

**TESIS**

**HUBUNGAN STATUS DAN TINGKAT METILASI  
DNA PROMOTOR GEN EPIDERMAL GROWTH  
FACTOR RECEPTOR (EGFR) DENGAN KEJADIAN  
ENDOMETRIOSIS: UPAYA DINI PENEGAKAN  
DIAGNOSIS MELALUI DARAH MENSTRUASI**



**ANISAH NIDA'UL HAQ**

**NIM. 04112682226005**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**2024**

## **TESIS**

# **HUBUNGAN STATUS DAN TINGKAT METILASI DNA PROMOTOR GEN EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR) DENGAN KEJADIAN ENDOMETRIOSIS: UPAYA DINI PENEGAKAN DIAGNOSIS MELALUI DARAH MENSTRUASI**

**Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memeroleh Gelar Magister  
Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya**



**ANISAH NIDA'UL HAQ**

**NIM. 04112682226005**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**2024**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**HUBUNGAN STATUS DAN TINGKAT METILASI DNA  
PROMOTOR GEN EPIDERMAL GROWTH FACTOR  
RECEPTOR (EGFR) DENGAN KEJADIAN  
ENDOMETRIOSIS: UPAYA DINI PENEGAKAN  
DIAGNOSIS MELALUI DARAH MENSTRUASI**

**LAPORAN AKHIR TESIS**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memeroleh  
Gelar Magister Biomedik


Oleh:

**ANISAH NIDA'UL HAQ**


**NIM. 04112682226005**

Palembang, 27 Desember 2024

**Pembimbing I**

  
**Dr. dr. Zen Hafy, M.Biomed**  
NIP 197212291998031002

**Pembimbing II**

  
**Dr. Ocktariyana, M.Kes**  
NIP. 198210012009022004

Mengetahui,

**Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya**



## HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa laporan akhir tesis dengan judul “Hubungan Status dan Tingkat Metilasi DNA Promotor Gen Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) dengan Kejadian Endometriosis: Upaya Dini Penegakan Diagnosis Melalui Darah Menstruasi” telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Program Studi Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya pada tanggal 27 Desember 2024.

Palembang, 27 Desember 2024

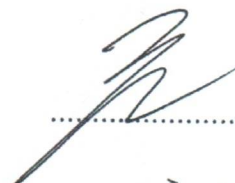
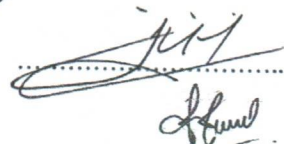


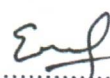
Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah berupa Laporan Akhir Tesis.

Ketua:

1. **dr. Ziske Maritska, M.Si, Med**  
NIP 198403262010122004

Anggota:

1. **Dr. dr. Zen Hafy, M.Biomed**  
NIP 197212291998031002
2. **Dr. Ocktariyana, S.ST, M.Kes**  
NIP 198210012009022004
3. **dr. Fatimah Usman, Sp.OG, Subsp. FER**  
NIP 197207212003122003
4. **dr. Ella Amalia, M.Kes**  
NIP 198410142010122007

  
.....  
  
.....  
  
.....  
  
.....  
  
.....

Mengetahui,

Koordinator Program Studi  
Magister Ilmu Biomedik

  
**Dr. dr. Zen Hafy, M.Biomed**  
NIP 19721229199803100



## PERNYATAAN

Saya yang bertanda-tangan di bawah ini dengan ini menyatakan bahwa:

1. Karya tulis Saya, tesis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (~~sarjana~~, magister ~~dan/atau~~ doktor), baik di Universitas Sriwijaya maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan dan penelitian Saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan verbal Tim Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka Saya bersedia menerima sanksi akademik atau sanksi sesuai dengan normal yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Palembang, 24 Januari 2024

Yang membuat pernyataan,



Anisah Nida'ul Haq  
NIM 04112682226005

Mengetahui,

Pembimbing I



Dr. dr. Zen Hafy, M.Biomed  
NIP 197212291998031002

Pembimbing II



Dr. Ocktariyana, S.ST, M.Kes  
NIP 198210012009022004

**HUBUNGAN STATUS DAN TINGKAT METILASI DNA PROMOTOR  
GEN EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR) DENGAN  
KEJADIAN ENDOMETRIOSIS: UPAYA DINI PENEGAKAN  
DIAGNOSIS MELALUI DARAH MENSTRUASI**

(Anisah Nida'ul Haq, Desember 2024, 107 halaman)  
Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya

**ABSTRAK**

**Pendahuluan:** Endometriosis ditandai dengan terdapatnya jaringan abnormal yang tumbuh di luar kavum uteri. Gen EGFR diketahui merupakan proto-onkogen berperan dalam proliferasi sel, pembelahan dan perkembangan sel yang dalam keadaan normal ekspresinya relatif rendah pada endometrium. Ketika EGFR diekspresikan secara berlebih, hal ini dapat mengakibatkan penyimpangan pensinyalan sehingga terjadi proliferasi sel yang berlebihan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan antara status dan tingkat metilasi DNA pada promotor gen EGFR dengan endometriosis yang diperiksa dalam darah menstruasi.

**Metode:** Penelitian ini adalah studi analitik observasional yang menggunakan pendekatan studi kasus dan kontrol. MS-PCR terhadap masing-masing 20 subjek penelitian kelompok kasus dan kontrol. Kemudian dilakukan *pyrosequencing* pada 14 sampel masing-masing kelompok.

**Hasil:** Hasil uji *Chi-square* pada status metilasi DNA dengan endometriosis menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan ( $p > 0,05$ ). Sementara analisis tingkat metilasi DNA dengan endometriosis ditemukan hubungan yang signifikan dengan nilai  $p$  0,033 dan rasio odds 13.

**Kesimpulan:** Tidak terdapat hubungan antara status metilasi DNA promotor gen EGFR dengan kejadian endometriosis. Terdapat hubungan antara tingkat metilasi DNA promotor gen EGFR dengan kejadian endometriosis.

**Kata Kunci:** metilasi DNA, EGFR, endometriosis, epigenetik

**CORRELATION OF DNA METHYLATION STATUS AND LEVELS OF THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR) GENE PROMOTER WITH ENDOMETRIOSIS: EARLY EFFORTS TO ESTABLISH DIAGNOSIS THROUGH MENSTRUAL BLOOD**

*(Anisah Nida'ul Haq, December 2024, 107 pages)  
Medical Faculty of Sriwijaya University*

**ABSTRACT**

**Introduction:** Endometriosis is characterized by abnormal tissue growing outside the uterine cavity. The EGFR gene is a proto-oncogene involved in cell proliferation, division, and development, which, under normal conditions, is expressed at relatively low levels in the endometrium. When EGFR is overexpressed, it can lead to signaling disturbances, resulting in excessive cell proliferation. This study investigates the relationship between the status and level of DNA methylation of the EGFR gene promoter and endometriosis using menstrual blood.

**Methods:** This study is an observational analytic research with a case-control approach. MS-PCR was performed on 20 subjects in both the case and control groups. Pyrosequencing was then conducted on 14 samples from each group.

**Results:** The Chi-square test results on DNA methylation status and endometriosis showed no significant relationship ( $p > 0.05$ ). Meanwhile, analysis of DNA methylation levels and endometriosis revealed a significant relationship with a  $p$ -value of 0.033 and an odds ratio of 13.

**Conclusion:** There is no correlation between the DNA methylation status of the EGFR gene promoter and the occurrence of endometriosis. However, there is a correlation between the DNA methylation levels of the EGFR gene promoter and the occurrence of endometriosis.

**Keywords:** DNA methylation, EGFR, endometriosis, epigenetic

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iv
PERNYATAAN.....	v
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR SINGKATAN .....	xii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1    Latar Belakang .....	1
1.2    Rumusan Masalah .....	4
1.3    Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1    Tujuan Umum .....	4
1.3.2    Tujuan Khusus .....	5
1.4    Hipotesis.....	5
1.5    Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1    Endometriosis .....	6
2.1.1    Definisi Endometriosis.....	6
2.1.2    Epidemiologi.....	6
2.1.3    Patogenesis Endometriosis.....	7
2.1.4    Klasifikasi Endometriosis .....	9
2.1.5    Gejala Klinis Endometriosis .....	10
2.1.6    Faktor Risiko Endometriosis.....	11
2.1.7    Diagnosis Endometriosis.....	13
2.2    Epigenetik.....	14
2.2.1    Definisi Epigenetik.....	14
2.2.2    Faktor Epigenetik.....	15
2.2.3    Mekanisme Epigenetik.....	21
2.3    Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR).....	29
2.3.1    Jalur Pensinyalan.....	31
2.4 <i>Bisulfite Conversion &amp; Methylation Specific PCR</i> .....	33



2.5	<i>Pyrosequencing</i> .....	35
2.6	Kerangka Teori.....	40
2.5	Kerangka Konsep .....	41
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		42
3.1	Jenis Penelitian .....	42
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian .....	42
3.3	Populasi dan Sampel.....	42
3.3.1	Besar Sampel.....	42
3.3.2	Cara Pengambilan Sampel .....	43
3.3.3	Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	45
3.4	Variabel Penelitian .....	45
3.5	Definisi Operasional.....	46
3.6	Alat dan Bahan .....	48
3.6.1	Isolasi DNA.....	48
3.6.2	Konversi Bisulfit .....	48
3.6.3	<i>MSP (Methylation Specific Polymerase Chain Reaction)</i> .....	49
3.6.4	Elektroforesis .....	49
3.7	Prosedur Penelitian .....	50
3.7.1	Isolasi DNA.....	50
3.7.2	Konversi Bisulfit .....	51
3.7.3	<i>MSP (Methylation Specific Polymerase Chain Reaction)</i> .....	53
3.7.4	Elektroforesis .....	54
3.7.5	<i>Pyrosequencing</i> .....	55
3.8	Cara Pengolahan dan Analisis Data.....	55
3.9	Alur Penelitian.....	57
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		58
4.1	Hasil Penelitian.....	58
4.1.1	Data Karakteristik Subjek Penelitian .....	58
4.1.2	Analisis Status Metilasi DNA .....	60
4.1.3	Analisis Tingkat Metilasi DNA.....	62
4.2	Pembahasan .....	64
BAB V SIMPULAN DAN SARAN .....		71
DAFTAR PUSTAKA .....		72
LAMPIRAN.....		80
BIODATA RINGKAS .....		108

## DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Komponen Reaksi Konversi Bisulfit .....	51
Tabel 3. 2 Suhu pada Konversi Bisulfit .....	52
Tabel 3. 3 Desain Primer Metilasi dan Unmetilasi Gen EGFR .....	53
Tabel 3. 4 Komponen-komponen Reaksi MSP.....	54
Tabel 3. 5 Protokol Siklus Suhu MSP-PCR.....	54
Tabel 4. 1 Data Karakteristik Subjek Penelitian .....	59
Tabel 4. 2 Hubungan Intensitas Nyeri dengan Kejadian Endometriosis.....	59
Tabel 4. 3 Distribusi Status Metilasi DNA Promotor Gen EGFR dengan Kejadian Endometriosis .....	61
Tabel 4. 4 Hubungan Status Metilasi DNA Promotor Gen EGFR dengan Kejadian Endometriosis .....	61
Tabel 4. 5 Perbedaan Rerata Persentase Metilasi DNA Promotor Gen EGFR antara Kelompok Endometriosis dan Non Endometriosis .....	62
Tabel 4. 6 Hubungan Persentase Metilasi DNA Promotor Gen EGFR dengan Kejadian Endometriosis .....	64

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1	Interaksi antara Epigenetik dan Lingkungan.....	15
Gambar 2. 2	Konversi sitosin menjadi 5-metilsitosin.....	22
Gambar 2. 3	Metilasi DNA pada Endometriosis .....	24
Gambar 2. 4	Fungsi Regulasi miRNA dalam Proses Endometriosis.....	27
Gambar 2. 5	Metilasi DNA, Hipoksia dan Inflamasi Memodulasi Endometriosis.....	28
Gambar 2. 6	Regulasi Hipoksia dan Peradangan pada Metilasi DNA.....	28
Gambar 2. 7	Posisi Gen EGFR .....	29
Gambar 2. 8	Skema Aktivasi dan Jalur Pensinyalan EGFR .....	31
Gambar 2. 9	Konversi Bisulfit.....	34
Gambar 2. 10	Gambaran Skematik Hasil Elektroforesis MS-PCR.....	35
Gambar 2. 11	Proses Biotinilasi dan Pembentukan Pirofosfat .....	37
Gambar 2. 12	Perubahan Pirofosfat Menjadi ATP Dimediasi Luciferase .....	37
Gambar 2. 13	Degradasi dNTP dan ATP oleh Enzim Apyrase .....	38
Gambar 2. 14	Pyrogram Hasil <i>Pyrosequencing</i> .....	39
Gambar 4.1	Visualisasi Elektroforesis Amplikon MS-PCR .....	60
Gambar 4.2	Pyrogram Sampel E1 Promotor Gen EGFR.....	62
Gambar 4.3	Nilai Titik Potong Persentase Metilasi pada Kejadian Endometriosis.....	63

## DAFTAR SINGKATAN

Akt	: a serine/threonine protein kinase
Alu	: <i>Arthrobacter luteus</i>
AML	: Acute Myeloid Leuchemia
APC	: Adenomatous Polyposis Coli
APS	: Adenosin 5' Phosphosulphate
ATP	: Adenosin Triphosphate
ASRM	: American Society for Reproductive Endometriosis
BMP-2	: Bone Morphogenetic Protein-2
C3	: Complement 3
CCAAT	: Cytosine-Cytosine-Adenosine-Adenosine-Thymidine
CCD	: Charge-coupled Device
CDX2	: Caudal-type homeobox transcription factor 2
CLOCK	: Circadian Locomotor Output Cycles Kaput
COUP	: Chicken Ovalbumin Upstream Promoter
COX-2	: Cyclooxygenase-2
CpG	: C-phosphate-G
CSR1	: Cellular Stress Response 1
CT-Scan	: Computed Tomography Scan
CYP19	: Cytochrome P450 19
DIE	: Deep Infiltrative Endometriosis
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
DNA-PK	: DNA-dependent protein kinase
DNMT	: DNA Methyltransferases
DNMT3a	: DNA (cytosine-5)-Methyltransferase 3A
dATP	: Deoxyadenosine Triphosphate
dATP $\alpha$ S	: Deoxyadenosine Alpha-thio Triphosphate
dNTP	: Deoxynucleoside Triphosphate

DUSP2	: Dual Specificity Phosphatase
EGF	: Epidermal Growth Factor
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor
ER $\alpha$	: Estrogen Receptor alpha
ErB	: Erythroblastic oncogene B
ERK	: Extracellular signal-Regulated Kinases
ESR2	: Estrogen Receptor 2
FOXO	: forkhead box transcription factors
FKUI	: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
GSTP1	: Glutathione S-Transferase P1
GTP	: Guanosine Triphosphate
H3	: Histone 3
H4	: Histone 4
HATs	: Histone Acetyltransferases
HDACs	: Histone Deacetylases
HDAC1	: Histone Deacetylases 1
HDAC2	: Histone Deacetylases 2
HDMTs	: Histone Methyltransferases
HER	: Human Epidermal growth factor Receptor
HOXA10	: Homeobox protein HOX cluster A
IFN- $\gamma$	: Interferon gamma
IgA	: Immunoglobulin A
IgG	: Immunoglobulin G
IgM	: Immunoglobulin M
IL-6	: Interleukin 6
iNOS	: Inducible Nitric Oxide
IRS	: Insulin Receptor Substrate
JAK	: Janus Kinase
kDa	: Kilodalton
LINE-1	: Long Interspersed Nuclear Element-1
MAGE-1	: Melanoma-associated antigen 1

MEK/MAPK : Mitogen-activated protein kinase Kinase  
MAPKK : Mitogen Activated Protein Kinase Kinase  
MAPKKK : Mitogen Activated Protein Kinase Kinase Kinase  
miRNA : microRNA  
miR16 : microRNA 16  
miR20a : microRNA 20a  
miR21 : microRNA 21  
miR23a : microRNA 23a  
miR23b : microRNA 23b  
miR146a : microRNA 146a  
miR148a : microRNA 148a  
miR222 : microRNA 222  
miR302a : microRNA 302a  
MRI : Magnetic Resonance Imaging  
MT-CO2 : Mitochondrially encoded cytochrome C Oxidase II  
mTOR : Mammalian Target Of Rapamycin  
mTORC1 : Mammalian target of rapamycin complex 1  
NAS : Normative Aging Study  
NK : Natural Killer  
NSCLC : Non Small Cell Lung Cancer  
P15 : Protein 15  
p16 : Protein 16  
p21 : Protein 21  
p53 : Protein 53  
PAH : Polycyclic Aromatic Hydrocarbon  
PDK1 : Phosphoinositide-dependent protein kinase 1  
PGE2 : Prostaglandin E2  
PGR : Progesterone Receptor Gene  
PI3K : Phosphatidylinositol-3-kinase  
PIP2 : Phosphatidylinositol (3,4)-biphosphatase  
PIP3 : Phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphatase

PKB	: Protein Kinase B
PLC- $\gamma$	: Phospholipase C-gamma
PM	: Particular Matter
PM10	: Particulate Matter 10 micrometers
PPi	: Pyrophosphate
qPCR	: Quantitative Polymerase Chain Reaction
qRT-PCR	: Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction
Raf	: Rapidly accelerated fibrosarcoma
Ras	: Rat sarcoma
ROS	: Reactive Oxygen Species
RPS6	: Ribosome Protein S6
rRNA	: Ribosomal RNA
RS	: Rumah Sakit
RSCM	: Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo
RSMH	: Rumah Sakit Mohammad Hoesin
RSUPN	: Rumah Sakit Umum Pusat Nasional
RTK	: Receptor Tirosin Kinase
S473	: serine 473
SAH	: S-Adenosylhomocysteine
SAM	: S-Adenosylmethionine
SF1	: Steroidogenic Factor 1
siRNA	: Short Interfering RNA
snRNA	: Small Nuclear RNA
SSR	: Simple Sequence Repeats
STAT3	: Signal Transducer and Activator of Transcription 3
StAR	: Steroidogenic Acute Regulatory protein
T308	: threonine 308
TF	: Transcription Factor
TGF- $\alpha$	: Transforming Growth Factor-alpha
TNF- $\alpha$	: Tumor Necrosis Factor-alpha
tRNA	: Transfer RNA

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Endometriosis adalah kondisi medis yang ditandai dengan proliferasi sel endometrium di lokasi selain rongga uterus. Sel-sel endometrium yang melapisi rongga uterus sangat dipengaruhi oleh hormon wanita. Pada kondisi fisiologis, sel-sel endometrium ini akan mengalami hiperplasia selama siklus menstruasi sebagai persiapan untuk implantasi hasil fertilisasi oosit oleh spermatozoa. Namun, apabila oosit tidak mengalami fertilisasi, endometrium yang mengalami hiperplasia akan mengalami deskuamasi dan dikeluarkan sebagai menstruasi.<sup>1</sup>

Pada kondisi endometriosis, sel endometrium yang seharusnya berada di rongga uterus berpindah dan tumbuh di lokasi ekstrauterin, seperti ovarium, tuba fallopi, retroperitoneum, ligamentum uteri, hingga bisa mencapai usus dan kandung kemih. Selama siklus menstruasi, sel-sel endometrium yang telah berpindah ini akan mengalami deskuamasi, menyebabkan nyeri panggul. Perdarahan akibat lesi endometriosis dapat merangsang pertumbuhan jaringan di dalam rongga pelvis, memicu adhesi dengan jaringan sekitarnya, yang pada akhirnya dapat mengganggu motilitas tuba, menimbulkan dispareunia, dan meningkatkan risiko infertilitas.<sup>1,2</sup>

Endometriosis umumnya terjadi pada periode usia reproduktif. Angka prevalensinya mencapai 5-10% pada wanita secara umum, dan lebih dari 50% ditemukan pada wanita yang berada di periode perimenopause.<sup>3,4,5</sup> Santamera dkk tahun 2021 melaporkan bahwa prevalensi endometriosis diperkirakan sekitar 1-5% dari seluruh populasi dan angka kejadian endometriosis yaitu antara 1,4 dan 3,5 per seribu per tahun.<sup>6</sup> Berdasarkan laporan rekam medis RS Dr. Mohammad Hoesin Palembang pada tahun 2018 sampai dengan 2020 dilaporkan terdapat 105 kasus endometriosis pada wanita yang berusia antara 15 hingga 49 tahun yang ditegakkan berdasarkan tindakan operatif maupun laparoskopi.<sup>7</sup>

Gejala endometriosis sangat dipengaruhi oleh lokasi sel-sel endometrium. Keluhan utama yang sering ditemui adalah nyeri panggul, yang menyebabkan 71-



87% kasus didiagnosis akibat nyeri kronis yang parah selama menstruasi, sementara hanya 38% yang terdiagnosis karena keluhan infertilitas. Selain itu, sekitar 10% kasus endometriosis dapat ditemukan pada individu yang memiliki riwayat keluarga dengan endometriosis.<sup>8</sup>

Hingga saat ini, penyebab pasti endometriosis belum dapat dipastikan. Beberapa faktor, seperti hormon, neurologi, imunologi, genetik, dan epigenetik, dianggap berperan sebagai faktor risiko terjadinya penyakit ini.<sup>3</sup> Faktor epigenetik telah dibuktikan merupakan salah satu patogenesis dari endometriosis.<sup>9</sup> Pengaruh epigenetik akan mengakibatkan perubahan konformasi kromatin dan aksesibilitas DNA ke modulornya di promotor suatu gen yang dapat mengganggu proses transkripsi suatu gen.<sup>10</sup> Di antara beberapa regulasi epigenetik yang mengakibatkan endometriosis adalah metilasi DNA.

Metilasi DNA adalah mekanisme epigenetik yang ditandai dengan adanya penambahan gugus metil pada rantai karbon basa sitosin 5' yang terletak di pulau CpG (*CpG island*) di regio promotor suatu gen.<sup>10</sup> Metilasi DNA dapat berupa hipometilasi maupun hipermetilasi promotor suatu gen. Hipometilasi merupakan kondisi menurunnya tingkat metilasi pulau CpG di daerah promotor gen sehingga terjadi peningkatan ekspresi gen tertentu. Sebaliknya, ketika terjadi hipermetilasi maka metilasi pulau CpG pada promotor gen akan mengalami peningkatan yang akan menyebabkan pembungkaman gen dan inaktivasi proses transkripsi.<sup>11</sup>

Pada endometriosis, diduga pengaruh metilasi dalam bentuk penambahan gugus metil tersebut berdampak pada perubahan ekspresi gen sehingga mempengaruhi fungsionalitas sel endometrium.<sup>12</sup> Metilasi DNA pada endometrium terjadi secara dinamis sepanjang siklus menstruasi dan diduga berperan dalam patogenesis kelainan endometrium.<sup>13,14</sup>

Penelitian yang telah dilakukan oleh Ping dkk., pada tahun 2016 dengan metode microarray pada jaringan endometrium penderita endometriosis mengidentifikasi 2.255 gen yang menunjukkan peningkatan ekspresi, sementara 408 gen lainnya menunjukkan penurunan ekspresi.<sup>15</sup> Salah satu gen yang mengalami peningkatan ekspresi adalah Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR).

EGFR adalah proto-onkogen yang terletak pada kromosom 7p12, yang mengkode protein dengan berat 170 kDa. Protein ini termasuk dalam kelompok reseptor tirosin kinase yang berperan dalam proses proliferasi sel, pembelahan sel, perkembangan sel, dan apoptosis.<sup>16</sup> Pada kondisi normal, ekspresi EGFR cenderung rendah pada endometrium dan berfungsi mengatur proliferasi serta diferensiasi sel-sel epidermis.<sup>17</sup> Namun, ketika ekspresi EGFR meningkat secara berlebihan, hal ini dapat menyebabkan gangguan dalam proses pensinyalan, yang pada akhirnya mendorong proliferasi sel yang berlebihan dan memicu terbentuknya tumor.<sup>18-20</sup>

Penelitian klinis yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekspresi EGFR meningkat secara berlebihan pada karsinoma endometrium.<sup>17</sup> Selain itu, terbukti bahwa pada tumor endometrium, EGFR juga menunjukkan peningkatan ekspresi.<sup>21</sup> Penelitian yang dilakukan pada tahun 2019 di FKUI juga menunjukkan adanya peningkatan ekspresi gen EGFR pada jaringan peritoneum pasien endometriosis.<sup>22</sup> Ekspresi EGFR yang meningkat akan meningkatkan agresivitas perkembangan tumor dan kanker sehingga prognosisnya menjadi semakin buruk.<sup>17</sup>

Diagnosis endometriosis seringkali tertunda, karena keluhan seperti nyeri panggul dan infertilitas juga didapatkan pada penyakit ginekologi lainnya. Selain itu, diagnosis dengan cara invasif seperti laparoskopi, faktor sosial ekonomi seringkali menyebabkan lambatnya penyakit ini terdiagnosis. Pada tahun 2016, DeFranco dan Metz mulai mengembangkan metode diagnosis endometriosis melalui darah menstruasi. Penelitian ini didasari teori terdapatnya perbedaan signifikan pada sel-sel yang berasal dari darah menstruasi penderita endometriosis dibandingkan dengan darah menstruasi biasa, yaitu adanya sel stroma yang sangat agresif pada pasien endometriosis. Dengan demikian, kemungkinan perbedaan tingkat metilasi dan status metilasi DNA pada pasien endometriosis sangat memungkinkan untuk dianalisis dari darah menstruasi yang mengandung DNA.

Pemanfaatan darah menstruasi sebagai sampel DNA dapat dilakukan sebagai studi awal pengembangan marker atau penanda diagnostik non invasif. Adanya peran ekspresi EGFR yang berlebihan pada karsinoma endometrium dan lesi hipertrofi lainnya, maka diprediksi metilasi EGFR juga berperan pada endometriosis. Hingga saat ini, belum diketahui bagaimana tingkat dan status

metilasi DNA pada promotor gen EGFR dalam darah menstruasi terkait dengan kejadian endometriosis. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis status serta tingkat metilasi DNA promotor gen EGFR guna memahami patofisiologi dan mendukung metode diagnosis dini yang non-invasif pada endometriosis.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Endometriosis adalah suatu kondisi patologis pada wanita yang ditandai dengan implantasi sel endometrium di luar rongga uterus. Sel-sel ini dapat mengalami pertumbuhan dan migrasi ke ovarium, tuba falopii, retroperitoneum, ligamentum uteri, bahkan hingga ke usus dan vesika urinaria yang menyebabkan gejala klinis siklik yang berterkaitan dengan siklus menstruasi. Gen EGFR diketahui merupakan proto-onkogen berperan dalam proliferasi sel, pembelahan dan perkembangan sel, apoptosis.<sup>16</sup> Pada kondisi normal, ekspresi EGFR cenderung rendah pada endometrium dan berfungsi mengatur proliferasi serta diferensiasi sel-sel epidermis.<sup>17</sup> Namun, ketika ekspresi EGFR meningkat secara berlebihan, hal ini dapat menyebabkan gangguan dalam proses pensinyalan, yang pada akhirnya mendorong proliferasi sel yang berlebihan dan memicu terbentuknya tumor.<sup>18-20</sup>

Pemanfaatan darah menstruasi sebagai sampel DNA dapat dilakukan sebagai upaya awal penegakan diagnostik non invasif. Adanya peran ekspresi EGFR yang berlebihan pada karsinoma endometrium dan lesi hipertrofi lainnya, maka diprediksi metilasi EGFR juga berperan pada endometriosis. Dengan demikian, apakah terdapat hubungan antara status dan tingkat metilasi DNA promotor gen EGFR dengan kejadian endometriosis?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Menganalisis hubungan antara status serta tingkat metilasi DNA promotor gen EGFR dengan endometriosis dari darah menstruasi.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengidentifikasi status metilasi DNA promotor gen EGFR pada sampel darah menstruasi pasien endometriosis.
2. Mengidentifikasi status metilasi DNA promotor gen EGFR pada sampel darah menstruasi wanita non endometriosis.
3. Mengidentifikasi tingkat metilasi DNA promotor gen EGFR pada sampel darah menstruasi pasien endometriosis.
4. Mengidentifikasi tingkat metilasi DNA promotor gen EGFR pada sampel darah menstruasi wanita non endometriosis.
5. Menganalisis hubungan antara status metilasi DNA promotor gen EGFR dengan kejadian endometriosis.
6. Menganalisis hubungan antara tingkat metilasi DNA promotor gen EGFR dengan kejadian endometriosis.

### **1.4 Hipotesis**

1. Terdapat hubungan antara status metilasi DNA promotor gen EGFR dengan kejadian endometriosis.
2. Terdapat hubungan antara tingkat metilasi DNA promotor gen EGFR dengan kejadian endometriosis.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Penelitian diharapkan dapat memperkaya perkembangan ilmu pengetahuan terutama pemahaman mengenai etiologi dan patogenesis endometriosis. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bukti berbasis data (*evidence-based*) mengenai peran metilasi DNA gen EGFR sebagai indikator awal untuk diagnosis endometriosis yang lebih dini pada wanita dengan keluhan disminore dan infertilitas, sehingga diharapkan dapat membantu dan memprediksi prognostis serta strategi terapeutik pada endometriosis di masa depan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Speroff Laurence, Mark Fritz. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
2. G.D Reid. *Endometriosis and infertility*. 2005;1:1–5.
3. Saunders PTK, Horne AW. *Endometriosis: Etiology, pathobiology, and therapeutic prospects*. Vol. 184, *Cell*. Elsevier B.V.; 2021. p. 2807–24.
4. Marinho MCP, Magalhaes TF, Fernandes LFC, Augusto KL, Brillhante AVM, Bezerra LRPS. *Quality of Life in Women with Endometriosis: An Integrative Review*. Vol. 27, *Journal of Women’s Health*. Mary Ann Liebert Inc.; 2018. p. 399–408.
5. Eisenberg VH, Weil C, Chodick G, Shalev V. *Epidemiology of endometriosis: a large population-based database study from a healthcare provider with 2 million members*. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. Blackwell Publishing Ltd; 2017.
6. Sarria-Santamera A, Orazumbekova B, Terzic M, Issanov A, Chaowen C, Asúnsolo-Del-barco A. *Systematic review and meta-analysis of incidence and prevalence of endometriosis*. Vol. 9, *Healthcare (Switzerland)*. MDPI AG; 2021.
7. Leriva RT, Iskandar Zulqarnain, Hadrians Kesuma Putra, Awan Nurtjahyo, Syifa Alkaf. *Characteristics of Endometriosis Patients in Dr. Mohammad Hoesin General Hospital on 2018 to 2020*. *Bioscientia Medicina : Journal of Biomedicine and Translational Research*. 2022 Feb 4;6(4):1592–7.
8. D.W. Cramer, S.A. Missmer. *The epidemiology of endometriosis*. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;955:11–22.
9. Ocktariyana O. *Analysis of mRNA expression and DNA methylation level of RAC1 gene encoding focal adhesion molecule in endometrial end peritoneal endometriosis*. 2020.
10. Hsiao KY, Wu MH, Tsai SJ. *Epigenetic regulation of the pathological process in endometriosis*. Vol. 16, *Reproductive Medicine and Biology*. John Wiley and Sons Ltd; 2017. p. 314–9.
11. Grimstad FW, Decherney A. *A Review of the Epigenetic Contributions to Endometriosis* [Internet]. 2017. Available from: [www.clinicalobgyn.com](http://www.clinicalobgyn.com)
12. Xue Q, Lin Z, Cheng YH, Huang CC, Marsh E, Yin P, et al. *Promoter methylation regulates estrogen receptor 2 in human endometrium and endometriosis*. *Biol Reprod*. 2007 Oct;77(4):681–7.
13. Kukushkina V, Modhukur V, Suhorutšenko M, Peters M, Mägi R, Rahmioglu N, et al. *DNA methylation changes in endometrium and*

correlation with gene expression during the transition from pre-receptive to receptive phase. *Sci Rep*. 2017 Dec 1;7(1).

14. Koukoura O, Sifakis S, Spandidos DA. DNA methylation in endometriosis (Review). Vol. 13, *Molecular Medicine Reports*. Spandidos Publications; 2016. p. 2939–48.
15. Ping S, Ma C, Liu P, Yang L, Yang X, Wu Q, et al. Molecular mechanisms underlying endometriosis pathogenesis revealed by bioinformatics analysis of microarray data. *Arch Gynecol Obstet*. 2016 Apr 1;293(4):797–804.
16. Sabbah DA, Hajjo R, Sweidan K. Review on Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Structure, Signaling Pathways, Interactions, and Recent Updates of EGFR Inhibitors. *Curr Top Med Chem*. 2020 Mar 3;20(10):815–34.
17. Xu Y, Tong J, Ai Z, Wang J, Teng Y. Epidermal growth factor receptor signaling pathway involved in progesterin-resistance of human endometrial carcinoma: In a mouse model. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2012 Dec;38(12):1358–66.
18. Montero AJ, Díaz-Montero CM, Mao L, Youssef EM, Estecio M, Shen L, et al. Epigenetic inactivation of EGFR by CpG island hypermethylation in cancer. *Cancer Biol Ther*. 2006;5(11):1494–501.
19. Nicholson RI, Gee JMW, Harper ME. EGFR and cancer prognosis [Internet]. Available from: [www.ejconline.com](http://www.ejconline.com)
20. Akca H, Tani M, Hishida T, Matsumoto S, Yokota J. Activation of the AKT and STAT3 pathways and prolonged survival by a mutant EGFR in human lung cancer cells. *Lung Cancer*. 2006;54(1):25–33.
21. Konecny GE, Santos L, Winterhoff B, Hatmal M, Keeney GL, Mariani A, et al. HER2 gene amplification and EGFR expression in a large cohort of surgically staged patients with nonendometrioid (type II) endometrial cancer. *Br J Cancer*. 2009 Jan 13;100(1):89–95.
22. Zahrah A. Analisis Metilasi DNA dan Korelasinya dengan Ekspresi mRNA Epidermal Growth Factor Receptor dan Matrix Metalloproteinase 2 Pengkode Protein Pengatur Sitoskeleton pada Jaringan Endometriosis Peritoneum. 2019.
23. Himpunan Endokrinologi Reproduksi dan Fertilitas Indonesia (HIFERI) Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia (POGI). KONSENSUS TATA LAKSANA NYERI ENDOMETRIOSIS Revisi Pertama 2017. In.
24. Giudice LC. clinical practice Endometriosis. Vol. 362, *N Engl J Med*. 2010.
25. Lasmar RB, Lasmar BP, Pillar C. Diagram to map the locations of endometriosis. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 2012;118(1):42–6.

26. Ballard KD, Seaman HE, De Vries CS, Wright JT. Can symptomatology help in the diagnosis of endometriosis? Findings from a national case-control study - Part 1. *BJOG*. 2008 Oct;115(11):1382–91.
27. Abbas S, Ihle P, Köster I, Schubert I. Prevalence and incidence of diagnosed endometriosis and risk of endometriosis in patients with endometriosis-related symptoms: Findings from a statutory health insurance-based cohort in Germany. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2012;160(1):79–83.
28. Gylfason JT, Kristjansson KA, Sverrisdottir G, Jonsdottir K, Rafnsson V, Geirsson RT. Pelvic endometriosis diagnosed in an entire nation over 20 years. *Am J Epidemiol*. 2010 Aug 1;172(3):237–43.
29. Morassutto C, Monasta L, Ricci G, Barbone F, Ronfani L. Incidence and estimated prevalence of endometriosis and adenomyosis in Northeast Italy: A data linkage study. *PLoS One*. 2016 Apr 1;11(4).
30. Eggert J, Li X, Sundquist K. Country of birth and hospitalization for pelvic inflammatory disease, ectopic pregnancy, endometriosis, and infertility: a nationwide study of 2 million women in Sweden. *Fertil Steril*. 2008 Oct;90(4):1019–25.
31. Coxon L, Horne AW, Vincent K. Pathophysiology of endometriosis-associated pain: A review of pelvic and central nervous system mechanisms. Vol. 51, *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*. Bailliere Tindall Ltd; 2018. p. 53–67.
32. Hestiantoro A, Sumparadja K, Wiweko B, Pratama G, Harzif A. *Best Practice on Imperial*. 2012.
33. Macer ML, Taylor HS. Endometriosis and Infertility. A Review of the Pathogenesis and Treatment of Endometriosis-associated Infertility. Vol. 39, *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 2012. p. 535–49.
34. Sourial S, Tempest N, Hapangama DK. Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. *Int J Reprod Med*. 2014;2014:1–9.
35. Hoffman L, Schorage J, Schaffer J, Halvorson L, Bradshaw K, Cunningham F. *Williams Gynecology*. 2nd Edition. New York: McGraw-Hill Companies; 2012.
36. Agarwal N, Subramanian A. Endometriosis - Morphology, clinical presentations and molecular pathology. *J Lab Physicians*. 2010 Jan;2(01):001–9.
37. Suparman Bagian E, Obstetri S, Fakultas G, Universitas K, Ratulangi S, Kandou RD. *PENATALAKSANAAN ENDOMETRIOSIS*.
38. Parazzani F, Vercellini P, Pelucchi C. Endometriosis: Epidemiology, and Etiological Factors. 2012;19–26.

39. Hsu AL, Stratton P. Invasive and Noninvasive Methods for the Diagnosis of Endometriosis [Internet]. Available from: [www.clinicalobgyn.com](http://www.clinicalobgyn.com)
40. Tollefsbol TO. An Overview of Medical Epigenetics. In: Medical Epigenetics. Elsevier Inc.; 2016. p. 3–7.
41. Kokcu A. A current view of the role of epigenetic changes in the aetiopathogenesis of endometriosis. Vol. 36, Journal of Obstetrics and Gynaecology. Taylor and Francis Ltd; 2016. p. 153–9.
42. Monteiro JB, Colón-Díaz M, García M, Gutierrez S, Colón M, Seto E, et al. Endometriosis is characterized by a distinct pattern of histone 3 and histone 4 lysine modifications. *Reproductive Sciences*. 2014 Mar;21(3):305–18.
43. Alegría-Torres JA, Baccarelli A, Bollati V. Epigenetics and lifestyle. Vol. 3, Epigenomics. 2011. p. 267–77.
44. Chen J, Xu X. Diet, Epigenetic, and Cancer Prevention. *Epigenetics and Cancer, Part B*. 2010;71:237–55.
45. Druesne N, Pagniez A, Mayeur C, Thomas M, Cherbuy C, Duée PH, et al. Diallyl disulfide (DADS) increases histone acetylation and p21waf1/cip1 expression in human colon tumor cell lines. Vol. 25, *Carcinogenesis*. 2004. p. 1227–36.
46. Link A, Balaguer F, Goel A. Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. Vol. 80, *Biochemical Pharmacology*. 2010. p. 1771–92.
47. Qin W, Zhu W, Shi H, Hewett JE, Ruhlen RL, MacDonald RS, et al. Soy isoflavones have an antiestrogenic effect and alter mammary promoter hypermethylation in healthy premenopausal women. *Nutr Cancer*. 2009 Mar;61(2):238–44.
48. Gibney ER, Nolan CM. Epigenetics and gene expression. Vol. 105, *Heredity*. 2010. p. 4–13.
49. Xiang N, Zhao R, Song G, Zhong W. Selenite reactivates silenced genes by modifying DNA methylation and histones in prostate cancer cells. *Carcinogenesis*. 2008;29(11):2175–81.
50. Andersson KL, Bussani C, Fambrini M, Polverino V, Taddei GL, Gemzell-Danielsson K, et al. DNA methylation of HOXA10 in eutopic and ectopic endometrium. *Human Reproduction*. 2014;29(9):1906–11.
51. Xue Q, Lin Z, Cheng YH, Huang CC, Marsh E, Yin P, et al. Promoter methylation regulates estrogen receptor 2 in human endometrium and endometriosis. *Biol Reprod*. 2007 Oct;77(4):681–7.
52. Lomba A, Milagro FI, García-Díaz DF, Marti A, Campión J, Martínez A. Obesity induced by a pair-fed high fat sucrose diet: methylation and



- expression pattern of genes related to energy homeostasis [Internet]. 2010. Available from: <http://www.lipidworld.com/content/9/1/60>
53. Zhang FF, Cardarelli R, Carroll J, Zhang S, Fulda KG, Gonzalez K, et al. Physical activity and global genomic DNA methylation in a cancer-free population. *Epigenetics*. 2011;6(3):293–9.
  54. Baccarelli A, Wright R, Bollati V, Litonjua A, Zanobetti A, Tarantini L, et al. Ischemic heart disease and stroke in relation to blood DNA methylation. *Epidemiology*. 2010 Nov;21(6):819–28.
  55. Woodson K, Mason J, Choi SW, Hartman T, Tangrea J, Virtamo J, et al. Hypomethylation of p53 in Peripheral Blood DNA Is Associated with the Development of Lung Cancer [Internet]. Available from: <http://aacrjournals.org/cebp/article-pdf/10/1/69/3257414/ce010100069p.pdf>
  56. Maccani MA, Avissar-Whiting M, Banister CE, McGonnigal B, Padbury JF, Marsit CJ. Maternal cigarette smoking during pregnancy is associated with downregulation of miR-16, miR-21 and miR-146a in the placenta. *Epigenetics*. 2010;5(7):583–9.
  57. Irigaray P, Newby JA, Clapp R, Hardell L, Howard V, Montagnier L, et al. Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: An overview. Vol. 61, *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2007. p. 640–58.
  58. Hou L, Wang H, Sartori S, Gawron A, Lissowska J, Bollati V, et al. Blood leukocyte DNA hypomethylation and gastric cancer risk in a high-risk Polish population. *Int J Cancer*. 2010 Oct 15;127(8):1866–74.
  59. Kokcu A. A current view of the role of epigenetic changes in the aetiopathogenesis of endometriosis. Vol. 36, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. Taylor and Francis Ltd; 2016. p. 153–9.
  60. S.W. Choi, J.B. Mason. Folates and one-carbon metabolism in health and disease. *Journal of Nutrition*. 2010;140(10):1911S-1917S.
  61. T. Klengel, et al. Allele-specific DNA methylation mediates the effect of early-life stress on risk for depression . *Nat Neurosci*. 2013;16(1).
  62. M. L. Zygmunt, J. Iqbal. The role of DNA methylation in cancer . *Cancer Res*. 2020;80(8):1613–25.
  63. Xue Q, Lin Z, Yin P, Milad MP, Cheng YH, Confino E, et al. Transcriptional activation of steroidogenic factor-1 by hypomethylation of the 5' CpG island in endometriosis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2007;92(8):3261–7.
  64. Wu Y, Strawn E, Basir Z, Halverson G, Guo SW. Promoter hypermethylation of progesterone receptor isoform B (PR-B) in endometriosis. *Epigenetics*. 2006;1(2):106–11.

65. Zidan HE, Rezk NA, Alnemr AAA, Abd el Ghany AM. COX-2 gene promoter DNA methylation status in eutopic and ectopic endometrium of Egyptian women with endometriosis. *J Reprod Immunol*. 2015 Nov 1;112:63–7.
66. Darmawi. Derajat Metilasi DNA dan Tingkat Ekspresi mRNA Gen Reseptor Progesteron B (PR-B) pada Jaringan Endometriosis Peritoneum, Endometrioma, Endometrium dan Darah Menstruasi Pasien Endometriosis. 2018.
67. Mu P, Zhou J, Ma X, Zhang G, Li Y. Expression, regulation and function of MicroRNAs in endometriosis. Vol. 71, *Pharmazie*. Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag GmbH; 2016. p. 434–8.
68. Kalyankrishna S, Grandis JR. Epidermal growth factor receptor biology in head and neck cancer. Vol. 24, *Journal of Clinical Oncology*. 2006. p. 2666–72.
69. Xu Y, Tong J, Ai Z, Wang J, Teng Y. Epidermal growth factor receptor signaling pathway involved in progestin-resistance of human endometrial carcinoma: In a mouse model. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2012 Dec;38(12):1358–66.
70. Psyrris A, Kassar M, Yu Z, Bamias A, Weinberger PM, Markakis S, et al. Effect of epidermal growth factor receptor expression level on survival in patients with epithelial ovarian cancer. *Clinical Cancer Research*. 2005 Dec 15;11(24):8637–43.
71. Weng X, Zhang H, Ye J, Kan M, Liu F, Wang T, et al. Hypermethylated epidermal growth factor receptor (EGFR) promoter is associated with gastric cancer. *Sci Rep*. 2015 May 11;5.
72. Chong CR, Jänne PA. The quest to overcome resistance to EGFR-targeted therapies in cancer. Vol. 19, *Nature Medicine*. 2013. p. 1389–400.
73. Papini F, Sundaresan J, Leonetti A, Tiseo M, Rolfo C, Peters GJ, et al. Hype or hope – Can combination therapies with third-generation EGFR-TKIs help overcome acquired resistance and improve outcomes in EGFR-mutant advanced/metastatic NSCLC? Vol. 166, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. Elsevier Ireland Ltd; 2021.
74. Morrison DK. MAP kinase pathways. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012 Nov;4(11).
75. Hemmings BA, Restuccia DF. PI3K-PKB/Akt pathway. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012 Sep;4(9).
76. Masahiro Sasaki, Jason Anast, William Bassett, Toshifumi Kawakami, Noriaki Sakuragi, Rajvir Dahiya. Bisulfite conversion-specific and methylation-specific PCR: a sensitive technique for accurate evaluation of CpG methylation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;309:305–9.

77. Colin Delaney, Sanjay K. Garg, Raymond Yung. Analysis of DNA Methylation by Pyrosequencing. *Methods in Molecular Biology*. 2015;1343:249–64.
78. Gupta S, Harlev A. *Endometriosis: A Comprehensive Update*. New York: Springer; 2015.
79. Chan R, Ng E, Yeung W. Identification of cells with colony-forming activity, self-renewal capacity, and multipotency in ovarian endometriosis. *Am J Pathol*. 2011;178:2832–44.
80. Tang L, Xiang Y, Zhou Y, Mu J, Zai M, Xing Q. The DNA methylation status of genes encoding Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of Matrix metalloproteinases in endometriosis. *Mol Reprod Dev*. 2018;85:17–25.
81. Olivia R. *Medical Epigenetic*. Elsevier Inc.; 2016. 375–390 p.
82. Baldi A, Campioni M, Signorile PG. Endometriosis: Pathogenesis, diagnosis, therapy and association with cancer (Review). *Oncol Rep*. 2008;19:843–6.
83. Xin L, Hou Q, Xiong Q, Ding X. Association between matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 polymorphisms and endometriosis: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Reports*. 2015;3:559–65.
84. Albitar L, Pickett G, Morgan M, Wilken JA, Maihle NJ, Leslie KK. EGFR isoforms and gene regulation in human endometrial cancer cells. 2010;1–13.
85. Montero AJ, Díaz-Montero CM, Mao L, Youssef EM, Estecio M, Shen L, et al. Epigenetic inactivation of EGFR by CpG island hypermethylation in cancer. *Cancer Biol Ther*. 2006;5(11):1494–501.
86. Chrysanthia A. Leontiou, Michael D. Hadjidaniel, Petros Mina, Pavlos Antoniou, Marios Ioannides, Philippos C. Patsalis. Bisulfite Conversion of DNA: Performance Comparison of Different Kits and Methylation Quantitation of Epigenetic Biomarkers that Have the Potential to Be Used in Non-Invasive Prenatal Testing. *PLoS One*. 2015;1–22.
87. Sae Rom Hong, Kyoung-Jin Shin. Bisulfite-Converted DNA Quantity Evaluation: A Multiplex Quantitative Real-Time PCR System for Evaluation of Bisulfite Conversion. *Front Genet*. 2021;12.
88. Yun Huang, William A. Pastor, Yinghua Shen, Mamta Tahiliani, David R. Liu, Anjana Rao. The Behaviour of 5-Hydroxymethylcytosine in Bisulfite Sequencing. *PLoS One*. 2010;5:1–9.
89. Akalin A., Kormaksson M., Li S., Garrett-Bakelman F.E., Figueroa M.E., Melnick A., et al. MethyKit: A comprehensive R package for the analysis of genome-wide DNA methylation profiles. *Genome Biol*. 2012;13:R87.

90. Nguyen N., Redfield J., Ballo M., Michael M., Sorenson J., Dibaba D., et al. Identifying the optimal cutoff point for MGMT promoter methylation status in glioblastoma. *CNS Oncol.* 2021;10.
91. Roos-Araujo D, Stuart S, Lea RA, Haupt LM, Griffiths LR. Epigenetics and migraine complex mitochondrial interactions contributing to disease susceptibility. Vol. 543, *Gene*. Elsevier; 2014. p. 1–7.
92. Zahrah A. Analysis of DNA methylation and its correlation with mRNA expression of epidermal growth factor receptor encoding for cytoskeleton regulating protein in peritoneal endometriosis tissue. *Institute of Physics*. 2020;
93. Harrison DA. The JAK/STAT pathway. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012 Mar;4(3).