

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc624407>



Вирус-опосредованная нейрон-специфическая ретроградная доставка генов при травме спинного мозга

Ю.А. Челышев^{1, 2}, Я.О. Мухамедшина^{1, 2}

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;

² Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

АННОТАЦИЯ

Вирус-опосредованный нейрон-специфический ретроградный перенос служит эффективным инструментом для определения локализации тел нейронов, выявления межнейронных связей, а также для ретроградной доставки терапевтических трансгенов с целью поддержания и восстановления функции нейронов. При экспериментальной травме спинного мозга ретроградный перенос терапевтических трансгенов имеет ряд преимуществ перед другими более распространёнными способами доставки. Среди них — целевой перенос генетической конструкции в тела спинальных нейронов конкретных типов, малая инвазивность, сравнительно невысокий риск воспалительного ответа и возможность повторных инъекций. Большое внимание в исследованиях с ретроградным переносом уделено повышению его эффективности путём модификации капсидов и применения новых промоторов.

В обзоре наиболее детально рассмотрены результаты работ по вирус-опосредованному нейрон-специфическому ретроградному переносу трансгенов при внутримышечном введении генетических конструкций. В технологии ретроградной доставки существует возможность выбора между моносинаптическим и полисинаптическим переносом в зависимости от применения определённого вирусного вектора. Отдельно рассмотрены эффекты вирус-опосредованной ретроградной трансдукции как спинальных мотонейронов, так и интернейронов, которые вместе формируют двигательные нейронные сети. Доставляя трансген путём ретроградного переноса по аксонам из периферии в перикарионы спинальных нейронов, можно ожидать действия не только в достаточно обширной области спинного мозга, но также и в супраспинальных структурах, что важно для восстановления протяжённых нейронных связей.

Ключевые слова: травма спинного мозга; нейроны; ретроградная доставка; рекомбинантные гены; вирусный вектор.

Как цитировать:

Челышев Ю.А., Мухамедшина Я.О. Вирус-опосредованная нейрон-специфическая ретроградная доставка генов при травме спинного мозга // Гены и клетки. 2024. Т. 19, № 2. С. 231–244. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc624407>

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc624407>

Virus-mediated neuron-specific retrograde gene delivery in spinal cord injury

Yuri A. Chelyshev^{1, 2}, Yana O. Mukhamedshina^{1, 2}

¹ Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia;

² Kazan State Medical University, Kazan, Russia

ABSTRACT

To support neuronal function and restoration, virus-mediated neuron-specific retrograde transport is an effective tool for determining the localization of neuronal somas, identifying interneuronal connections, and facilitating the retrograde delivery of therapeutic transgenes. In experimental spinal cord injury, the retrograde transport of therapeutic transgenes offers several advantages over other more common delivery methods, such as targeted transfer of genetic constructs to specific types of spinal neuron somas, low invasiveness, relatively low risk of inflammatory response, and potential for repeated injections. Research on retrograde transport has extensively focused on enhancing its efficiency through capsid modification and application of novel promoters.

This review presents a detailed examination of the outcomes of virus-mediated neuron-specific retrograde transduction of transgenes after intramuscular injection of genetic constructs. In retrograde delivery technology, the ability to choose between monosynaptic and polysynaptic transports, depending on the specific viral vector used, was a positive aspect. The review also addresses the effects of virus-mediated retrograde transduction on both spinal motoneurons and interneurons, which collectively form motor neuronal networks. By delivering transgenes through retrograde transport along axons from the periphery to the perikarya of spinal neurons, not only localized effects within the spinal cord but also in supraspinal structures can be anticipated, a crucial aspect in restoring extensive neural connections.

Keywords: spinal cord injury; motoneuron; retrograde delivery; recombinant genes; viral vector.

To cite this article:

Chelyshev YuA, Mukhamedshina YaO. Virus-mediated neuron-specific retrograde gene delivery in spinal cord injury. *Genes & cells*. 2024;19(2):231–244. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc624407>

Received: 10.12.2023

Accepted: 08.02.2024

Published online: 27.04.2024

ВВЕДЕНИЕ

При травме спинного мозга (ТСМ) тестируют многочисленные подходы для преодоления последствий повреждения. Несмотря на успехи доклинических исследований по сдерживанию нейродегенерации, гибели нейронов, по стимулированию роста аксонов и их прорастания через область повреждения и реконструкции нервных связей, сегодня можно констатировать отсутствие существенного прогресса в восстановлении двигательных, чувствительных и вегетативных функций. Одним из наиболее активно разрабатываемых методов при ТСМ является доставка в область повреждения рекомбинантных терапевтических генов, кодирующих синтез нейротрофических и ангиогенных факторов, противоапоптозных и противовоспалительных молекул, антиоксидантов и т.д.

Доставка терапевтических генов в спинной мозг может быть осуществлена различными способами. Это могут быть вирусы или невирусные системы на основе плазмидных векторов, катионных липидов, катионных полимеров или неорганических частиц. Наибольшее количество исследований на модели ТСМ у животных выполнено с применением вирус-опосредованной доставки трансгенов. Полученные результаты указывают на перспективность именно этого способа доставки генетических конструкций. Активно разрабатываемые технологии доставки генов в спинальные нейроны рассматриваются как перспективные для преодоления последствий ТСМ и лечения заболеваний мотонейронов. По способу их применения можно выделить системное или интратекальное введение, интраспинальную или внутримышечную инъекцию, а также интраневральное введение.

Следует отметить, что наибольшее количество экспериментальных исследований выполнено с прямым введением генетических конструкций в спинной мозг (интраспинальный/интрапаренхиматозный вариант). Достаточно часто в экспериментальных моделях на спинном мозге доставку трансгенов исследуют после интратекального введения. Способ ретроградного переноса рекомбинантных генов после введения генетических конструкций в мышцу и особенно в нерв применяли значительно реже. Вероятно, поэтому эффекты ретроградного переноса целевых генов в спинной мозг оказались изученными в меньшей степени.

Нейрон-специфический ретроградный перенос терапевтических генов в спинной мозг обладает рядом значимых преимуществ перед другими способами доставки. Во-первых, это минимальная инвазивность, что делает введение генетических конструкций в мышцу или нерв, а не в спинной мозг клинически более релевантным способом их доставки. Во-вторых, важным преимуществом нейрон-специфического ретроградного переноса трансгенов является возможность целевой доставки в тела спинальных нейронов конкретных популяций и строгой анатомической локализации. В-третьих, снижается

риск развития воспалительных реакций, которые могли бы быть при прямой интраспинальной инъекции [1, 2]. Таким образом, разработка новых подходов при ретроградной трансдукции нейронов может предоставить возможности для преодоления последствий ТСМ.

В обзоре мы рассматриваем эффективность вирус-опосредованной ретроградной трансдукции спинальных мотонейронов для восстановления нейронных связей и двигательной функции.

РЕТРОГРАДНЫЙ ПЕРЕНОС ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ В СПИННОЙ МОЗГ ПРИ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ

Вирус-опосредованный ретроградный перенос целевых генов в мотонейроны спинного мозга основан на их топографических взаимоотношениях с иннервируемыми мышечными волокнами в пределах двигательных единиц. Установлению этих связей предшествовали многочисленные работы с ботулиническим токсином, вводимым в качестве трейсера в скелетную мышцу [3, 4]. При внутримышечной инъекции точность подведения трейсера к концевым пластинкам определяет эффективность мечения и позволяет интерпретировать специфические взаимоотношения между спинальными мотонейронами конкретных популяций и иннервируемыми мышцами. Концевые пластинки служат высокоспециализированными структурами, содержащими пресинаптические терминалы мотонейронов. Установление точной локализации концевых пластинок оказалось важным для проведения внутримышечной инъекции, которая способна обеспечить наиболее полное участие нервных терминалов в захвате генетической конструкции. На скелетных мышцах мыши путём внутримышечной инъекции флуоресцентной метки Fluoro-Gold были получены карты распределения концевых пластинок [5]. В последующем они обеспечили проведение инъекций вирусных векторов с терапевтическими генами, которые перемещались в составе ретроградного аксонного транспорта и достигали перикарионов мотонейронов. Внутримышечные инъекции аденовирусных векторов (AdV) с учётом топографии концевых пластинок, локализованных на поверхности мышцы, увеличивали количество трансдуцированных мотонейронов в 2,5 раза [6]. Кроме того, карты распределения концевых пластинок в мышце позволили уточнить известную ранее локализацию мотонейронов в конкретных сегментах спинного мозга для каждой мышцы.

Если в более ранних работах [5, 7–9] с помощью гистохимической реакции на ацетилхолинэстеразу было охарактеризовано расположение концевых пластинок на поверхности мышцы, то в последующих работах при помощи методов оптического просветления получена

3D-карта распределения концевых пластинок во всем объёме мышцы [10]. Данные о трёхмерном распределении концевых пластинок инициировали разработку техники 3D-внутримышечной инъекции [11]. Она позволяет вовлечь большее количество концевых пластинок, увеличить объём ретроградно транспортируемого в спинной мозг материала и выявить большее количество мотонейронов, иннервирующих инъекцируемые мышцы.

Функциональные подтипы спинальных мотонейронов и волокон скелетных мышц избирательно трансдуцировали с использованием дефектных по репликации AdV или аденоассоциированных векторов (AAV). После внутримышечной инъекции грызунам AdV показана возможность избирательной трансдукции быстрых или медленных спинальных мотонейронов и мышечных волокон. AAV трансдуцировали преимущественно мышечные волокна быстрой мышцы крысы [12]. Значительный прогресс в исследовании нейрон-специфического ретроградного переноса генов при их введении в мышцу был достигнут в условиях применения конструкции AAV2-Retro. У мышей в постнатальном периоде при внутримышечной инъекции AAV2-Retro трансдукционный перенос на ипсилатеральной стороне выявлен в мотонейронах и аксонах чувствительных нейронов в дорсальной части

серого вещества, а также в контралатеральных мотонейронах спинного мозга, в нейронах ствола головного мозга и тройничного ганглия. При этом было выдвинуто предположение о возможности переноса части генетического материала через кровоток и спинномозговую жидкость [13].

Таким образом, ретроградный транспорт вирусных векторов в спинной мозг грызунов обеспечивает надёжную доставку терапевтического трансгена в спинальные мотонейроны из иннервируемой мускулатуры (рис. 1). С целью распространения этого подхода на приматов в икроножную мышцу африканских зелёных мартышек вводили рекомбинантный AAV6, экспрессирующий усиленный зелёный флуоресцентный белок (eGFP), для определения возможности эффективной доставки трансгена в поясничные мотонейроны. Экспрессирующие eGFP клетки наблюдали в спинном мозге в достаточно обширной области протяжённостью до 1 см через 4 нед после внутримышечной инъекции с трансдукцией более половины присутствующих в этой области мотонейронов [14]. Хотя в мышцах, в которые вводили AAV6, обнаружили макрофагальную и лимфоцитарную инфильтрацию, в трансдуцированной области спинного мозга воспалительная реакция отсутствовала.

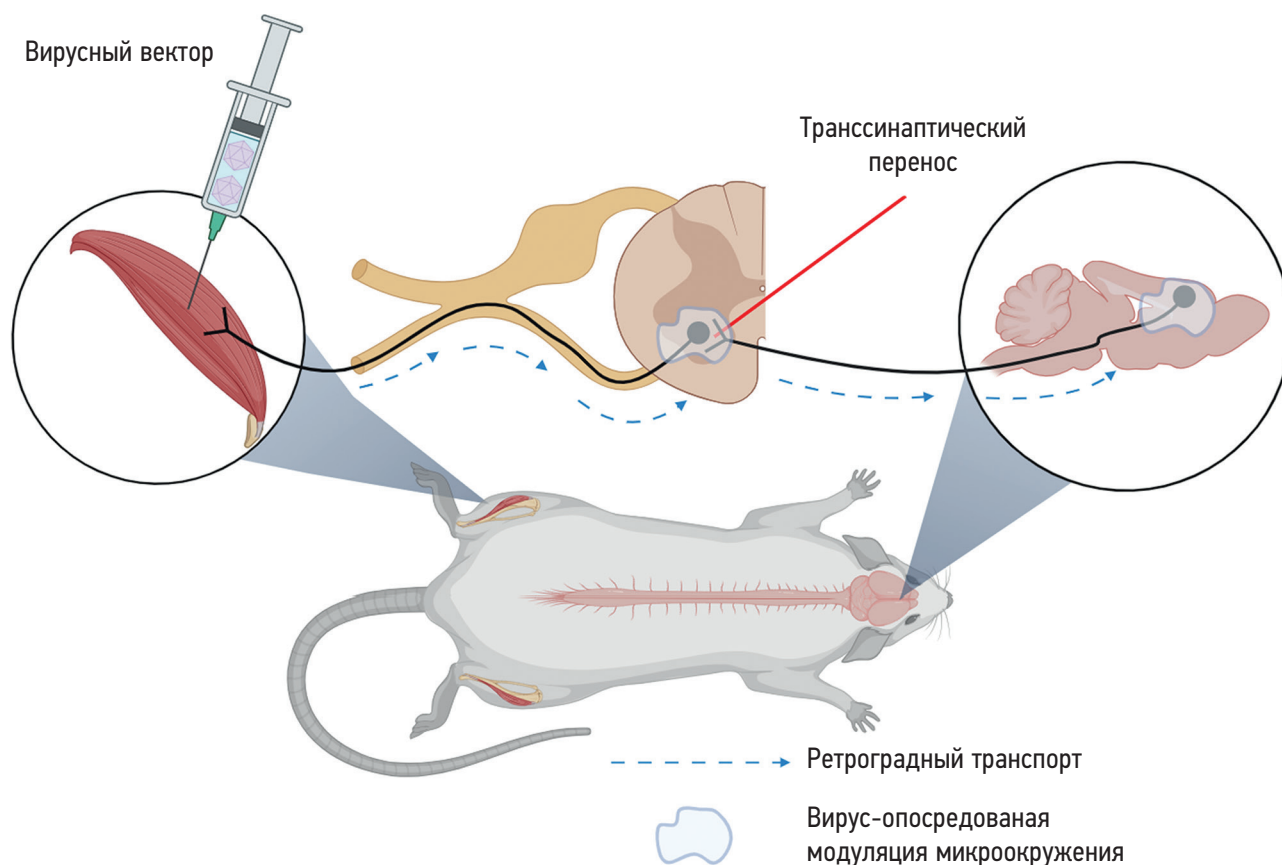


Рис. 1. Схема вирус-опосредованного ретроградного переноса рекомбинантных генов в спинальные мотонейроны, которые потенциально могут передавать вирусный вектор в супраспинальные нейроны путём транссинаптического переноса.

Fig. 1. Scheme of virus-mediated retrograde transfer of recombinant genes into spinal motoneurons, which can potentially transfer the viral vector to supraspinal neurons via transsynaptic transfer.

СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСДУКЦИИ ЦЕЛЕВЫХ КЛЕТОК, В ТОМ ЧИСЛЕ В УСЛОВИЯХ РЕТРОГРАДНОГО ПЕРЕНОСА ТРАНСГЕНОВ

Для повышения эффективности трансдукции целевых клеток и, в частности, нейрон-специфического ретроградного переноса генов проводят псевдотипирование вирусного вектора путём модификации капсида, а также используют новые промоторы, которые обеспечивают экспрессию доставленного гена в клетках конкретного типа.

Псевдотипирование вируса, предполагающее создание вирусных векторов с белком оболочки чужеродного вируса, является достаточно распространённым и результативным способом конструирования экспрессионных вирусных векторов для эффективного нейрон-специфического ретроградного переноса генов. Для лентивирусных векторов (LV) наиболее широко используемой оболочкой является G-гликопротеин вируса везикулярного стоматита (VSV-G). Однако этот псевдотипированный LV трансдуцирует клетки только в области инъекции. G-гликопротеин нейротропного вируса бешенства (RV) имеет гомологию с VSV-G [15], что позволило псевдотипировать LV с помощью G-гликопротеина RV, обеспечивая ретроградный транспорт и эффективную трансдукцию нейронов [16]. Полученный результат связан с тропностью RV к нейронам *in vivo* за счёт распознавания специфических рецепторов на поверхности данных клеток (nAChR, NCAM, NTR).

Несколькими группами исследователей разработаны химерные оболочки RV для псевдотипирования и трансдукции нейронов в проецируемых областях. В этих работах использовали различные штаммы вируса и химерные конфигурации их оболочек. М. Nigano с соавт. в 2013 году разработали два химерных гликопротеина, обеспечивающих высокий уровень нейрон-специфического ретроградного транспорта, — FuG-B и FuG-E [17]. М. Humbel с соавт. в 2021 году на примере кортикостриарного коннектома исследовали возможность повышения эффективности ретроградного транспорта LV, псевдотипированного химерными гликопротеинами FuG/B2 (LV-FuG/B2), для повышения эффективности трансдукции нейронов [18]. Обнаружено, что данная стратегия значительно усиливает ретроградный перенос генов, и это приводит к широкому распространению вектора в обширных областях мозга после внутривенной инъекции. Несмотря на то, что RV активно используется для исследований мозга, применение его ограничено высокой нейротоксичностью. Для снижения агрессивности RV используют подходы, вносящие изменения в его геном, что позволяет проводить транссинаптический ретроградный перенос, маркируя нейрональные связи, при меньшей нейротоксичности [19].

Применительно к AAV продолжает сохраняться интерес к разработке капсидов с улучшенным тропизмом и промоторов, селективных для определённых типов клеток [20]. Разработанный рекомбинантный вектор AAV с капсидом 9P31 обеспечивал трансдукцию клеток спинного мозга нечеловеческих приматов более чем в 1000 раз эффективнее при внутривенном введении, чем немодифицированный AAV9. В ходе секвенирования показано снижение эффективности трансдукции клеток печени в 100 раз для вариантов AAV с капсидами 9P09, 9P33 и 9P39 в сравнении с неизменённым AAV9, что может уменьшить характер побочных эффектов, опосредованных введением AAV в организм человека [21]. Что касается периферической доставки от мышц к мотонейронам, AAV2-Retro с модифицированным капсидом в полной мере обеспечивал ретроградный транспорт AAV от скелетных мышц к мотонейронам и проприоцептивным нейронам в спинальных ганглиях у взрослых мышей [22].

При разработке новых капсидов осваивают подходы, которые включают использование геномного штрих-кодирования и Cre-трансгенных линий мышей, для успешной идентификации и секвенирования вариантов AAV, демонстрирующих желаемый тропизм [23, 24]. Одной из наиболее успешных стратегий для получения модифицированных капсидов для AAV9 с подобными свойствами стала так называемая система контролируемой эволюции на основе Cre-рекомбиназы (CREATE). Она позволила создать новое семейство AAV-PHP.B и последующее поколение вирусов с AAV-PHP.eB, которое отличалось присутствием в аминокислотной последовательности капсида гептамерной вставки, специфически узнающей молекулярную мишень [23, 25]. Эти капсиды были созданы с помощью системы рекомбиназы Cre, которая отбирала для ЦНС высокоэффективные по критерию трансдукционной активности капсиды у взрослых мышей линии C57BL/6J после внутривенного введения. Модификация капсидов позволила AAV проникать через неповреждённый гематоэнцефалический барьер человека при внутривенном введении, обладая тропизмом к центральным (PHP.B или PHP.eB) или периферическим (PHP.S) нейронам [23–25]. Однако такие капсиды не обеспечивают пенетрацию вектора через гематоэнцефалический барьер у прочих грызунов (мыши BALB/cJ и B6C3) и некоторых других видов (макаки-резусы, мarmозетки) [26–28]. Тем не менее данные капсиды также могут быть эффективны при трансдукции нейронов после повреждений ЦНС, которые в большинстве случаев, если не во всех, сопровождаются нарушением гематоэнцефалического барьера. При внутривенном введении мышам AAV-PHP.B с геном *Kcc2*, кодирующим синтез K^+-Cl^- -котранспортёра 2 (KCC2), через 3 ч после поэтапных латеральных гемисекций спинного мозга на разных уровнях, приводящих к полному исчезновению серотонинергических аксонов в поясничном отделе, были

показаны трансдукция спинальных нейронов и улучшение двигательной функции [29]. При этом AAV-PHP.eB обеспечивало более чем 50-кратное увеличение трансдукции клеток во многих областях мозга [25, 30].

Вирусные векторы рассматриваются в качестве значимого инструмента для эффективного переноса генов в терминально дифференцированные клетки. Однако рациональный подход к выбору промотора при вирус-опосредованном переносе остаётся недостаточно изученным. Для нейронов существует ряд специфичных промоторов. Большее количество центральных нейронов более активно трансдуцируются конструкцией AAV-PHP.eB под контролем промотора гена нейронспецифической енолазы, чем под контролем промоторов генов синапсина или ключевого молекулярного организатора синаптической пластичности Ca^{2+} /кальмодулин-зависимой киназы 2. Однако под контролем промотора гена синапсина наблюдали более сильную экспрессию нейронов, включая мотонейроны спинного мозга, при внутривенной инъекции AAV2/PHP.B-GFP, чем при введении scAAV2/9-GFP [31]. При этом в коре головного мозга зарегистрирован необычно высокий уровень трансдукции астроцитов при использовании неспецифического для разных клеточных типов промотора beta-актина цыплёнка. Исследование нейрон-астроцитарных связей представляет значительный интерес, поэтому особенно ценными являются полученные недавно данные не только о высокой способности к ретроградному транспорту AAV11, но и о появлении астроцитарного тропизма данного вируса под контролем промотора GfaABC 1 D [32].

В отношении возбуждающих и тормозных нейронов с указанными выше промоторами не отмечено выраженной селективности. Показано, что экспрессия генов возможна в определённых типах нейронов ЦНС, когда энхансерные участки в составе AAV-PHP.eB вводятся внутривенно (ретроорбитально) взрослым мышам [33, 34]. Например, парвальбумин-положительные нейроны можно трансдуцировать после внутривенной инъекции AAV-PHP.eB, включающего соответствующую энхансерную область из гена парвальбумина, и эта стратегия работает на мышах и приматах [34]. Методы трансдукции глиальных клеток в периферическую и центральную нервную систему с использованием AAV с различными комбинациями промоторов и капсидов подробно описаны в обзоре S.J. O'Carroll с соавт. 2021 года [35].

Таким образом, в области исследований по вирус-опосредованному трансдукционному переносу сегодня можно констатировать активный интерес к разработке более качественных капсидов, специфичных для отдельных типов клеток промоторов и генетических конструкций с меньшей иммуногенностью, которые способны обеспечить более активную экспрессию трансгенов. Разработка новых вирусных векторов для ретроградной трансдукции предоставит новые возможности в сдерживании и преодолении нейродегенерации, в том числе при TCM.

ЭФФЕКТЫ ВИРУС-ОПОСРЕДОВАННОГО РЕТРОГРАДНОГО ПЕРЕНОСА РЕКОМБИНАНТНЫХ ГЕНОВ В СПИНАЛЬНЫЕ МОТОНЕЙРОНЫ

Работы, в которых изучали эффекты вирус-опосредованного ретроградного переноса рекомбинантных генов в спинальные мотонейроны, проанализированы в табл. 1 [36–45]. При перерезке периферического нерва у новорождённых крысят внутримышечное введение AdV, несущего ген глиального нейротрофического фактора (GDNF), улучшало выживание спинальных мотонейронов [36]. В эксперименте с ретроградным переносом AdV-LacZ показано, что эффективность трансдукции нейронов наиболее выражена при немедленном после компрессионной TCM введении генетической конструкции и существенно уменьшается по мере увеличения посттравматического периода [2]. Позже на аналогичной модели внутримышечная инъекция AdV с геном мозгового нейротрофического фактора (BDNF) обеспечивала экспрессию кодируемого им белка в нейронах передних рогов с максимумом через 1–2 нед после введения генетической конструкции, поддерживала их структуру и активность ферментов холинергической регуляции [39]. При моделировании компрессионной TCM мыши внутримышечное введение AdV-BDNF способствовало трансдукции нейронов и олигодендроцитов в области повреждения и подавляло их апоптоз [43]. На аналогичной модели TCM опосредованный AdV ретроградный перенос в спинной мозг гена нейротрофина 3 (NT3) стимулировал в передних рогах рост и ветвление аксонов трансдуцированных нейронов [40]. После перерезки кортикоспинального тракта на уровне продолговатого мозга крысы доставка через седалищный нерв AdV-NT3 приводила к значительному увеличению экспрессии NT3 в нейронах поясничного отдела на сроке до 3 нед, а также стимулировала рост и ветвление аксонов интактного кортикоспинального тракта, пересекающих срединную линию [37].

Повышение эффективности регенерации при ретроградном AdV-опосредованном переносе терапевтических генов было достигнуто при сочетанной устойчивой локальной экспрессии нейротрофических факторов в сенсомоторной коре и спинном мозге. Обеспечение сверхэкспрессии BDNF или GDNF в сенсомоторной коре вблизи перикарионов нейронов кортикоспинального тракта одновременно со сверхэкспрессией NT3, доставленного ретроградно через седалищный нерв в поясничный отдел, оказалось по критерию роста аксонов более эффективным, чем только ретроградный перенос NT3 в поясничный отдел спинного мозга [38]. Приведённые данные свидетельствуют об эффективном применении AdV для нейрон-специфического ретроградного переноса трансгенов в область TCM или в функционально значимые области, удалённые от эпицентра повреждения, например

Таблица 1. Эффекты вирус-опосредованного ретроградного переноса рекомбинантных терапевтических генов в спинальные мотонейроны

Table 1. Effects of virus-mediated retrograde retrograde transfer of recombinant therapeutic genes into spinal motoneurons

Вектор/инъекция	Модель	Эффекты трансдукции	Посттравматические изменения	Ссылки
Adv.RSV-βgal/Adv.RSV-GDNF, в/м в 3 точки (GC, FLD, TA), слева	Перерезка седалищного нерва (5-мм удалённый фрагмент), новорождённые крысы Sprague-Dawley	Дорсолатеральные мотонейроны поясничного отдела	Adv.RSV-GDNF ↑ выживаемость мотонейронов	[36]
Adv.EFα-NT3, в/н в седалищный нерв	Перерезка CST про-долговатого мозга, крысы Sprague-Dawley	Мотонейроны поясничного отдела	↑ выживаемость нейронов на стороне повреждения, рост и ветвление аксонов интактного кортикоспинального тракта	[37]
Adv.BDNF, Adv.GDNF и/ц Adv.NT3, в/н в седалищный нерв	Перерезка CST про-долговатого мозга, крысы Sprague-Dawley	Мотонейроны поясничного отдела	Комбинация используемых векторов ↑ рост аксонов в большей степени, чем только ретроградный перенос Adv.NT3	[38]
Adv-BDNF, в/м в 1 точку (SM), слева	Компрессионная TCM (C4), крысы Sprague-Dawley	Мотонейроны шейного отдела	↑ количества сохранных нейронов (окраска по Нисслю), нейронов ChAT ⁺ и AChE ⁺	[39]
Adv-LacZ/Adv-NT3, в/м в 1 точку (SM), слева	Компрессия C2-C3 за счёт роста кальцификатов, мыши <i>twy/twy</i>	Медиальные и вентролатеральные мотонейроны шейного отдела	Adv-NT-3 ↑ рост, ветвление аксонов трансдуцированных нейронов и их выживаемость (нейроны Nissl ⁺ , ChAT ⁺ и trkC ⁺)	[40]
AAV5-NT3 + AAV5-GFP, в/м в 4 точки (Tr), слева	Перерезка CST на уровне C4-C5, крысы Fischer	Мотонейроны шейного отдела	↑ шейного утолщения, двигательной функции, количества и длины волокон CST, ↓ ретракции аксонов и астроглиоза	[41]
AAV1-CMV-NT3/AAV2-CMV-NT3/AAV5-CMV-NT3, в/м в GC, слева	Интakтные крысы Sprague-Dawley	Увеличение экспрессии NT3 в поясничном отделе спинного мозга, DRG и мышце	Изменение пластичности и реакции поясничных мотонейронов оказывает долгосрочное воздействие на синаптическую передачу	[42]
Adv-LacZ/Adv-BDNF, в/м в 1 точку (SM), слева	Компрессия C2-C3 за счёт роста кальцификатов, мыши <i>twy/twy</i>	Мотонейроны и олигодендроциты шейного отдела	Adv-BDNF ↓ апоптоз (TUNEL; caspase-3, 8, 9; p75 ^{NTR}), ↑ протекцию нейронов и олигодендроцитов	[43]
AAV1-NT3, в/м в более чем 14 точек различных мышц передних конечностей	Перерезка пирамид про-долговатого мозга, крысы Lister hooded	Ипсилатеральные мотонейроны и нейроны заднего рога шейного отдела	↓ спастичности, нормализация низкочастотных полисинаптических спинальных рефлексов, ↑ двигательной функции	[44]
AAV-NT3/AAV-NT3 + реабилитация, в/м в 2 точки (TA, So), слева и справа	Контузионная TCM (T9), крысы Wistar	Увеличение экспрессии NT3 в DRG и мышце	AAV-NT3 и его сочетание с физическими упражнениями ↓ частоту спазмов, ↑ двигательную функцию, количество мотонейронов (Nissl ⁺) и вставочных нейронов (GAD65 ⁺), экспрессию KCC2	[45]

Примечание: AAV — аденоассоциированный вирус, Adv — аденовирус, BDNF — мозговой нейротрофический фактор, βgal — β-галактидаза, CST — кортико-спинальный тракт, DRG — спинальный ганглий, FLD — длинный сгибатель пальцев (*m. flexor longus digitorum*), GC — икроножная мышца (*m. gastrocnemius*), GDNF — глиальный нейротрофический фактор, GFP — зеленый флуоресцентный белок, NT3 — нейротрофин 3, SM — грудино-ключично-сосцевидная мышца (*m. sternomastoid*), So — камбаловидная мышца (*m. soleus*), TA — передняя большеберцовая мышца (*m. tibialis anterior*), Tr — трёхглавая мышца плеча (*m. triceps brachii*), TCM — травма спинного мозга, в/н — внутринеурально, и/ц — интрацеребрально в область сенсомоторной коры.

Note: AAV — adeno-associated virus, Adv — adenovirus, BDNF — brain-derived neurotrophic factor, βgal — β-galactidase, CST — cortico-spinal tract, DRG — spinal ganglion, FLD — long finger flexor (*m. flexor longus digitorum*), GC — calf muscle (*m. gastrocnemius*), GDNF — glial neurotrophic factor, GFP — green fluorescent protein, NT3 — neurotrophin 3, SM — sternomastoid muscle (*m. sternomastoid*), So — soleus muscle (*m. soleus*), TA — tibialis anterior muscle (*m. tibialis anterior*), Tr — triceps brachii (*m. triceps brachii*), в/н — intraneurally, и/ц — intracerebrally in the area of sensorimotor cortex.

в поясничный отдел — для восстановления двигательной функции.

Сравнительное исследование AAV-GFP с различными капсидами под контролем цитомегаловирусного (CMV) промотора продемонстрировало наибольшую эффективность ретроградной трансдукции мотонейронов в условиях применения AAV2-Retro по сравнению с AAV1, AAV2 и AAV5-AAV9, которая составила 57% к 6-м суткам

после инъекции [13]. Ретроградная трансдукция выявлена не только в мотонейронах, иннервирующих инъектируемые мышцы, но также и в мотонейронах более обширной области серого вещества. При этом более слабая экспрессия гена *gfp* была обнаружена на контралатеральной стороне, а также допускалась возможность трансдукции мотонейронов, опосредованная через диффузию AAV-GFP из спинномозговой жидкости.

После однократной внутримышечной инъекции AAV–CMV–NT3 (серотипы 1, 2 и 5) в спинном мозге, а также в мышце и спинальных ганглиях крыс концентрация NT3 через 3 мес достигала максимума [42]. Исследование показало, что инъекция этой генетической конструкции в мышцы задних конечностей может изменять пластичность и реакции поясничных мотонейронов, оказывая долгосрочное воздействие на синаптическую передачу. В другом исследовании после внутримышечной инъекции крысам AAV–NT3 показана устойчивая экспрессия целевого гена в спинальных мотонейронах независимо от AAV серотипов 1, 2 или 5. При применении AAV5–NT3 наблюдалось увеличение шейного утолщения и улучшение двигательной функции. Количество и длина волокон кортикоспинального тракта, обходящих место повреждения, были также значительно увеличены наряду с уменьшением ретракции аксонов и астроглиоза [41]. При полном пересечении кортикоспинальных аксонов в пирамидах крысы внутримышечная инъекция AAV1–NT3 снижала спастичность, нормализовала низкопороговые полисиннаптические спинальные рефлексы и стимулировала восстановление двигательной функции [44].

Восстановление функции повреждённого спинного мозга в хронический период остаётся критической задачей. При хронической TCM однократная инъекция ретроградно транспортируемых AAVrg–hSyn–Cre–p2A–dTomato была проведена для нокаута фосфатазы и гомолога тензина (PTEN), ингибитора нейрорегенерации в ЦНС [46]. Показано эффективное воздействие как на повреждённые, так и на сохранённые аксоны и временное восстановление двигательной функции на модели тяжёлой компрессии спинного мозга. При этом нокаут PTEN улучшал двигательную функцию как при острой, так и при хронической TCM в течение 9-недельного периода.

На модели тяжёлой контузионной TCM крысы в грудном отделе проведено исследование с комбинацией генной терапии (AAV–NT3) и физического тренинга животных [45]. Генная терапия AAV–NT3, физические упражнения и их сочетание уменьшали частоту спазмов к 6-й неделе после TCM. По защитным и модулирующим реакциям мотонейронов комбинированная терапия значительно превосходила терапию только с AAV–NT3. Ранее при TCM было показано, что в мотонейронах каудальной области повреждения происходит угнетение экспрессии KCC2 [47]. Восстановление уровня KCC2 было значительно выше у крыс, получавших комбинированную терапию, чем у животных в группе только с физическими упражнениями. При выключении нисходящих тормозных влияний в поясничном отделе установлено зависимое от экспрессии KCC2 восстановление торможения, приводящее к улучшению двигательной функции [29]. Эти результаты показывают, что сочетание генной терапии AAV–NT3 и физических упражнений может облегчить мышечный спазм после TCM за счёт изменения возбудимости спинальных интернейронов и мотонейронов.

НЕИНВАЗИВНОЕ ПОДДЕРЖАНИЕ СПИНАЛЬНЫХ ИНТЕРНЕЙРОНОВ С ПОМОЩЬЮ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Наглядной иллюстрацией вирус-опосредованного ретроградного транссинаптического переноса служит трансдукция спинальных интернейронов. В условиях ретроградной доставки Adv–GFP присутствие трансгена выявлено не только в мотонейронах IX пластинки в ростральной области травмированного спинного мозга, но также и в интернейронах, локализованных вблизи центрального канала [38]. Достижения недавних доклинических исследований раскрыли терапевтический потенциал спинальных интернейронов в активации дремлющих нейронных сетей для восстановления сенсомоторной функции [48–50], что позволяет уже сегодня сформулировать стратегии лечения, нацеленные на данные интернейроны.

В возбуждении спинальных мотонейронов важная роль принадлежит интернейронам V2a, экспрессирующим продукт гомеобоксного гена *Chx10* (*Chx10*⁺V2a), которые интегрированы в различные нейронные сети. Опосредованное RV ретроградное транссинаптическое мечение показало, что поясничные интернейроны V2a имеют больше связей с мотонейронами и управляют их активностью более надёжно, чем шейные интернейроны V2a [51]. При профилировании интернейронов V2a из шейного и поясничного отделов обнаружено, что экспрессия канонического маркера этих нейронов *Chx10* неоднородна. Это позволяет различать по крайней мере два подтипа интернейронов V2a.

На модели TCM мышей в ростральной части шейного отдела спинного мозга с помощью ретроградного отслеживания показана высокая степень вовлечения интернейронов *Chx10*⁺V2a в регуляцию моторики диафрагмы [52]. Методом хомогенетической абляции установлено участие нейронов *Chx10*⁺V2a в обеспечении локомоции, регуляции инициации, поддержания, скорости и ритмичности движений. Разнообразные функциональные свойства интернейронов *Chx10*⁺V2a подтверждены и во многом обусловлены их интеграцией в кортикоспинальные, механосенсорные и интернейронные сети. Накапливаются данные о том, что эти интернейроны обеспечивают сложную локомоцию, участвуя в поддержании ритмического паттерна, координации влево-вправо и генерации центральных паттернов [53]. Результаты доклинических исследований по получению, трансплантации и неинвазивному стимулированию интернейронов *Chx10*⁺V2a позволяют рассматривать их как новую терапевтическую мишень.

Учитывая эффекты вирус-опосредованного транссинаптического переноса трансгенов при TCM, стоит обратить внимание на особую актуальность ретроградной трансдукции проприоспинальных нейронов. При TCM эта популяция интернейронов имеет особое значение для восстановления связей между отделами, разобщёнными областью травматического повреждения. Проприоспинальные

нейроны образуют популяцию интернейронов, которые соединяют разные уровни спинного мозга, не выходя за его пределы. В проблеме ТСМ проприоспинальные нейроны становятся всё более привлекательным объектом, поскольку пластичность и реорганизация как сохранённых, так и повреждённых проприоспинальных связей оказались значимыми для восстановления функции нейронных сетей [49, 50, 54].

Участие остаточных проекций проприоспинальных нейронов на поясничные мотонейроны в восстановлении движений задних конечностей исследовано на модели контузионной ТСМ мыши [55]. На данной модели установлено, что ретроградный транспорт AAV2–NT3 ослаблял атрофию дендритов в мотонейронах поясничного отдела. Именно сохранённый нисходящий проприоспинальный путь, а не другие пути (включая кортикоспинальный, руброспинальный, серотонинергический и дофаминергический), определяет восстановление, усиленное этим нейротрофином. Кроме того, NT3 индуцировал реорганизацию связей проприоспинальных нейронов с мотонейронами посредством стимулирования роста дендритов, а не предотвращения их атрофии.

Перестройка связей нейронов после неполной ТСМ служит важным компонентом функционального восстановления [50, 56, 57]. Одним из примеров такой пластичности является способность кортикоспинальных проекционных путей задних конечностей реагировать на неполную ТСМ путём формирования *de novo* внутриспинальных связей, которые обходят область повреждения и восстанавливают коннекты нейронов верхних кортикоспинальных проекций с поясничным отделом спинного мозга [58, 59]. Критическим событием в этом процессе ремоделирования является формирование новых синаптических контактов в шейном отделе спинного мозга между супраспинальными проекциями, в данном случае — кортикоспинальным трактом задних конечностей и спинальными проекционными интернейронами, в частности длинными нисходящими проприоспинальными нейронами. Данные интернейроны не проявляют ни регенераторного, ни апоптотического ответа, имеют пониженную экспрессию генов нескольких факторов роста и их рецепторов и могут выживать в течение как минимум 2 мес после аксотомии [60, 61]. Функциональное значение таких внутриспинальных обходных путей хорошо известно [56, 62], и механизмы, регулирующие их образование, представляют большой научный и биомедицинский интерес.

РЕТРОГРАДНЫЙ ПЕРЕНОС ТРАНСГЕНОВ ИЗ СПИННОГО МОЗГА В СУПРАСПИНАЛЬНЫЕ СТРУКТУРЫ

При повреждении ЦНС нарушения выявляются в областях, удалённых от области повреждения. Трансдуцированные спинальные нейроны потенциально могут

передавать вирусный вектор нейронам вышележащих отделов ЦНС путём моносинаптического или полисинаптического переноса (см. рис. 1). Головной мозг сообщается со спинным мозгом многочисленными аксонами, которые принадлежат нейронам отдельных ядер и обеспечивают контроль и координацию нисходящих команд. Эта сложность организации нервных связей представляет собой серьёзную проблему для интерпретации результатов терапии ТСМ, нацеленной на супраспинальные структуры.

Показано, что инъекция AAV2–Retro в шейный отдел спинного мозга мышей приводит к высокоэффективной трансдукции супраспинальных нейронов по всему стволу мозга, в среднем мозге и коре головного мозга [63]. При этом некоторые популяции супраспинальных нейронов, включая кортикоспинальные и руброспинальные, были трансдуцированы с эффективностью 90%, с устойчивой экспрессией трансгена в течение 3 сут после инъекции. Напротив, проприоспинальные нейроны и нейроны ядер шва демонстрируют гораздо более низкие показатели ретроградной трансдукции. Хемогенетическое выключение супраспинальных нейронов с помощью ретроградных векторов приводило к полному и обратимому параличу передних конечностей, иллюстрируя эффективную модуляцию супраспинальной функции [63]. Следовательно, высокая эффективность ретроградной трансдукции супраспинальных структур при вирус-опосредованном переносе трансгенов из спинного мозга позволяет рассматривать ретроградные векторы как клинически перспективные при ТСМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вирус-опосредованный нейрон-специфический ретроградный перенос трансгенов имеет два важных приложения. Одно из них касается максимально полного описания сложной структуры коннектомов в центральной нервной системе, а другое предназначено для целевой доставки терапевтических генов в нейроны конкретной популяции. В отличие от других способов, внутримышечная инъекция вирусных векторов позволяет доставлять трансгены в целевые нейроны, что особенно актуально при травме спинного мозга и заболеваниях мотонейронов. Полученные недавно сведения о повышении эффективности ретроградной трансдукции в результате разработки и применения псевдовирусов с улучшенными капсидами и новых промоторов открывают дополнительные возможности для применения ретроградного переноса трансгенов в центральной нервной системе и могут возобновить интерес к использованию нейрон-специфической ретроградной доставки терапевтических генов. При других способах введения материала для вирусной трансдукции остро встаёт проблема одновременного и нежелательного/цитотоксического инфицирования нецелевых клеток. С этой целью для их защиты (детаргетинга) разрабатываются

различные способы решения проблемы, которые становятся всё более актуальными. При травме спинного мозга кажется перспективным ещё одно направление в использовании нейрон-специфического ретроградного переноса, а именно вирус-опосредованная доставка оптогенетических и хемогенетических конструкций для контроля посттравматических сдвигов в нейронных сетях и оценки эффективности методов их коррекции. Всё это сегодня привлекает внимание фармакологических и биотехнологических компаний для продвижения генной терапии в клинику, что безусловно будет способствовать прогрессу в области вирусной трансдукции.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-75-10041 (<https://rscf.ru/project/23-75-10041/>).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все

авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Ю.А. Челышев — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, написание текста; Я.О. Мухамедшина — сбор и анализ литературных источников, редактирование статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. The work was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 23-75-10041 (<https://rscf.ru/project/23-75-10041/>).

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication). Yu.A. Chelyshev — literature review, collection and analysis of literary sources, writing the text; Ya.O. Mukhamedshina — collection and analysis of literary sources, editing the article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Romero M.I., Rangappa N., Li L., et al. Extensive sprouting of sensory afferents and hyperalgesia induced by conditional expression of nerve growth factor in the adult spinal cord // *J Neurosci*. 2000. Vol. 20, N 12. P. 4435–4445. Corrected and republished from: *J Neurosci* 2000. Vol. 20. P. 1b. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-12-04435.2000
- Nakajima H., Uchida K., Kobayashi S., et al. Targeted retrograde gene delivery into the injured cervical spinal cord using recombinant adenovirus vector // *Neurosci Lett*. 2005. Vol. 385, N 1. P. 30–35. doi: 10.1016/j.neulet.2005.05.012
- Shaari C.M., Sanders I. Quantifying how location and dose of botulinum toxin injections affect muscle paralysis // *Muscle Nerve*. 1993. Vol. 16, N 9. P. 964–969. doi: 10.1002/mus.880160913
- Chin T.Y.P., Nattrass G.R., Selber P., Graham H.K. Accuracy of intramuscular injection of botulinum toxin A in juvenile cerebral palsy: a comparison between manual needle placement and placement guided by electrical stimulation // *J Pediatr Orthop*. 2005. Vol. 25, N 3. P. 286–291. doi: 10.1097/01.bpo.0000150819.72608.86
- Tosolini A.P., Mohan R., Morris R. Targeting the full length of the motor end plate regions in the mouse forelimb increases the uptake of Fluoro-Gold into corresponding spinal cord motor neurons // *Front Neurol*. 2013. Vol. 4. P. 58. doi: 10.3389/fneur.2013.00058
- Tosolini A.P., Morris R. Viral-mediated gene therapy for spinal cord injury (SCI) from a translational neuroanatomical perspective // *Neural Regen Res*. 2016. Vol. 11, N 5. P. 743–744. doi: 10.4103/1673-5374.182698
- Tosolini A.P., Morris R. Spatial characterization of the motor neuron columns supplying the rat forelimb // *Neuroscience*. 2012. Vol. 200. P. 19–30. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.10.054
- Mohan R., Tosolini A.P., Morris R. Targeting the motor end plates in the mouse hindlimb gives access to a greater number of spinal cord motor neurons: an approach to maximize retrograde transport // *Neuroscience*. 2014. Vol. 274. P. 318–330. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.05.045
- Mohan R., Tosolini A.P., Morris R. Intramuscular injections along the motor end plates: a minimally invasive approach to shuttle tracers directly into motor neurons // *J Vis Exp*. 2015. Vol. 101. P. 52846. doi: 10.3791/52846
- Yin X., Yu T., Chen B., et al. Spatial distribution of motor endplates and its adaptive change in skeletal muscle // *Theranostics*. 2019. Vol. 9, N 3. P. 734–746. doi: 10.7150/thno.28729
- Xu J., Xuan A., Liu Z., et al. An approach to maximize retrograde transport based on the spatial distribution of motor endplates in mouse hindlimb muscles // *Front Cell Neurosci*. 2021. Vol. 15. P. 707982. doi: 10.3389/fncel.2021.707982
- Martinov V.N., Sefland I., Walaas S.I., et al. Targeting functional subtypes of spinal motoneurons and skeletal muscle fibers in vivo by intramuscular injection of adenoviral and adeno-associated viral vectors // *Anat Embryol (Berl)*. 2002. Vol. 205, N 3. P. 215–221. doi: 10.1007/s00429-002-0233-1
- Chen Z., Fan G., Li A., et al. rAAV2-Retro enables extensive and high-efficient transduction of lower motor neurons following intramuscular injection // *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2019. Vol. 17. P. 21–33. doi: 10.1016/j.omtm.2019.11.006
- Towne C., Schneider B.L., Kieran D., et al. Efficient transduction of non-human primate motor neurons after intramuscular delivery of recombinant AAV serotype 6 // *Gene Ther*. 2010. Vol. 17, N 1. P. 141–146. doi: 10.1038/gt.2009.119
- Rose J.K., Doolittle R.F., Anilionis A., et al. Homology between the glycoproteins of vesicular stomatitis virus and rabies virus // *J Virol*. 1982. Vol. 43, N 1. P. 361–364. doi: 10.1128/JVI.43.1.361-364.1982

16. Desmaris N., Bosch A., Salaün C., et al. Production and neurotropism of lentivirus vectors pseudotyped with lyssavirus envelope glycoproteins // *Mol Ther.* 2001. Vol. 4, N 2. P. 149–156. doi: 10.1006/mthe.2001.0431
17. Hirano M., Kato S., Kobayashi K., et al. Highly efficient retrograde gene transfer into motor neurons by a lentiviral vector pseudotyped with fusion glycoprotein // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, N 9. P. 75896. doi: 10.1371/journal.pone.0075896
18. Humbel M., Ramosaj M., Zimmer V., et al. Maximizing lentiviral vector gene transfer in the CNS // *Gene Ther.* 2021. Vol. 28(1-2). P. 75–88. Corrected and republished from: *Gene Ther.* 2022. Vol. 29. P. 312. doi: 10.1038/s41434-020-0172-6
19. Reardon T.R., Murray A.J., Turi G.F., et al. Rabies virus CVS-N2cΔG strain enhances retrograde synaptic transfer and neuronal viability // *Neuron.* 2016. Vol. 89, N 4. P. 711–724. doi: 10.1016/j.neuron.2016.01.004
20. Sydney-Smith J.D., Spejo A.B., Warren P.M., Moon L.D.F. Peripherally delivered adeno-associated viral vectors for spinal cord injury repair // *Exp Neurol.* 2022. Vol. 348. P. 113945. doi: 10.1016/j.expneurol.2021.113945
21. Nonnenmacher M., Wang W., Child M.A., et al. Rapid evolution of blood-brain-barrier-penetrating AAV capsids by RNA-driven biopanning // *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2020. Vol. 20. P. 366–378. doi: 10.1016/j.omtm.2020.12.006
22. Tervo D.G.R., Hwang B.Y., Viswanathan S., et al. A designer AAV variant permits efficient retrograde access to projection neurons // *Neuron.* 2016. Vol. 92, N 2. P. 372–382. doi: 10.1016/j.neuron.2016.09.021
23. Deverman B.E., Pravdo P.L., Simpson B.P., et al. Cre-dependent selection yields AAV variants for widespread gene transfer to the adult brain // *Nat Biotechnol.* 2016. Vol. 34, N 2. P. 204–209. doi: 10.1038/nbt.3440
24. Davidsson M., Wang G., Aldrin-Kirk P., et al. A systematic capsid evolution approach performed in vivo for the design of AAV vectors with tailored properties and tropism // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019. Vol. 116, N 52. P. 27053–27062. doi: 10.1073/pnas.1910061116
25. Chan K.Y., Jang M.J., Yoo B.B., et al. Engineered AAVs for efficient noninvasive gene delivery to the central and peripheral nervous systems // *Nat Neurosci.* 2017. Vol. 20, N 8. P. 1172–1179. doi: 10.1038/nn.4593
26. Hordeaux J., Wang Q., Katz N., et al. The neurotropic properties of AAV-PHP.B are limited to C57BL/6J mice // *Mol Ther.* 2018. Vol. 26, N 3. P. 664–668. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.01.018
27. Matsuzaki Y., Konno A., Mochizuki R., et al. Intravenous administration of the adeno-associated virus-PHP.B capsid fails to upregulate transduction efficiency in the marmoset brain // *Neurosci Lett.* 2018. Vol. 665. P. 182–188. doi: 10.1016/j.neulet.2017.11.049
28. Mathiesen S.N., Lock J.L., Schoderboeck L., et al. CNS transduction benefits of AAV-PHP.eB over AAV9 are dependent on administration route and mouse strain // *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2020. Vol. 19. P. 447–458. doi: 10.1016/j.omtm.2020.10.011
29. Chen B., Li Y., Yu B., et al. Reactivation of dormant relay pathways in injured spinal cord by KCC2 manipulations // *Cell.* 2018. Vol. 174, N 6. P. 1599. doi: 10.1016/j.cell.2018.08.050
30. Rincon M.Y., De Vin F., Duqué S.I., et al. Widespread transduction of astrocytes and neurons in the mouse central nervous system after systemic delivery of a self-complementary AAV-PHP.B vector // *Gene Ther.* 2018. Vol. 25, N 2. P. 83–92. doi: 10.1038/s41434-018-0005-z
31. Radhiyanti P.T., Konno A., Matsuzaki Y., Hirai H. Comparative study of neuron-specific promoters in mouse brain transduced by intravenously administered AAV-PHP.eB // *Neurosci Lett.* 2021. Vol. 756. P. 135956. doi: 10.1016/j.neulet.2021.135956
32. Han Z., Luo N., Ma W., et al. AAV11 enables efficient retrograde targeting of projection neurons and enhances astrocyte-directed transduction // *Nat Commun.* 2023. Vol. 14, N 1. P. 3792. doi: 10.1038/s41467-023-39554-7
33. Graybuck L.T., Daigle T.L., Sedeño-Cortés A.E., et al. Enhancer viruses for combinatorial cell-subclass-specific labeling // *Neuron.* 2021. Vol. 109, N 9. P. 1449–1464. doi: 10.1016/j.neuron.2021.03.011
34. Mich J.K., Graybuck L.T., Hess E.E., et al. Functional enhancer elements drive subclass-selective expression from mouse to primate neocortex // *Cell Rep.* 2021. Vol. 34, N 13. P. 108754. doi: 10.1016/j.celrep.2021.108754
35. O'Carroll S.J., Cook W.H., Young D. AAV targeting of glial cell types in the central and peripheral nervous system and relevance to human gene therapy // *Front Mol Neurosci.* 2021. Vol. 13. P. 618020. doi: 10.3389/fnmol.2020.618020
36. Baumgartner B.J., Shine H.D. Neuroprotection of spinal motoneurons following targeted transduction with an adenoviral vector carrying the gene for glial cell line-derived neurotrophic factor // *Exp Neurol.* 1998. Vol. 153, N 1. P. 102–112. doi: 10.1006/exnr.1998.6878
37. Zhou L., Baumgartner B.J., Hill-Felberg S.J., et al. Neurotrophin-3 expressed in situ induces axonal plasticity in the adult injured spinal cord // *J Neurosci.* 2003. Vol. 23, N 4. P. 1424–1431. doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-04-01424.2003
38. Zhou L., Shine H.D. Neurotrophic factors expressed in both cortex and spinal cord induce axonal plasticity after spinal cord injury // *J Neurosci Res.* 2003. Vol. 74, N 2. P. 221–226. doi: 10.1002/jnr.10718
39. Nakajima H., Uchida K., Kobayashi S., et al. Rescue of rat anterior horn neurons after spinal cord injury by retrograde transfection of adenovirus vector carrying brain-derived neurotrophic factor gene // *J Neurotrauma.* 2007. Vol. 24, N 4. P. 703–712. doi: 10.1089/neu.2006.0004
40. Uchida K., Nakajima H., Inukai T., et al. Adenovirus-mediated retrograde transfer of neurotrophin-3 gene enhances survival of anterior horn neurons of twy/twy mice with chronic mechanical compression of the spinal cord // *J Neurosci Res.* 2008. Vol. 86, N 8. P. 1789–1800. doi: 10.1002/jnr.21627
41. Fortun J., Puzis R., Pearce D.D., et al. Muscle injection of AAV-NT3 promotes anatomical reorganization of CST axons and improves behavioral outcome following SCI // *J Neurotrauma.* 2009. Vol. 26, N 7. P. 941–953. doi: 10.1089/neu.2008.0807
42. Petruska J.C., Kitay B., Boyce V.S., et al. Intramuscular AAV delivery of NT-3 alters synaptic transmission to motoneurons in adult rats // *Eur J Neurosci.* 2010. Vol. 32, N 6. P. 997–1005. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07392.x
43. Uchida K., Nakajima H., Hirai T., et al. The retrograde delivery of adenovirus vector carrying the gene for brain-derived neurotrophic factor protects neurons and oligodendrocytes from apoptosis in the chronically compressed spinal cord of twy/twy mice // *Spine (Phila Pa 1976).* 2012. Vol. 37, N 26. P. 2125–2135. doi: 10.1097/BRS.0b013e3182600ef7
44. Kathe C., Hutson T.H., McMahon S.B., Moon L.D. Intramuscular neurotrophin-3 normalizes low threshold spinal reflexes, reduces spasms and improves mobility after bilateral corticospinal tract injury in rats // *Elife.* 2016. Vol. 5. P. 18146. doi: 10.7554/eLife.18146

45. Chang Y.X., Zhao Y., Pan S., et al. Intramuscular injection of adenoassociated virus encoding human neurotrophic factor 3 and exercise intervention contribute to reduce spasms after spinal cord injury // *Neural Plast.* 2019. Vol. 2019. P. 3017678. doi: 10.1155/2019/3017678
46. Stewart A.N., Kumari R., Bailey W.M., et al. PTEN knockout using retrogradely transported AAVs transiently restores locomotor abilities in both acute and chronic spinal cord injury // *Exp Neurol.* 2023. Vol. 368, P. 114502. doi: 10.1016/j.expneurol.2023.114502
47. Liabeuf S., Stuhl-Gourmand L., Gackière F., et al. Prochlorperazine increases KCC2 function and reduces spasticity after spinal cord injury // *J Neurotrauma.* 2017. Vol. 34, N 24. P. 3397–3406. doi: 10.1089/neu.2017.5152
48. Filli L., Schwab M.E. Structural and functional reorganization of propriospinal connections promotes functional recovery after spinal cord injury // *Neural Regen Res.* 2015. Vol. 10, N 4. P. 509–513. doi: 10.4103/1673-5374.155425
49. Swieck K., Conta-Steencken A., Middleton F.A., et al. Effect of lesion proximity on the regenerative response of long descending propriospinal neurons after spinal transection injury // *BMC Neurosci.* 2019. Vol. 20, N 1. P. 10. doi: 10.1186/s12868-019-0491-y
50. Brommer B., He M., Zhang Z., et al. Improving hindlimb locomotor function by non-invasive AAV-mediated manipulations of propriospinal neurons in mice with complete spinal cord injury // *Nat Commun.* 2021. Vol. 12, N 1. P. 781. doi: 10.1038/s41467-021-20980-4
51. Hayashi M., Hinckley C.A., Driscoll S.P., et al. Graded arrays of spinal and supraspinal V2a interneuron subtypes underlie forelimb and hindlimb motor control // *Neuron.* 2018. Vol. 97, N 4. P. 869–884. doi: 10.1016/j.neuron.2018.01.023
52. Zholudeva L.V., Karliner J.S., Dougherty K.J., et al. Anatomical recruitment of spinal V2a interneurons into phrenic motor circuitry after high cervical spinal cord injury // *J Neurotrauma.* 2017. Vol. 34, N 21. P. 3058–3065. doi: 10.1089/neu.2017.5045
53. Li W.Y., Deng L.X., Zhai F.G., et al. Chx10⁺V2a interneurons in spinal motor regulation and spinal cord injury // *Neural Regen Res.* 2023. Vol. 18, N 5. P. 933–939. doi: 10.4103/1673-5374.355746
54. Laliberte A.M., Goltash S., Lalonde N.R., et al. Propriospinal neurons: essential elements of locomotor control in the intact and possibly the injured spinal cord // *Front Cell Neurosci.* 2019. Vol. 13. P. 512. doi: 10.3389/fncel.2019.00512
55. Han Q., Ordaz J.D., Liu N.K., et al. Descending motor circuitry required for NT-3 mediated locomotor recovery after spinal cord injury in mice // *Nat Commun.* 2019. Vol. 10, N 1. P. 5815. doi: 10.1038/s41467-019-13854-3
56. Bradley P.M., Denecke C.K., Aljovic A., et al. Corticospinal circuit remodeling after central nervous system injury is dependent on neuronal activity // *J Exp Med.* 2019. Vol. 216, N 11. P. 2503–2514. doi: 10.1084/jem.20181406
57. Engmann A.K., Bizzozzero F., Schneider M.P., et al. The gigantocellular reticular nucleus plays a significant role in locomotor recovery after incomplete spinal cord injury // *J Neurosci.* 2020. Vol. 40, N 43. P. 8292–8305. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0474-20.2020
58. Bareyre F.M., Kerschensteiner M., Raineteau O., et al. The injured spinal cord spontaneously forms a new intraspinal circuit in adult rats // *Nat Neurosci.* 2004. Vol. 7, N 3. P. 269–277. doi: 10.1038/nn1195
59. Lang C., Guo X., Kerschensteiner M., Bareyre F.M. Single collateral reconstructions reveal distinct phases of corticospinal remodeling after spinal cord injury // *PLoS One.* 2012. Vol. 7, N 1. P. e30461. doi: 10.1371/journal.pone.0030461
60. Conta Steencken A.C., Stelzner D.J. Loss of propriospinal neurons after spinal contusion injury as assessed by retrograde labeling // *Neuroscience.* 2010. Vol. 170, N 3. P. 971–980. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.06.064
61. Siebert J.R., Middleton F.A., Stelzner D.J. Long descending cervical propriospinal neurons differ from thoracic propriospinal neurons in response to low thoracic spinal injury // *BMC Neurosci.* 2010. Vol. 11. P. 148. doi: 10.1186/1471-2202-11-148
62. Loy K., Schmalz A., Hoche T., et al. Enhanced voluntary exercise improves functional recovery following spinal cord injury by impacting the local neuroglial injury response and supporting the rewiring of supraspinal circuits // *J Neurotrauma.* 2018. Vol. 35, N 24. P. 2904–2915. doi: 10.1089/neu.2017.5544
63. Wang Y., Wu W., Wu X., et al. Remodeling of lumbar motor circuitry remote to a thoracic spinal cord injury promotes locomotor recovery // *Elife.* 2018. Vol. 7. P. e39016. doi: 10.7554/eLife.39016

REFERENCES

1. Romero MI, Rangappa N, Li L, et al. Extensive sprouting of sensory afferents and hyperalgesia induced by conditional expression of nerve growth factor in the adult spinal cord. *J Neurosci.* 2000;20(12):4435–4445. Corrected and republished from: *J Neurosci.* 2000;20(22):1b. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-12-04435.2000
2. Nakajima H, Uchida K, Kobayashi S, et al. Targeted retrograde gene delivery into the injured cervical spinal cord using recombinant adenovirus vector. *Neurosci Lett.* 2005;385(1):30–35. doi: 10.1016/j.neulet.2005.05.012
3. Shaari CM, Sanders I. Quantifying how location and dose of botulinum toxin injections affect muscle paralysis. *Muscle Nerve.* 1993;16(9):964–969. doi: 10.1002/mus.880160913
4. Chin TYP, Nattrass GR, Selber P, Graham HK. Accuracy of intramuscular injection of botulinum toxin A in juvenile cerebral palsy: a comparison between manual needle placement and placement guided by electrical stimulation. *J Pediatr Orthop.* 2005;25(3):286–291. doi: 10.1097/01.bpo.0000150819.72608.86
5. Tosolini AP, Mohan R, Morris R. Targeting the full length of the motor end plate regions in the mouse forelimb increases the uptake of Fluoro-Gold into corresponding spinal cord motor neurons. *Front Neurol.* 2013;4:58. doi: 10.3389/fneur.2013.00058
6. Tosolini AP, Morris R. Viral-mediated gene therapy for spinal cord injury (SCI) from a translational neuroanatomical perspective. *Neural Regen Res.* 2016;11(5):743–744. doi: 10.4103/1673-5374.182698
7. Tosolini AP, Morris R. Spatial characterization of the motor neuron columns supplying the rat forelimb. *Neuroscience.* 2012;200:19–30. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.10.054
8. Mohan R, Tosolini AP, Morris R. Targeting the motor end plates in the mouse hindlimb gives access to a greater number of spinal cord motor neurons: an approach to maximize retrograde transport. *Neuroscience.* 2014;274:318–330. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.05.045
9. Mohan R, Tosolini AP, Morris R. Intramuscular injections along the motor end plates: a minimally invasive approach to shuttle

- tracers directly into motor neurons. *J Vis Exp*. 2015;(101):e52846. doi: 10.3791/52846
10. Yin X, Yu T, Chen B, et al. Spatial distribution of motor endplates and its adaptive change in skeletal muscle. *Theranostics*. 2019;9(3):734–746. doi: 10.7150/thno.28729
11. Xu J, Xuan A, Liu Z, et al. An Approach to maximize retrograde transport based on the spatial distribution of motor endplates in mouse hindlimb muscles. *Front Cell Neurosci*. 2021;15:707982. doi: 10.3389/fncel.2021.707982
12. Martinov VN, Sefland I, Walaas IS, et al. Targeting functional subtypes of spinal motoneurons and skeletal muscle fibers in vivo by intramuscular injection of adenoviral and adeno-associated viral vectors. *Anat Embryol (Berl)*. 2002;205(3):215–221. doi: 10.1007/s00429-002-0233-1
13. Chen Z, Fan G, Li A, et al. rAAV2-Retro enables extensive and high-efficient transduction of lower motor neurons following intramuscular injection. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2020;17:21–33. doi: 10.1016/j.omtm.2019.11.006
14. Towne C, Schneider BL, Kieran D, et al. Efficient transduction of non-human primate motor neurons after intramuscular delivery of recombinant AAV serotype 6. *Gene Ther*. 2010;17(1):141–146. doi: 10.1038/gt.2009.119
15. Rose JK, Doolittle RF, Anilionis A, et al. Homology between the glycoproteins of vesicular stomatitis virus and rabies virus. *J Virol*. 1982;43(1):361–364. doi: 10.1128/JVI.43.1.361–364.1982
16. Desmaris N, Bosch A, Salaün C, et al. Production and neurotropism of lentivirus vectors pseudotyped with lyssavirus envelope glycoproteins. *Mol Ther*. 2001;4(2):149–156. doi: 10.1006/mthe.2001.0431
17. Hirano M, Kato S, Kobayashi K, et al. Highly efficient retrograde gene transfer into motor neurons by a lentiviral vector pseudotyped with fusion glycoprotein. *PLoS One*. 2013;8(9):e75896. doi: 10.1371/journal.pone.0075896
18. Humbel M, Ramosaj M, Zimmer V, et al. Maximizing lentiviral vector gene transfer in the CNS. *Gene Ther*. 2021;28(1–2):75–88. Corrected and republished from: *Gene Ther*. 2022;29(5):312. doi: 10.1038/s41434-020-0172-6
19. Reardon TR, Murray AJ, Turi GF, et al. Rabies virus CVS-N2cΔG strain enhances retrograde synaptic transfer and neuronal viability. *Neuron*. 2016;89(4):711–724. doi: 10.1016/j.neuron.2016.01.004
20. Sydney-Smith JD, Spejo AB, Warren PM, Moon LDF. Peripherally delivered adeno-associated viral vectors for spinal cord injury repair. *Exp Neurol*. 2022;348:113945. doi: 10.1016/j.expneurol.2021.113945
21. Nonnenmacher M, Wang W, Child MA, et al. Rapid evolution of blood-brain-barrier-penetrating AAV capsids by RNA-driven biopanning. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2020;20:366–378. doi: 10.1016/j.omtm.2020.12.006
22. Tervo DGR, Hwang BY, Viswanathan S, et al. A Designer AAV variant permits efficient retrograde access to projection neurons. *Neuron*. 2016;92(2):372–382. doi: 10.1016/j.neuron.2016.09.021
23. Deverman BE, Pravdo PL, Simpson BP, et al. Cre-dependent selection yields AAV variants for widespread gene transfer to the adult brain. *Nat Biotechnol*. 2016;34(2):204–209. doi: 10.1038/nbt.3440
24. Davidsson M, Wang G, Aldrin-Kirk P, et al. A systematic capsid evolution approach performed in vivo for the design of AAV vectors with tailored properties and tropism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116(52):27053–27062. doi: 10.1073/pnas.1910061116
25. Chan KY, Jang MJ, Yoo BB, et al. Engineered AAVs for efficient noninvasive gene delivery to the central and peripheral nervous systems. *Nat Neurosci*. 2017;20(8):1172–1179. doi: 10.1038/nn.4593
26. Hordeaux J, Wang Q, Katz N, et al. The neurotropic properties of AAV-PHP.B are limited to C57BL/6J mice. *Mol Ther*. 2018;26(3):664–668. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.01.018
27. Matsuzaki Y, Konno A, Mochizuki R, et al. Intravenous administration of the adeno-associated virus-PHP.B capsid fails to upregulate transduction efficiency in the marmoset brain. *Neurosci Lett*. 2018;665:182–188. doi: 10.1016/j.neulet.2017.11.049
28. Mathiesen SN, Lock JL, Schoderboeck L, et al. CNS transduction benefits of AAV-PHP.eB over AAV9 are dependent on administration route and mouse strain. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2020;19:447–458. doi: 10.1016/j.omtm.2020.10.011
29. Chen B, Li Y, Yu B, et al. Reactivation of dormant relay pathways in injured spinal cord by KCC2 manipulations. *Cell*. 2018;174(6):1599. doi: 10.1016/j.cell.2018.08.050
30. Rincon MY, De Vin F, Duqué SI, et al. Widespread transduction of astrocytes and neurons in the mouse central nervous system after systemic delivery of a self-complementary AAV-PHP.B vector. *Gene Ther*. 2018;25(2):83–92. doi: 10.1038/s41434-018-0005-z
31. Radhiyanti PT, Konno A, Matsuzaki Y, Hirai H. Comparative study of neuron-specific promoters in mouse brain transduced by intravenously administered AAV-PHP.eB. *Neurosci Lett*. 2021;756:135956. doi: 10.1016/j.neulet.2021.135956
32. Han Z, Luo N, Ma W, et al. AAV11 enables efficient retrograde targeting of projection neurons and enhances astrocyte-directed transduction. *Nat Commun*. 2023;14(1):3792. doi: 10.1038/s41467-023-39554-7
33. Graybuck LT, Daigle TL, Sedeño-Cortés AE, et al. Enhancer viruses for combinatorial cell-subclass-specific labeling. *Neuron*. 2021;109(9):1449–1464.e13. doi: 10.1016/j.neuron.2021.03.011
34. Mich JK, Graybuck LT, Hess EE, et al. Functional enhancer elements drive subclass-selective expression from mouse to primate neocortex. *Cell Rep*. 2021;34(13):108754. doi: 10.1016/j.celrep.2021.108754
35. O'Carroll SJ, Cook WH, Young D. AAV targeting of glial cell types in the central and peripheral nervous system and relevance to human gene therapy. *Front Mol Neurosci*. 2021;13:618020. doi: 10.3389/fnmol.2020.618020
36. Baumgartner BJ, Shine HD. Neuroprotection of spinal motoneurons following targeted transduction with an adenoviral vector carrying the gene for glial cell line-derived neurotrophic factor. *Exp Neurol*. 1998;153(1):102–112. doi: 10.1006/exnr.1998.6878
37. Zhou L, Baumgartner BJ, Hill-Felberg SJ, et al. Neurotrophin-3 expressed in situ induces axonal plasticity in the adult injured spinal cord. *J Neurosci*. 2003;23(4):1424–1431. doi: 10.1523/jneurosci.23-04-01424.2003
38. Zhou L, Shine HD. Neurotrophic factors expressed in both cortex and spinal cord induce axonal plasticity after spinal cord injury. *J Neurosci Res*. 2003;74(2):221–226. doi: 10.1002/jnr.10718
39. Nakajima H, Uchida K, Kobayashi S, et al. Rescue of rat anterior horn neurons after spinal cord injury by retrograde transfection of adenovirus vector carrying brain-derived neurotrophic factor gene. *J Neurotrauma*. 2007;24(4):703–712. doi: 10.1089/neu.2006.0004
40. Uchida K, Nakajima H, Inukai T, et al. Adenovirus-mediated retrograde transfer of neurotrophin-3 gene enhances survival of anterior horn neurons of twy/twy mice with chronic mechanical

- compression of the spinal cord. *J Neurosci Res.* 2008;86(8):1789–1800. doi: 10.1002/jnr.21627
41. Fortun J, Puzis R, Pearse DD, et al. Muscle injection of AAV-NT3 promotes anatomical reorganization of CST axons and improves behavioral outcome following SCI. *J Neurotrauma.* 2009;26(7):941–953. doi: 10.1089/neu.2008.0807
42. Petruska JC, Kitay B, Boyce VS, et al. Intramuscular AAV delivery of NT-3 alters synaptic transmission to motoneurons in adult rats. *Eur J Neurosci.* 2010;32(6):997–1005. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07392.x
43. Uchida K, Nakajima H, Hirai T, et al. The retrograde delivery of adenovirus vector carrying the gene for brain-derived neurotrophic factor protects neurons and oligodendrocytes from apoptosis in the chronically compressed spinal cord of *twy/twy* mice. *Spine (Phila Pa 1976).* 2012;37(26):2125–2135. doi: 10.1097/BRS.0b013e3182600ef7
44. Kathe C, Hutson TH, McMahon SB, Moon LDF. Intramuscular neurotrophin-3 normalizes low threshold spinal reflexes, reduces spasms and improves mobility after bilateral corticospinal tract injury in rats. *Elife.* 2016;5:e18146. doi: 10.7554/eLife.18146
45. Chang YX, Zhao Y, Pan S, et al. Intramuscular injection of adenoassociated virus encoding human neurotrophic factor 3 and exercise intervention contribute to reduce spasms after spinal cord injury. *Neural Plast.* 2019;2019. doi: 10.1155/2019/3017678
46. Stewart AN, Kumari R, Bailey WM, et al. PTEN knockout using retrogradely transported AAVs transiently restores locomotor abilities in both acute and chronic spinal cord injury. *Exp Neurol.* 2023;368:114502. doi: 10.1016/j.expneurol.2023.114502
47. Liabeuf S, Stuhl-Gourmand L, Gackière F, et al. Prochlorperazine increases KCC2 function and reduces spasticity after spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 2017;34(24):3397–3406. doi: 10.1089/neu.2017.5152
48. Filli L, Schwab ME. Structural and functional reorganization of propriospinal connections promotes functional recovery after spinal cord injury. *Neural Regen Res.* 2015;10(4):509–513. doi: 10.4103/1673-5374.155425
49. Swieck K, Conta-Steencken A, Middleton FA, et al. Effect of lesion proximity on the regenerative response of long descending propriospinal neurons after spinal transection injury. *BMC Neurosci.* 2019;20(1):10. doi: 10.1186/s12868-019-0491-y
50. Brommer B, He M, Zhang Z, et al. Improving hindlimb locomotor function by Non-invasive AAV-mediated manipulations of propriospinal neurons in mice with complete spinal cord injury. *Nat Commun.* 2021;12(1):781. doi: 10.1038/s41467-021-20980-4
51. Hayashi M, Hinckley CA, Driscoll SP, et al. Graded arrays of spinal and supraspinal V2a interneuron subtypes underlie forelimb and hindlimb motor control. *Neuron.* 2018;97(4):869–884.e5. doi: 10.1016/j.neuron.2018.01.023
52. Zholudeva LV, Karliner JS, Dougherty KJ, Lane MA. Anatomical recruitment of spinal V2a interneurons into phrenic motor circuitry after high cervical spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 2017;34(21):3058–3065. doi: 10.1089/neu.2017.5045
53. Li WY, Deng LX, Zhai FG, et al. Chx10+V2a interneurons in spinal motor regulation and spinal cord injury. *Neural Regen Res.* 2023;18(5):933–939. doi: 10.4103/1673-5374.355746
54. Laliberte AM, Goltash S, Lalonde NR, Bui TV. Propriospinal neurons: essential elements of locomotor control in the intact and possibly the injured spinal cord. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:512. doi: 10.3389/fncel.2019.00512
55. Han Q, Ordaz JD, Liu NK, et al. Descending motor circuitry required for NT-3 mediated locomotor recovery after spinal cord injury in mice. *Nat Commun.* 2019;10(1):5815. doi: 10.1038/s41467-019-13854-3
56. Bradley PM, Denecke CK, Aljovic A, et al. Corticospinal circuit remodeling after central nervous system injury is dependent on neuronal activity. *J Exp Med.* 2019;216(11):2503–2514. doi: 10.1084/jem.20181406
57. Engmann AK, Bizzozzero F, Schneider MP, et al. The gigantocellular reticular nucleus plays a significant role in locomotor recovery after incomplete spinal cord injury. *J Neurosci.* 2020;40(43):8292–8305. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0474-20.2020
58. Bareyre FM, Kerschensteiner M, Raineteau O, et al. The injured spinal cord spontaneously forms a new intraspinal circuit in adult rats. *Nat Neurosci.* 2004;7(3):269–277. doi: 10.1038/nn1195
59. Lang C, Guo X, Kerschensteiner M, Bareyre FM. Single collateral reconstructions reveal distinct phases of corticospinal remodeling after spinal cord injury. *PLoS One.* 2012;7(1):e30461. doi: 10.1371/journal.pone.0030461
60. Conta Steencken AC, Stelzner DJ. Loss of propriospinal neurons after spinal contusion injury as assessed by retrograde labeling. *Neuroscience.* 2010;170(3):971–980. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.06.064
61. Siebert JR, Middleton FA, Stelzner DJ. Long descending cervical propriospinal neurons differ from thoracic propriospinal neurons in response to low thoracic spinal injury. *BMC Neurosci.* 2010;11:148. doi: 10.1186/1471-2202-11-148
62. Loy K, Schmalz A, Hoche T, et al. Enhanced Voluntary exercise improves functional recovery following spinal cord injury by impacting the local neuroglial injury response and supporting the rewiring of supraspinal circuits. *J Neurotrauma.* 2018;35(24):2904–2915. doi: 10.1089/neu.2017.5544
63. Wang Y, Wu W, Wu X, et al. Remodeling of lumbar motor circuitry remote to a thoracic spinal cord injury promotes locomotor recovery. *Elife.* 2018;7:e39016. doi: 10.7554/eLife.39016

ОБ АВТОРАХ

* **Мухамедшина Яна Олеговна**, д-р мед. наук, доцент;
адрес: Россия, 420021, Казань, ул. Парижской коммуны, д. 9;
ORCID: 0000-0002-9435-340X;
eLibrary SPIN: 8569-9002;
e-mail: yana.k-z-n@mail.ru

Челышев Юрий Александрович, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0002-6306-5843;
eLibrary SPIN: 1570-0209;
e-mail: chelyshev-kzn@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

* **Yana O. Mukhamedshina**, MD, Dr. Sci. (Medicine), Associate Professor;
address: 9 Paris commune street, 420021 Kazan, Russia;
ORCID: 0000-0002-9435-340X;
eLibrary SPIN: 8569-9002;
e-mail: yana.k-z-n@mail.ru

Yuri A. Chelyshev, MD, Cand. Sci. (Medicine), Professor;
ORCID: 0000-0002-6306-5843;
eLibrary SPIN: 1570-0209;
e-mail: chelyshev-kzn@yandex.ru