بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه تربیت معلم تهران

دانشکده علوم – گروه زیست شناسی

جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته علوم جانوری گرایش سلولی تکوینی

عنوان

اثر متفورمین و زهرزنبور بر بلوغ آزمایشگاهی فولیکول های پره آنترال موش

اساتید راهنما: دکتر مهناز آذرنیا و دکتر محمد نبیونی

استاد مشاور: دکتر هما محسنی کوچصفهانی

نگارش: علی طوسی

آذر 1387

سپاسگزاری و تقدیر

خدای متعال را شکر و سپاس می نهم که آغاز کار با نام و یاد او، تداومش به لطف او و سرانجام تحقیق به خواست آن یگانه نیروی هستی بوده است. معبودی که بزرگترین حامی بندگانش و نزدیکترین همراه آنان در تمامی لحظات است.

از استاد راهنمای گرانقدرم سرکار خانم دکتر آذرنیا که با راهنمایی ارزشمند و علمی خود مرا هدایت نموده، کمال تشکر را دارم.

از استاد راهنمای ارجمندم جناب آقای دکتر نبیونی برای تمامی زحمات و تلاش های بی دریغشان در رفع مشکلات پیش رو و هموار کردن مسیر پژوهش قدردانی می نمایم.

از استاد مشاور بزرگوارم سرکار خانم دکتر کوچصفهانی که همواره لطف و عنایتشان شامل حال من شده است، سپاسگزارم.

از اساتید محترم سرکار خانم دکتر عریان و جناب آقای دکتر پریور که زحمت داوری این پایان نامه را تقبل نمودند، صمیمانه تشکر می نمایم.

از سرکار خانم میرابولقاسمی در آزمایشگاه بافت شناسی متشکرم که کمال همکاری را با اینجانب داشته اند.

از تمامی اساتید گرانمایه گروه زیست شناسی دانشگاه تربیت معلم تهران که در طی دوران کارشناسی و کارشناسی ارشد از محضرشان بهره برده ام، تشکر و قدردانی می نمایم.

از اساتید و دانشجویان گروه آناتومی دانشگاه تربیت مدرس با همکاری صمیمانه شان سپاسگزارم.

نهایت سپاس و قدردانی را نثار پدر و مادر عزیزم که همواره در تمامی زندگی بزرگترین مشوق، پشتوانه و غمخوارم بوده اند، می نمایم.

از استادان فرهیخته، جناب آقای دکتر قره گزلو و بانوی بزرگوارشان سرکار خانم پورخصالی که آیین هستی و رسم اخلاق و درستی را از ایشان آموختم بسیار سپاسگزارم.

از تمامی همکلاسی های خوبم که در لحظات شادی و غم در کنارم بوده اند، ممنون هستم. برای همگی شان آرزوی موفقیت روزافزون را خواهانم.

چکیده

متفورمین سالهاست که جهت درمان دیابت نوع 2 استفاده می شود. این دارو هم چنین در بهبود بیماران سندرم پلی کیستیک تخمدان(PCOS)، اعاده ی سیکل های قاعدگی و القای اوولاسیون موثر بوده است. متفورمین از طریق فعال کردن پروتئین کیناز فعال شونده توسط آدنوزین مونو فسفات(AMPK) می تواند موجب پیشروی بلوغ میوزی تخمک های موش در محیط *in vitro* گردد.

زهرزنبور ترکیبی پیچیده از آنزیم ها، پروتئین، پپتید و سایتوکین ها است. مطالعات *in vivo* حاکی از اثرات درمانی زهرزنبور بر بیماران PCOS و تکوین فولیکول های تخمدان می باشد. در این پژوهش بر آن شدیم که اثر مستقیم متفورمین و زهرزنبور را بر رشد و میزان ماندگاری فولیکول های تخمدان موش و نیز نرخ بلوغ تخمک ها بررسی نماییم.

بدین منظور فولیکول های نابالغ را از تخمدان موش های 14 روزه خارج کرده و در محیط کشت قطره ای α-MEM حاوی مکمل هایی چون Insulin-transfferin-selenium(ITS) 1%، 100 mIU/ml FSH و 5% FBS تحت روغن مینرال به مدت 14 روز کشت می دهیم. متفورمین، زهرزنبور و یا هر دو نیز به عنوان مکمل اضافه شد. قطر فولیکول ها تا روز چهارم کشت و نیز میزان ماندگاری آنها به صورت هر دو روز یکبار سنجیده شد. در روز دوازدهم به منظور القای اوولاسیون از hCG و rEGF استفاده نمودیم و وضعیت تخمک های اووله شده بررسی شد.

یافته ها نشان داد که قطر فولیکول ها در روز دوم کشت در اثر تیمار با متفورمین(P <0/01) ، زهرزنبور(P <0/05) و با هم افزایی آنها (P <0/05) به طور معنی داری افزایش یافت. در روز چهارم کشت نیز رشد فولیکول ها در گروه متفورمین (P <0/001)، زهرزنبور(P <0/05) و هم افزایی آن دو(P <0/01) افزایش معنی داری داشت. درصد ماندگاری فولیکول ها در گروه

متفورمین و هم افزایی افزایش و در گروه زهرزنبور کاهش یافت که هیچکدام معنی دار نبود. درصد تخمک های ژرمینال وزیکول (GV) در گروه متفورمین(P <0/001) ، زهرزنبور(P <0/01) و هم افزایی این دو(P <0/01) به طور معنی داری کاهش یافت و در مقابل بر تعداد تخمک های MI و MII (مرحله متافاز I و II) در هر سه گروه تیماری افزوده شد؛ هرچند که این افزایش معنی دار نبود. در ضمن اختلاف معنی داری در میزان تشکیل حفره آنتروم میان گروه ها مشاهده نشد.

یافته های این تحقیق نشانگر اثر متفورمین و زهرزنبور بر افزایش رشد فولیکول های تخمدان در محیط *in vitro* و نیز افزایش پیشروی و بلوغ میوزی تخمک است؛ که بر روی هم موجب آمادگی بیشتر آن برای لقاح می شود.

واژگان کلیدی : فولیکول های پره آنترال، متفورمین، زهرزنبور، کشت و بلوغ آزمایشگاهی فولیکول های تخمدان

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه 1

1-1- تکوین فولیکول های تخمدان 2

1-1-1- فولیکول های بدوی 3

1-1-2- فولیکول اولیه 4

1-1-3- فولیکول ثانویه 5

1-1-4- مرحله پره آنترال 6

1-1-5- فولیکول آنترال 7

1-1-6- اوولاسیون، لوتئینیزاسیون و تشکیل جسم زرد 7

1-2- تکوین تخمک 7

1-2-1- بلوغ هسته ای 8

1-2-1-1- شکست ژرمینال وزیکول(GVBD) 9

1-2-1-1-1- مکانیسم توقف شکست ژرمینال وزیکول 10

1-2-1-1-1-1- سیکلیک آدنوزین مونوفسفات(cAMP) 10

1-2-1-1-1-1-1- منبع cAMP متوقف کننده ی GVBD در تخمک 11

1-2-1-1-1-2- پورین ها 11

1-2-1-2- مکانیسم کلی عمل مهارکننده های میوز 12

1-2-1-3- القای GVBD توسط گنادوتروپین ها 13

1-2-1-4- فاکتور محرک بلوغ تخمک 14
1-2-2- بلوغ سیتوپلاسمی 15
1-2-3- برهم کنش های تخمک و سلول های سوماتیک 15
1-3- روش های جداسازی فولیکول 16
1-3-1- روش آنزیمی 16
1-3-2- روش مکانیکی 17
1-4- سیستم های کشت فولیکول 18
1-4-1- سیستم کشت سه بعدی 20
1-4-2- سیستم کشت دو بعدی 20
1-5- معرفی داروی متفورمین 21
1-5-1- تمهیدات لازم در مصرف متفورمین 22
1-5-2- فارماکولوژی بالینی 23
1-5-2-1- اثرات کاهندگی گلوکز خون 23
1-5-2-2- سایر اثرات فارماکولوژیکی و متابولیکی 24
1-5-3- فارماکوکینتیک 24
1-5-4- تداخلات دارویی 24
1-5-5- عوارض جانبی 25
1-5-5-1- لاکتیک اسیدوزیس 25
1-5-6- متفورمین و اختلالات تخمدان 26
1-5-6-1- سندرم پلی کیستیک تخمدان(PCOS) 26

1-5-6-2- متفورمین و PCOS 27
1-6- معرفی زهرزنبور عسل 28
1-6-1- مشخصات زهرزنبور 29
1-6-2- خواص پروتئین های زهر زنبور 30
1-6-3- خواص پپتیدهای زهرزنبور 31
1-6-3-1- ملیتین 31
1-6-3-2- آپامین 31
1-6-3-3- پپتید MCDP 32
1-6-3-4- سکاپین 32
1-6-3-5- ترتیاپین 32
1-6-3-6- آدولاپین 32
1-7- اهداف تحقیق حاضر 33

فصل دوم: مواد و روش ها 34

2-1- لزوم انتخاب مدل موش در تحقیقات کشت فولیکول 35
2-2- وسایل مورد نیاز 36
2-3- مواد مورد نیاز 37
2-4- طرز تهیه ی محیط کشت 38
2-5- تهیه محلول FSH 39
2-6- تهیه محلول hCG 39

2-7- اضافه کردن سایر مکمل ها..... 40
2-8- طرز تهیه محلول متفورمین..... 40
2-9- طرز تهیه محلول زهرزنبور عسل..... 40
2-10- طرح کلی آزمایش..... 41
2-11- کشت فولیکول های تخمدان 41
2-11-1- آماده سازی ظرف کشت..... 41
2-11-2- جداسازی تخمدان..... 42
2-11-3- جداسازی و کشت فولیکول ها 42
2-12- بررسی فولیکول های کشت شده..... 43
2-12-1- تعیین قطر فولیکول..... 43
2-12-2- تعیین درصد زنده ماندن..... 43
2-12-2-1- تعیین قطر فولیکولی مناسب جهت کشت..... 43
2-12-2-2- چگونگی بررسی زنده ماندن فولیکول ها..... 44
2-12-3- القای تخمک گذاری..... 44
2-13- کشت فولیکول و دوز متفورمین..... 44
2-14- کشت فولیکول و تعیین دوز مناسب زهرزنبور..... 45
2-15- آنالیز آماری..... 45

فصل سوم: نتایج 48

3-1- نتایج آزمایش مقدماتی(Pilot) 49

3-1-1- تعیین اندازه مناسب فولیکول پره آنترال..... 49
3-1-2- اثر دوزهای مختلف زهرزنبور بر تکوین فولیکول ها و تعیین دوز مناسب..... 50
3-2- نتایج آزمایشات اصلی..... 51
3-2-1- نتایج بررسی قطر فولیکول ها..... 51
3-2-2- مورفولوژی فولیکول ها در دوره کشت..... 52
3-2-3- نتایج میزان زنده ماندن فولیکول ها..... 52
3-2-4- میزان تشکیل آنتروم..... 53
3-2-5- میزان تخمک های GV..... 53
3-2-6- میزان تکوین تخمک های MI..... 53
3-2-7- میزان تکوین تخمک های MII..... 54

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری..... 66
4-1- کشت فولیکول های تخمدان..... 67
4-2- متفورمین و تکوین فولیکول های تخمدان..... 77
4-3- زهرزنبور و تخمدان..... 86
4-4- نتیجه گیری کلی..... 89
4-5- پیشنهادات..... 90

فصل پنجم: منابع..... 91

فهرست جداول و نمودارها

جدول 3-1- تعداد و درصد فولیکول های رنگ آمیزی شده توسط تریپان بلو..... 55

جدول 3-2- مقایسه قطر متوسط فولیکول ها در غلظت های زهرزنبور µg/ml 1و2 57

جدول 3-3- مقایسه قطر متوسط فولیکول ها در گروه های مورد مطالعه..... 60

جدول 3-4- تکوین فولیکول های کشت شده در گروه های مختلف مورد مطالعه 61

نمودار 3-1- درصد زنده ماندن فولیکول های جدا شده و رنگ آمیزی شده با تریپان بلو در سه اندازه ی مختلف..... 55

نمودار 3-2- درصد زنده ماندن فولیکول ها در غلظت های متفاوت زهرزنبور 56

نمودار3-3- مقایسه قطر متوسط فولیکول ها در غلظت های زهرزنبور µg/ml 1و2..... 57

نمودار 3-4- مقایسه قطر متوسط فولیکول ها بین گروه های کنترل و متفورمین 58

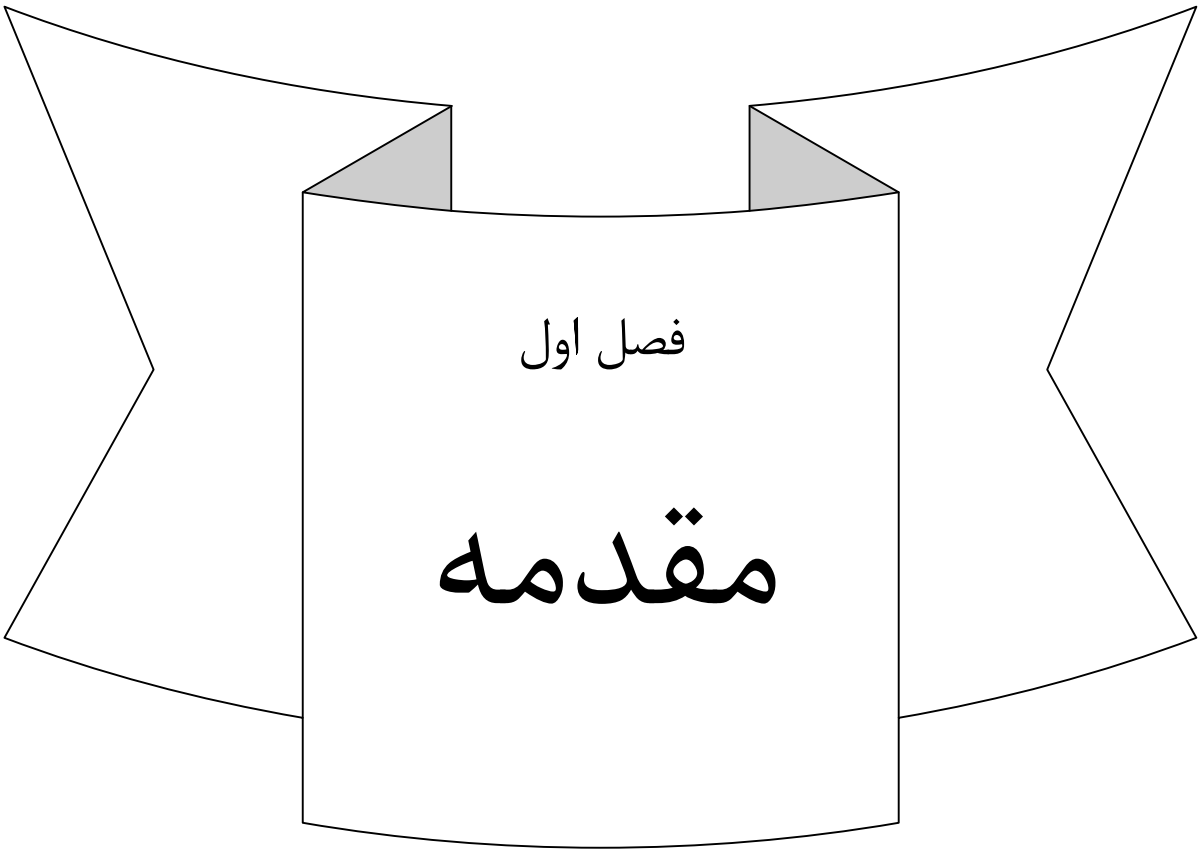
نمودار 3-5- مقایسه قطر متوسط فولیکول ها بین گروه های کنترل و زهرزنبور..... 58

نمودار 3-6- مقایسه قطر متوسط فولیکول ها بین گروه های کنترل و گروه هم افزایی متفورمین و زهرزنبور 59

نمودار 3-7- مقایسه میزان بقای تخمک GV در بین گروه های مورد مطالعه..... 62

فهرست شکل ها

شکل 2-1- تخمدان جداشده در زیر استریو میکروسکوپ 46
شکل 2-2- جداسازی مکانیکی فولیکول ها توسط سوزن انسولین 46
شکل 2-3- ظرف کشت حاوی قطره ها در زیر روغن مینرال 47
شکل 3-1- فولیکول در روز شروع کشت به همراه تخمک GV 63
شکل 3-2- فولیکول در روز چهارم کشت 63
شکل 3-3- فولیکول پره آنترال شامل حفرات مملو از مایع 64
شکل 3-4- تشکیل حفره واحد آنتروم در محیط *in vitro* 64
شکل 3-5- تشکیل تخمک MI 65
شکل 3-6- تشکیل تخمک MII 65


فصل اول
مقدمه

1-1- تکوین فولیکول های تخمدان

دو عملکرد کلیدی تخمدان، تولید تخمک های قابل لقاح و شایسته از نظر رشدونموی و ترشح هورمون های استروئیدی است که برای لقاح و دوران بارداری مورد نیاز می باشند. فولیکول ها واحد عملکردی و ساختمانی تخمدان پستانداران هستند که شامل تخمک، سلول های گرانولوزای اطراف، غشای پایه و سلول های تکای مجاور غشای پایه هستند(Hirshfield, 1991). برای تحقق یافتن پتانسیل استروئیدوژنیک، فولیکول ها باید از یک سری مراحل رشدونموی عبور نمایند. فولیکولوژنزیس تخمدانی، فرایندی پویا بوده که با تقسیم و تمایز قابل ملاحظه سلول های سوماتیک یعنی سلول های گرانولوزا مشخص می شود. فولیکول در حال تکوین محیطی مناسب و مطلوب را جهت بلوغ تخمک فراهم می آورد(Armstrong & Webb, 1997).

طبق نظریه ی Goodman و Hodgen فولیکولوژنزیس را می توان به سه مرحله ی مجزا تقسیم نمود:

1- بسیج فولیکول ها[1] : مرحله ای که در آن گروهی از فولیکول ها شروع به رشد می کنند.

2- انتخاب فولیکول ها[2]: طی این مرحله تعدادی فولیکول برای ادامه ی رشد بیشتر انتخاب شده و به سمت مراحل بعدی تکوین پیش می روند.

3- غالبیت فولیکول ها[3] : در این مرحله فولیکول های غالب در مسیر تکوین سریع قرار گرفته و به سوی مرحله اوولاسیون[4] پیش می روند، در حالیکه رشد سایر فولیکول ها متوقف می شود(Goodman & Hodgen, 1983). الگوی تکوین فولیکول، در راستای تغییراتی است که در بیان mRNA های رمزکننده ی گیرنده های گنادوتروپین (Webb et al., 1992) و آنزیم

1- Recruitment of follicles
2- Selection process of follicle
3- Dominant follicles
4- Ovulatory stage

های استروئیدوژنیک صورت می گیرد و به فولیکول های منتخب اجازه می دهد که چنانچه در معرض محیط هورمونی مناسب قرار گیرند، به افزایش ناگهانی گنادوتروپین مربوطه پاسخ داده و تخمک خود را آزاد نمایند(Campbell et al., 1995).

تخمدان جنینی (در برخی گونه ها تخمدان نوزاد تازه متولد شده) مملو از میلیون ها فولیکول بدوی[5] می باشد. اکثر این فولیکول ها در طی زندگی قبل[6] و یا بعد از تولد[7] دژنره می شوند. از میان میان فولیکول های بدوی که باقی مانده[8] و به سوی فولیکول های در حال رشد[9] پیش می روند، مقادیر کمی(کمتر از 0/1 درصد) سر انجام اوله می شوند؛ اکثر آنها در نقاطی در طی سلسله مراتب طولانی رشد و نموی دژنره می شوند(مدتی به اندازه ی حدود دو هفته در جوندگان و بیشتر از سه ماه در انسان و گوسفند)(Hartshorne, 1997) .

پیشروی مراحل متوالی تکوین فولیکول نیازمند برهم کنش های دوجانبه میان تخمک و سلول های گرانولوزا؛ و هم چنین بین سلول های تکا و گرانولوزا می باشد(Eppig, 2001) .

1-1-1- فولیکول های بدوی :

در اکثر پستانداران، فولیکول های بدوی، قبل از تولد کاملاً حفظ شده و ذخیره ی تخمدانی[10] را تشکیل می دهند. پیشروی فولیکول های بدوی باقیمانده به سمت جمعیت فولیکول های در حال رشد، در دوره ی جنینی آغاز می شود و در طی زندگی پس از تولد ادامه می یابد تا اینکه ذخیره ی تخمدانی خالی گردد و فولیکولوژنزیس متوقف شود. مکانیسم های دقیق ((دوباره بیدار

1- Primordial follicles
2 - Prenatal phase
3- Postnatal phase
4- Resting primordial follicles
5- Growing follicles
6- Ovarian reserve

شدن))[11] این فولیکول ها تا کنون مشخص نشده است؛ اگرچه دیده شده میزان فولیکول های بدوی که به مخزن رشد[12] ملحق می شوند به طور مثبتی به اندازه ی ذخیره ی تخمدانی مربوط است(Gougeon, 1996 ; Peters,) 1979. در موش، فرایند و نظمی که در چنین فولیکول هایی موجب شروع رشد آنها می شود از زمانی که آنها در تخمدان جنینی تشکیل می گردند، برنامه ریزی شده است(Henderson & Edwards, 1968; Polani & Crolla, 1991). در جوندگان، تشکیل فولیکول های تخمدان در طی اولین روزهای پس از تولد روی می دهد به طوری که زمان بندی آن بسته به گونه ی جانوری متفاوت است؛ اما در حیوانات اهلی و پریمات ها، تشکیل فولیکول در طول حیات جنینی صورت می گیرد؛ بنابراین در این گونه ها، فولیکول ها در یک دوره ی زمانی طولانی تری نسبت به جوندگان به وجود می آیند (Van den Hurk et al., 2000). هم چنین یک سیگنالینگ درون تخمدانی میان فولیکول های بدوی باقیمانده، فولیکول های در حال رشد و استرومای تخمدانی برقرار است؛ به طوریکه در احشام، استرومای تخمدانی ممکن است یک اثر بازدارنده داشته باشد(Wandji et al., 1996).

فولیکول های بدوی شامل یک تخمک هستند که در مرحله ی دیپلوتن از فاز میوز I متوقف شده است. این تخمک اولیه، توسط یک لایه از سلول های مسطح سنگفرشی (گاهی تحت عنوان سلول های پیش گرانولوزا[13] خوانده می شوند) در بر گرفته شده است. زمانی که تعدادی فولیکول از منبع در حال استراحت[14] خارج می شوند، فولیکول های دیگری در حال تشکیل هستند، از این رو

7- Re-awaken
1- Growing pool
2- Pre-granulosa cells
3- Resting pool

تخمدان جنین همزمان حاوی فولیکول های پره آنترال[15] در حال رشد و فولیکول های آنترال اولیه است (Cecconi, 2002) .

1-1-2- فولیکول اولیه :

همزمان با آنکه فولیکول ها از حالت استراحت خارج می شوند، سلول های گرانولوزا مکعبی شکل شده و شروع به بیان نشانگرهای تقسیم سلولی از قبیل PCNA[16] می کنند (Xu et al., 1995a; 1995b). تبدیل فولیکول از بدوی به اولیه[17] می تواند فرایندی طولانی مدت باشد ، به همین دلیل اغلب می توان فولیکول هایی با تعدادی سلول گرانولوزای سنگفرشی و مکعبی را همزمان در *in vivo* مشاهده نمود. در فولیکول اولیه سلول های گرانولوزا توسط غشای پایه احاطه می شود. لازم به ذکر است که تشکیل لایه ی زونا پلوسیدا[18] در طول تبدیل فولیکول های بدوی به اولیه نقطه ی عطف دیگری است(Scaramuzzi et al., 1993) .

1-1-3- فولیکول ثانویه

فولیکول های ثانویه با ایجاد لایه ی دوم سلول های گرانولوزا شروع به شکل گرفتن نموده و این لایه ی سلولی به 6 تا 7 لایه در حول تخمک می رسد. تکوین این فولیکول ها به سوی مرحله ی پره آنترال شامل مواردی از قبیل: بزرگ شدن تخمک، تشکیل مشخص زونا پلوسیدا، تکثیر گسترده لایه های سلول گرانولوزا، تشکیل بازال لامینا، تراکم سلول های استرومایی حول بازال لامینا برای تشکیل لایه تکا و تکوین فضاهای مملو از مایع[19] است. این مرحله سپس با تشکیل تدریجی حفره ای با قطر حدود 250 µm در فولیکول خاتمه می یابد. دوران این پیشروی در میان گونه های

4- Preantral follicles
1- Proliferating cell nuclear antigen
2- Primary follicles
3- Zona pellucida
4- Fluid-filled spaces

متنوع، متفاوت است. برای مثال فولیکول های جوندگان در اواخر مرحله ی اولیه[20] و اوایل مرحله ی ثانویه[21] دارای لایه ی تکای واضحی می شوند (Scaramuzzi et al., 1993) ؛ اما در گاو، اسب و پریمات ها تا اواسط یا اواخر مرحله ی پره آنترال لایه ی تکا تشکیل نمی شود (Thibault, 1977; Moor et al., 1996) .

1-1-4- مرحله پره آنترال

مرحله پره آنترال فولیکول به روش های مختلفی طبقه بندی می شود که هم در بین گونه ها و هم در درون گونه ها با یکدیگر متفاوت است، اما رایج ترین روش، متعلق به Perdersen و Peters است که در مورد فولیکول های موش ارائه شد اما به منظور سادگی توصیف مقایسه ی بین گونه ها و نیز مطالعه ی مربوط به فاکتورهایی که ممکن است تنظیم کننده ی تکوین فولیکول های پره آنترال باشد؛ مراحل تکوین فولیکول های پره آنترال موش را به 3 مرحله ی پره آنترال کوچک (30-90 µm) ، پره آنترال متوسط (90-150 µm) و پره آنترال بزرگ (150- 220µm) تقسیم می کنند (Cecconi, 2002) .

پیشروی فولیکول به سمت مرحله ی آنترال با وقایعی نظیر تکثیر مستمر سلول های گرانولوزا و تکا، افزایش رگ زایی[22] لایه ی تکا، بزرگ شدن بیشتر تخمک و افزایش نسبی سریع در قطر و حجم آن همراه است. پیشروی رشدونمو فولیکول در مراحل نهایی پره آنترال[23]/ مراحل ابتدایی آنترال[24] وابسته به حمایت گنادوتروپین ها به ویژه FSH [25] می شود که در جوندگان این واقعه در مرحله ی پره آنترال صورت می گیرد (Dufour et al., 1979; Cortvrindt et al., 1997).

5- Late primary
6- Early secondary
1- Vascularization
2- Late preantral stage
3- Early antral stage
4- Follicle stimulating hormone

لایه ی تکای خارجی که لایه ای پرعروق است در مراحل پیشرفته تر تکوین فولیکول های پره آنترال، تشکیل می شود(Smitz & Cortvrindt, 2002) .

1-1-5- فولیکول آنترال

در فولیکول های آنترال، حفره ی آنترال وسیع شده و سبب راندن تخمک به کناره ی فولیکول می شود و همزمان توسط تعدادی سلول تخصص یافته تحت عنوان سلول های کومولوس[26] احاطه می گردد، که تخمک در این زمان به حداکثر اندازه ی خود می رسد (Eppig & Schroeder, 1989) .

1-1-6- اوولاسیون، لوتئینیزاسیون و تشکیل جسم زرد

برای نسبت کمی از فولیکول ها که به مرحله ی اوولاسیون[27] می رسند، فولیکولوژنزیس با رهاسازی کمپلکس تخمک-کومولوس[28] و به دنبال آن تشکیل جسم زرد[29] در طی فرایندی به نام لوتئینیزاسیون[30] به پایان می رسد. جسم زرد تازه تشکیل شده مقادیر زیادی پروژسترون(و استروژن در پریماتها) ترشح می کند که برای بارداری اساسی و لازم است (Knight & Glister, 2006).

1-2- تکوین تخمک

هدف اصلی اووژنزیس، تولید تخمک شایسته از نظر رشدونموی[31] با قابلیت باروری است. تخمک برای حصول باروری نیاز به تأمین سه اصل زیر دارد:

1- Cumulus cells
2- Ovulatory stage
3- Cumulus oophorus
4- Corpus luteum
5- Luteinization
6- Developmental competence