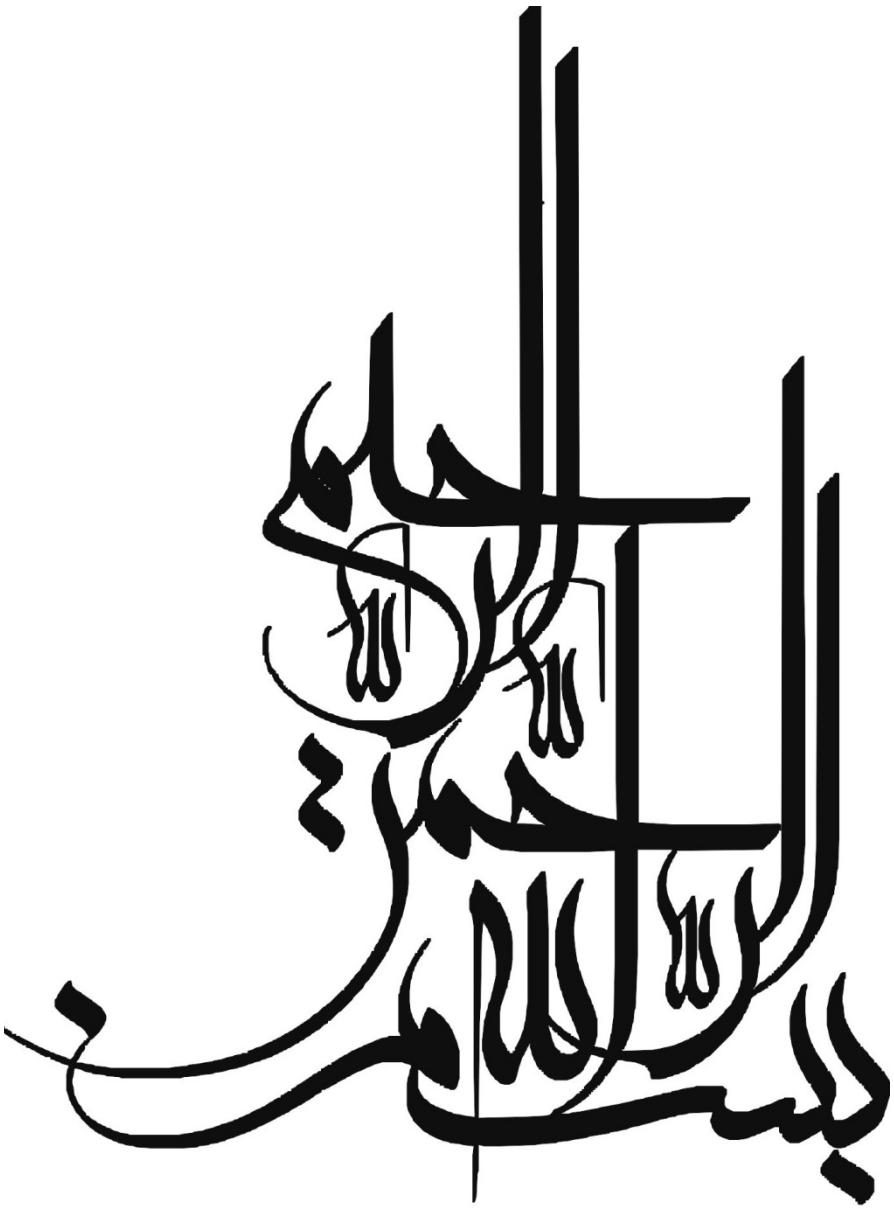
بسم الله الرحمن الرحيم

د انـشگـا ه اصفـهـا ن
د انـشکـد ه عـلـوم
گـرو ه زیـست شنـا سي

پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست‌شناسی- علوم سلولی و مولکولی

بررسی بیان ژنی *PPARγ1* در ضایعات نخاعی موش صحرایی

استادان راهنما:

دکتر کامران قائدی

دکتر ابوالقاسم اسماعیلی

استاد مشاور:

دکتر سهیلا رهگذر

پژوهشگر:

عصمت محمدی باغملایی

شهریور ماه ۱۳۹۰

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

دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست‌شناسی- علوم سلولی و مولکولی

خانم عصمت محمدی باغملایی

تحت عنوان

بررسی بیان ژنی PPARγ در مایعات نخاعی موش صحرایی

در تاریخ ۹۰/۶/۱۲ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای پایان نامه دکتر کامران قائدی با مرتبه‌ی علمی استادیار امضاء

۲- استاد راهنمای پایان نامه دکتر ابوالقاسم اسماعیلی با مرتبه‌ی علمی استادیار امضاء

۳- استاد مشاور پایان نامه دکتر سهیلا رهگذر با مرتبه علمی استادیار امضاء

۴- استاد داور داخل گروه دکتر سید جمال مشتاقیان با مرتبه‌ی علمی استادیار امضاء

۵- استاد داور خارج گروه دکتر شاهین اقبال سعید با مرتبه‌ی علمی استادیار امضاء

امضای مدیر گروه

دکتر سید جمال مشتاقیان

گروه زیست شناسی Department Of Biology 1965

سپاس خدایی راست که حق ستایشش بالاتر از حد ستایشگران است و نعمت‌هایش فوق اندیشه شمارشگران. تلاشگران از ادای حقش فرو مانند و افکار بلند به قله عظمتش دست نیابند و ژرف نگران به عمق ذاتش پی نبرند. خدایی که علم و ایمان را در جوهر ذات ما آمیخت و اسباب اخذ و قبض علوم و حقایق را مهیا فرمود.

خدایی که در همه حال همراه ماست.

و با سپاس از

تمامی آموزگاران، دبیران و همه آنانی که مرا علم آموختند.

اساتید بزرگوار گروه سلولی به ویژه دکتر اسماعیلی، دکتر رهگذر و دکتر مشتاقیان به پاس زحمات بی‌دریغشان.

دوستانم که با همدلی و همراهی‌شان سختی‌ها را بر من آسان کردند.

خانواده بزرگ و عزیزم، بهترین‌هایی که بر بلندای مهر و شکیب همواره مشوق و پشتیبانم بودند.

تقدیم به عزیزتر از جانی که چه نیک در وصفش سروده شد!

نگار من که به مکتب نرفت و خط ننوشت

به غمزه مسئله آموز صد مدرس شد

تقدیم به استاد عزیز و دانشمند خستگی‌ناپذیر، جناب آقای دکتر قائدی

تقدیم به پدر و مادر عزیزم، آیه‌های روشنی از مهر و تلاش و صبر، و سرمایه‌های اصلی زندگی من

چکیده

التهاب و آپوپتوز پس از آسیب طناب نخاعی منجر به تخریب برگشت ناپذیر بافت عصبی می شود. از این رو بررسی مولکولی مکانیسم پاسخ به آسیب سیستم عصبی مرکزی، جهت کنترل بعدی مسیرهای مضر به راه افتاده پس از آسیب طناب نخاعی و راه اندازی مسیرهای مفید می تواند سودمند باشد. در این مطالعه حضور و تغییرات بیانی ایزوفرم گامای گیرنده فعال‌کننده تکثیر پراکسی‌زومی و ایزوفرم آلفای گیرنده کبدی ایکس ($LXR\alpha$) که اثر مهارکنندگی التهاب دارند و همچنین ژن القا کننده آپوپتوز Bax پس از آسیب طناب نخاعی بررسی شده است. به منظور ایجاد آسیب نخاعی یک برش با مقطع عرضی در طناب نخاعی مهره نهم از بخش قفسه سینه‌ای (T9) موش صحرایی ایجاد شد و با استفاده از تکنیک‌های RT-PCR مرسوم و real-time PCR کمی میزان mRNA این ژن‌ها، شش ساعت، یک روز، سه روز، هفت روز و ده روز پس از آسیب در هشت میلی متر از بافت مرکز ضایعه و هشت میلی متر بالا و پایین آن بررسی شد. نتایج نشان‌دهنده یک الگوی مکانی و زمانی نسبتاً پیچیده در تغییرات بیانی mRNA گیرنده کبدی ایکس و Bax بود. اما هیچ گونه بیانی از گیرنده فعال‌کننده تکثیر پراکسی‌زومی در مرحله اولیه تحقیق یافت نشد. گیرنده کبدی ایکس با یک اختلاف زمانی الگوی همسانی (موج افزایشی–کاهشی) را در سه ناحیه مختلف بررسی شده نشان داد. افزایش بیان $LXR\alpha$ پس از آسیب می تواند به علت افزایش واکنش‌های التهابی و هجوم ماکروفاژها به محل آسیب و افزایش فعالیت میکروگلیاها باشد. این افزایش ناگهانی پس از اینکه عوامل تحریک کننده التهاب کاهش یابند سیر نزولی پیدا می‌کند. در بررسی حاضر افزایش تدریجی بیان Bax و عدم کاهش آن در محل بالای برش می‌تواند نشان‌دهنده فعال بودن رونویسی از این ژن، صرف نظر از چگونگی فعالیت پروتئینی آن باشد. به عبارت دیگر تنها انتقال این پروتئین از سیتوپلاسم به غشای بیرونی میتوکندری عامل آپوپتوز نبوده، بلکه افزایش رونویسی از این ژن هم در پایا ساختن مسیر آپوپتوز می تواند دخیل باشد. این امر نشان‌دهنده اهمیت تنظیم آپوپتوز حتی در سطح رونویسی است . از طرف دیگر آغاز سیر نزولی بیان ژن Bax بعد از هفت روز در محل ضایعه می تواند به علت فعال شدن مسیرهای بقای سلولی باشد.

کلید واژه ها: ایزوفرم گامای گیرنده فعال‌کننده تکثیر پراکسی‌زومی، ایزوفرم آلفای گیرنده کبدی ایکس، *Bax*، Real-time PCR کمی، آسیب طناب نخاعی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱ آسیب طناب نخاعی (SCI) و اهمیت بررسی آن ۱

۱-۱-۱ آسیب اولیه طناب نخاعی ۲

۱-۱-۲ آسیب ثانویه طناب نخاعی ۲

۱-۲ مدل‌های تجربی آسیب نخاعی ۵

۱-۳ انتخاب حیوان آزمایشگاهی مناسب در بررسی‌های آسیب طناب نخاعی ۶

۱-۴ تغییرات بیان ژنی بعد از آسیب طناب نخاعی ۷

۱-۵ التهاب پس از آسیب طناب نخاعی ۷

۱-۵-۱ تنظیم التهاب دستگاه عصبی مرکزی ۷

۱-۵-۲ سلول‌های درگیر در التهاب پس از آسیب طناب نخاعی ۹

۱-۶ مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (آپوپتوز) ۹

۱-۶-۱ مکانیسم‌های آپوپتوز ۱۰

۱-۶-۲ مسیر داخلی آپوپتوز ۱۰

۱-۶-۳ آپوپتوز پس از آسیب طناب نخاعی ۱۱

۱-۷ گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسی‌زومی ۱۲

۱-۷-۱ معرفی کلی ۱۲

عنوان **صفحه**

۱-۷-۲ ایزوفرم گامای گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسی‌زومی ۱۳

۱-۷-۳ لیگاندهای PPARγ ۱۴

۱-۷-۴ مشخصه‌های ساختاری PPARها ۱۵

۱-۷-۵ فعال شدن فرایند رونویسی ژن توسط PPARها ۱۶

۱-۷-۶ مکانیسم‌های بیولوژیکی PPARγ ۱۷

۱-۸ گیرنده‌های کبدی ایکس ۱۹

۱-۸-۱ معرفی کلی ۱۹

۱-۸-۲ ایزوفرم آلفای گیرنده‌های کبدی ایکس ۲۰

۱-۸-۳ لیگاندهای LXRα ۲۰

۱-۸-۳-۱ لیگاندهای طبیعی ۲۰

۱-۸-۳-۲ لیگاندهای مصنوعی ۲۱

۱-۸-۴ مشخصه‌های ساختاری LXRها ۲۲

۱-۸-۵ فعال شدن فرایند رونویسی ژن توسط LXRها ۲۲

۱-۸-۶ مکانیسم‌های مهارکننده رونویسی ژن توسط لیگاندهای LXR ۲۳

۱-۸-۷ مکانیسم‌های بیولوژیکی LXR ۲۳

۱-۹ Bax عضوی از خانواده Bcl2 ۲۶

۱-۹-۱ معرفی کلی اعضای خانواده Bcl-2 ۲۶

عنوان **صفحه**

۱-۹-۲ طبقه بندی اعضای خانواده Bcl-2 ..... ۲۷

۱-۹-۳ Bax و نقش آن در آپوپتوز میتوکندریایی ۲۹

۱-۱۰ اهداف تحقیق ۳۰

۱-۱۱ اهمیت تحقیق ۳۱

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱ وسایل مورد نیاز ۳۲

۲-۱-۱ وسایل مورد نیاز جهت جراحی ۳۲

۲-۲ مواد مورد نیاز ۳۲

۲-۲-۱ مواد مورد نیاز جهت جراحی ۳۲

۲-۲-۲ مواد مورد نیاز جهت تهیه ژل الکتروفورز ۳۳

۲-۲-۲-۱ آگارز ۳۳

۲-۲-۲-۲ بافر Tris-HCl ۳۳

۲-۲-۲-۳ بافر الکتروفورز ۱۰X TAE (Tris-acetate-EDTA) ۳۳

۲-۲-۲-۴ سایر مواد ۳۴

۲-۲-۳ مواد مورد نیاز برای استخراج RNA، تیمار با *DNaseI* و ساخت cDNA ۳۴

۲-۲-۴ مواد مورد نیاز جهت تکنیک Real Time PCR و RT-PCR ۳۵

عنوان **صفحه**

۲-۲-۴-۱ پرایمر اختصاصی ۳۵

۲-۲-۴-۲ مواد لازم برای RT-PCR ۳۵

۲-۲-۴-۳ کیت Real Time PCR ۳۶

۲-۲-۴-۴ تیوب ویژه Real time PCR ۳۷

۲-۳ حیوانات آزمایشگاهی، رژیم غذایی و شرایط نگهداری ۳۷

۲-۴ آماده سازی نمونه‌ها ۳۸

۲-۴-۱ گروه‌بندی ۳۸

۲-۴-۲ جراحی ۳۸

۲-۴-۲-۱ اقدامات انجام شده قبل از جراحی ۳۸

۲-۴-۲-۲ اقدامات انجام شده حین جراحی ۳۸

۲-۴-۳ برداشت نمونه نخاع ۳۹

۲-۵ آماده سازی RNA ۳۹

۲-۵-۱ شرح مراحل استخراج RNA با کیت RNX-Plus ۳۹

۲-۵-۲ تعیین غلظت و کیفیت RNA به روش اسپکتروفتومتری ۴۰

۲-۵-۳ تیمار با کیت *DNase I, RNase*-free ۴۱

۲-۶ آماده سازی cDNA ۴۲

۲-۶-۱ ساخت cDNA ۴۲

عنوان **صفحه**

۲-۶-۲ تعیین کیفیت ساخت cDNA با انجام واکنش PCR ۴۳

۲-۷ ژل الکتروفورز ۴۳

۲-۸ تنظیمات و روش انجام واکنش Real Time PCR ۴۴

۲-۸-۱ ایجاد سریال رقت به منظور شناسایی رقت بهینه ۴۴

۲-۸-۲ واکنش Real Time PCR با استفاده از تمام نمونه‌ها و پرایمرها ۴۵

۲-۹ آزمون‌های آماری ۴۶

۲-۱۰ تجهیزات و دستگاه‌ها ۴۷

فصل سوم: نتایج

۳-۱ نتایج استخراج RNA ۴۸

۳-۲ نتایج سریال رقت برای واکنش Real Time PCR با استفاده از پرایمرهای مربوط به ژن *Bax* ۵۰

۳-۳ نتایج واکنش‌های Real Time PCR ۵۱

۳-۳-۱ منحنی‌های Real Time PCR ۵۱

۳-۳-۲ Melting curves ۵۱

۳-۳-۲-۱ بررسی پرایمرهای *PPARγ1* ۵۲

۳-۳-۲-۲ بررسی پرایمرهای *LXRα* و *Bax* ۵۳

عنوان **صفحه**

۳-۳-۳ پروفایل بیانی ژن‌های $LXR\alpha$ و Bax ۵۵

۳-۳-۴ پروفایل بیان ژنی $LXR\alpha$ ۵۵

۳-۳-۴-۱ نتایج تغییرات بیان ژن $LXR\alpha$ بالای محل برش نخاع ۵۵

۳-۳-۴-۲ نتایج تغییرات بیان ژن $LXR\alpha$ مربوط به محل برش نخاع ۵۵

۳-۳-۴-۳ نتایج تغییرات بیان ژن $LXR\alpha$ در پایین محل برش ۵۵

۳-۳-۵ پروفایل بیان ژنی Bax ۵۷

۳-۳-۵-۱ نتایج تغییرات بیان ژن Bax در بالای محل برش ۵۷

۳-۳-۵-۲ نتایج تغییرات بیان ژن Bax مربوط به محل برش نخاع ۵۷

۳-۳-۵-۳ نتایج تغییرات بیان ژن Bax در پایین محل برش ۵۸

فصل چهارم: بحث

۴-۱ بحث ۶۰

۴-۲ نتیجه‌گیری و تفسیر ۶۶

۴-۲-۱ نتایج حاصل از بررسی بیان $LXR\alpha$ ۶۶

۴-۲-۲ نتایج حاصل از بررسی بیان Bax ۶۶

۴-۳ پیشنهادها ۶۷

منابع و مآخذ ۶۹

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل۱-۱ نحوه تشکیل و فعالیت آپوپتوزوم ۱۱

شکل۱-۲ ساختار سه مورد از لیگاندهای مصنوعی PPARγ ۱۵

شکل۱-۳ ساختار پروتئینی PPARγ انسانی و دامنه‌های آن ۱۶

شکل۱-۴ فعال‌کننده‌های طبیعی و مصنوعی LXR ۲۱

شکل۱-۵ اهمیت دامنه‌های BH ۲۸

شکل۱-۶ تقسیم بندی شماتیک برخی از اعضای خانواده Bcl-2 ۲۸

شکل۲-۱ ساختار مولکولی SYBR Green ۳۶

شکل۲-۲ تناسب بکار رفته به منظور محاسبه حجم 1µg RNA ۴۱

شکل۳-۱ باندهای rRNA بر روی ژل آگارز ۴۹

شکل۳-۲ سریال رقت cDNA با استفاده از پرایمرهای *Bax* ۵۰

شکل۳-۳ نمایش منحنی‌های Real Time PCR مربوط به *LXRα*، *Bax* و *Tubβ5* ۵۱

شکل۳-۴ منحنی ذوب مربوط به سریال رقت برای بررسی *PPARγ1* ۵۲

شکل۳-۵ منحنی ذوب مربوط به سریال رقت و نمونه اصلی برای بررسی *PPARγ1* ۵۳

شکل۳-۶ منحنی نشان دهنده Ct مربوط به رقت‌های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱، غلظت اولیه و نمونه NTC ۵۳

شکل۳-۷ نمودار منحنی ذوب مربوط به ژن *LXRα* ۵۴

شکل۳-۸ نمودار منحنی ذوب مربوط به ژن *Bax* ۵۴

عنوان **صفحه**

شکل۳-۹ نمودار منحنی ذوب ژن خانه‌گردان $Tub\beta5$ ۵۴

شکل۳-۱۰ پروفایل بیان ژن $LXR\alpha$ مربوط به ناحیه بالای محل برش ۵۶

شکل۳-۱۱ پروفایل ژن $LXR\alpha$ مربوط به محل برش ۵۶

شکل۳-۱۲ پروفایل بیان ژن $LXR\alpha$ مربوط به پایین محل برش ۵۷

شکل۳-۱۳ پروفایل ژن Bax مربوط به ناحیه بالای محل برش ۵۸

شکل۳-۱۴ پروفایل بیان ژن Bax مربوط به محل برش ۵۸

شکل۳-۱۵ پروفایل بیان ژن Bax مربوط به پایین محل برش نخاع ۵۹

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول۲-۱ مواد و مقادیر مورد نیاز برای بافر الکتروفورز 10X ۳۴

جدول۲-۲ کیت‌های استفاده شده جهت استخراج RNA، تیمار با *DNaseI* و سنتز cDNA..... ۳۴

جدول۲-۳ پرایمرهای طراحی شده ۳۵

جدول۲-۴ مواد و مقادیر مورد نیاز برای واکنش PCR(CinnaGen kit) ۳۶

جدول۲-۵ مشخصات حیوان آزمایشگاهی استفاده شده ۳۷

جدول۲-۶ مواد و مقادیر لازم جهت *DNaseI* Treatment..... ۴۱

جدول۲-۷ برنامه PCR..... ۴۳

جدول۲-۸ میزان مواد مصرفی برای یک واکنش real-time..... ۴۵

جدول۲-۹ برنامه Real time PCR برای تمام ژن‌ها ۴۶

جدول۲-۱۰ دستگاه‌های مورد نیاز ۴۷

جدول۳-۱ میزان جذب نوری و غلظت RNA یک سری از نمونه‌ها..... ۴۹

فصل اول

مقدمه

۱-۱ آسیب طناب نخاعی (SCI)[1] و اهمیت بررسی آن

آسیب طناب نخاعی نه تنها زندگی بیماران بلکه اعضای خانواده و جامعه را با وارد آوردن فشارهای فیزیکی، اقتصادی، روانی و اجتماعی تحت تاثیر قرار می‌دهد (Carlson and Gorden, 2002). تقریباً دو و نیم میلیون نفر در سراسر جهان با این معضل درگیر هستند به طوری که سالانه ۱۳۰۰۰۰ مورد آسیب دیده جدیدگزارش می‌شوند (Oyinbo, 2011). در اغلب کشورها، SCI حاد سالانه ۲۰ تا ۴۰ فرد در هر میلیون نفر جمعیت را درگیر می‌کند (Xiao *et al*, 2005). تقریباً نیمی از این بیماران مردان جوان هستند که در سال‌های آغازین پر بار زندگی قرار دارند. هزینه‌های اولیه بستری شدن و معالجات پزشکی گران هستند. از این رو پیشرفت درمان‌های موثر برای آسیب طناب نخاعی بسیار سودمند است. انگیزه اصلی تحقیقات آسیب طناب نخاعی تکوین مداخله‌های جدید درمانی به منظور جلوگیری یا کاهش ناتوانایی است (Taoka and Okajima, 1998). از دست رفتن عملکرد حسی، حرکتی و خودمختار پس از SCI در نتیجه دو واقعه پاتوفیزیولوژیکی عمده است: آسیب اولیه و وقایع آسیب ثانویه که توسط آسیب اولیه به راه افتاده است. آسیب اولیه حاد است و عمدتاً به علت ضربه مکانیکی مثل نیروهای فشاری و

[1] Spinal Cord Injury

جا به جا شدگی مهره‌هاست که عروق خونی را تخریب کرده و به طور مستقیم به نورون‌ها و گلیاها آسیب می‌رساند. آسیب ثانویه یک پاسخ مخرب است که شامل ادم، ایسکمی، التهاب، بهم خوردن توازن یونی (مثل افزایش کلسیم درون سلولی)، سمیت ناشی از تحریک بیش از حد عصبی، فعال شدن کاسپاز، فقدان متابولیسم انرژی، تجمع نوروترانسمیتر، و آپوپتوز است (Kim *et al*, 2009).

۱-۱-۱ آسیب اولیه طناب نخاعی:

آسیب اولیه بافت نخاعی به علت ضربه مکانیکی مستقیم و تخریب غشای سلول‌های اندوتلیالی و نورونی است (Genovese *et al*, 2008). آسیب طناب نخاعی به طور معمول از طریق شکست استخوان، جا به جایی دیسک نخاع و رباط به شکل‌های بهم فشردگی یا له‌شدگی، پارگی، ضربه سوراخ کننده یا خرد شدن القا می‌شود و عروق خونی، آکسون‌ها، نورون‌ها، اولیگودندروسیت‌ها و سلول‌های پیش‌ساز جایگاه آسیب را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Chang *et al*, 2009). خون‌ریزی، فقدان گردش مویرگی، و تنگی عروق درون نخاع طی چند دقیقه منجر به گسترش جراحت از مرکز ضایعه می‌شوند. نخاع به سرعت در فضای ثابت کانال نخاعی متورم می‌شود، و زمانی که فشار درونی بر فشار خونی وریدی غلبه یافت، آسیب ابتدایی توسط انفارکتوس وریدی بدتر می‌شود. بعد از ایجاد ضربه بر طناب نخاعی جوندگان، جریان خون طناب نخاعی کاهش می‌یابد. کاهش زیاد فشار خونی سیستمیک که توسط شوک عصبی ایجاد شده است منجر به افزایش آسیب می‌شود (Becker *et al*, 2003). علاوه بر این، حفره‌ها و کیست‌های ایجاد شده در اثر جراحت، گسیختگی فیبرهای آکسونی را کم و زیاد می‌کند، با این حال ماده سفید پیرامونی غالباً تحلیل می‌رود (Thuret *et al*, 2006). سایر تغییرات سلولی، بیوشیمیایی و فیزیکی شامل شوک نخاعی، ایسکمی، تخریب غشای پلاسمایی، اختلال در هوموستازی یونی، و تجمع نوروترانسمیترها هستند (Oyinbo, 2011).

۱-۱-۲ آسیب ثانویه طناب نخاعی:

تئوری آسیب ثانویه برای اولین بار در سال ۱۹۱۱ توسط Allen مطرح شد، آلن نشان داد که myelotomy[۱] و حذف نشت خون در نخاع پس از ضربه منجر به بهبود عملکرد عصبی در سگ‌ها می‌شود و استدلال ایشان حضور "یک عامل بیوشیمیایی" زیان‌آور در بافت مرده در حال خون‌ریزی بود که منجر به آسیب بیشتر طناب نخاعی می‌شد (Carlson and Gorden, 2002).

آسیب ثانویه‌ای که از چند دقیقه پس از جراحت شروع شده و به مدت چند روز، چند هفته یا بیشتر ادامه می‌یابد؛ علت نقص‌های عصبی است. این فاز یک فرایند خود تخریبی شامل تغییرات فیزیولوژیکی، بیولوژیکی و متابولیکی است (Xiao *et al*, 2005) و توسط تعداد زیادی از آبشارهای سلولی، مولکولی و بیوشیمیایی ایجاد می‌شود (Genovese *et al*, 2008). بافت طناب نخاعی تخریب شده و سلول‌های نکروتیک سیتوکین‌های القا کننده التهاب و سایر مواد شیمیایی سمی را رها می‌کنند. این تغییرات منجر به مرگ سلولی بیشتر در طناب نخاعی می‌شود. مشخصه آسیب ثانویه SCI افزایش التهاب بافتی، تخریب میلین و مرگ سلول گلیالی در مرکز آسیب و مناطق مجاور است. لوکوسیت‌ها از طریق حذف بقایای سلول‌های مرده و ترشح سیتوکین‌هایی که منجر به ورود تعداد لوکوسیت بیشتری به محل آسیب می‌شوند، منجر به القای ترمیم بافت شده و آنژیوژنز، رشد سلولی و تولید مجدد بافت همبند را به پیش می‌برند (Chang *et al*, 2009). آبشار ثانویه منجر به مرگ پیش رونده آکسون‌ها و سلول‌هایی می‌شود که به طور بالقوه زیست پذیرند و فرایندهای ترمیمی درون‌زا را تخریب می‌کند (Onifer *et al*, 2007). این الگوی تخریب شامل چندین مکانیسم است: هیپوکسی، سمیت حاصل از تحریک بیش از حد عصبی، تشکیل رادیکال‌های آزاد، رهاسازی پروتئازها، پاسخ التهابی ایجاد شده در اثر فعال شدن میکروگلیاهای مستقر در سیستم عصب مرکزی و هجوم ماکروفاژهای پیرامونی (Hausmann, 2003).

تغییرات بیماری‌زا از قبیل ادم، ایسکمی، کلسیم بیش از حد درون سلولی، پراکسیداسیون لیپیدی، انسداد گردش مویرگی و آپوپتوز در تخریب پیش‌رونده بافت پیرامون مرکز نکروتیک سهیم هستند (Liu *et al*, 2011). ایسکمی ایجاد شده پس از آسیب حاد به ماده سفید اطراف گسترش می‌یابد و منجر به نکروز بیشتر آکسونی و نورونی می‌شود. فقدان گردش مویرگی، عروق خونی گسیخته شده و آکسون‌ها و سلول‌های تخریب شده غلظت‌های برون سلولی اسیدآمینه‌های نوروترانسمیتر تحریکی را افزایش داده منجر به آغاز سمیت حاصل از تحریک بیش از حد عصب

---

[۱] جدا کردن رشته های عصبی در نخاع