

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΚΑΡΔΙΟΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗ ΑΝΑΖΩΟΓΟΝΗΣΗ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Τραυματισμός Νωτιαίου Μυελού και Νευρογένεση –
Συστηματική Ανασκόπηση**

ΜΑΥΡΙΔΗΣ Μ. ΘΕΟΔΩΡΟΣ

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2020

ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΚΡΙΣΕΩΣ
ΤΗΣ ΣΥΝΕΔΡΙΑΣΗΣ ΤΗΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΓΙΑ
ΤΗΝ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ
Του Μεταπτυχιακού Φοιτητή Θεόδωρου Μαυρίδη

Εξεταστική Επιτροπή

- Ανδρέας Κυρώζης, Επιβλέπων
- Θεόδωρος Ξάνθος
- Νικολέττα Ιακωβίδου

Η Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή η οποία ορίσθηκε από την ΓΣΕΣ της Ιατρικής Σχολής του Παν. Αθηνών Συνεδρίαση της/...../.....για την αξιολόγηση και εξέταση του υποψηφίου κ. Θεόδωρου Μαυρίδη, συνεδρίασε σήμερα .../.../....

Η Επιτροπή **διαπίστωσε** ότι η Διπλωματική Εργασία του κ. Θεόδωρου Μαυρίδη με τίτλο «Τραυματισμός Νωτιαίου Μυελού και Νευρογένεση – Συστηματική Ανασκόπηση.», είναι πρωτότυπη, επιστημονικά και τεχνικά άρτια και η βιβλιογραφική πληροφορία ολοκληρωμένη και εμπειριστατωμένη.

Η εξεταστική επιτροπή αφού έλαβε υπ' όψιν το περιεχόμενο της εργασίας και τη συμβολή της στην επιστήμη, με ψήφους προτείνει την απονομή στον παραπάνω Μεταπτυχιακό Φοιτητή την απονομή του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης (Master's).

Στην ψηφοφορία για την βαθμολογία ο υποψήφιος έλαβε για τον βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» ψήφους, για τον βαθμό «ΛΙΑΝ ΚΑΛΩΣ» ψήφους, και για τον βαθμό «ΚΑΛΩΣ» ψήφους Κατά συνέπεια, απονέμεται ο βαθμός «.....».

Τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής

- Ανδρέας Κυρώζης, Επιβλέπων (Υπογραφή) _____
- Θεόδωρος Ξάνθος, (Υπογραφή) _____
- Νικολέττα Ιακωβίδου, (Υπογραφή) _____

ΑΦΙΕΡΩΣΗ

Στον παππού μου Θεόδωρο και τη γιαγιά μου Σοφία

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Μαριλίνα Μπακούρη, τη Μαριάνθη Μπρέζα και το Νίκο Παπαγιαννάκη, των οποίων η πολύτιμη βοήθεια και στήριξη κατέστησαν δυνατή την επιτυχή εκπόνηση αυτής της διπλωματικής εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την Ελληνική Εταιρεία Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης (ΕΕΚΑΑ). Το υψηλό επίπεδο εκπαίδευσης και η βαθιά επιστημονική κατάρτιση όλων των μελών της εταιρείας στον τομέα της επείγουσας ιατρικής, συνέβαλλαν καθοριστικά στην ανάπτυξή μου ως Επιστήμονας και Ιατρός.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δάσκαλο και Μέντορά μου, καθηγητή κ. Θεόδωρο Ξάνθο, ο οποίος είναι δίπλα μου σε κάθε επιστημονικό, ιατρικό και εκπαιδευτικό βήμα. Αποτελεί για μένα το πρότυπο Επιστήμονα, Ιατρού και Ανθρώπου.

Περιεχόμενα

ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΚΡΙΣΕΩΣ.....	2
ΑΦΙΕΡΩΣΗ.....	3
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	4
Περιεχόμενα.....	5
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	7
Εισαγωγή.....	8
Τραυματισμός Νωτιαίου Μυελού.....	8
Συνέπειες τραυματισμού νωτιαίου μυελού – Πρόγνωση (θνητότητα, προσδόκιμο και ποιότητα ζωής).....	11
Παθοφυσιολογία της Κάκωσης Νωτιαίου Μυελού.....	12
<i>Πρωτογενής Φάση</i>	12
<i>Δευτερογενής Φάση</i>	13
<i>Άμεσο Στάδιο</i>	14
<i>Οξύ Στάδιο (Πρώιμο Οξύ/Υποξύ)</i>	15
<i>Ενδιάμεσο Στάδιο</i>	16
<i>Χρόνιο Στάδιο</i>	16
Θεραπευτικές Παρεμβάσεις.....	16
<i>Χειρουργική Αποσυμπίεση</i>	16
<i>Αιμοδυναμικός Έλεγχος</i>	17
<i>Στεροειδή: Μεθυλπρεδνιζολόνη</i>	17
<i>Νευροπροστατευτικές Στρατηγικές</i>	18
<i>Κυτταρικές Θεραπείες</i>	18
<i>Νευρική Αναγέννηση</i>	19
<i>Προώθηση πλαστικότητας και αναγέννησης μέσω αποκατάστασης/φυσιοθεραπείας</i>	20
<i>Συνδυαστική θεραπεία ως μελλοντική προσέγγιση</i>	20
Νευρογένεση.....	20
<i>Η Θεωρία της Νευρογένεσης στον Ενήλικα Οργανισμό</i>	20
<i>Νευρογένεση και Νωτιαίος Μυελός</i>	21

Η Ενδογενής Νευρογένεση και τα Πολυδύναμα Νευρικά Βλαστικά Κύτταρα (Neural Stem Cells)	23
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	25
Σκοπός Μελέτης	26
Βασικό Ερώτημα	26
Συστηματική Ανασκόπηση	26
<i>Συστηματική Ανασκόπηση Πεδίου (Systematical Scoping Review)</i>	27
Υλικά και Μέθοδοι	28
Η Δήλωση κατά PRISMA (PRISMA Statement)	28
Μέθοδος αναζήτησης σχετικών εργασιών	32
<i>Λέξεις/Κλειδιά Αναζήτησης</i>	32
<i>Κριτήρια Επιλογής/Αποκλεισμού</i>	33
<i>Αιτιολόγηση επιλογής των κριτηρίων</i>	34
<i>Ανοσοϊστοχημικοί Δείκτες</i>	36
<i>Αξιοπιστία μεταξύ των ερευνητών και το στατιστικό k (Interrater reliability and k statistics)</i>	39
<i>Η επιλογή μελετών (first screening and eligibility criteria)</i>	39
Στατιστική Ανάλυση	41
Αποτελέσματα	41
Περιγραφική Στατιστική των Μελετών	41
<i>Πειραματόζωα</i>	41
<i>Δείκτες ανοσοϊστοχημείας</i>	45
Συζήτηση	49
Συμπέρασμα	52
Περίληψη	53
Abstract	55
Βιβλιογραφικές Αναφορές	57

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή

Τραυματισμός Νωτιαίου Μυελού

Ο τραυματισμός του νωτιαίου μυελού (NM) αποτελεί μία προσβολή του που συνεπάγεται μία μεταβολή, παροδική ή μόνιμη, της φυσιολογικής κινητικής, αισθητικής ή/και αυτόνομης λειτουργίας. Ασθενείς με τραυματισμό του NM έχουν, συνήθως, μόνιμα και συχνά καταστροφικά νευρολογικά ελλείμματα και αναπηρία. Σύμφωνα με τα Παγκόσμια Ινστιτούτα Υγείας (National Institutes of Health, NIH), το κόστος που αναλογεί στην κοινωνία για τα άτομα με τραυματισμό του NM βρίσκεται στη δεύτερη θέση μεταξύ των νευρολογικών διαταραχών, μετά το κόστος για τα άτομα με νοητική υστέρηση (1).

Η συχνότητα των τραυματισμών του NM στις Ηνωμένες Πολιτείες είναι περίπου 40 περιπτώσεις ανά εκατομμύριο πληθυσμού ή περίπου 12.000 ασθενείς ανά έτος, με βάση τα δεδομένα της Εθνικής Εταιρίας Τραύματος Νωτιαίου Μυελού. Ωστόσο, η εκτίμηση αυτή βασίζεται σε παλαιότερα στοιχεία από το 1990 καθώς δεν υπήρξαν ολοκληρωμένες νέες συνολικές μελέτες επίπτωσης (2).

Από το 2005, οι πιο κοινές αιτίες τραυματισμού του NM (Spinal Cord Injury, SCI) παραμένουν τα τροχαία ατυχήματα με δίκυκλα (40,4%), οι πτώσεις (27,9%) (πιο συχνά ατόμων ηλικίας > 45 ετών), οι περιπτώσεις διαπροσωπικής βίας (κυρίως τραύματα από σφαίρες αλλά και νύσσοντα και αμβλέα όργανα) (15,0%) (3) και ο αθλητισμός, με την κατάδυση να κατέχει κυρίαρχη θέση (2).

Άλλες λιγότερο συχνές αιτίες τραυματισμού του NM περιλαμβάνουν τις αγγειακές διαταραχές, τα νεοπλάσματα (4), τις λοιμώξεις της περιοχής, την σπονδύλωση, τις ιατρογενείς κακώσεις, κυρίως μετά από οσφυονωτιαία παρακέντηση (ΟΝΠ) και τοποθέτηση επισκληρίδιου καθετήρα, τα οστεοπορωτικά κατάγματα σπονδύλων και τις αναπτυξιακές διαταραχές.

Ο τραυματισμός του NM που οφείλεται σε τραύμα έχει σημαντικές λειτουργικές, ιατρικές και οικονομικές επιπτώσεις στον τραυματία, καθώς και σημαντική επίδραση στην ψυχοκοινωνική ευεξία του ατόμου (5-7).

Μεγάλη σημασία στην αντιμετώπιση και πρόγνωση των ασθενών με κάκωση του ΝΜ, έχει η ορθή κατηγοριοποίηση ανάλογα με το επίπεδο της βλάβης και την κλινική εικόνα. Το Διεθνές Πρότυπο για την Νευρολογική και Λειτουργική Ταξινόμηση του Τραυματισμού του Νωτιαίου Μυελού (International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury, ISNCSCI) είναι ένα ευρέως αποδεκτό σύστημα που περιγράφει το επίπεδο και την έκταση της βλάβης βασιζόμενο σε συστηματική κινητική και αισθητική εξέταση της νευρολογικής λειτουργίας (8, 9). Η ακόλουθη ορολογία έχει αναπτυχθεί γύρω από την κατάταξη των τραυματισμών του νωτιαίου μυελού:

- Τετραπληγία: Τραυματισμός ΝΜ στην Αυχενική Μοίρα της Σπονδυλικής Στήλης (ΑΜΣΣ), με απώλεια μυϊκού τόνου και στα 4 άκρα.
- Παραπληγία: Τραυματισμός του ΝΜ στα θωρακικά, οσφυϊκά ή ιερά τμήματα, συμπεριλαμβανομένου της ιππουρίδας και του μυελικού κώνου.

Το ποσοστό των τραυματισμών του νωτιαίου μυελού, όπως ταξινομείται από την Αμερικανική Εταιρία Νωτιαίας Βλάβης (American Spinal Injury Association, ASIA) είναι:

- Ατελής Τετραπληγία: 29,5%
- Πλήρης Παραπληγία: 27,9%
- Ατελής Παραπληγία: 21,3%
- Πλήρης Τετραπληγία: 18,5%

Το πιο συχνό επίπεδο της νευρολογικής βλάβης είναι το Α5. Στην παραπληγία, το Θ12 και Ο1 είναι το πιο συχνό επίπεδο. Η Εικόνα 1 παρουσιάζει την κατηγοριοποίηση της ASIA ανάλογα με το νευρολογικό επίπεδο.

Patient Name _____ Date/Time of Exam _____

Examiner Name _____

ASIA STANDARD NEUROLOGICAL CLASSIFICATION OF SPINAL CORD INJURY **ISCI**

MOTOR KEY MUSCLES (marking on opposite side)

C5	R	Elbow flexors
C6	L	Wrist extensors
C7	R	Elbow extensors
C8	L	Finger flexors (area distal of middle finger)
T1	R	Finger abductors (side finger)

UPPER LIMB TOTAL (MANIPUL) (R) + (L) =

Comments: _____

SENSORY KEY SENSORY POINTS

C2	R	Light Touch	Pin Prick
C3	L		
C4	R		
C5	L		
C6	R		
C7	L		
C8	R		
T1	L		
T2	R		
T3	L		
T4	R		
T5	L		
T6	R		
T7	L		
T8	R		
T9	L		
T10	R		
T11	L		
T12	R		
L1	L		
L2	R		
L3	L		
L4	R		
L5	L		
S1	R		
S2	L		
S3	R		
S4-S5	L		

LOWER LIMB TOTAL (AMBUL) (R) + (L) =

TOTALS (MANIPUL) (R) + (L) = (PIN PRICK SCORE) (AMBUL) (R) + (L) = (LIGHT TOUCH SCORE)

NEUROLOGICAL LEVEL (The most caudal segment with normal function)

LEVEL	R	L	COMPLETE OR INCOMPLETE?	ZONE OF PARTIAL PRESERVATION	R	L
SENSORY	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MOTOR	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ASIA IMPAIRMENT SCALE

CLINICAL SYNDROMES (OPTIONAL)

- Central Cord
- Brown-Sequard
- Anterior Cord
- Conus Medullaris
- Cauda Equina

Εικόνα 1. Μέθοδος της ASIA για την ταξινόμηση του τραυματισμού του νωτιαίου μυελού σύμφωνα με το νευρολογικό επίπεδο (10).

MUSCLE GRADING

- 0 total paralysis
 - 1 palpable or visible contraction
 - 2 active movement, full range of motion, gravity eliminated
 - 3 active movement, full range of motion, against gravity
 - 4 active movement, full range of motion, against gravity and provides some resistance
 - 5 active movement, full range of motion, against gravity and provides normal resistance
 - 5* muscle able to exert, in examiner's judgement, sufficient resistance to be considered normal if identifiable inhibiting factors were not present
- NT not testable. Patient unable to reliably exert effort or muscle unavailable for testing due to factors such as immobilization, pain on effort or contracture.

ASIA IMPAIRMENT SCALE

- A = Complete:** No motor or sensory function is preserved in the sacral segments S4-S5.
- B = Incomplete:** Sensory but not motor function is preserved below the neurological level and includes the sacral segments S4-S5.
- C = Incomplete:** Motor function is preserved below the neurological level, and more than half of key muscles below the neurological level have a muscle grade less than 3.
- D = Incomplete:** Motor function is preserved below the neurological level, and at least half of key muscles below the neurological level have a muscle grade of 3 or more.
- E = Normal:** Motor and sensory function are normal.

CLINICAL SYNDROMES (OPTIONAL)

- Central Cord
- Brown-Sequard
- Anterior Cord
- Conus Medullaris
- Cauda Equina

STEPS IN CLASSIFICATION

- The following order is recommended in determining the classification of individuals with SCI.
- Determine sensory levels for right and left sides.
 - Determine motor levels for right and left sides. *Note: In regions where there is no response to test, the motor level is presumed to be the same as the sensory level.*
 - Determine the single neurological level. *This is the lowest segment where motor and sensory function is normal on both sides, and is the most cephalad of the sensory and motor levels determined in steps 1 and 2.*
 - Determine whether the injury is Complete or Incomplete (sacral sparing). *If voluntary anal contraction = No AND all S4-S5 sensory scores = 0 AND any anal sensation = No, then injury is COMPLETE. Otherwise injury is Incomplete.*
 - Determine ASIA Impairment Scale (AIS) Grade:
 - Is Injury Complete? IF YES, AIS = A Record ZPP (For ZPP record lowest dermatome or myotome on each side with some (non-zero score) preservation)
 - Is Injury motor incomplete? IF NO, AIS = B (Yes=voluntary anal contraction OR motor function more than three levels below the motor level on a given side.)
- Are at least half of the key muscles below the (single) neurological level graded 3 or better?
- NO → AIS=C
 - YES → AIS=D

If sensation and motor function is normal in all segments, AIS=E
 Note: AIS E is used in follow up testing when an individual with a documented SCI has recovered normal function. If at initial testing no deficits are found, the individual is neurologically intact: the ASIA Impairment Scale does not apply.

Συνέπειες τραυματισμού νωτιαίου μυελού – Πρόγνωση (θνητότητα, προσδόκιμο και ποιότητα ζωής)

Στις αρχές της δεκαετίας του 1900, το ποσοστό θνητότητας στο 1ο έτος μετά από τραυματισμό σε ασθενείς με πλήρη βλάβη πλησίαζε το 100%. Ένα μεγάλο μέρος της βελτίωσης από τότε μπορεί να αποδοθεί στην εισαγωγή των αντιβιοτικών για τη θεραπεία της πνευμονίας και της λοίμωξης του ουροποιητικού συστήματος.

Στη σημερινή εποχή, περίπου το 10%-20% των ασθενών που έχουν υποστεί NM δεν επιβιώνουν για να νοσηλευτούν, ενώ, περίπου, το 3% των ασθενών αποβιώνουν στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης της νοσηλείας τους, λόγω πνευμονίας, πνευμονικής εμβολής ή/και σηψαιμίας. Στις αιτίες θανάτου, όσων λάβουν εξιτήριο, περιλαμβάνονται οι καρδιακές παθήσεις (11, 12), οι μεταγενέστεροι τραυματισμοί, η αυτοκτονία (κυρίως σε άτομα κάτω των 25 ετών) και οι θάνατοι που σχετίζονται με το αλκοόλ (13, 14).

Πλέον, το προσδόκιμο ζωής για τους ασθενείς με τραυματισμό του ΝΜ είναι μεγαλύτερο σε σχέση με τα προηγούμενα έτη και συνεχίζει να αυξάνεται, αλλά εξακολουθεί να είναι κάτω από το γενικό πληθυσμό. Οι ασθενείς που είναι στην ηλικία των 20 ετών τη στιγμή που υπόκεινται σε αυτού του είδους τους τραυματισμούς, έχουν ένα προσδόκιμο, περίπου, μέχρι τα 35,7 χρόνια (ασθενείς με υψηλή τετραπληγία [A1-A4]), 40 χρόνια (ασθενείς με χαμηλή τετραπληγία [A5-A8]), ή 45,2 χρόνια (ασθενείς με παραπληγία) (2). Τα άτομα ηλικίας 60 ετών κατά τη στιγμή του τραυματισμού έχουν διάρκεια ζωής περίπου 7,7 χρόνια (ασθενείς με υψηλή τετραπληγία), 9,9 χρόνια (ασθενείς με χαμηλή τετραπληγία) και 12,8 έτη (ασθενείς με παραπληγία). Μια μελέτη του 2006 από τους Strauss και συν., ανέφερε ότι μεταξύ των ασθενών με κάκωση του ΝΜ, κατά την κρίσιμη περίοδο των 2 πρώτων ετών μετά τον τραυματισμό, σημειώθηκε μείωση κατά 40% της θνητότητας μεταξύ 1973 και 2004 (15). Κατά την ίδια περίοδο (1973-2004), υπήρξε μόνο μια μικρή, στατιστικά ασήμαντη, μείωση της θνητότητας για αυτούς τους ασθενείς για την περίοδο μετά τα 2 έτη από τον τραυματισμό.

Παρ' όλα αυτά, μείζονος σημασίας έχει και η ποιότητα ζωής των ασθενών με κάκωση του ΝΜ. Σε ασθενείς με πλήρη κάκωση ΝΜ, η πιθανότητα βελτίωσης και ανάκτησης των

προηγούμενων λειτουργιών βρίσκεται κάτω του 5%. Αν η πλήρης παράλυση παραμένει 72 ώρες μετά τον τραυματισμό, η ανάκτηση είναι, ουσιαστικά, μηδενική. Η πρόγνωση είναι πολύ καλύτερη για τα ατελή νωτιαία σύνδρομα. Αν κάποιου βαθμού αισθητική λειτουργία διατηρηθεί, το ποσοστό μελλοντικής κινητοποίησης του ασθενούς είναι μεγαλύτερο από 50%.

Μελέτες έχουν δείξει ότι οι ασθενείς με βλάβη του ΝΜ που υποφέρουν από πόνο έχουν μειωμένη ποιότητα ζωής από ασθενείς στους οποίους ο πόνος ελέγχεται επαρκώς, γεγονός το οποίο μπορεί, επίσης, να επηρεάζει τη γενική θεώρηση αυτών των ασθενών για τη ζωή (10, 16, 17).

Όπως φαίνεται, αν και το αρχικό πρόβλημα της επιβίωσης και του υψηλού ποσοστού θνητότητας, χάρη στην εξέλιξη της ιατρικής επιστήμης (αντιβιώσεις, βελτιστοποίηση μονάδων ΜΕΘ), έχει σε αρκετό βαθμό αντιμετωπιστεί, η ποιότητα ζωής των ασθενών με τραυματισμό του ΝΜ παραμένει χαμηλή και η ανάγκη για βελτίωσή της υψίστης σημασίας, τόσο για τους ίδιους του ασθενείς όσο και για την κοινωνία.

Παθοφυσιολογία της Κάκωσης Νωτιαίου Μυελού

Η παθοφυσιολογία της κάκωσης του ΝΜ είναι γνωστό, πλέον, ότι αποτελείται από μία διφασική διαδικασία που συνίσταται από μία πρωτογενή φάση, η οποία περιλαμβάνει την αρχική μηχανική βλάβη και την δευτερογενή/καθυστερημένη φάση που ακολουθεί και εμπλέκει διεργασίες, όπως την αγγειακή διαταραχή, τη φλεγμονή και τη διεγερσιμοτοξικότητα (18).

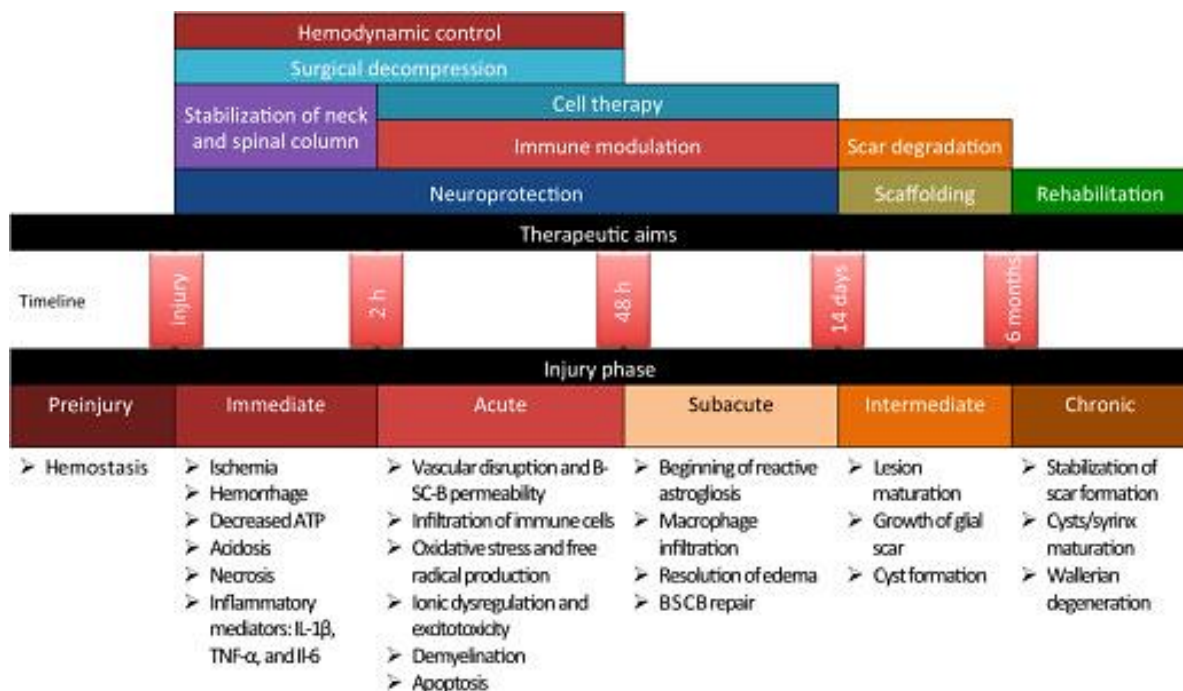
Πρωτογενής Φάση

Η πρωτογενής φάση της βλάβης οφείλεται κυρίως στην ασκούμενη από την σπονδυλική στήλη δύναμη πάνω στο ΝΜ με αποτέλεσμα διάσπαση των αξόνων (19). Αυτό είναι πιο συχνά το αποτέλεσμα της συμπίεσης/διάσεισης που προκαλεί διάτμηση, κατάτμηση ή οξεία επιμήκυνση (20-22). Τραυματισμοί που διατέμνουν πλήρως το ΝΜ είναι σπάνιοι ενώ, συνήθως, μερικές από τις συνδέσεις επιβιώνουν της κάκωσης (19). Αυτοί οι

διασωθέντες, αλλά απομυελινωμένοι νευράξονες βρίσκονται, συνηθέστερα, στο υποχοριοειδές χείλος (23-25). Είναι γνωστό ότι το μεγαλύτερο ποσοστό διασωθέντων νευρώνων σχετίζεται με καλύτερη νευρολογική έκβαση σε πειραματικά μοντέλα τραυματισμού του ΝΜ (με διατήρηση μόλις του 10% των αρχικών νευρώνων) (26, 27). Για το λόγο αυτό, η φάση αυτή έχει γίνει αντικείμενο μελέτης και θεραπευτικών παρεμβάσεων με σκοπό από τη μία τη διατήρηση των διασωθέντων νευρώνων και από την άλλη την αναγέννησή τους και την αποκατάσταση της φυσιολογικής τους επανασύνδεσης (27). Επομένως, η χρήση ουσιών με νευροπροστατευτικές και νευρογενετικές ιδιότητες (όπως ο αγωνιστής των υποδοχέων ενδοθηλίνης Β: IRL-1620, βλέπε παρακάτω), σε πειραματικά μοντέλα τραυματισμού του ΝΜ, είναι μείζονος σημασίας.

Δευτερογενής Φάση

Η δευτερογενής φάση τραυματισμού χαρακτηρίζεται από ισχαιμία, διεγερσιμοτοξικότητα, αγγειακή δυσλειτουργία, οξειδωτικό στρες και φλεγμονή που οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο (19, 28, 29). Οι διεργασίες στη δευτερογενή βλάβη είναι, συχνά, επιβλαβείς για τους γειτονικούς νευρώνες που έχουν επιβιώσει, με τη βλάβη αυτή να μπορεί να οδηγήσει σε κακή λειτουργική αποκατάσταση (30, 31). Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της δευτερεύουσας φάσης δημιουργείται ένα ανασταλτικό περιβάλλον που μειώνει την ενδογενή αναγέννηση και επαναμυελίνωση (21). Η δευτερεύουσα φάση αποτελείται από υποφάσεις που χωρίζονται χρονικά σε άμεσο, οξύ, υποξύ, ενδιάμεσο, και χρόνιο στάδιο της κάκωσης του ΝΜ (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Χρονοδιάγραμμα που συνοψίζει τα στάδια μετά τον τραυματισμό της σπονδυλικής στήλης και τους θεραπευτικούς στόχους που ταιριάζουν καλύτερα σε κάθε στάδιο. Τα στάδια που λαμβάνουν χώρα μετά από τον τραυματισμό του νωτιαίου μυελού διαιρούνται σε άμεσο (πρώτες 2 ώρες), (πρώιμο) οξύ (2-48 ώρες), υποξύ (48 ώρες-14 ημέρες), ενδιάμεσο (14 ημέρες-6 μήνες), και χρόνιο (μετά από 6 μήνες). Αυτά τα στάδια χαρακτηρίζονται από αλλαγές όσο αφορά την φλεγμονή, την αιμορραγία, την απόπτωση, τον αιματονωτιαίο φραγμό και την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Ορισμένοι θεραπευτικοί στόχοι αποδεικνύονται ωφέλιμοι σε συγκεκριμένα στάδια τραυματισμού του νωτιαίου μυελού, δεδομένου ότι στοχεύουν τα γεγονότα που συμβαίνουν σε εκείνο το στάδιο (18).

Άμεσο Στάδιο

Το άμεσο στάδιο αποτελεί τις 2 πρώτες ώρες της βλάβης και ξεκινάει αμέσως μετά την κάκωση/τραυματισμό (32). Ο ταχύς θάνατος των νευρώνων και νευρογλοίας συνοδεύει το νωτιαίο σοκ που έχει ως αποτέλεσμα την άμεση απώλεια της λειτουργίας στο επίπεδο της βλάβης και κάτω (33, 34).

Οξύ Στάδιο (Πρώιμο Οξύ/Υποξύ)

Το άμεσο στάδιο δεν θεωρείται, γενικά, ως στόχος για θεραπεία, καθώς είναι πάρα πολύ ωρίς, κλινικά μιλώντας, ώστε να χορηγηθεί θεραπεία. Λόγω αυτού, θεωρείται ότι το οξύ στάδιο είναι ένας καλύτερος στόχος για νευροπροστατευτικές παρεμβάσεις, δεδομένου αυτό μπορεί να είναι το πιο πρώιμο στάδιο των ασθενών που προσέρχονται στο νοσοκομείο. Το οξύ στάδιο μπορεί να χωριστεί στο πρώιμο οξύ και στο υποξύ στάδιο. Το πρώιμο οξύ στάδιο εμφανίζεται μεταξύ τις 2^{ης} και 48^{ης} ώρας μετά τον τραυματισμό. Ένα χαρακτηριστικό της δευτερογενούς βλάβης στο οξύ στάδιο είναι η αγγειακή διαταραχή και η αιμορραγία που οδηγούν σε ισχαιμία (35, 36). Η διαδικασία της αιμορραγίας και ισχαιμίας είναι στενά συνδεδεμένες με την διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (ΑΕΦ)/αιματονωτιαίου φραγμού (ΑΝΦ). Ο τραυματισμός του ΝΜ έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της διαπερατότητας ΑΕΦ/ΑΝΦ λόγω της άμεσης μηχανικής διάσπασης των αγγείων και της επίδρασης φλεγμονωδών μεσολαβητών πάνω στα ενδοθηλιακά κύτταρα (19, 37). Αν και η διαπερατότητα του ΑΕΦ/ΑΝΦ μετά τον τραυματισμό θεωρείται ως ένα επιβλαβές συμβάν, μπορεί να δώσει την δυνατότητα εισαγωγής κυτταρικών θεραπειών και φαρμάκων που, φυσιολογικά, δεν μπορούν να διέλθουν του ΑΕΦ/ΑΝΦ. Η διαρροή του ΑΕΦ/ΑΝΦ επιτρέπει την διείσδυση ανοσοκυττάρων, όπως τα Τ κύτταρων, ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων, εντός του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ). Η γειτονική μικρογλοία συνεχίζει να πολλαπλασιάζεται και να ενεργοποιείται στο υποξύ στάδιο. Η μικρογλοία προσελκύει περιφερικά λευκοκύτταρα και άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού μέσω της παραγωγής κυτταροκινών που αυτορρυθμίζουν την παραγωγή χημειοκινών (38-40). Μέσα σε 24 ώρες από τον τραυματισμό, τα ουδετερόφιλα εισέρχονται στη βλάβη όπου παράγουν κυτταροκίνες, μεταλλοπρωτεϊνάσες της εξωκυττάριας ουσίας (matrix metalloproteinases, MMPs), δισμουτάση του υπεροξειδίου, και μυελοϋπεροξειδάση (38, 41-44). Η νευροανοσολογική απόκριση μετά την κάκωση του ΝΜ έχει αποδειχτεί να είναι ένα δίκωπο μαχαίρι, όπου η ενεργοποίηση ορισμένων κυττάρων του ανοσοποιητικού και φλεγμονωδών κυτταροκινών έχει δείχθει να έχουν τόσο θετικούς, όσο και καταστροφικούς ρόλους.

Ενδιάμεσο Στάδιο

Το ενδιάμεσο στάδιο αρχίζει περίπου 2-3 εβδομάδες μετά τον τραυματισμό και συνεχίζει έως τον 6^ο μήνα μετά τον τραυματισμό. Κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου, η αντιδραστική γλοίωση συνεχίζεται καθώς η ουλή αρχίζει να ωριμάζει. Επίσης, δημιουργούνται εκβλαστήσεις αξόνων της φλοιονωτιαίας και δικτυονωτιαίας οδού (45). Αν και αυτή η ενδογενής προσπάθεια δημιουργίας νευραξόνων δε μεταφράζεται σε σημαντική λειτουργική αποκατάσταση, παρουσιάζεται ως ένας ελκυστικός στόχος για θεραπευτικές παρεμβάσεις.

Χρόνιο Στάδιο

Το τελευταίο στάδιο της κάκωσης του NM είναι το χρόνιο, το οποίο αρχίζει περίπου έξι μήνες μετά την κάκωση και διαρκεί για όλη τη ζωή του ασθενούς. Κατά τη διάρκεια της χρόνιας φάσης, η βλάβη αρχίζει να σταθεροποιείται με σχηματισμό ουλής και δημιουργία κύστης/συριγγίου (19, 46). Οι κύστες προκύπτουν εξαιτίας της εκκαθάρισης των υπολειμμάτων από τη μικρογλοία και τα μακροφάγα, λόγω της προοδευτικής απώλειας του νευρικού ιστού (32, 41, 47). Συνήθως κάποιοι άξονες παραμένουν στο όριο των κύστεων αλλά οι ίδιες οι κύστες παρουσιάζουν ένα φυσικό φραγμό στη νευρωνική αναγέννηση (48). Επιπλέον, η Βαλλεριανή εκφύλιση των αξόνων συνεχίζεται για χρόνια μέχρι την αφαίρεση των κυτταρικών σωμάτων και των αξόνων τους (49, 50). Πολλές από τις θεραπευτικές στρατηγικές που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια του χρόνιου σταδίου στοχεύουν στην προώθηση της αναγέννησης, της πλαστικότητας, ή για τη βελτίωση της λειτουργίας των εναπομεινάντων νευρώνων.

Θεραπευτικές Παρεμβάσεις

Χειρουργική Αποσυμπίεση

Η χειρουργική αποσυμπίεση βοηθάει στην αποκατάσταση της σταθερότητας και διατήρησης της αιμάτωσης του NM (51, 52). Η διεθνής και πολυκεντρική μελέτη κοόρτης STASCIS ανέδειξε μία ευνοϊκότερη νευρολογική έκβαση μεταξύ των ασθενών που

χειρουργούνται σε οξεία φάση (<24 ώρες μετά το ατύχημα) σε σχέση με αυτούς που χειρουργήθηκαν μετέπειτα (53).

Αιμοδυναμικός Έλεγχος

Βλάβες πάνω από το επίπεδο Θ1-Θ4 μπορεί να προκαλέσουν υπόταση καθώς η καρδιά λαμβάνει την συμπαθητική της νεύρωση από αυτή την περιοχή. Συνεπώς, κακώσεις του ΝΜ οδηγούν σε μειωμένη μυοκαρδιακή συσταλτικότητα και ρυθμό (54, 55). Η υπόταση, επίσης, συμβαίνει λόγω της απώλειας του κεντρικού υπερνωτιαίου συμπαθητικού ελέγχου (πλήρης διατομή στο αυχενικό επίπεδο) (12, 56). Η υπόταση έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη αιμάτωση του ΝΜ, η οποία οδηγεί σε μεγαλύτερη ισχαιμική βλάβη. Για το λόγο αυτό συστήνεται η διατήρηση μίας ελαχίστης μέσης αρτηριακής πίεσης (ΜΑΠ) 85mmHg (57). Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται η αποκατάσταση του όγκου με υγρά (πρώτα με κρυσταλλοειδή και έπειτα με κολλοειδή) και, στη συνέχεια, η χρήση αγγειοσυσπαστικών (ανάλογα με το επίπεδο της βλάβης) (54, 58).

Στεροειδή: Μεθυλπρεδνιζολόνη

Υπήρξαν τρεις μείζονες κλινικές μελέτες για την διερεύνηση της χρήσης της μεθυλπρεδνιζολόνης μετά την κάκωση του ΝΜ. Η NASCIS I ήταν η πρώτη διπλή τυφλή, τυχαιοποιημένη μελέτη ελέγχου που έγινε για να καθοριστεί ο νευροπροστατευτικός ρόλος της μεθυλπρεδνιζολόνης μετά την κάκωση του ΝΜ (59-61), ακολουθούμενη από την NASCIS II και NASCIS III. Αρχικά, οι κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικάνικης Νευροχειρουργικής Εταιρείας και του Κογκρέσου των Νευροχειρουργών (American Association of Neurological Surgeons/Congress of Neurological Surgeons, AANS/CNS) του 2002 συνέστησαν τη χρήση της μεθυλπρεδνιζολόνης 24 ή 48 ώρες μετά την κάκωση του ΝΜ, αλλά προειδοποίησαν ότι θα πρέπει να «πραγματοποιούνται μόνο με τη γνώση ότι τα στοιχεία που υποδηλώνουν επιβλαβείς παρενέργειες είναι πιο συνεπή από οποιαδήποτε υπόδειξη κλινικού οφέλους» (62). Ωστόσο, το 2013, συνέστησαν τη μη χορήγηση μεθυλπρεδνιζολόνης (63).

Νευροπροστατευτικές Στρατηγικές

Οι νευροπροστατευτικές θεραπείες στοχεύουν στον περιορισμό της δευτερογενούς βλάβης μετά τον αρχικό τραυματισμό μέσω της διαφοροποίησης της φλεγμονής, της μείωσης του κυτταρικού θανάτου και της προστασίας από τη διεγερσιμοτοξικότητα. Μεταξύ των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται, τόσο σε επίπεδο βασικής έρευνας όσο σε κλινικές μελέτες, είναι η ριλουζόλη (64-67), η μινουκυκλίνη (68-71), ο παράγοντας διέγερσης αποικιών των κοκκιοκυττάρων (G-CSF) (72-76), ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (77-86) και η πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) (87-90).

Κυτταρικές Θεραπείες

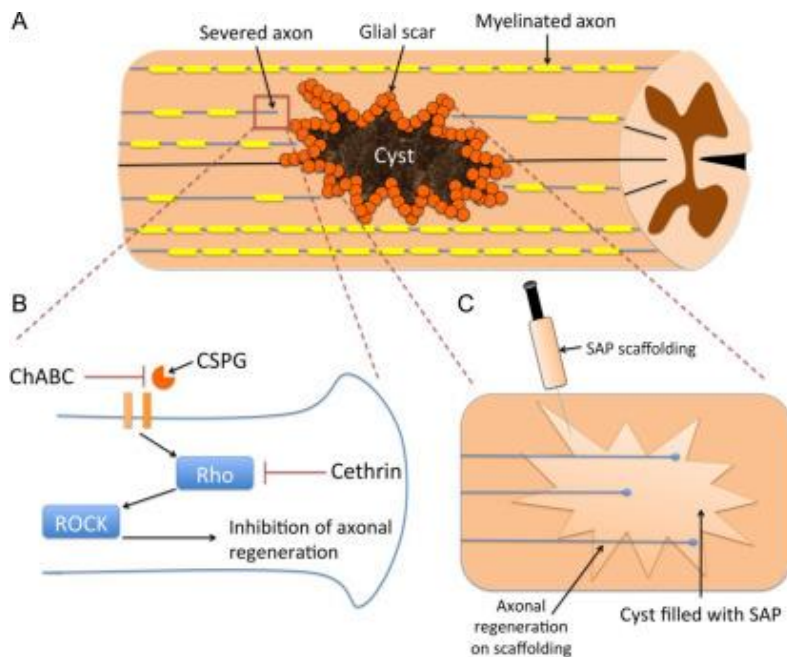
Οι κυτταρικές θεραπείες για την αντιμετώπιση της κάκωσης του NM είναι πολλά υποσχόμενες. Η κυτταρική θεραπεία χρησιμοποιεί την αναγεννητική ικανότητα των κυττάρων για να αναδιαμορφώσουν αριθμητικά περιοχές της βλάβης που προκύπτουν από τον τραυματισμό του NM. Ένα ευρύ φάσμα κυττάρων έχει μελετηθεί για τη θεραπεία της κάκωσης του NM. Αυτές οι μελέτες δείχνουν ότι τα ευεργετικά αποτελέσματα των κυτταρικών θεραπειών οφείλονται σε διαφορετικούς μηχανισμούς ανάλογα με τις πηγές κυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της νευροτροφικής υποστήριξης, της κυτταρικής αντικατάστασης, της ανοσοτροποποίησης ή της υποστήριξης της όλης δομής/σχηματισμού (91). Οι κλινικές δοκιμές (φάσεις I/II) είναι τώρα σε εξέλιξη στη Βόρεια Αμερική για την κυτταρική θεραπεία της κάκωσης του NM. Παρά τις προόδους, η θεραπεία με βλαστοκύτταρα περιορίζεται από τις διαφορές στην παθοφυσιολογία που αφορά στο ανατομικό επίπεδο της βλάβης αλλά και την συνεχή αναζήτηση για την ιδανική πηγή κυττάρων. Αυτό αυξάνει την ανάγκη για περισσότερες κλινικές μελέτες ώστε να εξακριβωθούν οι μηχανισμοί δράσης των κυττάρων και της ασφάλειάς τους. Τα κύτταρα που χρησιμοποιούνται είναι:

1. Κύτταρα Schwann
2. Εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα

3. Πολυδύναμα βλαστοκύτταρα
4. Νευρικά πρόδρομά βλαστοκύτταρα
5. Μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα
6. Οσφρητικά κύτταρα που παράγουν μυελίνη

Νευρική Αναγέννηση

Οι νευροαναγεννητικές στρατηγικές στοχεύουν στην προώθηση της αναγέννησης των τραυματισμένων νευραξόνων. Αυτό μπορεί να γίνει με ρύθμιση/τροποποίηση της νευρογλοιακής ουλής, κύστης και ενδογενών παραγόντων που καθορίζουν την αναγέννηση. Ουσίες που έχουν μελετηθεί περισσότερο και υπάγονται σε αυτή την κατηγορία είναι η χονδροϊτινάση ABC (ChABC), το πολυ-γαλακτικό-συν-γλυκολικό οξύ (PLGA) (92-94) και ουσίες που αναστέλλουν τη λειτουργία της Rho με κύριο εκπρόσωπο την C3-τρανσφεράση (Cethrin από BioAxone Therapeutic) (Εικόνα 3) (95).



Εικόνα 3. Στρατηγικές που προωθούν την νευρογένεση μετά την κάκωση του ΝΜ. (Α) Τραυματισμός των νευραξόνων και απομυελίνωση. Δημιουργία κύστης και της νευρογλοιακής. (Β) Σύνδεση πρωτεογλυκάνων θεικής χονδροϊτίνης (CSPGs) =>

ενεργοποίηση της Rho => Αναστολή αξονικής αναγέννησης. Αναστολή των CSPG με την χονδροϊτινάση ABC (ChABC) και της Rho με την Cethrin. (C) Συνθετικό σύστημα

στηριγμάτων (πολυ-γαλακτικό-συν-γλυκολικό οξύ, PLGA) που εισάγεται εντός της κύστης και προωθεί την αζονική αναγέννηση (18).

Προώθηση πλαστικότητας και αναγέννησης μέσω αποκατάστασης/φυσιοθεραπείας

Πειραματικά μοντέλα έχουν δείξει ότι η φυσική αποκατάσταση και η άσκηση έχουν θετική επίδραση στην και στη λειτουργική αποκατάσταση τρωκτικών που υποβλήθηκαν σε κάκωση του NM. Αυτές οι μελέτες έχουν δείξει, επιπλέον, ότι η αναγέννηση και η πλαστικότητα των ακέριων οδών διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην λειτουργική αποκατάσταση (96-98). Κλινικές μελέτες τραυματισμού του NM έχουν δείξει ότι η αποκατάσταση/φυσιοθεραπεία μετά από τραυματισμό του NM έχει ευεργετικές επιπτώσεις με τη μεγαλύτερη παραμονή σε κέντρα αποκατάστασης να σχετίζεται με μεγαλύτερου βαθμού λειτουργική ανάρρωση (99, 100).

Συνδυαστική θεραπεία ως μελλοντική προσέγγιση

Είναι σαφές από την παθοφυσιολογία του τραυματισμού του NM ότι υπάρχουν περισσότεροι από ένας παράγοντες που συμβάλλουν στα παρατηρούμενα ελλείμματα και ότι η ιδανική θεραπεία θα πρέπει να είναι μια πολύπλευρη προσέγγιση που στοχεύει σε περισσότερες από μίας διεργασίες (18).

Νευρογένεση

Η Θεωρία της Νευρογένεσης στον Ενήλικα Οργανισμό

Η νευρογένεση, δηλαδή ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση διαφόρων βλαστικών κυττάρων που ανήκουν στη σειρά των νευροεπιθηλιακών κυττάρων, σε ενήλικα θηλαστικά, είναι γνωστό ότι συμβαίνει, υπό φυσιολογικές συνθήκες μόνο στις λεγόμενες «νευρογενείς» περιοχές του εγκεφάλου. Αυτές περιλαμβάνουν την περικοιλιακή ζώνη, τον ιππόκαμπο, τον οσφρητικό βολβό και, ενδεχομένως, περιοχές του νεοφλοιού, αν και η

τελευταία παραμένει ακόμα και σήμερα αμφιλεγόμενη. Η νευρογένεση μπορεί, επίσης, να προκληθεί σε ευρύτερες περιοχές του ΚΝΣ σε ενήλικα θηλαστικά ως απάντηση σε ορισμένους τύπους τραυματισμών ή ασθενειών (101-108). Βέβαια, τα δεδομένα που αφορούν την περιοχή όπου λαμβάνει χώρα η νευρογένεση, καθώς και ο ακριβής μηχανισμός πρόκλησης, είναι ασαφή. Η αδιαμφισβήτητη παρουσία της νευρογένεσης ως απάντηση σε τραυματισμό και άλλες νόσους εγείρει τη πιθανότητα ότι ορισμένα τμήματα του ΚΝΣ τροποποιούν και διεγείρουν την ενδογενή νευρογένεση σε απόκριση ορισμένων παθολογιών και ενσωματώνουν νέους νευρώνες στη λειτουργική αρχιτεκτονική των περιοχών του εγκεφάλου που έχουν υποστεί απώλεια κυττάρων και νευρωνικών κυκλωμάτων. Πρόσφατες μελέτες στην φυσιολογική οδοντωτή έλικα (103, 109) και το ραβδωτό σώμα σε ισχαιμία (103) παρέχουν άμεσες αποδείξεις ότι οι νευρώνες που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της νευρογένεσης στον ενήλικα οργανισμό έχουν πλήρως λειτουργική φυσιολογία, νευρωνική μορφολογία και συναπτικό φαινότυπο σε δομικό επίπεδο (109, 110).

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, έχει γίνει η ανακάλυψη των ενδογενών πολυδύναμων νευρικών βλαστικών κυττάρων (NSC) σε συγκεκριμένες περιοχές του ΚΝΣ. Μερική πρόοδος έχει επιτευχθεί αναφορικά στη θεραπεία τραυματισμού του ΚΝΣ και νευροεκφυλιστικών παθήσεων, μέσω της ενεργοποίησης αυτών των ενδογενών κυττάρων *in vivo* (111, 112). Αυτά τα ενδογενή NSCs είναι ικανά να διαφοροποιηθούν σε νευρώνες (113-115), τα οποία, στη συνέχεια, συμμετέχουν στη διαμόρφωση νέων κυκλωμάτων και, εντέλει, στη μερική λειτουργική αποκατάσταση μετά από νευρολογική βλάβη (116). Βέβαια, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, αυτές οι μελέτες αφορούν κυρίως τα NCSs του εγκεφάλου, ενώ δεν γίνονται αναφορές για τα ενδογενή NSCs του ΝΜ (117).

Νευρογένεση και Νωτιαίος Μυελός

Η αναδυόμενη βιβλιογραφία σε διάφορα είδη δείχνει ότι, υπό κανονικές συνθήκες, ο ΝΜ των ενήλικων οργανισμών είναι μη νευρογενής (108, 113, 118). Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η νευρογένεση μπορεί να προκληθεί στο ΝΜ μετά από ορισμένους τύπους τραυματισμού και παθήσεων. Αναφέροντας ορισμένα μοντέλα παθήσεων, οι Chi

και συν., (102) έδειξαν παρουσία νευρογένεσης στο NM μετά από εκφύλιση του κινητικού νευρώνα σε πειραματικό μοντέλο πλαγίας αμυατροφικής σκλήρυνσης σε μύες, και οι Danilov και συν., (119) παρατήρησαν την ύπαρξη νέων νωτιαίων νευρώνων σε πειραματικό μοντέλο πολλαπλής σκλήρυνσης. Η νευρογένεση μπορεί, επίσης, να εμφανιστεί στο NM ως απάντηση σε συγκεκριμένα είδη τραυματισμού σπονδυλικής στήλης. Όταν πραγματοποιείται άμεσος τραυματισμός στο NM (π.χ. συνθλιπτικό τραύμα ή ημιδιατομή/σύνδρομο Brown-Sequard) παρατηρείται μαζική γλοιώση και δημιουργία ουλής σε όλη την περιοχή της βλάβης, όπως αναφέρεται και ανωτέρω (βλ. Δευτερογενής Φάση). Τα ενεργοποιημένα αστροκύτταρα εντός της ουλής απελευθερώνουν παράγοντες με σκοπό τον περιορισμό της δράσης των οξειδωτικών ουσιών και της περαιτέρω καταστροφής του ιστού. Αυτή η φαινομενικά φυσιολογική αντιδραστική λειτουργία, εμποδίζει τις αναγεννητικές διεργασίες και την αξονική βλάστηση (sprouting) με σκοπό τη δημιουργία νέων συνάψεων (120, 121). Αρχικές μελέτες που προσπάθησαν να δείξουν την ύπαρξη νευρογένεσης στο NM μετά από ημιδιατομή (118) ή τραυματισμό των ραχιαίων δεματίων (108) παρατήρησαν μαζική γλοιώση αλλά όχι νευρογένεση. Έτσι τα πειράματα στράφηκαν σε τραυματισμό εκτός του NM, εκεί όπου η γλοιώση είναι ελάχιστη, δηλαδή τις οπίσθιες ρίζες, με καλά αποτελέσματα. Συγκεκριμένα οι Nagano (122), Darian-Smith και Ciferrì (123) παρατήρησαν σοβαρό κλινικό έλλειμα σε πειραματόζωα μετά από διατομή των οπισθίων ριζών, το οποίο ακολούθησε μία σημαντική ανασυγκρότηση των νευρώνων και κλινική βελτίωση (123-125).

Στη συνέχεια, οι μελέτες στράφηκαν και πάλι προς το μοντέλο τραυματισμού του NM, με την ολοένα ανερχόμενη υπόθεση της ενδογενούς νευρογένεσης. Πειράματα σε επίμυες που είχαν υποστεί κεντρική ραχιαία βλάβη στο NM αναλύθηκαν για να παράσχουν μια άμεση σύγκριση κεντρικής βλάβης με πειραματόζωα που είχαν υποστεί τραυματισμό στις οπίσθιες ρίζες. Σε αμφότερα τα πειράματα παρατηρήθηκε νευρογένεση εντός του οπισθίου κέρατος στην περιοχή της βλάβης με τη μορφή κυττάρων που εξέφραζαν νευρογενετικούς δείκτες ταυτόχρονα με δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Η νευρογένεση δεν παρατηρήθηκε εντός του NM. Έτσι και για πολλά χρόνια παρέμενε χωρίς απόδειξη η υπόθεση για την νευρογενετική ικανότητα εντός του NM (110).

Ακολουθώντας την θεωρία της «νευρογενούς» περικολιακής ζώνης του εγκεφάλου, επιστήμονες παρουσίασαν δεδομένα για την ζώνη του κεντρικού σωλήνα του ΝΜ, με τα επενδυματικά κύτταρα που την περιβάλλουν να παίζουν το ρόλο των πολυδύναμων αυτών ενδογενών NCSs (117, 126, 127).

Η Ενδογενής Νευρογένεση και τα Πολυδύναμα Νευρικά Βλαστικά Κύτταρα (Neural Stem Cells)

Η ενδογενής νευρογένεση στους ενήλικες οργανισμούς, αρχικά, αναφερόταν σε κύτταρα (νευρώνες και γλοία) του ΚΝΣ. Αργότερα, θεωρήθηκε ως η ενεργοποίηση των ενδογενών NSCs και, στη συνέχεια, περιορίστηκε στη δημιουργία νέων νευρώνων (128-131). Το 2015, ερευνητική ομάδα, με επικεφαλής τον καθηγητή Li, αναθεώρησε τον ορισμό της ενδογενούς νευρογένεσης στους ενήλικες ως εξής: τα ενδογενή NSCs στο ΚΝΣ του ενήλικα μπορούν να ενεργοποιηθούν και να στρατολογηθούν στην περιοχή βλάβης/νόσου, όπου διαφοροποιούνται διαδοχικά σε ώριμους νευρώνες και σχηματίζουν λειτουργικά νευρικά κυκλώματα μαζί με τον ιστό του οργανισμού, οδηγώντας, εντέλει, στη λειτουργική αποκατάσταση (132, 133). Τον βασικό κορμό αυτής της διαδικασίας της ενδογενούς νευρογένεσης, συγκροτούν τα NCSs, που είναι αυτοανανεώσιμα και πολυδύναμα. Αυτό σημαίνει ότι μπορούν να πολλαπλασιαστούν και να παράγουν πολλούς διαφορετικούς τύπους ώριμων κυττάρων.

Όταν το ΚΝΣ στον ενήλικα οργανισμό υποστεί τραυματισμό ή κάποια πάθηση, τα ενδογενή NSCs ενεργοποιούνται και υπάρχει μία τάση για πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση, αλλά μόνο ένα πολύ μικρό ποσοστό διαφοροποιείται επιτυχώς και μάλιστα μη ελεγχόμενα προς διάφορες κυτταρικές σειρές. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αποτυχία της αυτόματης επιδιόρθωσης της βλάβης που έχει υποστεί το ΚΝΣ. Υπάρχουν τρεις διακριτοί τύποι κυττάρων που έχουν δυνατότητα πολλαπλασιασμού στον υγιή ΝΜ των ενήλικων θηλαστικών: Τα προγονικά ολιγοδενδροκύτταρα (NG2/olig2, 80% των κυττάρων με δυνατότητα πολλαπλασιασμού), τα αστροκύτταρα (GFAP/Cx301/Sox9, <5% των κυττάρων με δυνατότητα πολλαπλασιασμού), και τα επενδυματικά κύτταρα (FoxJ1, <5% των κυττάρων με δυνατότητα πολλαπλασιασμού) (113, 126, 127). Τα

αστροκύτταρα και τα προγονικά ολιγοδενδροκύτταρα είναι ικανά για πολλαπλασιασμό και ανανέωση των ίδιων σειρών αλλά δεν είναι πολυδύναμα, δηλαδή δεν έχουν την δυνατότητα διαφοροποίησης σε περισσότερες από μία ώριμες σειρές, συνεπώς δεν ανήκουν στην κατηγορία των βλαστικών κυττάρων (134). Αντιθέτως, τα επενδυματικά κύτταρα, ιδιαίτερα μετά από τραυματισμό του NM, παρουσιάζουν έντονο πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση κυρίως προς αστροκύτταρα (συμμετέχοντας ενεργά στην αστροκυτταρική ουλή-γλοίωση) και σε μικρότερο ποσοστό σε ολιγοδενδροκύτταρα (δυνατότητα επαναμυελίνωσης) (134, 135).

Μεγάλη προσπάθεια γίνεται σε πειραματικό επίπεδο τόσο για την ενεργοποίηση όσο και για τον έλεγχο αυτών των ενδογενών NCSs με σκοπό την διαφοροποίησή τους σε συγκεκριμένες κυτταρικές σειρές (νευρικά κύτταρα, ολιγοδενδροκύτταρα), αλλά και με την αναστολή της στροφής αυτών των πολυδύναμων κυττάρων προς άλλες σειρές (αστροκύτταρα, μικρογλοία). Αυτό επιτυγχάνεται με διάφορους τρόπους, όπως χορήγηση ουσιών, βλαστικών κυττάρων, μόνα τους ή σε συνδυασμό με τροφικούς παράγοντες, χρήση ικριωμάτων, γονιδιακές θεραπείες και καταστολή ή υπερέκφραση συγκεκριμένων γονιδίων, ενώ δεν είναι και σπάνια η χρήση συνδυασμών των παραπάνω παρεμβάσεων. Πολλά πειραματικά πρωτόκολλα τραυματισμού του NM θέτουν είτε ως πρωταρχικό είτε ως δευτερεύον καταληκτικό σημείο την νευρογένεση. Ανεξαρτήτως του ανωτέρω ορισμού που είχε δοθεί για την ενδογενή νευρογένεση, πολλοί συγγραφείς στη διεθνή βιβλιογραφία θέτουν διαφορετικά κριτήρια για τον ορισμό της. Το πόσο σαφείς ή αυθαίρετοι είναι κατά το μάλλον ή ήττον οι δοθέντες ορισμοί από τους συγγραφείς εξαρτάται όχι μόνο από το είδος της μελέτης (π.χ. *in vitro* vs *in vivo*) αλλά και από την μέθοδο μέτρησης, καθώς και το κατά πόσο το αποτέλεσμα της μέτρησης αντιπροσωπεύει νευρογένεση. Το θέμα της παρούσας εργασίας είναι η συστηματική ανασκόπηση των μελετών της διεθνούς βιβλιογραφίας που αφορούν την θεραπευτικό παρέμβαση πάνω στον τραυματισμό του NM και λαμβάνουν ως καταληκτικό σημείο (πρωτεύον ή δευτερεύον) την νευρογένεση, με σκοπό την εξαγωγή συμπερασμάτων που θα οδηγήσουν την ερευνητική κοινότητα στην πιο εστιασμένη βασική έρευνα πάνω στο κομμάτι της θεραπευτικής του τραυματισμού του NM.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός Μελέτης

Πάνω από μια δεκαετία, η βασική έρευνα πάνω στον τραυματισμό του ΝΜ, έχει επικεντρωθεί, εκτός της επίτευξης κλινικής βελτίωσης, στην μέτρηση και αύξηση της αναπλαστικής ικανότητας του Νωτιαίου Μυελού μετά την τραυματική του κάκωση. Το γεγονός αυτό εγείρει ερωτήματα για τόσο για την ύπαρξη νευρογένεσης σε επίπεδο νωτιαίου μυελού, όσο για το τρόπο μέτρησης και ποσοτικοποίησης της νευρογένεσης μετά από την επίδραση διαφόρων θεραπευτικών παρεμβάσεων. Η γνώση πάνω σε αυτό το αντικείμενο βασικής έρευνας θα συνεισφέρει στην επιστημονική κοινότητα λύνοντας τα παραπάνω ερωτήματα και οδηγώντας σε πιο στοχευμένες μελέτες που θα έχουν μεγαλύτερη συσχέτιση με το κλινικό αποτέλεσμα και μεταφραστική αξία σε κλινικό επίπεδο.

Βασικό Ερώτημα

Το βασικό αντικείμενο της παρούσας μελέτης είναι το αν και πόσο οι διαφορετικές πειραματικές θεραπευτικές παρεμβάσεις επηρεάζουν την νευρογενετική ικανότητα στο επίπεδο ΝΜ μετά από τραυματισμό. Για να απαντηθεί αυτό το ερώτημα είναι η δημιουργία μίας συστηματικής ανασκόπησης της υπάρχουσας βιβλιογραφίας με όσο το δυνατόν πιο καλά ορισμένα κριτήρια εισόδου/αποκλεισμού.

Συστηματική Ανασκόπηση

Οι συστηματικές ανασκοπήσεις αξιολογούν με κριτικό πνεύμα και συνθέτουν επίσημα τα καλύτερα διαθέσιμα στοιχεία για να δώσουν μια δήλωση συμπεράσματος που απαντά σε συγκεκριμένα κλινικά ερωτήματα. Η διεξαγωγή αυτής της έρευνας είναι διαφανής, με ρητή επιλογή, αξιολόγηση και αναφορά των στοιχείων που έχουν αναλυθεί.

Το πρώτο στοιχείο για την καλή δομή της ανασκόπησης είναι το καλά διατυπωμένο ερευνητικό ερώτημα, που πρέπει να περιέχει συνήθως τέσσερα μέρη (136) και είναι γνωστό από το ακρωνύμιο PICO: Πληθυσμός (Population), δηλαδή τον υπό μελέτη

πληθυσμό, Παρέμβαση (Intervention), δηλαδή τη θεραπεία, τη δοκιμή ή την έκθεση σε παράγοντα του εκάστοτε πληθυσμού, Σύγκριση (Comparison), δηλαδή την ύπαρξη εναλλακτικής παρέμβασης ή πληθυσμού ελέγχου και τα Αποτελέσματα (Outcome), δηλαδή τα πιθανά αποτελέσματα των παρεμβάσεων (137).

Συστηματική Ανασκόπηση Πεδίου (Systematical Scoping Review)

Λόγω του πλήθους της βιβλιογραφίας πάνω στο θέμα του τραυματισμού του ΝΜ και της νευρογένεσης, αλλά και των πολύ στοχευμένων συστηματικών ανασκοπήσεων (πχ. methods of spinal cord injury, scaffolds in spinal cord injury, neurotrophic factors in spinal cord injury, κ.ά.), θεωρήθηκε σκόπιμη αρχική η δημιουργία μίας συστηματικής ανασκόπησης πεδίου (Scoping Systematical Review ή Systematical Scoping Review).

Οι συστηματικές ανασκοπήσεις πεδίου είναι ένας τύπος σύνθεσης γνώσης που ακολουθεί μια συστηματική προσέγγιση για την χαρτογράφηση ενδείξεων/τεκμηριώσεων πάνω σε ένα θέμα και προσδιορίζει βασικές έννοιες, θεωρίες, πηγές και κενά γνώσης. Ορισμένες φορές αναφέρονται επίσης ως «συστηματικές αναθεωρήσεις πεδίων εφαρμογής». Αυτού του είδους οι ανασκοπήσεις μπορούν να εξετάσουν την έκταση (δηλαδή το μέγεθος), το εύρος (ποικιλία) και τη φύση (χαρακτηριστικά) των αποδεικτικών στοιχείων/ενδείξεων που αφορούν ένα θέμα ή ερώτηση. Μπορούν, επίσης, να καθορίσουν την αξία της διεξαγωγής μιας συστηματικής ανασκόπησης, να συνοψίσουν τα ευρήματα από ένα σύνολο γνώσεων που είναι ετερογενείς σε μεθόδους ή τρόπο διεξαγωγής ή να εντοπίσουν κενά στη βιβλιογραφία για να βοηθήσουν στον προγραμματισμό και την ανάθεση μελλοντικής έρευνας (138, 139).

Για τον παραπάνω λόγο, η αρχική δημιουργία ερωτήματος PICO, στερείται της σύγκρισης των παρεμβάσεων σε πρώτο χρόνο ενώ, στη συνέχεια, δόθηκε έναυσμα για την διενέργεια συστηματικής ανασκόπησης με βάση σαφές PICO.

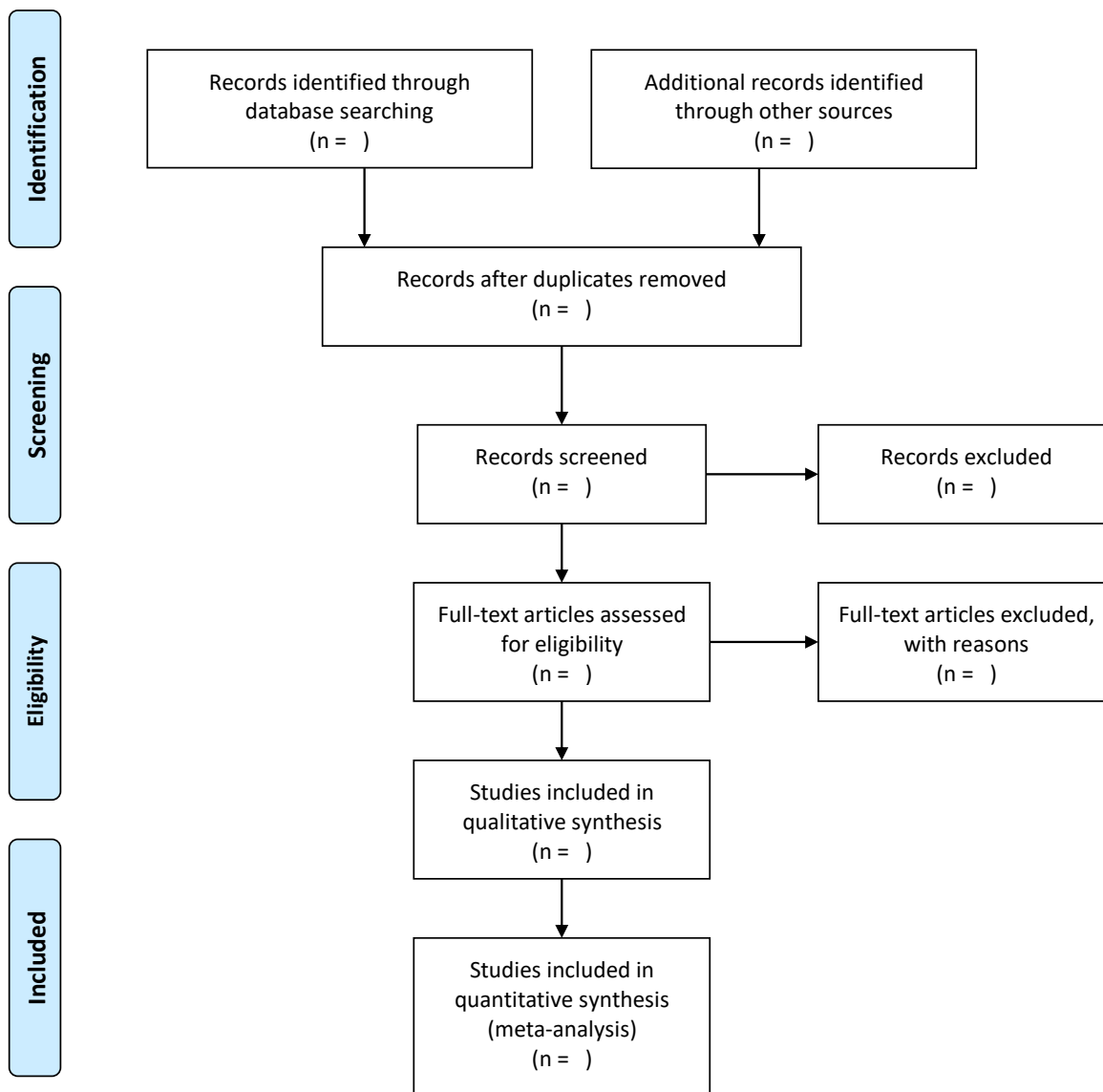
Υλικά και Μέθοδοι

Η Δήλωση κατά PRISMA (PRISMA Statement)

Οι συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις είναι απαραίτητες για να ανακεφαλαιωθούν με ακρίβεια και αξιοπιστία τα στοιχεία σχετικά με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των παρεμβάσεων υγειονομικής περίθαλψης. Ωστόσο, η σαφήνεια και η διαφάνεια αυτών των εκθέσεων δεν είναι η βέλτιστη. Η ανεπαρκής αναφορά συστηματικών ανασκοπήσεων μειώνει την αξία τους στους κλινικούς γιατρούς και άλλους χρήστες. Από την ανάπτυξη της δήλωσης κατά QUOROM (QUality Of Reporting Of Meta-analysis), που δημοσιεύθηκε το 1999, υπήρξαν αρκετές εννοιολογικές, μεθοδολογικές και πρακτικές εξελίξεις όσον αφορά τη διεξαγωγή και την αναφορά συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων. Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι οι αναθεωρήσεις των δημοσιευμένων συστηματικών αναθεωρήσεων, παρουσιάζουν ελλείψεις σχετικά με την αναφορά βασικών πληροφοριών σχετικά με αυτές τις μελέτες. Λαμβάνοντας υπόψη τα ανωτέρω, μια διεθνής ομάδα που περιλάμβανε έμπειρους συγγραφείς και μεθοδολόγους ανέπτυξε το PRISMA (Προτεινόμενα Στοιχεία Αναφοράς για Συστηματικές ανασκοπήσεις και Μετα-αναλύσεις) ως εξέλιξη της αρχικής κατευθυντήριας γραμμής της QUOROM για συστηματικές αναθεωρήσεις και μετα-αναλύσεις αξιολογήσεων που αφορούν παρεμβάσεις υγειονομικής περίθαλψης. Η δήλωση κατά PRISMA αποτελείται από μια λίστα ελέγχου 27 στοιχείων και ένα διάγραμμα ροής τεσσάρων φάσεων. Ο κατάλογος περιλαμβάνει στοιχεία που κρίνονται απαραίτητα για τη διαφάνεια της αναφοράς της εκάστοτε συστηματικής αναθεώρησης (140, 141) (Σχήμα 1,2).



PRISMA 2009 Flow Diagram



Σχήμα 1. Διάγραμμα ροής πληροφοριών μέσω των διαφόρων φάσεων μιας συστηματικής ανασκόπησης (140).



PRISMA 2009 Checklist

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	
ABSTRACT			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	
METHODS			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I^2) for each meta-	

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
		analysis.	
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	
RESULTS			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	
DISCUSSION			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	
FUNDING			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	

From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(7): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097
For more information, visit: www.prisma-statement.org.

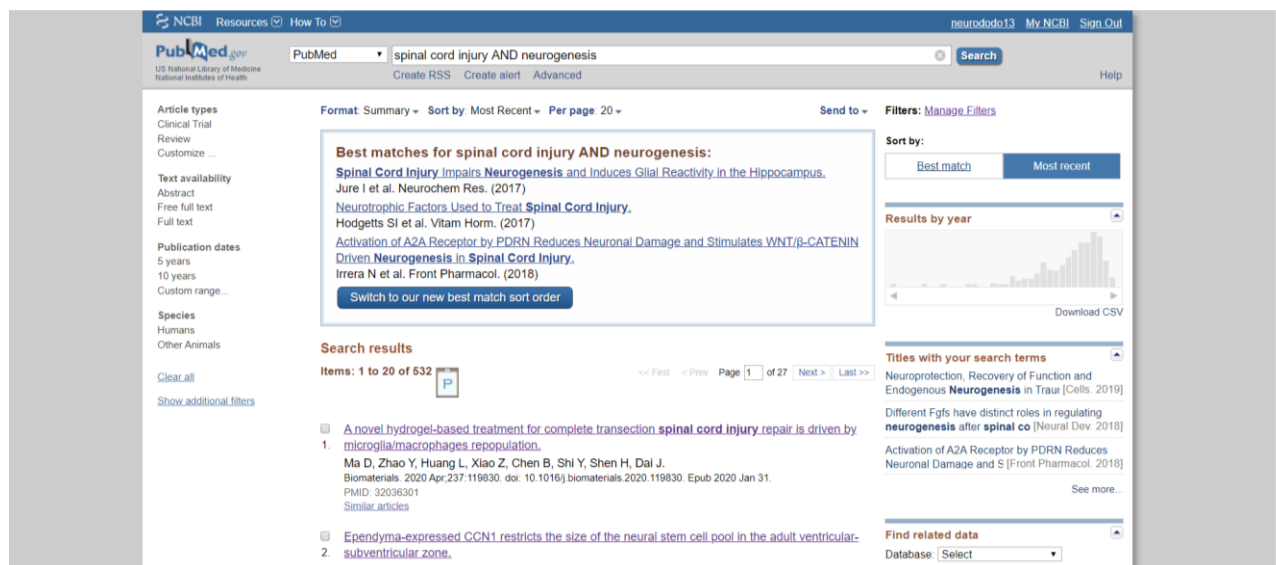
Σχήμα 2. Κατάλογος ελέγχου στοιχείων που πρέπει να συμπεριλαμβάνεται κατά την υποβολή αναφοράς σε μια συστηματική ανασκόπηση (με ή χωρίς μετα-ανάλυση) (140, 141).

Μέθοδος αναζήτησης σχετικών εργασιών

Βασικό στοιχείο μίας ανασκόπησης είναι η αρχική όσο το δυνατόν ευρεία αναζήτηση μελετών με σκοπό να μην γίνει παράλειψη εργασιών με μη κατάλληλες λέξεις κλειδιά. Κατά αυτόν τον τρόπο συστηματικής ανασκόπησης της βιβλιογραφίας παραθέτουμε την μέθοδο εύρεσης και επιλογής των μελετών που χρησιμοποιήθηκαν. Τα κριτήρια επιλογής της μελέτης απορρέουν άμεσα από τις ερωτήσεις επανεξέτασης και καθορίζονται εκ των προτέρων. Με τον ίδιο τρόπο γίνεται και η καταγραφή των κριτηρίων αποκλεισμού.

Λέξεις/Κλειδιά Αναζήτησης

Για την εύρεση μελετών χρησιμοποιήθηκε η ηλεκτρονική βάση δεδομένων της *US National Library of Medicine - National Institutes of Health, PubMed/MEDLINE* και έγινε αναζήτηση με τις εξής λέξεις κλειδιά: “*spinal cord injury AND neurogenesis*” στις 01 Σεπτεμβρίου 2019. Το συγκεκριμένο αποτέλεσμα αναζήτησης έδωσε πίσω **532** λήμματα (Εικόνα 4). Αυτή η αναζήτηση μεταφράζεται στην αντίστοιχη κωδικοποίηση λέξεων-κλειδιών του *PubMed (MeSH Terms)* ως: “ (*"spinal cord injuries"[MeSH Terms] OR ("spinal"[All Fields] AND "cord"[All Fields] AND "injuries"[All Fields]) OR "spinal cord injuries"[All Fields] OR ("spinal"[All Fields] AND "cord"[All Fields] AND "injury"[All Fields]) OR "spinal cord injury"[All Fields]) AND ("neurogenesis"[MeSH Terms] OR "neurogenesis"[All Fields]) ”*



Εικόνα 4. Χαρακτηριστικό στιγμιότυπο κατά την αναζήτηση στην ηλεκτρονική βάση δεδομένων της US National Library of Medicine - National Institutes of Health, PubMed/MEDLINE με τις λέξεις κλειδιά: “*spinal cord injury AND neurogenesis*”.

Κριτήρια Επιλογής/Αποκλεισμού

Τα κριτήρια επιλογής/αποκλεισμού δημιουργήθηκαν πριν την πρώτη διαλογή των άρθρων, σύμφωνα με τους κανόνες που διέπουν την δημιουργία της συστηματικής ανασκόπησης κατά την δήλωση PRISMA.

Τα κριτήρια αποκλεισμού των μελετών ήταν:

1. Μελέτες που δεν είναι γραμμένα σε αγγλική γλώσσα.
2. Μελέτες ανασκοπήσεων.
3. Μελέτες που δεν περιέχουν πειραματικό πρωτόκολλο τραυματισμού NM.
4. Μελέτες που δεν μετράνε με ανοσοϊστοχημική μέθοδο την νευρογένεση (πχ. Western blot, έκφραση του αγγελιοφόρου ριβονουκλεϊκού οξέως – mRNA).
5. Μελέτες που αφορούν μόνο *in vitro* μοντέλα ή κυτταρικές καλλιέργειες.
6. Μελέτες που αφορούν *ex vivo* μοντέλα.

7. Μελέτες που υπολογίζουν την νευρογένεση σε περιοχές εκτός του NM.
8. Μελέτες που δεν υπάρχει παρέμβασή (δηλαδή, όχι μελέτες που μετράνε την αυτό-αναγέννηση, χωρίς θεραπευτικό χειρισμό).
9. Μελέτες που εξετάζουν το αντίθετο αποτέλεσμα (δηλαδή χειρισμός που αποσκοπεί στη μείωση της νευρογένεσης, όπως Knockout μοντέλα).
10. Μελέτες που εξετάζουν μόνο το την αξονική βλάστηση (axonal sprouting).
11. Μελέτη ανοσοϊστοχημικών δεικτών που αφορούν μόνο νευροτροφικούς παράγοντες και όχι δομικές πρωτεΐνες της νευρικής κυτταρικής σειράς (πχ. brain-derived neurotrophic factor – BDNF – και nerve growth factor – NGF).

Τα κριτήρια επιλογής των μελετών (inclusion criteria) ήταν:

1. Μελέτες γραμμένες σε αγγλική γλώσσα.
2. Μελέτες που περιέχουν πειραματικό πρωτόκολλο τραυματισμού NM.
3. Μελέτες που αφορούν *in vivo* μοντέλα.
4. Μελέτες στις οποίες υπάρχει κάποια ενδεχόμενη θεραπευτική παρέμβασή.
5. Μελέτες που υπολογίζουν την νευρογένεση εντός του NM.
6. Μελέτες που μετράνε με ανοσοϊστοχημική μέθοδο την νευρογένεση (συγκεκριμένοι δείκτες, βλέπε παρακάτω Πίνακα δεικτών ανοσοϊστοχημείας).
7. Μελέτη της επιρροής πάνω στην ενδογενή νευρογένεση (δηλαδή, όσο το δυνατόν πιο καθαρή μέτρηση της νευρογένεσης από το ήδη υπάρχον περιβάλλον του νωτιαίου μυελού).

Αιτιολόγηση επιλογής των κριτηρίων

Αναφορικά με τα ανωτέρω κριτήρια, η επιλογή των *in vivo* μοντέλων έγινε με γνώμονα την όσο το δυνατόν καλύτερη πιθανή μεταφορά των αποτελεσμάτων στον άνθρωπο. Τα *in*

in vitro και *ex vivo* μοντέλα, αν και πιο εύκολα στην εξαγωγή συμπερασμάτων, δεν αντιπροσωπεύουν την πραγματικότητα καθώς το *in vivo* περιβάλλον είναι πιο πολύπλοκο και δέχεται περισσότερες επιρροές που δεν είναι ελεγχόμενες (όπως συμβαίνει στο *in vitro* περιβάλλον). Σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη της νευρογένεσης που συμβαίνει σε επίπεδο του ΝΜ και μάλιστα μετά από κάποια θεραπευτική παρέμβαση. Για το λόγο αυτό μελέτες που ασχολούνται με την αυτοαναγεννητική ικανότητα του ΝΜ μετά από τραυματισμό καθώς και μελέτες που εξετάζουν την αναγεννητική ικανότητα που λαμβάνει χώρα σε άλλες περιοχές του κεντρικού ή περιφερικού νευρικού συστήματος μετά από τραυματισμό του ΝΜ δεν αποτελούν αντικείμενο της παρούσας εργασίας. Τέλος, βασικό στοιχείο σε αυτό το σημείο της μελέτης είναι το τι θα θεωρηθεί νευρογένεση. Στην πραγματικότητα, η γνώση μας αναφορικά με τον ορισμό της νευρογένεσης (epistemology) διαφέρει από το αποτέλεσμα που προκύπτει από τους διάφορους τρόπους και μεθόδους που χρησιμοποιούμε στις μελέτες, στην προσπάθειά μας να μετρήσουμε (είτε ποιοτικά, είτε ποσοτικά) την νευρογένεση. Στην προσπάθεια ομογενοποίησης των αποτελεσμάτων και την επιλογή όσο το δυνατόν καλύτερων και πιο ευαίσθητων και, κυρίως, ειδικών δεικτών που δύναται να μετρήσουν νευρογένεση, αποφασίστηκε ο αποκλεισμός μεθόδων όπως το Western blot, καθώς η αύξηση μίας πρωτεΐνης σε ένα ομογενοποιημένο διάλυμα, όπου δεν υπάρχουν ξεκάθαρες δομές κυττάρων δεν παρουσιάζει ειδικότητα για το κύτταρο που εκφράζει την κάθε πρωτεΐνη. Αντίστοιχα δείκτες, όπως η έκφραση του mRNA και οι νευροτροφικοί παράγοντες (πχ. BDNF, NGF) από μόνοι τους, δείχνουν μία στροφή/κλίση προς νευρογένεση, χωρίς όμως να είμαστε σίγουροι αν το αποτέλεσμα αυτής της νευροτροφικής διέγερσης είναι η δημιουργία νέων νευρώνων. Από την άλλη, η στροφή σε ανοσοϊστοχημικούς δείκτες που είναι ειδικοί για τους νευρώνες και η αναγνώρισή τους πάνω στο κύτταρο είναι μία μέθοδος που χρησιμοποιείται και μπορεί, παρά τις παραδοχές που αναπόφευκτα γίνονται, να υπολογίσει ποιοτικά και, αρκετές φορές, ημιποσοτικά την νευρογένεση.

Ανοσοϊστοχημικοί Δείκτες

Οι παράγοντες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία είναι δείκτες ανοσοϊστοχημείας ειδική για την νευρική σειρά, από το στάδιο των νευροεπιθηλιακών κυττάρων μέχρι τον ώριμο νευρώνα (Πίνακας 1):

Νευροεπιθηλιακών κυττάρων	Αξονικής Γλοίας	Ενδιάμεσοι Προγονικοί Νευρώνες	Άωροι Νευρώνες	Ωριμοί Νευρώνες
<i>Nestin</i>	<i>Vimentin</i>	<i>TBR2</i>	<i>Doublecortin</i>	<i>NeuN</i>
<i>SOX2</i>	<i>PAX6</i>	<i>MASH1</i>	<i>NeuroD1</i>	<i>MAP2</i>
<i>Notch1</i>	<i>HES1</i>	<i>Dlx-2</i>	<i>TBR1</i>	<i>Neurofilament Medium</i>
<i>HES1</i>	<i>HES5</i>		<i>Beta III tubulin (Tuj-1)</i>	<i>Neurofilament Heavy</i>
<i>HES3</i>	<i>BLBP</i>		<i>Stathmin 1</i>	<i>Neurofilament Light</i>
<i>Occludin</i>	<i>TN-C</i>		<i>PSA-NCAM</i>	<i>Synaptophysin</i>
<i>E-cadherin</i>	<i>N-cadherin</i>			<i>PSD95</i>
<i>PAX6</i>	<i>Nestin</i>			<i>Synapsin</i>
	<i>SOX2</i>			<i>Bassoon</i>
	<i>Foxg1</i>			<i>NSE</i>

Γλουταμινεργικών Νευρώνων	GABAεργικών Νευρώνων	Ντοπαμινεργικών Νευρώνων	Σεροτονεργικών Νευρώνων	Χολινεργικών Νευρώνων
<i>vGluT1</i>	<i>GAT1</i>	<i>TH</i>	<i>TPH</i>	<i>ChAT</i>
<i>vGluT2</i>	<i>GABA-B receptor 1</i>	<i>DAT</i>	<i>Serotonin transporter</i>	<i>VACht</i>
<i>NMDAR1</i>	<i>GABA-B receptor 2</i>	<i>FOXA2</i>	<i>Pet1</i>	<i>Acetylcholinester ase</i>
<i>NMDAR2B</i>	<i>GAD65</i>	<i>GIRK2</i>	<i>HT-5</i>	
<i>Glutaminase</i>	<i>GAD67</i>	<i>Nurr1</i>		
		<i>LMX1B</i>		

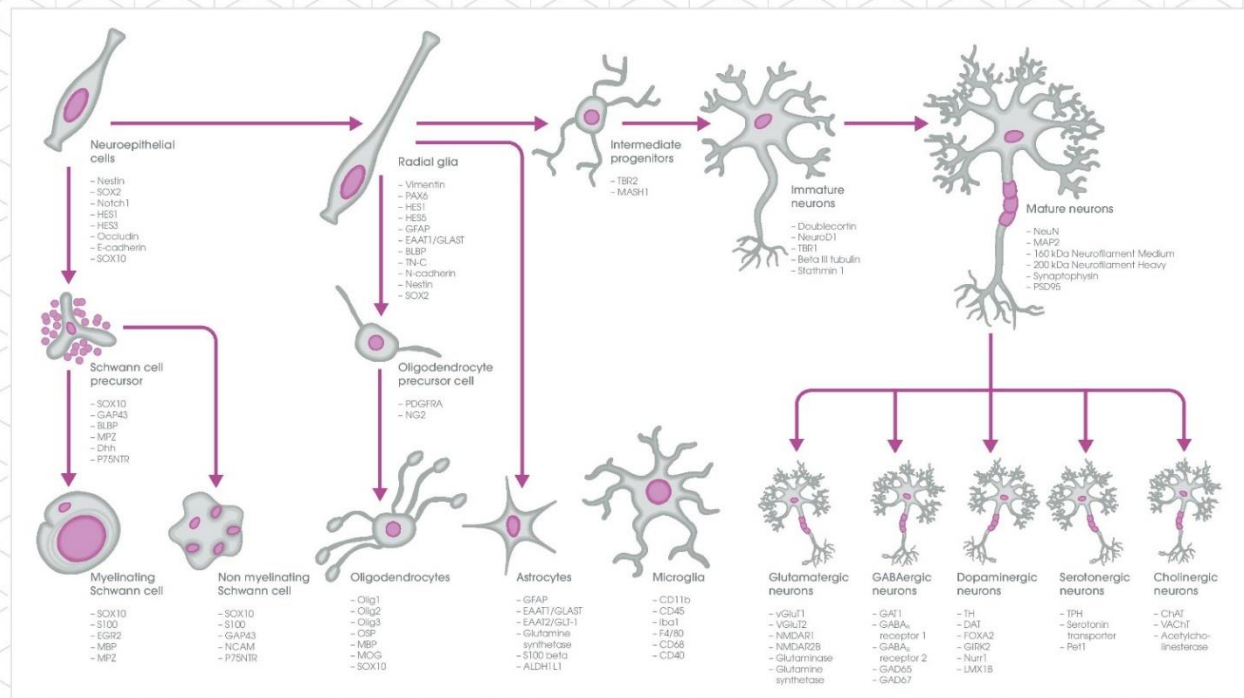
Πίνακας 1. Δείκτες ανοσοϊστοχημείας που χρησιμοποιήθηκαν ως κριτήριο επιλογής και δείκτης νευρογένεσης. GABA: γ-αμινο-βουτυρικό οξύ

Δείκτες που δεν είναι ειδικοί για την νευρική σειρά (εκφράζονται και σε άλλες σειρές, όπως αστροκύτταρα, ολιγοδενδροκύτταρα, κύτταρα Schwann και μικρογλοία) δεν χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη για λόγους αύξησης της ειδικότητας (βλ. Δείκτες Νευρικής Σειράς) (Εικόνα 5).

Τέλος, για την ποιοτική και ημιποσοτική (όπου ήταν δυνατό) μέτρηση του νευρογενετικού αποτελέσματος της εκάστοτε θεραπείας, χρησιμοποιήθηκε η σύγκριση της ομάδας ελέγχου έναντι ομάδας παρέμβασης (control vs intervention) με κοινό παρονομαστή έναν τουλάχιστον από τους ανωτέρω δείκτες (έμμεσος δείκτης νευρογένεσης). Αξίζει να σημειωθεί ότι υπήρχαν και μελέτες με πιο εμφανές νευρογενετικό φαινόμενο καθώς παρουσιάζουν ταυτόχρονη έκφραση ενός από τους ανωτέρω δείκτες νευρικής σειράς με έναν από τους δείκτες ενεργού κυτταρικού πολλαπλασιασμού: BrdU, Ki67, EdU, Top2a (άμεσος δείκτης νευρογένεσης).

Neural lineage markers at a glance

abcam



To find out more, please visit abcam.com/neuralmarkers

Copyright © 2016 Abcam, All rights reserved

Εικόνα 5. Δείκτες Νευρικής Σειράς (Copyright © 2016 Abcam, All rights reserved).

Αξιοπιστία μεταξύ των ερευνητών και το στατιστικό k (Interrater reliability and k statistics)

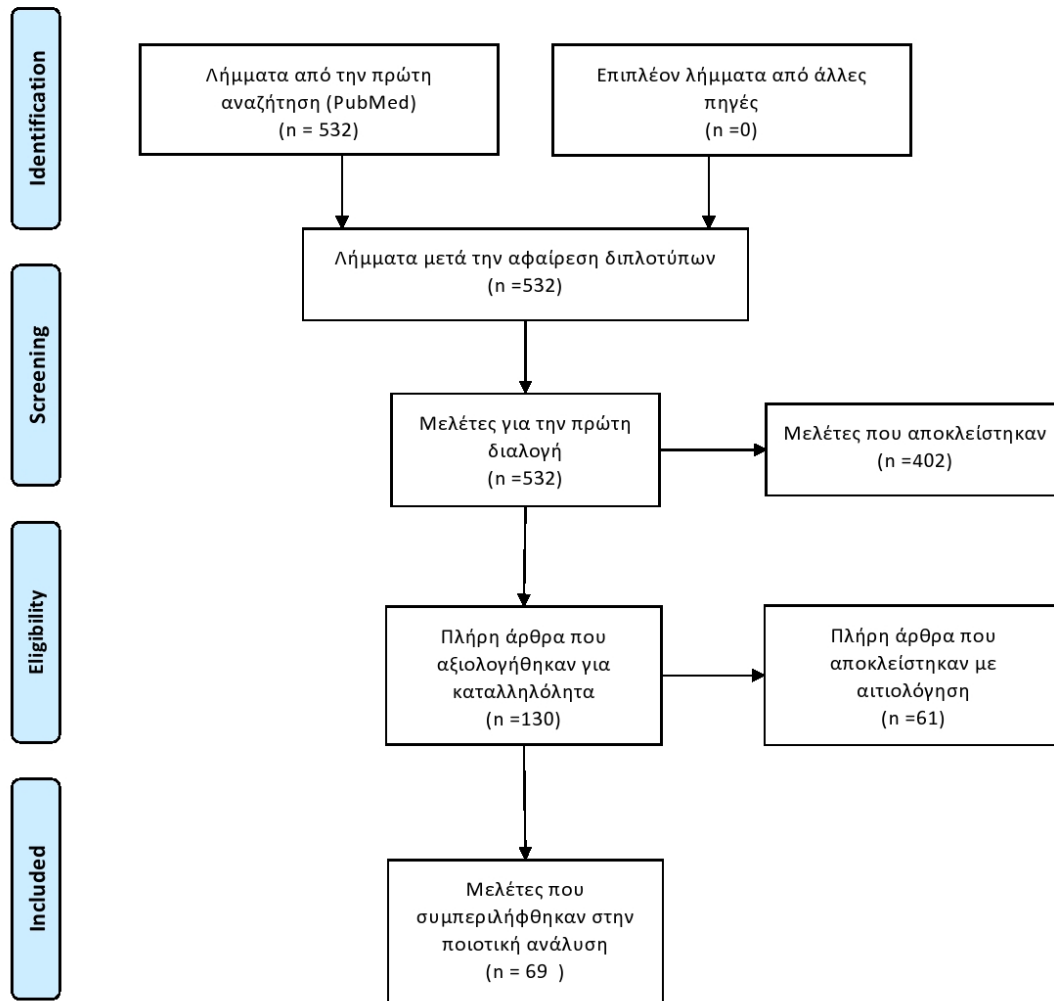
Για την πιο ορθή και όσο το δυνατόν πιο αμερόληπτη επιλογή των μελετών, η διαλογή έγινε μετά από έλεγχο από δύο ερευνητές (Θ.Μ. και Μ.Μ.). Οι δύο αυτοί ερευνητές έχουν εμπειρία στον χώρο της υγειονομικής περίθαλψης και στη συλλογή δεδομένων από μελέτες στο χώρο της υγείας και της ιατρικής επιστήμης. Για την αξιοπιστία των επιλογών τους έγινε έλεγχος σε παλαιότερες εργασίες συλλογής δεδομένων με υπολογισμό του στατιστικού k (>90%). Το στατιστικό k (k statistics) χρησιμοποιείται συχνά για να ελέγξει την αξιοπιστία του μεταξύ των κριτών/ερευνητών. Η σημασία της αξιοπιστίας του κριτή έγκειται στο γεγονός ότι αντιπροσωπεύει το βαθμό στον οποίο τα δεδομένα της μελέτης που συλλέγονται ανταποκρίνονται σωστά στις μεταβλητές που μετρήθηκαν. Η μέτρηση του μεγέθους στην οποία οι ερευνητές/κριτές (data collectors/raters) αποδίδουν την ίδια βαθμολογία στην ίδια μεταβλητή ονομάζεται αξιοπιστία μεταξύ των κριτών/ερευνητών. Σε περίπτωση ασυμφωνίας <10% του συνόλου, ένας τρίτος ερευνητής (Ν.Π.) πραγματοποίησε έλεγχο αυτών των μελετών με βάση τα ίδια κριτήρια.

Η επιλογή μελετών (first screening and eligibility criteria)

Η πρώτη επιλογή/αποκλεισμός των μελετών (screening) έγινε λαμβάνοντας υπόψη μόνο τον τίτλο και την περίληψη του άρθρου. Από τις 532 μελέτες που απέδωσε η αναζήτηση, μόνο 130 ήταν κατάλληλες για να την δεύτερη διαλογή (eligibility), που γίνεται μετά από ανάλυση του πλήρους κειμένου κάθε άρθρου. Από την δεύτερη διαλογή, 45 κρίθηκαν ακατάλληλα με βάση τα ανωτέρω κριτήρια επιλογής/αποκλεισμού, ενώ 16 επιπλέον άρθρα δεν συμπεριλήφθηκαν στην τελική ποιοτική ανασκόπηση διότι δεν ήταν ξεκάθαρο εντός του κειμένου αν η νευρογένεση που παρατηρήθηκε αφορούσε μόνο τις κυτταρικές σειρές που χρησιμοποιήθηκαν ως θεραπευτική παρέμβαση ή/και το περιβάλλον των ενδογενών NCSs. Συνολικά, από την διαλογή 69 μελέτες ήταν κατάλληλες για ανάλυση των δεδομένων που περιέχουν (Σχήμα 3).



PRISMA 2009 Flow Diagram



From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(7): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097

For more information, visit www.prisma-statement.org.

Σχήμα 3. Το διάγραμμα ροής PRISMA της μελέτης μας.

Στατιστική Ανάλυση

Για την στατιστική ανάλυση των ευρημάτων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα R v. 4.0 (R foundation) (142). Η ανάλυση των δεδομένων από τις μελέτες που συμπεριλήφθηκαν ήταν περιγραφική με εστίαση στα ποσοστά εμφάνισης της εκάστοτε παραμέτρου επί του συνόλου όσον αναγνωρίστηκαν κατά την αξιολόγηση των άρθρων.

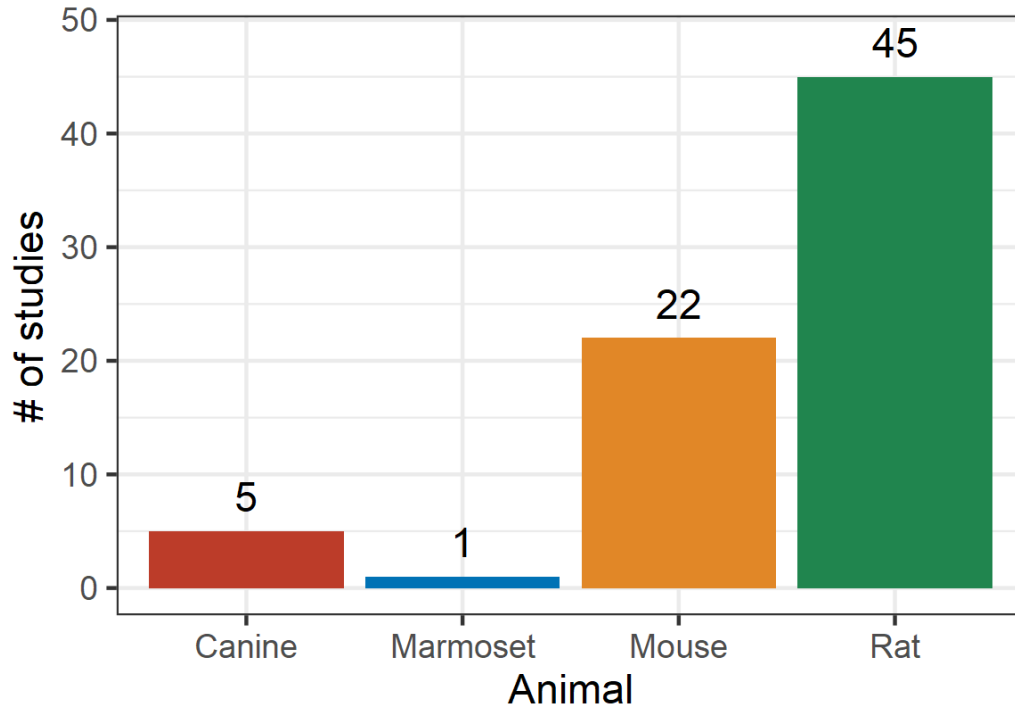
Αποτελέσματα

Περιγραφική Στατιστική των Μελετών

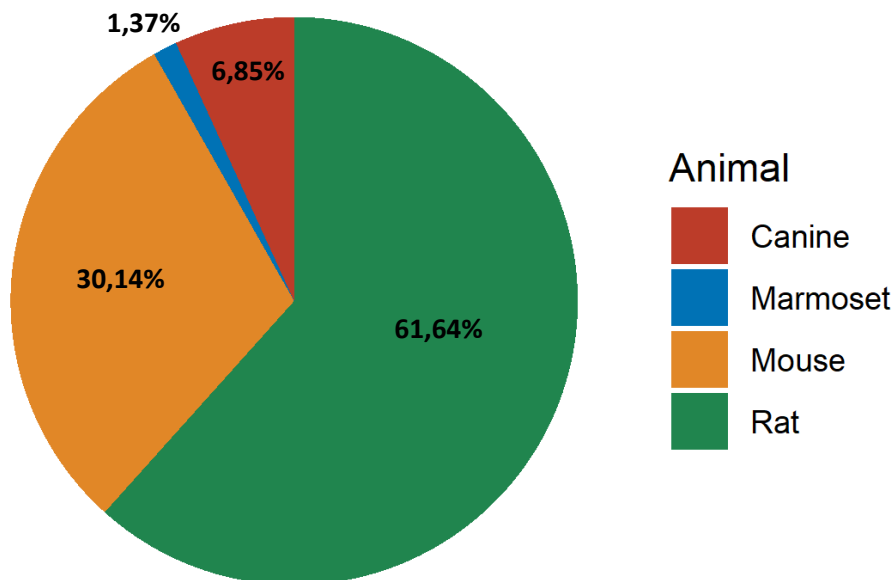
Παρότι οι μελέτες/άρθρα στην αρχική αναζήτηση ήταν 69, 3 εξ 'αυτών (106, 143, 144) περιείχαν περισσότερα του ενός πειράματα και για αυτό το λόγο υπολογίστηκαν ξεχωριστά (ανάλογα με τον αριθμό των πειραμάτων) στην στατιστική ανάλυση. Έτσι το σύνολο των μελετών/πειραμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την εξαγωγή αποτελεσμάτων είναι 73.

Πειραματόζωα

Από την ανάλυση των 73 μελετών, προκύπτει ότι το πιο χρησιμοποιούμενο πειραματόζωο είναι ο επίμυς (61,64%), με δεύτερο σε συχνότητα να είναι ο μύς (30,14%) (Σχήμα 4,5). Όπως φαίνεται από την ανάλυση, μεγάλου μεγέθους πειραματόζωα δεν προτιμώνται (βλ. Συζήτηση 3R), ενώ μικρότερου μεγέθους ή ασπόνδυλα δεν είναι κατάλληλα για μελέτες ανοσοϊστοχημείας.

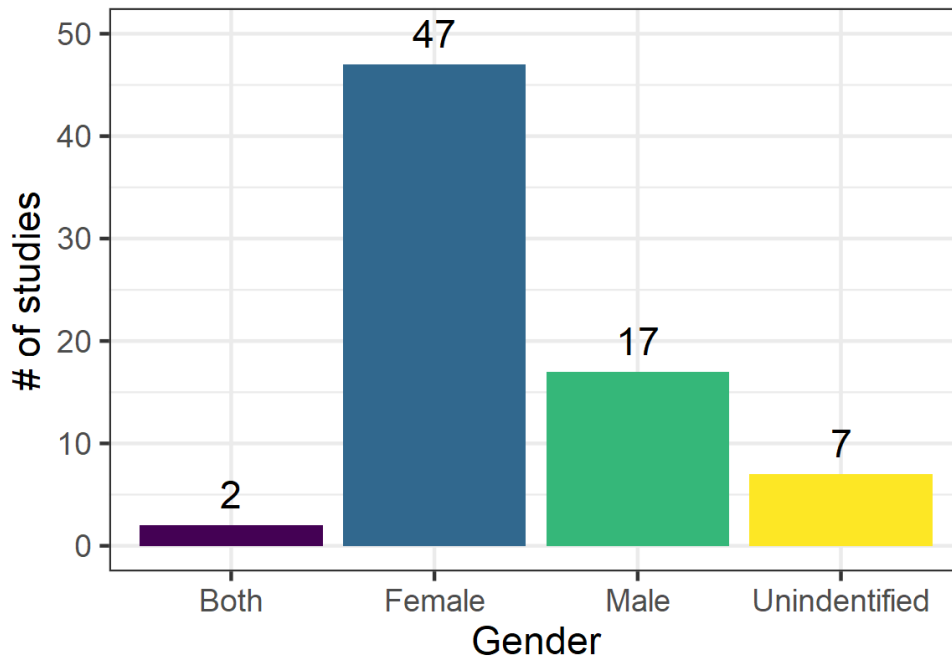


Σχήμα 4. Ραβδόγραμμα συχνότητας εμφάνισης του είδους των πειραματόζωων στις υπό εξέταση μελέτες.

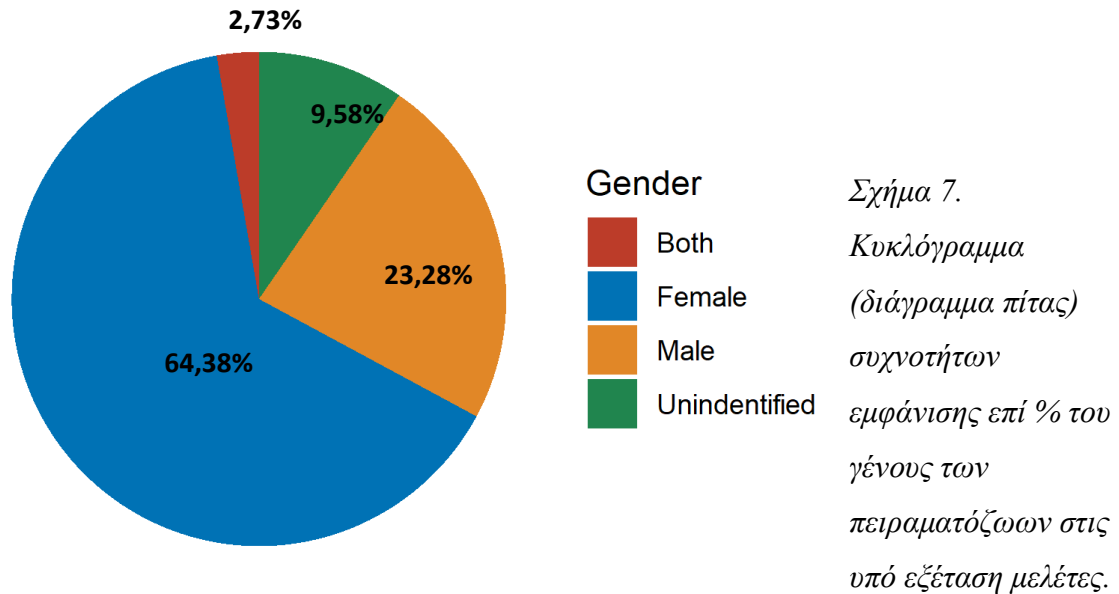


Σχήμα 5. Κυκλόγραμμα (διάγραμμα πίτας) συχνότητας εμφάνισης επί % του είδους των πειραματοζώων στις υπό εξέταση μελέτες.

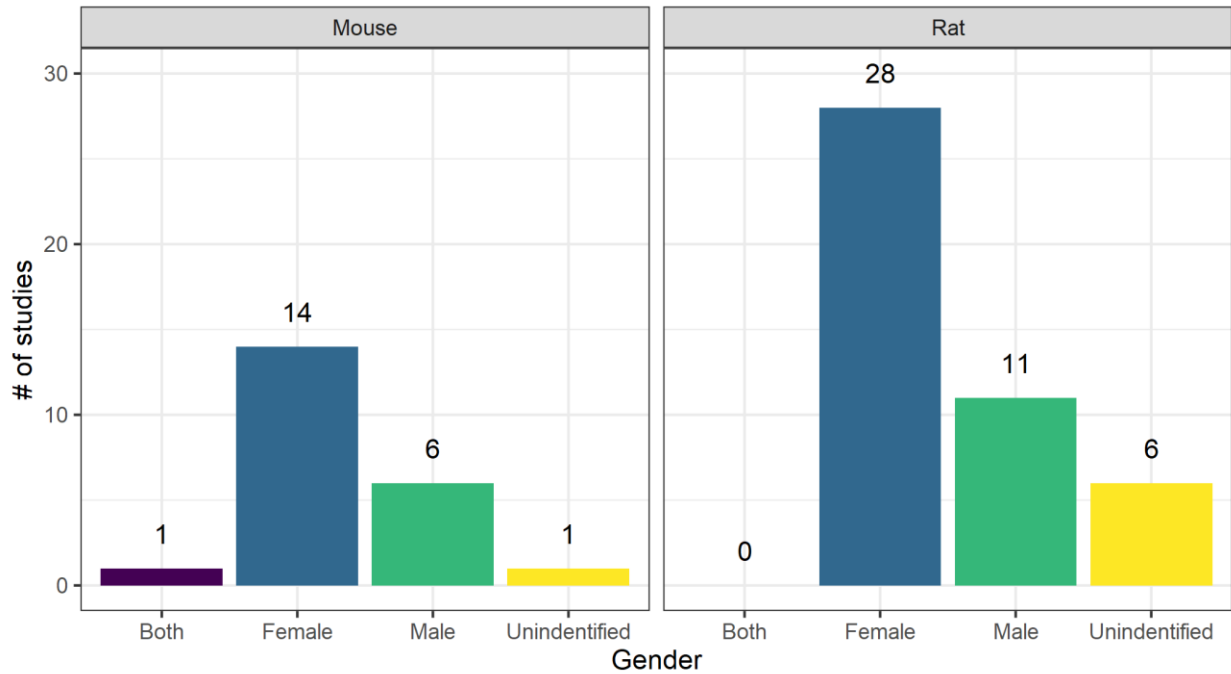
Προτίμηση υπάρχει και στο φύλο του πειραματοζώου με ξεκάθαρη υπεροχή των θηλυκών πειραματοζώων έναντι των αρσενικών (64,38% vs 23,28% αντίστοιχα) (Σχήμα 6,7).



Σχήμα 6. Ραβδόγραμμα συχνότητας εμφάνισης του γένους των πειραματοζώων στις υπό εξέταση μελέτες.



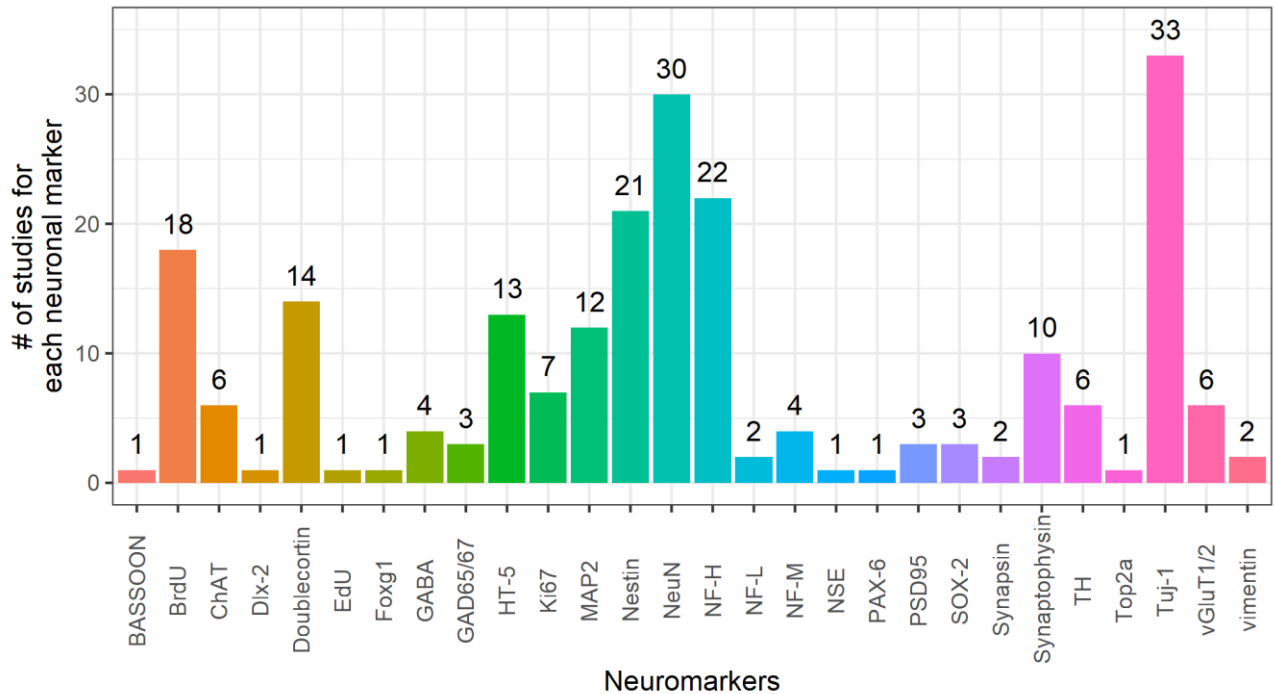
Επιμέρους ανάλυση του γένους των πειραματόζωων, με βάση τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα στη διεθνή βιβλιογραφία (μύες, επίμυες), δείχνει σαφή προτίμηση των θηλυκών έναντι των αρσενικών για το μοντέλο του NM, τόσο στους μύες (63,63% vs 27,27%, αντίστοιχα), όσο στους επίμυες (62,22% vs 24,44%, αντίστοιχα) (Σχήμα 8). Αυτά τα ποσοστά είναι ανεξάρτητα του είδους της θεραπείας (δεδομένα μη εμφανιζόμενα/data not shown).



Σχήμα 8. Ραβδόγραμμα συχνότητας εμφάνισης του γένους των μυών και επιμύων στις υπό εξέταση μελέτες.

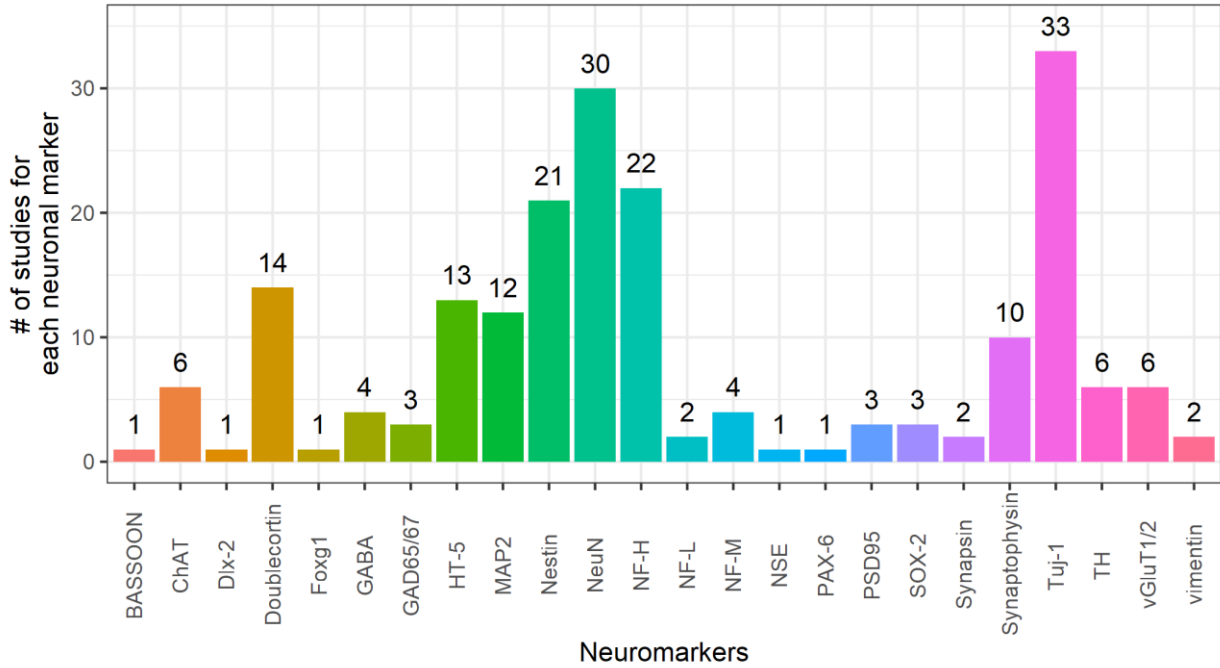
Δείκτες ανοσοϊστοχημείας

Από την στατιστική ανάλυση των δεικτών ανοσοϊστοχημείας, όπως αυτοί επιλέχθηκαν σύμφωνα με τα κριτήρια επιλογής/αποκλεισμού, προκύπτει ότι ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος δείκτης για την μέτρηση της νευρογένεσης είναι οι Tuj-1 (beta III tubulin) και NeuN και ακολουθούνται από τους Neurofilament-H και Nestin (Σχήμα 9).

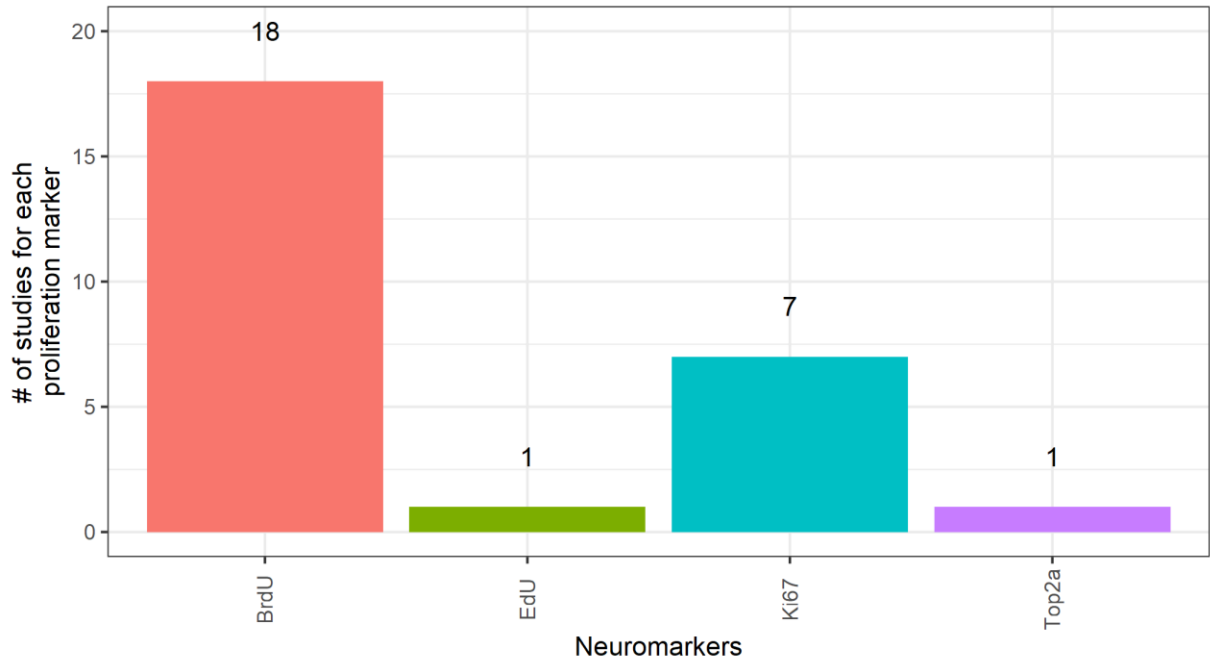


Σχήμα 9. Ραβδόγραμμα συχνότητας εμφάνισης του κάθε δείκτη ανοσοϊστοχημείας στις υπό εξέταση μελέτες.

Για την πιο σωστή παρουσίαση των ανοσοϊστοχημικών δεικτών, αναλόγως του αν αυτοί αντιπροσωπεύουν την νευρική σειρά ή δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού (μη ειδικό για συγκεκριμένη κυτταρική σειρά), έγινε υποανάλυση των δεδομένων. Από την ανάλυση των δεικτών νευρικής σειράς, οι Tuj-1 (beta III tubulin), NeuN, Neurofilament-H και Nestin παρουσιάζουν ποσοστά 16,41%, 14,92%, 10,94 και 10,44%, αντιστοίχως (Σχήμα 10). Παρόμοια ανάλυση έγινε και για τους δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού, όπως φαίνεται παρακάτω, με το μεγαλύτερο ποσοστό με διαφορά να κατέχει το BrdU (66,66%) (Σχήμα 11).

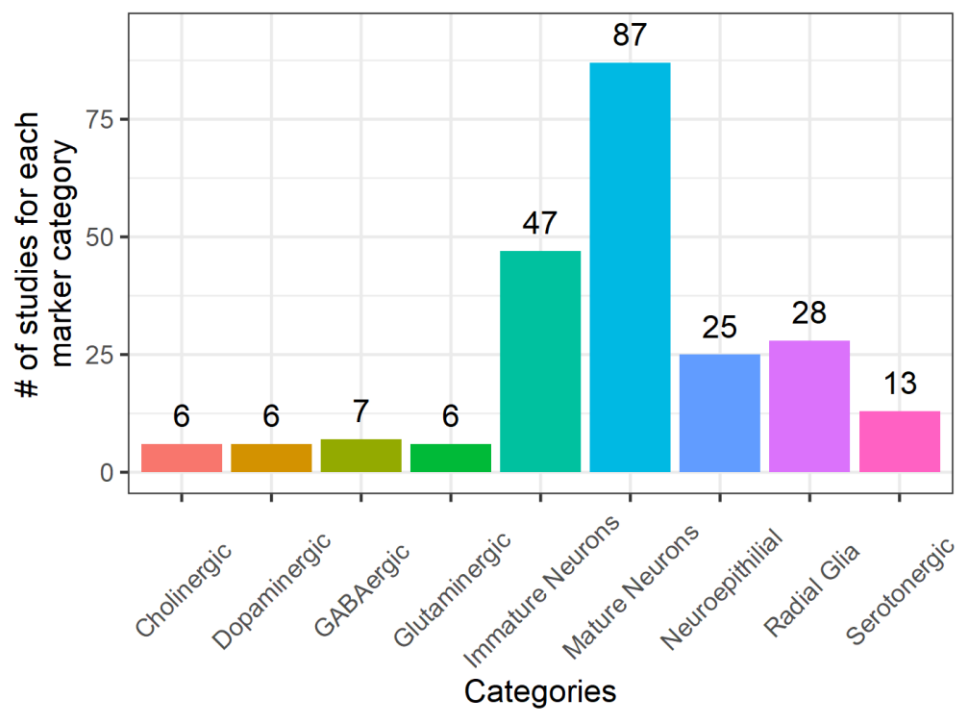


Σχήμα 10. Ραβδόγραμμα συχνότητας εμφάνισης του κάθε δείκτη ανοσοϊστοχημείας της νευρικής σειράς στις υπό εξέταση μελέτες.



Σχήμα 11. Ραβδόγραμμα συχνότητας εμφάνισης του κάθε δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού στις υπό εξέταση μελέτες.

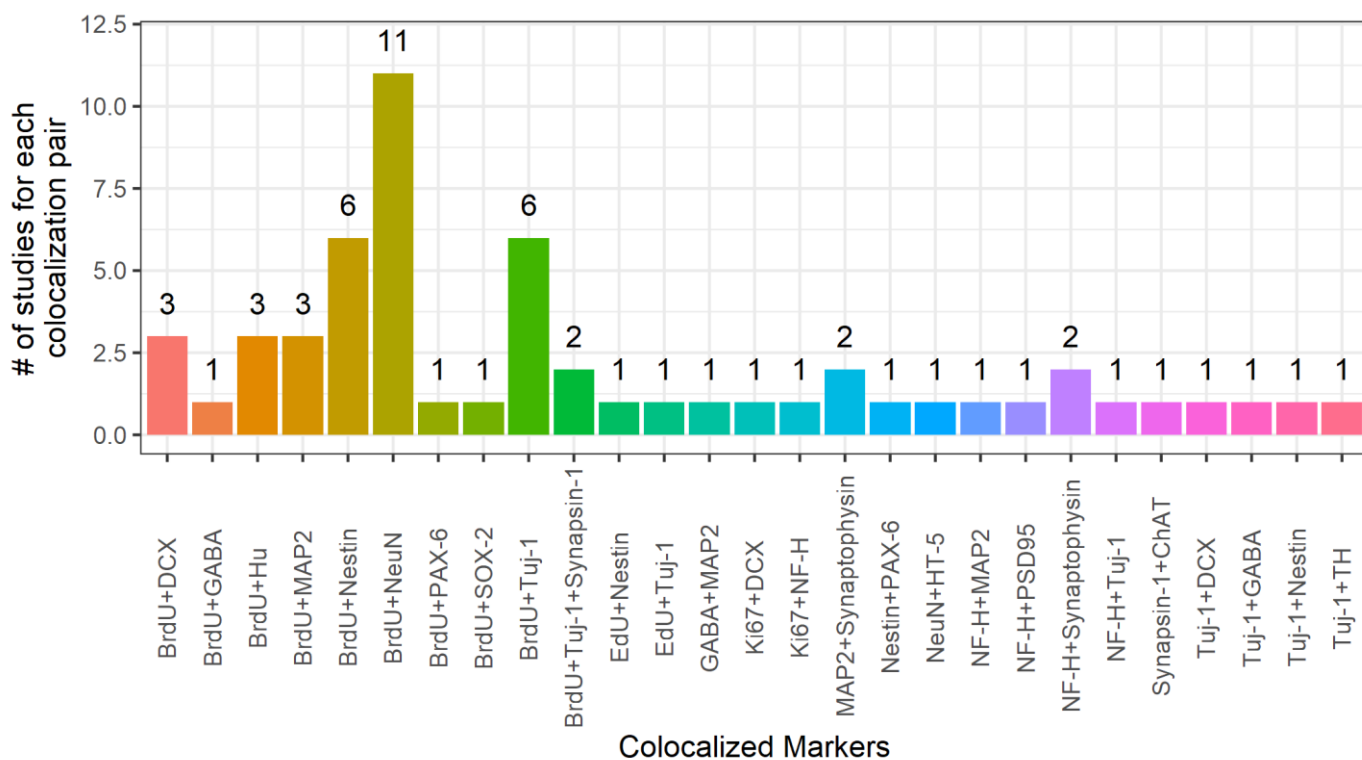
Επιπροσθέτως, παρουσιάζεται ανάλυση των δεδομένων των ανοσοϊστοχημικών δεικτών νευρικής σειράς με βάση το στάδιο ανάπτυξης του νευρικού κυττάρου κατά το οποίο εκφράζονται. Τα στάδια ανάπτυξης του νευρικού κυττάρου είναι: Νευροεπιθηλιακό → Αξονική Γλοία → Ενδιάμεσος Προγονικός Νευρώνας → Άωρος Νευρώνας → Ωριμος Νευρώνας → Διαφοροποιημένοι Νευρώνες (Γλουταμινεργικοί, GABAεργικοί, Ντοπαμινεργικοί, Σεροτονεργικοί, Χολινεργικοί) (Σχήμα 12). Το μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης παρουσιάζουν δείκτες ειδικό για ώριμους νευρώνες και άωρους νευρώνες (38,66% και 20,88% αντίστοιχα).



Σχήμα 12. Ραβδόγραμμα συχνότητας εμφάνισης της κάθε κατηγορίας νευρογενετικών δεικτών στις υπό εξέταση μελέτες.

Τέλος, καθότι είναι μείζονος σημασίας, η ανίχνευση της νευρογένεσης στις ανωτέρω μελέτες, σκόπιμη είναι η εύρεση των μελετών που χρησιμοποιούσαν ως τρόπο μέτρησης της νευρογένεσης την συνέκφραση των δεικτών ανοσοϊστοχημείας και, κυρίως, ενός της νευρικής σειράς με έναν από τους δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού (ενεργός νευρογένεση). Από την στατιστική ανάλυση των ανωτέρω, προκύπτει ότι ως πιο συχνή

συνέκφραση επιλέγεται αυτή με BrdU και NeuN (19,64%), ενώ ακολουθείται από την BrdU+Nestin και BrdU+Tuj-1 με ποσοστό 10,71% αμφότερες (Σχήμα 13).

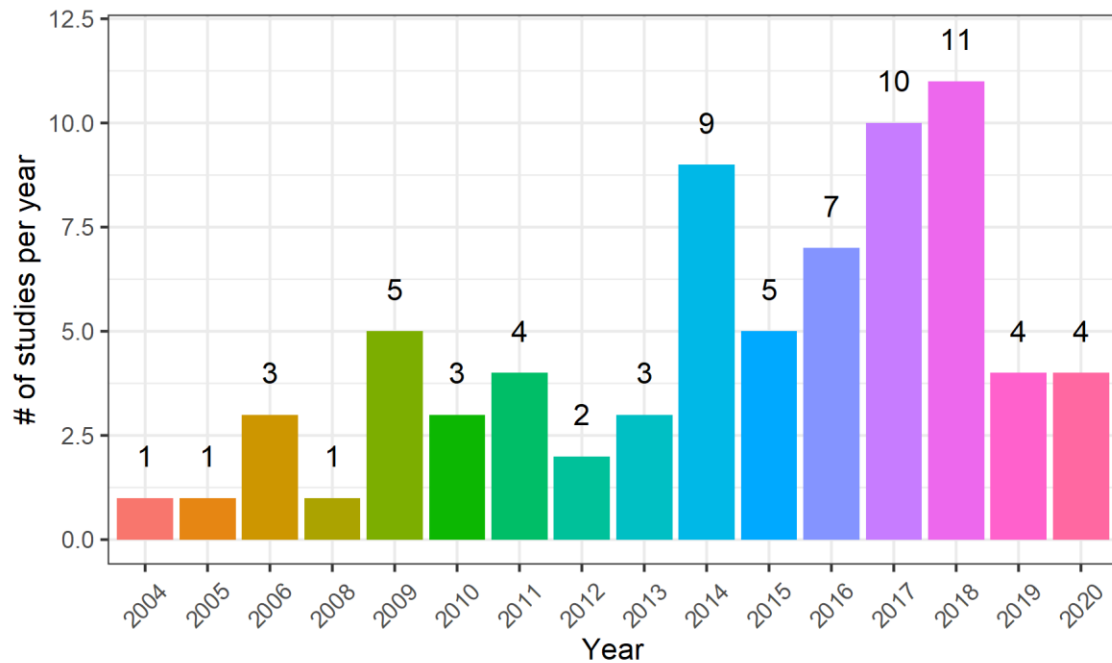


Σχήμα 13. Ραβδόγραμμα συχνότητας εμφάνισης της κάθε συνέκφρασης ανοσοϊστοχημικών δεικτών στις υπό εξέταση μελέτες.

Συζήτηση

Ο τραυματισμός του ΝΜ ήταν και παραμένει πάθηση με μεγάλο ποσοστό θνητότητας και αναπηρίας, ειδικά στις νεαρές ηλικίες. Παρά την πρόοδο της επιστήμης όσον αφορά στην αντιμετώπιση της οξείας φάσης και της φυσικής αποκατάστασης, λίγα επιτεύγματα έχουν γίνει σε κλινικό επίπεδο στο κομμάτι της στοχευμένης παθοφυσιολογικής θεραπείας. Η στροφή της επιστημονικής κοινότητας στην ανακάλυψη παραγόντων και χρησιμοποίηση ήδη υπάρχοντων (germiprosing), με σκοπό την ενίσχυση της αναγεννητικής ικανότητας του οργανισμού σε τοπικό επίπεδο, είναι έκδηλη τα τελευταία χρόνια. Αυτό φαίνεται και από

την αύξηση του αριθμού των δημοσιεύσεων που πραγματοποιούνται την νευρογένεση μετά από τραυματισμό του ΝΜ (Σχήμα 14).



Σχήμα 14. Ραβδόγραμμα συχνότητας των υπό ανάλυση μελετών ανά έτος.

Παρά τις ενδείξεις των μελετών για ενεργοποίηση των ενδογενών NSCs με σκοπό την νευρογένεση, το κλινικό αποτέλεσμα δεν είναι συχνά ενθαρρυντικό. Αυτό φυσικά οφείλεται σε πολλούς παράγοντες, όπως η αστροκυτταρική ουλή/γλοίωση, η ενεργοποίηση της μικρογλοίας, οι οξειδωτικοί παράγοντες, η στροφή των NSCs προς άλλες κυτταρικές σειρές, κ.ά.. Για την καλύτερη κατανόηση του παθοφυσιολογικού μηχανισμού καθώς και τον καλύτερο πειραματικό σχεδιασμό, σκόπιμη είναι η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και ανάλυση των μελετών.

Στην παρούσα συστηματική ανασκόπηση γίνεται προσπάθεια αποσαφήνισης του ορισμού «νευρογένεση» και του τρόπου που αυτός χρησιμοποιείται στις μελέτες. Καθότι οι τρόποι πιθανής μέτρησης (ποιοτικής και ποσοτικής) της νευρογένεσης είναι πολλοί (π.χ. Western blot, έκφραση mRNA, ανοσοϊστοχημεία), σημαντικό για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων είναι η επιλογή ενός εξ' αυτών. Ένας από τα χαρακτηριστικά αυτής της

ανασκόπησης είναι η επιλογή της ανοσοϊστοχημικής μεθόδου, ως τρόπου μέτρησης της νευρογένεσης. Η μη επιλογή άλλων μεθόδων που θα αύξαναν την ευαισθησία της μελέτης, έγινε σκόπιμα καθώς βασικό στοιχείο στο πρώτο αυτό στάδιο ήταν η διατήρηση της υψηλής ειδικότητας που προσφέρει η ανοσοϊστοχημική μέθοδος. Επιπροσθέτως, θα πρέπει να αναφερθεί στο σημείο αυτό ότι η επιλογή των συγκεκριμένων δεικτών έγινε με βάση το ποσοστό έκφρασής τους στο ΚΝΣ, όπως αυτό προκύπτει από μεγάλες βάσεις δεδομένων (Protein, GEO DataSets). Δείκτες με μειωμένη ή αμφίβολη έκφραση στο ΚΝΣ, αποκλείστηκαν από την μελέτη με σκοπό την διατήρηση της ειδικότητας, πάλι εις βάρος της ευαισθησίας.

Από την στατιστική ανάλυση των μελετών προκύπτει ότι τα πιο χρησιμοποιούμενα πειραματόζωα για το πειραματικό μοντέλο τραυματισμού του ΝΜ, είναι ο μυς και ο επίμυς. Τα πειραματόζωα αυτά προτιμώνται από μεγαλύτερου μεγέθους ζωικά πρότυπα, καθώς προσομοιάζουν επαρκώς το ανθρώπινο μοντέλο και εμπίπτουν στα τρία R της έρευνας (Reduction, Refinement, Replacement). Στην επιστημονική κοινότητα υπάρχει στροφή από τους μύες στους επίμυες, πιθανά, λόγω της παθοφυσιολογίας της κάκωσης, που είναι πιο κοινή μεταξύ επιμύων και ανθρώπων. Επιπλέον, σε αντίθεση με τον άνθρωπο και τον αρουραίο, οι μύες έχουν ισχυρή ενδογενή νευρογενετική ικανότητα μετά από τραυματισμό του ΝΜ, ακόμα και χωρίς θεραπευτική παρέμβαση (145).

Μεγάλο ενδιαφέρον προκαλεί η κατά πλειοψηφία χρήση θήλεων τρωκτικών έναντι αρένων. Στις περισσότερες μελέτες δεν δικαιολογείται αυτή η προτίμηση των θηλυκών πειραματοζώων. Στις περισσότερες μελέτες που έχουν δημοσιευτεί παγκοσμίως, πλην αυτών που εξετάζουν διαφυλετικές διαφορές ή συγκεκριμένες παθήσεις του φύλου, επιλέγονται αρσενικά πειραματόζωα. Αυτό δεν συμβαίνει στην περίπτωση του τραυματισμού του ΝΜ και μία πιθανή ερμηνεία που δίδεται είναι η μικρότερη ευαισθησία σε ουρολοιμώξεις μέχρι την επαναφορά της φυσιολογικής δραστηριότητας της κύστης. Θεωρείται ότι στα θηλυκά πειραματόζωα η λειτουργία της κύστης επανέρχεται νωρίτερα από ότι στα αρσενικά και δεν είναι απαραίτητη η τόσο συχνή χειροκίνητη κένωσή της.

Η επιλογή της ειδικότητας έναντι της ευαισθησίας που γίνεται σε αυτή τη μελέτη βρίσκει σύμφωνη και την επιστημονική κοινότητα, από πλευράς επιλογής των δεικτών της νευρικής σειράς. Όπως φαίνεται παραπάνω, οι δείκτες που χρησιμοποιούνται κυρίως είναι

της σειράς του ώριμου ή άωρου νευρώνα (ειδικότητα), ενώ δεν συνηθίζεται η χρήση δεικτών πολύ πρώιμων μορφών ή δεικτών που εκφράζονται σε πολλαπλές σειρές (ευαισθησία). Τέλος, η χρήση δεύτερου δείκτη (κυρίως δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού), σε συνδυασμό με έναν δείκτη νευρικής σειράς, αυξάνει ακόμα περισσότερο την ειδικότητα και προτείνεται για την μελέτη του νευρογενετικού αποτελέσματος.

Συμπέρασμα

Στην παρούσα συστηματική ανασκόπηση πεδίου (scoping systematic review) γίνεται μία πρώτη προσπάθεια καταγραφής του νευρογενετικού αποτελέσματος των διαφόρων θεραπειών σε πειραματικά μοντέλα τραυματισμού του ΝΜ. Το επόμενο βήμα είναι η δημιουργία ερωτήματος PICO για την σύγκριση του νευρογενετικού αποτελέσματος αναλόγως των θεραπειών μέσω συστηματικής ανασκόπησης και ποσοτικής ανάλυσης του μεγέθους μέσω μετα-ανάλυσης, που θα δηλωθεί επισήμως σε παγκόσμιο φορέα (PROSPERO).

Περίληψη

Εισαγωγή: Ο τραυματισμός του Νωτιαίου Μυελού είναι μία από τις πιο συχνές παθήσεις του ανεπτυγμένου κόσμου με καταστροφικές συνέπειες και πολύ συχνά κακή πρόγνωση. Μέχρι σήμερα οι θεραπευτικές παρεμβάσεις έχουν καταφέρει να μειώσουν αισθητά το ποσοστό θνητότητας μετά από τραυματισμό του νωτιαίου μυελού χωρίς όμως αντίστοιχη αύξηση της κλινικής βελτίωσης και συνεπώς ποιότητας ζωής. Η βασική έρευνα στρέφεται ολοένα και περισσότερο σε θεραπευτικές παρεμβάσεις με πρωταρχικό στόχο την νευρογένεση.

Σκοπός: Ο σκοπός της παρούσης μελέτης είναι η δημιουργία μίας συστηματικής ανασκόπησης της υπάρχουσας βιβλιογραφίας που μελετάει την ύπαρξη και το βαθμό νευρογένεσης στο επίπεδο νωτιαίου μυελού που προκαλούν οι διάφορες πειραματικές θεραπευτικές παρεμβάσεις μετά από τραυματισμό.

Υλικά και Μέθοδοι: Πραγματοποιήθηκε συστηματική ανασκόπηση της ηλεκτρονικής βάσης δεδομένων της US National Library of Medicine - National Institutes of Health, PubMed/MEDLINE και έγινε αναζήτηση με τις εξής λέξεις κλειδιά: “spinal cord injury AND neurogenesis” στις 01 Σεπτεμβρίου 2019. Δεν εφαρμόστηκαν περιορισμοί στο έτος δημοσίευσης, το είδος ή φύλο πειραματοζώου. Συγκεκριμένα κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού κατά PRISMA, εφαρμόστηκαν από δύο ανεξάρτητους ερευνητές για την επιλογή των τελικών άρθρων. Στα τελικά άρθρα πραγματοποιήθηκε περιγραφική στατιστική ανάλυση.

Αποτελέσματα: Από την ανάλυση των 73 μελετών, προκύπτει ότι το πιο χρησιμοποιούμενο πειραματόζωο είναι ο επίμυς (61,64%). Προτίμηση υπάρχει και στο φύλο του πειραματοζώου με ξεκάθαρη υπεροχή των θηλυκών πειραματοζώων έναντι των αρσενικών (64,38% vs 23,28% αντίστοιχα). Από την στατιστική ανάλυση των νευρικών δεικτών ανοσοϊστοχημείας προκύπτει ότι ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος δείκτης για την μέτρηση της νευρογένεσης είναι οι Tuj-1 (beta III tubulin) και NeuN και ακολουθούνται από τους Neurofilament-H και Nestin. Το μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης παρουσιάζουν δείκτες ειδικοί για ώριμους νευρώνες και άωρους νευρώνες (38,66% και 20,88%

αντίστοιχα). Παρόμοια ανάλυση έγινε και για τους δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού με το μεγαλύτερο ποσοστό με διαφορά να κατέχει το BrdU (66,66%). Τέλος, ως πιο συχνή συνέκφραση επιλέγεται αυτή με BrdU και NeuN (19,64%), ενώ ακολουθείται από την BrdU+Nestin και BrdU+Tuj-1 με ποσοστό 10,71% αμφότερες.

Συμπέρασμα: Στην παρούσα συστηματική ανασκόπηση πεδίου (scoping systematic review) παρατηρείται μία σαφής επιλογή είδος πειραματοζώου (επίμυς) και φύλου (θήλυ) που διακιολογείται λόγω κόστους και μεγέθους καθώς και της πιθανής αντοχής των θυλικών πειραματοζώων στην ανάπτυξη ουρολοίμωξης. Οι επιλογής νευρικών δεικτών της σειράς του ώριμου νευρώνα και η συνέκφραση αυτών με δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού επιλέγεται για την αύξηση της ειδικότητας του αποτελέσματος. Το επόμενο βήμα είναι η δημιουργία ερωτήματος PICO για την σύγκριση του νευρογενετικού αποτελέσματος αναλόγως των θεραπειών μέσω συστηματικής ανασκόπησης και ποσοτικής ανάλυσης του μεγέθους μέσω μετα-ανάλυσης, που θα δηλωθεί επισήμως σε παγκόσμιο φορέα (PROSPERO).

Abstract

Introduction: Spinal cord injury is one of the most common diseases in the developed world with catastrophic consequences and bad prognosis. To date, therapeutic interventions have been able to significantly reduce mortality rates after spinal cord injury, whereas there is a lack of increase in clinical improvement and therefore quality of life. In basic research there is an ever-increasing focus on therapeutic interventions aimed primarily at neurogenesis.

Aim: The aim of the present study is to establish a systematic review of the existing literature to investigate the presence and degree of neurogenesis at the level of the spinal cord, caused by various experimental therapeutic interventions after injury.

Materials and Methods: A systematic review of the US National Library of Medicine - National Institutes of Health, PubMed / MEDLINE database was conducted with the following keywords: “spinal cord injury AND neurogenesis” on September 1, 2019. No limits were applied to publication year, the type or sex of laboratory animals. Specific PRISMA selection and exclusion criteria were applied by two independent researchers to select the final articles. Descriptive statistical analysis was performed in the final articles.

Results: The analysis of 73 studies showed that the most used experimental animal is the rat (61.64%). There is also preference in the sex with a clear predominance of female animals over male (64.38% vs 23.28% respectively). Statistical analysis of the neuroimmunohistochemistry markers shows that the most commonly used for measuring neurogenesis are Tuj-1 (beta III tubulin) and NeuN, followed by Neurofilament-H and Nestin. The neuronal markers with the highest incidence are those expressed in mature and immature neurons (38.66% and 20.88% respectively). A similar analysis was performed for cell proliferation markers, with the predominance of BrdU (66.66%). Finally, the most common co-expression is BrdU and NeuN (19.64%), followed by BrdU + Nestin and BrdU + Tuj-1 with 10.71% both.

Conclusion: In the present scoping systematic review there is a clear preference in the type of animal (rat) and sex (female) selected for spinal cord injury, most likely due to cost

and size as well as the possible resistance of female animals to the development of urinary tract infections. The selection of neural markers of the mature neuron series and their co-expression with cell proliferation markers is chosen to increase the specificity of the neurogenetic outcome. Further studies comparing the neurogenetic effect with each treatment, via systematic review and meta-analysis, are needed.

Βιβλιογραφικές Αναφορές

1. Westgren N, Levi R. Quality of life and traumatic spinal cord injury. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 1998;79(11):1433-9.
2. Center NSCIS. Spinal cord injury facts and figures at a glance. *The journal of spinal cord medicine*. 2010;33(4):439-40.
3. Rhee P, Kuncir EJ, Johnson L, Brown C, Velmahos G, Martin M, et al. Cervical spine injury is highly dependent on the mechanism of injury following blunt and penetrating assault. *The Journal of trauma*. 2006;61(5):1166-70.
4. Avery JD, Avery JA. Malignant spinal cord compression: a hospice emergency. *Home healthcare nurse*. 2008;26(8):457-61; quiz 62-3.
5. Krause JS, Sternberg M, Lottes S, Maides J. Mortality after spinal cord injury: an 11-year prospective study. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 1997;78(8):815-21.
6. Campagnolo DI, Kirshblum S, Nash MS, Heary RF, Gorman PH. *Spinal Cord Medicine*: Wolters Kluwer Health; 2011.
7. Go BK, DeVivo MJ, Richards JS. The epidemiology of spinal cord injury. *Spinal cord injury: clinical outcomes from the model systems Gaithersburg (MD)*: Aspen Publishing. 1995:21-55.
8. Kirshblum SC, Burns SP, Biering-Sorensen F, Donovan W, Graves DE, Jha A, et al. International standards for neurological classification of spinal cord injury (revised 2011). *The journal of spinal cord medicine*. 2011;34(6):535-46.
9. Ditunno JF, Jr., Young W, Donovan WH, Creasey G. The international standards booklet for neurological and functional classification of spinal cord injury. *American Spinal Injury Association. Paraplegia*. 1994;32(2):70-80.
10. Spinal Cord Injuries [Internet]. Medscape. 2017, Aug 10. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/793582-overview>.
11. Morse LR, Stolzmann K, Nguyen HP, Jain NB, Zayac C, Gagnon DR, et al. Association Between Mobility Mode and C-Reactive Protein Levels in Men With Chronic Spinal Cord Injury. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2008;89(4):726-31.
12. Furlan JC, Fehlings MG. Cardiovascular complications after acute spinal cord injury: pathophysiology, diagnosis, and management. *Neurosurgical focus*. 2008;25(5):E13.
13. Turner AP, Bombardier CH, Rimmele CT. A typology of alcohol use patterns among persons with recent traumatic brain injury or spinal cord injury: implications for treatment matching. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2003;84(3):358-64.
14. Frisbie JH, Tun CG. Drinking and spinal cord injury. *The Journal of the American Paraplegia Society*. 1984;7(4):71-3.
15. Strauss DJ, Devivo MJ, Paculdo DR, Shavelle RM. Trends in life expectancy after spinal cord injury. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2006;87(8):1079-85.
16. Budh CN, Osteraker AL. Life satisfaction in individuals with a spinal cord injury and pain. *Clinical rehabilitation*. 2007;21(1):89-96.
17. Widerstrom-Noga E, Biering-Sorensen F, Bryce T, Cardenas DD, Finnerup NB, Jensen MP, et al. The international spinal cord injury pain basic data set. *Spinal cord*. 2008;46(12):818-23.
18. Siddiqui AM, Khazaei M, Fehlings MG. Translating mechanisms of neuroprotection, regeneration, and repair to treatment of spinal cord injury. *Progress in brain research*. 2015;218:15-54.

19. James W. Rowland, Gregory W. J. Hawryluk, Brian Kwon, Michael G. Fehlings. Current status of acute spinal cord injury pathophysiology and emerging therapies: promise on the horizon. *Neurosurgical focus*. 2008;25(5):E2.
20. Baptiste DC, Fehlings MG. Pharmacological approaches to repair the injured spinal cord. *Journal of neurotrauma*. 2006;23(3-4):318-34.
21. Dasari VR, Veeravalli KK, Dinh DH. Mesenchymal stem cells in the treatment of spinal cord injuries: A review. *World journal of stem cells*. 2014;6(2):120-33.
22. Sekhon LH, Fehlings MG. Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury. *Spine*. 2001;26(24 Suppl):S2-12.
23. McDonald JW, Belegu V. Demyelination and remyelination after spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*. 2006;23(3-4):345-59.
24. Nashmi R, Fehlings MG. Changes in axonal physiology and morphology after chronic compressive injury of the rat thoracic spinal cord. *Neuroscience*. 2001;104(1):235-51.
25. Radojicic M, Reier PJ, Steward O, Keirstead HS. Septations in chronic spinal cord injury cavities contain axons. *Experimental neurology*. 2005;196(2):339-41.
26. Fehlings MG, Tator CH. The relationships among the severity of spinal cord injury, residual neurological function, axon counts, and counts of retrogradely labeled neurons after experimental spinal cord injury. *Experimental neurology*. 1995;132(2):220-8.
27. Kakulas BA. Neuropathology: the foundation for new treatments in spinal cord injury. *Spinal cord*. 2004;42(10):549-63.
28. Braughler JM, Duncan LA, Chase RL. Interaction of lipid peroxidation and calcium in the pathogenesis of neuronal injury. *Central nervous system trauma : journal of the American Paralysis Association*. 1985;2(4):269-83.
29. Franklin C, Wagner J, William B. Stewart. Effect of trauma dose on spinal cord edema. *Journal of Neurosurgery*. 1981;54(6):802-6.
30. McDonald JW, Sadowsky C. Spinal-cord injury. *The Lancet*. 2002;359(9304):417-25.
31. Reaz V, Michael GF. Mesenchymal Cells in the Treatment of Spinal Cord Injury: Current & Future Perspectives. *Current Stem Cell Research & Therapy*. 2013;8(1):25-38.
32. Norenberg MD, Smith J, Marcillo A. The pathology of human spinal cord injury: defining the problems. *Journal of neurotrauma*. 2004;21(4):429-40.
33. Boland RA, Lin CS-Y, Engel S, Kiernan MC. Adaptation of motor function after spinal cord injury: novel insights into spinal shock. *Brain*. 2011;134(2):495-505.
34. Ditunno JF, Little JW, Tessler A, Burns AS. Spinal shock revisited: a four-phase model. *Spinal cord*. 2004;42(7):383-95.
35. Charles H. Tator, Michael G. Fehlings. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *Journal of Neurosurgery*. 1991;75(1):15-26.
36. Charles H. Tator, Izumi Koyanagi. Vascular mechanisms in the pathophysiology of human spinal cord injury. *Journal of Neurosurgery*. 1997;86(3):483-92.
37. Zhang N, Yin Y, Xu SJ, Wu YP, Chen WS. Inflammation & apoptosis in spinal cord injury. *The Indian journal of medical research*. 2012;135:287-96.
38. Donnelly DJ, Popovich PG. Inflammation and its role in neuroprotection, axonal regeneration and functional recovery after spinal cord injury. *Experimental neurology*. 2008;209(2):378-88.
39. Christian A. Mueller, Hermann J. Schluesener, Conrad S, Torsten Pietsch, Jan M. Schwab. Spinal cord injury–induced expression of the immune-regulatory chemokine interleukin-16

- caused by activated microglia/macrophages and CD8+ cells. *Journal of Neurosurgery: Spine*. 2006;4(3):233-40.
40. Tzekou A, Fehlings MG. Treatment of spinal cord injury with intravenous immunoglobulin G: preliminary evidence and future perspectives. *Journal of clinical immunology*. 2014;34 Suppl 1:S132-8.
 41. Fleming JC, Norenberg MD, Ramsay DA, Dekaban GA, Marcillo AE, Saenz AD, et al. The cellular inflammatory response in human spinal cords after injury. *Brain*. 2006;129(12):3249-69.
 42. Guth L, Zhang Z, Steward O. The Unique Histopathological Responses of the Injured Spinal Cord: Implications for Neuroprotective Therapy. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1999;890(1):366-84.
 43. Noble LJ, Donovan F, Igarashi T, Goussev S, Werb Z. Matrix metalloproteinases limit functional recovery after spinal cord injury by modulation of early vascular events. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2002;22(17):7526-35.
 44. Taoka Y, Okajima K, Uchiba M, Murakami K, Kushimoto S, Johnno M, et al. Role of neutrophils in spinal cord injury in the rat. *Neuroscience*. 1997;79(4):1177-82.
 45. Hill CE, Beattie MS, Bresnahan JC. Degeneration and Sprouting of Identified Descending Supraspinal Axons after Contusive Spinal Cord Injury in the Rat. *Experimental neurology*. 2001;171(1):153-69.
 46. Li J, Lepski G. Cell Transplantation for Spinal Cord Injury: A Systematic Review. *BioMed Research International*. 2013;2013:32.
 47. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded Histological and Locomotor Outcomes after Spinal Cord Contusion Using the NYU Weight-Drop Device versus Transection. *Experimental neurology*. 1996;139(2):244-56.
 48. Kramer AS, Harvey AR, Plant GW, Hodgetts SI. Systematic review of induced pluripotent stem cell technology as a potential clinical therapy for spinal cord injury. *Cell transplantation*. 2013;22(4):571-617.
 49. Beattie MS, Hermann GE, Rogers RC, Bresnahan JC. Chapter 4 Cell death in models of spinal cord injury. In: L. McKerracher GD, Rossignol S, editors. *Progress in brain research*. Volume 137: Elsevier; 2002. p. 37-47.
 50. Ehlers MD. Deconstructing the axon: Wallerian degeneration and the ubiquitin–proteasome system. *Trends in Neurosciences*. 2004;27(1):3-6.
 51. Mothe AJ, Tator CH. Review of transplantation of neural stem/progenitor cells for spinal cord injury. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2013;31(7):701-13.
 52. Wilson JR, Fehlings MG. Emerging Approaches to the Surgical Management of Acute Traumatic Spinal Cord Injury. *Neurotherapeutics*. 2011;8(2):187-94.
 53. Fehlings MG, Vaccaro A, Wilson JR, Singh A, D WC, Harrop JS, et al. Early versus delayed decompression for traumatic cervical spinal cord injury: results of the Surgical Timing in Acute Spinal Cord Injury Study (STASCIS). *PloS one*. 2012;7(2):e32037.
 54. Ploumis A, Yadlapalli N, Fehlings MG, Kwon BK, Vaccaro AR. A systematic review of the evidence supporting a role for vasopressor support in acute SCI. *Spinal cord*. 2010;48(5):356-62.
 55. Stevens RD, Bhardwaj A, Kirsch JR, Mirski MA. Critical care and perioperative management in traumatic spinal cord injury. *Journal of neurosurgical anesthesiology*. 2003;15(3):215-29.
 56. Raw DA, Beattie JK, Hunter JM. Anaesthesia for spinal surgery in adults. *British Journal of Anaesthesia*. 2003;91(6):886-904.
 57. MCCORMICK PC. Blood pressure management after acute spinal cord injury. *Neurosurgery*. 2002;50(3):S58-S62.

58. Stratman RC, Wiesner AM, Smith KM, Cook AM. Hemodynamic management after spinal cord injury. *Orthopedics*. 2008;31(3):252-5.
59. Bracken MB. Methylprednisolone and Acute Spinal Cord Injury: An Update of the Randomized Evidence. *Spine*. 2001;26(24S):S47-S54.
60. Bracken MB, Collins WF, Freeman DF, et al. Efficacy of methylprednisolone in acute spinal cord injury. *JAMA*. 1984;251(1):45-52.
61. Michael B. Bracken, Mary Jo Shepard, Theodore R. Holford, Linda Leo-Summers, E. Francois Aldrich, Mahmood Fazl, et al. Methylprednisolone or tirilazad mesylate administration after acute spinal cord injury: 1-year follow up. *Journal of Neurosurgery*. 1998;89(5):699-706.
62. Hadley MN. Pharmacological Therapy after Acute Cervical Spinal Cord Injury. *Neurosurgery*. 2002;51(3):856.
63. Hurlbert RJ, Hadley MN, Walters BC, Aarabi B, Dhall SS, Gelb DE, et al. Pharmacological Therapy for Acute Spinal Cord Injury. *Neurosurgery*. 2013;72:93-105.
64. Schwartz G, Michael G. Fehlings. Evaluation of the neuroprotective effects of sodium channel blockers after spinal cord injury: improved behavioral and neuroanatomical recovery with riluzole. *Journal of Neurosurgery: Spine*. 2001;94(2):245-56.
65. Stutzmann J-M, Pratt J, Boraud T, Gross C. The effect of riluzole on post-traumatic spinal cord injury in the rat. *Neuroreport*. 1996;7(2):387-92.
66. Wu Y, Satkunendrarajah K, Teng Y, Chow DS, Buttigieg J, Fehlings MG. Delayed post-injury administration of riluzole is neuroprotective in a preclinical rodent model of cervical spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*. 2013;30(6):441-52.
67. Grossman RG, Fehlings MG, Frankowski RF, Burau KD, Chow DS, Tator C, et al. A prospective, multicenter, phase I matched-comparison group trial of safety, pharmacokinetics, and preliminary efficacy of riluzole in patients with traumatic spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*. 2014;31(3):239-55.
68. Festoff BW, Ameenuddin S, Arnold PM, Wong A, Santacruz KS, Citron BA. Minocycline neuroprotects, reduces microgliosis, and inhibits caspase protease expression early after spinal cord injury. *Journal of neurochemistry*. 2006;97(5):1314-26.
69. Kobayashi K, Imagama S, Ohgomori T, Hirano K, Uchimura K, Sakamoto K, et al. Minocycline selectively inhibits M1 polarization of microglia. *Cell Death Dis*. 2013;4:e525.
70. Yong VW, Wells J, Giuliani F, Casha S, Power C, Metz LM. The promise of minocycline in neurology. *The Lancet Neurology*. 2004;3(12):744-51.
71. Casha S, Zygun D, McGowan MD, Bains I, Yong VW, John Hurlbert R. Results of a phase II placebo-controlled randomized trial of minocycline in acute spinal cord injury. *Brain*. 2012;135(4):1224-36.
72. Welte K, Platzer E, Lu L, Gabrilove JL, Levi E, Mertelsmann R, et al. Purification and biochemical characterization of human pluripotent hematopoietic colony-stimulating factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1985;82(5):1526-30.
73. Junko Kawabe, Masao Koda, Masayuki Hashimoto, Takayuki Fujiyoshi, Takeo Furuya, Tomonori Endo, et al. Neuroprotective effects of granulocyte colony-stimulating factor and relationship to promotion of angiogenesis after spinal cord injury in rats. *Journal of Neurosurgery: Spine*. 2011;15(4):414-21.
74. Koda M, Nishio Y, Kamada T, Someya Y, Okawa A, Mori C, et al. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) mobilizes bone marrow-derived cells into injured spinal cord and promotes functional recovery after compression-induced spinal cord injury in mice. *Brain Research*. 2007;1149:223-31.

75. Nishio Y, Koda M, Kamada T, Someya Y, Kadota R, Mannoji C, et al. Granulocyte Colony-Stimulating Factor Attenuates Neuronal Death and Promotes Functional Recovery After Spinal Cord Injury in Mice. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2007;66(8):724-31.
76. Takahashi H, Yamazaki M, Okawa A, Sakuma T, Kato K, Hashimoto M, et al. Neuroprotective therapy using granulocyte colony-stimulating factor for acute spinal cord injury: a phase I/IIa clinical trial. *European Spine Journal*. 2012;21(12):2580-7.
77. Guo Q, Sebastian L, Sopher BL, Miller MW, Glazner GW, Ware CB, et al. Neurotrophic factors [activity-dependent neurotrophic factor (ADNF) and basic fibroblast growth factor (bFGF)] interrupt excitotoxic neurodegenerative cascades promoted by a PS1 mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999;96(7):4125-30.
78. Jin K, LaFevre-Bernt M, Sun Y, Chen S, Gafni J, Crippen D, et al. FGF-2 promotes neurogenesis and neuroprotection and prolongs survival in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(50):18189-94.
79. Mattson MP, Kumar KN, Wang H, Cheng B, Michaelis EK. Basic FGF regulates the expression of a functional 71 kDa NMDA receptor protein that mediates calcium influx and neurotoxicity in hippocampal neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 1993;13(11):4575-88.
80. Meijs MF, Timmers L, Pearse DD, Tresco PA, Bates ML, Joosten EA, et al. Basic fibroblast growth factor promotes neuronal survival but not behavioral recovery in the transected and Schwann cell implanted rat thoracic spinal cord. *Journal of neurotrauma*. 2004;21(10):1415-30.
81. Kang CE, Baumann MD, Tator CH, Shoichet MS. Localized and Sustained Delivery of Fibroblast Growth Factor-2 from a Nanoparticle-Hydrogel Composite for Treatment of Spinal Cord Injury. *Cells Tissues Organs*. 2013;197(1):55-63.
82. Lee TT, Green BA, Dietrich WD, Yezierski RP. Neuroprotective effects of basic fibroblast growth factor following spinal cord contusion injury in the rat. *Journal of neurotrauma*. 1999;16(5):347-56.
83. Rabchevsky AG, Fugaccia I, Turner AF, Blades DA, Mattson MP, Scheff SW. Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) Enhances Functional Recovery Following Severe Spinal Cord Injury to the Rat. *Experimental neurology*. 2000;164(2):280-91.
84. Teng YD, Mocchetti I, Taveira-DaSilva AM, Gillis RA, Wrathall JR. Basic fibroblast growth factor increases long-term survival of spinal motor neurons and improves respiratory function after experimental spinal cord injury. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 1999;19(16):7037-47.
85. Zhang H-Y, Zhang X, Wang Z-G, Shi H-X, Wu F-Z, Lin B-B, et al. Exogenous Basic Fibroblast Growth Factor Inhibits ER Stress-Induced Apoptosis and Improves Recovery from Spinal Cord Injury. *CNS neuroscience & therapeutics*. 2013;19(1):20-9.
86. Jau-Ching Wu, Wen-Cheng Huang, Yu-Chun Chen, Tsung-Hsi Tu, Yun-An Tsai, Shih-Fong Huang, et al. Acidic fibroblast growth factor for repair of human spinal cord injury: a clinical trial. *Journal of Neurosurgery: Spine*. 2011;15(3):216-27.
87. Kwon BK, Okon E, Hillyer J, Mann C, Baptiste D, Weaver LC, et al. A systematic review of non-invasive pharmacologic neuroprotective treatments for acute spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*. 2011;28(8):1545-88.
88. Kwon BK, Roy J, Lee JH, Okon E, Zhang H, Marx JC, et al. Magnesium chloride in a polyethylene glycol formulation as a neuroprotective therapy for acute spinal cord injury: preclinical refinement and optimization. *Journal of neurotrauma*. 2009;26(8):1379-93.

89. Luo J, Shi R. Polyethylene glycol inhibits apoptotic cell death following traumatic spinal cord injury. *Brain Research*. 2007;1155:10-6.
90. Ditor DS, John SM, Roy J, Marx JC, Kittmer C, Weaver LC. Effects of polyethylene glycol and magnesium sulfate administration on clinically relevant neurological outcomes after spinal cord injury in the rat. *Journal of Neuroscience Research*. 2007;85(7):1458-67.
91. Vawda R, Wilcox J, Fehlings M. Current stem cell treatments for spinal cord injury. *Indian journal of orthopaedics*. 2012;46(1):10-8.
92. Tan EYM, Law JWS, Wang C-H, Lee AYW. Development of a Cell Transducible RhoA Inhibitor TAT-C3 Transferase and its Encapsulation in Biocompatible Microspheres to Promote Survival and Enhance Regeneration of Severed Neurons. *Pharmaceutical Research*. 2007;24(12):2297-308.
93. Teng YD, Lavik EB, Qu X, Park KI, Ourednik J, Zurakowski D, et al. Functional recovery following traumatic spinal cord injury mediated by a unique polymer scaffold seeded with neural stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(5):3024-9.
94. Yang Y, De Laporte L, Rives CB, Jang J-H, Lin W-C, Shull KR, et al. Neurotrophin releasing single and multiple lumen nerve conduits. *Journal of Controlled Release*. 2005;104(3):433-46.
95. Fehlings MG, Theodore N, Harrop J, Maurais G, Kuntz C, Shaffrey CI, et al. A phase I/IIa clinical trial of a recombinant Rho protein antagonist in acute spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*. 2011;28(5):787-96.
96. Girgis J, Merrett D, Kirkland S, Metz GAS, Verge V, Fouad K. Reaching training in rats with spinal cord injury promotes plasticity and task specific recovery. *Brain*. 2007;130(11):2993-3003.
97. Ichiyama R, Potuzak M, Balak M, Kalderon N, Edgerton VR. Enhanced Motor Function by Training in Spinal Cord Contused Rats Following Radiation Therapy. *PLoS one*. 2009;4(8):e6862.
98. Maier IC, Ichiyama RM, Courtine G, Schnell L, Lavrov I, Edgerton VR, et al. Differential effects of anti-Nogo-A antibody treatment and treadmill training in rats with incomplete spinal cord injury. *Brain*. 2009;132(6):1426-40.
99. Spivak JM, Weiss MA, Cotler JM, Call M. Cervical Spine Injuries in Patients 65 and Older. *Spine*. 1994;19(20):2302-6.
100. Sumida M, Fujimoto M, Tokuhira A, Tominaga T, Magara A, Uchida R. Early rehabilitation effect for traumatic spinal cord injury. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2001;82(3):391-5.
101. Arvidsson A, Collin T, Kirik D, Kokaia Z, Lindvall O. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nature Medicine*. 2002;8(9):963-70.
102. Chi L, Ke Y, Luo C, Li B, Gozal D, Kalyanaraman B, et al. Motor Neuron Degeneration Promotes Neural Progenitor Cell Proliferation, Migration, and Neurogenesis in the Spinal Cords of Amyotrophic Lateral Sclerosis Mice. 2006;24(1):34-43.
103. Hou S-W, Wang Y-Q, Xu M, Shen D-H, Wang J-J, Huang F, et al. Functional Integration of Newly Generated Neurons Into Striatum After Cerebral Ischemia in the Adult Rat Brain. 2008;39(10):2837-44.
104. Magavi SS, Leavitt BR, Macklis JD. Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice. *Nature*. 2000;405(6789):951-5.
105. Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto S-i, Hatano O, Kawahara N, et al. Regeneration of Hippocampal Pyramidal Neurons after Ischemic Brain Injury by Recruitment of Endogenous Neural Progenitors. *Cell*. 2002;110(4):429-41.

106. Ohori Y, Yamamoto S-i, Nagao M, Sugimori M, Yamamoto N, Nakamura K, et al. Growth Factor Treatment and Genetic Manipulation Stimulate Neurogenesis and Oligodendrogenesis by Endogenous Neural Progenitors in the Injured Adult Spinal Cord. 2006;26(46):11948-60.
107. Parent JM, Vexler ZS, Gong C, Derugin N, Ferriero DM. Rat forebrain neurogenesis and striatal neuron replacement after focal stroke. 2002;52(6):802-13.
108. Vessal M, Aycock A, Garton MT, Ciferri M, Darian-Smith C. Adult neurogenesis in primate and rodent spinal cord: comparing a cervical dorsal rhizotomy with a dorsal column transection. 2007;26(10):2777-94.
109. Toni N, Laplagne DA, Zhao C, Lombardi G, Ribak CE, Gage FH, et al. Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells. *Nature Neuroscience*. 2008;11(8):901-7.
110. Darian-Smith C. Synaptic plasticity, neurogenesis, and functional recovery after spinal cord injury. *Neuroscientist*. 2009;15(2):149-65.
111. Agrawal S, Schaffer DV. *In situ* stem cell therapy: novel targets, familiar challenges. *Trends in Biotechnology*. 2005;23(2):78-83.
112. Conti L, Cattaneo E. Novel and Immortalization-Based Protocols for the Generation of Neural CNS Stem Cell Lines for Gene Therapy Approaches. In: Weiner LP, editor. *Neural Stem Cells: Methods and Protocols*. Totowa, NJ: Humana Press; 2008. p. 319-32.
113. Horner PJ, Power AE, Kempermann G, Kuhn HG, Palmer TD, Winkler J, et al. Proliferation and Differentiation of Progenitor Cells Throughout the Intact Adult Rat Spinal Cord. 2000;20(6):2218-28.
114. Shihabuddin LS. Adult Rodent Spinal Cord-Derived Neural Stem Cells: Isolation and Characterization. In: Weiner LP, editor. *Neural Stem Cells: Methods and Protocols*. Totowa, NJ: Humana Press; 2008. p. 55-66.
115. Weiss S, Dunne C, Hewson J, Wohl C, Wheatley M, Peterson AC, et al. Multipotent CNS Stem Cells Are Present in the Adult Mammalian Spinal Cord and Ventricular Neuroaxis. 1996;16(23):7599-609.
116. Yamashita T, Ninomiya M, Hernández Acosta P, García-Verdugo JM, Sunabori T, Sakaguchi M, et al. Subventricular Zone-Derived Neuroblasts Migrate and Differentiate into Mature Neurons in the Post-Stroke Adult Striatum. 2006;26(24):6627-36.
117. Duan H, Song W, Zhao W, Gao Y, Yang Z, Li X. Endogenous neurogenesis in adult mammals after spinal cord injury. *Sci China Life Sci*. 2016;59(12):1313-8.
118. Yang H, Lu P, McKay HM, Bernot T, Keirstead H, Steward O, et al. Endogenous Neurogenesis Replaces Oligodendrocytes and Astrocytes after Primate Spinal Cord Injury. 2006;26(8):2157-66.
119. Danilov AI, Covacu R, Moe MC, Langmoen IA, Johansson CB, Olsson T, et al. Neurogenesis in the adult spinal cord in an experimental model of multiple sclerosis. 2006;23(2):394-400.
120. Barkho BZ, Song H, Aimone JB, Smrt RD, Kuwabara T, Nakashima K, et al. Identification of astrocyte-expressed factors that modulate neural stem/progenitor cell differentiation. *Stem cells and development*. 2006;15(3):407-21.
121. Silver J, Miller JH. Regeneration beyond the glial scar. *Nature Reviews Neuroscience*. 2004;5(2):146-56.
122. Nagano A. Treatment of brachial plexus injury. *Journal of orthopaedic science : official journal of the Japanese Orthopaedic Association*. 1998;3(1):71-80.
123. Darian-Smith C, Ciferri MM. Loss and recovery of voluntary hand movements in the macaque following a cervical dorsal rhizotomy. 2005;491(1):27-45.

124. Darian-Smith C. Primary afferent terminal sprouting after a cervical dorsal rootlet section in the macaque monkey. *The Journal of comparative neurology*. 2004;470(2):134-50.
125. Darian-Smith C, Ciferri M. Cuneate nucleus reorganization following cervical dorsal rhizotomy in the macaque monkey: Its role in the recovery of manual dexterity. 2006;498(4):552-65.
126. Barnabé-Heider F, Göritz C, Sabelström H, Takebayashi H, Pfrieger FW, Meletis K, et al. Origin of New Glial Cells in Intact and Injured Adult Spinal Cord. *Cell stem cell*. 2010;7(4):470-82.
127. Meletis K, Barnabé-Heider F, Carlén M, Evergren E, Tomilin N, Shupliakov O, et al. Spinal Cord Injury Reveals Multilineage Differentiation of Ependymal Cells. *PLOS Biology*. 2008;6(7):e182.
128. Caviness VS, Takahashi T, Nowakowski RS. Numbers, time and neocortical neurogenesis: a general developmental and evolutionary model. *Trends in Neurosciences*. 1995;18(9):379-83.
129. Kriegstein A, Alvarez-Buylla A. The Glial Nature of Embryonic and Adult Neural Stem Cells. 2009;32(1):149-84.
130. Nowakowski RS, Caviness VS, Jr., Takahashi T, Hayes NL. Population dynamics during cell proliferation and neurogenesis in the developing murine neocortex. *Results and problems in cell differentiation*. 2002;39:1-25.
131. Zupanc GKH, Sîrbulescu RF. Adult neurogenesis and neuronal regeneration in the central nervous system of teleost fish. 2011;34(6):917-29.
132. Duan H, Ge W, Zhang A, Xi Y, Chen Z, Luo D, et al. Transcriptome analyses reveal molecular mechanisms underlying functional recovery after spinal cord injury. 2015;112(43):13360-5.
133. Yang Z, Zhang A, Duan H, Zhang S, Hao P, Ye K, et al. NT3-chitosan elicits robust endogenous neurogenesis to enable functional recovery after spinal cord injury. 2015;112(43):13354-9.
134. Burda Joshua E, Sofroniew Michael V. Reactive Gliosis and the Multicellular Response to CNS Damage and Disease. *Neuron*. 2014;81(2):229-48.
135. Luo Y, Coskun V, Liang A, Yu J, Cheng L, Ge W, et al. Single-Cell Transcriptome Analyses Reveal Signals to Activate Dormant Neural Stem Cells. *Cell*. 2015;161(5):1175-86.
136. Glasziou P, Irwig L, Bain C, Colditz G. *Systematic reviews in health care: a practical guide*: Cambridge University Press; 2001.
137. Wright RW, Brand RA, Dunn W, Spindler KP. How to write a systematic review. *Clinical orthopaedics and related research*. 2007;455:23-9.
138. Tricco AC, Lillie E, Zarin W, O'Brien KK, Colquhoun H, Levac D, et al. PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR): Checklist and Explanation. *Annals of Internal Medicine*. 2018;169(7):467-73.
139. Peters MDJ, Godfrey CM, Khalil H, McInerney P, Parker D, Soares CB. Guidance for conducting systematic scoping reviews. 2015;13(3):141-6.
140. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PG. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLOS Medicine*. 2009;6(7):e1000097.
141. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. *PLOS Medicine*. 2009;6(7):e1000100.

142. Team RC. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing; 2020.
143. Xue W, Zhao Y, Xiao Z, Wu X, Ma D, Han J, et al. Epidermal growth factor receptor-extracellular-regulated kinase blockade upregulates TRIM32 signaling cascade and promotes neurogenesis after spinal cord injury. *Stem cells (Dayton, Ohio)*. 2020;38(1):118-33.
144. Li X, Zhao Y, Cheng S, Han S, Shu M, Chen B, et al. Cetuximab modified collagen scaffold directs neurogenesis of injury-activated endogenous neural stem cells for acute spinal cord injury repair. *Biomaterials*. 2017;137:73-86.
145. Kjell J, Olson L. Rat models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies. 2016;9(10):1125-37.