

1. Juni 1994

Diss.ETH No 10626

## INTEGRATIVE PROPERTIES OF MOTONEURONS

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY, ZURICH

for the degree of  
DOCTOR OF NATURAL SCIENCES

presented by  
DANIEL ULRICH  
Dipl.Natw.ETH  
born July 8, 1965  
citizen of Schaffhausen/SH

accepted on the recommendation of  
Prof.Dr. Klaus Hepp, examiner  
Prof.Dr. Hans-R. Lüscher, co-examiner

1994

Zürich 20.5.94

K. Hepp

## Summary

### **Integrative properties of motoneurons and synaptic transmission**

The introduction reviews the current concepts of how motoneurons integrate information and delivers the mathematical and physical background of the frequently used equivalent cylinder and compartment computer models. In the second part the basic concepts of synaptic transmission are derived for the peripheral and central nervous system with emphasis on excitatory glutamatergic synapses.

### **Electrotonic structure of motoneurons in spinal cord slice cultures: A comparison of compartmental and equivalent cylinder models.**

A combined morphological and electrophysiological study was performed on morphologically identified motoneurons in organotypic slice cultures of embryonic rat spinal cord by means of the whole cell configuration of the patch clamp technique. The morphology of biocytin labelled cells was analysed quantitatively with respect to the requirements which would allow the reduction of the dendritic tree to an equivalent cylinder. It was found that the morphological conditions by which this reduction can be performed are not met by the cells analysed. At individual binary branch points the ratio between the sum of the diameters of the daughter branches and the parent branch each raised to the  $3/2$  power was always greater than unity. Individual dendritic trees terminated at different electrotonic distances from the soma resulting in a global taper of the equivalent cylinder. Voltage and current clamp data were used to estimate the electrotonic parameters of the cells. It was found that among the different formulas which are used to estimate the electrotonic length of

the dendritic tree the one incorporating the slowest voltage and current clamp time constants corresponded best to the mean dendritic path length. Compartment computer models were constructed and the electrotonic parameters estimated by matching experimental and simulated voltage transients at the soma. Satisfying fits could be found with a uniform membrane resistivity and a higher cytosolic resistivity than assumed in most previous studies. The mean attenuation of synaptic inputs, simulated by injecting currents into distal dendritic compartments and measuring them at the soma was similar to the attenuation of synaptic currents calculated for the equivalent cylinder model. It was concluded that the equivalent cylinder model is a sufficiently accurate model to simulate the electrotonic decay of synaptic signals although the morphological requirements by which the dendritic tree can be reduced to an equivalent cylinder are not exactly met. It was further suggested that the nonuniform membrane resistivity obtained from microelectrode experiments may represent an impalement artifact which was circumvented in the present study and that the cytosolic resistivity might be considerably higher than previously assumed.

### **Miniature excitatory synaptic currents corrected for dendritic cable properties reveal quantal size and variance**

Fast glutamatergic, action potential independent miniature excitatory postsynaptic currents (mEPSCs) were recorded from motoneurons in organotypic slice cultures of embryonic rat spinal cord by means of the patch clamp technique. The mEPSCs were selected automatically from continuous recordings and classified by their shape indices amplitude, halfwidth and time to peak. The correlation between halfwidth and time to peak was high as could be expected for signals of similar time course originating from different electrotonic distances from the soma. In contrast, there was a poor correlation between time to peak and amplitude. Amplitude histograms of mEPSCs were unimodal and skewed toward larger events. The membrane time

constant and electrotonic length of individual cells were estimated by peeling exponentials from capacitive off current transients and estimating the roots of the cable equation with a sealed end and a voltage clamp boundary condition. The electrotonic decay of synaptic currents was simulated by the convolution of an alpha function with an impulse response function. The mEPSCs were then corrected for imperfect space clamp. The amplitude histograms of corrected mEPSCs were bimodal and could be fitted by the sum of two exponential functions by means of a maximum likelihood estimator. The amplitude ratio of the two Gaussians was 2:1 with an additive variance. It was concluded that quantal size and variance are masked by the dendritic cable properties of the neuron and that spontaneous release of more than one quantum may occur occasionally. The variability of quantal size is close to it's counterpart at the neuromuscular junction.

## **Kurzfassung**

### **Integrative Eigenschaften von Motoneuronen und synaptische Transmission**

Die Einleitung gibt einen Überblick über gängige Modelle zum Studium integrativer Eigenschaften von Motoneuronen und über die Grundlagen synaptischer Übertragung im peripheren und zentralen Nervensystem mit Schwerpunkt auf glutamatergen Synapsen. Die mathematischen und physikalischen Grundlagen von Äquivalentzylinder- und Kompartimentmodellen werden detailliert hergeleitet.

### **Elektrotonische Struktur von Motoneuronen in organotypischen Rückenmarkskulturen: Ein Vergleich zwischen Kompartimentmodellen und Äquivalentzylindermodellen.**

Eine Kombination morphologischer und elektrophysiologischer Studien wurde an morphologisch identifizierten Motoneuronen in organotypischen Kulturen des embryonalen Rückenmarks der Ratte mittels Patch Clamp Messungen durchgeführt. Die Morphologie von mit Biocytin gefärbten Zellen wurde rekonstruiert und speziell im Hinblick auf eine mögliche Reduktion des Dendritenbaums auf einen Äquivalentzylinder hin untersucht. Es wurde gefunden, dass die Bedingungen unter welchen diese Reduktion durchgeführt werden könnte nicht erfüllt sind. Das Verhältnis aus der Summe der Durchmesser hoch  $3/2$  der Tochterdendriten dividiert durch den Durchmesser hoch  $3/2$  des Parentaldendriten war grösser als eins an einzelnen binären Verzweigungspunkten. Die verschiedenen Dendritenbäume einer Zelle waren von unterschiedlicher elektrotonischer Länge, was zu einer globalen Verjüngung des Äquivalentzylinders zum distalen Ende hin führte. Daten aus Spannungs- und Stromklemmexperimenten wurden dazu verwendet, die

elektrotonischen Parameter der Zellen zu bestimmen. Es stellte sich heraus, dass von den verschiedenen Formeln die zur Schätzung der elektrotonischen Länge von Neuronen verwendet werden können, diejenige die mittlere elektrotonische Länge am besten approximiert, welche je die langsamsten Zeitkonstanten aus Spannungs- und Stromklemmexperimenten verwendet. Anschliessend wurden Kompartimentmodelle der Nervenzellen hergestellt und die elektrotonischen Parameter durch Abstimmung experimenteller und simulierter Spannungstransienten am Soma geschätzt. Eine zufriedenstellende Übereinstimmung simulierter und gemessener Transienten konnte gefunden werden für einen homogenen spezifischen Membranwiderstand und einen zytosolischen spezifischen Widerstand, der beträchtlich höher war als die zur Zeit gebräuchlichen Werte. Der mittlere elektrotonische Abfall eines synaptischen Stroms wurde quantifiziert, indem synaptische Ströme in distale dendritische Kompartimente injiziert und deren Amplitude und Zeitverlauf am Soma berechnet wurden. Ein gleichartiger elektrotonische Abfall eines synaptischen Stroms wurde für ein Äquivalentzylindermodell gerechnet. Daraus wurde geschlossen, dass das Äquivalentzylindermodell eine ausreichende Genauigkeit zur Berechnung des elektrotonischen Abfalls synaptischer Signale besitzt, obwohl die morphologischen Bedingungen nicht erfüllt sind, unter welchen ein Dendritenbaum auf einen Äquivalentzylinder reduziert werden kann. Zusätzlich wurde vermutet, dass der inhomogene spezifische Membranwiderstand, welcher bei Experimenten mit Mikroelektroden gefunden wurde, einen Einstechartefakt darstellt.

**Spontane exzitatorische postsynaptische Ströme, korrigiert für dendritische Kabeleigenschaften, enthüllen Grösse und Variabilität eines synaptischen Quants.**

Spontane exzitatorische postsynaptische Ströme, welche unabhängig von

Aktionspotentialen auftreten (mEPSCs) wurden mittels Patch clamp Messungen von Motoneuronen in organotypischer Kultur des embryonalen Rückenmarks der Ratte abgeleitet. Die Signale wurden automatisch detektiert und anhand ihrer Amplitude, Anstiegszeit und Halbbreite klassifiziert. Eine gute Korrelation bestand zwischen Halbbreite und Anstiegszeit. Dies konnte erwartet werden, wenn gleichförmige synaptische Signale von elektrotonisch verschieden entfernten Arealen der Zelle herkommen. Demgegenüber war die Korrelation zwischen Amplitude und Anstiegszeit nur schwach. Amplitudenhistogramme von mEPSCs waren unimodal und nach grösseren Amplitudenwerten hin geneigt. Die Membranzeitkonstante und die elektrotonische Länge der Zellen wurde berechnet indem Zeitkonstanten von Exponentialfunktionen aus dem kapazitiven Stromtransienten extrahiert wurden, mit deren Hilfe die Nullstellen der Kabelgleichung mit den entsprechenden Randbedingungen für Spannungsklemme und Leerlauf bestimmt wurden. Anschliessend wurden die Amplituden für den elektrotonischen Abfall der mEPSCs kompensiert. Die Amplitudenhistogramme der kompensierten mEPSCs waren bimodal und konnten mittels Maximisierung einer Likelihoodfunktion mit der Summe zweier Gausskurven gefittet werden. Das Amplitudenverhältnis der Gausskurven war ganzzahlig mit additiver Varianz. Daraus wurde geschlossen, dass die Grösse und Variabilität eines Quants durch die Kabeleigenschaften der Neurone verdeckt werden und dass synchronisierte Freisetzung mehrerer Quanten möglich ist. Es stellte sich ferner heraus, dass die Variabilität eines Quants an zentralen Synapsen gleich ist wie an der neuromuskulären Endplatte.