

DENSIDAD NEURONAL EN LA CORTEZA VISUAL PRIMARIA (ÁREA 17), DE DOS ESPECIES DE ROEDORES SILVESTRES

NEURONAL DENSITY IN PRIMARY VISUAL CORTEX (17 VISUAL AREA), IN TWO WILD RODENT SPECIES

*Olivares, R.; *Godoy, G.; *Adaro, L. & **Aboitiz, F.

OLIVARES, R.; GODOY, G.; ADARO, L. & ABOITIZ, F. Densidad neuronal en la corteza visual primaria (área 17), de dos especies de roedores silvestres. *Int. J. Morphol.*, 22(4):279-284, 2004.

RESUMEN: Diversos estudios experimentales demuestran que modificaciones medioambientales (por ejemplo: nutricionales y lumínicas), pueden producir alteraciones en el desarrollo normal de la corteza visual y sus conexiones. Por otro lado, es posible que en condiciones naturales, las especies animales hayan desarrollado adaptaciones a las distintas condiciones de luminosidad en que realizan su actividad. Por ende, la finalidad de este trabajo, fue estudiar la corteza visual primaria (área 17), de dos especies de roedores silvestres, relacionados filogenéticamente, pero con diferentes períodos de actividad; *Abrothrix olivaceus* (n=7) y *Phyllotis darwini* (n=7), con el propósito de evidenciar cambios detectados a través de la medición de la densidad neuronal, mediante la técnica del disector óptico, en cortes de 40µm de grosor, incluidos en celoidina y teñidos con cresyl violeta (Nissl). *A. olivaceus*, el cual presenta un periodo de actividad continuo en la zona central de Chile, evidenció una densidad neuronal menor ($34.75 \times 10^4 \pm 1.35 \times 10^4$ neuronas/mm³) que la observada en *P. darwini* ($37.23 \times 10^4 \pm 2.20 \times 10^4$ neuronas/mm³), especie de actividad nocturna en la misma región del país; siendo lo anterior estadísticamente significativo (t=2.54; p<0.05). Las diferencias encontradas se relacionarían con el tipo de conducta que presentan ambas especies, dado principalmente por las características de luminosidad en que se desenvuelven, así como también, de otros factores que se relacionarían con este parámetro, como son la relación predador-presa y la alimentación, entre otros.

PALABRAS CLAVE: 1. Corteza cerebral; 2. Corteza visual; 3. Densidad neuronal; 4. *Phyllotis sp.*; 5. *Abrothrix sp.*

INTRODUCCIÓN

Existen evidencias experimentales, fundamentalmente en roedores, que demuestran que la organización final del sistema nervioso depende de factores no genéticos, los que actúan en el período prenatal y postnatal temprano. Por ejemplo, la desnutrición puede provocar efectos deletéreos en el desarrollo del cerebro si se provoca en el período de mayor susceptibilidad del mismo (Soto-Moyano *et al.*, 1999). Otros factores, como el deterioro medioambiental (Fernández *et al.*, 1993) y la supresión de los estímulos visuales (Borges & Berry, 1978), pueden producir una detención en el desarrollo normal de la corteza cerebral y sus conexiones.

La hipótesis más corriente con respecto al desarrollo de las conexiones callosas visuales en los mamíferos y, en particular, de la rata, es que el patrón altamente organizado de conexiones cortico-corticales, incluyendo las conexiones callosas, que se observa en el animal adulto, representa el estadio final de un proceso de desarrollo que reconfigura las conexiones dispersas, inmaduras, presentes en el neonato.

En el neonato de rata, las células callosas están distribuidas uniformemente a través de la corteza occipital, pero hacia el final de la segunda semana postnatal, poco antes de la apertura de los ojos, ya se puede reconocer el patrón presente en el adulto (Olavarría & Van Sluyters, 1985). La investigación de los mecanismos que guían el desarrollo de las conexiones callosas, ha mostrado que esta vía se puede alterar significativamente por disrupción de las proyecciones retinianas en el neonato.

Estudios experimentales en mamíferos (hamsters: Rhoades & Dellacroce, 1980; Fish *et al.*, 1991; ratas: Rothblat & Hayes, 1982; Lund *et al.*, 1984; lagomorfos: Murphy & Grigonis, 1988; y carnívoros: Innocenti & Frost, 1980), han demostrado que la remoción de uno o ambos ojos al nacer, produce un patrón adulto en el cual las células y terminaciones callosas en la corteza occipital, están más ampliamente distribuidas que en un individuo normal. El parecido de esta distribución dispersa, con los estadios

* Departamento Ciencias Biológicas Animales, Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Chile.

** Departamento de Psiquiatría, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile.

inmaduros del desarrollo del área visual, ha dado lugar a la hipótesis de que la supresión de las aferencias visuales produce una detención del desarrollo normal (Bravo & Inzunza, 1994).

Sin embargo, se ha observado, que la enucleación monocular en ratas y hámsters produce la aparición de una banda callosa en el área 17 de la corteza ipsilateral al ojo remanente, en una zona que normalmente carece de conexiones callosas en el adulto (Olavarría *et al.*, 1987; O'Brien & Olavarría, 1995). Esto hace pensar que la enucleación monocular puede llevar a la aparición de características completamente nuevas en el patrón calloso.

Además, se ha evidenciado que ratas criadas en oscuridad, versus animales criados con ciclos normales de luz-oscuridad, presentan menor densidad vascular en la capa IV de la corteza visual (Argandoña & Lafuente, 2000).

Por lo anterior, se puede suponer que en forma natural, diversos grados de luminosidad (diurna, crepuscular o nocturna), podrían modular de diversa forma, el desarrollo de la corteza visual.

Es así como, se consideró de interés comparar especies filogenéticamente afines, para disminuir al mínimo la variable taxonómica (Felsenstein, 1985); pero con variantes en su período de actividad, para que, de este modo, se pudieran evidenciar eventuales adaptaciones de la corteza en cuestión.

Es por lo anterior que, la finalidad de este trabajo fue la de estudiar la corteza visual primaria (área 17), de *Abrothrix olivaceus* (Laucha olivácea), el cual presenta un periodo de actividad continuo en la zona central del país, versus *Phyllotis darwini* (Lauchón orejudo de Darwin), que presenta un período de actividad nocturno en la misma zona; ambos pertenecientes al Orden *Rodentia*, Suborden *Myomorpha*, Familia *Muridae* y Subfamilia *Sigmodontinae* (Muñoz -Pedreros, 2000); con el propósito de evidenciar eventuales variaciones en la densidad neuronal cortical, que pueden explicar la distinta actividad conductual.

MATERIAL Y MÉTODO

Se obtuvieron encéfalos de las especies de roedores *A. olivaceus* (n=7, peso corporal promedio 31.71 ± 5.35 g., peso encefálico promedio 0.66 ± 0.05 g.) y *P. darwini* (n=7, peso corporal promedio 59.14 ± 6.44 g., peso encefálico promedio 0.96 ± 0.10 g.), capturados en la zona central del país. Estos fueron fijados y conservados en formolaldehído

tamponado al 10%. En una siguiente etapa, dichos encéfalos fueron incluidos en celoidina, de acuerdo a la técnica descrita por Yakovlev (1970).

Una vez impregnados los encéfalos en celoidina y endurecido el material, se procedió a realizar cortes coronales anteroposteriores, de 40 μ m de grosor, los que fueron teñidos con Cresyl Violeta (Nissl) al 1%, a fin de poder visualizar con mayor claridad los somas neuronianos (Soto-Moyano *et al.*).

Se seleccionaron los cortes correspondientes al área dorso-medial del área 17 y, dentro de éstos, las capas IV y V, tomando como referencia un mapa estereotáxico de la citoarquitectura de la corteza cerebral presente en roedor, descrito por Caviness (1975).

En el ratón, el área 17 o área visual primaria, presenta las siguientes características: la capa I es bastante delgada y claramente identificable; contiene poca cantidad de células. Las capas II y III son muy poco diferenciables y se extienden hasta cerca del 45 % de la profundidad total de la corteza. Bajo ellas se encuentra la capa IV que se caracteriza por poseer neuronas pequeñas; alcanza hasta el 55 % de la profundidad de la corteza. La capa V contiene cuerpos celulares de tamaños medio y grande. La capa VI se acostumbra a dividirla en dos subcapas, la capa VI a, con neuronas pequeñas, de aspecto muy similar a la capa IV, con las células dispuestas en líneas verticales; y, más profunda, la capa VI b, que también contiene células pequeñas, pero en este caso su disposición es horizontal (Peters & Kara I y II, 1985).

La densidad neuronal fue cuantificada utilizando la técnica del disector óptico (Braendgaard *et al.*, 1990). El conteo se realizó en las capas IV y V y se contabilizaron principalmente neuronas piramidales. Las neuronas corticales se identifican, principalmente, por su perfil y la presencia de un pequeño nucléolo. Se descartaron las células gliales, las que se distinguen por presentar un perfil nuclear pequeño, de forma irregular e intensamente teñido, así como también las células endoteliales, las que tienen forma oblonga y se encuentran asociadas a capilares (Sterio, 1984).

El conteo se realizó con el aumento mayor del microscopio (100x), en un volumen tisular de $64.000 \mu\text{m}^3$. La densidad se expresó, finalmente, en neuronas/ mm^3 .

El procedimiento se realizó siempre en el mismo hemisferio cerebral y en el mismo punto, a fin de evitar posibles efectos de lateralización que pudiesen sesgar los resultados, ya que se ha evidenciado que, por ejemplo, la malnutrición proteica tiene más efecto sobre el desarrollo de la corteza occipital lateral que sobre la corteza dorsal de la misma región (Soto-Moyano *et al.*).

Se emplearon 7 encéfalos por cada especie. En cada encéfalo se trabajó con un promedio de 12 cortes. En cada uno de ellos se hicieron 4 mediciones distintas, siguiendo el protocolo previamente descrito; las que se promediaron para obtener un valor de densidad por corte.

Los valores de densidad neuronal se registraron y caracterizaron para su análisis estadístico, para el cual se empleó la prueba de t de Student de muestras independientes.

RESULTADOS

Tabla I. Densidad neuronal promedio (neuronas/mm³), de la corteza visual primaria (área 17), de las especies en estudio.

Especie	Densidad Promedio (neuronas/mm ³)
<i>Abrothrix olivaceus</i> (n=7)	$34.75 \times 10^4 \pm 1.35 \times 10^4$
<i>Phyllotis darwini</i> (n=7)	$37.23 \times 10^4 \pm 2.20 \times 10^4$

t=2.54 p=0.0258

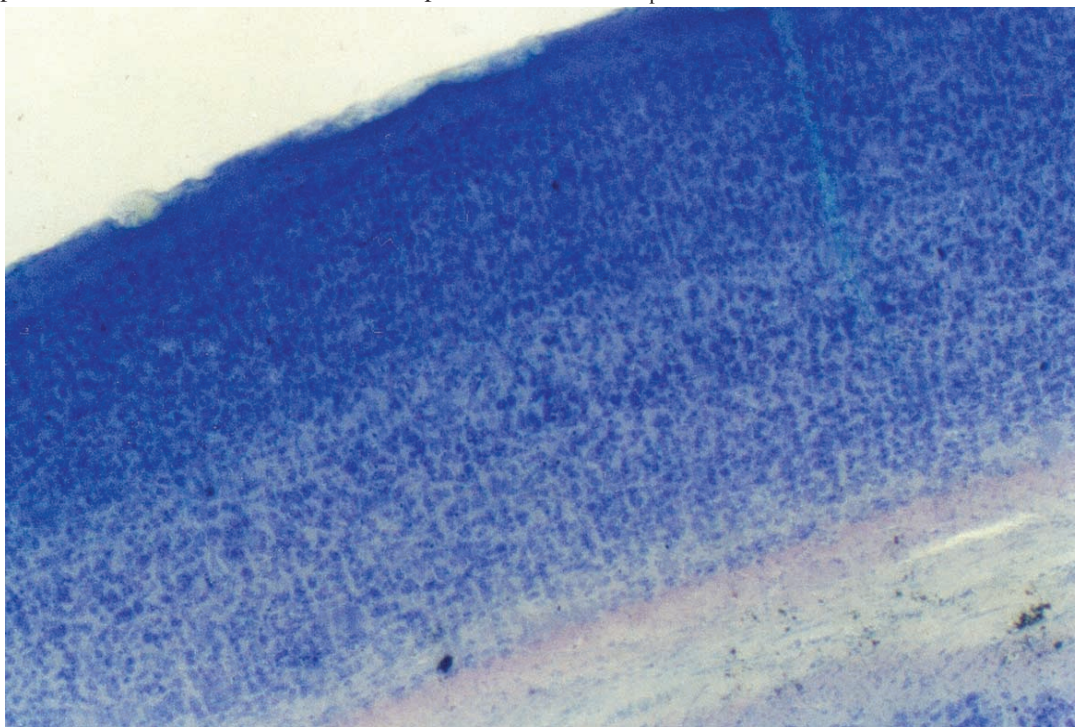


Fig. 1.
Corteza visual primaria (área 17) de *A. olivaceus* (4X)



Fig. 2.
Soma de neurona piramidal (100X)

DISCUSIÓN

Es posible que la diferencia obtenida, la cual fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$), sea producto del hecho que estas especies de roedores silvestres presentan diferentes períodos de actividad y, por ende, de exposición a la luz.

Las condiciones naturales de luz y oscuridad en que se desenvuelven las diferentes especies animales, influirían en el desarrollo de la corteza cerebral occipital, zona destinada al procesamiento de la información relativa a la visión. Esto se ve avalado por estudios anteriores que han determinado, en forma experimental, la importancia que los cambios ambientales durante la gestación y el período postnatal temprano pueden tener sobre el desarrollo definitivo de la corteza cerebral de los animales en estudio (Fernández *et al.*, 1993).

En este sentido, se ha observado que el peak del desarrollo cerebral en ratas ocurre cerca del final de la segunda semana postnatal (día 14) (Dobbing & Sands, 1971).

Por otro lado, se ha demostrado que la enucleación monocular en hámsters, altera la normalidad de las conexiones callosas visuales, produciendo la aparición de una banda callosa en el área 17 de la corteza ipsilateral al ojo remanente, en una zona que normalmente carece de conexiones callosas en el adulto (O'Brien & Olavarría). Sin embargo, al realizar, en ratas, bloqueos monoculares de la actividad retiniana mediante la inyección intraocular de un bloqueador de los canales de sodio, como es la tetradotoxina (TTX), no se observaron alteraciones en el patrón calloso adulto (Chang *et al.*, 1995).

Los resultados obtenidos en este estudio coincidieron con una diferencia conductual con respecto a los períodos de actividad en la cual se desenvuelven ambas especies de roedores. Si bien, como se ha visto en los estudios anteriormente descritos, las condiciones de luminosidad o de estímulos visuales pueden afectar el desarrollo de la corteza cerebral occipital, ya sea beneficiosa o perjudicialmente, estas condiciones de vida también pueden influir sobre otros parámetros que también pueden afectar el normal desarrollo del sistema nervioso. En este sentido, la nutrición y la relación con el medioambiente pueden verse alterados por las diferentes conductas horarias de los individuos; y éstos, a su vez, pueden determinar cambios en la ontogenia del sistema nervioso.

Por ejemplo, la desnutrición oculta, ha evidenciado tener efectos nocivos sobre el desarrollo neocortical. Este tipo de malnutrición consiste en una reducción del contenido de proteínas en la dieta de las madres preñadas, desde un 25 % a un 8 % de caseína; compensada esta reducción con un incremento de carbohidratos y grasa (Morgane *et al.*, 1978).

Al respecto, Soto-Moyano *et al.*, estudiaron la densidad neuronal en las regiones lateral, dorso-lateral y dorsal de la corteza cerebral occipital, en ratas de 22 días de edad, provenientes de 3 grupos de estudio: un grupo control, un grupo rehabilitado y un grupo malnutrido. Las crías del grupo malnutrido presentaron, en todos los casos, una densidad neuronal mayor. Esta diferencia fue significativamente mayor en la región lateral de la corteza cerebral occipital. Los resultados hacen sugerir que la malnutrición prenatal, per se, es capaz de inducir efectos deletéreos en la densidad neuronal cortical, a pesar de la subsecuente rehabilitación nutricional durante la lactancia.

Es posible, además, suponer que la mayor densidad neuronal que se observó en *Phyllotis darwini*, se deba a un menor tamaño de los somas neuronarios, acompañado de una disminución en el número de conexiones y ramificaciones dendríticas. Lo anterior, porque se ha visto que, generalmente, estos parámetros tienen una relación inversa (densidad neuronal versus tamaño de los somas y conexiones dendríticas).

Es así como se ha observado que la malnutrición severa, la cual consiste en la reducción de alrededor del 60 % del alimento diario, iniciada durante la gestación y prolongada durante la lactancia, afecta de manera adversa el desarrollo morfológico de la neocorteza, observándose un incremento en la densidad neuronal y una disminución de las ramas dendríticas (Angulo-Colmenares *et al.*, 1979; Leuba & Rabinowics I y II, 1979; Warren & Bedi, 1984).

Evaluaciones morfométricas en las neuronas piramidales de la capa V, en ratas en período de lactancia (5-22 días postnatal), mostraron que el enriquecimiento del medioambiente y de las condiciones nutricionales, dió como resultado un aumento en el número de ramificaciones dendríticas. Este resultado fue más evidente en la porción latero-ventral de la corteza visual (Fernández *et al.*, 1997). Estos autores, en últimos trabajos, encontraron una expansión territorial del campo dendrítico en neuronas observadas en la región lateral de la corteza parieto-occipital, de ratas sometidas a un enriquecimiento polisensorial temprano (2-22 días de edad) (Fernández *et al.*, 2003).

A la inversa, el deterioro medioambiental durante un período limitado de tiempo (desde el nacimiento hasta los 18 días postnatales), produce una disminución de las ramificaciones dendríticas del árbol basal de las neuronas de la corteza motora de la rata. Este resultado se ve aún más potenciado en caso de que se produzca una combinación con una desnutrición (Fernández *et al.*, 1993).

Del mismo modo, ratas malnutridas prenatalmente y durante la lactancia, con una dieta isocalórica y baja en proteínas, presentaron un cuerpo calloso más pequeño que los controles, a los 45-52 días de edad, lo cual fue consistente con las diferencias en los pesos cerebrales. En cambio, ratas malnutridas prenatalmente y rehabilitadas durante la lactancia con una dieta alta en proteínas, mostraron normalidad en el peso cerebral y en el desarrollo de los tercios medio y posterior del cuerpo calloso. El cuerpo calloso anterior, que conecta áreas frontales a través de la línea media, es particularmente afectado por este tipo de malnutrición, a pesar de la rehabilitación dietaria durante la vida postnatal (Olivares *et al.*, 2002). Además, las dendritas apicales de las células piramidales son más cortas y sus espinas dendríticas menos densas en estos animales sometidos a este tipo de malnutrición que los controles (West & Kemper, 1976), particularmente en células ubicadas en las capas II, III y V (Díaz-Cintra *et al.*, 1990).

Otros sistemas, también pueden verse afectados, en el desarrollo, por factores ambientales. Es así como se han realizado estudios que han evidenciado fenómenos de plasticidad

digestiva frente a distintos tipos de dietas (ricas en carbohidratos y en proteínas) en *Phyllotis darwini* (Sabat & Bozinovic, 2000), como también de plasticidad enzimática (sacarasa, maltasa y N-aminopeptidasa) en la misma especie, determinada por la proteína dietaria (Sabat *et al.*, 1999).

Finalmente los resultados arrojados indican que *Phyllotis*, el cual presenta un peso encefálico promedio mayor (0.96 ± 0.10 g.), presenta una densidad neuronal también mayor que *Abrothrix*; sin embargo, también presentaría un menor coeficiente de encefalización (peso encefálico/peso corporal), lo que apuntaría a una relación entre densidad neuronal y dicho coeficiente, aunque para tener seguridad de lo anterior, habría que estudiar otras especies de roedores, especialmente de pesos encefálicos similares y, además, otras áreas corticales, que no debieran mostrar diferencias en la densidad neuronal, o tener una mayor densidad en *Abrothrix*, el cual presenta un cerebro más pequeño (0.66 ± 0.05 g.).

AGRADECIMIENTOS: Al núcleo Milenio de Neurociencias Integradas.

OLIVARES, R.; GODOY, G.; ADARO, L. & ABOITIZ, F. Neuronal density in primary visual cortex (17 visual area), in two wild rodent species. *Int. J. Morphol.*, 22(4):279-284, 2004.

SUMMARY: Several studies show that environmental modifications (i.e. nutritional or sensory) can produce profound alterations in the normal development of the cerebral cortex and its connectivity. In addition, it is possible that in natural conditions animal species have developed neuronal adaptations to the different conditions of luminance in which they normally behave. In this work we studied the 17 visual area (primary visual cortex), of two sympatric Chilean rodents, a continuous activity period species (*Abrothrix olivaceus*, n=7) and a nocturnal species (*Phyllotis darwini*, n=7), in order to detect species differences in neuronal density in celloidin-embedded, 40 mm-thickness Nissl sections, with the aid of the optical disector. *A. olivaceus* showed a decreased neuronal density in relation to *P. darwini* ($34.75 \times 10^4 + 1.35 \times 10^4$ neurons/mm³ against $37.23 \times 10^4 + 2.2 \times 10^4$ neurons/mm³), which was statistically significant ($t=2.54; p<0.05$). These differences might be related to differences in daily activity in the two species.

KEY WORDS: 1. Cerebral cortex; 2. Visual cortex; 3. Neuronal density; 4. *P. darwini*; 5. *A. olivaceus*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angulo-Colmenares, A. G.; Vaughan, D. W. & Hinds, J. W. Rehabilitation following early malnutrition in the rat: body weight, brain size, and cerebral cortex development. *Brain Res.*, 169:121-38, 1979.
- Argandoña, E. G. & Lafuente, J. V. Influence of visual experience deprivation on the postnatal development of the microvascular bed in layer IV of the rat visual cortex. *Brain Res.*, 855:137-42, 2000.
- Borges, S. & Berry, M. The effects of dark rearing on the development of the visual cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 180 (2):277-300, 1978.
- Braendgaard, H.; Evans, S. M.; Howard, C. V. & Gundersen, H. J. G. The total number of neurons in the human neocortex unbiasedly estimated using optical disector. *J. Microsc.* 157:285-304, 1990.
- Bravo, H. & Inzunza, O. Effects of pre and postnatal retinal deprivation on the striate-peristriate cortical connections in the rat. *Biol. Res.*, 27:73-77, 1994.
- Caviness, V. S. Jr. Architectonic map of neocortex of the normal mouse. *J. Comp. Neurol.*, 164:247-64, 1975.
- Chang, K.; Van Sluyters, R. & Olavarría, J. Effect of monocular blockade of retinal activity on the development of visual callosal connections in the rat. *Biol. Res.*, 28:219-26, 1995.
- Díaz-Cintra, S.; Cintra, L.; Ortega, A.; Kemper, T. & Morgane, P. J. Effects of protein deprivation on pyramidal cells of the visual cortex in rats of three ages groups. *J. Comp. Neurol.*, 292:117-26, 1990.
- Dobbing, J. & Sands, J. Vulnerability of developing brain: IX. The effect of nutritional growth retardation on the timing of the brain growth-spurt. *Biol. Neonate*, 19:363-78, 1971.

- Felsenstein, J. Phylogenies and comparative method. *The Am. Nat.*, 125:1-15, 1985.
- Fernández, V.; Adaro, L.; Sanhueza-Tsutsumi, M.; Inzunza, O. & Bravo, H. Early-life polysensorial stimulation and nutrition: topographic levels of susceptibility in the rat visual cortex. *Biol. Neonate*, 71: 265-76, 1997.
- Fernández, V.; Fernández, B. & Adaro, L. Early polysensorial enrichment: specific experience induced structural changes in the parieto-occipital cortex of the rat. *Growth, Development & Aging*, 67:3-10, 2003.
- Fernández, V.; Pascual, R. & Ruiz, S. Early-life environmental deterioration, nutrition and ontogenesis of the motor cortex in the rat: a Golgi study. *Biol. Neonate*, 64: 245-53, 1993.
- Fish, S. E.; Rhoades, R. W.; Bennett-Clarke, C. A.; Figley, B. & Mooney, R. D. Organization, development and enucleation-induced alterations in the visual callosal projection of the hamster: Single axon tracing with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin and Di-I. *Eur. J. Neurosci.* 3:1255-0, 1991.
- Innocenti, G. & Frost, D. The postnatal development of visual callosal connections in the absence of visual experience or of the eyes. *Exp. Brain Res.*, 39:365-75, 1980.
- Leuba, G. & Rabinowicz, T. Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex: I. Cellular densities, cortical volume and total number of cells. *Exp. Brain Res.*, 37:283-98, 1979.
- Leuba, G. & Rabinowicz, T. Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex: II. Evolution of dendritic branching and spines in the visual region. *Exp. Brain Res.*, 37:299-308, 1979.
- Lund, R.; Chang, F. & Land, P. The development of callosal projections in normal and one-eyed rats. *Dev. Brain Res.* 14: 139-42, 1984.
- Morgane, P. J.; Miller, M.; Kemper, T.; Stern, W.; Forbes, W.; Hall, R.; Bronzino, J.; Kissane, J.; Hawrylewoiz, E. & Resnick, O. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system of the rat. *Neurosc. Biobehav. Rev.*, 2:137-230, 1978.
- Muñoz-Pedreras A. *Orden Rodentia*. En: Muñoz-Pedreras A., Yáñez J. *Mamíferos de Chile*. 1ª ed. CEA ediciones, Valdivia, Chile. 464pp, 2000.
- Murphy, E. & Grigonis, A. Postnatal development of the visual corpus callosum: the influence of activity of the retinofugal projections. *Behav. Brain Res.*, 30:151-63, 1988.
- O'Brien, B. & Olavarria, J. Anomalous patterns of callosal connections develop in visual cortex of monocularly enucleated hamsters. *Biol. Res.*, 28:211-8, 1995.
- Olavarria, J.; Malach, R. & Van Sluyters, R. C. Development of visual callosal connections in neonatally enucleated rats. *J. Comp. Neurol.*, 260:321-48, 1987.
- Olavarria, J. & Van Sluyters, R. C. Organization and postnatal development of callosal connections in the visual cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.*, 239:1-26, 1985.
- Olivares, R.; Soto-Moyano, R.; Hernández, A. & Aboitiz, F. La malnutrición prenatal proteica leve afecta el desarrollo del cuerpo calloso anterior. *Rev. Chil. Anat.*, 20(2):159-63, 2002.
- Peters, A. & Kara, D. The neuronal composition of area 17 of rat visual cortex. I The pyramidal cells. *J. Comp. Neurol.*, 234:218-41, 1985.
- Peters, A. & Kara, D. The neuronal composition of area 17 of rat visual cortex. II The nonpyramidal cells. *J. Comp. Neurol.*, 234:242-63, 1985.
- Rhoades, R. & Dellacroce, D. Neonatal enucleation induces an asymmetric pattern of visual callosal connections in hamsters. *Brain Res.*, 202:189-95, 1980.
- Rothblat, L. & Hayes, L. Age-related changes in the distribution of visual callosal neurons following monocular enucleation in the rat. *Brain Res.*, 246:146-9, 1982.
- Sabat, P. & Bozinovic, F. Digestive plasticity and the cost of acclimation to dietary chemistry in the omnivorous leaf-eared mouse *Phyllotis darwini*. *J. Comp. Physiol. B.*, 170: 411-7, 2000.
- Sabat, P.; Lagos, J. & Bozinovic, F. Test of the adaptive modulation hipótesis in rodents: dietary flexibility and enzyme plasticity. *Comp. Biochem. Physiol. Part A.*, 123: 83-8, 1999.
- Soto-Moyano, R.; Fernández, V.; Sanhueza, M.; Belmar, J.; Kusch, C.; Pérez, H.; Ruiz, S. & Hernández, A. Effects of mild protein prenatal malnutrition and subsequent postnatal nutritional rehabilitation on noradrenaline release and neuronal density in the rat occipital cortex. *Dev. Brain Res.*, 116:51-8, 1999.
- Sterio, D. C. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J. Microsc.* 134 (2): 127-36, 1984.
- Warren, M. A. & Bedi, K. S. A quantitative assessment of the development of synapses and neurons in the visual cortex of control and undernourished rats. *J. Comp. Neurol.*, 227: 104-8, 1984.
- West, C. D. & Kemper, T. L. The effects of low protein diet on the anatomical development of the rat brain. *Brain Res.* 107:221-37, 1976.
- Yakovlev, P. I. *Whole brain serial histological sections*. In: C. G. Tedeschi, de. *Neuropathology; Methods and Diagnosis*. Little, Brown and co., Boston, USA, pp: 371-8, 1970.

Dirección para correspondencia:
 Prof. Dr. Ricardo Olivares P-M
 Depto. de Ciencias Biológicas Animales
 Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias
 Universidad de Chile
 Santa Rosa 11735, La Pintana
 Santiago - CHILE

Recibido : 09-09-2004
 Aceptado: 14-10-2004