



Doctoral Thesis

## **From single neurons to the matrix a quantitative description of mouse primary auditory cortex (A1)**

**Author(s):**

Perrella, Marco

**Publication Date:**

2013

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010210616> →

**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 21703

**FROM SINGLE NEURONS TO THE MATRIX:**  
A quantitative description of mouse primary auditory cortex (A1)

A thesis submitted to attain the degree of  
DOCTOR OF SCIENCES of ETH Zurich  
(Dr. sc. ETH Zurich)

Presented by

Marco Perrella  
Master of Science in Biotechnology

Born on 21.10.1981

Citizen of Italy (Milano)

Accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. Kevan A.C Martin  
Prof. Dr. Daniel Kiper  
Prof. Dr. Stephan Neuhauss

2013

### ABSTRACT

The goal of this project is to understand if a common wiring pattern exists across the mammalian cortices without reference to the particular computation that is performed in that area. In order to test this *canonical microcircuit* hypothesis (Douglas and Martin, 1989), a quantitative comparison between different cortical areas is required. According to the canonical view of cortical computation, the inputs from the thalamus reach the middle layers first and then the superficial ones. From layer 2 and 3, the inputs are sent to the deep layers. Layer 5 mainly feeds back to subcortical structures and layer 6 closes this loop with feedback to the middle layers.

In this work we sought to obtain a quantitative description of mouse primary auditory cortex (A1) and to compare it with the circuit of cat V1. Cat V1 represents the only cortical area from which a complete descriptive connectivity matrix is available. From other areas, such as macaque V1 and rat S1, we rely mainly on qualitative data. We believe that investigating a different cortical area, in a different species, which lacks the columnar organization of function seen in carnivores, primates, insectivores and ungulates (Hubel and Wiesel, 1962; Mountcastle, 1957) will reveal the ultimate backbones of the cortical architecture. The results presented in this thesis will contribute to the creation of a biologically relevant model of processing in A1, whose computation and structural properties are still largely unknown in comparison to other more investigated areas such as the visual or the somatosensory cortex.

In order to obtain such a connection matrix, a finely detailed description of the axonal and dendritic arbors of A1 neurons is essential. Therefore, we labeled mouse A1 neurons *in vivo* with intracellular injections of horseradish peroxidase (HRP) and we manually reconstructed their morphology in 3-D. The laminar location of the somata and the axons and dendrites was based on their distance from the pia and with reference to Nissl staining and osmicated sections. As a complementary aspect of this project we estimated the number of neurons in A1 by staining their nuclei with an antibody directed against the nuclear protein NeuN. By using these two main datasets and relying on the assumption that the expected number of connections between two neurons is directly proportional to the product of their dendritic and axonal tree densities (known as Peter's Rule) we have provided the first draft of the connectivity matrix of mouse A1.

Compared to other cortical areas such as cat V1, we observed differences such as the absence of spiny stellate cells in layer 4 and the lack of any axonal clusters in the superficial layers. Nevertheless, the large majority of morphological types we reconstructed displayed striking similarities with the anatomy of the neurons recovered from different cortical areas observed in literature. It appeared that the differences between the cortical circuits are largely due to the different proportion of neurons which participate in the circuit, in particular by the ratio between layer 4 and 5, with the latter being extremely developed in A1.

This predominance of layer 5 in A1 could be associated with a higher requirement for feedback projections in A1. This is in line with the idea that there is substantial preprocessing of sound before reaching the cortex. Moreover the degree of recurrence within laminae and the bias of the axons along the mediolateral axis suggests that the computation that takes place in the deep layers is different from that in the superficial

layers, probably underlying a solution adopted by evolution to optimize the processing of information in the small rodent's brain.

## COMPENDIO

Lo scopo di questo progetto è di comprendere se tra le diverse cortecce cerebrali di diversi mammiferi esista uno schema di connessione comune, indipendente dal particolare tipo di computazione svolta in quell'area. Per testare questa ipotesi dei microcircuiti canonici (Douglas and Martin, 1989) è necessario un confronto quantitativo tra le diverse aree corticali.

In accordo con l'idea dei circuiti canonici sottostanti la computazione corticale, le informazioni provenienti dal talamo prima raggiungono gli strati intermedi e poi arrivano a quelli più superficiali. Dagli strati 2 e 3 queste informazioni sono inviate agli strati più profondi. Lo strato 5 agisce principalmente come *feedback* su strutture subcorticali e lo strato 6 chiude questo circolo con un feedback agli strati intermedi.

La corteccia primaria di gatto (V1) costituisce l'unica area corticale per la quale matrice di connettività è disponibile. Per altre aree come la V1 di macaco e la S1 di ratto, solo una descrizione qualitativa è disponibile.

Con questo lavoro abbiamo mirato ad ottenere una descrizione quantitativa della corteccia uditiva primaria di topo (A1) e di compararla con il circuito di gatto V1. Confidiamo che investigando una diversa area corticale, in una diversa specie priva di quella organizzazione colonnare osservata in carnivori, primati, insettivori e ungulati (Hubel and Wiesel 1962; Mountcastle, 1957) saremo in grado di chiarire lo scheletro dell'architettura corticale. I risultati presentati in questa tesi contribuiranno alla creazione di modelli biologici rilevanti dell'A1, la cui computazione e le proprietà strutturali sono largamente sconosciute rispetto ad altre aree più studiate, come la corteccia visiva e somatosensoriale.

In modo da ottenere una matrice di connettività, una descrizione dettagliata delle ramificazioni assionali e dendritiche dei neuroni di A1 è essenziale. Per questo motivo abbiamo marcato neuroni di A1 attraverso iniezioni intracellulari di perossidasi di rafano (HRP) e abbiamo manualmente ricostruito la loro morfologia in 3-D. La posizione laminare dei soma, degli assoni e dei dendriti nei è stata basata sulla loro distanza dalla pia e in seguito a confronti tra sezioni ottenute con colorazione di Nissl e osmicate. Come parte complementare a questo progetto è stato stimato il numero di neuroni in A1 marcando i loro nuclei con un anticorpo diretto contro la proteina nucleare NeuN.

Usando questi due principali dati e contando sull'assunzione che il numero di connessione tra due neuroni è direttamente proporzionale al prodotto dei loro dendriti ed assoni (nota come Regola di Peters) siamo stati quindi in grado di fornire una prima versione della matrice di connettività dell'A1 di topo.

Rispetto ad altre aree corticali quali V1 di gatto, abbiamo riscontrato differenze nell'assenza di neuroni stellati nel 4 strato e nella mancanza di ogni evidente raggruppamento assonali negli strati superficiali. Ciononostante la maggior parte delle morfologie neuronali ricostruite hanno mostrato particolari similitudini con l'anatomia dei neuroni ricostruiti dalle diverse aree corticali osservabili in letteratura. Da questi dati emerge che la maggior differenza tra i diversi circuiti corticali risiede nel diverso numero di neuroni che partecipa nel circuito ed in particolare nel rapporto del numero di neuroni tra strato 4 e 5, con quest'ultimo particolarmente sviluppato in A1. Questa predominanza dello strato 5 potrebbe essere associata alla maggiore richiesta di proiezioni con funzione di *feedback* in A1. Questo è in linea con l'idea che i suoni siano sottoposti ad un maggiore *pre-processing* prima di raggiungere la corteccia. Inoltre il grado di connessioni reciproche all'interno dei diversi strati e l'orientamento degli assoni lungo l'asse mediolaterale suggeriscono che un processamento di informazioni qualitativamente diverse potrebbe avvenire tra strati superficiali e profondi, probabilmente evidenziando una soluzione adottata dall'evoluzione per ottimizzare il processamento delle informazioni nelle ridotte dimensioni del cervello dei roditori.