



Doctoral Thesis

Quantitative analysis of the morphology of neurons in cat visual cortex

Author(s):

Binzegger, Tom

Publication Date:

2000

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004003621> →

Rights / License:

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

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No 13746

Quantitative analysis of the morphology of neurons in cat visual cortex

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

for the degree of

Doctor of Natural Sciences

presented by

Tom Binzegger

Dipl. Math. ETH

Born on the 31. of March 1967

Citizen of Baar, ZG

Examiners

Prof. Dr. Rodney J. D. Douglas

Prof. Dr. Hans R. Lüscher

Prof. Dr. Kevan A. C. Martin

2000

Abstract

A prominent feature of cortical cells ('neurons') is the formation of complex axonal and dendritic trees that innervate the three dimensional cortical space to communicate with other cortical neurons. In this work certain aspects of the trees were investigated and described quantitatively for individual neurons.

The first chapter introduces the basic framework upon which this work should be seen. In a historical overview it is shown that the current understanding of our brain is that of a highly complex network of neurons which are specialised to process and exchange signals with many thousands of other neurons in the network. It is argued that the complicated connectivity pattern, involving about 10^{12} neurons and 10^{15} contacts between neurons ('synapses') can be largely understood by the study of the three dimensional structure of the dendritic and axonal trees of a relatively small sample of neurons. The main argument is that the cortical network can be viewed as the multiple repetition of a small number of neurons with stereotyped axonal and dendritic trees which are interconnected according to some few principles. For a better understanding of the cortical network it is therefore relevant to describe this small number of 'generic' neurons accurately and to learn more about the principles that governs their interconnections.

For our analysis we used neurons of cat primary visual cortex which had been recovered over several years from *in vivo* experiments. The second chapter outlines in detail the experimental methods that were used to obtain these neurons. The receptive field properties of the neurons were determined with intracellular recordings. Subsequently the neurons were labelled with horseradish peroxidase ('HRP'), so that the complete dendritic and axonal branching patterns could be reconstructed in three dimensions with the aid of a computerised light microscope. Thus we were in the quite rare situation of knowing the receptive field properties of the neurons together with their three dimensional dendritic and axonal structures.

In the third chapter we focused on dendritic trees and investigated to what extent their shape can contribute to the formation of receptive field properties. Livingstone (1998) suggested recently that asymmetries in the tangential spread of the dendrites of a neuron could be responsible for the emergence of direction selectivity. This model makes the strong prediction that the direction of the asymmetry ('dendritic bias') of the tangential spread of the dendrite is correlated with the preferred stimulus direction of the neuron. We quantified the dendritic bias for 30 neurons and showed that no such correlation exists. It is argued that direction selectivity is more likely to emerge from a collective computation of many neurons in a network.

In the fourth chapter the axonal trees were more closely investigated. We were primarily interested in the three dimensional distribution of the small swellings ('boutons') that are formed on the axonal branches and can be recognised at the light microscope level. Boutons are of interest because the presynaptic terminals, which can only be recognised in the electron microscope, are formed at these sites. The boutons of a neuron are not homogeneously distributed in cortical space, but tended to be located in a particular cortical layer and within a layer they tended to be segregated into clusters. We therefore applied an algorithm that determined the bouton clusters of 32 neurons in an objective way. The clusters of each neuron were then studied and described by a mixture of three dimensional normal distributions. The distributions were used to estimate the number of boutons that each cell type contributes to the different cortical layers. It was further tested how far the horizontal distribution of the bouton locations are determined by the receptive field properties of the cell. In addition to the formation of clusters, which agrees well with the hypothesis that cells of similar receptive field properties are connected, the location of the layer 6 pyramidal cells tended to be aligned on an axis that is perpendicular to the preferred stimulus orientation of the cell.

The three dimensional distribution of the bouton cloud provides useful information about the location of contacted cells within the cortex. On a smaller scale the bouton distributions along the axonal branches becomes relevant. This one dimensional distribution, which is studied in chapter 5, can reveal principles of synapse formation between the an axonal branch and the closely apposed neurons along that branch. There are regions on the axonal tree for which the axonal branches form only few synapses with the cells in the local environment. The boutons tend to be located towards the 'leaves' of the axonal tree. The distribution of the distances between neighbouring boutons in this region allows one to think that the bouton placement along a branch could follow a Poisson process (i.e. the boutons are placed randomly along the branch). However, long distances appear to occur more frequently than one would expect from a simple Poisson process. The average interbouton distance could be dramatically different even for cells in the same cell class. We observed that in general the average interbouton distance increases with the percentage of spines that are contacted by the neuron.

The last chapter summarises the results.

Zusammenfassung

Ein besonderes Merkmal kortikaler Nervenzellen ('Neuronen') sind ihre komplexen Axone und Dendritenbäume. Diese werden benutzt, um im Kortex mit anderen Neuronen zu kommunizieren. In der vorliegenden Arbeit wurden gewisse Aspekte der Baumstrukturen untersucht und quantitativ beschrieben.

Das erste Kapitel führt die Grundgedanken ein, auf denen diese Arbeit aufbaut. In einem historischen Überblick wird gezeigt, dass unser gegenwärtiges Verständnis des Gehirns das eines komplexen Netzwerkes von Neuronen ist, welche darauf spezialisiert sind, Signale zu verarbeiten und mit vielen anderen Neuronen im Netzwerk auszutauschen. Es werden Gründe aufgezeigt, dass das komplizierte Verbindungsmuster von etwa 10^{12} Neuronen und etwa 10^{15} Kontaktpunkten ('Synapsen') vom Prinzip her verstanden werden kann, durch die Untersuchung der drei-dimensionalen Struktur der Axone und Dendritenbäume einer relative kleinen Anzahl von Neuronen. Hierbei lautet das Hauptargument, dass das kortikale Netzwerk als die vielfache Wiederholung einer kleinen Anzahl von Neuronen mit stereotypen Axonen und Dendritenbäumen aufgefasst werden kann, welche sich nach einigen wenigen Prinzipien miteinander verbinden. Für ein besseres Verständnis des kortikalen Netzwerkes ist es daher relevant, diese kleine Zahl von 'generischen' Neuronen genau zu beschreiben und mehr über deren Prinzipien der Verbindungen in Erfahrung zu bringen.

Für unsere Analyse benutzen wir Daten von Neuronen der primären Sehrinde der Katze, die aus *in vivo* Experimenten stammen, welche über mehrere Jahre hinweg durchgeführt wurden. Das zweite Kapitel beschreibt detailliert die Methoden, die angewandt wurden, um diese Neuronen zu erhalten. Die Eigenschaften der rezeptiven Felder der Neuronen wurden durch intrazelluläre Ableitungen bestimmt. Danach wurden die Zellen mit Meerrettich Peroxidase gekennzeichnet, um die komplexen Axone und Dendritenbäume anzufärben. Diese konnten dann mit einem computerisierten Lichtmikroskop in drei Dimensionen rekonstruiert werden. Somit sind wir in der recht seltenen Situation, sowohl die Eigenschaften der rezeptiven Felder der Neuronen, als auch deren drei-dimensionale Struktur von Axon und Dendritenbaum zu kennen.

Im dritten Kapitel konzentrieren wir uns auf die Dendritenbäume und untersuchen, inwieweit deren Form zur Bildung von Eigenschaften der rezeptiven Felder beiträgt. Livingstone (1998) schlug kürzlich vor, dass Asymmetrien in der tangentialen Verteilung der Dendritenbäume eines Neurons für das Auftreten der Richtungsselektivität des Neurons verantwortlich sein könnten. In ihrem Modell trifft sie die Annahme, dass die Ausrichtung der Asymmetrie in der tangentialen Ver-

teilung des Dendritenbaumes mit der bevorzugten Stimulusrichtung des Neurons korreliert ist. Indem wir die Ausrichtung für 30 Zellen quantifizierten und mit der bevorzugten Stimulusrichtung verglichen, konnten wir aufzeigen, dass eine solche Korrelation nicht existiert. Desweiteren legen wir dar, dass es wahrscheinlicher ist, dass die Richtungsselektivität durch das kollektive Zusammenwirken vieler Neuronen in einem Netzwerk entsteht.

Im vierten Kapitel werden die Axone genauer untersucht. Wir sind vor allem an der Verteilung der kleinen Schwellungen interessiert, die entlang der Äste des Axons geformt werden und die mit Hilfe des Lichtmikroskops erfasst werden können. Diese Schwellungen sind interessant, da Synapsen, welche nur mit dem Elektronenmikroskop beobachtet werden können, darauf vorkommen. Die Schwellungen einer Zelle sind nicht gleichmässig im Kortex verteilt, sondern tendieren dazu, sich innerhalb einer bestimmten kortikalen Schicht in Cluster aufzuteilen. Wir benutzen daher ein Computerprogramm, das uns in einer objektiven Art und Weise die Cluster von 32 Neuronen bestimmt. Die Cluster jedes Neurons wurden dann analysiert und durch eine Summe von drei-dimensionalen Normalverteilungen beschrieben. Die Verteilungen werden herangezogen, um die Anzahl von Schwellungen, die in bestimmten Zellklassen auftreten, für jede kortikale Schicht abzuschätzen. Weiterhin wird getestet, inwieweit die horizontale Verteilung der Schwellungen mit den Eigenschaften der rezeptiven Felder korreliert. Die Formation der Cluster stimmt gut mit der Hypothese überein, dass sich diejenigen Zellen miteinander verbinden, welche die gleichen Eigenschaften in den rezeptiven Feldern besitzen. Zusätzlich tendieren die Cluster der Pyramidenzellen von Schicht 6 dazu, sich entlang einer Achse zu formieren, die rechtwinklig zur bevorzugten Stimulusorientierung des Neurons steht.

Die räumliche Verteilung der Schwellungen entlang eines Axons erteilt uns nützliche Informationen über den Standort von Kontaktstellen zu anderen Zellen. In einer grösseren Auflösung wird die Verteilung der Schwellungen entlang eines Zweiges des Axons relevant. Diese ein-dimensionale Verteilung, welche in Kapitel 5 näher studiert wird, kann Hinweise darauf geben, nach welchen Prinzipien der Ast Synapsen mit nahe gelegenen Neuronen formt. Zum einen wurden Regionen auf dem Axon beobachtet, in denen die Äste fast keine Synapsen mit Neuronen formten. Die Schwellungen sind tendenziell eher in der Nähe der 'Blätter' des axonalen Baumes anzutreffen. Zum anderen verleitet die Verteilung der Distanzen zwischen den Schwellungen zur Annahme, dass sich die Schwellungen gemäss eines Poisson Prozesses (also zufällig) entlang eines Astes formieren. Jedoch erscheinen grosse Distanzen häufiger als von einem Poisson Prozess erwartet werden würde. Der Mittelwert der Distanzen zwischen den Schwellungen kann recht dramatische Unterschiede für verschiedene Zellen der selben Klasse aufweisen. Gemäss unseren Daten vergrössert sich im allgemeinen der Mittelwert mit Zunahme der relativen Anzahl von Dendritendornen ('Spines'), die von einem Neuron kontaktiert werden.

Das letzte Kapitel fasst die Resultate zusammen.