasi kadar eNOS gen mungkin mempengaruhi endometrial angiogenesis dan memodulasi proses endometriosis. Endometriosis telah dipercaya berhubungan dengan reaksi lokal inflamasi pelvis. Terdapat suatu kompleks yang saling memengaruhi yang terdiri dari OS, sitokin, dan angiogenesis dalam patofisiologi endometriosis. Peningkatan ekspresi endotel NOS telah dilaporkan terdapat pada seluruh siklus menstruasi di endometrium wanita dengan endometriosis [10]. Darah menstruasi yang mengandung sel-sel endometrium mengalir melalui saluran tuba ke dalam rongga peritoneum, dimana implantasi sel-sel ini mungkin terjadi [11]. Setelah implantasi, perkembangan dan pertumbuhan lesi didukung oleh angiogenesis.[12] Hal ini dimungkinkan karena makrofag peritoneum teraktivasi, yang menghasilkan faktor angiogenik, misalnya faktor pertumbuhan endotel vaskular[13].

Endometriosis diduga berhubungan dengan banyaknya genotip beserta variasi-variasinya yang akan memengaruhi patogenesis penyakit tersebut secara klinis. Salah satu genotip pada endometriosis adalah eNOS. Dalam penelitian ini, hasil perbandingan distribusi frekuensi polimorfisme genotip eNOS pada penderita endometriosis memperlihatkan statistik yang bermakna. Genotip polimorfisme eNOS pada manusia terletak di kromosom 7q, yang berisi ekson yang mencakup 21 kb DNA genom. Tranversi G dan T yang menjadi posisi 894 (G894T) di ekson 7 menyebabkan substitusi asam glutamat (GAG) ke asam aspartat (GAT) pada asam amino 298 (glutamat 298 asp atau E 298D). Di berbagai penelitian, frekuensi variasi genotip di antara etnis dalam populasi yang berbeda banyak terjadi [7]. Dalam studi sebelumnya, genotipe polimorfisme eNOS menjadi faktor risiko penyakit arteri koroner, *infark miocard*, *nefropaty diabeticum*, dan preeklampsia. Perubahan basa guanin menjadi timin pada nukleotid ke 894 (G894T) di exon 7 gen eNOS menyebabkan perubahan glutamat (GAG)

menjadi aspartat (GAT) di kodon 298[14]. Polimorfisme Glu298Asp gen eNOS memiliki dampak terhadap situs katalitik enzim eNOS, yang menyebabkan terjadinya penurunan fungsi katalitik enzim eNOS yang berdampak pada penurunan sintesis nitric oxide. Terjadinya penurunan sintesis nitric oxide dapat menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah secara sistemik yang menjadi patogenesis awal dari penyakit preeklampsia[15].

Hasil menunjukkan paling banyak pasien endometriosis memiliki kadar estradiol yang tinggi (>40 pg/ml) dan ada hubungan antara polimorfisme gen eNOS dengan kadar estradiol pada serum darah penderita endometriosis. Sejalan dengan penelitian Eldafira (2022) yang menyatakan adanya peningkatan level estradiol serum (E2) fase proliferasi pada penderita endometriosis [16]. Mekanisme meningkatnya estradiol pada jaringan endometriosis dibandingkan endometrium normal dari segi molekuler yaitu estradiol serum (E2) memasuki sitoplasma sel berikatan pada reseptor di dalam inti sel. Kemudian membentuk kompleks ikatan (E-ER) ini berikatan pada DNA gen target di daerah promotor, selanjutnya merekrut protein-protein activator yang akan berperan dalam aktivasi proses transkripsi, dapat meningkatkan ekspresi gen reseptor estrogen dan berpengaruh dalam perubahan fisiologis sel termasuk gejala patologis endometriosis[17].

Menurut sebuah penelitian terhadap pasien-pasien endometriosis di India, hubungan antara genotip eNOS dan endometriosis adalah kurang bermakna. Sebuah penelitian di Yunani mengungkapkan bahwa Glu 298 Asp SNP di eNOS memberikan peningkatan sepuluh kali lipat akan terjadinya endometrios. Pada penelitian Cahyono 2015, genotip GG pada endometriosis meningkat 24,50 kali dibanding dengan non endometriosis, sedangkan gabungan genotip GG/GT pada endometriosis meningkat sebanyak 5,6 kali dibandingkan dengan non endometriosis. Ketidaksepakatan antara Cahyono 2015, studi di Yunani, dan studi di India disebabkan karena adanya perbedaan etnis dalam ekspresi fenotipik, seperti dalam penelitian oleh Hibi (1998) dalam varian genotipe eNOS dan *cardiovascular*. Dalam penelitian tersebut, frekuensi Asp 298 homozygot adalah lebih tinggi di subyek penelitian di Jepang dengan akut *miocard*. Akan tetapi, Glu 298 homozygot meningkat dalam subyek penelitian di Perancis, tetapi tidak dalam subyek penelitian di Irlandia atau di Inggris [7],[18].

SIMPULAN

Adanya polimorfisme gen Enos pada pasien endometriosis dan paling banyak pada pasien genotip GG. Pasien penderita endometriosis memiliki kadar estradiol yang tinggi. Terdapat hubungan antara kadar Estradiol dengan gen eNOS pada penderita endometriosis. Sesuai dengan hasil penelitian yang didapatkan, hendaknya pada setiap wanita usia subur yang diduga menderita endometriosis perlu dilakukan penyuluhan pentingnya mengetahui kadar hormon estradiol dan segera dilakukan pemeriksaan gen eNOS agar dapat mempercepat penegakan diagnosa keganasan sehingga tindakan pengobatan bisa segera dilakukan.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] P. Parasar, P. Ozcan, and K. L. Terry, "Endometriosis: Epidemiology, Diagnosis and Clinical Management," *Curr. Obstet. Gynecol. Rep.*, vol. 6, no. 1, pp. 34–41, 2017, doi: 10.1007/s13669-017-0187-1.
- [2] B. Eskenazi and M. L. Warner, "Epidemiology of endometriosis," *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.*, vol. 24, no. 2, pp. 235–258, 1997, doi: 10.1016/S0889-8545(05)70302-8.
- [3] P. Vercellini, P. Viganò, E. Somigliana, and L. Fedele, "Endometriosis: Pathogenesis and treatment," *Nat. Rev. Endocrinol.*, vol. 10, no. 5, pp. 261–275, 2014, doi: 10.1038/nrendo.2013.255.
- [4] Iskandar, "Endometriosis," *J. Kedokt. dan Kesehatan. Malikussaleh*, vol. 7, no. 2, pp. 1–12,

- 2021.
- [5] K. C. Abadi, "Gambaran Endometriosis Di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. M. Djamil Padang Periode 2010-2013," Universitas Andalas, 2014. [Online]. Available: K. C. Abadi, "Gambaran Endometriosis Di Laboratorium Patologi Anatomi Rsup Dr. M. Djamil Padang Periode 2010-2013," *J. Kesehat. Andalas*, pp. 1–37, 2014.
- [6] M. L. Macer and H. S. Taylor, "Endometriosis and Infertility. A Review of the Pathogenesis and Treatment of Endometriosis-associated Infertility," *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.*, vol. 39, no. 4, pp. 535–549, 2012, doi: 10.1016/j.ogc.2012.10.002.
- [7] C. Hadi, D. Dasuki, and A. H. Sadewa, "Polimorfisme Gen Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) Dan Kadar Interleukin-1Beta (IL-1Beta), Nitric Oxide (NO) Dan 8-Hydroxy-2 Deoxyguanosine (8-OH-dG) CAIRAN Folikuler Pada Pasien Endometriosis," Universitas Gadjah Mada, 2015. [Online]. Available: <https://etd.repository.ugm.ac.id/penelitian/detail/91433>
- [8] M. Matalliotakis, G. N. Goulielmos, C. Matalliotaki, A. Trivli, I. Matalliotakis, and A. Arici, "Endometriosis in Adolescent and Young Girls: Report on a Series of 55 Cases," *J. Pediatr. Adolesc. Gynecol.*, vol. 30, no. 5, pp. 568–570, 2017, doi: 10.1016/j.jpag.2017.05.007.
- [9] V. E. Beshay and B. R. Carr, "Clinical Reproductive Medicine and Surgery," *Clin. Reprod. Med. Surg.*, pp. 1–17, 2017, doi: 10.1007/978-3-319-52210-4.
- [10] P. A. Marsden *et al.*, "Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene," *J. Biol. Chem.*, vol. 268, no. 23, pp. 17478–17488, 1993, doi: 10.1016/s0021-9258(19)85359-0.
- [11] J. L. Yovich, P. K. Rowlands, S. Lingham, M. Sillender, and S. Srinivasan, "Pathogenesis of endometriosis: Look no further than John Sampson," *Reprod. Biomed. Online*, vol. 40, no. 1, pp. 7–11, 2020, doi: 10.1016/j.rbmo.2019.10.007.
- [12] M. Nisolle and J. Donnez, "Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities," *Fertil. Steril.*, vol. 68, no. 4, pp. 585–596, 1997, doi: 10.1016/S0015-0282(97)00191-X.
- [13] G. Izumi *et al.*, "Involvement of immune cells in the pathogenesis of endometriosis," *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, vol. 44, no. 2, pp. 191–198, 2018, doi: 10.1111/jog.13559.
- [14] M. WANG, X. JIANG, W. WU, and D. ZHANG, "Association of G894T polymorphism in endothelial nitric oxide synthase gene with the risk of ischemic stroke: A meta-analysis," *Biomed. Reports*, vol. 1, no. 1, pp. 144–150, 2013, doi: 10.3892/br.2012.23.
- [15] M. Komatsu *et al.*, "ecNOS gene polymorphism is associated with endothelium-dependent vasodilation in Type 2 diabetes," *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.*, vol. 283, no. 2 52-2, pp. 1–4, 2002, doi: 10.1152/ajpheart.00653.2001.
- [16] Eldafira, "Analisis Hubungan Hormon Estrogen Antara Pasien Endometriosis dan Non Endometriosis di Jakarta," *J. Pratista Patol.*, vol. 7, no. 2, pp. 12–16, 2022.
- [17] S. E. Bulun *et al.*, "Estrogen receptor-beta, estrogen receptor-alpha, and progesterone resistance in endometriosis," *Semin Reprod Med*, vol. 28, no. 1, pp. 36–43, 2010, doi: 10.1055/s-0029-1242991.Estrogen.
- [18] K. Hibi *et al.*, "Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction," *Hypertension*, vol. 32, no. 3, pp. 521–526, 1998, doi: 10.1161/01.HYP.32.3.521.