

Anatomical and functional reorganization of motor tracts in the injured mammalian CNS

Doctoral Thesis

Author(s):

Raineteau, Olivier

Publication date:

2001

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004137400>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

Diss. ETH N° 13935

Anatomical and functional reorganization of motor tracts in the injured mammalian CNS

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

For the degree of Doctor of
Natural Sciences

Presented by

Olivier RAINETEAU

Biologist
DEA, ULP Strasbourg
Born September 4th 1974
Citizen of Nantes (France)

Accepted on recommendation of

Prof. Dr. Martin E. SCHWAB, examiner
Prof. Dr. Joram FELDON, coexaminer

2001

Résumé

Chez les mammifères adultes, les lésions du système nerveux central (SNC) sont dévastatrices, résultant en des déficits moteurs et/ou sensoriels permanents. La cause de ces effets dramatiques réside dans l'incapacité de ce tissu à se régénérer spontanément. Ce fait a longtemps été accepté comme une fatalité, jusqu'à ce qu'un groupe de chercheurs montre, au début des années 80, que les fibres nerveuses du SNC sont capables de régénérer leurs axones lésés à travers une greffe de nerf périphérique. Cette expérience clef ainsi démontrait que les fibres nerveuses du SNC possèdent la capacité intrinsèque de régénérer après lésion, mais que c'est en fait leur environnement qui ne soutient pas cette repousse. Dix ans plus tard, notre laboratoire a démontré que les oligodendrocytes, les cellules myélinisantes du SNC, présentent des propriétés inhibitrices de la repousse axonale. Un anticorps monoclonal, l'anticorps IN-1, capable de neutraliser ces propriétés inhibitrices a alors été produit. Son infusion dans le système nerveux de rats ayant reçu une lésion de la moelle épinière s'est avérée particulièrement bénéfique. Après deux semaines de traitement, ces animaux sont à nouveau capables de marcher et une analyse anatomique du site de lésion indique que des fibres lésées régénèrent avec succès sur une distance de plusieurs millimètres. L'antigène de cet anticorps, la protéine Nogo-A a depuis été clonée et est actuellement en cours de caractérisation.

S'intégrant dans ce contexte de recherche, le présent travail de thèse vise à définir en détail les capacités de réparation du système moteur après lésion partielle et neutralisation de la protéine inhibitrice Nogo-A à l'aide de l'anticorps IN-1. Dans le **premier chapitre**, je résume et discute les connaissances actuelles concernant les tentatives du système nerveux moteur à se réorganiser après lésion partielle de la moelle épinière. Je montre ensuite dans le **deuxième chapitre**, que le faisceau corticospinal est capable de régénérer dans le tronc cérébral après avoir été lésé. Cette régénération qui n'a lieu que lorsque la protéine Nogo-A est neutralisée à l'aide de l'anticorps IN-1, confirme les observations effectuées ultérieurement au niveau de la moelle épinière. Une analyse anatomique détaillée de ces fibres suggère néanmoins que beaucoup sont incapables de s'orienter convenablement et donc de réinnervier des cibles appropriées. Le **troisième chapitre** montre que, malgré la repousse anarchique de ces fibres, une récupération motrice et sensorielle importante est visible chez ces animaux. La démonstration d'un important

bourgeoisement des fibres du faisceau corticospinal épargnées par la lésion, sur des cibles sous-corticales ainsi que dans la moelle épinière. Ce bourgeoisement offre un nouveau substrat anatomique pouvant expliquer la récupération fonctionnelle observée. Le **quatrième chapitre** s'intéresse au SNC immature, connu pour être capable d'une grande plasticité en cas de lésion. Après transection du faisceau corticospinal chez le rat nouveau-né, une innervation bilatérale des noyaux sous-corticaux apparaît, cette dernière étant identique à celle observée dans le chapitre 3 chez les animaux adultes traités à l'aide de l'anticorps IN-1. Nous montrons à l'aide de techniques électrophysiologiques, que ces projections résultent en la formation d'une nouvelle innervation fonctionnelle. Grâce à cette nouvelle innervation, le cortex moteur qui avait perdu tout contact direct avec la moelle épinière suite à la lésion, peut ainsi à nouveau contrôler la circuiterie spinale d'une façon indirecte. Le **cinquième chapitre** décrit pour la première fois la projection d'un noyau majeur du diencephale, le noyau rouge, sur les motoneurones contrôlant les membres antérieurs chez le rat. Cette projection rubro-motoneuronales mono-synaptique est très organisée, étant présente sur les motoneurones contrôlant la musculature la plus distale (patte et doigts) du membre antérieur, mais étant absente sur les motoneurones contrôlant la musculature plus proximale (biceps et épaule). Ces observations confortent l'idée d'une implication du noyau rouge dans le contrôle des mouvements de la patte et des doigts. Le **sixième chapitre** soulève deux questions essentielles: celle de la généralisation des phénomènes de bourgeoisement observés au chapitre 3 à d'autres faisceaux moteurs non touchés par la lésion; ainsi que le degré de spécificité de ce bourgeoisement. Je montre dans ce chapitre qu'après lésion bilatérale, complète du faisceau corticospinal et neutralisation de la protéine inhibitrice Nogo-A, un faisceau moteur descendant non-lésé, le faisceau rubrospinal, bourgeois et projette d'une manière extrêmement ordonnée sur les cibles dénervées par la lésion. Des expériences électrophysiologiques et comportementales, montrent que cette réorganisation permet aux animaux de récupérer une bonne motricité de leurs membres antérieurs. Enfin, le **septième chapitre** me permet de discuter le travail présenté dans cette dissertation, ainsi que les nouvelles questions que ce travail soulève.

En résumé, les résultats présentés dans cette thèse offrent une nouvelle perspective quant aux capacités de réparation du SNC adulte suite à une lésion. Ils montrent que le SNC mature possède une étonnante capacité à se réorganiser de façon fonctionnelle dès lors que l'inhibition de la pousse neuritique médiée par la protéine Nogo-A est neutralisée. De plus, ces données identifient le phénomène de bourgeoisement anatomique comme élément majeur de la récupération fonctionnelle. L'observation la plus significative est certainement le caractère hautement organisé de ce bourgeoisement,

démontrant la surprenante capacité du SNC adulte à ré-exprimer des signaux de guidage après lésion. Dans leur ensemble, ces résultats contribuent à une meilleure compréhension des mécanismes permettant au SNC de récupérer une fonction perdue. Ils devraient permettre le développement de nouvelles thérapies afin de traiter les personnes souffrant de lésion de la moelle épinière ou d'attaques cérébrales.

Summary

Lesions of the adult mammalian central nervous system (CNS) are particularly traumatizing because they lead to persistent motor and sensory deficits. These devastating effects of CNS trauma are due to the very restricted ability of this tissue to repair spontaneously. Twenty-five years ago it was shown that lesioned CNS fibers were capable to regenerate into and through a peripheral nerve graft. This key experiment demonstrated that CNS neurons did not fail to regenerate because of an intrinsic blockade. Ten years later, our laboratory discovered the growth inhibitory property of adult CNS tissue, and that inhibition was mediated mainly by myelinating oligodendrocytes. A monoclonal antibody (mAb IN-1) that could neutralize the inhibition of axonal outgrowth by the oligodendrocytes was then produced. When injected into adult rats after spinal cord injury, regeneration of lesioned axons occurred, in parallel with functional recovery. The antigen of the mAb IN-1, Nogo-A, has now been cloned and its full characterization is ongoing.

The present thesis aimed at investigating in detail the ability of the locomotor system to repair after its partial lesion and subsequent neutralization of the myelin-associated inhibition by using the mAb IN-1. The **first chapter** summarizes and discusses the current knowledge in the field of adaptive changes and motor system reorganizations after partial spinal cord lesions. In the **second chapter**, I show that the lesioned corticospinal tract (CST) regenerates also in the brainstem when the myelin-associated growth inhibitor Nogo-A is neutralized, confirming previous observations made in the spinal cord. Detailed anatomical reconstruction of these regenerating fibers suggested that most of them failed to navigate properly through the pyramidal decussation and into the cervical spinal cord. The **third chapter** shows that despite the misrouting of the regenerated pyramidal tract fibers demonstrated in the previous chapter, the lesioned IN-1 treated animals fully recover motor and sensory functions. The demonstration of extensive sprouting of spared parts of the CST to subcortical targets and into the spinal cord offers an anatomical substrate for this recovery. The **fourth chapter** focuses on neonatal animals, where CNS reorganization after lesion is known to be very pronounced. Transection of the CST in these neonatal animals results in a bilateral innervation of subcortical targets, similar to the one observed in adult rats (see chapter

3). We show by using an electrophysiological technique that these new projections lead to formation of new functional connections, thus giving the interrupted corticospinal system a new, indirect access to the spinal cord. In the **fifth chapter**, we describe a so far unknown direct projection of an important brainstem motor nucleus, the red nucleus, to forelimb motoneurons in the rat. These monosynaptic rubro-motoneuronal projections are highly organized, being present on motoneurons controlling the distal forelimb (i.e. fingers) muscles, but consistently absent on motoneurons projecting to more proximal (i.e. upper arm; shoulder) muscles. These observations support a specific role of the rubrospinal tract in finger and hand movement control. The **sixth chapter** addresses the questions of the generalization of sprouting responses as observed in chapter 3 for unlesioned motor tracts, and of the degree of specificity of this reorganization. I show that following complete, bilateral CST removal and IN-1 Ab treatment, a parallel unlesioned motor tract, the rubrospinal tract, sprouts and forms highly specific ectopic synapses onto targets which have been denervated by the CST lesion. Electrophysiological and behavioral experiments demonstrate that this anatomical reorganization leads to a rapid and nearly complete functional recovery in a precise forelimb movement task, i.e. food pellet reaching. Finally, the **seventh chapter** briefly discusses the work presented in this dissertation and points to the questions that it raises.

In summary, the findings presented in this thesis provide a new perspective with regard to the repair capabilities of the central nervous system. They show that the fully mature mammalian nervous system is indeed able to functionally reorganize after a lesion when the myelin associated neurite growth inhibitor Nogo-A is neutralized. In addition, these results identify the process of anatomical sprouting as an important player to achieve significant motor system repair. Most significantly, our observations show that the anatomical reorganization is not anarchic but highly targeted, demonstrating the potential of the adult CNS to re-express guidance and targeting cues for growing axons. Altogether, these results may contribute to a better understanding of how the CNS is able to optimally adapt an impaired function, and may help to develop future novel therapeutical approaches for people suffering from spinal cord injury or stroke.