



Doctoral Thesis

## **Developmental and Experience-dependent Synaptic Remodeling of a Song-control Brain Region in the Zebra Finch**

**Author(s):**

Huang, Ziqiang

**Publication Date:**

2017

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-b-000228826> →

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. 24673

DEVELOPMENTAL AND EXPERIENCE-DEPENDENT  
SYNAPTIC REMODELING OF A SONG-CONTROL BRAIN REGION  
IN THE ZEBRA FINCH

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

presented by  
ZIQIANG HUANG

Dipl. M.Sc., Georg-August-Universität Göttingen

born on 28.04.1986  
citizen of  
China

accepted on the recommendation of  
Richard Hahnloser  
Sebastian Jessberger  
Michael Griesser

2017

## Abstract

During a developmental critical period, juvenile male zebra finches learn to sing a highly stereotyped song from a tutor bird. Song learning in zebra finches shares many common behavioral, physiological, and neuroanatomical features with other nervous systems that exhibit critical periods. These include development of binocular vision in cat, formation of sensory maps in rodent, and acquisition of language in humans. One important regulatory principle summarized from the various systems is the experience-dependent structural remodeling within the associated brain areas. The brain area HVC, which is the vocal motor cortex analog in the zebra finch brain, plays a crucial role during song learning in juveniles and actively drives production of the learned song in adulthood. Similar to the structural remodeling that has been observed in primary visual cortex (V1) in cat and barrel cortex in rodents, dendritic spines in HVC undergo rapid remodeling in response to critical sensory experience. However, the mechanisms underlying the experience-dependent remodeling at the synaptic level are unclear. In particular, the HVC inhibitory circuit, which is shown to be crucial for song learning, has not been studied anatomically at the synaptic level yet. And the experience-dependent structural changes in HVC has not been carefully decoupled from developmental structural changes. Therefore, I set out to carefully study the structural synapse changes in HVC during song development.

I propose two experimental approaches to investigate the open scientific questions described above. The first experiment was inspired by an *in vivo* imaging study, which reported initial sensory experience of the tutor song triggered spine stabilization and enhancement overnight in HVC in juvenile zebra finches (Roberts et al. 2010). I further investigated this experience-dependent structural remodeling in HVC in two ways. First, I further manipulated the song sensory experiences in juvenile zebra finches. In different groups of juveniles, I provided short, long, or no tutor exposure, and then harvested their HVCs for neurostructural analysis at the same age. I then examined HVC further with serial-section and block-face electron microscopy, which allowed me to directly and clearly identify, classify, and morphologically reconstruct HVC synapses. The results showed synaptic pruning, and suggested synaptic strengthening in HVC excitatory synapses in a song sensory experience-dependent manner, which was in agreement with previous findings. Surprisingly, the results also suggested a transient density increase of the inhibitory synapses in HVC, following one day of tutor song sensory exposure. Rapid experience-dependent remodeling of the inhibitory circuit in HVC has not been reported before, but similar has been observed in the mouse somatosensory cortex (Knott et al. 2002). Taken together, these results indicate that tutor song exposure

during song learning has short- and long-term effects on both the excitatory and the inhibitory synaptic networks in HVC.

In the second experiment, I investigated this experience-dependent structural remodeling at different developmental stages. I used two main groups of juvenile male zebra finches. In one group I deprived the juvenile completely from sensory exposure to the tutor song, while in the other group I provided the bird regular and controlled tutor song exposure. I harvested HVC from the birds at different development stages, and examined the synaptic structure in HVC under the electron microscope. I repeatedly observed a *peak-decline* developmental pattern, in which neurostructural parameters such as brain volume, synapse density, and total synapse number first increase and then decrease. This developmental pattern, which had been observed in different brain regions and species, reflects the overproduction of neural connections in the early stages of postnatal development and structural pruning in the later stages (Herrmann and Bischof 1986; Murphy and Magness 1984). Tutor song exposure lead to relative pruning of excitatory and inhibitory synapses in HVC, in comparison to birds that have not received tutor exposure.

Combined with previous findings, I provide a detailed picture of the developmental structural synaptic remodeling in HVC during song learning. These findings provide clues into how HVC's synaptic networks might store a memory of tutor song.

## Zusammenfassung

Der Zebrafink ist eine Australische Singvogelart bei der die Jungvögel während der sogenannten kritischen Phase einen stereotypischen Gesang von einem männlichen Tutor lernen. Dieses besondere Gesangslernverhalten macht Zebrafinken zu einem guten Modellsystem um vokales Lernen zu untersuchen. Gesangslernen bei jungen Zebrafinkenmännchen teilt viele Charakteristika mit der Entwicklung anderer Lernsystemen mit kritischer Phase, wie der des binokularen Sehens bei Katzen, der Bildung sensorischen Karten bei Nagetieren und des Sprachlernens beim Menschen in Bezug auf Verhalten, Physiologie und Neuroanatomie. Eine wichtige gemeinsame Charakteristik dieser Systeme ist die Erfahrungsabhängigkeit der strukturellen Veränderung in den dazugehörigen Gehirnarealen. Das Gesangsareal HVC im Singvogelgehirn, welches dem Motorkortex von Säugetieren entspricht, spielt eine wichtige Rolle beim Gesangslernen von jungen Zebrafinkenmännchen. HVC steuert das Singen bei erwachsenen Zebrafinkenmännchen und ähnlich den strukturellen Veränderungen die im V1 von Katzen und im Barrelkortex von Ratten stattfinden, wurde in HVC eine Veränderung der dendritischen Dornfortsätze gefunden, die sich hochdynamisch und schnell ändern, nachdem der Vogel den Tutorgesang zum ersten Mal hört. Jedoch ist nach wie vor unbekannt, wie sich diese strukturellen Veränderungen auf Synapsen auswirken. Speziell die Veränderung der inhibitorischen neuronalen Schaltkreise, für die gezeigt wurde, dass sie die schon gelernten Segmente des Gesangs vor weiteren Veränderungen schützen, wurden auf Synapsenebene noch nicht untersucht. Auch die erfahrungsabhängigen strukturellen Veränderungen in HVC wurden noch nicht unabhängig von entwicklungsstruktureller Reifung mit modernen neuroanatomischen Techniken untersucht. Somit ist in diesem Kontext der Zusammenhang zwischen Gehirnentwicklung und Gesangslernen noch unbekannt.

In dieser Doktorarbeit stelle ich zwei Experimente vor, die auf die Beantwortung der oben beschriebenen Fragestellungen abzielen. Das erste Experiment wurde von einer in-vivo Mikroskopiestudie angeregt. Diese Studie (Roberts et al. 2010) zeigte, dass sich dendritischen Dornfortsätze in HVC über Nacht nach Tutorgesangerfahrung stabilisieren. Wir untersuchten diesen erfahrungsabhängigen Strukturumbau in zweierlei Hinsicht. Wir manipulierten die Tutorgesangerfahrung von jungen Zebrafinkenmännchen, indem wir die Zeit des Tutorkontakts variierten und später im selben Alter der Versuchstiere die neuroanatomische Struktur von HVC untersuchten. Dafür passten wir die elektronenmikroskopischen Bildaufnahme und Analyse an, indem wir Aufnahmen serieller Schnitte und FIB-SEM-Tomographien kombinierten. Diese Kombination gestattete HVC Synapsen eindeutig zu erkennen, zu klassifizieren, morphologisch zu rekonstruieren, und quantitativ zu analysieren, um zwischen den Tieren mit unterschiedlicher Tutorgesangerfahrung zu vergleichen. Wir fanden eine erfahrungsabhängige selektive Synapsenreduktion und -verstärkung, was in Übereinstimmung mit früheren Studien ist. Zu unserer Überraschung fanden wir bereits einen Tag nach der ersten Tutorgesangerfahrung auch einen schnellen Anstieg der Dichte und der

Anzahl (Prozentsatz der gesamten Synapsen) der inhibitorischen Synapsen. Dieser schnelle erfahrungsabhängige Umbau des inhibitorischen Netzwerks wurde im HVC von Vögeln bisher noch nicht beschrieben, jedoch im somatosensorischen Kortex der Maus gefunden. Legt man dieses Ergebnis mit weiteren Studien zu inhibitorischen Netzwerken in HVC und in anderen System mit einer kritischen Phase zusammen, deutet unser Resultat darauf hin, dass das inhibitorische Netzwerk eine wichtige Rolle bei der Regulierung des lokalen plastischen Umbaus beim Gesangslernen spielen könnte.

Im zweiten Experiment untersuchte ich die gesangsabhängigen Umstrukturierungen von HVC, zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Gesangsentwicklung. Wir zogen dazu zwei Gruppen von jungen Zebrafinkenmännchen auf. Einer Gruppe enthielten wir jegliche sensorische Gesangserfahrung vor, während wir der anderen Gruppe kontrolliert regelmässige Tutorgesangserfahrung gewährten. Wir untersuchten HVC elektronenmikroskopisch zu unterschiedlichen Entwicklungszeitpunkten in beiden Gruppen in Bezug auf den strukturellen Umbau der Synapsen. Wir beobachteten einen allgemeinen Trend zur „Höchstwertabnahme“ bei Gehirnvolumen, Synapsendichte und Synapsenanzahl in ganz HVC. Das heisst, diese Grössen stiegen erst auf einen Höchstwert an und nahmen dann ab. Dieses Phänomen der Höchstwertabnahme wurde schon in unterschiedlichen Gehirnarealen unterschiedlicher Arten gefunden und entspricht einer Überproduktion von synaptischen Verbindungen in den frühen postnatalen Entwicklungsphasen und einer selektiven Synapsenreduktion während späterer Entwicklungsphasen (Herrmann and Bischof 1986; Murphy and Magness 1984). Wir fanden auch eine starke Veränderung des Verhältnisses von exzitatorischen zu inhibitorischen Synapsen während der Gesangsentwicklung. Zusammengenommen mit anderen Studienresultaten und dem Resultat des ersten Experiments, bestärkt das unsere Hypothese, dass der erfahrungsabhängige Umbau von inhibitorischen Synapsen in HVC eine wichtige Rolle bei der Regulierung der Plastizität des lokalen HVC Netzwerkes bei Gesangslernen von jungen Zebrafinken spielt.