



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA DEPRIVACIÓN VISUAL
NEONATAL EN EL APRENDIZAJE ESPACIAL BASADO EN
ESTÍMULOS AUDITIVOS Y EN LA MORFOLOGÍA NEURONAL
DE CORTEZA VISUAL Y AUDITIVA

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

PRESENTA

RICARDO ROBLES SOTO

DIRECTORA: DRA. ADRIANA BERENICE SILVA GÓMEZ

CODIRECTOR: I. DANIEL LIMÓN PÉREZ DE LEÓN

FEBRERO 2024

Índice

•	Introducción	4
•	• Plasticidad neuronal	4
•	• Efectos de la privación visual	6
•	• Sustitución Sensorial	7
•	Justificación	9
•	Pregunta de investigación	10
•	Hipótesis	10
•	Objetivo general	10
•	• Objetivos particulares	10
•	Material y métodos	10
•	• Material	10
▪	• Material biológico y grupos experimentales	10
▪	• Consideraciones éticas	11
•	• Métodos	11
▪	• Prueba de campo abierto en arena semicircular	11
▪	• Morfología neuronal	12
▪	• Análisis estadístico	13
•	Resultados	13
•	• Aprendizaje y memoria en la arena semicircular	13
•	• Morfología neuronal de la corteza visual	16
•	• Morfología neuronal de la corteza auditiva	18
•	Discusión	20
•	Conclusiones	23
•	Referencias	24

Agradecimientos

Este trabajo lo dedico a:

A mi mamá que siempre ha creído en mi y me impulsa con su amor

Ana, Arely, Brisa que siempre buscan mi bienestar y me motivan a ser lo que quiero ser

A mi Abuelita y mi tía Cris que siempre se encargaron de que tuviera todo lo necesario y más para poder trabajar

A la Dra. Adriana que me ayudo a seguir en el camino

A mis compañeras de laboratorio que me ayudaban siempre que era necesario

Al laboratorio de Neurofisiología experimental y al laboratorio de Neurofarmacología por proveer con los materiales y las instalaciones necesarias

Resumen

La privación del sistema visual induce una perturbación en los patrones de conectividad dendrítica, axonal y sináptica de la corteza visual y de otras regiones del SNC, debido a que un individuo privado de una modalidad sensorial se vuelve capaz de explotar otra modalidad sensorial que sí está disponible para percibir propiedades del entorno que normalmente son percibidas por la modalidad privada, en un proceso conocido como sustitución sensorial. Conocer los procesos que promueven la sustitución sensorial permitirá observar y analizar nuevas formas de aprendizaje y memoria, el desarrollo de nuevas tecnologías y sistemas para la compensación de la pérdida sensorial. Se analizó el efecto de la privación visual en procesos de aprendizaje y memoria espacial y arborización dendrítica. Se emplearon tres grupos experimentales, animales criados en condiciones de oscuridad desde antes del nacimiento (0:24pre), animales criados en total oscuridad a partir del nacimiento (0:24post) y animales criados en condiciones de luz-oscuridad 12:12 (control). A los 65 días de edad, los animales fueron sometidos a una prueba de aprendizaje y memoria en una arena semicircular en la que se encontraba un altavoz que reproducía un sonido constante de 4000hz a 55 dB y que marcaba el camino a una recompensa alimenticia. A los 70 días de edad, a los animales se les practicó eutanasia para obtener los cerebros, teñirlos mediante la técnica de Golgi-Cox y analizar arborización dendrítica de neuronas de corteza visual primaria (V1B) y corteza auditiva primaria (Au1) mediante la técnica de Sholl. Las ratas del grupo 0:24pre recorrieron la menor distancia durante la prueba, realizaron la prueba en menor tiempo, y recorrieron la arena y el camino de recompensa con mayor velocidad. Corteza V1B: se encontró una disminución de la longitud dendrítica en el primer orden de ramificación y un aumento en el cuarto orden de ramificación del árbol basilar; en el árbol apical se registró una disminución en el número de intersecciones dendríticas del grupo 0:24pos con respecto al grupo 0:24pre. Corteza Au1: se observó un aumento en el número de intersecciones dendríticas al nivel medio del árbol basilar de las neuronas de las ratas del grupo 0:24pre y 0:24pos respecto del grupo control; asimismo, la longitud dendrítica de las neuronas es menor en el primer orden de ramificación y mayor en el segundo y tercer orden de ramificación, sin embargo, la densidad de espinas dendríticas cambió con una disminución en el grupo 0:24pre. El árbol apical (región media) mostró una disminución del número de intersecciones dendríticas de las neuronas de los grupos 0:24pre y 24:pos y una disminución de la longitud dendrítica en el primer orden de ramificación de los mismos grupos experimentales. Los resultados de conducta indican que el animal relacionó la pista auditiva con la recompensa. Los resultados de morfología sugieren que el protocolo de privación visual no tuvo un efecto en el desarrollo del sistema visual de los individuos y que el aislamiento

provocado de manera indirecta, si tuvo un efecto en el desarrollo del sistema auditivo de los animales. Se sugiere que los animales utilizaron otras pistas además de la pista auditiva para completar la prueba de la arena semicircular.

Introducción

Plasticidad neuronal

La plasticidad neuronal se define como la capacidad adaptativa que tiene el sistema nervioso para modificar su propia organización estructural y funcional (Bach-y-Rita *et al.*, 2003) que le permita una respuesta de adaptación o de inadaptación a una demanda funcional.

Hasta hace poco tiempo, se consideraba que el cerebro perdía su capacidad de plasticidad al final del periodo crítico (ventana de tiempo donde los circuitos neuronales son especialmente susceptibles a los estímulos ambientales, Hensch, 2004), pero en la actualidad se sabe que el cerebro adulto mantiene dicha capacidad para responder a un medio ambiente en constante cambio (Hooks & Chen, 2007).

En las ratas adultas hay una serie de intervenciones que pueden promover la plasticidad neuronal: enriquecimiento ambiental, deprivación visual bilateral, deprivación visual monocular, degradación enzimática de los proteoglicanos de condroitín sulfato que son componentes de la matriz extracelular encargados de inhibir el desarrollo axonal, estimulación de acetilación de histonas, específicamente en la activación dependiente de experiencia de ERK que activa la expresión genética mediada por CREB, drogas de abuso y tratamientos farmacológicos, por ejemplo fluoxetina, entre otras (Bengoetxea, *et al.*, 2012).

Por otro lado, durante el neurodesarrollo temprano y postnatal, también se llevan a cabo eventos de plasticidad neuronal encaminados a promover la maduración de los circuitos neuronales y con ello la maduración funcional. Este tipo de eventos pueden ser independientes, dependientes o a expensas de la experiencia (Kolb *et al.*, 2013).

El sistema visual expresa un desarrollo postnatal dependiente de estímulos que se puede dividir en dos etapas: La primera está predeterminada genéticamente y es responsable de la arquitectura cortical; la segunda etapa está mediada por la experiencia y es el momento en el que los axones que se encuentran en el núcleo geniculado lateral, provenientes de las células ganglionares de la retina, alcanzan la capa IV cortical para establecer las conexiones específicas en la corteza visual; este proceso ocurre en respuesta a la inmensa cantidad de estímulos que provienen del ambiente y que induce un aumento en la actividad neuronal, lo que conlleva a un aumento de los requerimientos energéticos y de la actividad metabólica (Ortuzar, 2012).

La influencia de los estímulos ambientales comienza al momento de abrir los ojos, que en las ratas sucede durante la segunda semana de vida postnatal y únicamente son necesarias 48 horas después de dicho evento para que las neuronas visuales comiencen a exhibir propiedades

similares a neuronas visuales de organismos adultos (Prévost *et al.*, 2010). Estas respuestas ocurren a nivel genético modulando el mapa, tanto funcional como anatómico, de la arquitectura cortical y tienen efecto en 3 elementos neuronales: 1) incrementa el número y el tamaño de las sinapsis por neurona, de la actividad neuronal y como consecuencia la demanda metabólica; 2) incrementa la población astrogial y 3) causa cambios en las redes vasculares. Durante este periodo los circuitos neuronales son especialmente susceptibles a estímulos sensoriales por lo que este lapso es conocido como un periodo crítico, el cual termina cuando los fenómenos anatómicos y funcionales son establecidos. Después de que el periodo crítico se ha cumplido es difícil realizar modificaciones en los patrones de conexión neuronal (Bengoetxea *et al.*, 2012).

La experiencia o en su defecto la cantidad de estímulos externos determina la duración del periodo crítico, de manera que en ausencia total de estímulos el periodo crítico se prolonga y en contraste un ambiente enriquecido produce una aceleración en el desarrollo del sistema visual (Ortuzar, 2012).

Brevemente, la estructura del sistema visual maduro obedece a la organización jerárquica de todos los sistemas sensoriales, con un receptor sensorial, relevos sinápticos y un área específica en la corteza cerebral (Bengoetxea *et al.*, 2012). Celularmente, el sistema visual de las ratas está conformado por dos tipos de fotorreceptores, el primer tipo representa el 95% de la población celular fotosensible y se conocen como bastones, el segundo tipo se conoce como conos (5%); de la misma manera los conos se puede dividir en dos tipos, los que contienen un fotopigmento cuyo pico de sensibilidad es de aproximadamente 500 a 520 nm de longitud de onda y representan el 93% de los conos, mientras que el 7% restante, expresan un fotopigmento que tiene un pico de sensibilidad de 370 nm aproximadamente (Sefton *et al.*, 2015).

Las neuronas de la corteza visual son neuronas piramidales que representan el tipo de neurona más abundante de la corteza (Figura 1A) no solo tienen conexiones subcorticales, también generan sinapsis con neuronas de su lugar de origen, esto genera especializaciones sinápticas asimétricas que generalmente son excitatorias hacia neuronas postsinápticas piramidales (Mason *et al.*, 1991). En la rata, la corteza visual primaria definida como V1B de acuerdo con Paxinos & Watson (1981), se distribuye al nivel de -5.60 y -9.30 mm respecto de Bregma (Figura 1B).

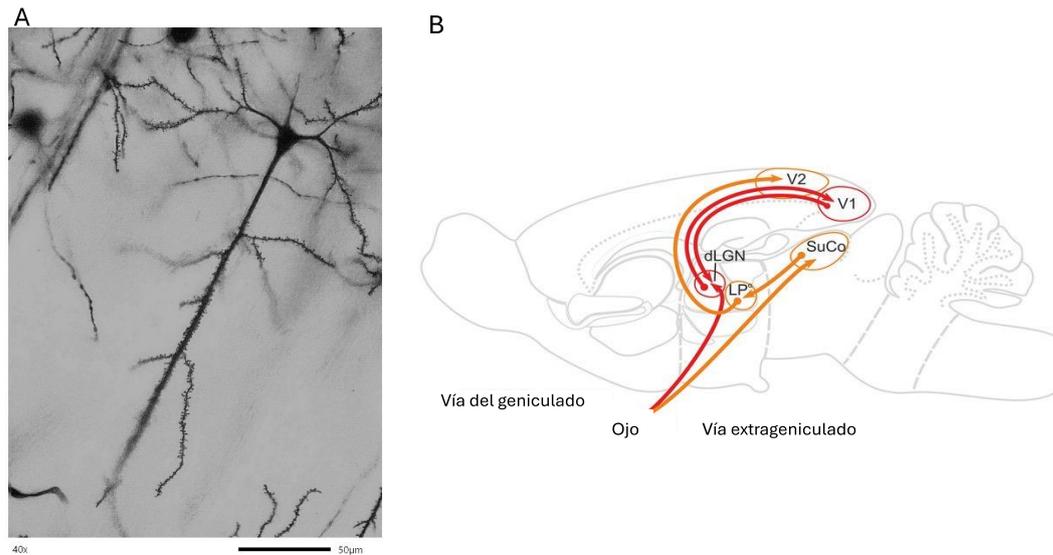


Figura 1. Sistema visual. A) Neurona piramidal de corteza V1B (Microfotografía tomada por Ricardo Robles Soto. B) Vías visuales ascendentes en roedores. dLGN – núcleo geniculado dorso lateral; LP – núcleo talámico dorsal lateral; V1 – corteza visual primaria; V2 – corteza visual secundaria; SuCo- coliculo superior (Tomado de Muller, 2012)

Efectos de la privación visual

El desarrollo postnatal de los sistemas sensoriales es un proceso de configuración personalizada mediada por la experiencia, que está regulado por el balance de inhibición-excitación entre los distintos núcleos neuronales y puede ser alterado por la pérdida de uno o más estímulos ambientales, por ejemplo, la privación de algún sistema sensorial como el visual (Fagiolini *et al.*, 1994).

La privación del estímulo induce una perturbación importante en los circuitos neuronales de las áreas corticales responsables de la visión (Argandoña, 1996), debido a esto y a que el desarrollo postnatal actúa como un todo, estas regiones son reorganizadas por los sentidos disponibles en un proceso de plasticidad transmodal, que se refiere a que los eventos plásticos ocurren a través de más de una de las modalidades sensoriales disponibles (Meredith & Lomber, 2011). La privación visual se puede realizar por medio de técnicas invasivas como la suturación de los párpados al momento del nacimiento, la remoción del globo ocular ya sea de manera bilateral o unilateral, o de forma no invasiva como la crianza en obscuridad desde el nacimiento. Esta última técnica evita el estrés que ocasiona sobre el individuo una intervención quirúrgica y deja la corteza visual en un estado inmaduro el cual puede ser modificado por experiencias visuales subsecuentes. Se ha demostrado que las dos técnicas invasivas descritas anteriormente

no tienen un mayor efecto que la crianza en obscuridad (Bengoetxea *et al.*, 2012), no obstante, se sugiere que pueden producir otro tipo de cambios por si solas (Argandoña, 1996).

Sustitución sensorial

El término de sustitución sensorial se refiere a un proceso en el cual un individuo privado de una modalidad sensorial se vuelve capaz de explotar otra modalidad sensorial disponible para percibir propiedades de su entorno que son percibidas normalmente por la modalidad deprivada, ya sea temporal o permanentemente, de manera intuitiva o por medio de algún instrumento especializado que puede, o no, ser removido (Roy *et al.*, 2019). Esta sustitución puede ocurrir entre sistemas sensoriales o dentro del mismo sistema como en el caso del tacto en el que la información captada por los receptores de una región puede ser utilizada para percibir tacto en otra región (Bach-y-Rita *et al.*, 1969).

Algunos ejemplos de sistemas basados en la sustitución sensorial son: 1) el braille en el que la información de los símbolos que normalmente es adquirida visualmente se adquiere por medio del tacto en las yemas de los dedos, 2) el uso de bastón por parte de personas invidentes, con el cual el punto de contacto que tiene el bastón con el entorno provee una gran cantidad de información espacial y de localización e identificación de objetos (Bach-y-Rita *et al.*, 2003). Si se considera que el bastón actúa como un sensor artificial que transmite información a la interfaz sensorial humana, este objeto estaría actuando como transductor en una interfaz humano-máquina (HMI por sus siglas en inglés). En diversos estudios se han diseñado distintos tipos de HMI, principalmente convirtiendo la información de la modalidad sensorial perdida a información que pueda ser interpretada por algún otro sistema sensorial por medio de un sensor artificial como una cámara que convierte su señal gráfica en sonido o vibraciones que pueden ser percibidas por el oído o el tacto. Una vez que el sujeto ha aprendido a utilizar el sistema, puede discriminar la información que entra a un mismo sistema sensorial, entre la que proviene de la sustitución y la que es propia de dicho sistema sensorial y es importante destacar que esto ocurre sin que haya una sobrecarga sensorial cognitiva (Bach-y-Rita *et al.*, 2003). La sustitución sensorial requiere que el sujeto comprenda la asociación que existe entre sus acciones con relación a su entorno y los efectos sensoriales que tienen estas acciones (Roy *et al.*, 2019), lo que nos permitiría observar nuevas formas de aprendizaje y en este trabajo una posible sustitución sensorial visual- auditiva.

Las características de los sonidos que escuchamos dependen de las propiedades de onda que conforman el sonido, como la frecuencia, la amplitud de onda y la sensibilidad que tengan los receptores del oído interno, de igual manera la sensibilidad de estos receptores determina el

rango que tiene la audición de un individuo (Malmierca, 2003). Las señales auditivas viajan a través del nervio auditivo hacia el complejo olivar superior, donde interactúa por primera vez la información proveniente de los dos oídos y lo que promueve el procesamiento de información binaural y por lo tanto las pistas que servirán para localizar la fuente sonora espacialmente; además, la información llega a colículo inferior para informar al sistema motor y con ello iniciar el movimiento guiado por el sonido, por ejemplo, voltear la cabeza hacia la fuente del sonido; posterior a esto; también la información viaja al núcleo del lemnisco lateral en donde se procesan los aspectos temporales del estímulo sonoro. La información procesada en estas estaciones es enviada al tálamo donde es retransmitida hacia la corteza auditiva primaria (A1) que se define como el mayor recipiente cortical de proyecciones talámicas auditivas (Figura 2); esta estructura está formada por neuronas piramidales que expresan una densa arborización de dendritas basales que rodea todo el soma (Figura 2A), con múltiples ramificaciones proximales y acompañada de una única dendrita apical que proyecta hacia la superficie pial y se ramifica una vez que entra a la capa uno de la corteza auditiva (Larkman & Mason, 1990). En la rata, la corteza auditiva primaria, nombrada como AuD, se localiza al nivel de -3.14 y -6.30 mm respecto de Bregma (Figura 2B).

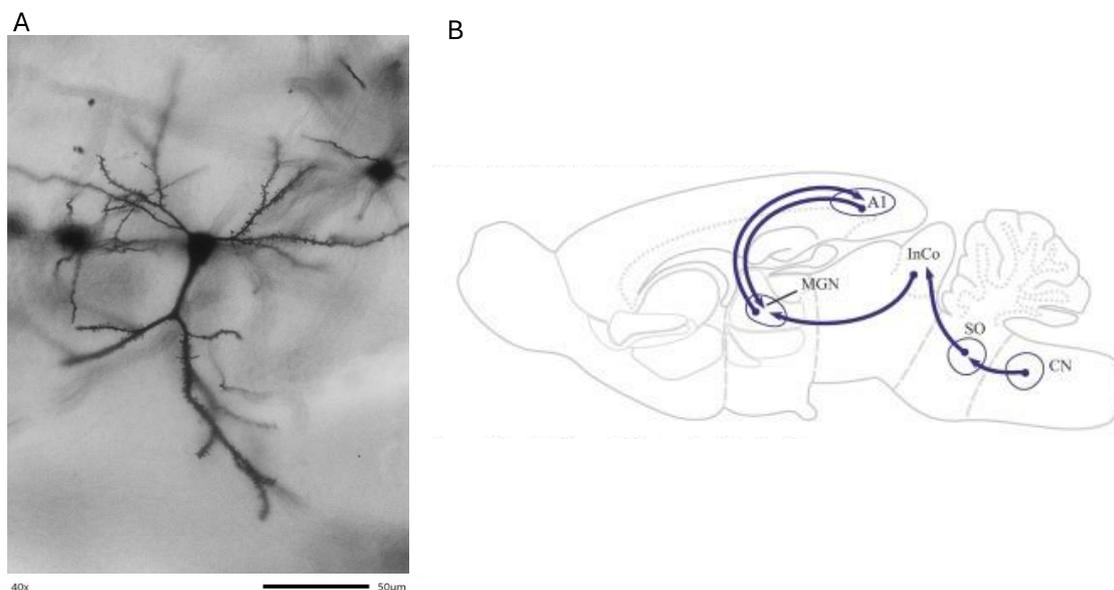


Figura 2. Sistema auditivo. A) Neurona piramidal de la corteza Au1 Vía auditiva (Microfotografía tomada por Ricardo Robles Soto). B) Vías auditivas ascendentes en roedores. CN – núcleo coclear; SO – oliva superior ; InCo – colículo inferior; MGN – núcleo del geniculado medial; A1- corteza auditiva primaria (Tomado de Muller, 2012).

Justificación

Comprender los mecanismos que hacen posible la sustitución sensorial permitirá el establecimiento de nuevas oportunidades para observar y analizar nuevas formas tanto de aprendizaje como de memoria, así como, facilitará el desarrollo de nuevas tecnologías y sistemas para la compensación de la pérdida sensorial. El sistema visual de la rata termina de desarrollarse de manera postnatal durante una ventana de tiempo con alta plasticidad neuronal denominada periodo crítico (Bengoetxea *et al.*, 2012) en el cual la ausencia de estímulos visuales evita que el neurodesarrollo se complete, pero promueve eventos de plasticidad neuronal en otros sistemas sensoriales que son estimulados naturalmente, como el sistema auditivo.

Pregunta de investigación

Debido a la falta de estímulos visuales lo que conlleva al deterioro del sistema visual, ¿los organismos desarrollan mecanismos de aprendizaje espacial utilizando el sistema auditivo?

Hipótesis

En condiciones de privación visual las ratas serán capaces de aprender a resolver tareas de aprendizaje y memoria espacial, en la prueba de arena semicircular, obteniendo información de estímulos auditivos.

Objetivo General

Analizar el efecto de la privación visual en los procesos de aprendizaje y memoria espacial guiado por estímulos auditivos de ratas macho de la cepa Long Evans y la arborización dendrítica de neuronas de corteza V1B y Au1.

Objetivos Particulares

1. Analizar la capacidad de aprendizaje y memoria espacial guiada por estímulos sonoros de ratas juveniles sometidas a privación visual desde antes del nacimiento mediante la cuantificación de parámetros relacionados con desplazamiento y búsqueda para obtener una recompensa alimenticia en una arena semicircular.

2. Determinar si la deprivación visual desde antes del nacimiento promueve cambios en la arborización dendrítica y la densidad de espinas dendríticas de neuronas piramidales de corteza V1B y Au1 mediante el análisis de Sholl.

Material y métodos

Material biológico y grupos experimentales

Se utilizaron seis ratas hembra de la cepa Long Evans de 10 días de gestación, de las cuales dos fueron mantenidas en un cuarto oscuro con un ciclo de luz-obscuridad 0:24 hrs, las cuatro restantes fueron mantenidas con un ciclo de luz-obscuridad 12:12. Todas las ratas se alojaron individualmente con acceso libre a comida y agua. En el día de nacimiento de las crías, las camadas se ajustaron a ocho individuos macho. De las cuatro camadas que nacieron en condiciones de luz-obscuridad 12:12, dos fueron puestas en condiciones de luz-obscuridad 0:24 y permanecieron toda su vida postnatal en un cuarto oscuro (< 0.1 lx), mientras que las dos camadas restantes fueron mantenidas en condiciones de luz-obscuridad 12:12. Se tomó el día de nacimiento como el día 1 y a partir del día 21, las crías fueron destetadas y separadas en grupos de 3-4 animales por caja familiar. Los animales se mantuvieron con libre acceso a agua y a alimento en un cuarto a temperatura de $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa del 55%. Para el mantenimiento y limpieza de las jaulas se utilizó luz roja. Los animales fueron sometidos a pruebas de conducta a partir del día post-natal 65.

Los animales que se criaron en condiciones de obscuridad desde antes del nacimiento fueron considerados como grupo ciclo luz-obscuridad 0:24pre (Grupo Experimental 1), mientras que las ratas que fueron mantenidas en condiciones de luz-obscuridad 0:24 a partir del nacimiento, fueron consideradas como grupo ciclo luz obscuridad 0:24post (Grupo Experimental 2). Las ratas que se criaron en condiciones de luz-obscuridad 12:12 fueron considerados como grupo control.

Se sometieron a la prueba de conducta a ocho animales por grupo experimental, de los cuales se obtuvo también información respecto de la morfología neuronal de corteza V1B y corteza Au1 (n = seis ratas por grupo).

Consideraciones éticas

Todos los procedimientos llevados a cabo en este trabajo se realizaron con estricto apego a los lineamientos del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la BUAP y a los lineamientos de producción cuidado y uso de animales de laboratorio

establecidos por SAGARPA en la NOM-062-ZOO-1999. Los animales se encontraron a cargo del M.V.Z. Francisco Ramos Collazo.

Métodos

Prueba de campo abierto en arena semicircular

Las pruebas se realizaron a los 65 días de edad de las ratas y se utilizó una arena semicircular de 50 cm de altura, que se delimitó digitalmente por el software ANYMAZE. A través de este software se siguieron los movimientos de cada sujeto durante la prueba utilizando la iluminación de focos rojos (< 0.1 lx)

Las pruebas consistieron en la creación de 3 rutas virtuales de las cuales la de en medio fue marcada como la de recompensa, al final de este camino se encontraba un altavoz que reproducía un sonido constante a 4000 hz y 55 dB, y una recompensa alimenticia (Figura 3).

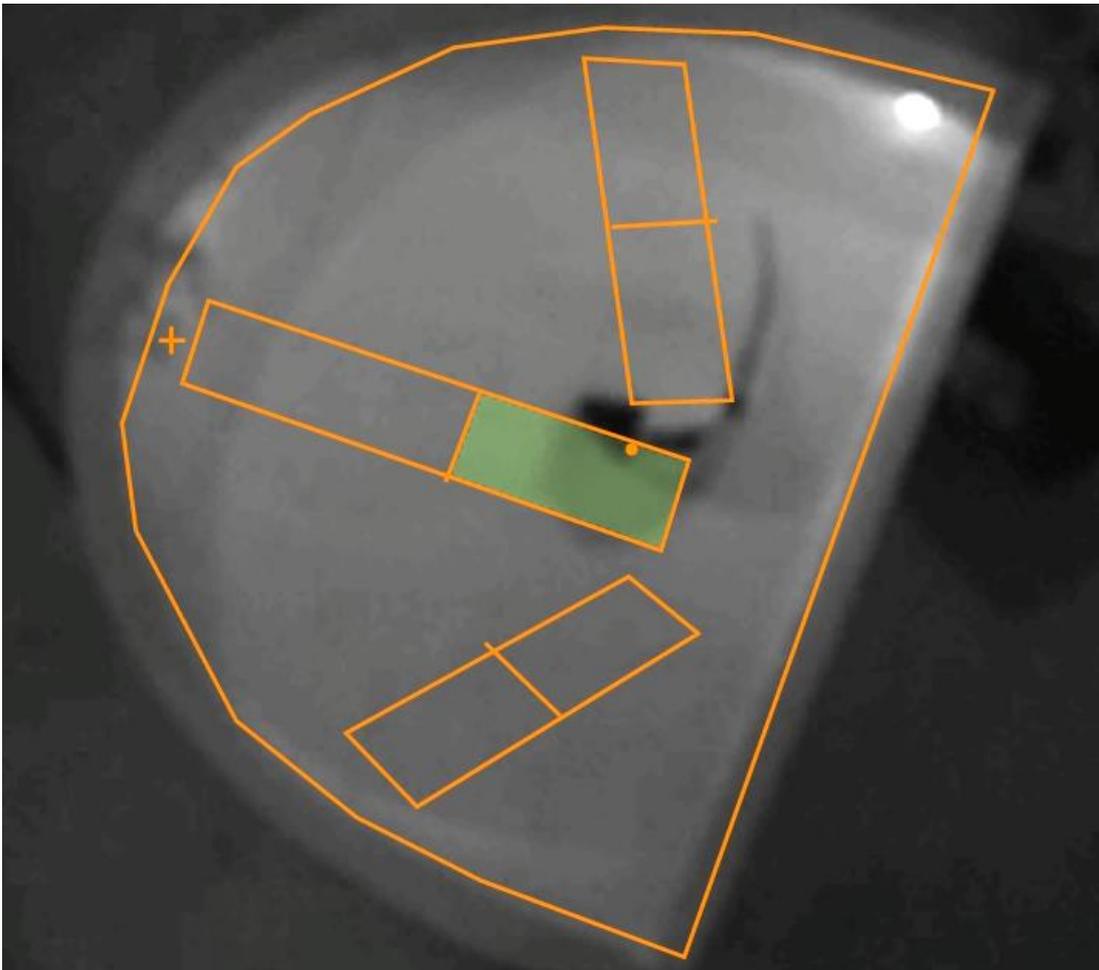


Figura 3. Arena semicircular. Se muestran las delimitaciones virtuales, así como el punto de recompensa marcado con un símbolo + (Fotografía tomada por Ricardo Robles Soto).

Se realizó una fase de entrenamiento durante 5 días en la cual se delimitaron los caminos de manera virtual y física con paneles de plexiglass y se realizaron dos sesiones diarias separadas por un intervalo de una hora. En cada sesión se colocó a los individuos en el punto de inicio de la prueba con los caminos activados y se permitió el movimiento libre del sujeto durante dos minutos. Se registró el número de veces que el sujeto alcanzaba la comida durante la prueba, únicamente se intervino cuando el individuo se quedaba inmóvil durante un tiempo mayor a cinco minutos para dejarlo descansar y mover su turno al final de la sesión.

Posterior al entrenamiento se realizó la prueba de memoria mediante el mismo procedimiento con la diferencia de que cada ensayo se limitó a 1 minuto y retirando los caminos físicos. Para asegurar que el animal utilizará el sonido como señal de exploración, se marcó virtualmente una sección de inicio en cada camino, que estaba en el extremo más alejado de la zona de recompensa y si el animal no pasaba por esta sección antes de recorrer el camino no se liberaba la recompensa y se tomaba como error de la prueba. Se tomó como acierto si el individuo obtenía la recompensa en menos de 45 segundos y se registraba el tiempo exacto en el que completó la prueba; se consideró como error si el individuo entraba en el camino correcto y no conseguía llegar hasta el final en donde se ubicaba la recompensa; además, se midieron las siguientes variables: el número de entradas al camino de recompensa, el tiempo de permanencia en el camino de recompensa, la distancia recorrida en el camino de recompensa, la distancia recorrida antes de entrar al camino de recompensa, la latencia para alcanzar la recompensa (tiempo que transcurre entre el inicio de la prueba y encontrar la recompensa) y la velocidad de desplazamiento en la arena semicircular (Roy *et al.*, 2019).

Morfología neuronal

Inmediatamente después de la sesión de prueba, los animales fueron anestesiados con xilacina-ketamina (0.20 mg/kg/ml) para provocar anestesia profunda y perfundir intracardialmente 100 ml de solución salina al 0.9% para remover el exceso de sangre en el cerebro, después de esto, el cerebro completo se removi6 y se incub6 en 20 ml de solución Golgi-Cox durante 14 días en completa oscuridad. Al final de este periodo de tiempo, la solución Golgi-Cox fue remplazada por una solución de sacarosa al 30% y los cerebros fueron mantenidos en esta solución durante 3 días antes de ser seccionados. Se obtuvieron cortes coronales de 200 μm de grosor al nivel de corteza Au1 (con coordenadas antero-posterior de -3.14 a -6.30 mm) y de corteza V1B con coordenadas antero-posterior de -5.60 a -9.30 mm) con un vibratomo semiautomático (NVSL - Leica), los cuales se mantuvieron en una cámara húmeda toda la noche. Al día siguiente, los

cortes se revelaron con hidróxido de amonio (30 minutos de incubación), posteriormente la tinción fue fijada con fijador rápido de Kodak (30 minutos de incubación) y el tejido fue deshidratado con soluciones ascendentes de alcohol al 50% (1 minuto), al 70% (1 minuto), al 90% (1 minuto), dos baños de 5 minutos con alcohol absoluto y xilol para el aclaramiento (15 minutos) (Gibb, & Kolb, 1998). Para fijar el tejido se utilizó resina sintética Entellan. Una vez que se secó la resina se procedió a la observación del tejido mediante microscopía óptica.

Se seleccionaron neuronas piramidales de la capa V de la corteza V1B y de corteza Au1 (cinco del hemisferio izquierdo y cinco del hemisferio derecho), las cuales fueron dibujadas en papel con ayuda de una cámara lúcida adaptada a un microscopio DM100 (Leica) y con una amplificación de 400X. Con el uso de una plantilla transparente de círculos concéntricos separados por una distancia de 10 micras, se midió la arborización dendrítica a través de la cuantificación del número de intersecciones dendríticas de cada neurona, separando la información obtenida del árbol basilar y del árbol apical. A partir de estos datos, se calculó la longitud dendrítica por orden de ramificación, así como la longitud dendrítica total. Además, se dibujaron segmentos dendríticos de al menos 10 μm de longitud, para cuantificar el número de espinas dendríticas en el tercer orden de ramificación y con ello calcular la densidad de espinas dendríticas (Sholl, 1956)

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos, se utilizó la prueba de Shapiro-Wilkins con el fin de determinar la normalidad de los datos. De acuerdo con los resultados se aplicó una prueba de ANOVA de dos vías para muestras independientes para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, considerando como variable independiente el grupo experimental y como variables dependientes el número de entradas al camino de recompensa, tiempo de permanencia en el camino de recompensa, distancia recorrida en el camino de recompensa, distancia recorrida antes de entrar al camino de recompensa, la latencia para encontrar la recompensa, la velocidad de desplazamiento en la arena semicircular, la longitud dendrítica y la densidad de espinas dendríticas. Se consideró una diferencia significativa cuando $p < 0.05$.

Resultados

Aprendizaje y memoria en la arena semicircular

Durante los primeros ensayos de entrenamiento de la prueba de aprendizaje y memoria en la arena semicircular, la exploración de las ratas era errática sin concentrarse demasiado en entrar

a los caminos, con el paso de los días los animales se acostumbraron a los caminos y comenzaron a entrar regularmente, incluso aunque no fuera el camino de recompensa. En los ensayos de la prueba de memoria los animales de todos los grupos tendían a respetar las delimitaciones de los caminos a pesar de que fueron marcados solamente de manera virtual, lo que sugiere que los animales recordaban los caminos.

La prueba de conducta no mostró diferencias significativas entre los grupos experimentales en los parámetros de número de entradas al camino de recompensa, tiempo de permanencia en el camino de recompensa, distancia recorrida en el camino de recompensa, latencia para entrar al camino objetivo (de recompensa) y distancia recorrida a la recompensa (Figura 4A-F).

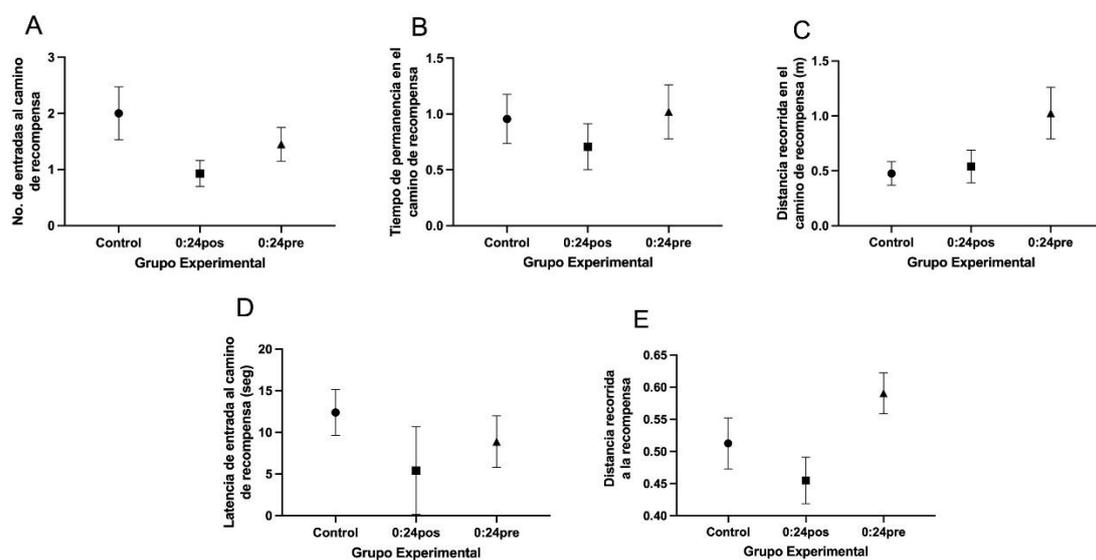


Figura 4. Parámetros registrados durante la prueba de arena semicircular. A) Número de entradas al camino de recompensa; B) Tiempo de permanencia en el camino de recompensa; C) Distancia recorrida en el camino de recompensa; D) Latencia al camino de recompensa; E) Distancia recorrida a la recompensa. No se observaron diferencias significativas entre los grupos, (n = 8).

No obstante, las ratas del grupo 0:24pre, que estuvieron en condiciones de obscuridad total desde antes del nacimiento, recorrieron la menor distancia durante la prueba (Figura 5A; $F_{(2, 22)} = 7.42455$, $P=0.0034$) y realizaron la prueba en menor tiempo (Figura 5B; $P=0.0084$); Además, el grupo 0:24pre recorrió la arena (Figura 6A; $F_{(2, 22)} = 5.51672$, $P=0.0114$) y el camino que contenía la recompensa (Figura 6B; $F_{(2, 22)} = 6.70663$, $P=0.0053$) con mayor velocidad promedio respecto a los otros dos grupos.

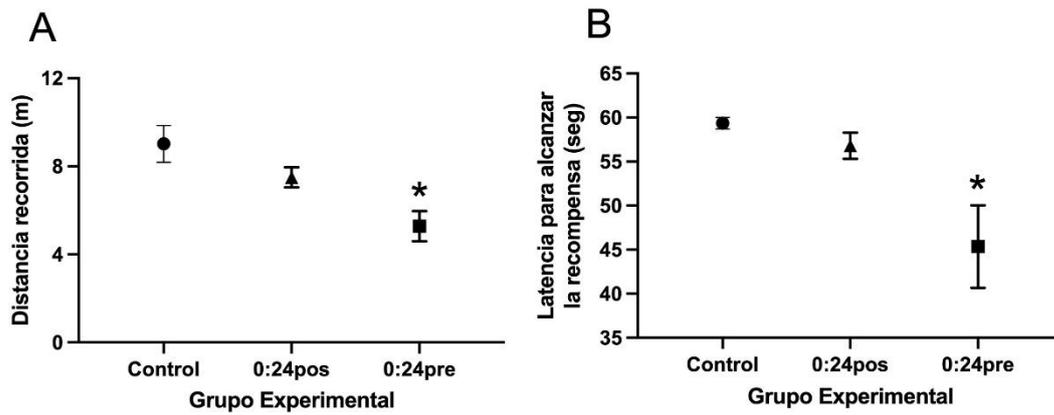


Figura 5. Distancia y duración de la prueba. A) El tiempo que tardaron los individuos del grupo 0:24pre en alcanzar la recompensa fue menor tiempo con respecto a los otros dos grupos. B) La distancia promedio recorrida durante la prueba del grupo 0:24pre fue menor respecto de los otros dos grupos. * $P < 0.05$, $n = 8$.

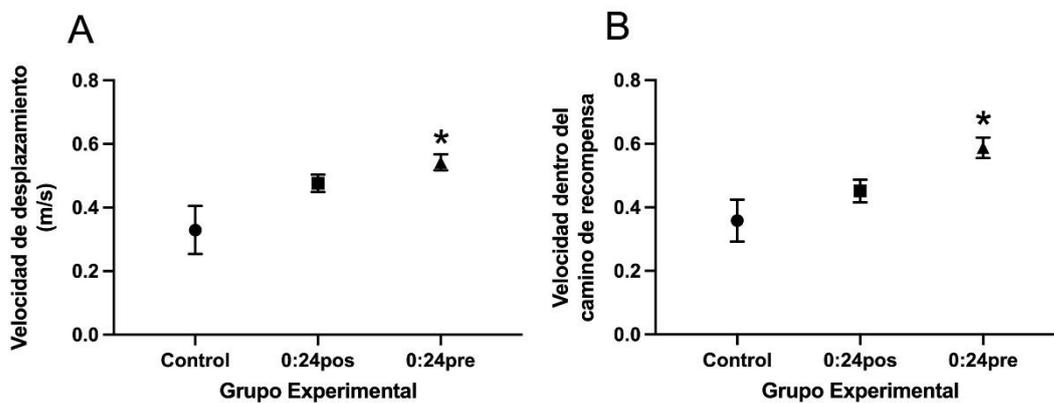


Figura 6. Velocidad de ejecución de la prueba. A) Velocidad promedio de los animales durante la prueba en la arena semicircular. B) Velocidad promedio de los animales dentro del camino de recompensa. Se observa que los animales del grupo 0:24pre ejecutaron la prueba con mayor velocidad. * $P < 0.05$, $n = 8$.

Morfología neuronal de corteza visual

De los datos que se obtuvieron respecto de la arborización dendrítica basilar de neuronas de corteza visual (Figura 7A) no se observaron diferencias entre los grupos, no obstante, se registró una disminución en la longitud dendrítica del primer orden de ramificación y un aumento en el cuarto orden de ramificación de las neuronas del grupo 0:24pre respecto del grupo control (Interacción: $F_{(10,78)} = 3.309$, $P = 0.0013$; Orden de ramificación: $F_{(5,78)} = 66.51$, $P < 0.0001$; Grupos experimentales $F_{(2,78)} = 0.6377$; Figura 7B). La longitud dendrítica basilar total y el número de

espinas dendríticas basales de las neuronas (Figura 7C y 7D respectivamente) no muestran diferencias entre los grupos experimentales.

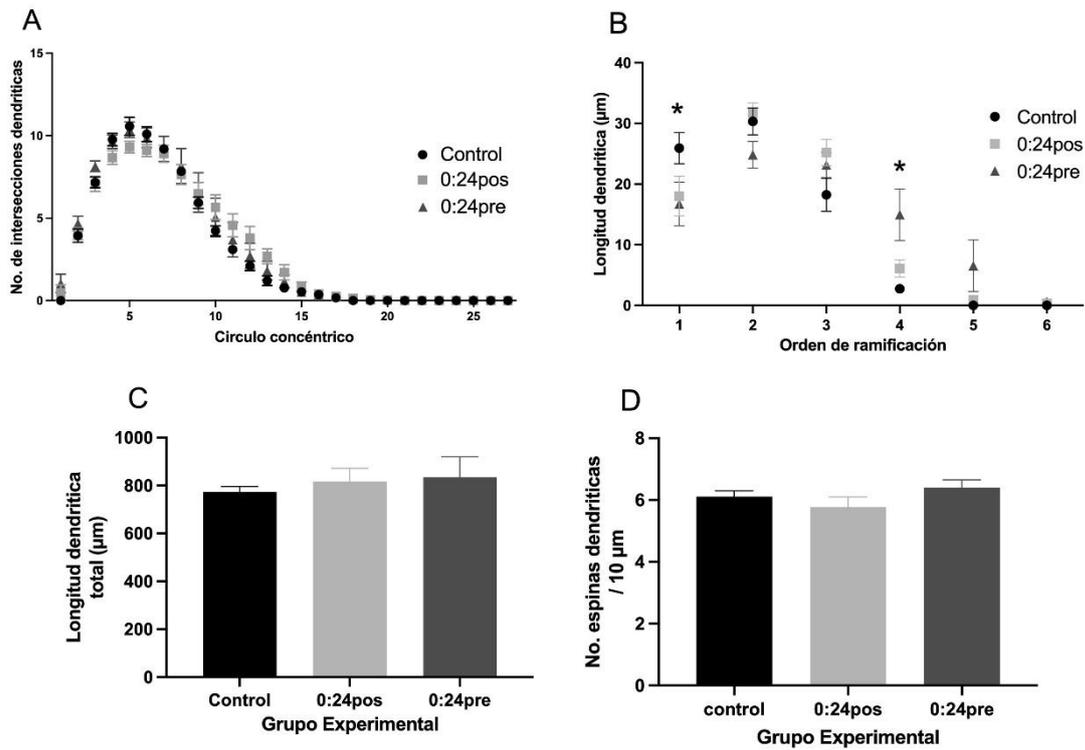


Figura 7. Arborización dendrítica basilar de neuronas de corteza visual. A) No se muestran diferencias significativas en la arborización dendrítica, C) en la longitud dendrítica total ni en D) la densidad de espinas dendríticas. B) Se muestra una disminución en la longitud dendrítica del primer orden de ramificación de los dos grupos experimentales respecto del grupo control y un aumento en el grupo 0:24pre en el cuarto orden de ramificación. *P<0.05.

En el árbol apical únicamente se registró una disminución en el número de intersecciones dendríticas del grupo 0:24pos con respecto al grupo 0:24pre al nivel del círculo concéntrico 9 (Interacción: $F_{(62,416)} = 0.9265$; Círculos concéntricos $F_{(31,416)} = 33.39$; Grupos experimentales $F_{(2,416)} = 4.570$, $P < 0.0001$; Figura 8A), ya que ni la longitud dendrítica por orden de ramificación, la longitud dendrítica total, ni la densidad de espinas dendríticas fueron diferentes entre los grupos experimentales (Figura 8B-D).

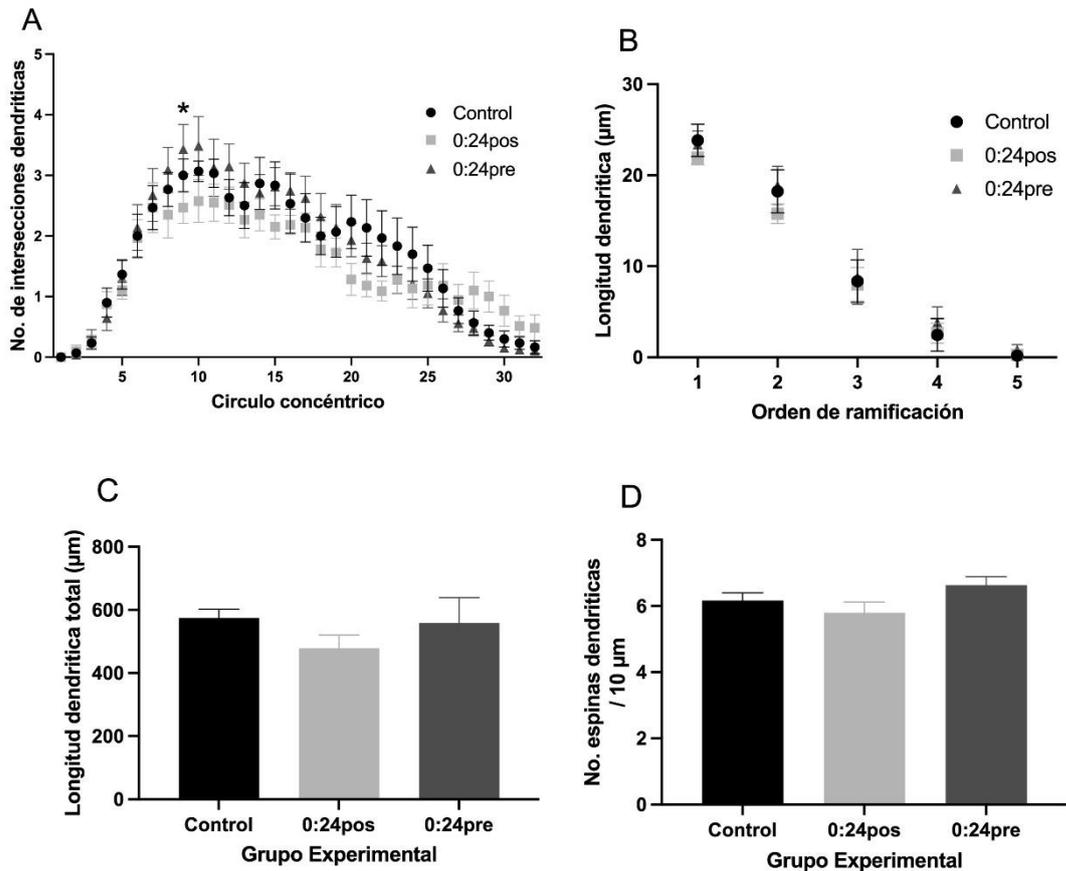


Figura 8. Arborización dendrítica del árbol apical de neuronas de corteza visual. A) Se observa una disminución en el número de intersecciones dendríticas en el círculo concéntrico número 9. B-D) No se observan diferencias significativas en los demás parámetros medidos. *P<0.05.

Morfología neuronal de corteza auditiva

En cuanto a la morfología neuronal del árbol basilar de la corteza auditiva de los dos grupos experimentales 0:24pre y 0:24pos, se observó que el número de intersecciones dendríticas en los círculos 10-15 aumentó con respecto al grupo control (Interacción: $F_{(56,406)} = 1.535$; Círculos concéntricos: $F_{(28,406)} = 330.1$; Grupos experimentales: $F_{(2,406)} = 4.577$; Figura 9A). La longitud dendrítica de los dos grupos experimentales 0:24pre y 0:24pos presenta una disminución en el primer orden de ramificación y un aumento en el segundo y tercer orden de ramificación (Interacción: $F_{(10,66)} = 3.520$; Orden de ramificación: $F_{(5,66)} = 87.99$; Grupos experimentales $F_{(2,66)} = 1.352$; Figura 9B); la densidad de espinas dendríticas disminuyó significativamente en el grupo 0:24pre con respecto al grupo control ($F_{(2,15)} = 5.42521$; $P=0.0169$; Figura 9D). No se observaron cambios en la longitud dendrítica total entre los grupos (Figura 9C).

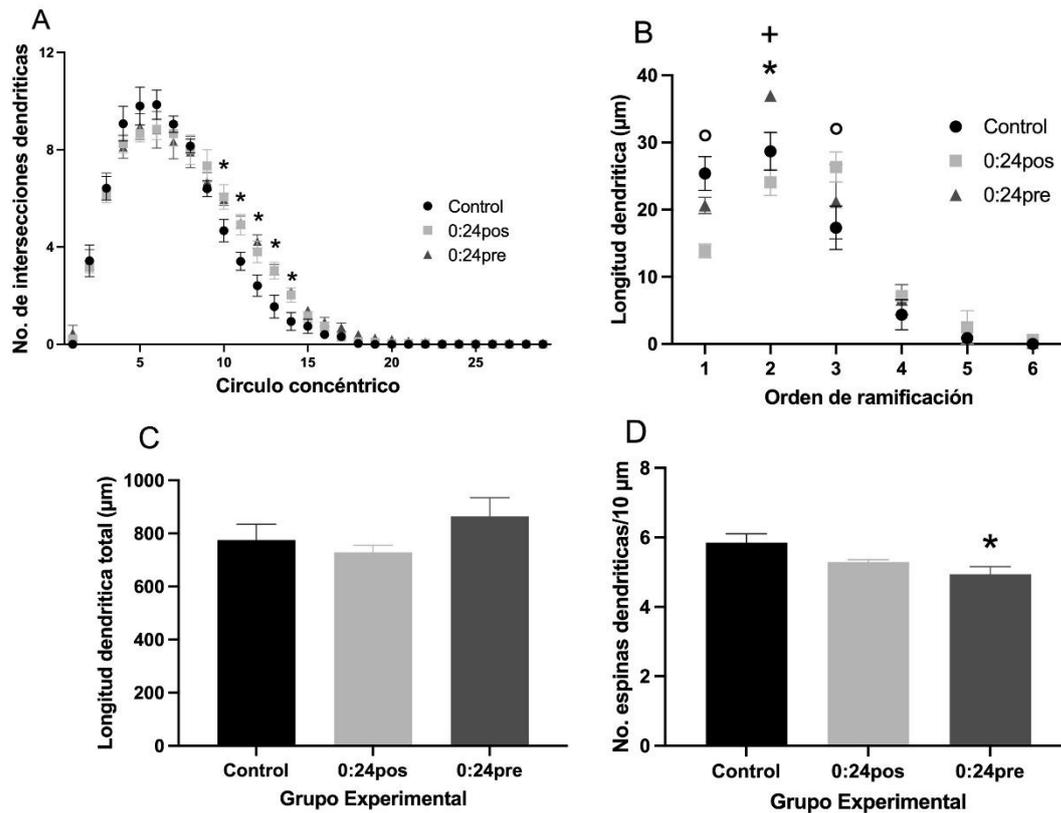


Figura 9. Arborización dendrítica basilar de neuronas de corteza auditiva. A) Número de intersecciones dendríticas presenta diferencias significativas en los círculos 10-15. B) Longitud dendrítica presenta diferencias del primer al tercer orden de ramificación. C) Longitud dendrítica total no presenta diferencias significativas. D) Se observan diferencias significativas en la densidad de espinas dendríticas. * $P < 0.05$.

En cuanto al árbol apical se observa en los dos grupos experimentales respecto al grupo control, una disminución en el número de intersecciones dendríticas del círculo concéntrico 15 al 25 (Interacción: $F_{(86,572)} = 2.090$; Círculos concéntricos $F_{(43,572)} = 72.67$; Grupos experimentales $F_{(2,572)} = 37.18$; $P < 0.0001$; Figura 10A). También se observa una disminución de la longitud en el primer orden de ramificación de los dos grupos experimentales respecto del grupo control (Interacción $F_{(10,66)} = 2.200$; Orden de ramificación: $F_{(5,66)} = 86.51$; Grupos experimentales: $F_{(2,66)} = 4.604$; $P < 0.0001$; Figura 10B). No se observaron cambios en la longitud dendrítica total (Figura 10C) ni en la densidad de espinas dendríticas (Figura 10D).

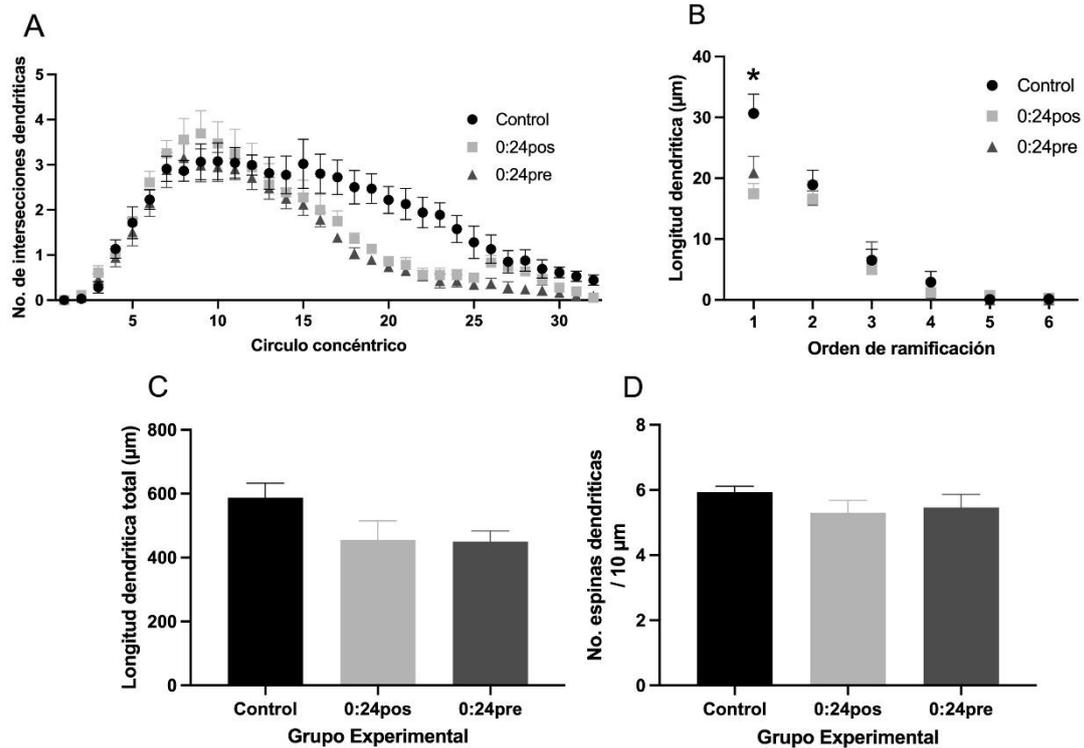


Figura 10. Arborización dendrítica apical de neuronas de corteza auditiva. A) Se presenta una disminución en el número de intersecciones dendríticas. B) La longitud dendrítica disminuyó significativamente en el primer orden de ramificación de las ratas 0:24pre y 0:24pos respecto del grupo control. C y D) La longitud dendrítica total y la densidad de espinas dendríticas no presenta diferencias significativas entre los grupos experimentales. * $P < 0.05$.

Discusión

Los animales criados en obscuridad total desde antes del nacimiento, mostraron una disminución significativa en cuanto al tiempo de duración de la prueba de aprendizaje y memoria en la arena semicircular respecto del grupo control, estos resultados son similares a los presentados por Watanabe *et al.*, (2007) quienes realizaron una versión seca de la prueba de laberinto acuático de Morris en un cuarto oscuro con animales sin ningún tipo de tratamiento y observaron una disminución en el tiempo que el animal tarda para alcanzar la recompensa a medida que pasan las sesiones. Los animales del grupo 0:24pre recorrieron una menor distancia antes de llegar a la recompensa y mostraron una mayor velocidad promedio para alcanzar la recompensa, estos datos están en concordancia con el trabajo de Bao *et al.* (2004) quienes trabajaron con animales sin ningún tipo de tratamiento y de Cai *et al.* (2009) quienes mostraron que animales privados auditivamente a temprana edad, se mueven más rápido hacia la recompensa y por lo tanto recorren una menor distancia. Los resultados sugieren que los animales del grupo 0:24pre aprendieron a relacionar el estímulo auditivo con la recompensa y

que el entrenamiento induce plasticidad en cuanto a los procesos de ubicación por señales auditivas.

Los resultados de la morfología neuronal de la corteza auditiva muestran que la densidad de espinas dendríticas del grupo 0:24pre es menor que la del grupo control, lo cual puede estar relacionado con que los animales de los grupos 0:24pre y 0:24pos permanecieron toda su vida postnatal en un cuarto en el cual el ambiente auditivo no tenía la misma complejidad que el ambiente en el cual se criaron las ratas del grupo control. Esto, es semejante a lo reportado de estudios con protocolos de ensordecimiento en ratas, que mencionan que la densidad de espinas dendríticas de neuronas de la corteza auditiva de dichos animales era menor respecto del grupo control (McMullen *et al.*, 1988; Bose *et al.*, 2010). Específicamente, la ausencia de los estímulos auditivos induce atrofia neuronal de la corteza auditiva (Bose *et al.*, 2010) y perturba las conexiones sinápticas excitatorias de dicha región cerebral (Lu *et al.*, 2008). Chen *et al.*, (2008) reportaron que una condición de aislamiento, induce cambios en el balance entre excitación e inhibición de las neuronas piramidales de corteza auditiva y en el metabolismo de la corticotropina lo que a su vez puede causar una disminución de la densidad de espinas dendríticas. Al respecto, es posible que la disminución en dicha variable observada en el presente estudio, se deba también a un cambio metabólico inducido por el ambiente sonoro simple al que fueron sometidos los animales para mantener las condiciones de obscuridad total.

De la misma forma Bose *et al.* (2010), encontraron que los animales ensordecidos mostraban una menor longitud dendrítica en el árbol apical de neuronas de la corteza auditiva lo cual es semejante a lo encontrado en el presente estudio y que sugiere un efecto negativo de las condiciones de disminución de estímulos ambientales .

En cuanto al árbol basilar de neuronas de la corteza auditiva la disminución en el número de intersecciones dendríticas en el primer círculo concéntrico de las neuronas de corteza auditiva de las ratas 0:24pre y 0:24pos puede estar relacionada con la atrofia neuronal que menciona Bose *et al.* (2010), no obstante, el aumento significativo de la longitud dendrítica al nivel del segundo y tercer orden de ramificación puede ser debido a un aumento en la duración del periodo crítico, influenciado por la disminución de los estímulos sensoriales (Chang & Merzenich, 2003). Se sabe que los animales que se encuentran en el periodo crítico de neurodesarrollo postnatal son altamente receptivos al aprendizaje inducido por entrenamiento y que el entrenamiento induce plasticidad neuronal en la corteza auditiva (Kacelnik *et al.*, 2006), un aumento en la densidad dendrítica (Leuner *et al.*, 2003) y un aumento en la ramificación dendrítica.

Jiang *et al.* (2009) demostraron que individuos que son privados visualmente desde una edad temprana presentan una mayor densidad neuronal en la corteza visual, este incremento en la densidad neuronal de la corteza visual es consecuencia de la ausencia de la poda neuronal que a su vez es inducida por la ausencia del estímulo visual (Bourgeois, *et al.*, 1989), sin embargo, los resultados de morfología neuronal de la corteza visual de este trabajo no mostraron diferencias significativas de los grupos privados respecto del grupo control, contrario a lo mencionado en la literatura (Argandoña, 1996; Bakkum, 1991; Fagiolini *et al.*, 1994) es posible que las condiciones de obscuridad bajo las cuales mantuvimos a los organismos, no fue suficiente para inducir cambios en la morfología de la corteza visual en rata; probablemente la intensidad lumínica varió al momento de entrar al cuarto a pesar de las medidas que se tomaron para que eso no sucediera. Landi *et al.* (2007) demostraron que el mínimo estímulo ambiental, es suficiente para desencadenar el desarrollo de agudeza retinal durante los primeros días de vida postnatal.

A pesar de que la prueba se realizó en un ambiente iluminado con luz roja, es posible que el estímulo auditivo no fue la única pista ambiental que los animales estaban utilizando para ubicarse en el espacio y otras pistas ambientales fueran visuales, como el color blanco de la bata que usó el experimentador, por ejemplo. Además, el hecho de que la posición de la arena con respecto a las cuatro paredes del cuarto experimental no era equidistante, podría dar pistas sobre la orientación en la que se encontraba la recompensa, de igual manera podrían existir otras pistas no visuales como la forma de la arena en sí misma ya que proporciona mucha información sobre el punto de inicio y el punto de recompensa.

Sin embargo, el hecho de que si existan diferencias significativas en los parámetros conductuales nos lleva a especular que el estímulo auditivo si tiene influencia en el comportamiento del animal por varias razones: la localización espacial de un sonido es la tarea más importante que realiza el sistema auditivo (Cai *et al.*, 2009; Knudsen *et al.*, 2000; Seidl & Grothe, 2005). El sistema auditivo tiene una precisión temporal superior a la del sistema visual (Brown & May, 2005), la visión depende de los estímulos que llegan únicamente por el frente del individuo en contraste con la audición que es omnidireccional (King, 2009), sumado a esto la visión depende en mayor medida de las condiciones ambientales en las que se recibe el estímulo. Particularmente, en este trabajo las condiciones visuales eran muy pobres, en contraste con las auditivas que contenían un sonido específico a una frecuencia específica, más aún los animales habían tenido un entrenamiento con este mismo sonido y como ya se mencionó, el entrenamiento induce plasticidad (Kacelnik *et al.*, 2006) y remodelación de la organización topográfica de la corteza

auditiva (Edeline, 1999) este cambio en la corteza auditiva tiene como objetivo enfatizar sonidos que son conductualmente relevantes (Berlau & Weinberger, 2008).

Por otro lado, en distintos trabajos se ha observado una estrecha comunicación entre V1B y Au1, al respecto, Finney *et al.* (2001) demostraron que existe una activación de la corteza visual en individuos sordos, mientras que Bigelow *et al.* (2022) descubrieron que una subpoblación de neuronas de Au1 responden a estímulos visuales y además, esas mismas neuronas conservan la capacidad de responder a estímulos auditivos; de igual manera se ha demostrado la presencia de proyecciones sinápticas directas desde áreas visuales (Banks, 2011; Stehberg, 2014) lo que sugiere una modulación visual de las respuestas auditivas. En conjunto, estos datos apoyan lo expuesto en relación con que el estímulo auditivo no fue la única información que tenían los animales al momento de hacer la prueba. Específicamente, sugerimos que la disminución de estímulos visuales provocó un decremento en la cantidad de información moduladora que recibe Au1 desde V1B y por tanto, la expresión de cambios en la morfología de Au1 como método de compensación por un ambiente débil de estimulación sensorial.

En este trabajo hubo distintas variables que no se pudieron controlar y que son consecuencia directa del diseño experimental, un ejemplo de esto es la técnica de crianza en oscuridad, la cual asegura un nivel bajo de estrés al que se somete al animal, pero promueve que la disminución de estimulación sensorial no sea únicamente visual ya que el ambiente sonoro se vuelve menos complejo, como consecuencia de esto, las dos modalidades sensoriales fueron perturbadas. Además, la dinámica de cuidado de los animales de experimentación por parte del propio experimentador o técnicos promovió una deprivación visual parcial y no completa. De igual manera, la organización morfológica de Au1 obedece a un mapa tonotópico clasificado por el rango de frecuencia auditiva del individuo, por lo que en estudios futuros se propone analizar las regiones correspondientes a la frecuencia con la que se realiza la asociación conductual para obtener resultados más específicos. Sin embargo, este trabajo muestra una asociación del animal con el estímulo auditivo al momento de realizar la prueba lo que sugiere la posibilidad de establecer un proceso de sustitución sensorial en ratas en el que no es necesario el uso de un dispositivo externo si no aprovechando la misma plasticidad inherente del cerebro y sobre todo del procesamiento sensorial, los animales ejecutan pruebas de aprendizaje y memoria de manera eficiente.

Conclusiones.

- La disminución en la latencia, en la distancia y el aumento de la velocidad de la prueba indican que el animal buscaba la recompensa y la asociaba a la pista auditiva.

- La ausencia de diferencias significativas en los resultados de morfología de la corteza visual indica que el protocolo de privación visual que se utilizó en este trabajo no produjo ceguera.
- El aislamiento tuvo un efecto en el desarrollo del sistema auditivo de los animales, demostrado por los resultados de morfología neuronal.

Referencias

Argandoña, E. G., Lafuente, J. V. (1996). Effects of dark-rearing on the vascularization of the developmental rat visual cortex. *Brain research*, 732(1-2), 43–51. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00485-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00485-4)

Bach-y-Rita, P., Kercel, W. S. (2003). Sensory substitution and the human–machine interface. *Trends in Cognitive Sciences*, 7(12), 541–546. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2003.10.013>.

Bach-y-Rita, P., Collins, C., Saunders, F., White, B., Scadden, L. (1969). Vision substitution by tactile the image projection. *Nature*, 221 (5184): 963–964.

Banks, M. I., Uhrich, D. J., Smith, P. H., Krause, B. M., & Manning, K. A. (2011). Descending projections from extrastriate visual cortex modulate responses of cells in primary auditory cortex. *Cerebral cortex* (New York, N.Y.: 1991), 21(11), 2620–2638. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhr048>

Bao, S., Chang, E. F., Woods, J., Merzenich, M. M. (2004). Temporal plasticity in the primary auditory cortex induced by operant perceptual learning. *Nature neuroscience*, 7(9), 974–981. <https://doi.org/10.1038/nn1293>

Bengoetxea, H., Ortuzar, N., Bulnes, S., Rico-Barrio, I., Lafuente, J. V., Argandoña, E. G. (2012). Enriched and Deprived Sensory Experience Induces Structural Changes and Rewires Connectivity during the Postnatal Development of the Brain. *Neural Plasticity*, 2012, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2012/305693>.

Berlau, K. M., Weinberger, N. M. (2008). Learning strategy determines auditory cortical plasticity. *Neurobiology of learning and memory*, 89(2), 153–166. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2007.07.004>

Bigelow, J., Morrill, R. J., Olsen, T., & Hasenstaub, A. R. (2022). Visual modulation of firing and spectrotemporal receptive fields in mouse auditory cortex. *Current research in neurobiology*, 3, 100040. <https://doi.org/10.1016/j.crneur.2022.100040>

Bose, M., Muñoz-Llancao, P., Roychowdhury, S., Nichols, J. A., Jakkamsetti, V., Porter, B., Byrapureddy, R., Salgado, H., Kilgard, M. P., Aboitiz, F., Dagnino-Subiabre, A., Atzori, M. (2010). Effect of the environment on the dendritic morphology of the rat auditory cortex. *Synapse*, 64(2), 97–110. <https://doi.org/10.1002/syn.20710>

Bourgeois, J. P., Jastreboff, P. J., Rakic, P. (1989). Synaptogenesis in visual cortex of normal and preterm monkeys: evidence for intrinsic regulation of synaptic overproduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(11), 4297–4301. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.11.4297>

Brown, C.H., May, B.J. (2005). Comparative Mammalian Sound Localization. In: Popper, A.N., Fay, R.R. (eds) Sound Source Localization. *Springer Handbook of Auditory Research*, vol 25. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/0-387-28863-5_5

Cai, R., Guo, F., Zhang, J., Xu, J., Cui, Y., Sun, X. (2009). Environmental enrichment improves behavioral performance and auditory spatial representation of primary auditory cortical neurons in rat. *Neurobiology of learning and memory*, 91(4), 366–376. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2009.01.005>

Chang, E. F., Merzenich, M. M. (2003). Environmental noise retards auditory cortical development. *Science*, 300(5618), 498–502. <https://doi.org/10.1126/science.1082163>

Chen, Y., Dubé, C. M., Rice, C. J., Baram, T. Z. (2008). Rapid loss of dendritic spines after stress involves derangement of spine dynamics by corticotropin-releasing hormone. *The Journal of Neuroscience*, 28(11), 2903–2911. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0225-08.2008>

Edeline J. M. (1999). Learning-induced physiological plasticity in the thalamo-cortical sensory systems: a critical evaluation of receptive field plasticity, map changes and their potential mechanisms. *Progress in Neurobiology*, 57(2), 165–224. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(98\)00042-2](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(98)00042-2)

Fagiolini, M., Pizzorusso, T., Berardi, N., Domenici, L., Maffei, L. (1994). Functional postnatal development of the rat primary visual cortex and the role of visual experience: dark rearing and monocular deprivation. *Vision research*, 34(6), 709–720. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(94\)90210-0](https://doi.org/10.1016/0042-6989(94)90210-0)

Finney, E. M., Fine, I., & Dobkins, K. R. (2001). Visual stimuli activate auditory cortex in the deaf. *Nature neuroscience*, 4(12), 1171–1173. <https://doi.org/10.1038/nn763>

Gibb, R., Kolb, B. (1998). A method for vibratome sectioning of Golgi-Cox stained whole rat brain. *Journal of Neuroscience Methods*, 79(1), 1–4. [https://doi.org/10.1016/s0165-0270\(97\)00163-5](https://doi.org/10.1016/s0165-0270(97)00163-5)

Hensch T. K. (2004). Critical period regulation. *Annual review of Neuroscience*, 27, 549–579. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.27.070203.144327>

Hooks, B. M., Chen, C. (2007). Critical periods in the visual system: changing views for a model of experience-dependent plasticity. *Neuron*, 56(2), 312–326. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.10.003>

Jiang, J., Zhu, W., Shi, F., Liu, Y., Li, J., Qin, W., Li, K., Yu, C., Jiang, T. (2009). Thick visual cortex in the early blind. *The Journal of Neuroscience*, 29(7), 2205–2211. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5451-08.2009>

Kacelnik, O., Nodal, F. R., Parsons, C. H., King, A. J. (2006). Training-induced plasticity of auditory localization in adult mammals. *PLoS Biology*, 4(4), e71. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040071>

King, A. J., Nelken, I. (2009). Unraveling the principles of auditory cortical processing: can we learn from the visual system? *Nature Neuroscience*, 12(6), 698–701. <https://doi.org/10.1038/nn.2308>

Kolb, B., Mychasiuk R., Muhammad, A., Gibb, R. (2013). Brain Plasticity in the developing brain. Chapter 2. En *Changing Brains*, Mezenich M. M., Nahum M., Van Vleet T. M. Eds, Progress in Brain Research Vol. 207, Elsevier.

Knudsen, E. I., Zheng, W., DeBello, W. M. (2000). Traces of learning in the auditory localization pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(22), 11815–11820. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.22.11815>

Landi, S., Sale, A., Berardi, N., Viegi, A., Maffei, L., Cenni, M. C. (2007). Retinal functional development is sensitive to environmental enrichment: a role for BDNF. *FASEB Journal*, 21(1), 130–139. <https://doi.org/10.1096/fj.06-6083com>

Larkman AU, Mason A. (1990). Correlations between morphology and electrophysiology of pyramidal neurons in slices of rat visual cortex. I. Establishment of cell classes. *Journal of Neuroscience*, 10:1407–1414. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.10-05-01407.1990>

- Leuner, B., Falduto, J., Shors, T. J. (2003). Associative memory formation increases the observation of dendritic spines in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 23(2), 659–665. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-02-00659.2003>
- Lu, J., Cui, Y., Cai, R., Mao, Y., Zhang, J., Sun, X. (2008). Early auditory deprivation alters expression of NMDA receptor subunit NR1 mRNA in the rat auditory cortex. *Journal of Neuroscience Research*, 86(6), 1290–1296. <https://doi.org/10.1002/jnr.21577>
- Malmierca M. S. (2003). The structure and physiology of the rat auditory system: an overview. *International Review of Neurobiology*, 56, 147–211. [https://doi.org/10.1016/s0074-7742\(03\)56005-6](https://doi.org/10.1016/s0074-7742(03)56005-6)
- Mason, A., Nicoll, A., Stratford, K. (1991). Synaptic transmission between individual pyramidal neurons of the rat visual cortex in vitro. *The Journal of Neuroscience*, 11(1), 72–84. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.11-01-00072.1991>
- McMullen, N. T., Glaser, E. M. (1988). Auditory cortical responses to neonatal deafening: pyramidal neuron spine loss without changes in growth or orientation. *Experimental Brain Research*, 72(1), 195–200. <https://doi.org/10.1007/BF00248516>
- Meredith, M. A., Lomber, S. G. (2011). Somatosensory and visual crossmodal plasticity in the anterior auditory field of early-deaf cats. *Hearing Research*, 280(1-2), 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2011.02.004>
- Mueller T. (2012). What is the Thalamus in Zebrafish? *Frontiers in Neuroscience*, 6, 64. <https://doi.org/10.3389/fnins.2012.00064>
- Ortuzar, N. (2012). Efectos neurovasculares y cognitivos de la administración intracortical del VEGF y el enriquecimiento ambiental durante el desarrollo postnatal de ratas Long Evans. Universidad del País Vasco.
- Prévost, F., Lepore, F., Guillemot, J. P. (2010). Cortical development of the visual system of the rat. *NeuroReport*, 21(1), 50–54. <https://doi.org/10.1097/wnr.0b013e328333d6ac>.
- Roy, V., Menant, O., Hacquemand, R., Vallier, C., Enschedé, E., Rovira, Katia., Gapegne, O. (2019). A case of visuo-auditory sensory substitution in rats. *Behavioural Processes*, 164, 157–166. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2019.05.001>.
- Seidl, A. H., Grothe, B. (2005). Development of sound localization mechanisms in the mongolian gerbil is shaped by early acoustic experience. *Journal of Neurophysiology*, 94(2), 1028–1036. <https://doi.org/10.1152/jn.01143.2004>

Sefton, A. J., Dreher, B., Harvey, A. R., Martin, P. R. (2015). Visual System. *The rat Nervous System*, Academic Press, 947–983. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374245-2.00030-9>.

Sholl, D. A. (1956). The measurable parameters of the cerebral cortex and their significance in its organization. *Progress in Neurobiology*, (2), 324–333.

Stehberg, J., Dang, P. T., & Frostig, R. D. (2014). Unimodal primary sensory cortices are directly connected by long-range horizontal projections in the rat sensory cortex. *Frontiers in neuroanatomy*, 8, 93. <https://doi.org/10.3389/fnana.2014.00093>

Watanabe, S., Yoshida, M. (2007). Auditory cued spatial learning in mice. *Physiology & Behavior*, 92(5), 906–910. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.06.019>