

Pengaruh Fraksi Etil Asetat Daun *Persea americana* Mill Terhadap Folikulogenesis Ovarium *Rattus norvegicus*

Dwi Retno Wati

Program Studi Sarjana Kebidanan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Husada Jombang, Jombang, Indonesia;
dwiretno485@gmail.com (koresponden)dwiretno485@gmail.com

Hany Puspita Aryani

Program Studi Sarjana Kebidanan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Husada Jombang, Jombang, Indonesia;
hanypuspita99@yahoo.co.id

Elly Rustanti

Program Studi Sarjana Kebidanan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Husada Jombang, Jombang, Indonesia;
eilrose1211.er@gmail.com

ABSTRACT

Polycystic ovary syndrome is an endocrine-metabolic disorder that has serious consequences for women's health, including causing infertility. Insulin resistance is the most common metabolic disorder. Avocado leaves contain quercetin compounds that have strong bioactive elements with free radical scavenging, anti-inflammatory, anticancer, antihyperlipidemic, and antiplatelet effects, so this may increase the number of follicles in female rats with polycystic ovary syndrome models. The purpose of this study was to determine the effect of ethyl acetate fraction of Persea americana Mill leaves on increasing folliculogenesis in the experimental model Rattus norvegicus. The study used 100-200 gram Wistar strain white rats (Rattus norvegicus) divided into four groups, namely negative control, positive control (polycystic ovary syndrome), polycystic ovary syndrome given avocado leaf extract 500 mg/kgBW and 800 mg/kgBW. The polycystic ovary syndrome model was created by injecting testosterone propionate for 14 days, after which treatment was continued for 14 days. Next, an analysis of the number of follicles in the ovaries of the mice was performed. The results showed that the negative control group showed a significant decrease in the number of follicles compared to the positive control group ($p < 0.05$). The avocado leaf extract group showed a significant increase in the number of follicles compared to the positive control group ($p < 0.05$). This study concluded that avocado leaf extract increased the number of follicles in female mice with a model of polycystic ovary syndrome.

Keywords: polycystic ovary syndrome; *Persea americana* Mill leaves; folliculogenesis

ABSTRAK

Sindroma ovarium polikistik adalah gangguan endokrin-metabolik yang memberi konsekuensi berat untuk kesehatan wanita, termasuk paling banyak menyebabkan infertilitas. Resistensi insulin merupakan kelainan metabolik yang paling umum. Daun alpukat mengandung senyawa kuersetin yang mempunyai unsur bioaktif kuat dengan efek radikal bebas, antiinflamasi, antikanker, antihiperlipidemia, dan antiplatelet, sehingga hal ini memungkinkan dapat meningkatkan jumlah folikel pada tikus betina model sindroma ovarium polikistik. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh fraksi etil asetat daun *Persea americana* Mill yang dapat meningkatkan folikulogenesis pada *Rattus norvegicus* model eksperimental. Penelitian menggunakan tikus putih strain Wistar (*Rattus norvegicus*) 100-200 gram yang dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kontrol negatif, kontrol positif (sindroma ovarium polikistik), sindroma ovarium polikistik diberi ekstrak daun alpukat 500 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB. Model sindroma ovarium polikistik dibuat dengan menginjeksi testosteron propionat selama 14 hari, setelah itu dilanjutkan pengobatan selama 14 hari. Selanjutnya dilakukan analisis jumlah folikel pada ovarium tikus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif menunjukkan penurunan jumlah folikel secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ($p < 0,05$). Kelompok ekstrak daun alpukat menunjukkan peningkatan signifikan jumlah folikel dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ($p < 0,05$). Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak daun alpukat meningkatkan jumlah folikel pada tikus betina model sindroma ovarium polikistik.

Kata kunci: sindroma ovarium polikistik; daun *Persea americana* Mill; folikulogenesis

PENDAHULUAN

Sindroma ovarium polikistik atau *polycystic ovary syndrome* (PCOS) adalah kelainan endokrin umum dengan prevalensi global 5-10% dan merupakan penyebab penting anovulasi kronis pada wanita muda. PCOS menjadi penyebab sekitar tiga perempat dari semua kasus infertilitas anovulasi.⁽¹⁾ Beberapa penelitian melaporkan adanya peningkatan prevalensi akhir-akhir ini karena pola makan yang tinggi kalori dan tinggi karbohidrat, jarang olahraga dan kecenderungan peningkatan obesitas yang selanjutnya meningkatkan resistensi insulin.⁽²⁾ Peningkatan resistensi insulin dan obesitas akan memperburuk kondisi peradangan.⁽³⁾

Resistensi insulin mengarah pada kompensasi hiperinsulinemia, meningkatkan produksi androgen di ovarium dengan meningkatkan frekuensi GnRH dan sekresi pulsasi LH. Insulin dan *Insulin-Like Growth Factor-1* (IGF-I) bertanggung jawab mengganggu ovulasi. Insulin dan IGF-1 secara tidak langsung juga dapat meningkatkan kadar androgen dengan menurunkan produksi SHBG (*Sex Hormone Binding Globulin*) di hati dan menekan sintesis IGFBP-1 (*Insulin Like Growth Factor Binding Protein-1*) secara langsung, cepat, dan lengkap baik di hati dan ovarium sehingga level IGF-I, IGF-II, dan testosteron bebas meningkat. Hal ini meningkatkan risiko jangka panjang diabetes mellitus tipe 2 dan penyakit kardiovaskular.⁽⁴⁾ Keadaan hiperinsulin pada perkembangannya dapat menimbulkan stres oksidatif, meningkatkan pembentukan produksi *Reaktif Oxygen Species* (ROS).⁽⁵⁾

Pertumbuhan dan perkembangan folikel dikontrol oleh sistem kompleks yang melibatkan sumbu hipotalamus-hipofisa ovarium. Hormon gonadotropin mempunyai peran penting dalam kontrol tersebut. Hormon gonadotropin yang terlibat dalam kontrol folikulogenesis adalah FSH dan LH. Hormon FSH berfungsi menginisiasi pertumbuhan folikel, sedangkan LH berfungsi menstimulasi pertumbuhan dan rupturnya folikel.⁽⁶⁾

Penelitian tentang patofisiologi dan penatalaksanaan PCOS masih perlu banyak dilakukan termasuk penelitian terkait penemuan obat baru. Banyak penelitian yang harus dilakukan terlebih dahulu pada hewan sebelum diujicobakan pada manusia sehingga diperlukan penelitian terkait pengembangan bahan baku obat dari alam yang berpotensi untuk terapi PCOS.⁽⁷⁾

Indonesia terkenal dengan kekayaan alam yang memiliki berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan daun yang memiliki banyak kegunaan dalam kesehatan karena mengandung zat fitokimia.⁽⁸⁾ Hasil penapisan fitokimia yang telah dilakukan Putri *et al.* menyatakan bahwa daun alpukat mengandung senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, saponin, tanin, steroid dan terpenoid, juga mengandung senyawa kuersetin.⁽⁴⁾ Kuercetin merupakan salah satu flavonoid yang mempunyai unsur bioaktif kuat dengan efek radikal bebas, antiinflamasi, antikanker, antihiperlipidemia, dan antiplatelet.⁽⁹⁻¹⁴⁾ Penelitian terbaru menunjukkan quercetin juga ditemukan memproduksi inhibitor PI3K.⁽¹⁵⁾ *Quercetin* PI3K inhibitor menurunkan ekspresi gen CYP17A1 pada sel teka yang mungkin bertanggung jawab untuk menurunkan aktivasi 17 α -hidroksilase yang berperan penting pada PCOS.⁽¹⁶⁾

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh fraksi etil asetat daun *Persea americana* Mill yang dapat akan meningkatkan folikulogenesis pada *Rattus norvegicus* model PCOS.

METODE

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan desain penelitian *post test only with control group*. Penelitian ini menggunakan *Rattus norvegicus* (tikus putih) betina galur wistar, berumur 3 bulan dengan berat badan 100-200 gram. Jumlah unit eksperimen sebanyak masing-masing 6 ekor tiap kelompok, penambahan 20% mengantisipasi resiko kegagalan dalam penelitian ini. Penentuan ukuran sampel tikus pada setiap kelompok dihitung berdasarkan rumus Lameshow. Pengambilan sampel dilakukan secara acak. Sebelumnya dilakukan penghomogenan sampel. Ada 4 kelompok sampel yaitu kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+), kelompok perlakuan (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2). Setiap kelompok terdiri atas 8 hewan coba.

Preparasi sampel dan isolasi senyawa kuersetin dilakukan dengan cara mencuci daun alpukat dengan air mengalir dan dikeringanginkan kemudian dihaluskan dengan blender. Sampel daun alpukat yang telah dipreparasi sebanyak 50 kg ditambah 50 L etanol 95% dan didiamkan dalam bejana tertutup selama 24 jam. Maserasi dilakukan tiga kali ulangan agar ekstraksi berlangsung sempurna. Hasil maserasi berupa ekstrak etanol daun alpukat, kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak dihidrolisis dengan asam klorida dan dinetralkan dengan natrium bikarbonat. Sampel hasil ekstrak difraksinasi dengan 200 mL etil asetat digojog selama 6 jam, lalu didiamkan selama 24 jam. Refraksinasi dilakukan sebanyak dua kali. Fraksi yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi etil asetat kental. Fraksi etil asetat selanjutnya diidentifikasi dengan menggunakan LC-MS.⁽⁸⁾

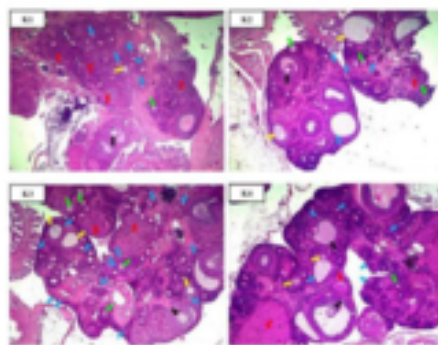
Kelompok kontrol negatif diberi aquades selama 14 hari. Proses induksi menjadi model PCOS adalah dengan injeksi testosteron propionat intramuskular 1mg/100gram BB sehari sekali selama 28 hari pada kelompok kontrol positif (K+), perlakuan 1 (P1) dan perlakuan 2 (P2).⁽¹³⁾ Kelompok kontrol positif diberi injeksi aquades selama 14 hari sebagai terapi. Kelompok perlakuan (P1) diberi fraksi etil asetat daun alpukat (*Persea americana* Mill) 500 mg/kg BB selama 14 hari, kelompok perlakuan (P2) 800 mg/kgBB selama 14 hari. Folikulogenesis (folikel primer, sekunder, tersier, de graaf dan korpus luteum) diukur dengan pewarnaan HE (*Hematoxylin-Eosin*).

Analisis data pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variabel independen terhadap variabel dependen. Dalam hal ini dilakukan analisis perbedaan pengaruh dari empat perlakuan menggunakan uji *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni* jika data berdistribusi normal. Jika data berdistribusi tidak normal digunakan uji *KruskalWallis* dan dilanjutkan dengan uji *Posi Hoc Man Whitney*.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari komisi etik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Nomor 3.KEH.114.06.2024.

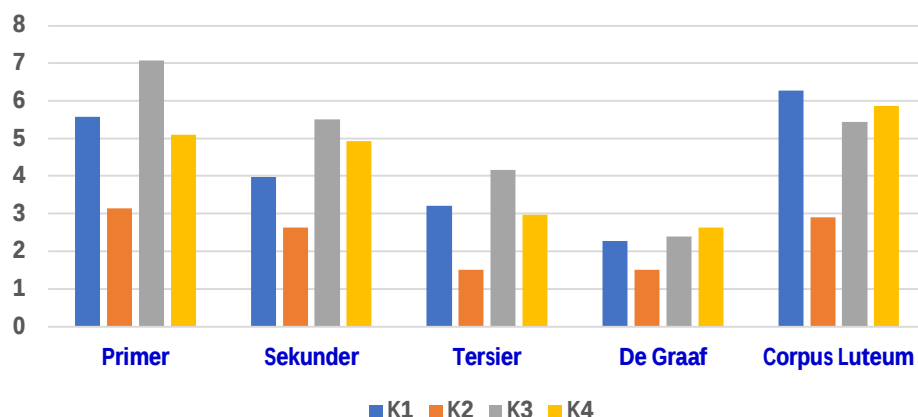
HASIL

Rattus nervegicus mendapatkan perawatan selama penelitian di Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Hasil *swab* vagina pada hewan coba sebelum dilakukan penelitian menunjukkan siklus estrus. Ini sesuai dengan siklus yang diharapkan sebelum dilakukan perlakuan, dalam penelitian ini perlakuan dengan memberikan injeksi testosteron propionat untuk model PCOS. Selain itu, ini menunjukkan bahwa hewan coba yang akan dilakukan penelitian menunjukkan memiliki reproduksi yang sehat. Pemeriksaan *swab* vagina dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.



Gambar 1. Perbandingan folikulogenesis antara K1, K2, K3, dan K4 (folikel primer: panah biru; folikel sekunder: panah hijau; folikel tersier: panah kuning; folikel De Graaf: panah hitam; corpus luteum: panah merah); HE 100 kali.

Pengukuran secara histologi folikel primer, sekunder, tersier, de graaf dan corpus luteum pada ovarium kanan dan kiri tikus putih *Rattus norvegicus* di bawah mikroskop menggunakan mikrometer dapat dilihat pada Gambar 1. Rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, de graaf dan corpus luteum) kedua ovarium setiap tikus pada masing-masing kelompok K1, K2, K3, K4 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, de graaf dan corpus luteum) kedua ovarium setiap tikus pada masing-masing kelompok K1, K2, K3, K4.

Gambar 2 menunjukkan bahwa rerata jumlah folikel kelompok K2 (kontrol positif) mengalami penurunan dibandingkan dengan K1 (kontrol negatif). Rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, De Graaf dan corpus luteum) pada semua kelompok perlakuan (K3) mengalami peningkatan dibandingkan K1 (kontrol negatif) dan kelompok perlakuan (K3) mengalami penurunan, akan tetapi mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok K2 (kontrol positif). Rerata jumlah folikel (primordial, primer, sekunder, tersier, De Graaf dan corpus luteum) pada kelompok K4 mengalami penurunan paling kecil terhadap K1 (kontrol negatif).

Rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, De Graaf dan corpus luteum) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun alpukat 500mg/kgBB 1 kali/hari selama 14 hari pada tikus model PCOS dan pemberian ekstrak daun alpukat 800mg/kgBB 1 kali/hari selama 14 hari pada tikus model PCOS, dapat meningkatkan rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, de graaf dan corpus luteum) dibandingkan kelompok kontrol positif (K2). Ini berarti bahwa pemberian ekstrak daun alpukat pada tikus model PCOS dapat meningkatkan rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, De Graaf dan corpus luteum).

Data variabel folikulogenesis yang terdiri dari folikel (primer, sekunder, tersier, De Graaf dan corpus luteum) berdistribusi normal dan homogen dengan nilai $p > 0,05$, sehingga analisis yang digunakan adalah One Way ANOVA. Jumlah folikel pada kelompok kontrol PCOS pada tikus betina yang dilakukan injeksi dengan testosteron propionat 1 mg/100 gramBB selama 14 hari mengalami penurunan jumlah folikel secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$). Jumlah folikel antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dengan ekstrak daun alpukat 800 mg/kgBB tidak terdapat perbedaan bermakna. Ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan dengan ekstrak daun alpukat selama 14 hari secara umum dapat meningkatkan jumlah folikel mendekati normal setelah diberi perlakuan model PCOS yang dapat dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hasil penelitian ini juga menjelaskan bahwa kelompok kontrol negatif yang dan kelompok perlakuan dengan ekstrak daun alpukat 500 mg/kgBB menunjukkan peningkatan jumlah folikel secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (PCOS) dan kelompok kontrol negatif, dengan nilai $p < 0,05$ (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil analisis perbandingan jumlah folikel pada tikus betina model PCOS antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok	Jumlah folikel (rerata±simpangan baku)	Nilai p
Kontrol (-)	21,27±3,60	0,000
Kontrol (+)	12,67±2,42	
PCOS dengan eksperimen daun alpukat 500 mg/kgBB	24,50±3,89	
PCOS dengan eksperimen daun alpukat 800 mg/kgBB	21,50±2,07	

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian 1 mg/100gBB testosteron propionat pada tikus betina selama 28 hari mampu menimbulkan kerusakan folikel pada ovarium sehingga rerata jumlah folikel primer, sekunder, tersier, dan de Graaf mengalami penurunan pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Ini selaras dengan sebuah laporan riset bahwa pemberian testosteron propionat pada tikus betina menghasilkan model SOPK, meliputi perubahan morfologi maupun gangguan hormonal sebagaimana SOPK pada manusia.⁽¹⁷⁾ Pemberian selama 7 hari menghasilkan gambaran ovarium berupa kista-kista folikel besar dengan penebalan stroma serta akumulasi folikel preantral berlapis.

Peningkatan apoptosis oosit mulai hari 14 pemberian testosteron menyebabkan kerusakan serius oosit di folikel preantral dan antral; suatu keadaan yang menggambarkan karakteristik SOPK pada manusia. Sampai dengan 21 hari pemberian testosteron, kebanyakan oosit mengalami apoptosis hingga 70-85% dari total oosit menyebabkan kerusakan folikel preantral dan antral, sehingga tidak didapatkan corpus luteum bahkan sampai dengan 35 hari pemberian. Semakin lama pemberian testosteron propionat akan terbentuk keadaan

hiperandrogen.⁽¹⁸⁾ Pemberian TP dengan dosis 1 mg/100 gBB selama 14 hari akan didapatkan suatu keadaan yang menyerupai SOPK dengan ciri-ciri tidak didapatkan korpus luteum, adanya ovarium polikistik, hipertekosis pada stroma serta penipisan/ atresi sel glukosa.

Ovarium adalah sumber utama dari androstenedion berlebihan dan testosteron pada wanita hiperandrogen.^(19,20) Ovarium memainkan peran utama hiperandrogenisme pada perempuan meskipun tidak eksklusif. Steroidogenesis dalam folikel ovarium dicapai melalui kerjasama antara sel teka dan granulosa. Sel teka adalah sumber eksklusif androstenedion pada perempuan. Enzim 17E-hidroksisteroid dehydrogenase yang ekspresinya didominasi dalam sel granulosa, hal itu dikarenakan banyak testosteron yang diproduksi di dalam sel granulosa. Terlepas dari tempat metabolisme androstenedion untuk testosteron, dimulainya produksi androgen di ovarium khusus pada sel teka.⁽⁸⁾

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah folikel kelompok kontrol negatif dan perlakuan dengan ekstrak daun alpukat 800 mg/kgBB tidak berbeda secara signifikan. Ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan secara umum dapat meningkatkan jumlah folikel mendekati normal. Kelompok perlakuan dengan ekstrak daun alpukat 500 mg/kgBB juga menunjukkan peningkatan jumlah folikel secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

Daun alpukat merupakan memiliki banyak kegunaan dalam kesehatan karena mengandung zat fitokimia.⁽⁸⁾ Daun alpukat mengandung senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, saponin, tanin, steroid dan terpenoid, juga mengandung senyawa kuersetin.⁽⁴⁾ Kuersetin merupakan salah satu flavonoid yang mempunyai unsur bioaktif kuat dengan efek radikal bebas, antiinflamasi, antikanker, antihiperlipidemia, dan antiplatelet.⁽⁹⁻¹⁴⁾ Penelitian terbaru menunjukkan quercetin juga ditemukan memproduksi inhibin PI3K.⁽¹⁵⁾ Quercetin PI3K inhibin menurunkan ekspresi gen CYP17A1 pada sel teka yang mungkin bertanggung jawab untuk menurunkan aktivasi 17a-hidroksilase yang berperan penting pada PCOS.⁽¹⁶⁾

KE Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa ekstrak daun alpukat pada dosis 500 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB terbukti dapat meningkatkan jumlah folikel pada tikus betina model PCOS.

Daftar Pustaka

1. Fitria S. Pengaruh sindrom polikistik ovarium terhadap peningkatan faktor risiko infertilitas. Medical Journal of Lampung University. 2016;5(2):12-18.
2. Ding T, Hardiman PJ, Petersen I, Wang FF, Qu F, Baio G. The prevalence of polycystic ovary syndrome in reproductive-aged women of different ethnicity: a systematic review and meta-analysis. Oncotarget. 2017;8(56):96351-8.
3. Rustanti E, Lathifah QA. Identifikasi senyawa kuersetin dari fraksi etil asetat ekstrak daun alpukat (*Persea americana mill.*). Alchemy: Journal of Chemistry. 2018;6(2):38-42.
4. Putri NP. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana Mill.*) dan rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var. Rubrum*) di Desa Taro Gianyar Bali. Thesis. Universitas Dhyana Pura; 2023.
5. Amelia D, Santoso B, Purwanto B. Ekstrak daun *Moringa oleifera* terhadap jumlah folikel tikus model sindroma ovarium polikistik. JBP. 4 Juli 2018;19(3):211.
6. Wang Z, Zhai D, Zhang D, Bai L, Yao R, Yu J. Quercetin decreases insulin resistance in a polycystic ovary syndrome rat model by improving inflammatory microenvironment. Reprod Sci. Mei 2017;24(5):682-90.
7. Crespo RP, Bachega TASS, Mendonça BB, Gomes LG. An update of genetic basis of PCOS pathogenesis. Archives of Endocrinology and Metabolism. 2018;62(3):352-61.
8. Shah KN, Patel SS. Phosphatidylinositol 3-kinase inhibition: A new potential target for the treatment of polycystic ovarian syndrome. Pharmaceutical Biology. 2 Juni 2016;54(6):975-83.
9. Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. Pharmacogn Rev. 2016 Jul-Dec;10(20):84-89. doi: 10.4103/0973-7847.194044.
10. Aghababaei F, Hadidi M. Recent advances in potential health benefits of quercetin. Pharmaceuticals (Basel). 2023 Jul 18;16(7):1020. doi: 10.3390/ph16071020. PMID: 37513932; PMCID: PMC10384403.
11. Xu D, Hu MJ, Wang YQ, Cui YL. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. Molecules. 2019 Mar 21;24(6):1123. doi: 10.3390/molecules24061123.
12. Lesjak M, Beara I, Simin N, Pintač N, Majkić T, Bekvalac K, Orčić D, Mimica-Dukić N. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. Journal of Functional Foods. 2018;40(1):68-75.
13. Kim JK, Park SU. Quercetin and its role in biological functions: an updated review. EXCLI J. 2018 Aug 27;17:856-863. doi: 10.17179/excli2018-1538. PMID: 30233284; PMCID: PMC6141818.
14. Yang D, Wang T, Long M, Li P. Quercetin: Its main pharmacological activity and potential application in clinical medicine. Oxid Med Cell Longev. 2020 Dec 30;2020:8825387. doi: 10.1155/2020/8825387.
15. Aghababaei F, Hadidi M. Recent advances in potential health benefits of quercetin. Pharmaceuticals (Basel). 2023 Jul 18;16(7):1020. doi: 10.3390/ph16071020. PMID: 37513932; PMCID: PMC10384403.
16. Shah KN, Patel SS. Phosphatidylinositol 3-kinase inhibition: A new potential target for the treatment of polycystic ovarian syndrome. Pharm Biol. 2016;54(6):975-83. doi: 10.3109/13880209.2015.1091482.
17. Morales-Ledesma L, Díaz Ramos JA, Trujillo Hernández A. Polycystic ovary syndrome induced by exposure to testosterone propionate and effects of sympathectomy on the persistence of the syndrome. Reprod Biol Endocrinol. 2017 Jul 10;15(1):50. doi: 10.1186/s12958-017-0267-0.
18. Gurayah AA, Dullea A, Weber A, Masterson JM, Khodamoradi K, Mohamed AI, Ramasamy R. Long vs Short Acting Testosterone Treatments: A Look at the Risks. Urology. 2023 Feb;172:5-12.
19. Cussen L, McDonnell T, Bennett G, Thompson CJ, Sherlock M, O'Reilly MW. Approach to androgen excess in women: Clinical and biochemical insights. Clin Endocrinol (Oxf). 2022 Aug;97(2):174-186.
20. Yesiladali M, Yazici MGK, Attar E, Kelestimur F. Differentiating polycystic ovary syndrome from adrenal disorders. Diagnostics (Basel). 2022 Aug 24;12(9):2045. doi: 10.3390/diagnostics12092045.