

...und sie wachsen doch! Nervenwachstum nach ZNS-Verletzungen¹

Michaela Thallmair, Zürich

Zusammenfassung

Nach einer Verletzung des erwachsenen Zentralnervensystems (ZNS) können Nervenfasern höchstens über sehr kurze Distanzen nachwachsen. Läsionsstudien zeigten, dass in den wenigen Arealen des ZNS, in denen im erwachsenen Tier kompensatorisches Faserwachstum (strukturelle Plastizität) stattfinden kann, meist ein hoher Spiegel des wachstums-assoziierten Proteins GAP-43 vorhanden ist. Zudem sind diese Regionen im allgemeinen nur sehr wenig myelinisiert. Da Myelin spezifische Wachstumshemmstoffe enthält, untersuchten wir, was passiert, wenn ein wichtiger Hemmstoff nach einer ZNS-Verletzung experimentell ausgeschaltet wird, z. B. durch Unterdrückung der Myelinbildung mit Hilfe von Röntgenbestrahlung oder durch Verabreichung eines neutralisierenden monoklonalen Antikörpers (IN-1). Der vorliegende Bericht zeigt, dass man nach Ausschalten der myelin-assoziierten Hemmstoffe kompensatorisches Faserwachstum (strukturelle Plastizität) im erwachsenen Hirnstamm und Rückenmark beobachten kann und dass dieses neue Faserwachstum von einer funktionellen Erholung erstaunlichen Ausmasses begleitet wird.

... and they do grow!

Nerve growth after CNS lesions

After lesions in the adult central nervous system (CNS) fibers have only a very limited capacity to regrow. Studies investigating CNS lesions showed that in areas known for their inherent plasticity and growth potential high levels of the growth-associated protein GAP-43 are retained throughout life. In addition, these regions regularly show a low content of myelin. Because myelin contains specific neurite growth inhibitors, we investigated the growth capacity of lesioned CNS fibers in animals where these inhibitory proteins were experimentally suppressed, e.g. by neonatal X-irradiation or by application of a neutralizing monoclonal antibody (IN-1). The present report gives an overview of experiments showing that compensatory fiber growth (structural plasticity) occurs in the adult CNS after suppression of the myelin-associated inhibitory components. The new fiber growth is paralleled by a high degree of functional recovery.

1 DAS PROBLEM DES NERVENFASERWACHSTUMS IM ZENTRALNERVENSYSTEM HÖHERER WIRBELTIERE

Im erwachsenen Zentralnervensystem (ZNS) ist das Nervenfasernwachstum sehr stark eingeschränkt. Im Gegensatz dazu zeigt das periphere Nervensystem (PNS) eine hohe Wachstumskapazität. Die Einschränkung des Wachstums geht so weit, dass nach einer Verletzung des ZNS eine Regeneration der verletzten Fasern nicht oder nur in geringem Umfang möglich ist (z. B. Review SCHWAB & BARTHOLDI, 1996). Auch kompensatorisches Faserwachstum, sogenannte struk-

turelle Plastizität, findet im adulten ZNS nur sehr eingeschränkt statt. Aus diesen Gründen haben mechanische oder vaskuläre Verletzungen des ZNS meist fatale und irreversible Folgen, wie man es zum Beispiel nach einer Rückenmarksverletzung oder einem Schlaganfall sehen kann. Vergleicht man das Wachstumspotential im ZNS höherer Wirbeltiere (Säuger, Vögel) mit dem niederer Vertebraaten (Fische, Amphibien), dann stellt sich heraus, dass Fasern im ZNS

¹ Nach einem Artikel in «Neuroforum-Perspektiven der Hirnforschung», Ausgabe 1/99 (Februar 1999) V. Jahrgang, ISSN 0947-0875, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

niederer Wirbeltiere sehr wohl regenerieren können und dass dieses neue Faserwachstum meist zu einer funktionellen Erholung, also einem Wiedererlangen vieler Fertigkeiten führt (SPERRY, 1944; CLARKE et al., 1988; DAVIES et al., 1990; LURIE & SELZER, 1991; SHARMA et al., 1993; DAVIES & MCCLELLAN, 1994; Review KOLB & WHISHAW, 1989). Dieselben Vorgänge – regeneratives Wachstum, strukturelle Plastizität und funktionelle Erholung – lassen sich interessanterweise auch im ZNS von Säugern beobachten, wenn die Verletzung sehr früh nach der Geburt oder während der Embryonalentwicklung stattgefunden hat (KALIL & REH, 1982; KUANG & KALIL, 1990; SCHREYER & JONES, 1983; TOLBERT & DER, 1987; SHIMIZU et al., 1990; XU & MARTIN, 1991; BATES & STELZNER, 1993).

Was sind nun aber die Gründe für dieses schlechte Wachstumsvermögen im ZNS? Eine der ersten Hypothesen besagte, dass Neurone des adulten ZNS nicht auswachsen können – dies sei eine Eigenschaft der Nervenzellen des ZNS. Schon zu Beginn dieses Jahrhunderts fühlten sich Wissenschaftler herausgefordert, diese Hypothese experimentell zu testen. Da sie wussten, dass periphere Nerven nach einer Verletzung selbst über weite Strecken wachsen und regenerieren können, implantierten sie periphere Nerven in verschiedene Areale des erwachsenen ZNS. Die ersten erfolgreichen Experimente dieser Art wurden 1911 von TELLO publiziert: Er konnte zeigen, dass in erwachsenen Kaninchen Fasern des Grosshirnkortex in implantierte Ischiasnerv-Stückchen einwachsen. TELLO und später auch RAMÓN Y CAJAL (1928) zeigten also, dass Neurone des adulten ZNS grundsätzlich die Fähigkeit zum Auswachsen besitzen. Aufgrund ihrer Ergebnisse kamen sie zu dem Schluss, dass das Gewebe, das die Nervenfasern umgibt, eine wichtige Rolle spielt. Sie glaubten, dass das Fehlen von trophischen und tropischen Substanzen, wie sie im PNS von den Schwannschen Zellen produziert werden, einer der Hauptgründe ist, warum es kaum zu Wachstum im erwachsenen ZNS kommt. Später zeigte sich, dass noch andere Barrieren für auswachsende Fasern existieren, wie z. B. die Narbe, die sich nach einer Verletzung bildet. Trotzdem dauerte es noch einige Jahrzehnte, bis die Hypothese, dass ZNS-Neurone nicht auswachsen können, durch eingehende Studien von Aguayo und seiner Gruppe endgültig widerlegt wurde. Sie bestätigten Tellos Experimente und zeigten, dass ein Grossteil der Neurone des ZNS auswachsen kann, wenn man ihnen Gewebe des PNS anbietet. Die Zugabe neurotropher Substanzen konnte zudem diesen Wachstumsprozess verstärken. Trotzdem wuchsen bei Brücken-Experimenten die Nervenfasern nie weiter als maximal 0,6 mm aus dem PNS-Transplantat wieder ins ZNS-Gewebe (DAVID &

AGUAYO, 1981). All diese Transplantatversuche bewiesen, dass verletzte Neurone des ZNS auch nach Abschluss der Entwicklung ihre zelluläre Maschinerie für das Faserwachstum reaktivieren können, wenn man ihnen eine geeignete Umgebung anbietet. Diese Umgebung ist offenbar im adulten ZNS-Gewebe nicht vorhanden. Die Vorstellung, dass Fasern im adulten ZNS nicht wachsen können, wurde schliesslich in die Ansicht umgewandelt, dass es vor allem die direkte Umgebung der Nervenfasern ist, die bestimmt, ob sie wachsen kann oder nicht.

2 NERVENFASERWACHSTUM WIRD VON MYELIN-ASSOZIIERTEN PROTEINEN EINGESCHRÄNKT

Gewebe- und Zellkulturexperimente zeigten in den 80er Jahren, dass im ZNS der Säuger Substanzen existieren, die das Nervenfasernwachstum aktiv hemmen können. SCHWAB und THOENEN (1985) entdeckten, dass periphere Neurone, denen der neurotrophe Faktor NGF (*nerve growth factor*) in genügend grosser Menge zugesetzt wurde, in Explantate des PNS (Ischiasnerv) einwachsen, jedoch nie in Explantate des ZNS (Sehnerv). Sie schlossen daraus, dass neurotrophe Faktoren nicht genügen, um Faserwachstum im ZNS-Gewebe über grosse Distanzen hervorzurufen. Diese Experimente führten zu einem völlig neuen Konzept: Das Vorhandensein von Substanzen im ZNS, die Wachstumsprozesse der Nervenfasern stark limitieren, wurde postuliert. CARONI und SCHWAB (1988a) konnten belegen, dass die Wachstumshemmung von Oligodendrozyten ausgeht, den Zellen, die die Myelinscheiden des ZNS bilden. Trafen auswachsende Nervenfasern in Kulturexperimenten auf isolierte Oligodendrozyten, so kam es zu einem lang anhaltenden Kollaps des Wachstumskegels und einer «Lähmung» der Nervenfasern. Auch isoliertes Myelin des ZNS verhinderte Wachstum von darauf kultivierten Nervenfasern, im Gegensatz zu Myelin des PNS. Durch die Aufreinigung und biochemische Analyse dieser potenten wachstumshemmenden Aktivität entdeckte man neue Membranproteine, die im Myelin von Ratte, Maus, Rind und Mensch vorhanden sind (SPILLMANN et al., 1997, 1998; NI-35/NI-250; NI steht für *neurite inhibitor* und 35 bzw. 250 für die entsprechenden Molekulargewichte). Ein monoklonaler Antikörper (IN-1; CARONI & SCHWAB, 1988b), sowie Antisera, die gegen die inhibitorische Myelinfraktion hergestellt wurden, konnten die inhibitorischen Eigenschaften des ZNS-Myelins neutralisieren: *in vitro* konnten Nervenfasern nun ungehemmt auf Myelin des ZNS wachsen, ihre Wachstumskegel kollabierten nicht nach Kontakt mit ko-kultivierten

Oligodendrozyten und sie konnten in Explantate von optischen Nerv (ZNS-Gewebe!) einwachsen.

Welche Rolle spielen nun aber diese myelin-assoziierten Hemmstoffe *in vivo*? Um diese Frage anzugehen, wurde der neutralisierende monoklonale Antikörper IN-1 Ratten nach einer Rückenmarksverletzung verabreicht. In diesen Tieren kam es zum Nachwachsen verletzter Fasern über lange Distanzen (SCHNELL et al., 1990, 1993) und zu einer funktionellen Erholung bestimmter Aspekte des Laufverhaltens von Ratten (BREGMAN et al., 1995). Das Aussprossen der verletzten Fasern an der Läsionsstelle konnte durch Gabe des neurotrophen Faktors NT-3 (Neurotrophin 3) verstärkt werden (SCHNELL et al., 1994). Selbst in diesem Fall erlaubte jedoch nur der Antikörper IN-1 eine Regeneration über längere Strecken.

3 MYELIN UND DAS WACHSTUMS-ASSOZIIERTE PROTEIN GAP-43

Im sich entwickelnden ZNS sind grosse Mengen des wachstums-assoziierten Protein GAP-43 (*growth-associated protein 43*) vorhanden, eines neuronalen, intrazellulären membranständigen Phosphoproteins, welches während Wachstumsprozessen und der Synapsenbildung in grossem Mass synthetisiert wird (Review SKENE, 1989; BENOWITZ & PERONE-BIZZOZERO, 1991; STRITTMATTER et al., 1992). Im Laufe der postnatalen Entwicklung nimmt die Menge von GAP-43 stetig ab, und im erwachsenen ZNS findet man dieses Protein nur noch in sehr wenigen Regionen, z. B. in den Laminae II und X des Rückenmarks, im Septum, im Hippocampus oder im Bulbus olfactorius. Interessanterweise korreliert die Abnahme von GAP-43 zeitlich und räumlich genau mit der fortschreitenden Myelinisierung des ZNS (KAPFHAMMER & SCHWAB, 1994a). Zudem fällt die Differenzierung der Oligodendrozyten und die Bildung des Myelins mit dem Ende der Wachstumsperiode der ZNS-Fasern zusammen. Es besteht also eine negative Korrelation zwischen dem Vorhandensein von GAP-43 und Myelin einerseits und zwischen Myelin und dem Wachstumsvermögen der Nervenfasern andererseits (KAPFHAMMER, 1996). Daraus ergab sich nun die Hypothese, dass die Myelinisierung und das Vorhandensein der myelin-assoziierten Wachstumsinhibitoren in kausalem Zusammenhang stehen mit der Abnahme von GAP-43. Um dies zu prüfen, setzte man im Experiment einen Teil des Rückenmarks neugeborener Ratten Röntgenstrahlen aus, um in diesem Bereich die sich teilenden Oligodendrozyten abzutöten. Vier Wochen später untersuchte man im Rückenmark dieser Tiere das Vorhandensein von Myelin

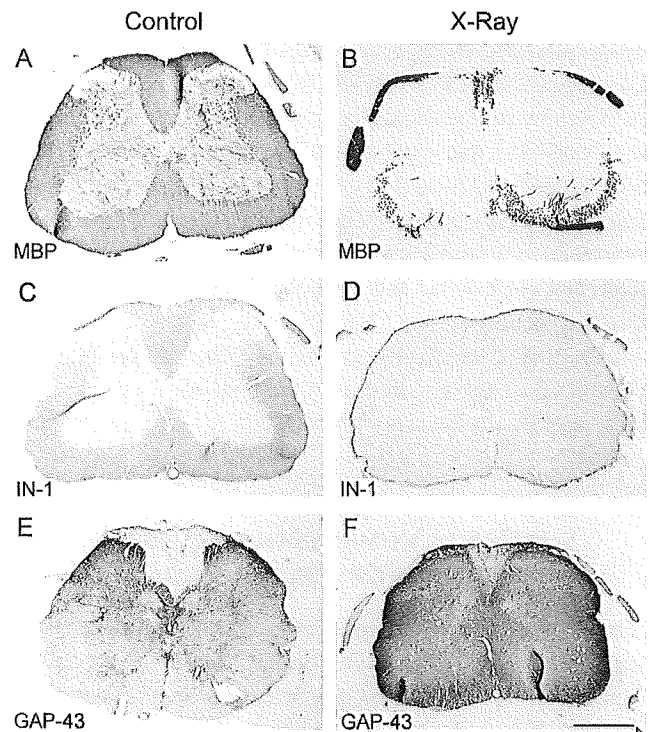


Abb. 1. Immunohistochemische Färbung, um den Effekt der neonatalen Röntgenbestrahlung darzustellen. Querschnitte durch ein normal myelinisiertes (A, C, E) und ein röntgenbestrahltes myelinfreies (B, D, F) Rückenmarkssegment von Ratten im Alter von 35 Tagen. Um Myelin darzustellen, wurde ein Antikörper gegen MBP (*myelin basic protein*) verwendet. Die myelin-assoziierten Wachstums-hemmstoffe wurden mit dem monoklonalen Antikörper IN-1 detektiert. Die Färbung für GAP-43 markiert Bereiche, in denen das wachstums-assoziierte Protein vorhanden ist. MBP färbt Myelin in der grauen und weissen Substanz an (A). Im bestrahlten Rückenmark ist kaum MBP-Färbung vorhanden (B); nur sehr wenige myelinisierte Fasertrakte im ventralen und ventrolateralen Funiculus sind erkennbar. Immunofärbung mit IN-1 zeigt, dass die myelin-assoziierten Hemmstoffe nach Bestrahlung weder in der grauen noch in der weissen Substanz vorhanden sind (C, D). Die GAP-43-Färbung war hingegen im bestrahlten Bereich viel stärker als im normal myelinisierten Rückenmark (E, F). Die Kalibrierung entspricht 500 μ m. Mit freundlicher Genehmigung des Verlages Blackwell Science © aus Eur. J. Neurosci. (1998) 19, 45–56.

Fig. 1. Immunohistochemical stainings for evaluation of myelin suppression by X-irradiation. Transverse sections of a normal (A, C, E) and X-irradiated (B, D, F) spinal cord segment at postnatal day 35 reacted with antibodies against myelin basic protein (MBP), myelin-associated neurite growth inhibitors (IN-1 antigens NI35/250), and GAP-43. In the X-irradiated spinal cord MBP expression (A, B) was strongly reduced with a few remaining myelinated fibers in the ventral and ventro-lateral funiculus. Immunoreactivity for the myelin-associated neurite growth inhibitors as detected by staining with the monoclonal antibody IN-1 was virtually absent in the X-irradiated spinal cord (C, D). Immunoreactivity for the growth associated protein GAP-43 was strongly increased in the X-irradiated spinal cord (E, F). Scale bar, 500 μ m. With permission, Blackwell Science © Eur. J. Neurosci. (1998) 19, 45–56.

(Immunzytochemie für MBP, *myelin basic protein*), der Wachstumsinhibitoren NI-35/250 und des Proteins GAP-43. Die unbestrahlten Bereiche des Rückenmarks zeigten dasselbe Muster für Myelin, die myelin-assoziierten Hemmstoffe und GAP-43, wie man es im normalen Tier findet. Die bestrahlten myelinfreien Segmente des Rückenmarks zeigten jedoch ein völlig anderes Muster: Myelin und die myelin-assoziierten Inhibitoren waren kaum bzw. nicht vorhanden, wohingegen GAP-43 in ähnlich hoher Menge vorhanden war wie im neugeborenen Tier (KAPFHAMMER & SCHWAB, 1994b; VANEK et al., 1998; Abb. 1). Vermutlich limitieren Myelin sowie die myelin-assoziierten Hemmstoffe die Synthese und Deposition von GAP-43.

4 MYELIN-ASSOZIIERTE INHIBITOREN BESCHRÄNKEN KOMPENSATORISCHES FASERWACHSTUM NACH VERLETZUNGEN IM ZNS

Der erhöhte GAP-43-Spiegel im myelinfreien Rückenmark legt folgende Vermutung nahe: Da das Muster (viel GAP-43, wenig Myelin) ähnlich ist wie während der Entwicklung, könnten strukturelle Veränderungen der Nervenfasern in diesem Bereich leichter stattfinden. Zudem kommt es nach partiellen Verletzungen im adulten ZNS nur in den Regionen, die wenig myelinisiert sind, zu erhöhter Aussprossung und Bildung von Axon-Kollateralen. Um die Rolle der myelin-assoziierten Inhibitoren und des Proteins GAP-43 besser zu verstehen, wurden in zwei unterschiedlichen Läsionsmodellen strukturelle Veränderungen nach Unterdrückung der Myelinisierung bzw. nach Neutralisierung der myelin-assoziierten Inhibitoren untersucht.

4.1 Durchtrennung von Dorsalwurzeln – ein klassisches Paradigma zur Untersuchung von Plastizität im Rückenmark

Um strukturelle Plastizität bei Säugern zu untersuchen, wurden im Rückenmark von neugeborenen Ratten zu verschiedenen Zeitpunkten (Alter 8, 15, 28 Tage nach Geburt) die Hinterwurzeln der Lumbalsegmente L2–4 durchtrennt (SCHWEGLER et al., 1995). Ein Teil der Afferenzen (hauptsächlich Schmerzfasern) wurde anschliessend histochemisch angefärbt und ausgewertet. Die Durchtrennung der Dorsalwurzeln L2–4 führte in der *neugeborenen* Ratte zu einem starken kollateralen Aussprossen der benachbarten intakten Wurzeln L1 und L5. Wird die Läsion zu einem etwas späteren Zeitpunkt ausgeführt (15 oder 28 Tage alte Tiere), so nimmt mit zunehmender Myelinisierung diese entwicklungsbedingte Plastizität ab. Im erwachsenen Rückenmark findet nur noch

ein sehr schwaches und lokal eng begrenztes Aussprossen statt. Untersucht man nun das Wachstumsverhalten dieser Afferenzen nach einer Läsion in experimentell myelinfreien Rückenmarkssegmenten, so findet man im erwachsenen Tier eine Plastizität, wie sie sonst nur im Neugeborenen zu beobachten ist. Beispielsweise ist nach einer Läsion, die im Alter von fünfzehn Tagen ausgeführt wurde, im myelinfreien Rückenmark dreimal so viel Sprossung vorhanden wie im gleich alten, normal myelinisierten Tier (SCHWEGLER et al., 1995).

4.2 Kollateral-Sprossung nach einseitiger Läsion des Kortikospinaltraktes

Der Kortikospinaltrakt der Ratte und des Hamsters kreuzt im Hirnstamm fast vollständig zur Gegenseite. Durch einseitige Durchtrennung eines Kortikospinaltraktes auf Höhe der Medulla oblongata (rostral von der Dekussation, d. h. vor der Kreuzung des Kortikospinaltraktes) wird daher die kontralaterale Hälfte des Rückenmarks denerviert (Abb. 2). Unter bestimmten Umständen kann nun die deafferentierte Rückenmarkshälfte wieder innerviert werden, und zwar durch Aussprossen des anderen unverletzten Kortikospinaltraktes: Nach Läsionen im *neugeborenen* Hamster sprosst der intakte Trakt auf Rückenmarksebene aus; die Kollateralen kreuzen über die Mittellinie des Rückenmarks und wachsen in die deafferentierte Hälfte des Rückenmarks ein (KUANG & KALIL, 1990). Die neuen Fasern verzweigen sich in topographisch geordneter Weise in den Rückenmarkssegmenten, d. h. Fasern, die im motorischen Vorderbeinareal des Kortexes entspringen, wachsen in die entsprechenden zervikalen Segmente der Gegenseite und verzweigen sich dort in der grauen Substanz, während Fasern, die im Hinterbeinareal entspringen, erst in den kaudalen Segmenten kreuzen und terminieren (KUANG & KALIL, 1990). Je später nach der Geburt die Kortikospinaltraktläsion erfolgt, desto weniger Sprossung und Faserwachstum findet statt. So kreuzen nur noch wenige Fasern auf die deafferentierte Seite des Rückenmarks, wenn Hamster im Alter von drei Wochen lädiert werden (KUANG & KALIL, 1990). Zu diesem Zeitpunkt ist die Myelinisierung des Rückenmarks schon sehr weit fortgeschritten.

Das Aussprossen des Kortikospinaltraktes ist von besonderem Interesse, da derartige strukturelle Veränderungen vermutlich an der funktionellen Erholung beteiligt sind, die nach neonatalen oder pränatalen einseitigen Hirnverletzungen bei Tier und Mensch beobachtet werden (CARR et al., 1993; CAO et al., 1994). Zudem korreliert die bilaterale Innervation des Rückenmarks mit dem Auftreten von sog. *Mirror movements*, unfreiwilligen spiegelbildlichen Bewegungen, die nach perinatalen Hirnschädigungen im Menschen beobachtet wer-

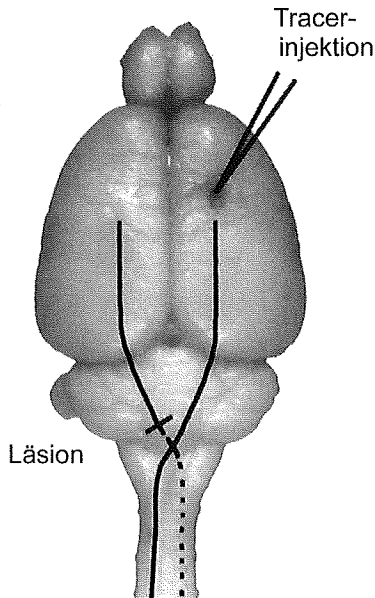


Abb. 2. Schema der Läsion: Der Korticospinaltrakt wird in der Medulla oblongata (Hirnstamm) auf Höhe der Dekussation durchtrennt. Die einseitige Läsion vor der Kreuzung des Traktes führt dazu, dass die kontralaterale Hälfte des Rückenmarks denerviert wird (rechte Hälfte). Der verletzte Trakt degeneriert (gepunktete Linie). Der Tracer wurde entweder in den Motorkortex kontralateral zur Läsion injiziert, um den intakten Korticospinaltrakt anzufärben (wie in der Abbildung dargestellt) oder man injizierte die Tracer-substanz ipsilateral (gleichseitig) zur Verletzung, um den verletzten Trakt zu untersuchen.

Fig. 2. Schematic illustration of the lesion. A unilateral lesion of the corticospinal tract is performed at the level of the medulla oblongata just rostral to the decussation. The unilateral lesion leads to a denervation of the contralateral half of the spinal cord (right side). The lesioned tract eventually degenerates (dotted line). We injected the tracer into the motor cortex to label the corticospinal tract – either contralateral to the lesion (as shown in the figure) to label the intact tract or ipsilateral to the lesion to investigate the lesioned tract.

den (CARR et al., 1993). Diese spiegelbildlichen Bewegungen begleiten oft die funktionelle Erholung solcher Patienten und treten ausschliesslich nach Hirnverletzungen auf, die sehr früh im Leben stattgefunden haben, jedoch nie nach späteren Verletzungen (KENNARD, 1936, 1938).

Ob myelin-assoziierte Hemmstoffe bei der postnatalen Abnahme des Aussprossens des Korticospinaltrakts eine Rolle spielen, wurde in einer Serie von Experimenten studiert. Zuerst untersuchten wir Ratten, in denen, wie oben beschrieben, die Myelinisierung in einem Abschnitt des Rückenmarks durch Röntgenbestrahlung des neugeborenen Tiers unterdrückt wurde. Im Alter von drei bis vier Wochen durchtrennte man diesen Tieren einen Korticospinaltrakt (einseitige Läsion) und untersuchte nach weiteren zwei Wochen das

Aussprossen des intakten Korticospinaltrakts in myelinfreien und normal myelinisierten Bereichen (VANEK et al., 1998). Die Fasern wurden dazu mit Hilfe von anterograden Tracer-Substanzen sichtbar gemacht (diese werden vom Zellkörper aufgenommen und entlang des Axons zu den Terminalen transportiert). In den normal myelinisierten Rückenmarksbereichen waren nur wenige aussprossende Fasern zu beobachten, die zudem nur knapp über die Mitte des Rückenmarks wuchsen (Abb. 3A,B,C). Dagegen waren in den myelinfreien Segmenten zwei- bis dreimal mehr Fasern auf die deafferentierte Seite gewachsen. Diese neuen Fasern wuchsen auch in laterale Bereiche der grauen Substanz ein (Abb. 3D,E,F). Verdickungen an den neuen Fasern lassen vermuten, dass die neu aussprossenden Fasern auch Synapsen bilden. Diese Resultate zeigen, dass das Aussprossen des unverletzten Korticospinaltraktes in die denervierte Rückenmarkshälfte in der Abwesenheit von Myelin stark erhöht ist.

In den folgenden Experimenten untersuchten wir, ob die Wachstumsinhibitoren NI-35/220 des Myelins an der Einschränkung der strukturellen Plastizität beteiligt sind. In diesen Versuchen wurde erwachsenen Ratten im Alter von zwei bis drei Monaten der eine Korticospinaltrakt durchtrennt. Gleich nach der Läsion wurden in den Kortex kontralateral zur Verletzung Hybridomazellen implantiert, die entweder den monoklonalen Antikörper IN-1 (neutralisiert die myelin-assoziierten Inhibitoren) oder einen Kontrollantikörper produzierten (CARONI & SCHWAB, 1988b; SCHNELL & SCHWAB, 1990). Die sezernierten Antikörper gelangten in die Zerebrospinalflüssigkeit und konnten sich verteilen. Für die anatomischen Untersuchungen wurde der unverletzte Korticospinaltrakt mit dem anterograden Tracer BDA (biotinyliertes Dextranamin) markiert. Einer zweiten Gruppe von Tieren injizierten wir BDA in das motorische Vorderbeinareal des Kortexes, in dem der durchtrennte Trakt entspringt (ipsilateral zur Läsion), um die Projektionen des lädierten Traktes zu den Hirnstammkernen Roter Kern (Nucleus ruber) und Pons zu studieren. Nach zwei Wochen Überlebenszeit wurden diese Gruppen ausgewertet. In einer dritten Gruppe wurde das Verhalten dieser Tiere mit spezifischen Tests untersucht. Zudem wurden die Hinterstrangkerne (Nucleus gracilis und Nucleus caudatus) studiert.

Ähnlich wie im myelinfreien Rückenmark lädierter Ratten, war im zervikalen Rückenmark lädierter, IN-1 behandelte Tiere ein stark erhöhtes Aussprossen des unverletzten Korticospinaltraktes vorhanden (Abb. 4D). Viele Fasern kreuzten über die Mittellinie, entweder im Bereich der dorsalen Kommissur (graue Substanz; Abb. 4B) oder sogar durch die Region des degenerierten Korticospinaltraktes (weisse

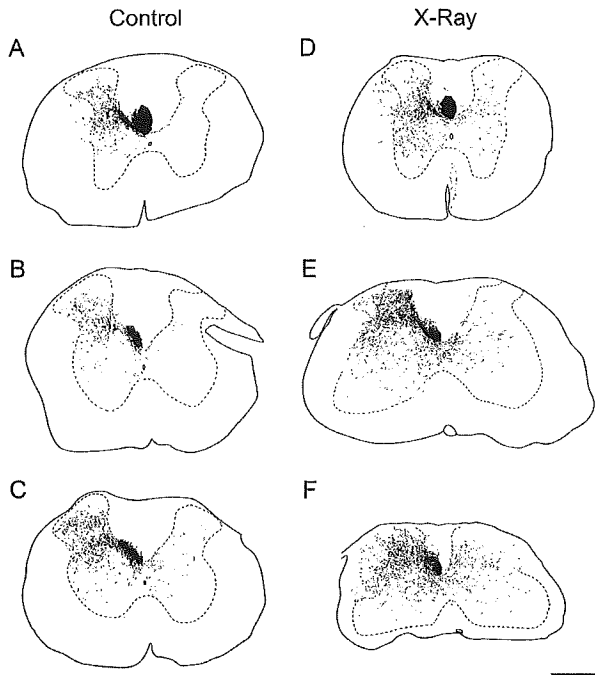


Abb. 3. Terminationsmuster der Kortikospinalfasern in normal, myelinisierten (A, B, C, *Control*) oder bestrahlten, myelinfreien Rückenmarkssegmenten (D, E, F; *X-ray*) zwei Wochen nach einseitiger Verletzung des Kortikospinaltraktes. Beispiele von Camera-lucida-Zeichnungen des angefärbten, unverletzten Kortikospinaltraktes auf Querschnitten von lädierten Kontrollratten bzw. lädierten, bestrahlten Tieren (Läsion im Alter von drei Wochen; Überlebenszeit 14 Tage). In den Kontrolltieren findet man kaum angefärbte Fasern auf der denervierten Rückenmarkshälfte (rechte Hälfte in A, B, C). Die wenigen Fasern sind vermutlich Kollateralen, die vom intakten Kortikospinaltrakt stammen. In den myelinfreien, bestrahlten Rückenmarkssegmenten (D, E, F) findet man hingegen viele Fasern auf der denervierten Seite, die weit ins Dorsal- und Ventralhorn reichen. Die Kalibrierung entspricht 500 μm . Mit freundlicher Genehmigung des Verlages Blackwell Science © aus Eur. J. Neurosci. (1998) 19, 45–56.

Fig. 3. Termination pattern of corticospinal fibers in control (A, B, C) and X-irradiated spinal cord (D, E, F) two weeks after a unilateral corticospinal tract lesion. Examples of camera lucida drawings of the corticospinal tract on transverse sections of the spinal cord of lesioned control and lesioned, myelin-free rats (lesion at P21, survival time 14 days). In the control spinal cord only few labeled profiles are seen on the denervated side (right half in A, B, C). Some of these labeled profiles probably represent sprouts arising from the intact corticospinal tract. In the X-irradiated spinal cord (D, E, F) corticospinal fibers on the denervated side of the spinal cord are abundant and extend over the entire dorsal and ventral horn. Scale bar, 500 μm . With permission, Blackwell Science © Eur. J. Neurosci. (1998) 19, 45–56.

Substanz! Abb. 4C). In der deafferentierten Rückenmarkshälfte verzweigten sich diese neuen Fasern in den anatomisch korrekten Regionen. Abermals konnten wir Synapsen-ähnliche Verdickungen an den Enden wie auch entlang der neuen

Fasern feststellen. Im Vergleich zu lädierten, aber mit Kontrollantikörpern behandelten Tieren kreuzten bei verletzten, mit IN-1 behandelten Tieren doppelt so viele Fasern auf die Gegenseite (Abb. 4D, $p < 0.001$, Mann-Whitney-Test; THALLMAIR et al., 1998).

Im Hirnstamm untersuchten wir den Roten Kern und die Pons. Beide Strukturen erhalten Eingänge vom primären motorischen Kortex als kortikorubrale bzw. kortikopontine Fasern, aber auch als Kollateralen des Kortikospinaltraktes. Diese Kerngebiete spielen eine wichtige Rolle in der motorischen Kontrolle. Die meisten kortikalen Eingänge enden im parvzellulären Teil des Roten Kerns und haben ein topographisches Terminationsmuster in den pontinen Kernen. All diese Projektionen verlaufen grösstenteils ungekreuzt, und nur ein sehr kleiner Teil dieser Fasern kreuzt zur Gegenseite. Dieses Innervationsmuster war unverändert in den Kontrollgruppen, wobei ein etwas erhöhter Anteil von kreuzenden Fasern in lädierten, mit Kontrollantikörpern behandelten Tieren zu beobachten war (Abb. 5A, C). Im Gegensatz zu den Kontrollgruppen zeigten lädierte, IN-1 behandelte Tiere eine stark erhöhte Projektion zur kontralateralen Seite der entsprechenden Kerngebiete (Abb. 5B, D). So zeigten densitometrische Messungen in den Terminationsgebieten der Pons viermal mehr Fasern auf der kontralateralen Seite im Vergleich zu normalen Ratten. Besonders bemerkenswert war dabei wiederum die topographisch korrekte Innervation der kontralateralen Gebiete, die ein spiegelbildliches Terminationsmuster ergab (Abb. 5D; THALLMAIR et al., 1998; Z'GRAGGEN et al., 1998).

In der Ratte zweigen die Kollateralen des Kortikospinaltraktes, die zu den Hinterstrangkernen (Nucleus gracilis, Nucleus caudatus) der kontralateralen Seite führen, auf Höhe der Dekussation ab. Aus diesem Grund werden die kontralateralen Hinterstrangkerne durch eine Kortikospinaltraktläsion rostral der Dekussation denerviert. Dementsprechend zeigten lädierte, unbehandelte und lädierte, mit Kontrollantikörpern behandelte Ratten nur wenig oder gar keine kortikalen Fasern in den Hinterstrangkernen, wohingegen in zwei Dritteln der lädierten, IN-1 behandelten Ratten eine Reinnervation dieser Kerne beobachtet wurde (THALLMAIR et al., 1998).

4.3 Funktionelle Erholung in IN-1 behandelten, verletzten Tieren

Ob die strukturelle Plastizität von einer funktionellen Erholung begleitet wurde, prüften wir mit verschiedenen Verhaltenstests, die speziell die Integrität des Kortikospinaltraktes nachweisen, z. B. mit einem sog. Greiftest (Abb. 6), mit dem

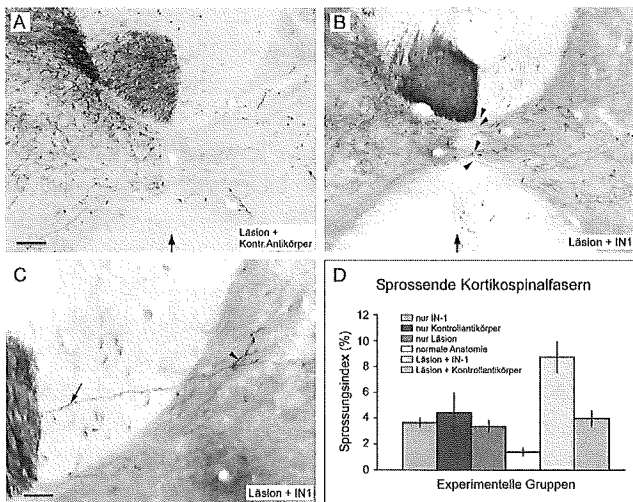


Abb. 4. Die Applikation des Antikörpers IN-1 erhöht kompensatorisches Faserwachstum des intakten Kortikospinaltraktes im zervikalen Rückenmark nach einseitiger Läsion. Die Fasern des unverletzten Kortikospinaltraktes wurden mit einem anterograden Tracer angefärbt. A, B: Fotos von Querschnitten durch das zervikale Rückenmark von lädierten Ratten, die mit Kontrollantikörper (Läsion + Kontr. Antikörper) oder IN-1 (Läsion + IN-1) behandelt wurden. Die Pfeile markieren die Mittellinie. In lädierten, IN-1 behandelten Tieren kreuzten viele Fasern über die Mittellinie (Pfeilspitzen) und verzweigten sich in der grauen Substanz der denervierten Rückenmarkshälfte. Im Gegensatz dazu wuchsen in lädierten Tieren, die mit Kontrollantikörper behandelt wurden, nur wenige Fasern über die Mittellinie auf die denervierte Hälfte. Im dorsalen und ventralen Funiculus findet man einige Fasern des ungekreuzten Kortikospinaltraktes (rechte Bildhälfte). Die Kalibrierung in A und B entspricht 120 µm. C: In den IN-1 behandelten lädierten Tieren finden sich Fasern, die durch das Areal des lädierten degenerierenden Kortikospinaltraktes wachsen (Pfeil), um auf die Gegenseite zu kreuzen und sich dort verzweigen (Pfeilspitze). Die Kalibrierung entspricht 60 µm. D: Fasern, die über die Mittellinie kreuzten, wurden gezählt, und die Durchschnittswerte sind hier für die einzelnen Gruppen dargestellt (nur IN-1 bzw. nur Kontrollantikörper N=4; nur Läsion N=5; normale Anatomie N=3; Läsion + IN-1 bzw. Läsion + Kontrollantikörper N=18). Lädierte, IN-1 behandelte Tiere weisen signifikant mehr kreuzende Fasern auf als lädierte bzw. lädierte und Kontrollantikörper behandelte Ratten ($p < 0.001$, Mann-Whitney-Test). Mit freundlicher Genehmigung © aus Nature Neuroscience (1998) 1, 124–131.

sich auch geringe Verletzungen des Kortikospinaltraktes nachweisen lassen (KARTJE-TILLOTSON & CASTRO, 1980; THALLMAIR et al., 1998). In diesem Test ergreifen die Ratten mit einer Pfote (der «lädierten» Seite, kontralateral zur Läsion) kleine Futterbällchen (Pellets) durch eine Öffnung der Testbox von einer glatten Oberfläche. Um diese Aufgabe erfolgreich durchzuführen, müssen die Tiere sehr präzise zugreifen, da die Pellets sonst wegrutschen. Verlieren sie die Pellets auf dem Weg zum Maul, so fallen sie durch das Maschennetz der Testbox. Die Fehlerrate beim Greifen oder die Zeit, die ein Tier braucht, um eine bestimmte Anzahl von Pellets zu greifen, sind gut erfassbare Messgrößen. Um 20 Pellets zu greifen und zu fressen, benötigten trainierte Tiere vor der Läsion im Durchschnitt 75 Sekunden (Abb. 6 oben). Sechs Wochen nach der Operation betrug die Zeit für 20 Pellets in den Kontrollgruppen 150 Sekunden (Abb. 6 oben). Im Gegensatz dazu brauchten lädierte, IN-1-behandelte Tiere nur 75 Sekunden und waren damit auch nach der Läsion gleich gut wie unoperierte Tiere (Abb. 6 oben; Z'GRAGGEN et al., 1998). Die Tests wurden zusätzlich auf Video aufgezeichnet, und wir werteten die Greifbewegung nach qualitativen Aspekten aus. Dazu unterteilten wir die Greifbewegung in folgende Komponenten: Start der Bewegung, Zielen, Ausstrecken, Greifen, Supination, Loslassen des Pellets und Beenden der Bewegung (Z'GRAGGEN et al., 1998). Die lädierten Kontrolltiere (Läsion allein oder Läsion mit Kontrollantikörper) wiesen starke Beeinträchtigungen in allen diesen Komponenten auf. Sie zeigten eine verzögerte motorische Initiation (Starthemmung), eine Ataxie beim Zielen und Annähern, eine verringerte Extension des Vorderbeins und eine Unfähigkeit, die Bewegung in koordinierter Weise zu beenden. Im Gegensatz dazu zeigten die lädierten, IN-1-behandel-

Fig. 4. Treatment with IN-1 increases lesion-induced sprouting of the intact corticospinal tract in the cervical spinal cord. The intact corticospinal tract was labeled with an anterograde tracer. A, B: Photomicrographs of cross sections through the cervical spinal cord of lesioned animals treated either with control antibody (A) or IN-1 (B). The position of the midline is indicated by an arrow. In the lesioned group treated with IN-1, many labeled CST axons cross the midline (arrowheads) and branch into denervated regions of the gray matter. In lesioned animals treated with control antibodies, only a very small portion of fibers sprouts into the denervated half. Note also the few ipsilateral uncrossed CST fibers in the dorsal and ventral funiculi. Scale bar for A and B, 120 µm. C: Occasionally, fibers from the labeled, intact CST cross through the area of the degenerated, contralateral CST (arrow) and branch into the denervated region (arrowhead). Scale bar, 60 µm. D: Fibers crossing the midline were counted blind to treatment, and the averaged counts are given for each experimental group. Lesioned animals treated with IN-1 show significantly more midline crossing fibers than lesioned or lesioned, control antibody treated animals ($*p < 0.001$, Mann-Whitney test). With permission, © Nature Neuroscience (1998) 1, 124–131.

ten Tiere weitgehend normale Bewegungen, mit nur wenigen Fehlern bei Supination, Loslassen des Pellets und Beenden der Bewegung. Auch in den anderen Tests (Seilklettern, Laufen über Gitter, Klebstreifen-Test) schnitten die lädierten, IN-1-behandelten Tiere stets signifikant besser ab als die lädierten Kontrolltiere (Z'GRAGGEN et al., 1998).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass strukturelle Plastizität im erwachsenen ZNS stattfinden kann, wenn man die myelin-as-

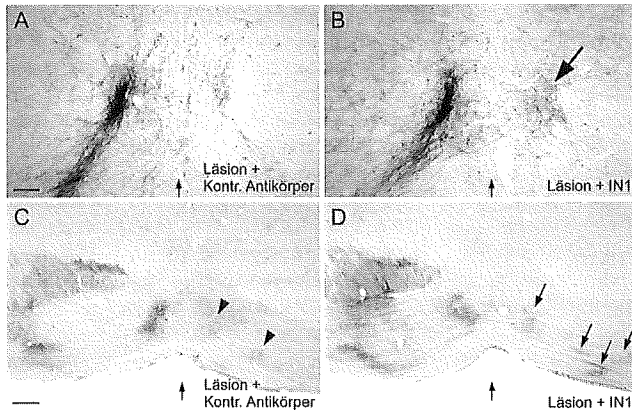


Abb. 5. Fasern des verletzten Korticospinaltraktes zeigten eine bilaterale Innervation des Roten Kerns und der Pons nach einseitiger Läsion und Applikation von IN-1 – der verletzte Korticospinaltrakt wurde mit einem anterograden Tracer angefärbt. A: Fotos von einem Querschnitt durch den rostralen Teil des Roten Kerns in einem verletzten Tier, das mit Kontrollantikörper behandelt wurde. Der Korticospinaltrakt innervierte hauptsächlich den ipsilateralen Roten Kern (linke Hälfte). B: Kortikorubrale Projektionen in einem verletzten, IN-1 behandeltem Tier. Die kontralaterale Innervation des Roten Kerns war vergrößert (Pfeil). Die Kalibrierung in A und B entspricht 120 µm. C: Typische Projektionen der corticopontinen Fasern, die im Vorderbeinareal des Motorkortex entspringen, in einem Kontrolltier. Nur eine sehr kleine Projektion endete in den kontralateralen pontinen Kernen (Pfeilspitzen). D: Corticopontine Projektionen in einem IN-1 behandeltem Tier: Die kontralaterale Termination war stark erhöht und zeigte dasselbe typische Muster der Fasern, die dem motorischen Vorderbeinareal entspringen. Die Kalibrierung in C und D entspricht 240 µm. Pfeile markieren die Mittellinie des Hirnstammes. Mit freundlicher Genehmigung © aus Nature Neuroscience (1998) 1, 124–131.

Fig. 5. Corticobulbar axons establish a bilateral projection in the red nucleus and pons after unilateral pyramidotomy and treatment with IN-1. The lesioned tract was traced with an anterograde tracer. A: Photomicrograph of the innervation pattern of the rostral part of the red nucleus of an animal treated with control antibody. B: Corticorubral projections of an IN-1 treated animal. The extent of the termination area is enlarged (arrow). Scale bar (A, B), 120 µm. C: Typical projection pattern of corticopontine fibers originating from the forelimb motor cortex at the mid-pontine level of an animal treated with control antibody. Note the small contralateral projection (arrowheads). D: Projection fields of corticopontine fibers at mid-pontine level of an IN-1 treated animal, showing a large increase of contralateral projections and their arborization in the typical forelimb areas (arrows). The position of the midline is indicated by an arrow. Scale bar (C, D), 240 µm. With permission, © Nature Neuroscience (1998) 1, 124–131.

soziierten Hemmstoffe neutralisiert und somit die «passende» Umgebung schafft. Das Faserwachstum erfolgt in präziser Weise und ist topographisch organisiert. All diese Beobachtungen passen zu Ergebnissen früherer Studien, die in neonatalen Tieren durchgeführt wurden: auch hier wurde ein Kreuzen der Korticospinalfasern auf der Ebene des Rückenmarks beschrieben.

Der Präzisionsgriff ist permanent beeinträchtigt nach einer einseitigen Korticospinaltraktläsion auf Höhe der Dekussation im Erwachsenen, und die spontane Erholung ist nur sehr gering. Eine sehr gute funktionelle Erholung, wie wir sie in den lädierten, IN-1-behandelten Tieren beobachtet haben, wurde bisher nur nach neonatalen Läsionen beschrieben. Natürlich wissen wir nicht, ob die beobachtete funktionelle Erholung und die strukturellen Veränderungen im Rückenmark und in bestimmten Hirnstammkernen kausal zusammenhängen. Um dies zu beweisen, müssten wir z. B. alle neuen Fasersprosse durchtrennen und schliesslich zeigen, dass nun ein Verhaltensdefizit vorliegt. So ein Versuch ist jedoch praktisch nicht durchführbar. So können wir momentan nicht ausschliessen, dass auch andere Fasertrakte, wie z. B. der Rubrospinaltrakt mit erhöhtem Aussprossen, in die denervierten Gebiete reagierten, nachdem die Behandlung mit dem Antikörper IN-1 wachstumspermissive Bedingungen geschaffen hat. Versuche, die diese Frage klären könnten, werden im Moment in unserem Labor durchgeführt.

5 PLASTIZITÄT IM ZNS – STABILISIERUNG DURCH NERVENWACHSTUMS-HEMMSTOFFE

Wie bereits in der Einleitung dargestellt, fallen die Myelinisierung und das Ende der plastischen Periode (oft auch «kritische Periode» genannt) zeitlich zusammen (Review KAPFHAMMER, 1996). Die myelin-assoziierten Hemmstoffe sind sehr wahrscheinlich daran beteiligt, die wachstumspermissive Entwicklungsperiode zu beenden. Das bedeutet, dass die neuronalen Verbindungen durch die Myelinisierung stabilisiert werden. Eine solche Stabilisierung der Faserverbindungen im ZNS könnte sinnvoll sein in Anbetracht der enorm komplexen Verschaltung des ZNS. Trotzdem kann es, z. B. im Kortex, zu funktionellen Reorganisationen kommen, die eine Anpassung an eine Läsion oder veränderte Umwelt darstellen (z. B. MERZENICH & KAAS, 1982; PONS et al., 1991; CASTRO-ALAMANCOS & BORRELL, 1995; ROULLER et al., 1998; Review KAAS, 1991). Ebenso beobachtete man Sprossung im Hippocampus nach Langzeitpotenzierung (COTMAN et al., 1981; STEWARD, 1991). All diese Sprossungsvorgänge sind jedoch räumlich stark eingeschränkt, was vermutlich u. a. der Wachstumshemmung durch myelin-assoziierte Inhibitoren zuzuschreiben ist. Die myelin-assoziierten Wachstumshemmstoffe sind für eine solche Aufgabe geeignet, da ihre inhibitorische Aktivität auf viele Neurone wirkt und sie im ganzen ZNS vorhanden sind. Ihr regionales Vorkommen in der grauen Substanz ist unterschiedlich hoch und

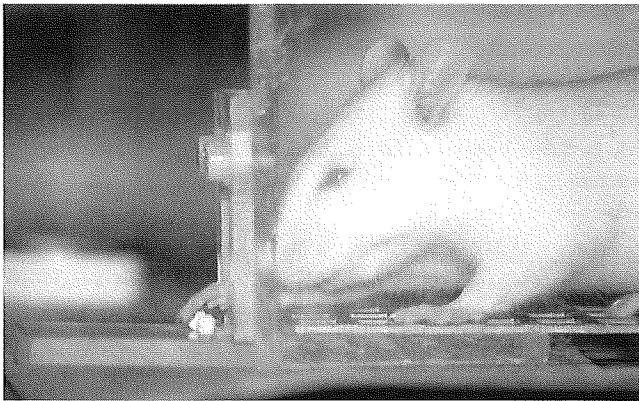
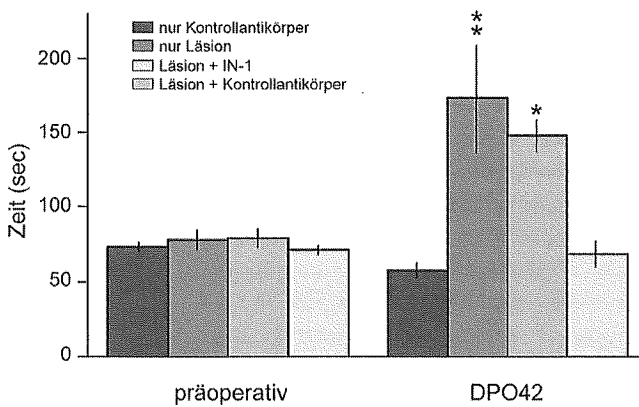


Abb. 6. Applikation des Antikörpers IN-1 führt zu einer funktionellen Erholung in einem Greiftest. Quantitative Auswertung (Zeit, um 20 Pellets zu greifen) vor der Läsion (präoperativ) und 42 Tage nach der Operation (DPO42; oben). Testaufbau (unten). Dieser Test zeigte, dass verletzte, IN-1 behandelte Tiere sieben Wochen nach der Verletzung genauso gut greifen wie vor der Läsion, während Tiere, die nur lädiert bzw. lädiert und mit Kontrollantikörper behandelt wurden, für diesen Test viel mehr Zeit benötigten. Die Durchschnittswerte der einzelnen Gruppen sind dargestellt (nur IN-1 bzw. nur Kontrollantikörper N=4; nur Läsion N=10; Läsion + IN-1 bzw. Läsion + Kontrollantikörper N=10). Die Sterne zeigen einen signifikanten Unterschied zu den Tieren an, die nur mit Kontrollantikörper behandelt wurden (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; Kruskal-Wallis-Test). Mit freundlicher Genehmigung © aus Nature Neuroscience (1998) 1, 124–131 und © aus J. Neurosci. (1998) 18, 4744–4757.

Fig. 6. Application of the monoclonal antibody IN-1 leads to functional recovery in a food pellet reaching task. Quantitative measurements (time needed to grasp 20 pellets) prior to the lesion (preoperative) and 42 days after the lesion (DPO42; upper panel). Testing set-up (lower panel). These results reveal improvements in IN-1 treated animals to nearly normal performance levels six weeks after surgery. Asterisks indicate significance in reference to antibody only animals: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; Kruskal-Wallis test. With permission, © Nature Neuroscience (1998) 1, 124–131 and © J. Neurosci. (1998) 18, 4744–4757.

vermag so Wachstumsprozesse verschieden stark zu limitieren. Um nach einer Läsion Regeneration oder strukturelle

Plastizität (kompensatorisches Faserwachstum) – und damit eine bessere funktionelle Erholung zu erhalten –, muss man also versuchen, die myelin-assoziierten Hemmstoffe zu neutralisieren. Neue Antisera sowie Fab-Fragmente des IN-1-Antikörpers (BANDTLOW et al., 1996) werden derzeit in unserem Labor getestet.

6 DANK

Ich danke allen, die zu den hier zusammengefassten Arbeiten beigetragen haben: Josef Kapfhammer, Patrik Vanek, Gerlinde Metz, Werner Z'Graggen, Olivier Raineteau, unserem Fotograf Roland Schöb, unserer Graphikerin Eva Hochreutener und vor allem Prof. Martin Schwab.

7 LITERATUR

- BANDTLOW, C., SCHIWECK, W., TAI, H. H., SCHWAB, M. E. & SKERRA, A. 1996. The Escherichia coli-derived Fab fragment of the IgM/kappa antibody IN-1 recognizes and neutralizes myelin-associated inhibitors of neurite growth. – Eur. J. Biochem. 241, 468–475.
- BATES, C.A. & STELZNER, D.J. 1993. Extension and regeneration of corticospinal axons after early spinal injury and the maintenance of corticospinal topography. – Exp. Neurol. 123, 106–117.
- BENOWITZ, L.I. and PERRONE-BIZZOZERO, N.I. 1991. The expression of GAP-43 in relation to neuronal growth and plasticity: when, where, how and why? – Prog. Brain Res. 89, 69–87.
- BREGMAN, B. S., KUNKEL-BAGDEN, E., SCHNELL, L., DAI, H. N., GAO, D. & SCHWAB, M. E. 1995. Recovery from spinal cord injury mediated by antibodies to neurite growth inhibitors. – Nature 378, 498–501.
- CAO, Y., VIKINGSTAD, E. M., HUTTENLOCHER, P. R., TOWLE, V. L. & LEVIN, D. N. 1994. Functional magnetic resonance studies of the reorganization of the human hand sensorimotor area after unilateral brain injury in the perinatal period. – Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91, 9612–9616.
- CARONI, P. & SCHWAB, M. E. 1988a. Two membrane protein fractions from rat central myelin with inhibitory properties for neurite growth and fibroblast spreading. – J. Cell Biol. 106, 1281–1288.
- CARONI, P. & SCHWAB, M. E. 1988b. Antibody against myelin-associated inhibitor of neurite growth neutralizes nonpermissive substrate properties of CNS white matter. – Neuron 1, 85–96.
- CARR, L. J., HARRISON, L. M., EVANS, A. L. & STEPHENS, J. A. 1993. Patterns of central motor reorganization in hemiplegic cerebral palsy. – Brain 116, 1223–1247.
- CASTRO-ALAMANCOS, M.A. & BORRELL, J. 1995. Functional recovery of forelimb response capacity after forelimb primary motor cortex damage in the rat is due to the reorganization of adjacent areas of cortex. – Neurosci. 68, 793–805.

- CLARKE, J.D.W., ALEXANDER, R. & HOLDER, N. 1988. Regeneration of descending axons in the spinal cord of the axolotl. – *Neurosci. Lett.* 89, 1–6.
- COTMAN, C.W., NIETRO-SAMPEDRO, M. & HARRIS, E.W. 1981. Synapse replacement in the nervous system of adult vertebrates. – *Physiol. Rev.* 61, 684–784.
- DAVIES, B.M., AYERS, J.L., KORAN, L., CARLSON, J., ANDERSON, M.C. & SIMPSON Jr., S.B. 1990. Time course of salamander spinal cord regeneration and recovery of swimming: HRP retrograde tracing and kinematic analysis. – *Exp. Neurol.* 108, 198–213.
- DAVIES Jr., G.R. & MCCLELLAN, A.D. 1994. Long distance axonal regeneration of identified lamprey reticulospinal neurons. – *Exp. Neurol.* 127, 94–105.
- DAVID, S. & AGUYAO, A.J. 1981. Axonal elongation into peripheral nervous system «bridges» after central nervous system injury in adult rats. – *Science* 214, 931–933.
- KAAS, J.H. 1991. Plasticity of sensory and motor maps in adult mammals. – *Annu. Rev. Neurosci.* 14, 137–167.
- KALIL, K. & REH, T. 1982. A light and electron microscopic study of regrowing pyramidal tract fibers. – *J. Comp. Neurol.* 211, 265–275.
- KAPFFHAMMER, J. P. 1996. Restriction of plastic fiber growth after lesions by central nervous system myelin-associated neurite growth inhibitors. – In: «Brain Plasticity, Advances in Neurology», Freund, H.-J., Sabel, B.A. and Witte O.W. (Eds.), 73, 7–27. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.
- KAPFFHAMMER, J. P. & SCHWAB, M. E. 1994a. Inverse patterns of myelination and GAP-43 expression in the adult CNS: neurite growth inhibitors as regulators of neuronal plasticity? *J. Comp. Neurol.* 340: 194–206.
- KAPFFHAMMER, J. P. & SCHWAB, M. E. 1994b. Increased expression of the growth-associated protein GAP-43 in the myelin-free rat spinal cord. – *Eur. J. Neurosci.* 6, 403–411.
- KARTJE-TILLOTSON, G. & CASTRO, A.J. 1980. Limb preference after unilateral pyramidotomy in adult and neonatal rats. – *Physiol. Behav.* 24, 293–296.
- KENNARD, M.A. 1936. Age and other factors in motor recovery from precentral lesions in monkeys. – *Am. J. Physiol.* 115, 138–146.
- KENNARD, M.A. 1938. Reorganization of motor function in the cerebral cortex of monkeys deprived of motor and premotor areas in infancy. – *J. Neurophysiol.* 1, 477–496.
- KOLB, B. & WHISHAW, I.Q. 1989. Plasticity in the neocortex: mechanisms underlying recovery from early brain damage. – *Prog. Neurobiol.* 32, 235–276.
- KUANG, R.Z. & KALIL, K. 1990. Specificity of corticospinal axon arbors sprouting into denervated contralateral spinal cord. – *J. Comp. Neurol.* 302, 461–472.
- LURIE, D.I. & SELZER, M.E. 1991. Axonal regeneration in the adult lamprey spinal cord. – *J. Comp. Neurol.* 306, 409–416.
- MERZENICH, M.M. & KAAS, J.H. 1982. Reorganization of mammalian somatosensory cortex following peripheral nerve injury. – *Trends Neurosci.* 5, 434–436.
- PONS, T.P., GARRAGHTY, P.E., OMMAYA, A.K., KAAS, J.H., TAUB, E. & MISHKIN, M. 1991. Massive cortical reorganization after sensory deafferentation in adult macaques. – *Science* 252, 1857–1860.
- ROULLIER, E.M., YU, X.H., MORET, V., TEMPINI, A., WIESENDANGER, M. & LIANG, F. 1998. Dexterity in adult monkeys following early lesion of the motor cortical hand area: the role of cortex adjacent to the lesion. – *Eur. J. Neurosci.* 10, 729–740.
- SCHNELL, L. & SCHWAB, M. E. 1990. Axonal regeneration in the rat spinal cord produced by an antibody against myelin-associated neurite growth inhibitors. – *Nature* 343, 269–272.
- SCHNELL, L. & SCHWAB, M. E. 1993. Sprouting and regeneration of lesioned corticospinal tract fibres in the adult rat spinal cord. – *Eur. J. Neurosci.* 5, 1156–1171.
- SCHNELL, L., SCHNEIDER, R., KOLBECK, R., BARDE, Y. A. & SCHWAB, M. E. 1994. Neurotrophin-3 enhances sprouting of corticospinal tract during development and after adult spinal cord lesion. – *Nature* 367, 170–173.
- SCHREYER, D.J. & JONES, E.G. 1983. Growing corticospinal axons by-pass lesions of neonatal rat spinal cord. – *Neuroscience* 9, 31–40.
- SCHWAB, M. E. & THOENEN, H. 1985. Dissociated neurons regenerate into sciatic but not optic nerve explants in culture irrespective of neurotrophic factors. – *J. Neurosci.* 5, 2415–2423.
- SCHWAB, M.E. & BARTHOLDI, D. 1996. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. – *Physiol. Rev.* 76, 319–370.
- SCHWEGLER, G., SCHWAB, M. E. & KAPFFHAMMER, J. P. 1995. Increased collateral sprouting of primary afferents in the myelin-free spinal cord. – *J. Neurosci.* 15, 2756–2767.
- SHARMA, S.C., JADHAO, A.G. & PRASADA RAO, P.D. 1993. Regeneration of supraspinal projection neurons in the adult goldfish. – *Brain Res.* 620, 221–228.
- SHIMIZU, I., OPPENHEIM, R.W., O'BRIEN, M. & SHNEIDERMAN, A. 1990. Anatomical and functional recovery following spinal cord transection in the chick embryo. – *J. Neurobiol.* 21, 918–937.
- SKENE, P. 1989. Axonal growth-associated proteins. – *Annu. Rev. Neurosci.* 12, 127–156.
- SPERRY, R.W. 1944. Optic nerve regeneration with return of vision in anurans. – *J. Neurophysiol.* 7, 57–69.
- SPILLMANN, A. A., AMBERGER, V. R. & SCHWAB, M. E. 1997. High molecular weight protein of human central nervous system myelin inhibits neurite outgrowth: An effect which can be neutralized by the monoclonal antibody IN-1. – *Eur. J. Neurosci.* 9, 549–555.
- SPILLMANN, A.A., BANDTLOW, C.E., LOTTSPEICH, F., KELLER, F. & SCHWAB, M.E. 1998. Identification and characterization of a bovine neurite growth inhibitor (bNI-220). – *J. Biol. Chem.* 273, 19283–19293.

- STEWART, O. 1991. Synapse replacement on cortical neurons following denervation. – *Cerebral Cortex* 9, 81–132.
- STRITTMATTER, S.M., VARTANIAN, T. & FISHMAN, M. 1992. GAP-43 as a plasticity protein in neuronal form and repair. – *J. Neurobiol.* 23, 507–520.
- TELLO, F. 1911. La influencia del neurotropismo en la regeneracion de los centros nerviosos. – *Trab. Lab. Invest. Biol.* 9, 123–159.
- THALLMAIR, M., METZ, G. A. S., Z'GRAGGEN, W. J., RAINETEAU, O., KARTJE, G. L. & SCHWAB, M.E. 1998. Neurite growth inhibitors restrict plasticity and functional recovery following corticospinal tract lesions. – *Nature Neurosci.* 1, 124–131.
- TOLBERT, D.L. & DER, T. 1987. Redirected growth of pyramidal tract axons following neonatal pyramidotomy in cats. – *J. Comp. Neurol.* 260, 299–311.
- VANEK, P., THALLMAIR, M., SCHWAB, M. E. & KAPFHAMMER, J. P. 1998. Increased lesion-induced sprouting in the myelin-free rat spinal cord. – *Eur. J. Neurosci.* 10, 45–56.
- XU, X.M. & MARTIN, G.F. 1991. Evidence for new growth and regeneration of cut axons in developmental plasticity of the rubrospinal tract in the North American opossum. – *J. Comp. Neurol.* 313, 103–112.
- Y CAJAL, R. 1928, 1959. Degeneration and regeneration of the nervous system. Hafner, New York.
- Z'GRAGGEN, W.J., METZ, G. A. S., KARTJE, G.L., THALLMAIR, M. & SCHWAB, M.E. 1998. Functional recovery and enhanced corticofugal plasticity after unilateral pyramidal tract lesion and blockade of myelin-associated neurite growth inhibitors in adult rats. – *J. Neurosci.* 18, 4744–4757.

Michaela Thallmair, Institut für Hirnforschung, Universität Zürich und ETH Zürich, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich, Tel. 0041-1-63 53 217, Fax 0041-1-63 53 303, E-mail: thallm@hifo.unizh.ch