



دانشگاه رازی

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست شناسی - علوم

جانوری، گرایش تکوینی

با عنوان:

بررسی اثر فشار هیدروستاتیک بر فولیکول‌های **Preovulatory** موش پس از تحریک
تخمک گذاری

اساتید راهنما:

دکتر علی امینی

دکتر مه‌ری آزاد بخت

نگارش:

مریم مؤمنی

شهریورماه ۱۳۸۸

خداوند منان را سپاسگزارم که به من فرصت و توانایی کسب دانش عطا فرمود.

با تشکر و سپاس فراوان از:

استاد راهنما خانم دکتر مهری آزاد بخت و آقای دکتر علی ایمنی که در طول تحصیل بهمناره مرا از راهنمایی بی دریغ و محبت بی شائبه خود بهره نمودند.

استاد کرامی گروه زیست شناسی که افتخار شاگردی ایشان را داشتم.

آقای دکتر خزایی داور خارجی پایان نامه از دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه و آقای دکتر بید مشکلی پور داور داخلی پایان نامه از گروه زیست شناسی که زحمات داوران را به عهده داشتند.

خانم مختاری منشی دوست داشتنی و محترم گروه زیست شناسی به خاطر کمک های دلسوزانه شان.

اعضای خانواده ام؛ پدر، مادر، برادران و خواهران عزیز و دوست داشتنی ام که بهمناره در مقاطع مختلف تحصیلی مشوق و یاریگر من بودند.

آقای مهندس گل محمدی به خاطر تمام زحمات و محبت هایشان.

دوستان و همکاران گرامیم در آزمایشگاه زیست شناسی تکوین خانم باهرامی کمانگر، رشیدی، معتمدی، رئوفی، اجاقی، شانی،

کلهری، قنبری، زینعلی، افروشه، مرتضوی و آقایان تملی، ژاله، سمیعی، برنده، بازدار، کهتری، حرمشاهی، نجفی و سایر دوستانی

که در آزمایشگاه های گروه زیست شناسی بهمناره مرا مورد لطف خود قرار دادند.

همکاران و دوستان عزیزم در معاونت پژوهشی دانشگاه رازی خانم بااسماعیلی، حیدریان، یزدان فر

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی،
به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان که در سردترین روزگار ان بهترین پشتیبان است،
به پاس قلب های بزرگشان که فریاد رس است و سرکردانی و ترس دیناهاشان به شجاعت می گراید،
و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند،

این مجموعه پیشگشی است به حضور پدر و مادر عزیزم.

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و
نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه رازی است.

چکیده

بلوغ تخمک فرآیندی است که حین آن تخمک شایستگی لازم را برای لقاح و تکوین جنین به دست می‌آورد. جهت کاربردهای کلینیکی، بسیاری از تخمک‌ها از فولیکول‌های تخمدان خانم‌هایی به دست می‌آید که به وسیله هورمون تیمار شده‌اند. اثرات جانبی استفاده از هورمون ایجاد سندروم تحریک بیش از حد تخمدان و یا سندروم تخمدان پلی کیستیک است. بنابراین لازم است که بدون استفاده از هورمون، تخمک‌ها گرفته شده و سپس در آزمایشگاه بالغ شوند. فشار هیدروستاتیک نیروی مکانیکی مؤثر در سیستم تولید مثلی است. در فولیکول‌های در حال تخمک‌گذاری افزایش تدریجی در فشار مایع درون فولیکولی (بین ۲۰-۱۵ میلیمتر جیوه) در طی مراحل انتهایی فرآیند تخمک‌گذاری وجود دارد. در این مطالعه ما اثر فشار هیدروستاتیک بر بلوغ تخمک‌های به دست آمده از تخمدان تحریک شده و تحریک نشده و همچنین اثر فشار هیدروستاتیک بر بقای سلول‌های کومولوس-تخمک (COCs) حاصل از آنها را بررسی کردیم. همچنین اثر فشار هیدروستاتیک بر میزان تخمک‌گذاری در محیط کشت نیز مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، موش‌های ماده با رده سنی ۸-۶ هفته نژاد NMRI در دو آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند: در آزمایش II موش‌ها ۱۰ IU PMSG دریافت کردند و در آزمایش I موش‌ها هورمونی دریافت نکردند. سپس فولیکول‌های پیش تخمک‌گذاری با قطر تقریبی ۵۰۰ میکرومتر از تخمدان موش‌ها جدا شده و هر فولیکول پیش تخمک‌گذاری در قطره محیط کشت MEM- α همراه با ۰.۵٪ FBS، ۱۰۰ IU/ml rFSH، ۱۰ ng/ml EGF، ۷ IU/ml HCG بود. در هر آزمایش فولیکول‌ها به گروه‌های کنترل (بدون اعمال فشار هیدروستاتیک، کنترل I و II) و تیمار (در معرض فشار هیدروستاتیک، تیمار I و II) تقسیم شدند. فولیکول‌ها در تیمار I و II در محفظه فشار در معرض ۲۰ میلیمتر جیوه فشار هیدروستاتیک به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. در گروه‌های کنترل فولیکول‌ها در محفظه فشار بدون اعمال فشار هیدروستاتیک قرار گرفتند. سپس فولیکول‌ها برای مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت جهت بلوغ تخمک کشت داده شدند. بقای سلول‌های کومولوس-تخمک به وسیله‌ی رنگ آمیزی افتراقی (پروپیدیوم یدید و بیس بنزآمید) در ۰ و ۲۴ ساعت پس از کشت بررسی شد.

نتایج نشان داد که میزان بلوغ تخمک در تیمار I نسبت به کنترل I به طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.05$). میزان تشکیل GVBD و MII در تیمار I نسبت به کنترل II و تیمار II افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). میزان زنده ماندن سلول‌های کومولوس در تیمار I و II به ترتیب نسبت به کنترل I و II کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). در ساعت صفر میزان زنده ماندن سلول‌های کومولوس-تخمک در کنترل I نسبت به کنترل II و تیمار II و نیز در تیمار I در مقایسه با تیمار II کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). در ساعت ۲۴ میزان زنده ماندن سلول‌های کومولوس-تخمک در کنترل II نسبت به کنترل I و تیمار II و نیز در تیمار I در مقایسه با کنترل II و تیمار II کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). بر طبق یافته‌های این مطالعه، فشار هیدروستاتیک با اثر مثبت بر فولیکول پیش تخمک‌گذاری کاهش بلوغ آزمایشگاهی پس از تحریک هورمونی را جبران کرده و میزان بلوغ آزمایشگاهی تخمک را بهبود می‌بخشد. از سوی دیگر، فشار هیدروستاتیک احتمالاً به عنوان عاملی برای القای مرگ سلولی میزان بقای سلول‌های کومولوس را کاهش داده و سبب جدا شدن سلول‌های کومولوس و دسترسی بهتر فاکتورها و هورمون‌ها به تخمک و بلوغ آن می‌شود.

کلمات کلیدی: فولیکول پیش تخمک‌گذاری، بلوغ آزمایشگاهی تخمک (IVM)، فشار هیدروستاتیک، مرگ سلولی، موش

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	فصل اول - مقدمه
۱-۱-۱	فولیکول زایی
۲
۱-۲-۱	ساختار فولیکول
۲
۱-۲-۱-۱	تخمک
۳
۱-۲-۱-۲	ناحیه شفاف
۳
۱-۲-۱-۳	سلول های گرانولوزا
۳
۱-۲-۱-۴	آنتروم و مایع فولیکولی
۴
۱-۲-۱-۵	غشاء پایه
۴
۱-۲-۱-۶	لایه تکا
۴
۱-۳-۱	مراحل تکوین فولیکول
۵
۱-۳-۱-۱	فولیکول بدوی
۵
۱-۳-۱-۱-۱	فرآیند برگزیده شدن فولیکول بدوی
۷
۱-۳-۱-۲	فولیکول آغازین
۹
۱-۳-۱-۲-۱	بیان گیرنده ی FSH
۱۰
۱-۳-۱-۲-۲	رشد و تمایز تخمک
۱۱
۱-۳-۱-۲-۳	توسعه اتصالات باز بین تخمک و سلول های گرانولوزا
۱۲
۱-۳-۱-۳	فولیکول ثانویه
۱۴
۱-۳-۱-۴	فولیکول پره آنترال
۱۶
۱-۳-۱-۵	فولیکول ثالث اولیه
۱۶
۱-۳-۱-۵-۱	حفره دار شدن
۱۷
۱-۳-۱-۵-۲	معماری فولیکول آنترال
۱۷
۱-۳-۱-۶	فولیکول ثالث انتهایی
۱۹
۱-۳-۱-۶-۱	انتخاب فولیکول غالب
۲۰

عنوان	صفحه
۲-۶-۳-۱- سیگنال FSH و عملکرد آن در سلول‌های گرانولوزا	۲۰
۳-۶-۳-۱- تحریک میتوز	۲۱
۷-۳-۱- فولیکول پیش تخمک‌گذاری	۲۱
۸-۳-۱- جسم زرد	۲۳
۴-۱- ژن‌ها و فاکتورهای مؤثر در تکوین فولیکول‌های تخمدان	۲۳
۱-۴-۱- Figla	۲۳
۲-۴-۱- Nobox	۲۴
۳-۴-۱- Kit و گیرنده‌ی Kit	۲۴
۴-۴-۱- AMH	۲۴
۵-۴-۱- Foxl2	۲۵
۶-۴-۱- GDF9	۲۵
۷-۴-۱- BMP15	۲۵
۸-۴-۱- FGF2	۲۶
۹-۴-۱- FGF7	۲۶
۱۰-۴-۱- LIF	۲۶
۱۱-۴-۱- نوروتروفین‌ها و گیرنده‌های آنها	۲۷
۵-۱- عملکرد هورمون‌ها	۲۸
۶-۱- آترزی فولیکول	۲۸
۷-۱- بلوغ تخمک	۲۹
۱-۷-۱- اووژنز	۲۹
۱-۱-۷-۱- اووسیتوژنز	۲۹
۲-۱-۷-۱- اووتیدوژنز	۲۹
۳-۱-۷-۱- بلوغ نهایی برای تشکیل اووم	۳۰

۸-۱- تنظیم بلوغ تخمک.....	۳۱
۱-۸-۱- بلوغ هسته‌ای تخمک.....	۳۱
۲-۸-۱- بلوغ سیتوپلاسمی تخمک.....	۳۲
۹-۱- بلوغ آزمایشگاهی تخمک.....	۳۴
۱-۹-۱- اهمیت نیاز به بلوغ آزمایشگاهی تخمک در انسان.....	۳۵
۲-۹-۱- مشکلات بلوغ آزمایشگاهی تخمک.....	۳۶
۱۰-۱- تغییرات در فولیکول پیش تخمک‌گذاری در زمان نزدیک شدن به آزاد شدن تخمک.....	۳۷
۱۱-۱- القای تخمک‌گذاری.....	۳۸
۱۲-۱- اثر فشار هیدروستاتیک بر سیستم‌های زیستی.....	۴۰
۱-۱۲-۱- فشار هیدروستاتیک در اندام‌های تولید مثلی ماده.....	۴۱
۲-۱۲-۱- فشار هیدروستاتیک در مایع داخل فولیکولی.....	۴۲
۱۳-۱- فرضیه تحقیق.....	۴۳

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۱-۲- مواد مصرفی.....	۴۵
۱-۱-۲- محیط کشت (MEM- α).....	۴۵
۲-۱-۲- آنتی بیوتیک پنی سیلین - استرپتومایسین (Pen / Strep).....	۴۵
۳-۱-۲- سرم جنین گاوی (FBS).....	۴۶
۴-۱-۲- هورمون نوترکیب تحریک کننده فولیکول (Gonal-F).....	۴۶
۵-۱-۲- هورمون گنادوتروپین سرم مادیان (PMSG).....	۴۶
۶-۱-۲- هورمون گنادوتروپین جفتی انسانی (HCG).....	۴۷
۷-۱-۲- فاکتور رشد اپیدرمی (EGF).....	۴۷

۴۷.....	۲-۱-۸- روغن معدنی.....
۴۷.....	۲-۱-۹- رنگ پرو پیدیوم یدید (PI).....
۴۸.....	۲-۱-۱۰- رنگ بیس بنزآمید.....
۴۸.....	۲-۱-۱۱- بافر PBS (Ca ²⁺ , Mg ²⁺ free).....
۴۸.....	۲-۱-۱۲- محلول پارافرمالدهید ۴٪ (w/v).....
۴۹.....	۲-۲- وسایل اولیه‌ی مورد نیاز.....
۴۹.....	۲-۳- تجهیزات بنیادی.....
۴۹.....	۲-۴- تقسیم بندی مراحل تحقیق.....
۵۰.....	۲-۴-۱- حیوان آزمایشگاهی.....
۵۰.....	۲-۴-۲- تقسیم بندی موش‌های ماده‌ی بالغ.....
۵۰.....	۲-۴-۳- تشریح موش‌های ماده‌ی بالغ و جدا کردن تخمدان آنها.....
۵۰.....	۲-۴-۴- جدا کردن فولیکول‌های پیش تخمک‌گذاری (آنترال) از تخمدان.....
۵۱.....	۲-۴-۵- انتخاب فولیکول‌های آنترال با کیفیت بالا.....
۵۱.....	۲-۴-۶- تقسیم‌بندی فولیکول‌های آنترال.....
۵۲.....	۲-۴-۷- سیستم اعمال فشار هیدروستاتیک.....
۵۲.....	۲-۴-۸- بررسی تخمک‌گذاری در محیط کشت.....
۵۳.....	۲-۴-۹- بررسی بلوغ تخمک در فواصل زمانی مختلف (Maturation Assay).....
۵۳.....	۲-۴-۱۰- ارزیابی میزان بقای سلول‌های کومولوس- تخمک (COCs).....
۵۴.....	۲-۵- روش‌های آماری.....

فصل سوم: نتایج

۵۶.....	۳-۱- اثر فشار هیدروستاتیک بر فولیکول پیش تخمک‌گذاری در آزمایش‌های I و II.....
---------	-------------------------------------------------------------------------------

عنوان	صفحه
۱-۱-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر میزان بلوغ تخمک‌ها در دوره‌ی کشت در آزمایش I.....	۵۷
۲-۱-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر میزان بلوغ تخمک‌ها در دوره‌ی کشت در آزمایش II.....	۵۸
۳-۱-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر میزان زنده ماندن سلول‌های کومولوس-تخمک در آزمایش I.....	۵۹
۴-۱-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر میزان زنده ماندن سلول‌های کومولوس-تخمک در آزمایش II.....	۵۹
۵-۱-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر میزان تخمک‌گذاری در محیط کشت در آزمایش I.....	۶۰
۶-۱-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر میزان تخمک‌گذاری در محیط کشت در آزمایش II.....	۶۰

فصل چهارم: بحث

۱-۴- بحث.....	۷۵
۲-۴- نتیجه‌گیری.....	۸۱
منابع.....	۸۳

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر بلوغ تخمک‌های به دست آمده از تخمدان تحریک شده و تحریک نشده‌ی موش در دوره‌ی کشت.....	۶۱
جدول ۲-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر میزان زنده ماندن سلول‌های کومولوس-تخمک در دوره‌ی بلوغ تخمک‌های به دست آمده از تخمدان تحریک شده و تحریک نشده‌ی موش	۶۳
جدول ۳-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر میزان تخمک‌گذاری فولیکول‌های به دست آمده از تخمدان تحریک شده و تحریک نشده‌ی موش در محیط کشت.....	۶۵

فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
نمودار ۱-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر بلوغ تخمک‌های به دست آمده از تخمدان تحریک شده و تحریک نشده‌ی موش در دوره‌ی کشت.....	۶۲
نمودار ۲-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر میزان زنده ماندن سلول‌های کومولوس-تخمک در دوره بلوغ تخمک‌های به دست آمده از تخمدان تحریک شده و تحریک نشده‌ی موش.....	۶۴
نمودار ۳-۳- اثر فشار هیدروستاتیک بر میزان تخمک‌گذاری فولیکول‌های به دست آمده از تخمدان تحریک شده و تحریک نشده‌ی موش در محیط کشت.....	۶۶

فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۲	شکل ۱-۱- سیکل تخمدان و مراحل فولیکول زایی
۵	شکل ۱-۲- ساختار فولیکول
۶	شکل ۱-۳- تنظیم مهاجرت سلول‌های زایا
۶	شکل ۱-۴- برش عرضی از تخمدان و فولیکول‌های بدوی آن
۷	شکل ۱-۵- میکروگراف الکترونی فولیکول بدوی انسان
۸	شکل ۱-۶- تخمدان بالغ به سه ناحیه تقسیم می‌شود
۸	شکل ۱-۷- فوتومیکروگرافی از مراحل بدوی فولیکول زایی انسان
۹	شکل ۱-۸- فاکتورهای فعال کننده و مهارکننده برگزیده شدن فولیکول بدوی
۱۰	شکل ۱-۹- ساختار فولیکول آغازین
۱۱	شکل ۱-۱۰- تمایز اولیه ی سلول‌های گرانولوزا حین فولیکول زایی شامل بیان گیرنده‌های FSH است
۱۲	شکل ۱-۱۱- سازماندهی کانکسین‌ها و تشکیل کانکسون، کانال‌های بین سلولی و اتصالات باز
۱۳	شکل ۱-۱۲- نحوه پراکنش CX37، CX43 و CX45 در اتصالات باز کمپلکس تخمک - کومولوس موش براساس مشاهدات میکروسکوپ ایمنوالکترون
۱۴	شکل ۱-۱۳- دیاگرامی از مکانیسم فرضی مهار GVBD یا از سرگیری میوز توسط CAMP
۱۵	شکل ۱-۱۴- ساختار فولیکول ثانویه
۱۶	شکل ۱-۱۵- فولیکول آنترال
۱۷	شکل ۱-۱۶- میکروگراف نوری از فولیکول آنترال انسان با ۰/۴ میلی‌متر قطر در مرحله تشکیل آنتروم
۱۸	شکل ۱-۱۷- نمایی از دیواره فولیکول بالغ
۱۹	شکل ۱-۱۸- دیاگرامی از ساختار فولیکول بالغ
۲۱	شکل ۱-۱۹- دیاگرام مسیر انتقال سیگنال FSH در سلول‌های گرانولوزای فولیکول غالب
۲۲	شکل ۱-۲۰- نمایی از فولیکول پیش تخمک گذاری
۲۳	شکل ۱-۲۱- ساختار جسم زرد
۲۷	شکل ۱-۲۲- ژن‌هایی که در تشکیل فولیکول‌های بدوی و آغازین مهم هستند
۳۰	شکل ۱-۲۳- مراحل اووژنز در پستانداران
۳۲	شکل ۱-۲۴- مدل فرضی برای حضور احتمالی فاکتورها در تخمک‌های GVBD انسان
۵۱	شکل ۲-۱- فولیکول پیش تخمک‌گذاری با کیفیت بالا با قطر تقریباً ۵۰۰ میکرومتر
۵۲	شکل ۲-۲- سیستم اعمال فشار هیدروستاتیک
۶۷	شکل ۳-۱- مورفولوژی فولیکول‌های با کیفیت بالا و فولیکول‌های با کیفیت پایین
۶۸	شکل ۳-۲- مراحل مختلف بلوغ تخمک
۶۹	شکل ۳-۳- مراحل بلوغ تخمک‌های به دست آمده از تخمدان تحریک نشده (آزمایش I)

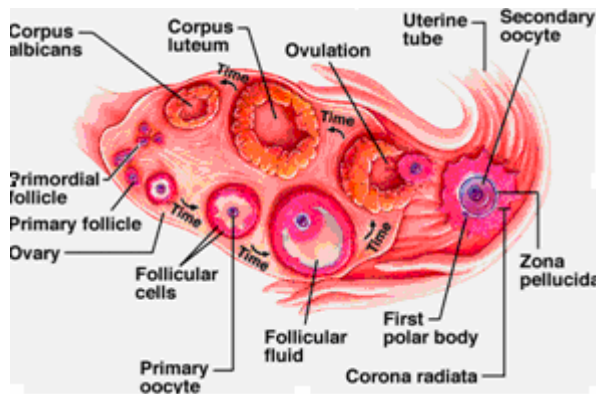
- شکل ۳-۴- مراحل بلوغ تخمک‌های به دست آمده از تخمدان تحریک شده (آزمایش II)..... ۷۰
- شکل ۳-۵- میزان زنده ماندن سلول‌های کومولوس-تخمک به دست آمده از تخمدان تحریک نشده (آزمایش I)..... ۷۱
- شکل ۳-۶- میزان زنده ماندن سلول‌های کومولوس-تخمک به دست آمده از تخمدان تحریک شده (آزمایش II)..... ۷۲
- شکل ۳-۷- تخمک‌گذاری در محیط کشت..... ۷۳

فصل اول

مقدمه

۱-۱- فولیکول زایی^۱

در زیست شناسی، فولیکول زایی، بلوغ فولیکول‌های تخمدان^۲ است. به عبارت دیگر، فولیکول زایی روند رشد تعدادی از فولیکول‌های کوچک به فولیکول‌های بزرگ است که وارد چرخه قاعدگی^۳ می‌شود. این فرآیند زمانی که ذخیره فولیکول‌ها در تخمدان تمام شود، به پایان می‌رسد. تخمدان دارای فولیکول‌هایی در تمام مراحل تکوینی است و با فرآیندی به نام تخمک‌گذاری^۴ یک تخمک بالغ از فولیکول آزاد شده و فولیکول زایی پایان می‌یابد (شکل ۱-۱) (Van den Hurk & Zhao, 2005).



شکل ۱-۱- سیکل تخمدان و مراحل فولیکول زایی
www.octc.kctcs.edu/gcaplan/anat2/notes/Notes2...

۱-۲- ساختار فولیکول

هر فولیکول در تخمدان حاوی یک تخمک نابالغ و سلول‌های اطراف آن است. فولیکول حین فولیکول زایی رشد کرده و تخمک دارای شایستگی برای لقاح، طی تخمک‌گذاری از آن آزاد می‌شود. فولیکول بالغ در تخمدان شامل بخش‌های زیر است:

1. Folliculogenesis
2. Ovary
3. Menstrual Cycle
4. Ovulation

۱-۲-۱- تخمک^۱

گامتوسیت^۲ یا سلول زاینده ماده^۳ (PGC) طی تقسیم میتوز به اووگونیا^۴ تبدیل می‌شود. پس از توقف تقسیم میتوز و شروع تقسیم میوز اووگونیا تخمک نامیده شده و در مرحله پروفاز میوز اول متوقف می‌شود. هسته تخمک را در این مرحله ژرمینال وزیکول^۵ (GV) می‌نامند که در زمان بلوغ و تخمک گذاری تقسیم میوز در آن کامل شده و به تخمک متافاز II^۶ (MII) تبدیل می‌شود (شکل ۱-۲) (Gilbert, 2000).

۱-۲-۲-۱ ناحیه شفاف^۷

غشای گلیکو پروتئینی است که غشای پلاسمایی تخمک را دربر می‌گیرد. اسپرما توزوآ به این بخش متصل می‌شود. ZP3 که یکی از گلیکو پروتئین های ناحیه شفاف است، مسئول اتصال به اسپرم از طریق اتصال به پروتئین های غشای پلاسمایی آن می‌باشد. قشر شفاف برای بقای تخمک و نیز لقاح ضروری است (شکل ۱-۲) (Van den Hurk & Zhao, 2005).

۱-۲-۳-۱ سلول های گرانولوزا^۸

این سلول ها لایه پهن منفردی را در اطراف تخمک پستانداران در فولیکول آغازین و بعدها در فولیکول های در حال رشد، تشکیل می‌دهند. سلول های گرانولوزا ساختار چند لایه ای را در اطراف تخمک در فولیکول بالغ می‌سازند. در این فولیکول، سلول های گرانولوزای توده ای^۹ در اطراف تخمک و سلول های گرانولوزای دیواره ای^{۱۰} در اطراف حفره آنتروم قرار می‌گیرند. عملکرد مهم سلول های گرانولوزا، تولید استروئیدها برای میان کنش با تخمک حین تکوین فولیکول است. هورمون محرک فولیکولی^{۱۱} (FSH) این سلول ها را تحریک می‌کند تا آندروژن ها^{۱۲} را توسط آروماتاز به استرادیول تبدیل کنند (شکل ۱-۲) (Hardy et al., 2000).

1. Oocyte
2. Gametocyte
3. Primordial Germ Cell (PGC)
4. Oogonia
5. Germinal Vesicle (GV)
6. Metaphase II (MII)
7. Zona Pellucida (ZP)
8. Granulosa Cell (GC)
9. Cumulus Granulosa Cell
10. Mural Granulosa Cell
11. Follicular Stimulating Hormon (FSH)
12. Androgen

۱-۲-۴-آنتروم^۱ و مایع فولیکولی^۲

در فولیکول‌های در حال رشد، حفره فولیکول به وجود می‌آید که درون آن را مایع فولیکولی پر می‌کند. تغییرات متابولیسی در سطح سرم در مایع فولیکولی تأثیر می‌گذارد. بنابراین ممکن است کیفیت هر دو سلول تخمک و گرانولوزا را تحت تأثیر قرار دهد. ترکیب این مایع شامل متابولیت‌هایی مانند گلوکز، اوره، پروتئین‌ها، تری‌گلیسریدها، اسیدهای چرب غیرضروری و کلسترول است که در فولیکول‌های بزرگ وجود دارد. تغییر در این ترکیبات منجر به هیپوگلیکمی، کتونمی، اورومی، هیپرلیپیدما، هیپرکلسترولمی و افزایش میزان اسیدهای چرب غیرضروری می‌شود که اثر شدیدی بر میزان لقاح دارد (Leory et al., 2004). ترکیبات مایع فولیکولی در طی رشد و تکوین هر فولیکول تغییر می‌کند. شناخت این ترکیبات به افزایش دانش ما درباره تکوین فولیکول، بلوغ تخمک و آترزی فولیکول کمک زیادی می‌کند (شکل ۱-۲) (Wise, 1987).

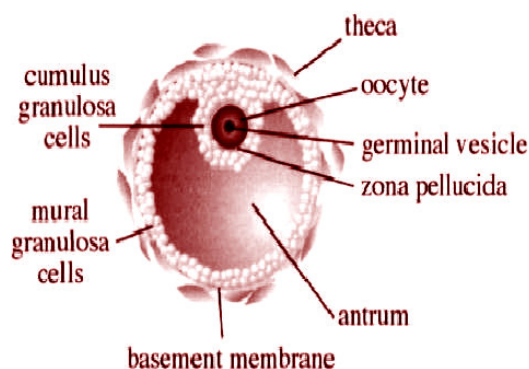
۱-۲-۵- غشاء پایه^۳

لایه‌ای از زمینه خارج سلولی^۴ است که بین لایه تکای داخلی و سلول‌های گرانولوزای دیواره‌ای وجود دارد. این غشا توسط سلول‌های فولیکولی پایه ترشح می‌شود و حاوی کلاژن نوع IV است (شکل ۱-۲) (Leory et al, 2004).

۱-۲-۶- لایه‌ی تکا^۵

سلول‌های پارانشیم تخمدان، فولیکول در حال رشد را در بر گرفته و لایه‌ی تکای فولیکول را به وجود می‌آورند. با رشد مداوم فولیکول، سلول‌های تکا به دو لایه تکای داخلی^۶ و تکای خارجی^۷ متمایز می‌شوند. تکای داخلی سلول‌های دوکی شکل یا چند وجهی هستند که استروژن^۸ می‌سازند و تکای خارجی، ویژگی‌هایی شبیه بافت همبند دارند و دارای سلول‌های ماهیچه‌ای صاف هستند (شکل ۱-۲) (Espey, 1994).

-
- 1 . Antrum
 - 2 . Follicular fluid
 - 3 . Basal Membrane
 - 4 . Extracellular Matrix
 - 5 .Theca Cell
 - 6 .Theca Interna
 - 7 .Theca Externa
 - 8 .Estrogen



شکل ۱-۲- ساختار فولیکول

(Hardy et al., 2000)

۱-۳- مراحل تکوین فولیکول

مراحل تکوین فولیکول در تخمدان به شرح زیر است:

۱-۳-۱- فولیکول بدوی^۱

سلول‌های زایا^۲ در حدود ۳ هفته پس از لقاح به وجود آمده و توسط حرکات آمیبی از اپیتلیوم کیسه زرده از طریق بافت همبند روده پشتی به ستیغ تناسلی^۳ مهاجرت می‌کنند. سلول‌ها حین مهاجرت، به سرعت تکثیر می‌یابند. در انسان در حدود هفته ۴/۵-۳/۵ حاملگی، ستیغ تناسلی توسط یک گروه از سلول‌های مزانشیمی ساخته می‌شود. در حدود هفته هفتم حاملگی سلول‌های مشتق از مزونفروس و اپیتلیوم سلومیک به درون ستیغ تناسلی مهاجرت می‌کنند و طناب‌های مدولاری و طناب‌های جنسی اولیه را تشکیل می‌دهند (شکل ۱-۲) (Smitz & Cortvrindt, 2002).

1 . Primordial Follicle
2 .Germ Cells
3. Gonadal Ridge