بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی جانوری

عنوان:

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه بر فاکتورهای کبدی رت های نژاد ویستار مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک القا شده با استرادیول والرات

اساتید راهنما:

دکتر صمد زارع

دکتر محمد نبیونی

پژوهشگر و نگارنده:

اکرم تایانلوی بیک

بهمن ماه ۱۳۹۳

حق چاپ و تکثیر مطالب این پایان نامه در انحصار دانشگاه ارومیه می باشد

تشکر و سپاس از

درگاه حضرت دوست که اندیشه را در حریم معرفت او راه نیست و پرنده عقل و خرد را در مسیر شناختش قدرت پرواز نیست.

اکنون که به یاری خداوند متعال، توفیق انجام این پایان نامه را یافته ام، بر خود لازم می دانم از بزرگوارانی که در تمام مراحل این پروژه، دلسوزانه مرا مورد لطف و عنایت قرار دادند، تشکر و قدردانی نمایم.

از استاد فرهیخته و فرزانه، **جناب آقای دکتر زارع**، که زحمت راهنمایی این پایان نامه را در حالی متقبل شدند که بدون مساعدت ایشان، این پروژه به نتیجه مطلوب نمی رسید، تشکر می کنم.

استاد گرانقدر و دلسوزم **جناب آقای دکتر نبیونی**، که با صفا و صداقت خویش، به من درس دقت، پشتکار و اعتماد بنفس آموختند و همواره در تمامی مراحل از راهنمایی های خردمندانه ایشان بهره بردم، و شاگردی در محضر ایشان از بزرگترین افتخارات زندگی بنده است؛ تشکر می کنم.

از اساتید محترم، جناب آقای دکتر محمدزاده و دکتر نجاتی که زحمت داوری این پایان نامه را متقبل شدند، کمال تشکر و سپاسگذاری را دارم.

از خانم لطیفه کریم زاده که در انجام این پایان نامه بنده را یاری نمودند، تشکر می کنم.

از خانواده عزیزم که همواره به قدرت و قوت پشتیبانی آن ها ست که راه را پیموده ام، صمیمانه و با تمام وجود سپاسگزارم.

در پایان از همه دوستان عزیزی که در مراحل انجام این پروژه همراه و یاری رسان بنده بوده اند تشکر و سپاسگزاری می نمایم.

تقدیم به

مادرم

آنکه مرا خلق کرد خداوندگار زمینی ام

و

پدرم

که نگاه مهربانش قاصد خبر زندگیست

فهرست مطالب

عنوان صفحه

۱-فصل اول مقدمه..... ۱

۱-۱-دستگاه تولید مثلی ماده در پستانداران..... ۱

۱-۱-۱-تکوین دستگاه تولید مثلی ماده پستانداران..... ۱

۱-۱-۲-فولیکول زایی..... ۲

۱-۱-۳-زمان شناسی فولیکول زایی..... ۵

۱-۱-٤-تخمک گذاری..... ۵

۱-۱-۵-تشکیل جسم زرد..... ۷

۱-۱-٦-محور هورمونی هیپوتالاموس- هیپوفیز- تخمدان..... ۸

۱-۱-٦-۱-هورمون آزادکننده ی گنادوتروپین ها..... ۸

۱-۱-٦-۲-گنادوتروپین ها..... ۱۰

۱-۲-ناباروری ۱۰

۱-۲-۱-سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) ۱۱

۱-۲-۲-چاقی ،دیابت ملیتوس، عارضه های قلبی عروقی و PCOS..... ۱٤

۱-۳-روش های القای سندرم ۱٦

۱-۳-۱-استروژن ها..... ۱٦

۱-۳-۲-نور مداوم..... ۱۷

۱-۳-۳-تستوسترون ها..... ۱۸
۱-۳-٤-دهیدرواپی اندرستنه دیون..... ۱۹
۱-۳-٥-آنتی پروژستین ها..... ۱۹
۱-۳-٦-استرس سرما..... ۱۹
۱-۳-۷-تخریب سیستم لیمبیک..... ۲۰
۱-۳-۸-تحریک آمیگدال..... ۲۰
۱-۳-۹-پینئالکتومی..... ۲۰
۱-۳-۱۰-آنتی آروماتاز ها..... ۲۰
۱-٤-فاکتورهای موثر در سندرم پلی کیستیک..... ۲۱
۱-٤-۱-افزایش قند..... ۲۱
۱-٤-۲-التهاب با درجات پایین تر..... ۲۱
۱-٤-۳-وراثت..... ۲۲
۱-٤-٤-رشد جنینی غیر طبیعی..... ۲۲
۱-٤-٥-عادات زندگی..... ۲۲
۱-٤-٦-چربی ها..... ۲۲
۱-٥-ساختمان و عمل کبد ۲۳
۱-٥-۱-اعمال و فعالیت های کبد..... ۲٤
۱-٥-۲-نقش کبد در سلامتی..... ۲٤
۱-٥-۳-نقش کبد در خنثی کردن سموم بدن..... ۲٥

۱-۵-٤-تولید پروتئین..... ۲۵
۱-۵-۵-تولید صفرا..... ۲٦
۱-۵-٦-انواع بیماری های کبد..... ۲٦
۱-۵-۷-کبد چرب..... ۲۷
۱-۵-۸-سیروز کبدی..... ۲۷
۱-۵-۹-علل سیروز..... ۲۸
۱-۵-۱۰-ایجاد بافت جوشگاهی(فیبروز) در کبد..... ۲۸
۱-۵-۱۱-علایم و نشانه های سیروز کبدی..... ۲۹
۱-۵-۱۲-دیابت و سیروز..... ۲۹
۱-۵-۱۳-فرایند ایجاد بیماری..... ۲۹
۱-۵-۱٤-نقش مقاومت به انسولین درایجاد بیماری کبد چرب..... ۳۰
۱-۵-۱۵-روش های تشخیص کبد چرب..... ۳۱
۱-۵-۱۵-۱-بررسی های سرولوژیکی..... ۳۱
۱-۵-۱۵-۲-روش های تصویر برداری..... ۳۲
۱-۵-۱۵-۳-روش های بافت شناسی..... ۳۲
۱-۵-۱۵-٤-مصرف آلفا-اینترفرون در مبتلایان به سیروز کبدی..... ۳۳
۱-۵-۱۵-۵ داروهای خوراکی ضد ویروسی..... ۳۳
۱-۵-۱۵-٦-پروپرانولول..... ۳٤
۱-۵-۱۵-۷ اسپیرونولاکتون..... ۳٤

۱-۵-۱۵-۸ آلبومین..... ۳٤
۱-۵-۱۵-۹ تریامترن – H ۳٤
۱-۵-۱۵-۱۰ فوروسماید..... ۳۵
۱-۵-۱۵-۱۱ لاکتولوز..... ۳۵
۱-۵-۱۵-۱۲ مولتی ویتامین..... ۳۵
۱-۵-۱۵-۱۳ کلستیرامین..... ۳۵
۱-۵-۱۵-۱٤ کلشی سین ۳٦
۱-۵-۱۵-۱۵ گلیسیریزین..... ۳٦
۱-٦-گیاهان دارویی ۳۷
۱-٦-۱-تاریخچه گیاهان دارویی..... ۳۷
۱-۷-گزنه ۳۹
۱-۷-۱-گیاه شناسی گزنه..... ۳۹
۱-۷-۲-دامنهٔ انتشار..... ٤۱
۱-۷-۳-آثار فارماکولوژیکی..... ٤۲
۱-۸-فرضیه و اهداف مطالعه: ٤۳
فصل دوم مواد و روش ها..... ٤۵
۲-۱-مواد مورد نیاز..... ٤٦
۲-۲-وسایل مورد نیاز ٤۷
۲-٤-القای سندرم تخمدان پلی کیستیک در رت ٤۹

۲-٤-۱-مراحل مقدماتی: انتخاب رت ها..... ٤٩

۲-٤-۲-روش تهیه و بررسی اسمیر واژینال..... ٥٠

۲-٤-۳-روش القای سندرم تخمدان پلی کیستیک در رت..... ٥١

۲-٤-٤-عصاره گیری گیاه گزنه..... ٥٣

۲-٥-تیمار حیوانات ٥٣

۲-٦-تعیین LD_{50} ٥٤

۲-۷-هیستوتکنیک..... ٥٤

۲-۷-۱-نمونه برداری بافتی..... ٥٤

۲-۷-۲-تثبیت نمونه ها..... ٥٥

۲-۷-۳-مرحله ی آبگیری نمونه ها ٥٥

۲-۷-٤-مرحله ی شفاف سازی نمونه ها..... ٥٦

۲-۷-٥-مرحله ی نفوذ پارافین به درون نمونه ٥٧

۲-۷-٦-مرحله ی قالب گیری نمونه ها..... ٥٨

۲-۷-۷-مرحله ی برش برداری قالب های پارافینی..... ٥٨

۲-۷-۸-روش چسباندن برش ها بر روی لام ٥٨

۲-۷-۹-روش تهیه چسب هاپت..... ٥٩

۲-۷-۱۰ مراحل رنگ آمیزی..... ٦٠

۲-۷-۱۱-پارافین زدایی..... ٦٠

۲-۷-۱۲-خارج نمودن حلال پارافین..... ٦٠

۲-۷-۱۳-آب دهی..... ۶۰
۲-۷-۱٤-رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین..... ۶۱
۲-۷-۱۵-روش تهیه رنگ هماتوکسیلین می یر..... ۶۱
۲-۷-۱٦-روش تهیه رنگ ائوزین..... ۶۲
۲-۷-۱۷-رنگ آمیزی تری کروم ماسون (Trichrome mason)..... ۶۳
۲-۷-۱۸-روش انجام رنگ آمیزی Trichrome mason ۶۳
۲-۷-۱۹-آزمون الایزا..... ٦٤
۲-۷-۲۰-اساس کار تست گلوکز..... ۶۹
۲-۷-۲۱ اساس واکنش CRP..... ۶۹
فصل سوم نتایج..... ۷۱
۳-۱-نتایج بررسی های متابولیک ۷۳
۳-۱-۱-بررسی میزان تغییرات پروفایل چربی..... ۷۳
۳-۱-۲-بررسی میزان سطح سرمی گلوکز و انسولین و محاسبه مقاومت به انسولین..... ۷٦
۳-۲-بررسی تغییرات بیان IL-6 به روش الایز ۷۷
۳-۳-بررسی تغییرات انزیم های کبدی،ALT AST..... ۷۸
۳-٤-بررسی تغییرات هورمون های LH و FSH..... ۸۰
۳-۵-بررسی تغییرات CRP..... ۸۱
۳-٦-بررسی نتایج مورفومتریک ۸۲
۳-٦-۱ نتایج مورفومتریک رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین..... ۸۲

۳-٦-۲ نتایج مورفومتریک رنگ آمیزیTrichrome mason.....۸۵

فصل چهارم بحث و نتیجه گیری ۸٦

٤-۱-مقاومت به انسولین..... ..... ۸۷

٤-۲- التهاب..... ..... ۸۹

٤-۳-چاقی و بافت چربی ۹۳

٤-٤-توضیح استرس اکسیداتیو..... ۹۵

٤-۵- تغییرات بافتی بافت کبد ۹٦

فصل پنجم منابع ۱۰۳

فهرست جداول

عنوان صفحه

جدول ۱-۱- ترکیبات موجود در گیاه گزنه ٤٠

جدول ۲-۱- جدول مربوط به مواد و وسایل استفاده شده، شرکت و کمپانی تولید کننده..... ٤٦

جدول ۲-۲- وسایل مورد نیاز..... ٤٧

جدول ۲-۳- فیکساتیو بوئن (**BOUIN FIXATIVE**)..... ٥٥

جدول ۲-٤- مراحل آبگیری ٥٥

جدول۲-٥- مواد مورد نیاز برای شفاف سازی..... ٥٦

جدول۲-٦-حمام پارافین ٥٧

جدول ۲-۷- مواد مورد نیاز برای چسب هاپت..... ٥٩

جدول۲-۸-پارافین زدایی..... ٥٩

جدول۲-۹- خارج نمودن حلال پارافین..... ٦٠

جدول۲-۱۰- آبدهی..... ٦٠

جدول ۲-۱۱- مواد مورد نیاز برای تهیه رنگ هماتوکسیلین..... ٦١

جدول۲-۱۲- مراحل رنگامیزی هماتوکسیلین..... ٦٢

جدول ۲-۱۳- مواد مورد نیاز برای تهیه رنگ ائوزین..... ٦٢

جدول۲-۱٤- روش انجام تست گلوکز..... ٦٨

جدول۲-۱٥-واکنش CRP..... ٦٩

جدول ۳-۱ تغییرات CRP..... ۸۲

جدول ۳-۲ تعداد سلول های کوپفر و هپاتوسیت..... ۸٤

فهرست نمودار

عنوان	صفحه

نمودار ۳-۱ سطح سرمی کلسترول و تری گلیسیرید ۷۳

نمودار ۳-۲سطح سرمی LDL–کلسترول ۷٤

نمودار ۳-۳ سطح سرمی HDL–کلسترول.....۷۵

نمودار ۳-٤ سطح سرمی گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) ۷٦

نمودار ۳-۵ سطح سرمی IL-6 .....۷۷

نمودار ۳-٦ سطح سرمی AST ۷۸

نمودار ۳-۷ سطح سرمی ALT ۷۹

نمودار ۳-۸ سطح سرمی FSH ۸۰

نمودار ۳-۹ سطح سرمی LH ۸۱

فهرست اشکال

عنوان | صفحه

شکل ۱-۱ گروه های مختلف فولیکولی در تخمدان رت..... ۳

شکل ۱-۲- زمان بندی فولیکول زایی طبیعی در انسان ٦

شکل ۱-۳- مکانیسم های سلولی تخمک گذاری..... ۸

شکل ۱-٤- ژنراتور پالس GnRH ۹

شکل ۱-٥- CRP.....١٦

شکل ۱-٦- دامنه انتشار گیاه گزنه ٤١

شکل ۳-۱ : فتومیکروگراف برش بافتی کبد رنگامیزی هماتوکسیلین& ائوزین ۸۳

شکل ۳-۲: فتومیکروگراف برش بافتی کبد رنگامیزی Trichrome mason.....۸٥

چکیده

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) متداول ترین اختلال اندوکرینی در زنان در سنین تولید مثلی می باشد و متداول‌ترین علت عدم تخمک‌گذاری، ناباروری و پرموئی در سرتاسر دنیا می‌باشد. PCOS با مقاومت به انسولین و هیپرانسولینمی مرتبط می‌باشد که نقشی اساسی را در آندروژن های افزایش یافته توسط تخمدان های پلی‌کیستیک زنان با مقاومت به انسولین مربوط به PCOS ایفا می‌کند که این افراد در معرض افزایش ریسک پیشرفت دیابت نوع ۲ملیتوس و درجات پایین التهاب می باشند. NAFLD طیفی از بیماری های کبدی است که در برگیرنده نفوذ چربی در ۵ درصد هپاتوسیت ها (steatosis)، نفوذ چربی بعلاوه التهاب (NASH)، فیبروز و در نهایت سیروز، در غیاب مصرف بیش از حد الکل می باشد. NAFLD با ویژگی های سندرم متابولیک، از قبیل چاقی شکمی، مقاومت به انسولین، عدم تحمل گلوکز یا دیابت ملیتوس نوع۲(DMT2) و دیس لیپیدمیا بسیار مرتبط است. اشتراک و همپوشانی اصلی بین PCOS و NAFLD مقاومت به انسولین می باشد. گزنه به عنوان یک گیاه داروئی با توجه به خواص ضد التهابی و آنتی اکسیدانی و هیپوگلیسمیک خود، باعث بهبود دیابت نوع ۲ و کاهش التهاب، فیبروز و نکروز، به عنوان علائم NAFLD می شود. از اینرو، اثرات تعدیل کنندگی گزنه بر عملکرد کبد در رت های PCOS مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه تجربی، ١٤٤ رت بالغ نژاد ویستار به گروه های کنترل، PCOS و تیمار شده با گزنه تقسیم شدند. گروه PCOS تحت تزریق زیر جلدی ۲mg استرادیول والرات قرار گرفتند، بعد از ٦٠ روز و تائید پلی کیستیک، گروه تجربی تحت تزریق درون صفاقی دوزهای (۱۵۰،۲۵۰, ٤٥٠ mg/kg BW) عصاره گزنه قرار گرفتند. بعد از ۲۱ روز، رت ها بوسیله کلروفرم بی هوش شده و نمونه های خونی و کبدهای آنها به منظور انجام رنگامیزی های هماتوکسیلین و ائوزین و تری کروم ماسون و ارزیابی سرولوژیکی جمع آوری شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار instat3 و با روش ANOVA one-way مورد ارزیابی قرار گرفت و $p<0.05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد. برش های بافتی کبدی و آزمایشات سرولوژیکی نشان دهنده کاهش تعداد سلول های نکروتیک و تجمع کلاژن در بافت های کبدی و مواد کلاژن مانند فیبریلاری احاطه کننده ورید مرکزی کبد، مقاومت به انسولین، CRP، آنزیم های کبدی، IL-6 و تغییر در سطوح هورمون های LHو FSH و پروفایل لیپیدی در رت های PCOS تیمار شده با غلظت های مختلف گزنه بود.

از آنجائیکه PCOS به عنوان یک حالت با درجه پایین التهاب توصیف می شود، نتایج حاکی از آن است که گزنه با افزایش حساسیت به انسولین و کاهش نکروز و فیبروز کبدی احتمالا باعث کاهش التهاب و بهبود علائم سندرم متابولیک در PCOS شده و اثرات حفاظتی قابل توجهی بر کبد داشته باشد.

کلمات کلیدی: سندرم تخمدان پلی کیستیک، گزنه، NAFLD، مقاومت به انسولین، التهاب

فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

۱-۱- دستگاه تولید مثلی ماده در پستانداران

۱-۱-۱-تکوین دستگاه تولید مثلی ماده پستانداران

غدد تناسلی در مهره داران از حاشیه ی بالایی لایه‌ی احشایی[۱] صفحه‌ی مزودرم جانبی[۲]، از مزودرم حدواسط[۳] در موقعیت نیمه‌ی خلفی بدن جنین به صورت قرینه تشکیل می‌گردد. اولین پیش فرم غدد تناسلی به صورت دو نوار طولی و ضخیم شده از بافت پوششی مزودرمی حفره ی بدن درست در کنار روده بند پشتی مقابل همدیگر به وجود می‌آیند. تخمدان ها از نظر منشا فرقی با بیضه‌ها ندارند و هر دو از سلول های جنسی اولیه و مشتقات مزودرمی اند. در جوندگان سلول های جنسی اولیه مشتق از اندودرم کیسه زرده در E11 وارد این نوار های تناسلی[۴] می شوند و به صورت اووگونی در می آیند که به صورت مجموعه هایی جمع شده و در قشر تخمدان تجمع پیدا می‌کنند. نوار های تناسلی با ورود این سلول ها به لایه ی پوششی خود غدد تناسلی را بوجود می‌آورند. در رت تخمدان ها از روز E16 قابل تشخیص هستند. سلول های جنسی اولیه به سرعت شروع به تکثیر می‌کنند به طوریکه در روز E18.5 تعداد انها به ۸۵۰۰۰ عدد می رسد. تشخیص بافت تخمدان و اووسیت ها تنها پس از پایان فعالیت میتوتیک اووگونی هاامکان پذیر است. سلول های جنسی اولیه با توقف میتوز و ورود انها به دیپلوتن میوز تمایز می یابند. در روز E17 همه ی سلول های جنسی وارد میوز شده اند. این مجموعه های اووگونی لانه ی تخمکی نام دارند. تعدادی از سلول های سازنده ی لانه تخمکی از بین می روند و بقیه ی آنها به تدریج از لانه های تخمکی آزاد می شوند و به مرور اطراف این سلول ها را یک ردیف سلول های فولیکولی می پوشاند. با تجمع سلول های فولیکولی در پیرامون آنها، این سلول ها اووسیت اولیه نامیده می شوند(پریور، ۱۳۸۳ van et al; 1998).

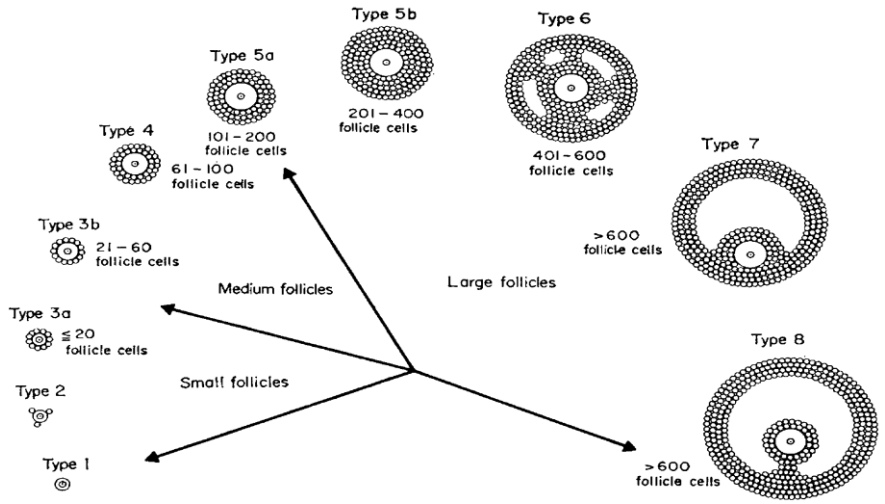
[1] Splanchnopleura
[2] Lateral Mesodermal Plate
[3] Intermediat Mesoderm
[4] Genital Ridges

۱-۱-۲-فولیکول زایی[1]

تکوین فولیکولی درجوندگان بسیار مشابه انسان است. در زمان تولد تخمدان موش صحرایی حاوی طناب های جنسی و اووگونی هاست. فولیکول‌های آغازین در روز سوم بعد از تولد شکل می‌گیرند و در طول ۳ هفته بعدی موج نخست تکوین فولیکول های بدوی به فولیکول های آنترال صورت می‌گیرد. فولیکول های ثانویه در روز هفتم در تخمدان قابل مشاهده می باشند. بلوغ یا اولین استروس[2] در حدود روز ۳٤ بعد از تولد اتفاق می افتد. رت های ماده ۱٤الی۲۸ ساعت پس از زایمان می توانند به مرحله ی بحران جنسی یا حرارت جنسی[3] وارد شود. به این حالت اصطلاحا postpartum می‌گویند و در حال شیردهی و نگهداری از زاده های خود توانایی بارداری را دارند. در هر بار زایمان تعداد زاده ها در رت نژاد ویستار ۱۰تا ۱۲ سر است و با افزایش سن این تعداد کاهش می‌یابد. در ساعت ۲ تا ٤ صبح روز استروس تخمک گذاری رخ داده و در ساعت حدود ۱۰ صبح علایم آن روز قابل رویت است. بعد از عمل جفت گیری ماده ای واکسی و سفید رنگ بنام پلاک جفت گیری[4] به مدت ۱۲تا ۲٤ ساعت قابل رویت است. بعد از اولین تخمک گذاری سیکل های تخمدانی آغاز می‌شوند. در رت های نژاد ویستار و آمستردام اولین سیکل ها ۷ الی ۸ روز طول می‌کشد. چرخه ی استروس طبیعی تا حدود ۱۰ تا ۱۲ ماهگی ادامه می یابد و بعد از آن سیکل ها نامنظم و طولانی می شود. از ۱۲ الی ۱۵ ماهگی به بعد وارد استروس پایدار می‌شوند و به دنبال آن مرحله دی استروس مزمن و نهایتا پایان استروس و ایجاد حالت anestrous رخ می دهد(McGee et al, 2000). زمانیکه سیکل تخمدانی در رت ها در سن یک سالگی متوقف می شود تعداد ۸۰۰ فولیکول(۱۳٪ تعداد کل انها در زمان اولین تخمک گذاری(متحمل تخمک گذاری شده و بقیه دچار آترزی شده اند. فولیکول های بدوی۵ با قطر ۱۷ تا۲۰ میکرومتر و دو یا سه لایه سلول های فولیکولی سنگفرشی پهن در بخش کورتکس قابل مشاهده اند. هر کدام دارای یک اووسیت اولیه با قطر ۱۱تا ۱۵ میکرومتر هستند که در مرحله ی پروفاز میتوز متوقف شده اند. گاه فولیکول های مراحل گذار، دارای هر دو نوع سلول سنگفرشی و مکعبی هستند. غشای پایه یا غشای Slavjansky در این فولیکول ها قابل رویت است که از جنس کلاژن ٤ و لامینین و فیبرونکتین است. قطر فولیکول متاثر از قطر اووسیت است. بزرگترین فولیکول ها در این

[1] Folliculogenesis
[2] Estrous
[3] Sex Heat
[4] Coupulatory Plug
[5] Primordial follicles

مرحله دارای ۲۵–۲۹ سلول گرانولوزا و اووسیتی به قطر۲۸,۵ میکرومتر هستند. تعداد محدودی از فولیکول های اولیه که با سلول های استرومایی مثل سلول های تک تمایز نیافته[1] احاطه شده اند، قابل مشاهده اند. برخی از فولیکول های اولیه را می توان با مشاهده ی سلول های گرانولوزای در حال تکثیرشان تشخیص داد. فولیکول های ثانویه یا پیش آنترال[2] دارای اووسیت هستند که هسته ای مرکزی و ژرمینال وزیکول(GV)[3] و تعداد زیادی هستک دارد. اندازه ی اووسیت با تغییر اندازه ی فولیکول ثابت باقی می‌ماند.



شکل ۱-۱ گروه های مختلف فولیکولی در تخمدان رت

در رت فولیکول های تخمدانی به سه دسته ی تقسیم می شوند: کوچک، متوسط و بزرگ. این تقسیم بندی بر اساس تعداد لایه های سلول های گرانولوزای اطراف اووسیت در بزرگترین برش از هر فولیکول حاصل می شود (Torben Pedersen And Hannah Peters; 1968). در فولیکول های کوچک تر ضخامت لایه ی گرانولوزا ۲ الی ۳ لایه است. زوناپلوسیدا در این عده فولیکول ها به وضوح قابل رویت است. سلول های گرانولوزا شدیدا فعالیت میتوتیک از خود بروز می دهند که نشانه ی تشخیصی آنها محسوب می‌شود. لذا در نهایت یک اپیتلیوم مطبق ۲ الی ۱۲ لایه ساخته می‌شود. زمانی که این لایه دارای ٦ الی ۱۲ لایه سلول و قطر ۲۲۵ میکرومتر دارد، لایه ی تک داخلی[4] و آنتروم شروع

[1] Interstitial Cells
[2] Preantral Follicle Or Secondary Follicle
[3] Germinal Vesicle
[4] Thecal Interna

به تشکیل می‌کند. سلول‌های تک خارجی[1] مسطح تر بوده و به صورت متحدالمرکز درون شبکه ای از فیبرهای پیوندی قرار گرفته و عروقی‌اند. بزرگترین فولیکول های پیش آنترال سالم وارد مرحله ی آنترال کوچک اولیه می شوند، سایزشان با تکثیر سلول ها و به هم پیوستن نهایی آنتروم بزرگتر شده و مورفولوژی فولیکول تغییر بارزی می‌یابد. قطر اووسیت به ۷۰ میکرومتر می رسد. سلول های گرانولوزای محیط اووسیت به هم بسیار نزدیک شده و توده ی تخمکی[2] را تشکیل می‌دهند. بقیه ی سلول های گرانولوزا که به غشای پایه نزدیک تر هستند سلول های گرانولوزای دیواره ای [3] را می‌سازند. فولیکول های آنترال سالم در مراحل پایانی به قطر ۵۰۰ میکرومتر می‌رسند. اووسیت در وسط قرار دارد ولی GV به کناری رفته اند. سلول های گرانولوزای احاطه کننده ی اووسیت تشکیل حلقه ای به نام کرونا رادیاتا می کنند(Williams, 2000). فولیکول های در آستانه‌ی تخمک گذاری در مرحله ی استروس حجم زیادی از کورتکس را اشغال می‌کنند و به سطح آزاد گناد نزدیک تر می‌شوند. دارای اووسیت ثانویه اند که نشانه‌ی متافاز میوز دوم است.کمپلکس اووسیت – کومولوس(COC)[4] ناحیه ی ضخیمی برامده به سمت آنتروم می سازد. اتصالات گرانولوزا ها با هم کاهش یافته و غشای پایه ی فولیکولی در حال محو شدن است و عروق خونی به صورت عمیق تری وارد لایه تک شده اند. در سطح تخمدان این ناحیه مسطح می شود و اپیتلیوم ژرمینال آن سنگفرشی شده و اوولاسیون رخ می دهد. در رت ها هر ۵ روز این اتفاق می افتد. دراین زمان می توان COC را در اوویداکت یافت. سلول های فولیکولی دیواره ای و نیز سلول های تک در تخمدان باقی مانده و تشکیل جسم زرد می‌دهند. در جسم زرد سلول های گرانولوزا برای اولین بار در تماس با عروق خونی قرار می‌گیرند. در فولیکول هایی که دچار آترزی می‌شوند سلول های پیکنوتیک در لایه ی گرانولوزا قابل رویت است. پس از آن اووسیت رو به انحطاط گذاشته و GV حذف شده و لایه ی گرانولوزا چروکیده می‌گردد. در مراحل بعد اووسیت رو به تکه تکه شدن می‌گذارد. کل مرحله ی آترزی در حیوانات کوچکی مانند رت ۳-۵ روز است(Epifano; 2002). در انسان نیز فولیکول زایی در کورتکس تخمدان رخ داده و شامل چهار مرحله ی بکارگیری فولیکول های بدوی از مخزن فولیکولی، رشدونمو فولیکول پره آنترال، انتخاب و رشد فولیکول غالب و آترزی فولیکول است و با اوولاسیون و یا آترزی به پایان می‌رسد. فولیکول

[1] Theca Externa
[2] Cumulus Oophorous
[3] Mural
[4] COC= Cumulus-Oocyte Complex