

Jakob Strähle

Dr. med.

A mechanistic model of the layer 4 to layer 2/3 circuit in rat barrel cortex

Fach: Physiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Bert Sakmann

The synaptic connections among neurons in layer 4 and layer 2/3 of juvenile rat barrel cortex are among the most extensively described circuits in the neocortex of mammals. Paired recordings in vitro characterized the electrophysiological properties, the number of synaptic contacts and the dimensions of axonal and dendritic projections of synaptically connected neurons. Recordings of layer 2/3 pyramidal cells in vivo showed a remarkably sparse action potential firing in response to a sensory stimulus. It remains unclear whether the low stimulus evoked response rate in layer 2/3 pyramidal cells is primarily due to an inefficiency of excitatory drive or due to an increase of inhibitory inputs. The goal of this study was to quantify the contribution of inhibitory synaptic inputs to the sparse stimulus representation in layer 2/3 pyramidal cells.

This study presents a paradigmatic approach on how well constrained data on pairwise connectivity statistics can be combined with stimulus evoked activity measured in vivo to build a numerical model of the layer 4 to layer 2/3 circuit.

The basis of this study is formed by a representative population of layer 2/3 neuron models with realistic physiological properties. Thirty-six reconstructions of electrophysiologically characterized layer 2/3 pyramidal cells ($n=22$) and layer 2/3 interneurons ($n=14$) were converted into numerical multicompartment models. Each neuron model was fitted to the experimentally recorded active and passive membrane properties using a combination of manual and automated multiobjective optimization. For each anatomically defined neuron population converging onto layer 2/3 neurons, the average synaptic conductances were reverse modeled to fit the mean and the variability of experimentally recorded unitary postsynaptic potentials.

The stimulus evoked activity of layer 2/3 pyramidal neurons was simulated for 96 anatomically constrained sets of converging layer 4 excitatory and layer 2/3 inhibitory neurons. The individual convergence sets were determined by the distribution of axon boutons of layer 4 excitatory and layer 2/3 inhibitory neurons among pyramidal cells and interneurons in layer 2/3. This approach allowed to explore the innervation specificity at the level of cell types within the borders defined by measured anatomical data.

For all excitatory synaptic connections, the activity of the presynaptic neuron population was sampled from the average cell and layer specific stimulus evoked activity recorded in vivo. Data on the stimulus evoked activity of layer 2/3 interneurons has so far not been described in the literature. An essential part of this work was a prediction of the stimulus evoked activity in layer 2/3 interneurons, thereby exploring the effect of synaptic disinhibition and electrical coupling via gap junctions.

For the convergence sets that were the most likely to reproduce the low stimulus evoked responses in L2/3 pyramidal cells, the predicted firing rates in layer 2/3 interneurons ranged from 0.16 to 0.63 AP/cell/stimulus. This was a factor of 3-10 times higher than the stimulus evoked firing rates of layer 2/3 pyramidal cells, suggesting that L2/3 interneurons are very active following a sensory stimulus in vivo.

The results of this study identify inhibitory inputs from local layer 2/3 interneurons to be critical for the low action potential firing rates of layer 2/3 pyramidal cells in vivo. Surprisingly, in addition to the inhibitory inputs from layer 2/3 interneurons, the activity of translaminal interneurons in L4 were identified to be important to suppress the initial high firing rates in layer 3 pyramidal cells induced by direct excitatory thalamic inputs.

The comparison of the simulated stimulus evoked activity of layer 2/3 pyramidal cells and the corresponding experimentally recorded data allowed constraining the possible anatomical convergences that can be realized in the average L4 to L2/3 microcircuit. For each anatomically defined convergence set the probability to reproduce the experimental data was calculated, with respect to two key properties: the fraction of silent neurons and average number of action potentials per cell. By this measure ~50% of the anatomically constrained convergence models could be rejected.

For the number of layer 4 excitatory neurons converging onto a single layer 2/3 pyramidal cell this study predicts a number of ~370 converging neurons to most likely to reproduce the experimentally recorded data. This corresponds to an unspecific innervation where the convergence of layer 4 onto a single layer 2/3 pyramidal cell and onto a single layer 2/3 interneuron is equal. For locally projecting L2/3 interneurons onto L2/3 pyramidal cells the predicted range was between 35 to 50 converging L2/3 interneurons.

In summary this study was able to quantitatively define the bounds of the average connectivity within the anatomically defined regimes of the layer 4 to layer 2/3 circuit in rat barrel cortex. The model presented here was based on the assumption of pairwise statistical connectivity. The model did not include innervation specificity at the level of single cells and it did not specifically take into account the possible targeting of other postsynaptic structures in layer 2/3 such as the apical dendrites of layer 5 pyramidal cells. Across all tested convergence sets a range of ~370 excitatory and 35 to 50 inhibitory converging neurons was identified to most likely explain the experimental data. The prediction proposes a testable hypothesis defining the range of the so far unknown convergences within the layer 4 to layer 2/3 circuit that have been evaluated experimentally using high resolution circuit analysis techniques such as three dimensional electron microscopy.

Jakob Strähle

Dr. med.

A mechanistic model of the layer 4 to layer 2/3 circuit in rat barrel cortex

Fach: Physiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Bert Sakmann

Die synaptischen Verbindungen zwischen Neuronen in Schicht 4 und Schicht 2/3 im primär somatosensorischen Cortex von juvenilen Ratten, gehören zu den am besten beschriebenen Schaltkreisen im Neocortex von Säugetieren. In Paarableitungen von synaptisch verbundenen Neuronen wurden die elektrophysiologischen Eigenschaften einzelner Neurone, sowie die Zahl an synaptischen Kontakten, als auch die Dimensionen der axonalen und dendritischen Projektionen charakterisiert. In Vivo zeigen Schicht 2/3 Pyramidenzellen außerordentlich niedrige sensorisch evozierte Aktionspotentialfeuerraten. Es ist bislang ungeklärt was der Grund für diese niedrigen Feuerraten ist, einerseits die Ineffizienz von exzitatorischen synaptischen Verbindungen oder andererseits ein relativ starker Anteil an inhibitorischen synaptischen Verbindungen. Ziel dieser Arbeit ist eine Quantifizierung des Beitrags von inhibitorischen synaptischen Eingängen an der niedrigen Aktivität von Schicht 2/3 Pyramidenzellen in Vivo.

Diese Arbeit stellt einen paradigmatischen Ansatz vor, in dem wohl definierte Daten über die paarweise statistische Konnektivität mit in vivo gemessener sensorisch evozierter Aktivität kombiniert werden, um ein numerisches Modell der Verschaltungen zwischen Schicht 4 und Schicht 2/3 einer kortikalen Kolumne zu generieren.

Die Grundlage für diese Arbeit war eine repräsentative Population an numerischen Einzelzellmodellen bestehend aus 22 Schicht 2/3 Pyramidenzellen und 14 Schicht 2/3 Interneuronen. Die Modelle wurden mit Hilfe von manuellen und automatischen Optimierungsmethoden an die jeweils experimentell gemessenen aktiven und passiven elektrischen Membraneigenschaften angepasst. Für jede anatomisch definierte synaptische Verbindung auf Schicht 2/3 Neurone wurden die synaptischen Leitfähigkeiten so angepasst, dass die mittlere Amplitude und die Variabilität der experimentell gemessenen postsynaptischen Potentiale reproduziert wurden.

Für 96 anatomisch definierte Modelle von konvergierenden exzitatorischen Schicht 4 und inhibitorischen Schicht 2/3 Neurone, wurde die sensorisch evozierte Aktivität in der Population an Schicht 2/3 Pyramidenzellen simuliert. Die einzelnen Konvergenzmodelle wurden aus der Verteilung an präsynaptischen Axonterminalen von Schicht 4 und Schicht 2/3 Neuronen auf mögliche postsynaptische Partner in Schicht 2/3 berechnet. Für alle exzitatorischen synaptischen Verbindungen wurde der Zeitpunkt der Aktivität der präsynaptischen Neurone aus den entsprechenden in Vivo gemessenen Häufigkeitsverteilungen von sensorisch evozierten Aktionspotentialen gezogen. Bislang gibt es noch keine ausreichenden Daten zu der sensorisch evozierten Aktivität in Schicht 2/3 Interneuronen. Ein zentraler Bestandteil dieser Arbeit war deshalb eine Vorhersage über die Aktivität von Schicht 2/3 Interneuronen in vivo. Dabei wurde der Effekt von synaptischer Disinhibition und gegenseitiger Kopplung mittels elektrischer Synapsen exploriert.

Für die anatomischen Konvergenzmodelle, die die experimentell gemessenen Daten am wahrscheinlichsten erklären, lag die vorhergesagte sensorisch evozierten Aktionspotentialfeuerraten in Schicht 2/3 Interneuronen zwischen 0.16 und 0.63 AP/Zelle/Stimulus. Dies war um einen Faktor 3-10 höher als die gemessenen Feuerraten für Schicht 2/3 Pyramidenzellen womit die Vorhersage getroffen werden kann, dass Schicht 2/3 Interneurone wesentlich aktiver als Schicht 2/3 Pyramidenzellen sind.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die inhibitorischen synaptischen Eingänge von Schicht 2/3 Interneuronen äußerst wichtig für die niedrige Feuerraten in Schicht 2/3 Pyramidenzellen sind. Interessanterweise stellte sich heraus, dass zusätzliche synaptische Eingänge von Interneuronen in Schicht 4 einen wichtigen Mechanismus darstellen, um die initial hohen Feuerraten in Schicht 3 Pyramidenzellen durch direkte thalamische Synapsen zu unterdrücken.

Anhand des Vergleichs zwischen der simulierten und der experimentell gemessenen Aktivität von Schicht 2/3 Pyramidenzellen war es möglich, die Spanne an Konvergenzmodellen, die in einem mittleren Schicht 4 und Schicht 2/3 Netzwerk möglich sind, einzugrenzen. Für jedes Konvergenzmodell wurde die Wahrscheinlichkeit berechnet die experimentell gemessenen Feuerraten zu reproduzieren, in Hinblick auf den Anteil an nicht-feuernden Neuronen und der mittleren Feuerrate über alle Zellen. Mit diesem Ansatz war es möglich ~50 % der Konvergenzmodelle auszuschließen. Für die Zahl an exzitatorischen Schicht 4 Zellen die auf eine einzelne Schicht 2/3 Pyramidenzelle konvergieren konnte gezeigt werden, dass eine Anzahl an ~370 Neurone die gemessene Daten am wahrscheinlichsten erklären. Für die Anzahl an konvergierenden Schicht 2/3 Interneurone wurde gleichermaßen ein Intervall von 35 bis 50 Interneurone vorhergesagt.

Zusammengefasst war es dieser Studie möglich, auf quantifizierbare Art und Weise Grenzen im Raum aller möglichen Konnektivitäten innerhalb eines Modells des Schicht 4 auf Schicht 2/3 Netzwerks zu ziehen. Die Annahmen über die Verschaltungen, die diesem Modell zugrunde liegen basierten auf gemessenen anatomischen Daten von paarweisen Konnektivitäten. Dieses Modell beinhaltete keine Innervationsspezifität auf der Ebene von Einzelzellen und es ließ mögliche andere postsynaptische Strukturen innerhalb von Schicht 2/3, wie beispielsweise Apikaldendriten von Schicht 5 Pyramidenzellen, außer Acht. Die Vorhersagen, die in dieser Studie getroffen werden stellen eine überprüfbare Hypothese über die bislang unbekannten Verschaltungen innerhalb des Schicht 4 auf Schicht 2/3 Netzwerkes dar. Diese Hypothesen müssen in experimentellen Ansätzen mittels hochauflösender Netzwerkrekonstruktionen, wie beispielsweise 3-dimensionaler Elektronenmikroskopie, validiert werden.