ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 616.832–001.1–021.6˙612.83

ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ СПІНАЛЬНОЇ ТРАВМИ НА ТКАНИННУ ЕКСПРЕСІЮ мРНК ДЕЯКИХ ЕЛЕМЕНТІВ МЕДІАТОРНИХ СИСТЕМ СПИННОГО МОЗКУ

В. І. Цимбалюк, В. В. Медведєв, І. Г. Васильєва, В. І. Козявкін, О. С. Галанта, О. І. Цюбко, Н. Г. Чопик, Н. П. Олексенко, Н. Г. Драгунцова

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України,
Інститут нейрохірургії імені А. П. Ромоданова НАМН України, м. Київ
Міжнародна клініка відновного лікування, м. Трускавець

THE IMPACT OF EXPERIMENTAL SPINAL INJURY ON THE TISSUE EXPRESSION OF mRNA OF SOME ELEMENTS OF A SPINAL CORD MEDIATORIAL SYSTEMS

V. I. Tsymbalyuk, V. V. Medvedyev, I. G. Vasylyeva, V. I. Kozyavkin, O. S. Galanta, O. I. Tsyubko, N. G. Chopyk, N. P. Olexenko, N. G. Draguntsova

Bogomolets National Medical University,
Romodanov Institute of Neurosurgery, Kiev,
International Clinic of Restoration Treatment, Truskavets

Реферат

За допомогою методу ланцюгової реакції з полімеразою (ЛРП) у реальному часі досліджено експресію матричної РНК (мРНК) білків Gria1—4, Slc18a2, Slc32a1, Dbh, Tph2, Ptf1a у тканині попереково—крижового відділу спинного мозку (СМ) зрілих білих безпородних щурів—самців через 6 тиж після пересічення його лівої половини на рівні T_{XI}. У тканині інтактного СМ відзначена низька експресія мРНК триптофан—гідроксилази 2 (Tph2) та дофамін—β—гідроксилази (Dbh). Травма СМ спричиняє суттєве зниження експресії мРНК Tph2 — гомолатерально, трансмембранного переносника моноамінів Slc18a2 — контралатерально, субодиниці рецептора глутамату Gria3 — білатерально. Латералізація не підтверджується прямим порівнянням результатів протилежних половин СМ. Латералізована ламінектомія без травми СМ зумовлює значуще білатеральне підвищення експресії Gria2 у тканині СМ. Отримані дані не корелюють з змінами показників функції та спастичності задніх кінцівок. У патогенезі синдрому спастичності за неповного пересічення СМ важливу роль відіграють латералізовані зміни експресії мРНК Tph2 та переносника моноамінів Slc18a2, а також білатеральні зміни експресії мРНК субодиниці рецептора глутамату Gria3.

Ключові слова: травма спинного мозку; синдром спастичності; мРНК; триптофан—гідроксилаза 2; трансмембранний переносник моноамінів Slc18a2; субодиниця рецептора глутамату Gria3.

Abstract

Expression of the matrix RNA (mRNA) proteins Gria1—4, Slc18a2, Slc32a1, Dbh, Tph2, Ptf1a in tissue of a lumbo—sacral spinal cord in mature mongrel male rats in 6 weeks after transection of its left half on a T_{XI} level was investigated using a PCR method in a real time. Low expression of the tryptophan—hydroxylase 2 (Tph2) and dopamine—β—hydroxylase (Dbh) mRNA was noted in tissue of the intact spinal cord. A spinal cord trauma causes essential lowering of the Tph2 mRNA expression — homolaterally, and of transmembrane carrier of monoamines Slc18a2 — contralaterally, while in the receptor of glutamate Gria3 subunit — bilaterally. Lateralization is not confirmed by immediate comparison of results of contralateral halves of a spinal cord. Lateralized laminectomy without a spinal cord trauma causes significant bilateral raising of the Gria2 expression in a spinal cord tissue. The data obtained do not correlate with the function indices and spasticity changes of posterior extremities. The lateralized changes of the Tph2 mRNA and carrier of Slc18a2 monoamines, as well as bilateral changes of mRNA expression in subunit receptor of glutamate Gria3, play important role in pathogenesis of the spasticity and incomplete transection of a spinal cord syndrome.

Keywords: trauma of spinal cord; spasticity syndrome; mRNA; tryptophan—hydroxylase 2; transmembrane carrier of monoamines Slc18a2; subunit of the glutamate Gria3 receptor.

Синдром спастичності (СС) часто супроводжує різні захворювання центральної нервової системи, поряд з дефіцитом усвідомленого скорочення відповідних груп м'язів є основним проявом центрального парезу [1]. Патогенез СС складний та багатофакторний, деякі попередні гіпотези щодо механізму його формування втратили провідне значення через відсутність кореляції між його ступенем, обчислюваним за спеціальними шкалами, і рівнем феномену, ключового для кожного з патофізіологічних припущень. Так, формування СС пов'язували з підвищенням збудливості у системі γ—петлі та дефіцитом постстиму-

ляційної депресії, дефіцитом постактиваційної депресії у системі Ia—входів, дефіцитом пресинаптичного гальмування збуджувальних Ia—аферентів мотонейронів, порушенням дисинаптичного реципрокного Ia—залежного гальмування контралатеральних мотонейронів м'язів—антагоністів, порушенням оберненого гальмування через клітини Реншоу та аутогенного Ib—залежного гальмування [1]. Сучасні дані свідчать, що СС є наслідком неадекватної компенсації втрати збуджувальних супраспінальних впливів на мотонейрони нижче рівня травми: денервовані мотонейрони набувають здатності генерувати платоподібні деполяризаційні потенціали незалежно від моноамінергічних супраспінальних впливів [1]. На початкових етапах травми це пов'язане, передусім, з підвищенням експресії субодиниць NMDA—рецепторів [2], збільшенням активності глутаматергічних аферентів мотонейронів [3], а з третього тижня [1] — з пригніченням редагування пре—мРНК 5—HT_{2C} рецепторів серотоніну і, ймовірно, α1 рецепторів норадреналіну [4, 5], внаслідок чого експресуються форми з значною конститутійною, незалежною від ліганда активністю [1, 4]. Пригнічення редагування пов'язане з активністю запального процесу у перифокальній зоні [4]. Значна дискусія точиться навколо питання про можливість синтезу у тканині СМ нижче рівня його пересічення серотоніну та норадреналіну [6]. У денервованій частині СМ з'являються клітини, здатні продукувати серотонін з 5—гідрокситриптофану за участю декарбоксилази L—амінокислот (L—aminoacid decarboxylase, AADC) [7, 8], джерелом норадреналіну вважають вегетативні волокна, що врастають у тканину СМ нижче рівня травми [6]. Проте, даних про повний цикл продукції серотоніну, зокрема, щодо експресії ключового фермента цього біохімічного ланцюга — триптофан—гідроксилази — у денервованій частині СМ немає.

Не менш важливими є механізми СС, пов'язані зі зміною експресії рецепторів глутамату, редагування їх пре—мРНК у мотонейронах, змінами експресії рецепторів гама—аміномасляної кислоти (ГАМК), гальмівного медіатора, трансмембранного градієнту хлору, що формується завдяки переноснику KCC2 (K^+/Cl^-—cotransporter) та NKCC1 ($Na^+/K^+/Cl^-$—cotransporter) [1, 9]. Недостатньо вивчена роль ацетилхолінергічної [2], дофамінергічної [6] та норадренергічної [1, 6] передачі у формуванні СС.

Повне пересічення СМ людини — вкрай рідкісне явище, тим не менше, сучасні дані щодо стану зазначених медіаторних систем отримані переважно на моделях повного пересічення СМ щура у крижовому відділі з формуванням СС м'язів хвоста [7, 10]. Це ускладнює екстраполяцію отриманих результатів і актуалізує дослідження стану медіаторних систем на моделях неповного пересічення СМ у типовому з клінічної точки зору місці [11].

Представлені результати вивчення експресії мРНК деяких генів глутамат—, серотонін—, дофамін— та ГАМК—ергічної медіаторних систем у тканині СМ зрілого щура нижче рівня його ураження за умови сформованого посттравматичного СС.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведене з дотриманням норм біоетики на білих безпородних щурах віварію Інституту нейрохірургії та Інституту фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, сформовані такі групи:

1 — травма СМ (4 щурів—самців, вік 3 міс на момент травми, маса тіла 200 г), тривалість спостереження 6 тиж;

2 — 7 несправжньо оперованих тварин, ламінектомія на аналогічному рівні (щури—самці, вік 3 міс на момент травми, маса тіла 200 г), тривалість спостереження 6 тиж;

3 — 4 інтактні тварини (щури—самці, вік 5 міс, маса тіла 200 г).

Модель спінальної травми — лівобічне пересічення половини СМ на рівні T_{XI} [12], знеболення — внутрішньоочеревинне введення суміші ксилазину ("Biowet", Польща, 15 мг/кг) і кетаміну ("Гедеон Ріхтер А.О.", Угорщина, 70 мг/кг). У тварин груп 1 і 2 виконували латералізовану ліворуч ламінектомію на рівні T_X, у тварин групи 1 — також наносили травму СМ. У тварин обох груп вікно доступу в хребтовий канал прикривали фрагментом підшкірної фасції, м'які тканини та шкіру з'єднували крученими поліамідними хірургічними нитками у два ряди вузлових швів. У задню шийну ділянку підшкірно вводили розчин біциліну —5 (ПАТ "Київмедпрепарат"), внутрішньоочеревинно — розчин дексаметазону (KRKA, Словенія) [12].

Показник функції (ПФ) та показник спастичності (ПС) задньої іпсилатеральної (ЗІК) та контралатеральної щодо зони травми кінцівки (ЗКК) визначали на рівні надп'ятково—гомілкового та колінного суглобів перед виведенням тварин групи 1 і 2 з експерименту — через 6 тиж після моделювання травми, за шкалами BBB (Basso—Beattie—Bresnahan) [12] та Ashworth [13]. Оскільки для реалізації функцій рухової системи, характерних для 19 — 21 бала за шкалою BBB, обов'язкова синергія обох задніх кінцівок, ПФ ЗКК, що становив не менше 18 балів, умовно приймали як 21 бал. Порушення тонусу м'язів ЗКК у тварин груп 1 і 2 не виявлене (ПС ЗКК = 0 балів за Ashworth).

Тварин виводили з експерименту шляхом передозування зазначених наркотичних препаратів. Одразу після досягнення стану глибокого знеболення фрагмент хребта разом з СМ нижче рівня травми вилучали, видаляли СМ, укладали на воскову пластинку на льодяній підложці, відсікали корінці, частину СМ нижче рівня травми розсікали по середній лінії, ліву та праву половини вміщували в окремі стерильні кріопробірки, зберігали при температурі — 196°С у зрідженому азоті.

Сумарну РНК виділяли з заморожених зразків з використанням набору PureLink RNA Mini Kit ("Applied Biosystems", США), відповідно до інструкції виробника. Виділену РНК розміщували на льоду, перевіряли її якість та одразу використовували для синтезу комплементарної ДНК у

реакції оберненої транскрипції. За спектром поглинання розчину сумарної РНК оцінювали ступінь очищення РНК від білків та гуанідину. Зразки, в яких співвідношення 260 нм / 280 нм було поза межами 1,9 — 2,1, у дослідження не включали. Вміст РНК оцінювали за поглинанням хвиль довжиною 260 нм. Реакцію оберненої транскрипції здійснювали за допомогою набору "Tag Man Reverse Transcription Reagents" ("Applied Biosystems", США) відповідно до інструкції виробника, в об'ємі 20 мкл. Як затравку використовували праймери "oligo—dT". Визначали рівень мРНК протеїнів:

— дофамін—β—гідроксилази (dopamine—β—hydroxylase — Dbh) — ключового ферменту синтезу норадреналіну (Rn00565819_m1);

— субодиниць AMPA* —залежних рецепторів глутамату — Gria1 (glutamate receptor, ionotropic, AMPA type, subunit 1; Rn00709588_m1), Gria2 (Rn00568514), Gria3 (Rn00583547 _m1) та Gria4 (Rn00568544_m1);

— триптофан—гідроксилази 2 (tryptophan hydroxylase 2 — Tph2) — ключового ферменту синтезу попередника серотоніну 5—гідрокситриптофану (Rn00598017_m1);

— трансмембранного білка—переносника моноамінів і, можливо, ГАМК — Slc18a2 (solute carrier family 18 member 2; Rn00564688_m1);

— білка—переносника ГАМК у синаптичні везикули Slc32a1 (solute carrier family 32 member 1; Rn00824654_m1);

— фактору транскрипції (pancreas transcription factor 1a — Ptf1a) — маркера ГАМК—ергічних нейронів (Rn04219607_g1);

— як референтну використовували мРНК білка "домашнього господарства" клітини глюкуронідази β (glucuronidase β, GUSB; Rn00566655 _m1).

Експресію мРНК визначали за допомогою системи для проведення ЛРП з флуоресцентною детекцією у реальному часі CFX96 Touch ("BioRad", США) з використанням наборів Tag Man Universal PCR Master Mix ("Applied Biosystems", США) та Tag Man Gene Expression Assays ("Applied Biosystems", США) за протоколом: первинна денатурація при температурі 95 °С (10 хв, 1 цикл), 40—разовий ампліфікаційний цикл, денатурація при температурі 95 °С (15 с), відпалення праймерів, елонгація, реєстрація флуоресцентного сигналу (60 °С, 1 хв). Всі реакції проводили в окремих пробірках, об'єм реакційної суміші 20 мкл.

Для оцінки відтворюваності значень порогового циклу всі зразки з кожною парою праймерів ампліфікували у подвійному повторі. Різниця між зразками не більше 0,5 цикла. Накопичення продуктів ампліфікації визначали за допомогою флуоресцентних олігонуклеотидних проб (зондів) типу Tag Man ("Applied Biosystems", США), комплементарних центральній частині фрагмента ампліфікованого транскрипту. З метою перевірки відсутності ампліфікації ділянок транскриптів досліджуваних генів на можливих домішках геномної ДНК у зразку попередньо проводили паралельні реакції ампліфікації без оберненої транскрипції.

Аналіз даних проводили за пороговою флуоресценцією, що характеризує певний цикл ЛРП (Ct), на якому спостерігають достовірне збільшення флуоресценції порівняно з фоновим рівнем та початок експоненціальної фази циклу ЛРП. Різницю рівня мРНК досліджуваних генів між групами оцінювали за методом ΔΔCt з огляду на різницю ефективності ампліфікації (E %), яку визначали методом кривих розведення комплементарної ДНК матриці для кожного гена. Ефективність та лінійність для кожної пари праймерів досліджуваних генів окремо не наводимо.

Рівень експресії мРНК зазначених білків для кожного зразка тканини представляли у вигляді нормованої відносної кількості мРНК, обчисленої за формулою:

$$N = \frac{E^{Ct(min)-Ct(tem)}}{E^{Ct(minGUSB)-Ct(temGUSB)}},$$

де Ct — цикл ЛРП, на якому спостерігали достовірне збільшення флуоресценції порівняно з фоновим рівнем та початок експоненціальної фази ЛРП;

Ct(min) — найменше середнє значення Ct для досліджуваної мРНК з усіх отриманих під час експерименту зразків;

Ct(tem) — середнє значення Ct для цієї самої мРНК кожного окремого досліджуваного зразка (англ. — template);

$E^{Ct(min)-Ct(tem)}$ — відносна кількість досліджуваної мРНК у зразку;

$E^{Ct(minGUSB)-Ct(temGUSB)}$ — відносна кількість мРНК референтного білка (GUSB) у зразку.

Отримані первинні дані усереднювали по групах, статистичну обробку здійснювали за допомогою програмного пакета Statistica 10.0 з використанням U—тесту Мана—Уїтні, результати оцінки достовірності представляли у вигляді значень показника p з звичним їх трактуванням. Кореляцію між значеннями ПС, ПФ ЗІК тварин експериментальних груп та рівнем експресії мРНК кожного з зазначених білків оцінювали за непараметричним коефіцієнтом рангової кореляції Спірмена.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

ПФ та ПС ЗІК у групі 1 на момент відбору матеріалу для ЛРП становили у середньому відповідно (5,5 ± 1,9) та (1,8 ± 0,3) бала. За даними наших попередніх досліджень [12, 13], в інтегральній групі тварин (n=40), у яких моделювали аналогічну травму у віці 5 міс, через 6 тиж спостереження ПФ ЗІК становив (2,9 ± 0,5) бала за BBB [12]; у тварин, у яких моделювали травму у віці 1 міс (n=32) — (4,9 ± 0,8) бала ($p < 0,05$) [12]. ПС ЗІК в аналогічні строки після травми у тварин зрілого віку (5 міс, n=16) за аналогічної травми становив (2,1 ± 0,3) бала за Ashworth, молодих (1 міс на момент травми, n=8) — (2,1 ± 0,6) бала [13].

Отже, отримана величина ПФ та ПС ЗІК у групі 1 може відображати вікові особливості регенеративного процесу за спінальної травми або бути наслідком флуктуативної варіативності за умови малої кількості спостережень.

* — 2-amino-3-(5-methyl-3-oxo-1,2-oxazol-4-yl)propanoic acid

Результати дослідження експресії мРНК зазначених білків у кожній експериментальній групі наведені у *таблиці*. Статистичний аналіз отриманих результатів свідчив про відсутність значущої різниці між експресією досліджуваних мРНК у лівій та правій половинах СМ тварин груп 1 і 2.

При аналізі результатів статистично значуще зменшення експресії мРНК у тварин групи 1 відносно тварин групи 2 виявлене для Gria3 (p=0,011), Gria4 (p=0,011) та Tpf2 (p=0,037) (ліва половина СМ); Gria2 (p=0,02), Gria4 (p=0,037) та Slc18a2 (p=0,037) (права половина СМ).

Статистично значуще зменшення експресії мРНК виявлене і при порівнянні результатів у групах 1 і 3: для лівої половинги СМ — щодо мРНК Gria4 (p=0,014) та Tpf2 (p= 0,022), для правої — Gria4 (p= 0,022) та Slc18a2 (p=0,022).

При порівняльному аналізі результатів у групах 2 і 3 встановлені статистично значущі переваги рівня експресії мРНК Gria2 (p=0,043, p= 0,007) в обох половинах СМ у тварин групи 2, що можна пов'язувати з формуванням посттравматичного больового синдрому [14].

Отже, у тканині інтактного СМ експресується мРНК Tpf2; зниження експресії Tpf2 порівнянно з такою в інтактних та несправжньо оперованих тварин, при пересіченні половини СМ є гомолатеральним, зниження експресії мРНК Slc18a2 — контралатеральним. Експресія мРНК Gria4 у тварин групи 1 зменшується в обох половинах СМ нижче рівня ураження, про що свідчить порівняння показників з такими в групах 2 і 3. Зниження експресії Gria2 (контралатерально) та Gria3 (гомолатерально) доведене лише порівняно з групою інтактних тварин, отже, є сумнівним корелятом травми СМ.

Кореляційний аналіз отриманих даних не виявив зв'язку між величиною експресії жодного з досліджуваних видів мРНК та ПФ ЗІК чи ПС ЗІК.

Відсутність значущої різниці між рівнем експресії усіх досліджуваних видів мРНК за прямого порівняння даних в обох половинах СМ у межах кожної групи аналогічна результатам серії електрофізіологічних досліджень, проведених нами раніше в експериментальних умовах. Так, через 6 тиж після травми у молодих тварин (4 тиж на момент травми, n=10) значуща різниця середніх по групі значень співвідношення амплітуди Н—хвилі та М—хвилі (Н/М) для ЗІК та ЗКК не виявлена [13]. Під час прямої стимуляції СМ вище рівня травми та реєстрації електричного збудження у литковому м'язі ЗІК у дорослих тварин (5,5 міс на момент травми, n=4) через 7 тиж після травми амплітуда М—відповіді та середня швидкість проведення збудження для ЗІК та ЗКК практично співпадали зі значенням в інтактних тварин (n=11) [14].

Отже, при пересіченні половини СМ трансформація збудливості нейронального апарату відбувається в обох половинах СМ. Парадоксальним є відсутність клінічних корелятів цієї ситуації щодо ЗКК, що може бути пов'язане з недосконалістю класичної схеми верифікації стану рухової системи під час неврологічного огляду (шкала Ashworth).

Відсутність альтернативних даних щодо експресії мРНК зазначених білків при використанні у дослідженні саме такого варіанта травмі СМ, фрагментарність даних щодо змін експресії деяких видів мРНК за інших варіантів ураження СМ в обмежених просторових компартментах СМ чи в інші строки після травми значною мірою ускладнює, а в деяких ситуаціях — унеможливлює інтерпретацію отриманих результатів. Оскільки наявність мРНК у тканині не є свідченням синтезу функціонально активних форм відповідного білка, патофізіологічне значення та інформативність подальших досліджень у цьому напрямку залежать від вдалого поєднання сучасних молекулярно—біологічних, імуногістохімічних та клітинних електрофізіологічних методів.

ВИСНОВКИ

1. У тканині інтактного СМ відзначена низька експресія мРНК триптофан—гідроксилази 2 та дофамін—β—гідроксилази.

Результати ЛРП експресії мРНК у зразках тканини СМ тварин експериментальних груп*

Білок, рівень експресії мРНК якого досліджували	Експресія мРНК в групах, ум. од. в половинах СМ ($\bar{x} \pm m$)				
	1		2		3
	лівій (ЗІК, n=4)	правій (ЗКК, n=4)	лівій (ЗІК, n=7)	правій (ЗКК, n=5)	лівій, правій (n=8)**
Gria1	2,3 ± 0,6	2,6 ± 0,8	5,6 ± 1,7	6,4 ± 2,3	2,9 ± 1,0
Gria2	1,0 ± 0,4	0,7 ± 0,1	2,1 ± 0,5	2,7 ± 0,6	0,8 ± 0,2
Gria3	2,4 ± 0,5	4,3 ± 2,5	9,1 ± 1,2	11,0 ± 3,3	5,8 ± 1,4
Gria4	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,4	8,9 ± 3,7	8,1 ± 4,0	3,6 ± 0,4
Slc18a2	2,0 ± 0,9	1,5 ± 0,6	9,6 ± 5,1	7,2 ± 2,4	5,8 ± 1,0
Slc32a1	1,9 ± 0,7	1,4 ± 0,7	5,2 ± 2,5	4,4 ± 2,0	4,7 ± 1,4
Dbh	2,5 ± 0,6	2,0 ± 1,4	17,5 ± 11,2	6,4 ± 2,9	8,8 ± 2,8
Tph2	1,1 ± 0,4	1,3 ± 0,4	5,4 ± 2,0	4,8 ± 2,0	2,8 ± 0,3
Ptf1a	1,2 ± 0,3	1,4 ± 0,3	3,5 ± 1,4	3,9 ± 1,8	3,3 ± 1,4

Примітка. * - представлені усереднені по кожній групі значення рівня експресії мРНК досліджуваних білків, обчисленої за наведеною формулою; ** - у групі 3 контралатеральну диференціацію отриманих результатів за очевидних причин не проводили, для порівняння з іншими групами зразки обох половин СМ об'єднані в одну групу (n=8) і представлені в усередненому вигляді.

2. За однобічної травми СМ знижується експресія мРНК триптофан—гідроксилази 2 — гомолатерально, переносника моноамінів Slc18a2 — контралатерально, субодиниці AMPA—рецептора глутамату Gria3 — білатерально.

3. Виконання латералізованої ламінектомії без травми СМ супроводжується значущим білатеральним підвищенням експресії Gria2 у тканині СМ нижче рівня травми.

4. Латералізація змін експресії зазначених факторів помірна, не підтверджується прямим порівнянням результатів в контралатеральних половинах СМ, свідчить про участь у патологічному процесі нейрональних мереж збереженої половини СМ.

ЛІТЕРАТУРА

1. D'Amico JM, Condliffe EG, Martins KJB, et al. Recovery of neuronal and network excitability after spinal cord injury and implications for spasticity [Internet]. Front Int Neurosci. 2014;8(36):1—24. doi:10.3389/fnint.2014.00036,
2. Wienecke J, Westerdahl A—C, Hultborn H, Kiehn O, Ryge J Global gene expression analysis of rodent motor neurons following spinal cord injury associate molecular mechanisms with development of post—injury spasticity. J Neurophysiol. 2010;103(2):761—78.
3. Ditunno JF, Little JW, Tessler A, Burns AS. Spinal shock revisited: a four—phase model. Spinal Cord. 2004;42(7):383—95.
4. Di Narzo AF, Decrease of mRNA editing after spinal cord injury is caused by down—regulation of ADAR2 that is triggered by inflammatory response [Internet]. Sci Rep. 2015;5(12615):1—15. Available from: http://www.nature.com/articles/srep12615.
5. Nardone R, Holler Y, Thomschewski A. Serotonergic transmission after spinal cord injury. J Neural Transm. (Vienna). 2015;122(2):279—95.
6. Ren L—Q, Wienecke J, Hultborn H, Zhang M. Production of dopamine by aromatic L—amino acid decarboxylase cells after spinal cord injury. J Neurotrauma. 2016;33(12):1150—60.
7. Li Y, Li L, Stephens MJ, et al. Synthesis, transport, and metabolism of serotonin formed from exogenously applied 5—HTP after spinal cord injury in rats. J Neurophysiol. 2014;111(1):145—63.
8. Wienecke J, Ren L—Q, Hultborn H, et al. Spinal cord injury enables aromatic L—amino acid decarboxylase cells to synthesize monoamines. J Neurosci. 2014;34(36):11984—2000.
9. Boulenguez P, Liabeuf S, Bos R, et al. Down—regulation of the potassium—chloride cotransporter KCC2 contributes to spasticity after spinal cord injury. Nat Med. 2010;16(3):302—7.
10. Murray KC, Nakae A, Stephens MJ, et al. Recovery of motoneuron and locomotor function after spinal cord injury depends on constitutive activity in 5—HT2C receptors. Nat Med. 2010;16(6)694—700.
11. DeVivo MJ. Epidemiology of traumatic spinal cord injury: trends and future implications. Spinal Cord. 2012;50(5):365—72.
12. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Семенова ВМ, та ін. Модель пересічення половини поперечника спинного мозку. І. Технічні, патоморфологічні та клініко—експериментальні особливості. Укр нейрохірург журн. 2016;(2):18—27.
13. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Гридіна НЯ, та ін. Модель поперечного пересічення половини спинного мозку. ІІ. Стан нервово—м'язового апарату, синдром посттравматичної спастичності та хронічний больовий синдром. Укр нейрохірург журн. 2016;(3):9—17.
14. Tao Y—X. AMPA receptor trafficking in inflammation—induced dorsal horn central sensitization. Neurosci Bull. 2012;28(2):111—20.