



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**“Efecto del nado sobre el volumen del
hipocampo dorsal y la conducta espacial de
ratas adultas con lesión excitotóxica
perinatal”**

TESIS

Que para obtener el título de:

BIÓLOGO

PRESENTA

Saúl De los santos Mendoza

DIRECTORA DE TESIS

Gina Lorena Quirarte

ASESORA

Patricia Rosas Saucedo

**Ciudad Nezahualcóyotl, Estado de
México, Septiembre 2020**





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El presente trabajo se realizó bajo la dirección de la Dra. Gina Lorena Quirarte en el Laboratorio de Aprendizaje y Memoria del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Querétaro, QRO. México.

Agradecimientos

El presente trabajo no hubiera sido posible sin el apoyo, asesoría y dedicación de Rafael Arrazola, quien amablemente me compartió parte de su proyecto, tiempo y esfuerzo. Te estoy muy agradecido. Asimismo, agradezco a la Dra. Gina Lorena por haberme aceptado como un integrante de su laboratorio y colaborar para que, en conjunto con Rafael, pudiéramos terminar de buena manera este proyecto.

Institucionalmente agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por proporcionarme los materiales e instalaciones necesarias para mi formación académica. Dentro de esta última agradezco a mis sinodales por haberse tomado el tiempo para revisar este trabajo y otorgarme correcciones: Dra. Elizabeth Vieyra; Dra. Leticia Ledesma; Dra. Rosa Linares y especialmente a la Dra. Patricia Rosas, quien desinteresadamente me apoyó y se ofreció a ser mi asesora interna desde los comienzos del proyecto. Muchas gracias.

Dentro del Instituto de Neurobiología, les agradezco su apoyo y asesoría técnica a Norma Serafín y la Dra. Cristina Medina; a la Unidad de Análisis Conductual, en especial a la Dra. Deysi Gasca; y al bioterio, en especial al Dr. Martín y a la Dra. Alejandra. También a mis compañeros del laboratorio, quienes me hicieron buenas observaciones y compartieron conmigo esta etapa de mi vida: Luis, Cynthia, Martha, Jonatán, Daniel, Alheli, Carlos.

Finalmente, estoy infinitamente agradecido con mi familia: mi madre Maricela, mi padre Flocelo y mi hermana Karina, ustedes siempre me han apoyado, pero sobre todo en los momentos difíciles. Nada de esto hubiera sido posible sin ustedes. Muchas gracias.

Dedicatoria

A mi familia, que va más allá de la de sangre.

Índice

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN.....	7
EL NACIMIENTO PREMATURO.....	7
MARCO TEÓRICO.....	12
LA ENCEFALOPATÍA DEL PREMATURO.....	12
<i>Estrategias de intervención temprana</i>	19
MODELOS ANIMALES DE DAÑO GLIAL.....	20
EL HIPOCAMPO DORSAL.....	23
PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS Y CAMPO ABIERTO.....	27
<i>Prueba de reconocimiento de objetos</i>	27
<i>Prueba de campo abierto</i>	33
EL EJERCICIO FÍSICO COMO PARADIGMA EN LA PROMOCIÓN DE LA MEMORIA Y LA NEUROPROTECCIÓN...	36
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	42
JUSTIFICACIÓN	42
HIPÓTESIS	42
OBJETIVOS.....	43
MÉTODO.....	43
SUJETOS EXPERIMENTALES Y AGRUPACIÓN	43
LESIÓN EXCITOTÓXICA.....	44
EJERCICIO DE NADO.....	45
PRUEBA DE CAMPO ABIERTO	46
PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS	46
OBTENCIÓN DE LOS CEREBROS.....	47
HISTOLOGÍA	47
VOLUMETRÍA	48
ESTADÍSTICA.....	49
RESULTADOS	50
CAMPO ABIERTO	50
PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS	53
.....	54
VOLUMETRÍA	54
ANÁLISIS DE RESULTADOS	57
PRUEBA DE CAMPO ABIERTO	57
PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS	60
VOLUMETRÍA	62
CONCLUSIONES.....	69

Resumen

El ejercicio aeróbico se ha considerado una terapia alternativa que ha demostrado mejorar las funciones cognitivas y disminuir diferentes condiciones neurológicas como las provocadas por las lesiones excitotóxicas. El objetivo de este trabajo fue investigar el efecto del nado sobre el volumen del hipocampo dorsal y el aprendizaje espacial en ratas sometidas a una lesión excitotóxica unilateral del cuerpo caloso en el día postnatal 5. Para ello, ratas macho Sprague-Dawley fueron asignadas a uno de los siguientes grupos: intacto, vehículo y lesión. A su vez, cada grupo se subdividió en dos grupos: sedentario y con nado, este último se llevó a cabo a partir del día postnatal 7 al 30. En el día 50 de edad todos los grupos se sometieron a la prueba de campo abierto y en el día 60 se entrenaron en la tarea de reconocimiento de objetos dependiente de lugar. Las ratas fueron sacrificadas en el día 61 postnatal para obtener su cerebro y realizar las mediciones volumétricas. El análisis de la prueba de campo abierto mostró un incremento de la distancia total recorrida y movimientos estereotipados del grupo Lesión-Sedentario, mientras que el grupo Lesión-Nado no presentó diferencias con respecto a los controles o el grupo Lesión-Sedentario. En la prueba de reconocimiento de objetos se encontró que todos los grupos control discriminaron tanto en el entrenamiento como en la prueba, no obstante, las ratas lesionadas no lo hicieron en ninguno de los dos casos. La volumetría reveló que el grupo Lesión-Sedentario tuvo una disminución del hipocampo dorsal tanto en el hemisferio ipsilateral como contralateral a la lesión, en cambio en el grupo Lesión-Nado únicamente disminuyó el hemisferio ipsilateral a la lesión. Los resultados de la presente tesis muestran que el nado es capaz de interferir de manera favorable en las consecuencias derivadas de una lesión excitotóxica.

Introducción

El nacimiento prematuro

Aunque actualmente existe debate acerca de la utilización del peso o del tiempo de gestación como marcador objetivo de un neonato prematuro, se consideran prematuros a los neonatos nacidos antes de las 37 semanas de gestación, en comparación a las aproximadamente 40 semanas que componen un nacimiento a término (Figura 1) (Tucker & McGuire, 2004). De esta manera, el nacimiento prematuro se clasifica como: 1. Moderado cuando ocurre entre las 32-36 semanas de gestación o cuando se presenta con un peso menor a 2500 g, 2. Muy prematuro cuando ocurre entre las 28-31 semanas de gestación o un peso menor a 1500 g y 3. Extremadamente prematuro cuando es menor a las 27 semanas de gestación o con un peso menor a 1000 g (Johansson & Cnattigius, 2010).

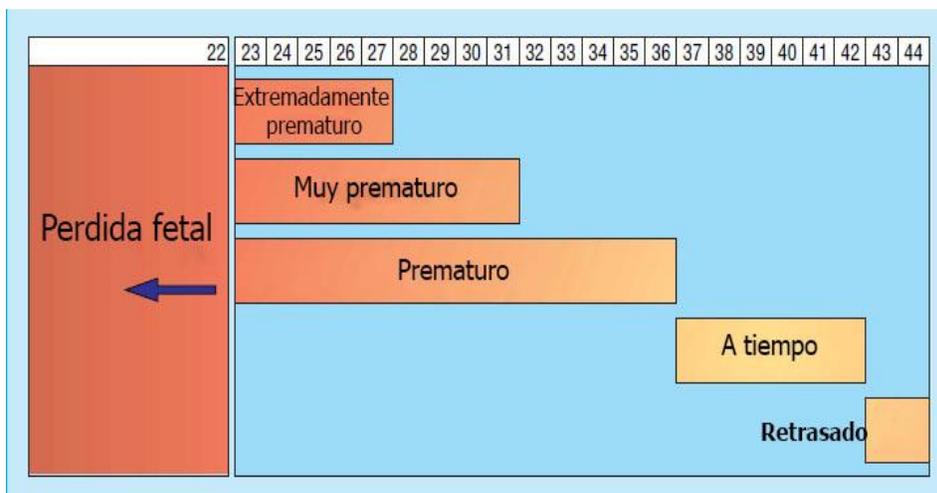


Figura 1. Categorías de los nacimientos prematuros de acuerdo con las semanas de gestación (Modificada de Tucker & McGuire, 2004).

Existen dos tipos de partos prematuros: indicados y espontáneos. Los partos indicados conforman aproximadamente una tercera parte del total de partos prematuros y son indicados por un médico debido a alguna condición del embarazo o gestación (Requejo & Merialdi, 2010). Algunas de las condiciones más frecuentemente asociadas para los nacimientos prematuros por intervención comprenden a la preeclamsia, estrés fetal, hipertensión, infecciones vaginales, entre otros (Bronstein, 2016; Goldenberg & McClure, 2010). En el caso de los partos espontáneos, estos se presentan con o sin rompimiento de la placenta en algún

punto previo a las 37 semanas de embarazo y comprenden alrededor de dos tercios del total de nacimientos prematuros (Bronstein, 2016). Las condiciones más comúnmente asociadas al parto espontáneo son las infecciones, inflamaciones, isquemia, hemorragia, distensión uterina, estrés u otros procesos mediados inmunológicamente (Goldenberg et al., 2008).

La mayoría de las muertes perinatales ocurren en los neonatos prematuros, aunque sus probabilidades de sobrevivencia han aumentado considerablemente (Requejo & Meriardi, 2010). De acuerdo a los datos reportados para Estados Unidos, en el año 2000 por cada 1000 neonatos muy prematuros (<32 semanas) murieron alrededor de 180, mientras que para el año 2010 la cantidad se redujo a 165; en el año 2000 por cada 1000 neonatos nacidos en la semana 32-33 se registraron alrededor de 17 decesos y para el año 2010 la cantidad disminuyó a 15; nuevamente en el año 2000 por cada 1000 neonatos nacidos entre la semana 34-36 hubo alrededor de 8 muertes y para el año 2010 se redujo a 7 (MacDorman & Mathews, 2013). Otros datos estiman que la viabilidad mínima se encuentra en los neonatos nacidos alrededor de las 22 semanas de gestación con un porcentaje de sobrevivencia del 3.3%, mientras que arriba de las 27 semanas de gestación las probabilidades de supervivencia son mayores al 90% (Tabla 1) (Larson et al., 2010). De acuerdo con la UNICEF (2018), a nivel mundial cada año 2.6 millones de bebés mueren antes de cumplir un mes de edad, de estas muertes 80% son debidas al nacimiento prematuro.

Mientras que la tasa de sobrevivencia para los neonatos prematuros ha ido al alta, la incidencia de condiciones asociadas no ha disminuido (Johansson & Cnattigius, 2010; Larson et al., 2010). Algunas de las condiciones inmediatas de salud a las que muchos neonatos prematuros se enfrentan luego de nacer puede ser el síndrome de dificultad respiratoria, el cual es una de las principales causas de deceso que se produce por una deficiencia de surfactante pulmonar, al ser este producido en su mayor parte luego de la semana 32 de gestación (Fraser et al., 2004). Por su parte, infecciones a las que también se encuentran propensos son la neumonía, bacteriemia, meningitis, infección nosocomial e infección de vías urinarias (McGuire et al., 2004). De igual manera, hemorragias cerebrales, apnea,

problemas de alimentación, nutrición subóptima e hipoglicemia son problemas que se presentan en esta población y que pueden afectar el desarrollo cerebral (Haynes et al., 2013; Johansson & Cnattigius, 2010).

Tabla 1. Porcentaje de sobrevivencia de acuerdo con la edad gestacional (Modificada de Larson et al., 2010).

Edad gestacional (Semanas)	Sobrevivencia (%)
<22	3.3
22	6.0
23	34.3
24	59.2
25	75.3
26	80.0
27	89.4
28	91.2
29	94.3
30	96.8
31	96.7
32	97.5
33	98.1
34	98.4
35	98.2
36	97.5
37	97.9
>37	98.0
Todos	95.4

En este sentido, para la mayoría de los neonatos prematuros de más de 32 semanas de gestación el neurodesarrollo es similar a aquellos neonatos nacidos a tiempo (Figura 2) (Colvin et al., 2004). En cuanto a los neonatos muy y extremadamente prematuros, estos tienen mayor probabilidad de presentar leucomalacia quística periventricular e hidrocefalia posthemorrágica, mismas que son fuertes causantes de futuros problemas en el neurodesarrollo. Para Estados Unidos e Inglaterra la mayoría de estos problemas ocurren entre un 30 y 50% de los infantes nacidos antes de las 28 semanas de gestación o con pesos menores al kilogramo (Colvin et al., 2004; Larson et al., 2010).

Algunas de las consecuencias clínicas más serias derivadas de estas lesiones comprenden a la parálisis cerebral, ceguera, déficits visuales o auditivos, problemas con el desarrollo del lenguaje, retraso, problemas de coordinación y atención (Anderson, 2014; Quesada et al., 2014; Saigal & Doyle, 2008); el desarrollo social temprano, tal como el reconocimiento de la familia, puede ser también retrasado, asimismo, la gran mayoría de neonatos prematuros necesitarán alguna forma adicional de apoyo educativo durante su infancia (Colvin et al., 2004; Swamy et al., 2008; van Baar et al., 2013). Adicionalmente, el nacimiento prematuro se ha asociado a un decremento en la sobrevivencia a largo plazo (Barker, 1995; Johansson & Cnattigius, 2010; Swamy et al., 2008).

Con relación a la incidencia a nivel mundial (Figura 3), en las últimas décadas la tasa de nacimientos prematuros ha aumentado en lugar de verse disminuida (Carbajal-Valenzuela et al., 2016; Quesada et al., 2014). De acuerdo a la

organización mundial de la salud (OMS, 2018) el porcentaje de nacimientos prematuros para el año 2000 fue de 9.8%, en el año 2005 este aumentó al 10%, durante el año 2010 incrementó nuevamente al 10.4% y finalmente en el año 2014 volvió a aumentar a 10.6%. Dichos porcentajes trasladados a cifras son: 12,658,588 nacimientos prematuros en el año 2000; 13,220,441 en el 2005; 14,387,314 en el 2010 y finalmente alrededor de 14,835,606 para el 2014, lo que muestra la seriedad de esta condición.

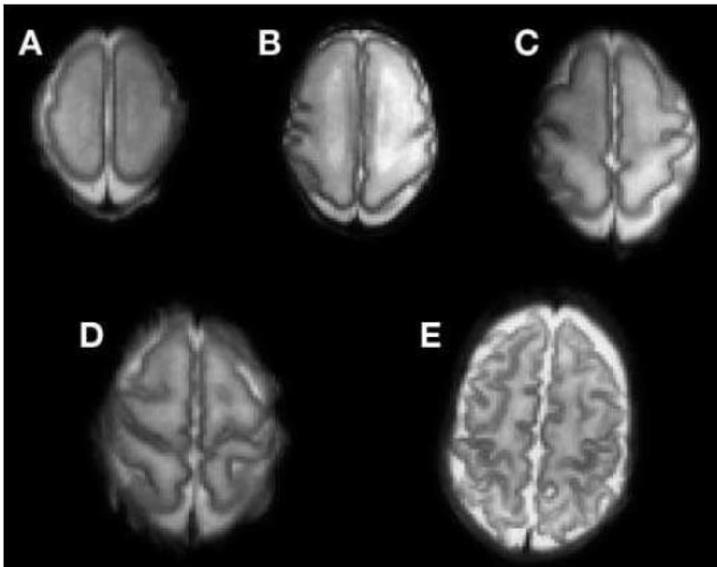


Figura 2. Crecimiento cerebral y desarrollo del surco y giro con el incremento de la edad gestacional. Imágenes de resonancia magnética al nivel del surco central a a) 25 semanas; b) 28 semanas; c) 30 semanas; d) 33 semanas; y e) 39 semanas (Modificada de Tucker y McGuire, 2005).

En el caso de México, los últimos datos proporcionados por la OMS (2018) son del año 2014, en el que contribuyó con el 1.1% del total mundial de nacimientos prematuros y con un aproximado del 15.6% a la región que comprende a Latinoamérica y el Caribe, un porcentaje alto comparado con Argentina (5.9%), pero bajo con respecto a Brasil (31.9%). Dentro de la República Mexicana en el periodo comprendido entre los años 2007-2012, los estados que mayor número de nacimientos prematuros presentaron fueron: Estado de México con 14,916 (6.6% de su total de nacimientos), Jalisco con 13,547 (5.5% de su total de nacimientos) y Chihuahua con 10,350 (7.2% de su total de nacimientos), mientras que las entidades con menor número de nacimientos prematuros fueron: Colima con 1,139 (4.6% de su total de nacimientos), Tlaxcala con 1,358 (5.8% de su total de nacimientos) y Campeche con 1,678 (7.5% de su total de nacimientos), empero, los estados con mayor porcentaje de nacimientos prematuros con respecto a su cantidad de nacimientos fueron Aguascalientes con 4700 (9.2% de su total

Marco teórico

La encefalopatía del prematuro

Los neonatos prematuros tienen mayor riesgo de padecer una gran cantidad de problemas, como son las infecciones, inflamaciones o isquemia. Dichos problemas usualmente derivan en diversos tipos de lesiones que a su vez son relacionadas con la parálisis cerebral, los déficits visuales o auditivos, el retraso en el desarrollo cerebral, problemas de coordinación, atención, emocionales y de aprendizaje, entre otros (Anderson, 2014; Quesada et al., 2014; Saigal & Doyle, 2008).

Dentro de las lesiones que pueden derivar por la presencia de hipoxia, isquemia, inflamación o infección en el recién nacido, encontramos a la leucomalacia periventricular o PVL (por sus siglas en inglés) (Bauer & Papadelis, 2019; Kinney, 2006). La PVL es un tipo de lesión que se define por el desarrollo de lesiones quísticas necróticas asociadas con gliosis activa difusa y activación microglial en los alrededores de la materia blanca cerebral (Haynes et al., 2013). Morfológicamente la PVL está definida por dos componentes histopatológicos (Figura 4), el segundo más común que el primero: 1) el componente focal consistente de necrosis localizada en la región periventricular de la materia blanca cerebral con pérdida de todos los elementos celulares, por ejemplo, axones, oligodendrocitos y astrocitos (PVL quística) y 2) un componente difuso caracterizado por la gliosis reactiva en la materia blanca circundante (PVL no quística/difusa). Cada componente tiene diferentes resultados histopatológicos: 1) el componente necrótico, que abarca todos los componentes del tejido, evoluciona durante varias semanas en quistes que típicamente colapsan formando cicatrices, y 2) la lesión difusa que aparentemente prefiere dañar a los oligodendrocitos de la materia blanca de los alrededores, llevando a un retraso general en la mielinización (Back, 2017; Bass, 2011; Kinney, 2006; Volpe, 2017; Yap & Perlman, 2019).

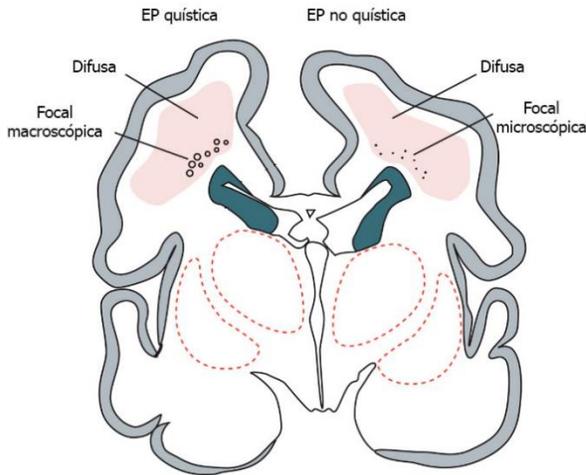


Figura 4. Esquema que muestra el componente quístico (izquierdo) y no quístico (derecho) de la PVL. En color rosa tenue se muestra el componente difuso de ambas variaciones. EP: Encefalopatía del prematuro (Modificada de Volpe, 2009).

Si bien en la PVL la mayor parte del daño se genera en la glía cerebral, particularmente en los precursores de oligodendrocitos y oligodendrocitos inmaduros, existe también daño en diferentes regiones cerebrales como la corteza cerebral, el tálamo, el hipocampo, los ganglios basales, el cerebelo y el tronco cerebral, todo ello con la subsecuente pérdida de neuronas y daño axonal (Figura 5) (Pierson et al., 2007; Volpe, 2009). Por lo anterior, se ha sugerido el término “Encefalopatía del prematuro” (EP) para hacer referencia al daño cerebral tanto de la materia blanca como la gris, resultado de la hipoxia, isquemia, infección, inflamación u otros que generan toxicidad atribuible al glutamato, radicales libres o citoquinas (Haynes et al., 2013; Jantzie & Robinson, 2015; Kinney & Volpe, 2018; Numis et al., 2019; Volpe, 2009).

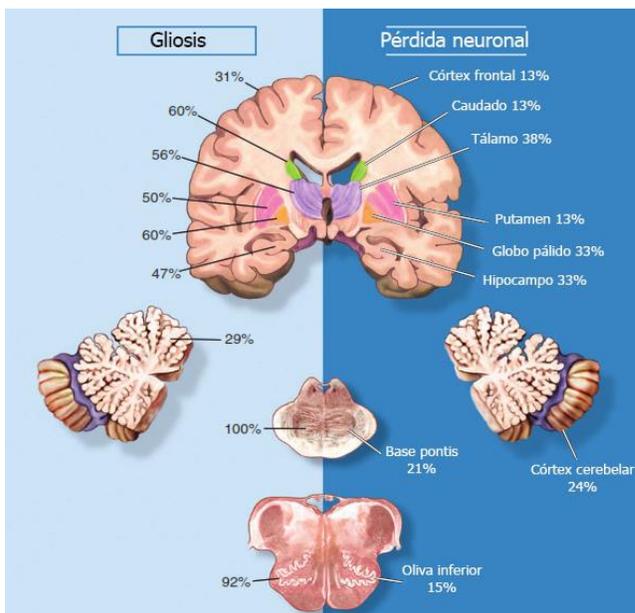


Figura 5. Derecha: porcentaje de pérdida de la materia gris asociada con la gliosis presentada durante la PVL. Izquierda: porcentaje de daño a la materia blanca en distintas partes del cerebro durante la PVL (Modificada de Back & Volpe, 2018).

La EP se presenta tanto en neonatos prematuros como en neonatos nacidos a tiempo. Sin embargo, es innegable que la mayor cantidad de casos se presentan en partos ocurridos alrededor de la semana 24-32 de gestación o en neonatos nacidos con menos de 1500 g, es decir, cuando el cerebro experimenta un pico de crecimiento, estando la materia blanca poco desarrollada y vascularizada (Szpecht et al., 2017).

Ahora bien, existen una serie de factores de riesgo que hacen a un feto vulnerable de sufrir EP, los cuales se han asociado a cuatro etapas: 1) Durante el embarazo: gestaciones múltiples, anemia, diabetes y obesidad 2) Factores prenatales: crecimiento intrauterino restringido, placenta anormal, infección materna, liberación de citoquinas 3) Factores perinatales: hemorragia materna, acidosis fetal, ruptura de placenta y cardiopatía congénita 4) Factores neonatales: infección, isquemia, hipoxia, reperfusión, bajo peso al nacer, inmadurez vascular, síndrome de estrés respiratorio, enterocolitis necrotizante, sepsis, hipocarbina inadvertida, decrecimiento del flujo sanguíneo en la vena cava superior, hemorragia intraventricular, infección por rotavirus, frecuencia cardíaca fetal alta y cirugía cardíaca (Bass, 2011; Hatzidaki et al., 2009; Jalali et al., 2018; Kurahashi et al., 2016; Resch et al., 2012; Szpecht et al., 2017; Verboon-Maciolek et al., 2012; Wang et al., 2017). En general, cualquiera de los factores que conllevan a un parto prematuro podría generar EP. Más recientemente se ha sugerido que ciertos factores genéticos podrían explicar algunos de los casos de EP donde no existían riesgos identificables (Bruun et al., 2018).

De manera más específica, el daño provocado por hipoxia o isquemia al tejido neuronal y glial tradicionalmente ha sido asociado a un déficit en el suplemento de oxígeno debido a una falla en el flujo de sangre cerebral, lo que se transforma en un déficit de energía, aunque actualmente se sabe que la regulación del flujo de sangre cerebral está compuesta no solo por el suplemento de oxígeno sino también por mecanismos propios de autorregulación, presión parcial de dióxido de carbono, glucosa en sangre y la actividad neuronal (Back & Volpe, 2018). La interrupción o déficits en cualquiera de estos conlleva al déficit de energía (Inder & Volpe, 2018).

Debido al fallo energético provocado por la isquemia o hipoxia, los mecanismos de recaptación (presentes tanto en astrocitos como en las terminales nerviosas presinápticas) así como los transportadores de glutamato fallan hasta finalmente revertir su función (Inder & Volpe, 2018).

Ahora bien, el glutamato actúa en los receptores ionotrópicos y metabotrópicos de las neuronas de la placa, astrocitos y oligodendrocitos permitiendo la entrada de Ca^{2+} citosólico; tres de estos receptores son ionotrópicos: NMDA, AMPA y kainato (Matute, 2006). Tanto NMDA como AMPA son cruciales en la producción de excitotoxicidad. En primera instancia los receptores NMDA producen mayormente un tipo de subunidad de acuerdo con la edad: NR2B en el cerebro inmaduro y NR2A en el cerebro adulto, lo que es importante debido a que los receptores NMDA con subunidades NR2B exhiben mayor duración de su excitación y mayor influjo de Ca^{2+} . En cuanto al receptor AMPA, este es impermeable al flujo de Ca^{2+} en la presencia de su subunidad GluR2, no obstante, la presencia de GluR2 en el cerebro en desarrollo es relativamente baja (mientras que la cantidad de receptores AMPA es alta), por lo que los receptores AMPA son ampliamente permeables al Ca^{2+} (Kinney & Volpe, 2012; Matute et al., 2001).

Las condiciones de sobre activación de los receptores de glutamato producen la muerte celular, misma que puede ocurrir de dos formas. La primera provoca una muerte celular rápida mediante la entrada de Na^+ mediada por los tres receptores ionotrópicos, flujo pasivo de Cl^- a través de su gradiente electroquímico con agua, lo que en última instancia produce hinchamiento celular y lisis (Ahya & Suryawanshi, 2018). El segundo mecanismo se denomina por muerte celular retrasada y ocurre durante varias horas, es iniciado por la activación tanto de NMDA como AMPA, lo que produce un influjo de Ca^{2+} al interior de la célula (Figura 6) (Inder & Volpe, 2018). Este segundo caso parece ser el mecanismo principal por el cual se producen las lesiones típicas de la EP. Asimismo, es necesario mencionar que la hiperactivación de los receptores de glutamato conlleva a una depolarización constante de las células, misma que provoca fallos en la recaptura de glutamato y liberación constante del mismo, amplificándose así el ciclo (Ahya & Suryawanshi, 2018).

El influjo de Ca^{2+} al interior de la célula, entre otros eventos, produce la degradación de lípidos celulares, proteínas y DNA debido a que el Ca^{2+} provoca la activación de fosfolipasas, proteasas y nucleasas, respectivamente, así como mecanismos de destrucción celular mediados por radicales libres (Annunziato et al., 2007). En los mamíferos los radicales libres existen principalmente en forma de especies reactivas de oxígeno (ejemplo, anión superóxido, peróxido de hidrogeno, etc) y especies reactivas de nitrógeno (ejemplo, peroxinitrito y ONOO^-) (Haynes et al., 2003; 2005). Cuando estas especies reactivas están presentes en exceso se dice que la célula se encuentra bajo estrés oxidativo o nitrativo. En condiciones de estrés los radicales libres pueden reaccionar con algunos componentes celulares normales (ácidos grasos insaturados de las membranas lipídicas) y generar nuevos radicales libres, provocando una reacción en cadena la cual produce daño bioquímico en forma de peroxidación de los ácidos grasos insaturados, daño de membranas y necrosis celular, o muerte celular por apoptosis al activar genes específicos de este proceso (Back, 2017; Desilva & Rosenberg, 2010).

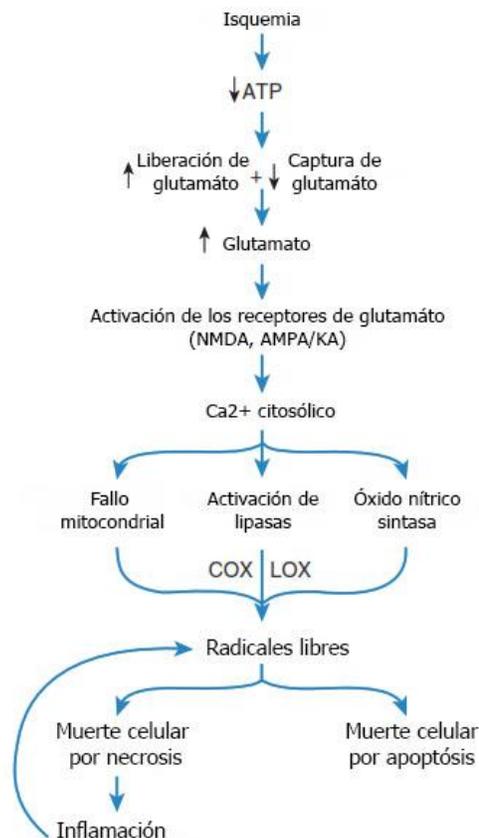


Figura 6. Serie de eventos que conllevan a la muerte celular por excitotoxicidad a partir de la disminución de energía provocada por un evento como la isquemia (Modificada de Inder & Volpe, 2018).

Ahora bien, los radicales libres producidos luego de la entrada del Ca^{2+} son aún más dañinos porque el cerebro en desarrollo tiene una limitada capacidad para detoxificar el peróxido de hidrógeno u otros radicales libres debido al retraso en el desarrollo de capturadores de radicales libres como la superóxido dismutasa y vitamina E, asimismo, contiene una alta cantidad de ácidos grasos poliinsaturados especialmente en las membranas, lo que vuelve a las células mucho más vulnerables al daño por oxidación (Back, 2017; Back & Volpe, 2018; Oka et al., 1993; Volpe, 2009).

Dentro de las especies de nitrógeno dañinas producidas en exceso como producto del evento hipóxico isquémico se reconocen por lo menos tres formas: 1) una forma neuronal constitutiva, 2) una forma endotélica constitutiva, y 3) una forma inducible encontrada en los astrocitos y microglía. Las dos formas constitutivas son activadas por Ca^{2+} , mientras que la forma inducible es activada de manera especial por estímulos inflamatorios tales como las citoquinas o lipopolisacáridos (Inder & Volpe, 2018). Las tres formas se relacionan a la producción de óxido nítrico (Haynes et al., 2003; 2005). Asimismo, las condiciones de estrés oxidativo producen abundancia de anión superóxido, éste reacciona con el óxido nítrico y crean a la forma particularmente tóxica de nitrógeno reactivo ONOO^- (Haynes et al., 2005). Este compuesto lleva a la muerte neuronal por múltiples vías, incluyendo la disrupción de la mitocondria, agotamiento de energía y disrupción de la homeóstasis del Ca^{2+} (Desilva & Rosenberg, 2010). Posteriormente, la respuesta inflamatoria en el tejido cerebral, debido al insulto, produce la activación de la forma inducible de las especies de nitrógeno, presente tanto en los astrocitos como microglía, y éstos comienzan la síntesis de una variedad de productos neurotóxicos que incluyen a aminoácidos excitatorios (por ejemplo, glutamato), especies de oxígeno reactivas, óxido nítrico y ciertas citoquinas, por espacio de semanas (Haynes et al., 2005; Kinney & Volpe, 2018).

Dentro de las citoquinas activadas, particularmente importantes son el interferón gamma, factor de necrosis tumoral, IL-1 e IL-6. La citoquina IL-1 provoca la activación del leucocito endotelial; los leucocitos son substanciales en la liberación de compuestos deletéreos, especialmente especies reactivas de oxígeno

y citoquinas (Inder & Volpe, 2018). Asimismo, IL-1 produce una disminución en la captura de glutamato por parte de los astrocitos (Hu et al., 2000).

Distintas partes cerebrales son dañadas en el proceso anterior, la materia blanca periventricular dorsolateral a los ángulos externos de los ventrículos laterales es el área del cerebro más comúnmente afectada por la EP, no obstante, los tractos corticoespinales, ópticos y acústicos son a menudo dañados (Figura 7) (Bass, 2011). Otras zonas que pueden dañarse son: la zona subcallosa, la fronto-occipital, la longitudinal fascicular, las partes externas e internas de las zonas limítrofes del cuerno temporal y occipital de los ventrículos laterales y partes de la corona radiada (Ahya & Suryawanshi, 2018). La pérdida neuronal, axonal y glial también puede ocurrir en el tálamo, hipocampo, ganglios basales, cerebelo, cuerpo calloso y la corteza cerebral (Haynes et al., 2013; Imamura et al., 2013; Jantzie & Robinson, 2015; Kinney, 2006).

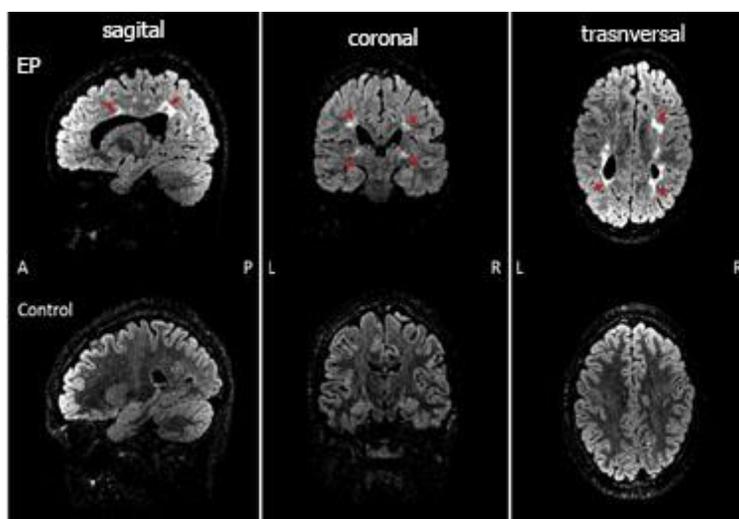


Figura 7. Imágenes de resonancia magnética tomadas a un individuo sano (fila inferior) y de un individuo con EP (fila superior). Las flechas rojas indican las áreas con mayor daño (Modificada de Castaldi et al., 2018).

Por lo que se refiere a las consecuencias, algunos de los resultados luego de las lesiones de las distintas partes cerebrales pueden ser: parálisis cerebral, déficits motores en brazos y piernas, sensoriales, problemas de coordinación y epilepsia (Bass, 2011; Ekici et al., 2013; Imamura et al., 2013; Jantzie & Robinson, 2015). Sin embargo, la habilidad para predecir los daños a nivel motor es mucho mejor que la capacidad de predecir formas más sutiles de daño en el desarrollo cerebral y

cognitivo, como pueden ser algunos desordenes psiquiátricos, de comportamiento o atención, pobres habilidades visuales espaciales, pobre memoria visual, aprendizaje lento, problemas de memoria operativa, inteligencia promedio baja y problemas con el desarrollo del lenguaje (Avecilla-Ramirez et al., 2011; Bass, 2011; Choi et al., 2016; Jantzie & Robinson, 2015; Pierson et al., 2007).

Dado que no existe tratamiento para la EP, la medida más eficaz para evitar este padecimiento es la prevención del nacimiento prematuro. Sin embargo, ya que ha nacido el neonato y se encuentra en riesgo de presentar EP, una serie de precauciones pueden disminuir el porcentaje de riesgo, por ejemplo: la prevención de la caída de la PaCo₂ a <35 mmHg; el cuidado meticuloso de los niveles de oxígeno en la sangre de las arterias; ultrasonidos de rutina llevados a cabo en todos los infantes cuya edad gestacional es <30 semanas, realizándolos nuevamente luego de 7-14 días de vida y repitiéndolos entre la semana 36 y la 40 (Elser et al., 2011).

Estrategias de intervención temprana

Cuando se ha presentado algún daño que pone en peligro al infante de contraer EP o cuando esta ya está presente, algunas estrategias de intervención temprana que tienen como base la alta plasticidad neuronal del recién nacido y son llevadas a cabo por terapeutas pueden disminuir los síntomas y aumentar la función motora del infante (Ahya & Suryawanshi, 2018; Blauw-Hospers & Hadders-Algra, 2005; Castaño, 2002; Hadders-Algra et al., 2017; Herskind et al., 2015). Dentro de estos se encuentra la neurohabilitación de Katona. El método Katona tiene dos características principales: 1) se comienza a realizar antes de la manifestación de los síntomas o previo a que los patrones anormales de desarrollo se instauren definitivamente y 2) se basa principalmente en los patrones sensoriomotores, los cuales son una cadena de procesos en los que el cuello, tronco y extremidades realizan una serie de movimientos complejos y continuos de manera repetitiva (Harmony et al., 2016; Porrás-Kattz & Harmony, 2007). Temporalmente el tratamiento debe comenzar antes de los 3 meses de edad, se realizan de 6 a 9

ejercicios y de 3 a 4 veces por día durante sesiones de 45 min. Los parámetros que se evalúan son: tono muscular, atención, seguimiento ocular, monitoreo auditivo y signos neurológicos de alarma (Harmony, 2017).

El procedimiento terapéutico está basado en la integración temprana de movimientos complejos en cadena durante los cuales el cuello, tronco y extremidades llevan a cabo movimientos continuos y complejos siguiendo ciertos patrones repetitivos o “patrones neuromotores elementales”. Dichos patrones pueden ser divididos en dos grupos: los dirigidos a la verticalización del cuerpo y los dirigidos a la locomoción (Pérez & Zanabria, 2004). Ambos tipos de movimiento son disparados al poner la cabeza en distintas posiciones, estimulando al mismo tiempo al núcleo vestibular. Este núcleo posee proyecciones descendentes en desarrollo con dirección hacia la médula espinal y proyecciones ascendentes hacia diversos núcleos del tallo cerebral, tálamo, cerebelo y ganglios basales. Asimismo, los movimientos generan la activación de diferentes receptores que envían impulsos aferentes a la corteza sensoriomotora. Esta retroalimentación constante ayuda en la organización del control motor, de la misma manera se estima que la mielinización del cuerpo calloso y la materia blanca mejoran, lo que se traduce en mejoras a nivel motor y cognitivo (Alvarado et al., 2011; Harmony, 2017; Harmony et al., 2016).

Modelos animales de daño glial

Sin la experimentación en animales mucho del entendimiento moderno en biología hubiera sido alcanzado con bastante retraso si es que acaso se alcanzaba (ejemplo, el condicionamiento reflejo de Pavlov en los perros). En conjunto con los avances en ciencia básica, los experimentos en modelos animales han elucidado la patogénesis de enfermedades humanas, permitido el desarrollo, prueba de diagnósticos y enfoques terapéuticos. Esto aplica para casi todas las enfermedades del sistema nervioso central; así como procesos de inflamación, degeneración, trauma o malignidad (Patejdl & Zettl, 2012).

Ahora bien, los modelos animales son la base del estudio del daño cerebral en neonatos y se han utilizado para modelar daños por hipoxia-isquemia desde hace alrededor de 200 años (Lingam et al., 2016). La información proveniente de los animales es crítica para un mejor entendimiento de la patogénesis, tratamiento y prognosis en casos de daño a la materia blanca o WMI (por sus siglas en inglés: *White matter injury*) ya que permiten el estudio de la evolución del daño o lesión a través de la revisión secuencial del cerebro en distintas etapas (Kinney & Volpe, 2018; Scafidi et al., 2009).

Existen una serie de animales en los cuales se ha modelado el daño a la materia blanca, por ejemplo en roedores, conejos, ovejas y primates no humanos (Zeng et al., 2019). Los roedores son los sujetos más utilizados para el WMI. Sus ventajas incluyen: un cuerpo pequeño que facilita su manipulación y pruebas; bajo costo; características genéticas estables; y perfiles de comportamiento diversos para la investigación neuroconductual. Los eventos hipóxicos, isquémicos y de infección han sido ampliamente modelados en ratas y ratones, por lo que existe vasta bibliografía al respecto. Referente al modelaje lesión-cognición, como pueden ser las pruebas de memoria, los roedores representan un modelo bastante adecuado (Jantzie & Robinson, 2015). Sin embargo, la rata exhibe lisencefalia cerebral, una escasez de materia blanca, un suministro vascular cerebral a la materia blanca que difiere marcadamente de los humanos y la conformación celular de la subplaca, que es dañada durante la PVL, es considerablemente distinta de la de los humanos (Clowry et al., 2014; Hagberg et al., 2002; Kinney & Volpe, 2012). Asimismo, los roedores presentan una propensión al daño cerebral mixto, tal que el daño a la materia blanca cerebral es usualmente acompañado de daño a la materia gris (lo que, dada la patogénesis de PVL, es más bien una ventaja). Con relación a su edad gestacional, roedores en el día P2-P5 poseen linajes de oligodendrocitos con particular vulnerabilidad al daño a la materia blanca, análogos a los presentados por los infantes extremadamente prematuros y en el desarrollo de la PVL (Figura 8) (Choi et al., 2011).

Experimentalmente, existen tres métodos principales a través de los cuales se puede inducir daño similar a la PVL: 1) cirugía antenatal o postnatal hipoxica-

isquemica, 2) inducción de la respuesta inflamatoria sistémica a través de la administración de bacterias o lipopolisacáridos y 3) la utilización de N-metil-D-aspartato (NMDA) o algún antagonista del receptor no-NMDA, causando así excitotoxicidad (Baud et al., 2004; Burd et al., 2012; Choi et al., 2011; Johnston et al., 2005; Shen et al., 2010; Zaghloul & Ahmed, 2017).

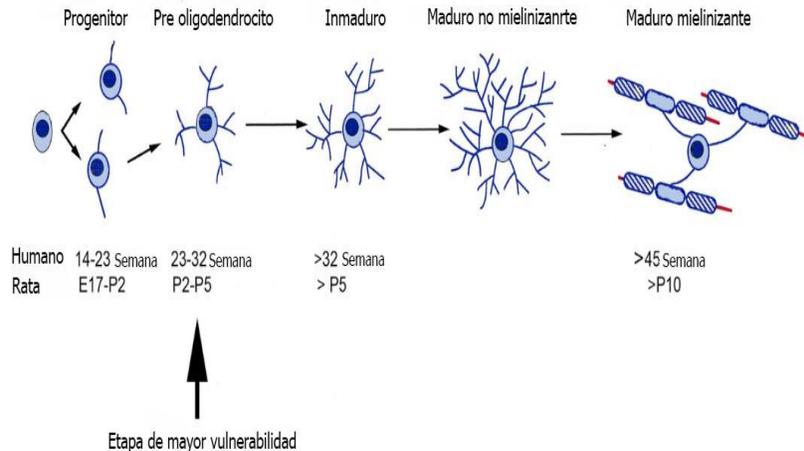


Figura 8. Esquema comparativo del desarrollo de los oligodendrocitos humanos y del roedor. El punto de mayor vulnerabilidad ante la hipoxia o isquemia (flecha negra) es en el estado de pre oligodendrocito (Modificado de Clowry et al., 2014).

Las lesiones cerebrales pueden ser inducidas por el agonista glutamérgico ibotenateo o N-metil-D-aspartato (NMDA). Inyecciones de estos agonistas de glutamato durante el día P5 en las regiones del estriado, cuerpo caloso, la neocorteza o la materia blanca periventricular producen lesiones histológicas muy parecidas a las registradas en neonatos humanos que presentan PVL (Arrazola Cortés, 2016; Mesplès et al., 2005). Este tipo de modelo excitotóxico induce el WMI a través de una metodología química que produce la sobre activación de los receptores AMPA y NMDA, lo que no es del todo consistente con el proceso patológico del WMI que ocurre en los neonatos, sin embargo, la técnica es simple y económica por lo que es ampliamente usada en la investigación (Hagberg et al., 2002; Zeng et al., 2019).

El hipocampo dorsal

En conjunto con el giro cingulado, giro parahipocampal, amígdala y área septal, el hipocampo forma parte del sistema conocido como límbico, el cual es responsable de controlar emociones, comportamiento y memoria (Santos et al. 2019). También es una de las estructuras filogenéticamente más antiguas que está preservada a lo largo de la escala de vertebrados, encontrando su tamaño máximo en los humanos y primates no humanos (Cherubini & Miles, 2015; Insausti et al., 2017).

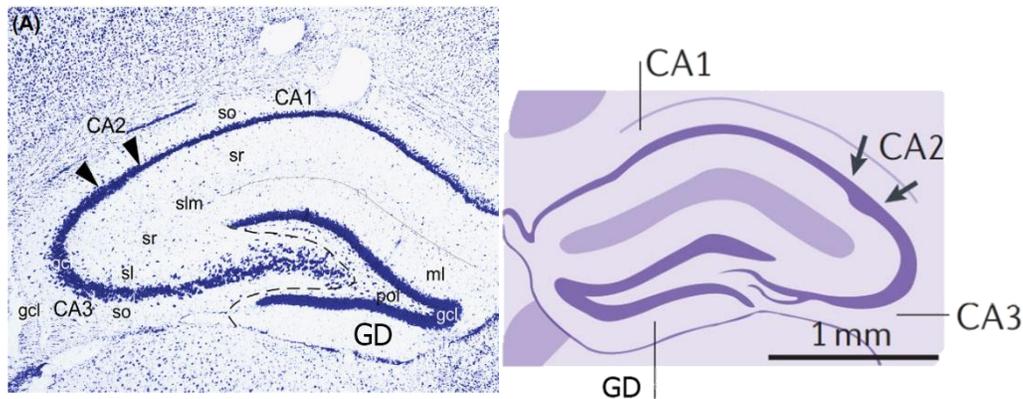
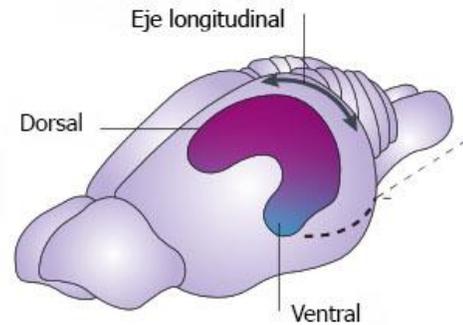
Se considera al hipocampo como parte de una de varias regiones cerebrales relacionadas estrechamente las cuales en conjunto comprenden el sistema funcional llamado la formación del hipocampo (van Strien et al., 2009). Propiamente hablando, el hipocampo se restringe a las regiones CA3, CA2 y CA1. Las otras regiones de la formación del hipocampo las integran el giro dentado, subículo, presubículo, parasubículo y corteza entorrinal (Insausti et al., 2017; Miki et al., 2005). En la rata, la formación del hipocampo ocupa una larga porción de las paredes ventroposterior y ventrolateral de la corteza cerebral (Falougy et al., 2008).

Diferentes regiones conforman la estructura visible de la formación del hipocampo en diferentes niveles del eje longitudinal, en otras palabras, su forma larga y curvada se extiende desde una posición en el eje dorsal-septal al eje ventral-temporal en los roedores y posterior-anterior en humanos. Por ejemplo, en los niveles más septales-dorsales se encuentran únicamente el giro dentado, CA1, CA2 y CA3 (Figura 9) (Strange et al., 2014).

En el hipocampo dorsal el giro dentado es una región cortical trilaminar con una forma característica de V o U, su estructura es relativamente similar en todos los niveles de la formación del hipocampo, tiene como más próxima a la región CA3 y típicamente no se divide en sub regiones (Amaral & Lavenex, 2007; Insausti et al., 2017). El principal tipo de célula del giro dentado es la célula granular, ésta posee un cuerpo celular elíptico con aproximadamente 10 μm de ancho y 18 μm de alto. Cada célula está cercanamente ubicada a otras células granulares. Las espinas dendríticas de este tipo de célula crean una forma característica de cono con todas las dendritas en dirección a la parte externa del giro dentado (Figura 10). A los

axones de este tipo de células se les denomina fibras musgosas debido a su forma y curso (Amaral & Lavenex, 2007; El Falougy et al., 2008; Mehrdad et al., 2007).

Figura 9. Derecha. Regiones del hipocampo de acuerdo con su eje longitudinal. Abajo, a la derecha se muestra un corte coronal del hipocampo dorsal de rata que muestra las regiones que comprende. En la izquierda se muestra la imagen del corte con tinción de Nissl; la línea punteada entre CA3 y DG señala la división entre ambas áreas (Modificadas de Scaplen et al., 2017; Strange et al., 2014).



En el hipocampo dorsal de los roedores la distinción de la región CA2 con respecto a CA3 y CA1 no es siempre clara. No obstante, las células piramidales en CA3 y CA2 son mayores que en CA1, además, las conexiones entrantes y salientes son distintas, por ejemplo, las células piramidales de CA3 tienen conexión entrante proveniente del giro dentado, mientras que las células en CA1 no (Amaral & Lavenex, 2007).

El principal tipo de neurona del área CA2 y CA3 del hipocampo dorsal es la neurona piramidal (Figura 10). Dentro de éstas, las más pequeñas cuentan con un diámetro de 20 μm , mientras que las más largas son de 30 μm (Amaral & Lavenex, 2007; Mehrdad et al., 2007). Las neuronas piramidales de la región CA1 son bastante homogéneas en relación a sus árboles dendríticos y también son, en promedio, de menor tamaño que las células de CA3 con 15 μm de diámetro (Scaplen et al., 2017).

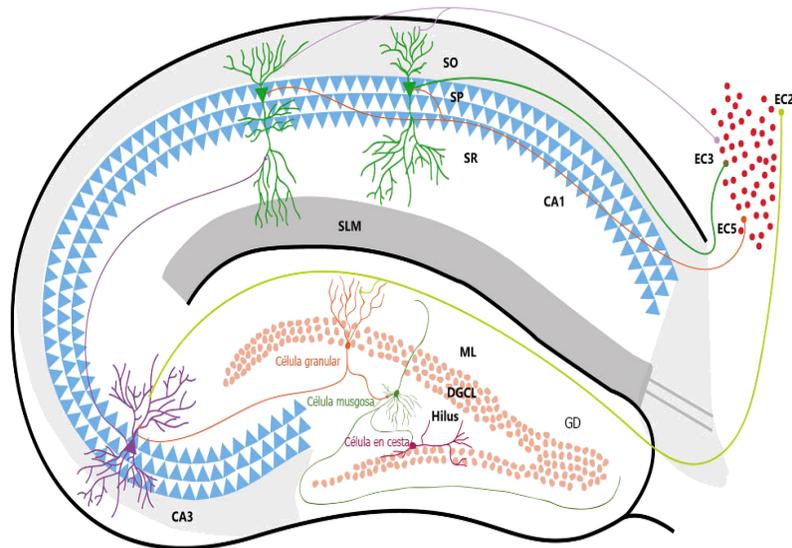


Figura 10. Esquema que presenta los tipos celulares dentro del hipocampo. En rojo una célula granular del giro dentado, en morado y verde células piramidales de las regiones CA3 y CA1. También se pueden notar otros tipos celulares que conforman el giro dentado, así como las respectivas conexiones entre regiones del hipocampo y con la corteza entorrinal (CE) (Modificado de Santos et al., 2019).

Referente a su función, luego del famoso caso de estudio surgido en 1957 con el paciente H. M. quien perdió la habilidad de formar nuevas memorias de tipo declarativo debido a la remoción quirúrgica del hipocampo, ésta estructura ha sido el centro de atención de la investigación de las bases neurológicas de la memoria y aprendizaje tanto en humanos como primates, ratas y ratones (Amaral & Lavenex, 2007; Fanselow & Dong, 2010; Knierim, 2015). Actualmente es generalmente aceptado que, dentro de la formación del hipocampo, la región dorsal es necesaria para lo que se conoce como memoria declarativa, memoria episódica o memoria autobiográfica (Panoz-Brown et al., 2018; Scaplen et al., 2017). Además, el hipocampo está implicado en diferentes aspectos de la memoria tanto espacial como de reconocimiento de objetos (Hampson et al., 1999; Insausti et al., 2017).

Por lo que se refiere a las similitudes entre el hipocampo de ratas y humanos, aunque el volumen del hipocampo es 10 veces mayor en monos que en ratas y 100 veces mayor en humanos que en ratas, la arquitectura básica es común para las tres especies (Figura 11) (Amaral & Lavenex, 2007). Por ejemplo, todas las estructuras de la formación del hipocampo presentes en la rata se encuentran en el

cerebro humano y viceversa, también muchas de las conexiones se han conservado (Scaplen et al., 2017; Strange et al., 2014). Asimismo, sólo hay 15 veces más células granulares en el giro dentado de los humanos comparadas con el de las ratas a pesar de que el volumen del giro dentado e hipocampo es cerca de 100 veces mayor en el humano (Amaral & Lavenex, 2007).

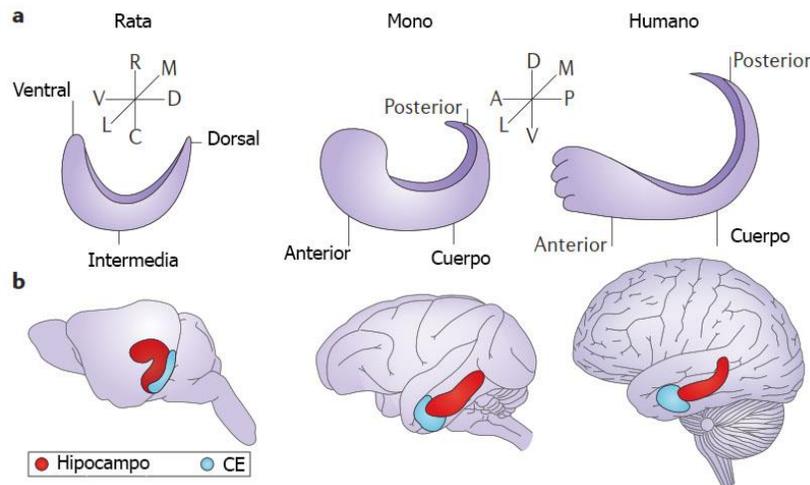


Figura 11. a) Comparación de las regiones que longitudinalmente componen al hipocampo (ventral, intermedia y dorsal o posterior, cuerpo y anterior) en la rata, mono y humano. b) Comparación de la posición del hipocampo en la rata, mono y humano. EC: corteza entorrinal (Modificado de Scaplen et al., 2017).

Diferencias importantes radican en que la región CA1 en la rata consta de alrededor de 5 células de espesor, mientras que en el mono y humano puede ser de alrededor de 30 células de espesor y más heterogénea en su composición. Además, la corteza entorrinal se divide principalmente en 2 regiones para la rata, mientras que en los monos se conocen 7 regiones y en humanos se han propuesto desde 8 hasta 27 divisiones dependiendo del autor (Amaral & Lavenex, 2007). De la misma manera, existen diferencias a nivel de regulación genómica para las regiones del hipocampo entre ratas y humanos (Strange et al., 2014).

En conclusión, el hipocampo es una estructura compleja que poco a poco se ha ido entendiendo y, con ello, además de su alta sensibilidad ante perturbaciones, han surgido bastantes modelos de investigación que lo utilizan como estructura principal de estudio. De este modo, el estudio del hipocampo ha favorecido el entendimiento de las acciones y mecanismos de varios tipos de sinapsis, receptores de aminoácidos excitadores e inhibidores, mecanismo de recaptura de

neurotransmisores y los efectos deletéreos de la excitotoxicidad en las células cerebrales (Andersen et al., 2007).

Prueba de reconocimiento de objetos y campo abierto

Prueba de reconocimiento de objetos

Se puede definir el concepto de memoria como ‘el registro de las experiencias pasadas que es adquirido mediante el aprendizaje’ (Gluck & Mercado, 2016). Asimismo, podemos dividir a la memoria en dos grandes bloques: memoria implícita (no declarativa) y explícita (declarativa). La memoria implícita es la resultante de procesos de aprendizaje no consciente realizados a través de hábitos y habilidades, mediante estimulación o sensibilización previa, y en los que interviene la musculatura esquelética o bien respuestas emocionales y de aprendizaje no asociativo (Cohen & Stackman, 2015).

La memoria explícita o declarativa engloba la retención del conocimiento de determinados acontecimientos, lugares o hechos (Bello-Medina et al., 2013). Esta información se retiene mediante un esfuerzo consciente y a través de asociaciones nuevas. De acuerdo a Cohen & Stackman (2015), la adquisición de la memoria explícita es un proceso que requiere de tres fases:

1. Codificación: captación de detalles sobre los estímulos y el entorno para su posterior consolidación (procesamiento de la información para almacenarla).
2. Consolidación: retención de la información a lo largo del tiempo.
3. Evocación: utilización de la información retenida para crear una representación consciente del suceso o para ejecutar una respuesta motora aprendida.

En la memoria explícita se incluyen tres categorías diferentes: memoria inmediata, memoria a corto plazo y memoria a largo plazo (Rueda-Orozco et al., 2008).

Ahora bien, la memoria de reconocimiento, subtipo de memoria declarativa, se relaciona con la habilidad para juzgar la ocurrencia previa de un estímulo, es fundamental a la hora de registrar eventos, pero además para guiar el comportamiento prospectivo. Dichos juicios pueden hacerse con base a la relativa familiaridad de los objetos, utilizando información reciente o a través de la integración de un objeto y su ubicación (Barker et al., 2007; Cohen & Stackman, 2015; Warburton & Brown, 2015). En este sentido, la prueba de reconocimiento de objetos ha sido ampliamente utilizada en el estudio de los mecanismos neurobiológicos que subyacen a la formación de memoria a corto y largo plazo (Antunes & Biala, 2012).

La prueba de reconocimiento de objetos es un medio relativamente rápido y eficiente para probar diferentes fases del aprendizaje y la memoria. Fue originalmente descrito por Ennaceur y Delacour en 1988 para su uso en ratas (Antunes & Biala, 2012). La prueba está conformada por al menos tres sesiones: una de habituación, una de entrenamiento y la sesión de prueba. La habituación tiene como objetivo introducir el ambiente donde se llevará a cabo el entrenamiento y prueba, mientras que el entrenamiento consiste en la exploración de dos objetos idénticos, y la sesión de prueba involucra el reemplazo de uno de los objetos previamente explorados con un objeto novedoso. Debido a la preferencia innata de las ratas por lo novedoso, si la rata recuerda el objeto familiar, pasará más tiempo explorando el objeto novedoso (Figura 12) (Ennaceur, 2010; Lueptow, 2017).

Aunque la prueba de reconocimiento de objeto novedoso es la más habitual, ésta forma parte de 1 de 4 variantes principales que pueden ser manejadas en la prueba dependiendo del objetivo en el experimento. Las cuatro tareas de memoria de reconocimiento son: a) preferencia del objeto novedoso, en la cual el índice de exploración de la rata de un objeto novedoso es comparado con el de un objeto familiar; b) objeto dependiente de lugar, misma que prueba la habilidad del animal en la detección del movimiento de un objeto familiar a una ubicación novedosa; c) prueba de objeto en sitio, donde el animal debe discriminar entre objetos familiares que han sido previamente asociados y aquellos que son asociados recientemente con lugares en particular; d) orden temporal, el cual examina la habilidad del animal

para diferenciar entre objetos familiares presentados previamente en distintas ocasiones (Figura 13) (Barker et al., 2007; Warburton & Brown, 2015).

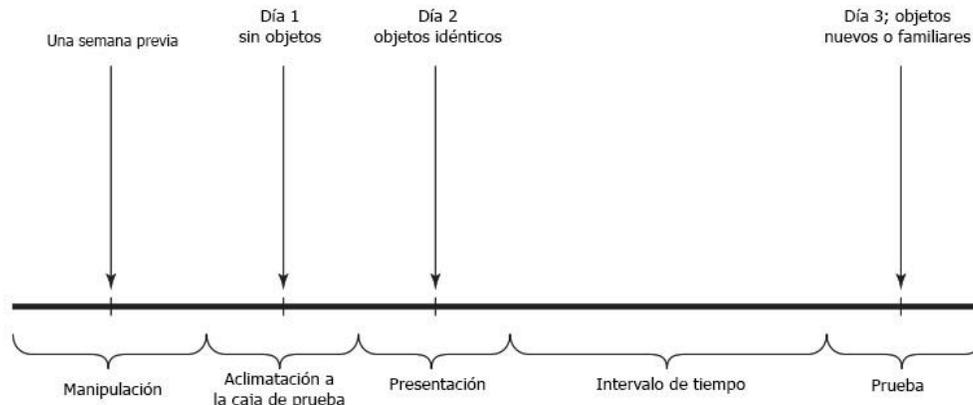


Figura 12. Cronograma que se lleva a cabo en la prueba de reconocimiento de objetos. Se realiza manipulación previa al comienzo de la prueba para evitar generar estrés en las ratas como resultado de su manipulación y traslado. La aclimatación o habituación es llevada a cabo en la caja donde se realiza la prueba, no hay objetos y cada rata que se vaya a someter a la prueba explora el espacio durante 3 min. Un día después se presentan dos objetos iguales por un espacio de tiempo variable, dependiendo del experimento, y finalmente se utiliza nuevamente un tiempo variable entre la presentación de los objetos y la introducción del objeto novedoso (Modificada de Mathiasen & DiCamillo, 2010).

Dentro de estas, una de las variantes más comunes a la prueba de reconocimiento de objetos es la utilización de una nueva localización en lugar de un objeto novedoso (Westbrook et al., 2014). Esta modificación permite el cálculo de la memoria espacial. Así, durante la prueba en lugar de reemplazar un objeto familiar por uno novedoso, se mueve uno familiar a una nueva localización. Esto requiere la adición de pistas espaciales alrededor del área. Formas y patrones simples, como por ejemplo una hoja de papel blanca con líneas negras pueden ser usadas. De ser posible, es recomendable utilizar cortinas alrededor de la caja con el objetivo de minimizar pistas visuales que se encuentren en el cuarto y que puedan cambiar en el transcurso del experimento (Lueptow, 2017).

Por lo que respecta a la exploración, esta se define cuando la rata apunta con su nariz hacia el objeto mientras presenta movimiento activo de sus vibrisas o registra olfateos, lamidas o mordisqueo del objeto en cuestión. Los tiempos durante los cuales la rata se sienta sobre los objetos, la nariz rosa accidentalmente el objeto al darse la vuelta, se para sobre un objeto, escarba o muerde en la cercanía del

objeto, no cuentan como tiempo de exploración (Mathiasen & DiCamillo, 2010; Vogel-Ciernia & Wood, 2014).

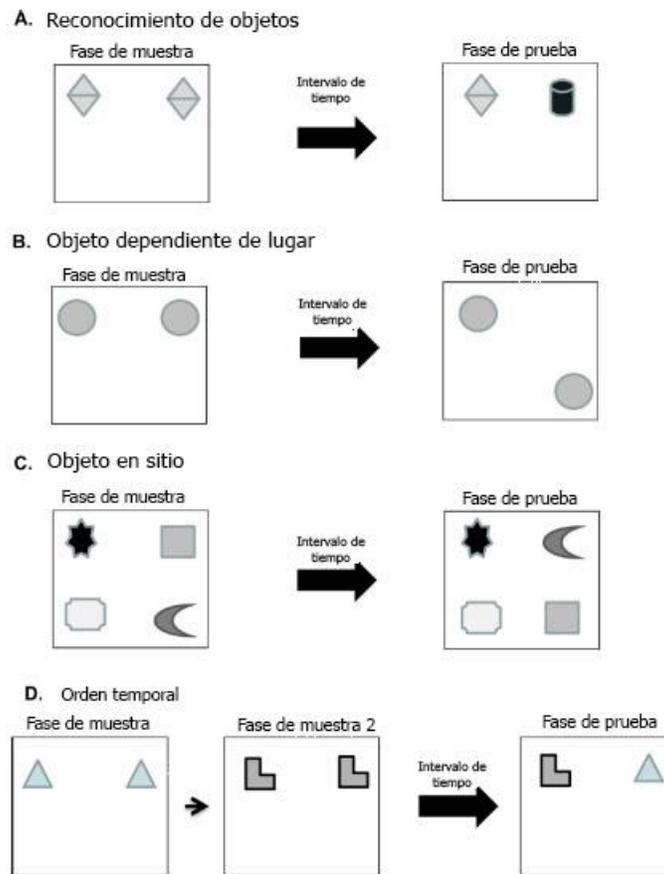


Figura 13. Las cuatro variantes de la prueba de reconocimiento de objetos. A) Preferencia del objeto novedoso; B) Objeto dependiente de lugar; C) Prueba de objeto en sitio y D) orden temporal (Modificada de Warburton & Brown, 2015).

Referente a su uso, la prueba es apropiada para calcular diferencias en animales transgénicos, estudios en lesiones, modelos neurodegenerativos o estudios relacionados con la edad. Por ejemplo, la aplicación de este protocolo en modelos de intervenciones terapéuticas o lesiones puede revelar información importante que complementa los mecanismos celulares y moleculares que están siendo estudiados (Denninger et al., 2018).

Sin embargo, algunas limitantes de la prueba de reconocimiento de objetos son debido a que sólo hay una sesión de entrenamiento no es posible analizar diferencias potenciales en la tasa de aprendizaje. Adicionalmente, el tamaño del

grupo necesita alcanzar significancia estadística, siendo dicha significancia relativamente alta con entre 15 y 20 individuos (Denninger *et al.*, 2018). Quizá el problema más grande de esta prueba consiste en una de sus virtudes, es decir, la versatilidad, pues las modificaciones particulares de cada diseño experimental de un laboratorio a otro hacen difíciles las evaluaciones comparativas, es decir, no existe un método estándar a través del cual la prueba sea conducida entre los distintos laboratorios (Cohen & Stackman, 2015).

En sentido contrario, la principal ventaja de la prueba de reconocimiento de objetos sobre otro tipo de pruebas es que se basa en la proclividad natural de los roedores por la exploración novedosa. Por lo tanto, no es necesario el entrenamiento exhaustivo ni ningún tipo de reforzador para motivar el comportamiento. Lo anterior significa que esta prueba es mucho menos estresante en comparación a otras y requiere significativamente menos tiempo de preparación que, por ejemplo, el laberinto acuático de Morris (Mathiasen & DiCamillo, 2010). Consecuentemente, las condiciones de la prueba de reconocimiento de objetos se asemejan más a las utilizadas en el estudio de la cognición humana, incrementando con ello la validez. Un par de virtudes adicionales son que la prueba puede ser fácilmente modificable para examinar diferentes fases de aprendizaje (adquisición, consolidación o evocación), tipos de memoria (memoria espacial) o para calcular diferentes intervalos de retención (memoria de corto y largo plazo) y es de bajo costo (Denninger *et al.*, 2018; Lueptow, 2017).

Finalmente, se piensa que una prueba cognitiva efectiva aísla y mide la función neuronal de una región cerebral específica a través de la examinación de un comportamiento en un ambiente controlado (Denninger *et al.*, 2018). Y ya que es posible medir la memoria de reconocimiento en los roedores, también es posible explorar las bases neuronales de esa memoria en mucho mayor detalle de lo que es actualmente posible en humanos. En términos de neurobiología, la prueba de reconocimiento de objetos parece hacer uso de pocas áreas cerebrales y sistemas de neurotransmisores. Dentro de las áreas relacionadas se incluyen el hipocampo, la corteza perirrinal, la corteza media prefrontal y el tálamo medio dorsal, siendo las primeras dos estructuras fundamentales en el procesamiento de la información y las

últimas dos mediadoras de la información (Barker et al., 2007; Warburton & Brown, 2015).

Existe evidencia contundente que demuestra el papel de la corteza perirrinal en el juicio de la ocurrencia previa de un objeto. De este modo, la variante de la prueba de reconocimiento de objetos basada en la preferencia espontánea de la rata por los objetos novedosos se ve significativamente impedida luego de una lesión en la corteza perirrinal (Morillas et al., 2017; Warburton & Brown, 2015).

Mientras tanto, el hipocampo tiene un rol importante en la prueba del objeto dependiente de lugar o en cualquier prueba que conlleve un componente espacial, ya que está implicado en la codificación, consolidación y evocación. Además, se sabe que cada una de las regiones del hipocampo contribuyen al procesamiento de la información relacionada a la localización espacial de los objetos y la familiaridad del ambiente, siendo la región CA1 y el giro dentado particularmente sensitivos. Por lo tanto, lesiones en esta estructura impiden la correcta realización de tareas con componentes espaciales (Kesner et al., 2015; Vogel-Ciernia & Wood, 2014; Warburton & Brown, 2015). Es importante mencionar que no es el hipocampo en su conjunto el regula el componente espacial, sino el hipocampo dorsal, el cual está asociado con la memoria espacial o contextual, mientras que el hipocampo ventral se asocia con la regulación emocional (Antunes & Biala, 2012; Denninger et al., 2018).

Adicionalmente, la prueba de reconocimiento de objetos dependiente de lugar se basa en un número de procesos cognitivos que incluyen el reconocimiento del objeto y la habilidad para recordar la ubicación en la cual el objeto había sido previamente encontrado. Por esta razón aunque la prueba utiliza principalmente el hipocampo, la corteza perirrinal también juega un papel en esta variante de la prueba (Warburton & Brown, 2015). En otras palabras, la información relacionada al "¿qué?" es transportada por la corteza perirrinal, mientras que el "¿dónde?" se transporta mediante la corteza parahipocampal y entorrinal. El sitio donde la información sobre el "¿qué?" y "¿dónde?" se asocia es el hipocampo (Cohen & Stackman, 2015).

Como puede notarse, la prueba de reconocimiento de objetos y su variante dependiente de lugar son tareas muy completas y de fácil aplicación en una amplia variedad de paradigmas experimentales. A pesar de que no está completamente establecida la circuitería neuronal y la interacción entre las partes que le conforman, sí se reconocen las estructuras clave dentro de las distintas versiones de la prueba, por lo que se pueden estudiar dichas estructuras sin mayor problema.

Prueba de campo abierto

La prueba de campo abierto fue desarrollada en 1932 por Calvin Hall y es una medida común del comportamiento exploratorio, ansiedad y comportamientos estereotipados como el acicalamiento y los levantamientos verticales en los roedores. Es una de las pruebas de comportamiento más ampliamente utilizadas dentro de la psicología animal que se basa en el comportamiento espontáneo de la rata u otros animales (Belovicova et al., 2017; Kraeuter et al., 2019; Seibenhener & Wooten, 2015) y que se ha podido replicar con éxito en humanos (Walz et al., 2016). Uno de los principales datos provenientes de la prueba es la distancia total recorrida. Otras características del movimiento también se pueden registrar, por ejemplo, el tiempo pasado a lo largo de las paredes, comparado con el tiempo pasado en el centro de la arena, la distancia recorrida en diferentes periodos de tiempo y los episodios verticales (Gould et al., 2009).

El sitio donde se lleva a cabo la prueba generalmente consiste en un contenedor cuadrado sin tapa, rectangular o circular que previene el escape de la rata al tener por lo menos 35 cm de alto en sus paredes. Materiales como el plástico o metales resistentes a la corrosión han tenido preferencia en su uso debido a que se limpian fácilmente, asimismo, el color del material normalmente es blanco, negro o transparente, principalmente para permitir la correcta lectura del hardware (Carter & Shieh, 2015; Kraeuter et al., 2019; Seibenhener & Wooten, 2015).

Aunque hay algunas excepciones, en casi todos los diseños experimentales el animal es colocado en el centro de la arena por el investigador y de este modo forzado a interactuar con el ambiente novedoso. Es común realizar la prueba sin

poner nada en la arena, no obstante, algunos protocolos ponen un poco de aserrín en el suelo (Gould et al., 2009). Tradicionalmente la prueba duraba entre 2 y 10 minutos debido a que el registro se realizaba de manera manual, ahora, con la implementación de software especializado se contabilizan tiempos hasta de 1 hora (Sturman et al., 2018; Walsh & Cummins, 1976).

Los comportamientos estudiados durante la prueba son varios, por ejemplo, la tigmotaxis, esta es una respuesta defensiva natural en la cual las ratas permanecen pegadas a superficies verticales y, con ello, cubriéndose de los depredadores, por lo que se considera a la tigmotaxis como un importante marcador de la ansiedad (Belovicova et al., 2017; Lamprea et al., 2008). Ahora bien, este comportamiento es estudiado porque particularmente la actividad en los primeros minutos se considera que mide algunos aspectos de la emoción ante la introducción a un contexto novedoso. En otras palabras, la actividad inicial puede reflejar ansiedad debido al estrés generado por el arreglo del sitio donde se realiza la prueba ya que este contrasta con la manera en que los roedores usualmente viven de manera salvaje: condiciones altamente sociales, madrigueras bajo tierra y en áreas protegidas. Por lo que se puede asumir que los roedores han sido filogenéticamente condicionados para percibir ambientes similares al campo abierto como peligrosos (Antunes & Biala, 2012; Denenberg, 1969; Gould et al., 2009; Seibenhener & Wooten, 2015).

Además de la tigmotaxis existen otro tipo de comportamientos estudiados durante la prueba, por ejemplo, los movimientos estereotipados, estos hacen referencia a comportamientos repetitivos que ocurren en los animales y que son caracterizados por su intensidad y porque generalmente interrumpen la locomoción (Valvassori et al., 2017). Dentro de estos se encuentra el comportamiento de levantarse, consiste en que el animal se para en sus patas traseras de manera vertical, lo que es considerado un comportamiento de exploración y ha sido utilizado para medir la ansiedad (Lamprea et al., 2008; Seibenhener & Wooten, 2015). Otros comportamientos estereotipados menos estudiados incluyen los acicalamientos, olfateos, escarbar o el roer (Figura 14).



Figura 14. Comportamientos comunes mostrados durante la prueba de campo abierto. A) Movimiento, B) comportamiento arriesgado, C) levantamiento, D) acicalamiento y E) olfateo (Modificada de Valvassori et al., 2017).

Otra variable comúnmente estudiada es la habituación, misma que es una de las formas básicas de aprendizaje. Esta es evaluada en el comportamiento exploratorio, el cual muestra niveles altos de actividad e interacción con el ambiente durante los primeros minutos, conforme el animal se habitúa al ambiente, su reacción hacia el mismo disminuye (Belovicova et al., 2017; Walsh & Cummins, 1976).

Con relación a su uso, el campo abierto es comúnmente utilizado para calcular los efectos de nuevas drogas, compuestos sedativos, tóxicos o estimulantes, aunque también se utiliza como una prueba estándar en los modelos que trabajan con comportamiento (Belovicova et al., 2017; Gogas et al., 2007; Prut & Belzung, 2003; Walsh & Cummins, 1976).

La prueba ha sido ampliamente utilizada debido a distintos factores como que no requiere entrenamiento previo de parte de las ratas; tampoco se necesita demasiado entrenamiento por parte del investigador para que lo lleve a cabo; no es difícil de cuantificar; y tiene un amplio campo de aplicación (Walsh & Cummins, 1976). No obstante, la literatura sobre la personalidad relacionada al campo abierto está repleta de discrepancias y contradicciones acerca de cómo los autores miden e interpretan los rasgos del comportamiento (Bertomeu et al., 2017), existe una variación enorme prácticamente en cada característica física de los aparatos con los que se ha realizado la prueba (Walsh & Cummins, 1976), por lo que se debe ser muy cuidadoso al interpretar los resultados entre los estudios.

El ejercicio físico como paradigma en la promoción de la memoria y la neuroprotección

Son bien conocidos los efectos benéficos del ejercicio físico sobre la salud, por ejemplo, enfermedades como la diabetes tipo dos, hipertensión, obesidad o problemas cardiovasculares son aminorados con la implementación de una actividad física regular (Wogensen et al., 2015). Menos conocida ha sido la idea de que el ejercicio físico puede influenciar el cerebro; ahora, mediante modelos animales y estudios en humanos, se sabe que el cerebro del mamífero adulto es continuamente moldeado por los estímulos ambientales (Ang & Gomez-Pinilla, 2007; Hötting & Röder, 2013; Vanderbeken & Kerckhofs, 2016). Más reciente ha sido la asunción de que el ejercicio físico puede proteger ante una lesión cerebral e incluso mejorar la motricidad (Mang et al., 2013; Pin-Barre & Laurin, 2015; Sarkar et al., 2018; Saunders et al., 2014; Takamatsu et al., 2016). Actualmente la investigación comienza a inclinarse a las implicaciones positivas que podría tener el ejercicio en cuestiones cognitivas luego de un evento traumático, como una lesión cerebral (Devine & Zafonte, 2009; Wogensen et al., 2015) o en individuos con retraso (Song et al., 2018).

Siguiendo esta línea de investigación se ha propuesto que existen periodos críticos en el desarrollo del organismo durante los cuales el cerebro tiene mayor capacidad de reorganizarse, permitiendo la restauración o habilitación de una función posterior a la lesión cerebral o deterioro normal celular, a esta idea se le conoce como la hipótesis “edad-dependiente” y los principales estadios de desarrollo que se han propuesto como altamente probables para confirmarla son tanto la infancia como la vejez (Arida et al., 2004; Hötting & Röder, 2013; Kolb et al., 2011). El reto ha consistido en identificar específicamente los momentos pre y postnatales en los cuales determinados tratamientos puedan restaurar o aminorar el daño. Actualmente es posible identificar una amplia variedad de factores que pueden producir cambios significativos tanto en el cerebro como en la conducta o cognición. Muchos de ellos han sido relacionados con el ejercicio físico, mismo que se comienza a considerar como un facilitador de la plasticidad neuronal (Hötting &

Röder, 2013). Por tanto, el estudio de la implementación del ejercicio físico en cualquiera de sus variantes durante los distintos estadios de desarrollo, por distintos periodos de tiempo e intensidad, se vuelve relevante en la creación de terapias alternativas que promuevan el correcto funcionamiento del organismo.

Existen distintos tipos de ejercicios, entre los más comunes se encuentran los que involucran el levantamiento de pesas, programas de resistencia y ejercicios aeróbicos. Algunos de los ejercicios aeróbicos con mayor implementación en humanos son el correr, caminar, la bicicleta o el nado, mientras que en roedores son la caminadora, el nado o la rueda (Arida et al., 2004).

Debido a la naturaleza aparentemente distinta de cada uno de esos tipos de ejercicio se ha sugerido que distintas variedades de ejercicio pueden regular diferentes redes neurocognitivas lo que se traduciría en distintos efectos (Hötting y Röder, 2013), tal es el caso de los experimentos en donde el ejercicio acrobático se traducía en mayor cantidad de sinapsis mientras que el ejercicio aeróbico promovía la formación de vasos sanguíneos (Black et al., 1990; Isaacs et al., 1992; Kleim et al., 2002), sin embargo, aunque la información preliminar es atractiva, de momento, la mayor cantidad de atención se ha enfocado en el ejercicio aeróbico. En este sentido, algunos autores han mostrado en sus experimentos que los efectos positivos del ejercicio aeróbico en la cognición se presentan sin importar si es realizado en una bicicleta, el suelo o una caminadora (Vanderbeken & Kerckhofs, 2016).

Otra de las principales características de los experimentos que implican ejercicio radica en si este es realizado de manera voluntaria o forzada. El ejercicio en ruedas no motorizadas o voluntario permite al animal ejercitarse a su propio ritmo, mientras que el ejercicio practicado en una caminadora, rueda motorizada o el nado se entienden como forzados al no ofrecer la misma autonomía de movimiento (Wogensen et al., 2015). Si bien muchos de los diseños experimentales se han valido del ejercicio voluntario (Grace et al., 2009; van Praag et al., 2005), un régimen de ejercicio forzado es más similar al entrenamiento físico humano, así como con las rehabilitaciones que se llevan a cabo en individuos con lesiones, y debatiblemente más objetivo en términos de medición de resultados ya que permite

una correlación más apropiada entre la cantidad de ejercicio y cualquier beneficio que se deduzca de ello, sin mencionar que se tiene más control sobre la velocidad, frecuencia e intensidad del mismo (Ang et al., 2006; Ang & Gomez-Pinilla, 2007; Ang et al., 2003; Arida et al., 2004).

Ahora bien, por lo que se refiere a la relación entre el ejercicio y la memoria, se piensa que la búsqueda, el atrape y el escondimiento de la comida como actividades de diversos animales conllevan, primero, a una demanda variable de la actividad física y, segundo, a una demanda variable en el procesamiento de información, aprendizaje y las capacidades mnemónicas. Por lo tanto, enlazar la actividad física con la regulación de las capacidades cognitivas podría conferir una ventaja selectiva, posiblemente a través de un mecanismo conservado evolutivamente (Aberg et al., 2006). Así, es probable que el incremento del ejercicio en los roedores durante la búsqueda de comida pueda incrementar algunos factores tróficos que posteriormente llegan al hipocampo y subsecuentemente incrementan la neurogénesis, el aprendizaje espacial y de reconocimiento de una manera dinámica (Aberg et al., 2006).

De esa manera, se ha mostrado en ratas machos sometidas a ejercicio forzado en caminadoras por 16 meses mayor adquisición, consolidación y mantenimiento de la memoria espacial, motora y de procedimiento, en la tarea de laberinto radial, así como un decremento en los comportamientos relacionados con la ansiedad que se ven incrementados con la edad (Pietrelli et al., 2012). Mejoras en el aprendizaje espacial de la tarea de laberinto acuático también han sido logradas con el nado forzado durante 12 semanas (Ang et al., 2006). En la misma tarea el aprendizaje espacial ha sido igualmente facilitado luego de 8 semanas de ejercicio forzado realizado en caminadora (Uysal et al., 2005); y en paradigmas de ejercicio voluntario realizado en ruedas por 45 días (van Praag et al., 2005), 3 semanas (Berchtold et al., 2010), 20 días (Grace et al., 2009) o hasta por 5 días (Ding et al., 2006).

No solo en pruebas relacionadas a la memoria espacial se ha encontrado facilitación de la memoria, también en tareas como la evitación pasiva, al respecto ratas machos con ejercicio forzado durante 9 semanas mostraron mejoras en la

adquisición de la tarea, lo que representa beneficios en la memoria de corto y largo plazo (Radak et al., 2001). Esos resultados se han replicado bajo ejercicio forzado de nado durante 8 semanas (Radak et al., 2006). Asimismo, ratas con ejercicio forzado en caminadoras por 7 días se desempeñaron mejor en la tarea de memoria asociada al reconocimiento de objetos (O'Callaghan et al., 2007). En paradigmas de ejercicio voluntario realizado en ruedas también se ha encontrado facilitación en la memoria durante la prueba de reconocimiento de objetos y en su variante de objeto dependiente de lugar en ratas con 20 días de ejercicio (Grace et al., 2009).

Por otro lado, el ejercicio no solamente ha sido sujeto de interés debido a su relación con las capacidades cognitivas de organismos intactos, sino también porque la investigación exhaustiva del ejercicio en diferentes modelos animales ha demostrado que el ejercicio conlleva efectos neuroprotectores. Estos efectos han sido mejor definidos con respecto a la reducción de la lesión cerebral y el retraso en el inicio de varias enfermedades neurodegenerativas (Cotman et al., 2007).

De esta forma, el ejercicio se ha llevado a cabo por días o semanas previo a la inducción de una lesión cerebral, esperando que su implementación proteja el tejido cerebral. De la misma manera, la implementación del ejercicio por días o semanas luego de una lesión cerebral se ha llevado a cabo intentando recuperar la función cerebral y/o aminorar el daño a nivel de tejido. Con relación a la protección, ratas machos con 4 semanas de ejercicio forzado en caminadora, previas a una lesión isquémica, mostraron una disminución en el volumen del infarto con respecto a los sedentarios (Jia et al., 2009). De la misma manera, ratas machos de 3 semanas de edad con ejercicio forzado en caminadora durante 6 meses a las que se les produjo un infarto cerebral tuvieron lesiones menos severas que los controles (Ding et al., 2004). De manera *in vitro*, cortes cerebrales de ratas machos que previamente realizaron ejercicio forzado de nado durante 8 semanas fueron sometidos a un proceso de isquemia y presentaron una reducción en la cantidad de óxido nítrico, lo que se tradujo como un decremento en la incidencia de muerte celular (Leite et al., 2012; Mourão et al., 2014). Asimismo, hubo una clara reducción en la liberación de glutamato en el hipocampo y en la expresión del factor inductor de apoptosis (Leite et al., 2012; Mourão et al., 2014).

Cuando el ejercicio se ha implementado posterior a la lesión los resultados también han sido en su mayoría favorables. Por ejemplo, ratas lesionadas in-útero a través de un modelo de inflamación por lipopolisacáridos realizaron ejercicio forzado en caminadora 8 semanas después de su nacimiento durante 4 semanas, dicho ejercicio suprimió la astrogliosis del estriado y alivió la hipomielinización del cuerpo calloso asociada a la PVL producida como producto de los lipopolisacáridos (Kim et al., 2014). Otra evidencia muestra que después de un infarto producido mediante una oclusión arterial se disminuyó el área del daño hasta en un 33% en ratas macho sujetas a ejercicio forzado en caminadora por 12 semanas (Ang et al., 2003). Mientras que ratas adultas con hipertensión espontánea que realizaron ejercicio voluntario en rueda durante 1 semana posterior a una lesión isquémica, mostraron una disminución en el tamaño de la lesión e incremento en el número de células progenitoras y precursores neuronales de la zona sub ventricular (Komitova et al., 2005). Muy similar a las lesiones isquémicas son las excitotóxicas, en este caso, ratas macho adultos con ejercicio de nado forzado durante 30 días luego de una lesión excitotóxica bilateral, presentaron neurogénesis en el giro dentado del hipocampo y mayor arborización de las neuronas en las regiones CA1, CA3, así como en la amígdala y la corteza motora, independientemente de si el ejercicio se comenzaba a implementar 1 día o 60 días después de la lesión (Gorantla et al., 2016).

Lesiones excitotóxicas perinatales y ejercicio posterior a las mismas también están siendo modeladas en el Laboratorio de Aprendizaje y Memoria del Instituto de Neurobiología de la UNAM. En este modelo, una vez inducida la lesión en el día postnatal 5, se comienza la implementación del ejercicio de una manera temprana, es decir, a los 7 días postnatales y durante toda la infancia de la rata, en otras palabras, hasta el día 30 postnatal (Arrazola Cortés, 2016). Los resultados preliminares muestran que estructuras como el cuerpo calloso y corteza motora sufren una menor pérdida de tejido cuando se evalúan en el día 30 postnatal, mientras que los ventrículos laterales expresan una menor expansión a comparación de los individuos sedentarios que presentan ventriculomegalia (Arrazola *et al.*, en prensa).

Cuando se trata de la mejoría en las condiciones cognitivas de los animales, en ratas hembras adultas que llevaron a cabo ejercicio de nado durante 6 semanas para posteriormente experimentar una lesión isquémica global, se encontró que las ratas entrenadas tuvieron una menor cantidad de muerte neuronal en la región CA1 del hipocampo e inflamación reducida, mientras que cognitivamente se desempeñaron mejor en la prueba de memoria espacial de laberinto acuático (Zhang et al., 2018). En esta misma forma de implementación del ejercicio previo a la lesión, un par de experimentos fueron un paso más atrás y a hijos de ratas sometidas a ejercicio de nado durante la gestación se les indujo una lesión hipóxica/isquémica en el día postnatal 3, como resultado, los hijos de madres que se ejercitaron mostraron una disminución en la expresión de proteínas relacionadas a la apoptosis, astrogliosis y modularon positivamente las neurotrofinas, especialmente en el hipocampo, preservando las áreas con mielina (Marcelino et al., 2016; Sanches et al., 2018). Conductualmente, los problemas de memoria espacial asociados a la hipoxia isquemia fueron reducidos en las pruebas de laberinto acuático y reconocimiento de objetos realizadas durante la adultez, lo que sugiere efectos a largo plazo de dicho ejercicio (Marcelino et al., 2016; Sanches et al., 2018).

Finalmente, en paradigmas de ejercicio implementado posterior a la lesión, se ha encontrado que la memoria espacial en la prueba de laberinto acuático fue facilitada luego de 6 días de ejercicio voluntario realizado en rueda 14 días después de una lesión traumática realizada mediante craneotomía (Griesbach et al., 2004). Igualmente, ratas machos adultos que experimentaron por 21 días estrés crónico ligero de manera impredecible y posteriormente realizaron ejercicio forzado de nado durante 4 semanas, mostraron un decremento en las citoquinas pro inflamatorias en la corteza prefrontal e hipocampo, así como una desaparición de los comportamientos característicos de la depresión, disminución de la expresión de óxido nítrico sintasa, la cual juega un papel importante en la respuesta patológica del estrés y aumentó de HSP70, relacionado con la resistencia al estrés celular (Liu et al., 2013; Liu et al., 2010). Mientras que en ratas neonatas sometidas a una lesión hipóxica isquémica en el día 7 postnatal y posteriormente sometidas a ejercicio

forzado en caminadora durante 5 semanas a partir del día postnatal 22, demostraron una mejoría en la coordinación motora y en la prueba de evitación pasiva (Kim et al., 2017). Con estos datos, quedan claros los múltiples beneficios del ejercicio. Sin embargo, es necesario realizar más investigaciones al respecto para clarificar los momentos, intensidades y duración de los entrenamientos que pueden ser más efectivos.

Pregunta de investigación

¿Puede el nado llevado a cabo por ratas con lesión excitotóxica perinatal en el cuerpo calloso disminuir el daño en el hipocampo dorsal, así como atenuar las alteraciones motoras y de la memoria espacial en la edad adulta?

Justificación

La modelación de una lesión excitotóxica en ratas neonatas sometidas al ejercicio de nado durante su desarrollo permitirá esclarecer si se genera una diferencia en el volumen del hipocampo dorsal y si esta pudiera tener un impacto en el patrón de movimiento y memoria espacial durante la etapa adulta. Dichos resultados contribuirán a comprender el funcionamiento tanto de la encefalopatía del prematuro como de terapias neurohabilitatorias de intervención temprana en neonatos prematuros humanos como es el caso de la neurohabilitación Katona.

Hipótesis

Se ha demostrado que la realización de actividades físicas posteriores a una lesión cerebral genera un efecto neuroprotector, así como una disminución de comportamientos ansiosos y mejora cognitiva de las ratas entrenadas. Entonces, en ratas con lesión excitotóxica del cuerpo calloso en el día 5 de edad el nado forzado realizado durante los días 7 al 30 de edad:

- a) Reducirá la pérdida de volumen del hipocampo dorsal,
- b) Disminuirá la hiperactividad a los 50 días de edad, y
- c) Atenuará el deterioro en la memoria espacial a los 60 días de edad.

Objetivos

General:

- Evaluar si el nado en ratas con lesión excitotóxica perinatal en el cuerpo calloso genera cambios en el volumen del hipocampo dorsal, así como en la actividad motora y la memoria espacial.

Particulares:

- Analizar en ratas adultas con una lesión excitotóxica en el cuerpo calloso realizada a los 5 días de edad y sometidas al ejercicio de nado durante 24 días:
 - a) El volumen del hipocampo dorsal.
 - b) El patrón de movimiento en la prueba de campo abierto durante el día 50 de edad.
 - c) La memoria espacial en la tarea de reconocimiento de objetos dependiente de lugar durante el día 60 de edad.

Método

Sujetos experimentales y agrupación

Se utilizaron 60 ratas macho (11-13 gr) de la cepa Sprague Dawley a partir del día 5 de edad. Todas las ratas permanecieron en lactancia con su madre hasta el día 21, marcado como el día de destete. Las camadas se distribuyeron de tal modo que cada hembra nodriza amamantó a 6 crías macho. Las ratas, tanto madres como crías, se mantuvieron en condiciones de bioterio con alimento y agua *ad libitum*, así como un ciclo de luz-oscuridad 12h/12h (encendido a las 7:00 h).

Los animales se distribuyeron en 3 grupos de 20 integrantes cada uno, los cuales a su vez constaron de dos subgrupos de 10 integrantes. El primer grupo, llamado intacto, se mantuvo en su caja hogar, 10 integrantes fueron sometidos al nado (Intacto-Nado) y 10 no (Intacto-Sedentario). Al segundo grupo, vehículo, se le realizó una cirugía estereotáxica y se le inyectó unilateralmente en el cuerpo caloso 2 μ l de una solución de fosfatos al 1X, 10 individuos de este grupo realizaron la tarea de nado (Vehículo-Nado) y 10 no (Vehículo-Sedentario). Al tercer y último grupo, llamado lesionado, se le realizó cirugía estereotáxica unilateral y se le administró en el cuerpo caloso una solución de 5 μ g de NMDA sigma® (PM=147.1289 gr) en un volumen de 2 μ l de solución de fosfatos al 1X y como en los grupos anteriores se dividió en dos subgrupos; 10 individuos realizaron el nado (Lesión-Nado) y 10 no (Lesión-Sedentario).

Lesión excitotóxica

Las ratas de 5 días de edad fueron anestesiadas induciendo una disminución en su temperatura corporal a través de la colocación en hielo durante 10 minutos. Una vez anestesiada la rata se fijó en un adaptador para rata neonata (diseñado en el Laboratorio de Aprendizaje y Memoria B-04 del Instituto de Neurobiología, UNAM) que va colocado en el aparato estereotáxico de rata adulta (Hagberg et al., 2002; Sierra et al., 2009). Como antiséptico para esterilizar el material quirúrgico y la zona a incidir se utilizó cloruro de benzalconio al 12% de la marca Dermo-qrit. Ya fijada la rata se le realizó un corte del cuero cabelludo, exponiendo la calota, enseguida se procedió a identificar la línea media del cráneo y Bregma con ayuda de una lámpara de luz blanca y, acordé con el atlas de Khazipov et al. (2015), se tomaron las siguientes coordenadas correspondientes al cuerpo caloso: Antero Posterior: -1 mm, Medial-Lateral: \pm 1 mm y Dorso-Ventral: 2 mm. Se perforó el cráneo utilizando una aguja de insulina, cuidando de no perforar más de 1 mm, y con ayuda de la torre del aparato estereotáxico se introdujo una aguja de calibre 0.305mm x 19 cm, acoplada a un microinyector Monoject siguiendo las coordenadas preestablecidas (Chen et al., 2008; Heller et al., 1979).

Una vez en el sitio, se inyectaron 2 μ l de solución del agonista de rNMDA: NMDA/PBS a una velocidad de 1 μ l/90 seg, al final de la administración la aguja permaneció 2 minutos más para garantizar la difusión antes de removerla (Chen et al., 2008; Webber et al., 2009). Finalmente, se limpió la herida de la piel con el antiséptico y se colocó a la rata en una placa térmica durante 60 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se verificó la recuperación de la temperatura corporal y bienestar del individuo, para así proceder a devolverlo con su madre lo más pronto posible (Sierra et al., 2009).

Ejercicio de nado

Después de 24 h de realizada la cirugía comenzó la actividad del nado en los tres subgrupos de nado (Intacto-Nado, Vehículo-Nado y Lesión-Nado). La prueba consistió en dos sesiones de 5 minutos de nado del día 7 al 10 de edad, posteriormente se incrementó el tiempo de cada sesión a 10 minutos realizando dos sesiones diarias del día 11 al 30 de edad, finalmente a partir del día 31 y hasta el día 60 las ratas descansaron. El nado fue llevado a cabo en un cilindro de acrílico con un diámetro de 40 cm y altura de 60 cm, el agua se mantuvo en una temperatura entre los 23 y 25 °C, asimismo, al inicio el nivel del agua tenía 6 cm e incrementó progresivamente con la edad de la rata, ésta siempre pudo tener contacto con el fondo utilizando su cola, no así con otras de sus extremidades. La tarea se llevó a cabo en un cuarto con una temperatura constante de 23 °C, aislado del cuarto de alojamiento. Una vez terminada la tarea las ratas eran secadas con una toalla y regresadas a una caja con aserrín, con una placa térmica y luz blanca para que recuperaran la temperatura fisiológica después del ejercicio en el agua. Todas las ratas estuvieron aisladas de su madre de 1:30 a 2:00 horas al día y posteriormente eran regresadas con ella. Las ratas se mantuvieron por todo ese tiempo separadas de su madre debido a las dificultades logísticas que implicaban trasladar rata por rata del sitio de alojamiento al sitio donde realizaron el ejercicio.

Prueba de campo abierto

En el día 50 de edad las ratas fueron sometidas a una prueba de campo abierto. Esta prueba consistió en ingresar a la rata en una caja de acrílico (40.5 cm de largo, 40.5 cm de ancho y 25 cm de profundidad) en la cual se monitoreó su actividad motora dentro de la caja a lo largo de 30 min con ayuda del programa Fusion v5.5 SuperFlex Edition, mismo que proporcionó datos acerca de la distancia total recorrida cada 5 min, de las áreas de la caja en las cuales la rata pasó más tiempo y cantidad de movimientos estereotipados. Entre cada individuo la caja se limpió, removiendo heces y orina, para posteriormente limpiarles con ácido acético al 4%. Durante todo el tiempo del experimento las ratas tenían en su ambiente luz roja y no había presencia del experimentador.

Prueba de reconocimiento de objetos

Una vez que las ratas llegaron a la edad adulta o día 61 postnatal, las ratas fueron sometidas a una prueba de reconocimiento de objeto novedoso dependiente de lugar. De esta manera, se manipuló a cada rata por 3 minutos por 3 días previo al inicio del protocolo de reconocimiento. Pasados los 3 días de manipulación se llevó a cabo la habituación al campo abierto durante 3 minutos en una caja de acrílico (40 x 40 x 45 cm) cubierta en el exterior por foami negro, en su interior contenía una cama de aserrín y en una de sus paredes una pista visual de líneas blancas y negras fuera del alcance de la rata, también visible para la rata fue la cámara montada en un tripeé en un costado de la caja, misma que se utilizó en todas las sesiones aún en las que no se grababa. Asimismo, se utilizó ruido blanco de fondo para evitar posibles distracciones sonoras. Al día siguiente se realizó la presentación de dos objetos distintos fabricados del mismo material y de tamaño similar: un foco de luz blanca en forma de espiral (11 x 4 x 4 cm) y un frasco de vidrio transparente (5 x 5 x 5 cm) que fueron adheridos al suelo y a los cuales se dejó explorar libremente la rata durante 10 minutos. Los objetos fueron presentados en la caja previamente descrita bajo las mismas condiciones. Finalmente, la prueba de reconocimiento se realizó en el día 63 posnatal, consistió en colocar a la rata en la caja donde realizó

la habituación y se presentaron los objetos, con la diferencia de que uno de los objetos, el foco, fue cambiado de lugar a su contrapunto frontal. Se dejó a la rata explorar libremente por un periodo de 3 minutos.

Entre cada una de las sesiones se recogían los excrementos, se cambiaba el aserrín y se limpiaban tanto las paredes como los objetos con ácido acético al 4%. Finalmente, las sesiones de habituación y la prueba fueron filmadas en vídeo, posteriormente se analizaron los tiempos que pasó la rata explorando cada objeto en ambas sesiones. Dos observadores realizaron las mediciones haciendo cruzamiento de lecturas para asegurar que ambos midieran el mismo parámetro. Los criterios tomados para la conducta de exploración fueron que la rata tocara al objeto con la cabeza, ya fuera royéndolo, lamiéndolo u oliéndolo.

Obtención de los cerebros

Al día siguiente que finalizó la prueba de reconocimiento de objetos, se procedió a sacrificar a los animales para obtener sus cerebros. El sacrificio se realizó mediante la inyección de una sobre dosis de pentobarbital por vía intraperitoneal. Enseguida, se procedió a realizar una perfusión intracardiaca; en esta, se realizó una primera infusión de solución de fosfatos (200 ml) al 1X (PBS-1X) con un pH 7.4 con el objetivo de expulsar la sangre del animal, posteriormente se administró una segunda infusión con paraformaldehído (250 ml) al 4% en PBS-1X (PFA) y un pH de 7.4, utilizado para fijar los tejidos. En ambos casos la velocidad de infusión fue de 4 ml/s. Concluida la perfusión se extrajo el encéfalo por craneotomía. Los encéfalos fueron conservados en PFA al menos una semana y para su procesamiento en criostato se sustituyó el PFA por una solución de PBS-1X con sacarosa al 30%.

Histología

Con la ayuda de un criostato se llevaron a cabo cortes coronales de 30 μm , colectando tejido de manera seriada a lo largo de 1240 μm cada 60 μm a partir de

la región Bregma -2.4 y hasta la región -3.6 del atlas de Paxinos y Watson (2007). En el caso de los individuos cuyas lesiones impedían encontrar adecuadamente la región inicial, se tomó como referencia la aparición de la comisura anterior, comenzando a coleccionar tejido 50 cortes o 1500 μm posterior a la misma debido a que en individuos sanos la región de interés comienza en ese punto. Esto se realizó para los cerebros de por lo menos 6 individuos de cada grupo. Una vez obtenidas las laminillas se les dejó secar para su posterior uso.

De las 5 laminillas obtenidas por sujeto una se utilizó para realizar la tinción de Nissl para llevar a cabo el estudio de volumetría, mientras que el resto se almacenó a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su posterior uso. La tinción de Nissl consistió en la hidratación del tejido en agua desionizada durante 5 min, posteriormente se siguió un tren de tinción que consistió en sumergir las laminillas por 15 min en solución de violeta de cresilo; 2 min en alcohol al 60%; 2 min en alcohol al 70 %; 2 min en alcohol 80 %; 2 min en alcohol al 90%; 2 min en alcohol al 100%; 1 min en alcohol/xilol 50/50 %; y 2 min en xilol 100%. Una vez acabado el tren de tinción se procedió a fijar las laminillas colocando resina Permout (Fisher Chemical™) sobre la misma seguido de un cubreobjetos rectangular. Se permitió secar a la resina por unos días y luego se procedió a realizar la volumetría con ayuda de las laminillas previamente teñidas.

Volumetría

Para la volumetría se utilizó una cámara fotográfica estándar acoplada a un estereoscopio para capturar fotografías digitales del hipocampo. Las imágenes abarcaron el corte coronal individual completo para los cuatro tejidos de la laminilla, cuidando sobre todo de enfocar bien el hipocampo. Asimismo, se tomó una foto extra bajo las mismas condiciones de aumento a una laminilla que tenía pegado papel milimétrico, esto para poder tener una escala de distancia que posteriormente se utilizó en el programa Image J 4.0 (Scion Corporation, Frederick, MD). En éste, luego de fijar la escala del valor de distancia conocida, se procedió a tomar el volumen del hipocampo con las herramientas vectoriales del mismo para las cuatro imágenes de cada laminilla para por lo menos 4 individuos de cada grupo

experimental. Los volúmenes del hipocampo dorsal se tomaron de manera separada, clasificando al hemisferio donde se aplicó la lesión como Ipsilateral y el contrario como contralateral. Los valores se obtuvieron en μm^3 y fueron organizados y analizados en el programa GraphPad Prism 8.

Estadística

A todos los datos obtenidos se les aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. En todos los casos las distribuciones fueron normales. Establecido lo anterior, a los datos de campo abierto se les aplicó una prueba de ANDEVA de 2 vías, tomando al grupo asignado (intacto, vehículo o lesión) como el primer factor y el tratamiento (sedentario o nado) como el segundo. Asimismo, se aplicó la prueba post-hoc de Tukey para medidas repetidas. Mientras que la prueba de reconocimiento de objetos fue analizada con una T de student. Finalmente, el volumen del hipocampo dorsal ipsilateral y contralateral fue calculado a través de la suma de áreas multiplicado por el intervalo de sección ($300 \mu\text{m}$), de acuerdo al método de Cavalieri, una vez obtenidos estos datos, se utilizó ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey.

Resultados

Campo abierto

Los resultados del patrón general de movimiento en la prueba de campo abierto realizada en el día 50 de edad para ratas con lesión excitotóxica perinatal muestran un nivel elevado de actividad comparadas a los grupos Intacto y Vehículo, mismos que no tuvieron diferencias significativas entre sí, ya fuera que hubieran nadado o no (Tabla 2). El aumento en la locomoción de los individuos lesionados es estadísticamente significativo ($F(5, 48) = 10.79, P < 0.0001$) y se vuelve claro para los individuos lesionados sedentarios a partir del minuto 15, donde la prueba post-hoc de Tukey muestra diferencias significativas de éste grupo contra todos los grupos Intacto y Vehículo, empero, el grupo lesión con nado no es diferente ni del grupo lesión sedentario ($P > 0.9999$) o los grupos Intacto y Vehículo ($P = 0.2811$) (Figura 15; Tabla 3). Adicionalmente, se puede notar que existió el proceso de habituación para todos los individuos (medido como la disminución de la locomoción en el tiempo), no obstante, ambos grupos de individuos lesionados mostraron niveles de habituación más bajos que los grupos Intacto y Vehículo.

Tabla 2. La tabla muestra la distancia total recorrida durante 30 min de los distintos grupos en la prueba de campo abierto.

Grupo	Intacto		Vehículo		Lesión	
Variable	Distancia total (cm)		Distancia total (cm)		Distancia total (cm)	
Tratamiento	Sedentario (n = 10)	Nado (n = 9)	Sedentario (n = 9)	Nado (n = 10)	Sedentario (n = 8)	Nado (n = 8)
Media	796.062	680.759	782.035	660.580	1646.995	1523.633
Desviación Estándar	534.368	390.078	555.480	367.772	315.691	429.324

Adicionalmente, se calcularon la cantidad de movimientos estereotipados ($F(2.124, 19.11) = 7.663, P = 0.0032$), de estos, el grupo lesión sedentario difirió de los grupos Intacto y Vehículo, principalmente a los 15 minutos; el grupo lesión con nado no fue distinto del grupo lesión sedentario ($P > 0.9999$) o de los Intacto y Vehículo (Figura 16; Tabla 4).

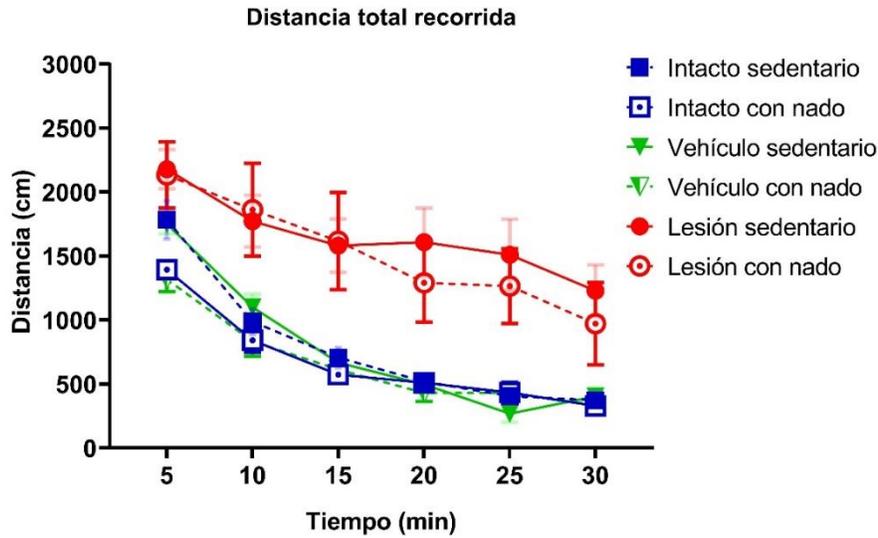


Figura 15. Media \pm eem. de la distancia total recorrida en la caja donde se llevó a cabo la prueba de campo abierto.

Tabla 3. Se muestran las diferencias significativas obtenidas con la prueba de Tukey para la distancia total recorrida en la prueba de campo abierto.

Tiempo	Diferencias significativas de acuerdo a <u>Tukey</u>	Probabilidad	Anova
5min	Intacto con nado vs. Vehículo sedentario	P= 0.0278	F (5, 48) = 10.79 P<0.0001
	Intacto con nado vs. Lesión sedentario	P= 0.0090	
	Vehículo sedentario vs. Vehículo con nado	P= 0.0274	
	Vehículo con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0047	
10 min	Intacto sedentario vs. Lesión sedentario	P= 0.0476	
	Intacto con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0174	
	Vehículo con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0175	
15 min	Intacto sedentario vs. Lesión sedentario	P= 0.0287	
	Intacto con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0140	
	Vehículo sedentario vs. Lesión sedentario	P=0.0228	
	Vehículo con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0162	
20 min	Intacto sedentario vs. Lesión sedentario	P=0.0344	
	Intacto con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0326	
	Vehículo sedentario vs. Lesión sedentario	P=0.0306	
	Vehículo con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0225	
25 min	Intacto sedentario vs. Lesión sedentario	P=0.0396	
	Intacto con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0450	
	Vehículo sedentario vs. Lesión sedentario	P=0.0215	
	Vehículo con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0441	
30 min	Intacto sedentario vs. Lesión sedentario	P=0.0284	
	Intacto con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0224	
	Vehículo sedentario vs. Lesión sedentario	P=0.0341	
	Vehículo con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0222	

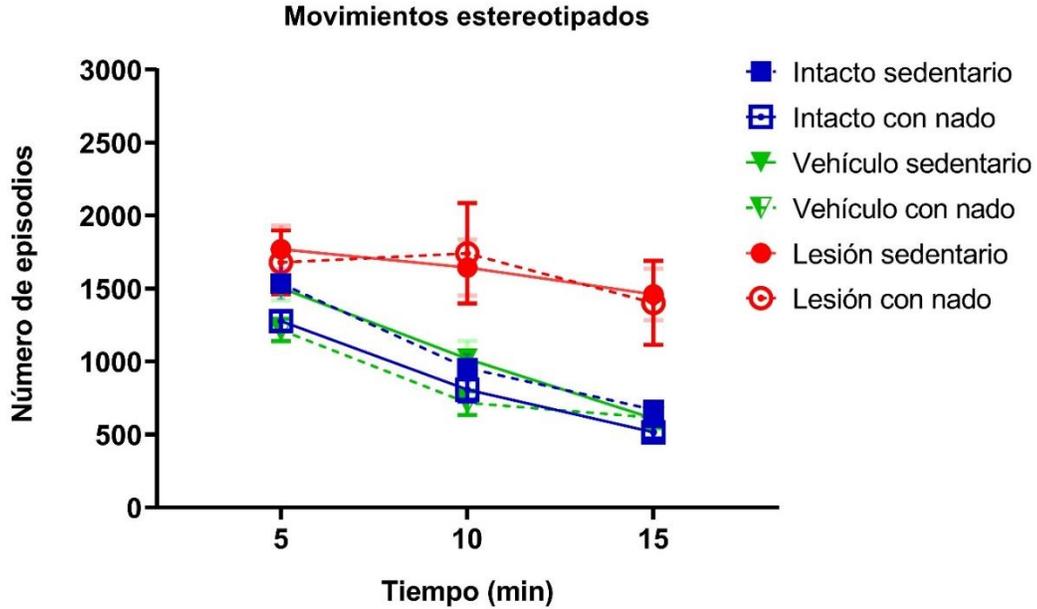


Figura 16. Media \pm eem. de la cantidad de movimientos estereotipados (levantamientos, olisqueos, mordisqueos, acicalamientos) que se llevaron a cabo en la prueba de campo abierto.

Tabla 4. Se muestran las diferencias significativas obtenidas con la prueba de Tukey para los movimientos estereotipados durante la prueba de campo abierto.

Tiempo	Diferencias significativas de acuerdo a Tukey	Probabilidad	Anova
5 min	Vehículo sedentario vs. Vehículo con nado	P=0.0045	F (2.124, 19.11) = 7.663 P=0.0032
10 min	Intacto sedentario vs. Lesión sedentario	P=0.0360	
	Intacto con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0412	
15 min	Intacto sedentario vs. Lesión sedentario	P=0.0217	
	Intacto con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0087	
	Vehículo sedentario vs. Lesión sedentario	P=0.0231	
	Vehículo con nado vs. Lesión sedentario	P=0.0289	

En resumen, no hubo diferencias notables en la locomoción de los grupos Intacto y Vehículo ya fuera que hubiesen nadado o no. Mientras que el grupo lesión sedentario presentó un aumento claro en la distancia total recorrida con respecto a los controles, sin embargo, no se diferenció de manera estadística del grupo lesión con nado. De estos últimos, la prueba post hoc nos dice que tampoco son diferentes de los grupos Intacto o Vehículo. Es decir, estadísticamente no se puede aseverar que el nado ejerció un efecto en la disminución de la locomoción total, sin embargo,

que tampoco sean diferentes de los grupos control demuestra que el nado sí tuvo un efecto, aunque éste no alcanzara significancia estadística (Figura 17). Lo mismo se observa para la cantidad de movimientos estereotipados, donde el grupo lesión con nado no difiere ni del grupo lesión sedentario o de los grupos Intacto y Vehículo.

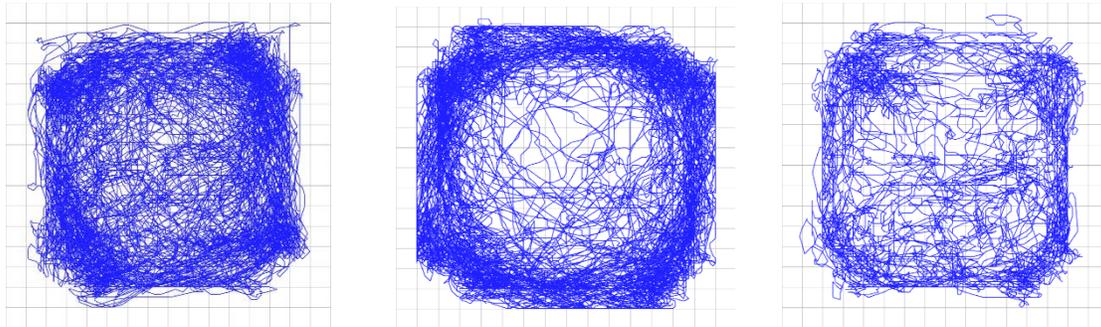


Figura 17. Patrones de movimiento capturados durante la prueba de campo abierto durante 30 min. Izquierda, ejemplo de patrón de movimiento de un individuo lesionado sedentario. Centro, ejemplo de patrón de movimiento de un individuo lesionado con nado. Derecha, ejemplo de patrón de movimiento de un individuo intacto sedentario.

Prueba de reconocimiento de objetos

Los resultados de la prueba de reconocimiento de objetos dependiente de lugar nos indican que, durante la fase de presentación de los objetos, en la que se requiere que la rata explore por igual ambos objetos con la finalidad de mostrar que no hay alguna preferencia, todos los grupos controles mostraron preferencia por uno de los objetos presentados (Figura 18). Este resultado no permite continuar con la ejecución de la prueba debido a que no es posible discernir si la rata reconoce el cambio de sitio en el objeto o simplemente es una cuestión de la preferencia previamente mostrada, por lo que no se terminó la prueba. Sin embargo, ninguno de los dos grupos lesionados fue capaz de mostrar la preferencia que sí mostraron todos los grupos control, un hallazgo que genera preguntas para nuevos estudios y que será discutido más adelante.

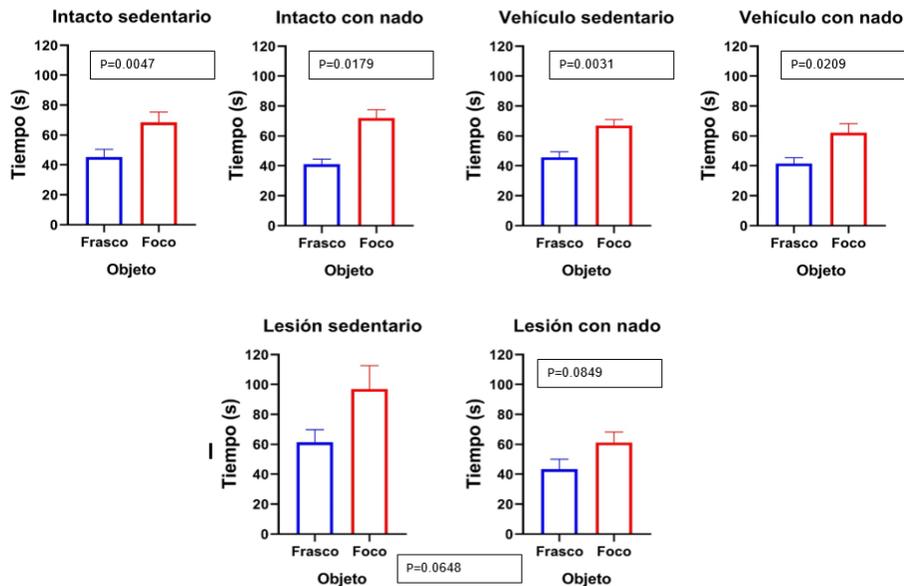


Figura 18. Media \pm eem del tiempo transcurrido en la exploración de cada objeto, prueba de “t” de student. En las gráficas, se puede apreciar que todos los grupos Intacto y Vehículo discriminaron en favor del foco, mientras que los grupos lesionados no.

Volumetría

Los animales de los grupos Intacto y Vehículo que no fueron operados, así como los que se sometieron a cirugía administrándoles solución de fosfatos y que posteriormente se asignaron al grupo sedentario o nado, no tuvieron una diferencia significativa en el volumen del hipocampo dorsal ipsilateral o contralateral ($P > 0.9999$). De esta manera, la media del volumen del hipocampo dorsal izquierdo y derecho para los individuos intactos sedentarios fue $91791669480 \mu\text{m}^3$ y $91987973973 \mu\text{m}^3$, en el caso de los intactos con nado: $86658596502 \mu\text{m}^3$ y $87264291882 \mu\text{m}^3$. Mientras que los individuos vehículo sedentarios obtuvieron un volumen ipsilateral y contralateral de $85861229786 \mu\text{m}^3$ y $92780039101 \mu\text{m}^3$; vehículos con nado: $88710694187 \mu\text{m}^3$ y $98866042353 \mu\text{m}^3$.

El daño de los animales sedentarios que se sometieron a la lesión excitotóxica no se limitó al cuerpo calloso del hemisferio ipsilateral, en su lugar buena parte del hemisferio ipsilateral, así como del contralateral, se perdió. Por lo que respecta al volumen del hipocampo dorsal ipsilateral y contralateral, la media fue de $12299870249 \mu\text{m}^3$ y $22574833049 \mu\text{m}^3$, respectivamente. Éstos mostraron

diferencias negativas en el volumen de la lesión con respecto a todos los grupos ($P < 0.0001$) a excepción del hipocampo contralateral que no presentó diferencia con el hipocampo lesionado de individuos con nado ($P = 0.5936$).

Por lo que se refiere a los individuos que experimentaron excitotoxicidad y fueron sometidos a nado durante su desarrollo, su lesión no mostró un progreso más allá del hemisferio ipsilateral y en éste mismo hemisferio se vio considerablemente disminuido (Figura 19). En el hipocampo dorsal, éste mostró diferencias significativas de su hemisferio ipsilateral con respecto a todos los grupos (salvo el ya mencionado), incluido el lesión sedentario ipsilateral ($P < 0.0001$), teniendo un volumen medio de $38696842334 \mu\text{m}^3$. El hemisferio contralateral, con un volumen medio de $82337622478 \mu\text{m}^3$, únicamente mostró diferencia significativa con respecto a su hemisferio ipsilateral ($P < 0.0001$) y respecto al grupo lesión sedentario tanto en el hemisferio ipsilateral como contralateral ($P < 0.0001$) (Tabla 5).

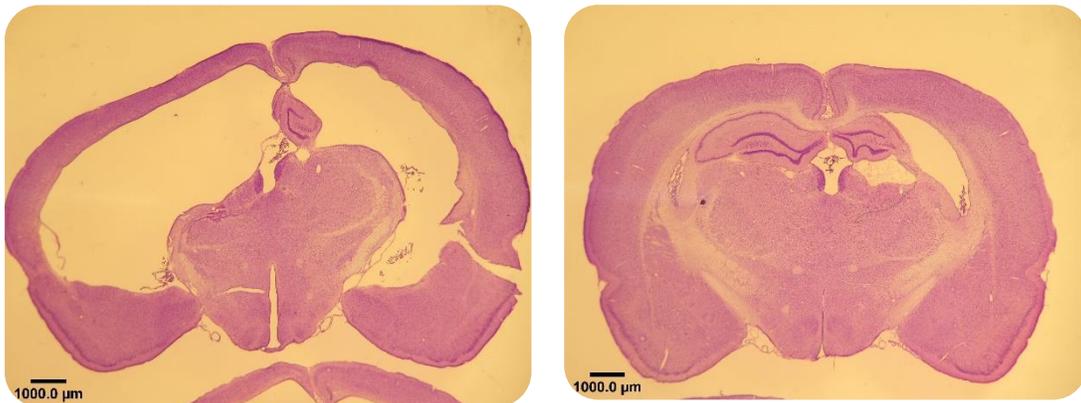


Figura 19. Cortes coronales de ratas adultas con lesión excitotóxica postnatal teñidos con Nissl. A la izquierda se muestra un corte representativo de un individuo que no llevo a cabo la tarea de nado; se puede apreciar que buena parte tanto del hemisferio ipsilateral (izquierda del observador) como contralateral, se ha perdido. En la derecha se muestra un corte coronal representativo de un individuo que llevó a cabo la tarea de nado forzado; es notable como el hemisferio ipsilateral (derecha del observador) muestra la lesión, pero no tan severa a comparación del ipsilateral del individuo sin nado.

Tabla 5. La tabla muestra el volumen medio del hemisferio Ipsilateral y contralateral de los distintos grupos de este estudio. IP: Ipsilateral, CL: contralateral.

Grupo	Hemisferio	n	Media (μm^3)	Error estándar	Anova	Diferencias de acuerdo a la prueba de Tukey
Intacto sedentario	Ipsilateral	4	91791669480	4961186611	F (11, 38) = 30.21 P<0.0001	vs. Lesión sedentario IP, P=<0.0001*
	Contralateral		91987973973	1794709790		vs. Lesión sedentario CL, P=<0.0001*
Intacto con nado	Ipsilateral	4	86658596502	2832718420		vs. Lesión con nado IP, P=0.0002*
	Contralateral		87264291882	1480491490		vs. Lesión sedentario IP, P<0.0001*
Vehículo sedentario	Ipsilateral	4	85861229786	4238806585		vs. Lesión sedentario CL, P<0.0001*
	Contralateral		92780039101	4814187962		vs. Lesión con nado IP, P<0.0001*
Vehículo con nado	Ipsilateral	4	88710694187	3359704928		vs. Lesión sedentario IP, P<0.0001*
	Contralateral		98866042353	3408149210		vs. Lesión sedentario CL, P<0.0001*
Lesión sedentario	Ipsilateral	5	12299870249	7484805427		vs. Lesión con nado IP, P<0.0001*
	Contralateral		2257483304	9074331558		vs. Lesión sedentario CL, P<0.0001*
Lesión con nado	Ipsilateral	5	38696842334	8485092978		vs. Lesión con nado IP, P<0.0001*
	Contralateral		82337622478	743800690		vs. Lesión con nado CL, P<0.0001*

En resumen, el volumen del hipocampo dorsal ipsilateral y contralateral de los Intacto y Vehículo no fue diferente entre ellos a pesar de que unos hayan experimentado el nado y otros no. En cuanto a los individuos que sufrieron la lesión excitotóxica y no nadaron, éstos mostraron disminución significativa del volumen del hipocampo dorsal tanto en el hemisferio ipsilateral como contralateral con respecto a los controles y asimismo con respecto al grupo lesión con nado. En el grupo lesión con nado únicamente el hemisferio ipsilateral mostró menor volumen con respecto a los grupos control y, no obstante, tuvo mayor volumen que el hemisferio ipsilateral del grupo lesión sedentario, de tal manera que no hubo diferencia con respecto al hemisferio contralateral de los individuos lesión sedentario. Finalmente, el hemisferio contralateral de los individuos con nado no fue diferente al volumen de los grupos control y únicamente difirió de ambos hemisferios del grupo lesión sedentario y con su propio hemisferio ipsilateral (Figura 20).

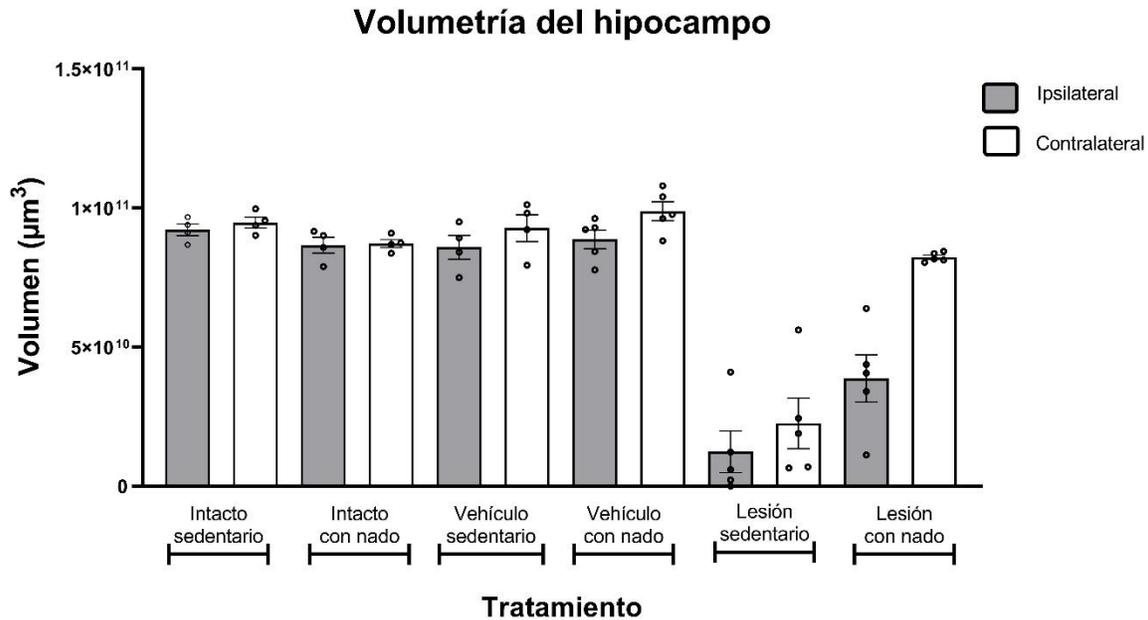


Figura 20. La gráfica muestra las diferencias en el volumen del hipocampo dorsal tanto del hemisferio Ipsilateral como contralateral de los distintos grupos y tratamientos manejados.

Análisis de resultados

Prueba de campo abierto

Los resultados relacionados a la distancia total recorrida revelan que la lesión excitotóxica provocada en el día postnatal 7 genera un patrón de hiperactividad o mayor movimiento en la prueba de campo abierto realizada en el día 50 postnatal. Estos resultados contrastan con los mostrados por algunos estudios que modelaron lesiones isquémicas o hipóxicas, pues en estos modelos si bien las ratas presentan hiperactividad, ésta es transitoria, ocurriendo antes del día postnatal 30 y normalizándose para el día 50-60 o antes (Chahboune et al., 2009; Dell'Anna et al., 1991; Fan et al., 2005), empero, otros estudios con lesiones de este tipo muestran la hiperactividad durante la adultez (Delcour et al., 2012; Delcour et al., 2012; Durán-Carabali et al., 2018; Handelsmann & Olton, 1981; Marcelino et al., 2016; Rojas et al., 2013; Shen et al., 1991). Las diferencias entre la hiperactividad transitoria o continua entre los distintos estudios puede deberse a la severidad de la lesión

modelada (Durán-Carabali et al., 2018). En este sentido, el tamaño de la lesión en los estudios con hiperactividad transitoria es ligera o moderada mientras que, en este estudio, así como aquellos en los ya citados donde la hiperactividad continuó hasta la adultez, la lesión obtenida es una lesión severa ya que el daño se esparció a ambos hemisferios cerebrales en el caso de las ratas lesionadas sedentarias, mientras que las ratas lesionadas con nado, si bien mostraron lesiones de menor tamaño, siempre estuvieron presentes. La mayor severidad y secuelas de la lesión podría explicar por qué los individuos no recuperaron su patrón normal de movimiento.

Ahora bien, el nado forzado durante el desarrollo tuvo un efecto ligero sobre la locomoción de los individuos lesionados con nado al no ser estadísticamente diferente ni de los grupos control o el grupo lesión sedentario. Estos resultados nuevamente contrastan con los efectos registrados por el ejercicio en estudios donde ratas con ejercicio forzado en caminadora durante 8 o 18 meses muestran menor actividad motora en la prueba de campo abierto (Pietrelli et al., 2012), lo mismo sucedió con ejercicio forzado en caminadora por 8 semanas (Leasure & Jones, 2008) y durante 20 días de ejercicio voluntario en rueda (Grace et al., 2009). En ratones, 4 semanas de ejercicio voluntario también disminuyeron la actividad total (Duman et al., 2008). Al igual que en paradigmas que simularon lesiones isquémicas o hipóxicas seguidas de ejercicio ya fuera voluntario por 20 días (Durán-Carabali et al., 2018) o forzado en caminadora por 8 semanas (Sosa et al., 2015) y que lograron disminuir el patrón de locomoción

Una manera para explicar por qué no se encontró la disminución de la locomoción es que si bien los animales que llevaron a cabo el nado no presentaron lesiones tan severas como los individuos lesionados sedentarios, en todos los casos el hipocampo fue dañado, esto es importante porque la hiperactividad en el campo abierto se ha asociado principalmente al daño del área CA1 del hipocampo (Delcour et al., 2012; Dell'Anna et al., 1991; Fan et al., 2005; Rojas et al., 2013), misma que también se ha reportado como más sensible al daño hipóxico/isquémico debido a su pobre vascularización (Schmidt-Kastner & Hossmann, 1988). Asimismo, la hiperactividad se ha presentado como producto de la lesión selectiva del área CA3

del hipocampo (Handelmann & Olton, 1981). Aunque también se ha sugerido que dicha hiperactividad resultado de las lesiones en el hipocampo tiene que ver más con la interrupción del sistema del hipocampo que con el daño específico a una de sus partes (Marcelino et al., 2016; Shen et al., 1991). En cualquier caso, tanto los individuos con nado como los sedentarios presentaron daños cuantitativos en estas áreas del hipocampo, siendo estos últimos los que mostraron el mayor daño y probablemente debido a ello su patrón de locomoción se vio afectado de manera más significativa que en el caso de los individuos con nado, aunque estos últimos, al también presentar daño igualmente se vieron afectados. Sin embargo, otros factores han sido reportados como responsables de la inducción de la hiperactividad, por ejemplo, la disminución de las neuronas corticales inhibitorias (Chahboune et al., 2009), por lo que no se puede descartar que daños a otras estructuras pudieran ser responsables del aumento motriz presentado.

Cuando se trata de los movimientos estereotipados, el aumento de éste parámetro en el campo abierto se ha considerado como un signo de ansiedad en la rata (Kraeuter et al., 2019). En relación con ratas lesionadas de manera hipóxica/isquémica, se ha reportado que estas muestran mayor cantidad de movimientos estereotipados (levantamientos, olisqueos y acicalamientos) durante la prueba de campo abierto en la adultez (Dell'Anna et al., 1991; van Tilborg et al., 2018), lo que concuerda con el comportamiento que se obtuvo de parte de las ratas lesionadas sedentarias.

Ahora bien, en este estudio el nado forzado no fue capaz de disminuir de manera estadísticamente significativa el número de movimientos estereotipados con respecto al grupo lesionado sedentario. Sin embargo, al tampoco ser diferente de los grupos controles, se puede argumentar que hubo un ligero efecto. Esto concordaría con otros estudios donde la cantidad de movimientos estereotipados disminuyen como producto de 8 o 18 meses de ejercicio forzado en caminadora (Pietrelli et al., 2012). Mientras que ratas con ejercicio forzado en caminadora por 8 semanas también disminuyeron la distancia recorrida en el centro (Leasure & Jones, 2008), al igual que ratones con 4 semanas de ejercicio voluntario (Duman et al., 2008). Dicha disminución se ha interpretado como que las ratas son menos

impulsivas (Durán-Carabali et al., 2018) y se ha sugerido que el ejercicio ejerce un efecto similar a los antidepresivos mediante la activación de la ruta MAPK mediada por BDNF, pues, al bloquear la expresión de BDNF luego del ejercicio, la disminución de la hiperactividad y movimientos estereotipados no se ha presentado (Duman et al., 2008).

De esta manera, el ejercicio de nado en ratas lesionadas excitotóxicamente no fue capaz de disminuir por completo ni la distancia total recorrida o el número de movimientos estereotipados. No obstante, el hecho de que los individuos lesionados con nado no hayan diferido de los controles sugiere que una variación en el tiempo de ejecución o la intensidad podrían generar resultados más significativos.

Prueba de reconocimiento de objetos

Los resultados de la prueba de reconocimiento de objetos no fueron lo que se esperaba ya que todos los grupos control mostraron preferencia por un objeto y ello impidió la continuación de la prueba. Este resultado se debió, principalmente, a la falta de estandarización de la prueba, procedimiento que usualmente se lleva a cabo antes de probar a grupos experimentales con algún tratamiento adicional. Sin embargo, se decidió correr ese riesgo debido al periodo de tiempo en que se llevaría a cabo el estudio (6 meses), ya que la sola estandarización de la prueba, si se obtuviera al primer intento, requiere de un mínimo de 3 meses, considerando el tiempo de desarrollo de las ratas (2 meses para este estudio), así como el análisis de los videos durante la prueba (alrededor de 100 horas de video debido a la necesidad de obtener datos repetidos del registro de tiempo de exploración y así reducir las probabilidades de error).

A pesar de lo anterior, se obtuvo un hallazgo inesperado. En condiciones normales, si todos los grupos control no hubieran discriminado, la prueba se hubiera llevado a cabo con normalidad y, durante la prueba de memoria espacial, se hubiera concluido que el ejercicio no es capaz de atenuar los problemas de memoria espacial provocados por la lesión (los animales lesionados de ambos grupos tampoco discriminaron durante la prueba espacial, datos no mostrados), obteniendo

un falso negativo. Por lo tanto, saber que las ratas lesionadas no son capaces de discriminar como los grupos control lo hicieron sugiere, entre otras cosas, que estas pueden estar presentando problemas asociados a la corteza perirrinal.

Los animales, incluidos los humanos, pueden reconocer a un objeto como familiar a pesar de variaciones en su apariencia, esta habilidad está estrechamente relacionada con la corteza perirrinal (Ahn & Lee, 2017). Además, actualmente se piensa que la corteza perirrinal es importante no sólo en el reconocimiento de objetos, sino también en la percepción de los mismos, especialmente cuando los objetos comparten características (Ahn & Lee, 2017; Albasser et al., 2015; Gaynor et al., 2018). Lesiones en esta área dificultan la diferenciación de estímulos relacionados debido a que el animal no puede enlazar el estímulo percibido con un objeto específico, lo que se traduce en una exploración similar tanto de los objetos familiares como novedosos en la tarea de reconocimiento de objetos (McTighe et al., 2010). De este modo, se piensa que este tipo de lesiones pueden provocar que los objetos novedosos parezcan familiares o que los objetos familiares parezcan novedosos (Albasser et al., 2015).

Debido a que en este estudio se utilizaron objetos similares en material de composición y tamaño, pero no en forma, la información anterior sugiere que las ratas que fueron dañadas excitotóxicamente pudieran estar presentando problemas referentes a la integración de la información de origen sensorial, pues es sabido que la corteza perirrinal integra información tanto visual como táctil, ambas fundamentales en la prueba de reconocimiento de objetos (Jacklin et al., 2016). Tomando en cuenta que en este modelo ya se ha demostrado la reducción de la corteza motora como consecuencia de la lesión excitotóxica (Arrazola *et al.*, en proceso), los resultados obtenidos durante esta prueba sugieren que la corteza perirrinal es una estructura que merece la pena ser evaluada como parte de la continuación de la descripción de la lesión.

Asimismo, pruebas diseñadas específicamente para probar la capacidad de discriminación de las ratas pueden ser llevadas a cabo. Por ejemplo, la prueba de discriminación diseñada por Albasser et al. (2015) que utiliza el “bow-tie maze”, en el cual se expone a la rata de manera continua, en un extremo del laberinto, a un

objeto familiar y uno novedoso, posteriormente se le permite ingresar al otro extremo del laberinto en el cual encontrará un nuevo objeto familiar y novedoso, siendo el objeto familiar de este extremo un objeto idéntico al que se presentó como novedoso en el extremo anterior del laberinto. Esto se repite hasta por veinte veces y, con forme avanza la prueba, los objetos son cada vez más parecidos. Las sesiones, de un minuto por par de objetos, son video grabadas para posteriormente ser analizadas y obtener los datos que servirán en el cálculo de los índices de exploración, mismos que mostrarán la capacidad de discriminación de las ratas.

Esta puede ser una primera aproximación al problema observado durante la prueba de reconocimiento de objetos, sin embargo, no se pueden descartar lesiones en otros sitios como responsables. Asimismo, actualmente ya se investiga el estado sensorial de las ratas durante su desarrollo, para así poder descartar problemas relacionados a la visión, tacto u olfato (Arrazola *et al.*, en proceso).

Volumetría

Los resultados de la volumetría demuestran que el ejercicio forzado en forma de nado llevado a cabo todos los días desde el día postnatal 7-30 en dos sesiones de 5 min los primeros 4 días y de 10 min los días restantes, es capaz de proteger el tejido cerebral de una lesión excitotóxica experimentada en el día postnatal 5. Aunque en este estudio no se cuantificaron componentes cerebrales que pudieran estar interviniendo en la protección de la materia cerebral, actualmente existe bastante información acerca de los eventos que pueden estar interviniendo.

Una de las principales propuestas para explicar la no pérdida del tejido tiene que ver con la disminución del ambiente neurotóxico provocado por la lesión. Por ejemplo, dentro de los componentes neurotóxicos producidos durante la excitotoxicidad se encuentran las citoquinas pro inflamatorias: factor de necrosis tumoral (TNF α), IL-1, interferón gamma (INF- γ), IL1 β e IL-6 (considerada como pro o anti inflamatoria), todas ellas generadas por células endoteliales, microglía o astrocitos (Inder & Volpe, 2018). Ahora bien, típicamente IL-6 es la primera citoquina que se produce luego de la implementación del ejercicio, ésta puede incrementar

exponencialmente hasta en 100 veces su cantidad con respecto a su nivel basal y, enseguida de su aparición, se presenta un aumento de IL-1ra e IL10, consideradas como citoquinas anti inflamatorias (Petersen & Pedersen, 2005). De esta manera, IL-6 ejerce efectos inhibitorios sobre la producción de TNF α e IL-1, al tiempo que estimula la producción de IL-1ra e IL10, produciendo un ambiente anti inflamatorio al IL10 también inhibir la producción de TNF α e IL1 β (Petersen & Pedersen, 2005).

Lo anterior se ha demostrado en ratas de 18 meses con ejercicio forzado realizado en caminadora durante 10 días, lo cual resultó en un incremento de los niveles de IL10 en el hipocampo, reduciendo la razón IL1 β /IL10, IL6/IL10 y TNF α /IL10 (Gomes da Silva et al., 2013). En ratas machos adultos con ejercicio forzado de nado por 4 semanas también se redujo la cantidad de IL1 β , IL6, TNF α e INF-y al tiempo que aumentaron los niveles de citoquinas anti inflamatorias en suero, particularmente IL10 (Leite et al., 2015). En este sentido, se ha sugerido que el ejercicio podría estimular la producción de factores de crecimiento (ver más abajo) a través de la reducción de las condiciones pro inflamatorias (Cotman et al., 2007), reduciendo así la probabilidad de una neurointoxicación o neurodegeneración (Ang & Gomez-Pinilla, 2007) por lo que es probable que la disminución de las citoquinas pro inflamatorias haya contribuido al aminoramiento de la lesión en el hipocampo dorsal de las ratas lesionadas con nado.

Relacionados también con el ambiente neurotóxico se encuentran los radicales libres (Leite et al., 2012). Dentro de los radicales libres producidos por la excitotoxicidad se encuentran varias especies de nitrógeno y oxígeno, particularmente NO (Haynes et al., 2005; Haynes et al., 2003), el cual puede reaccionar para formar compuestos especialmente tóxicos de nitrógeno, como el ONOO \cdot (Haynes et al., 2006). De estos, se ha logrado la disminución de NO en el hipocampo de ratas luego de 8 semanas de ejercicio forzado de nado (Radak et al., 2006). Asimismo, 15 semanas de ejercicio forzado en caminadora han disminuido hasta en un 28% la cantidad de ROS en el hipocampo (Marosi et al., 2012). Mientras que 9 semanas de ejercicio forzado disminuyeron la acumulación cerebral de proteínas dañadas oxidativamente (Radak et al., 2001) al igual que 2 meses de ejercicio voluntario en rueda (Molteni et al., 2004). De este modo, la disminución de

la cantidad de radicales libres puede traducirse en menor muerte celular y por tanto menor pérdida de tejido, lo que también contribuiría a explicar por qué en este estudio las ratas lesionadas con nado no presentaron la reducción tan marcada del hipocampo dorsal.

Ahora bien, no solo a través de la disminución del ambiente neurotóxico el ejercicio podría estar mediando la no pérdida de tejido, sino también a través de la promoción de un ambiente favorable para la supervivencia y/o desarrollo de las células mediante una serie de factores de crecimiento, neurotróficos o neurotrofinas, que se producen como respuesta a la implementación del ejercicio. Los factores neurotróficos o neurotrofinas son un grupo heterogéneo de proteínas endógenas secretadas para regular los procesos celulares de proliferación, desarrollo, diferenciación y sobrevivencia; permiten a las células cerebrales recibir una nutrición adecuada para su crecimiento, desarrollo y regeneración desde el desarrollo inicial del organismo hasta su adultez (Ang & Gomez-Pinilla, 2007; Finkbeiner et al., 1997; Gomes da Silva et al., 2013). Dentro de los principales factores de crecimiento conocidos por mediar los efectos del ejercicio en el cerebro encontramos el factor de crecimiento de insulina-1 (IGF-1), el factor neurotrófico derivado del cerebro o BDNF (por sus siglas en inglés *Brain Derived Neurotrophic Factor*), el factor de crecimiento vascular endotelial VEGF (por sus siglas en inglés: *Vascular Endothelial Growing Factor*) y el factor de crecimiento de fibroblastos 2 o FGF2 (por sus siglas en inglés *Fibroblastic Growing Factor 2*) (Alvarez-Saavedra et al., 2016; Cotman et al., 2007; Kolb et al., 2011; Llorens-Martin et al., 2008).

Particularmente importante y ampliamente estudiado es el BDNF, el factor de crecimiento más ampliamente distribuido en el cerebro (O'Callaghan et al., 2007). Este es altamente expresado en el córtex e hipocampo y se encuentra envuelto en muchos procesos como la diferenciación neuronal y su sobrevivencia (Wogensen et al., 2015). Tanto la actividad física como la neuronal promueven la expresión, secreción y las acciones del BDNF en las sinapsis, lo que resulta en la modificación de la transmisión sináptica y su conectividad, aumentando la potenciación de largo plazo en el hipocampo; se cree que la prolongación de estos eventos podría traducirse en cambios a largo plazo en la plasticidad sináptica (Ang & Gomez-Pinilla,

2007; Hutchinson et al., 2004; Molteni et al., 2002; O'Callaghan et al., 2007; Ogonovszky et al., 2005).

De este modo, se ha reportado que posterior a 3 semanas de ejercicio voluntario en rueda aumenta la cantidad de BDNF, luego, con la interrupción del ejercicio disminuye, más no a nivel basal, y permanece moderadamente elevado por espacio de 3-4 semanas, para posteriormente regresar a niveles basales (Berchtold et al., 2010). Asimismo, luego de una lesión por percusión fluida, ratas que experimentaron ejercicio voluntario en rueda durante 6 días presentaron una regulación positiva de BDNF en el hipocampo, se recuperaron más rápido y tuvieron un mejor desempeño en la prueba de laberinto acuático (Griesbach et al., 2004). Mientras que la administración intracerebroventricular de BDNF previa a un evento isquémico redujo el tamaño de la lesión y problemas asociados con la misma, como la memoria espacial (Almli et al., 2000). De este modo, el BDNF podría estar interviniendo de manera favorable al permitir la regeneración de axones (Ghiani et al., 2007; Molteni et al., 2004; Rojas et al., 2013; Stranahan et al., 2007) y el establecimiento de nuevas sinapsis, procesos mediante los cuales se impediría el avance de la lesión.

Componentes periféricos que influyen al BDNF incluyen a los estrógenos, corticosterona e IGF-1 (Cotman & Berchtold, 2002). El IGF-1 es un potente factor anti apoptótico y, por tanto, de sobrevivencia para las neuronas, astrocitos y oligodendrocitos; participa en varios roles de la plasticidad neuronal, entre los cuales figuran la regulación del crecimiento y diferenciación de los nervios, síntesis y liberación de neurotransmisores, la promoción de la mielinización y la plasticidad sináptica (Cotman & Berchtold, 2002; Ding et al., 2006; Lupien et al., 2003; Pietrelli et al., 2012). La administración exógena del IGF-1 luego de un evento isquémico ha demostrado una gran disminución de la muerte neuronal, glial y recuperación más rápida en una amplia variedad de modelos animales (Guan et al., 2003). Otros experimentos han mostrado que la administración intraparenquimatosa de IGF-1 durante un evento excitotóxico protege el tejido neuronal y glial, al tiempo que promueve la proliferación celular (Espinosa-Jeffrey et al., 2013).

Así, se sabe que durante el ejercicio voluntario realizado en rueda por 6 semanas incrementan las cantidades de IGF-1 tanto en la sangre como el hipocampo (Aberg et al., 2006; Cetinkaya et al., 2013). Lo que también se ha demostrado en protocolos de ejercicio voluntario en rueda realizados por 5 días (Ding et al., 2006; Llorens-Martin et al., 2008). Por lo anterior, este factor de crecimiento es otro candidato que pudiera estar interviniendo de manera favorable luego de presentada la lesión, dicha intervención podría presentarse tanto a través de la protección de las células como estimulando su proliferación ya que también se sabe que IGF-1 es una de las moléculas que estimula la proliferación de precursores neuronales en el giro dentado del hipocampo (Abbott & Nigussie, 2020).

Otro factor de crecimiento que pudiera estar interviniendo favorablemente es el de fibroblastos 2 o FGF2. Aunque la información sobre este factor es más escasa, se conoce que los receptores a esta neurotrofina son particularmente abundantes en el hipocampo y neuronas corticales (Cheng & Mattson, 1991), de igual manera es reconocido por estimular la proliferación y diferenciación de las células neuroprogenitoras del hipocampo y porque incrementa en los astrocitos posterior al ejercicio (Cotman & Berchtold, 2002). Su expresión se ha demostrado en ratas tanto con ejercicio voluntario en rueda por 5 semanas como cuando se estimulan de manera psicomotora (Kolb et al., 2011). Asimismo, individuos con lesiones isquémicas perinatales en las partes frontal medial o posterior parietal que recibieron FGF2 subcutáneo de una de tres formas: prenatalmente, post lesión o ambas, mostraron beneficios en sus capacidades nemónicas, siendo mayormente beneficiados los que recibieron el tratamiento antes y después de la lesión (Kolb et al., 2011). Información importante sugiere que los efectos en la proliferación de progenitores provocados por FGF-2 parecen ser potenciados por IGF-1 (Aberg et al., 2006).

Ahora bien, con el incremento de los factores de crecimiento productos del ejercicio, ya sea a través de la acción individual, pero más probablemente de la acción en conjunto, se produce un aumento tanto de neuronas como de glía en el hipocampo dorsal, así como en otras regiones del cerebro, incremento que pudiera reemplazar células dañadas, disminuyendo con ello la lesión. Esto se ha demostrado

en ratas que presentaron un aumento en el número de progenitores neuronales o neuronas en el giro dentado del hipocampo bajo paradigmas de ejercicio forzado llevados a cabo en caminadora durante 8 semanas (Arida et al., 2004; Leasure & Jones, 2008), 3 días de nado (Ra et al., 2002), e inclusive luego de solo 2 horas de ejercicio forzado en caminadora (Lee et al., 2013). Mientras que estudios que se valen del ejercicio voluntario en rueda también han encontrado aumentos con 7 (Uda et al., 2006) y 30 días de ejercicio (Koebl et al., 2008). Por otra parte, un estudio reporta haber obtenido un aumento de neuronas en las regiones CA1, CA3 y en el giro dentado, más no en CA2, del hipocampo dorsal luego de ejercicio forzado en caminadora por 8 semanas (Uysal et al., 2005). También se sabe que existe neurogénesis en el giro dentado de ratones cuando son sometidos a paradigmas de ejercicio voluntario en rueda durante 4 semanas (Pereira et al., 2007) o 10 días (Van der Borght et al., 2009).

Al ser tanto oligodendrocitos como astrocitos los principales afectados por las lesiones excitotóxicas, es de especial interés que el ejercicio se haya relacionado con la gliogénesis ya que de esta manera se pudo haber intervenido directamente en el avance y recuperación de la lesión. Estudios con ejercicio voluntario en rueda han obtenido una generación de la proteína básica de mielina en el cuerpo calloso luego de 5 semanas de ejercicio forzado (Kim et al., 2017) y en la médula espinal promueve los progenitores de oligodendrocitos (que posteriormente migraran a zonas como el hipocampo), particularmente en el área endimaria de ratas adultas con 7 o 14 días de ejercicio voluntario en rueda (Kritiyakarana et al., 2010). Asimismo, el número de astrocitos en la corteza frontoparietal y el estriado dorsolateral se han reportado como mayores luego de 3 o 6 semanas de ejercicio forzado en caminadora (Li et al., 2005). Lo mismo para el número de astrocitos en la zona subgranular del giro dentado del hipocampo luego de 7 días de ejercicio forzado también en caminadora (Uda et al., 2006). Y en ratones con ejercicio voluntario se registró un aumento de precursores de oligodendrocitos en el cuerpo calloso luego de 6 días, mientras que el aumento de oligodendrocitos fue claro a los 11 días (McKenzie et al., 2014).

En este sentido, la neurogénesis, crecimiento de axones, establecimiento de nuevas sinapsis, entre otras mejoras evocadas por el ejercicio en la circuitería y función neuronal deben ser apoyadas por un suplemento adecuado de nutrientes y energía, los cuales, en turno, son apoyados por cambios en la función metabólica y el flujo sanguíneo (Cotman et al., 2007). Así, se sabe que cuando la demanda de oxígeno incrementa durante el ejercicio, entonces un aumento en la densidad de vasos sanguíneos ayuda a restaurar el flujo sanguíneo que, en turno, acrecienta la entrega de oxígeno al cerebro y la utilización de glucosa (Devine & Zafonte, 2009; Ding et al., 2006). El aumento en la cantidad de vasos sanguíneos se denomina angiogénesis y se produce a través del brote de lúmenes vasculares por células endoteliales maduras preexistentes o a través del reclutamiento de células progenitoras epiteliales derivadas de la médula espinal (Ding et al., 2006; Van der Borght et al., 2009). La importancia de un incremento del flujo de sangre en la promoción de la función cerebral radica no solo en la facilitación del transporte de nutrientes y oxígeno sino también en el incremento del transporte de factores neurotróficos o de crecimiento que promueven el proceso de la plasticidad neuronal y neurogénesis/gliogénesis (Van der Borght et al., 2009).

La angiogénesis se ha demostrado en ratas con ejercicio forzado practicado en caminadora por 3 semanas, las cuales presentaron un aumento de vasos sanguíneos debido a la expresión de los factores angiogénicos Ang1, Ang2 y VEGF en la corteza frontoparietal y el estriado dorsolateral (Ding et al., 2006; Li et al., 2005); también se ha reportado un incremento en la densidad de capilares de los lóbulos paramedianos del cerebelo como resultado del ejercicio forzado en caminadora realizado durante 30 días (Black et al., 1990; Isaacs et al., 1992); en la corteza motora luego de 30 días de ejercicio voluntario en rueda (Kleim et al., 2002; Swain et al., 2003); en el giro dentado del hipocampo de ratones luego de 10 días de ejercicio voluntario en rueda (Van der Borght et al., 2009); y en la corteza motora de monos luego de ejercicio forzado en caminadora realizado por 5 meses (Rhyu et al., 2010).

Al VEGF en conjunto con las angiopoyetinas Ang1 y Ang2, se les han atribuido características de potentes reguladores de los mecanismos

compensatorios que controlan la angiogénesis tanto en eventos de hipoxia como en la privación de glucosa (Ding et al., 2004). Siendo la pobre vascularización de las regiones laterales a los ventrículos cerebrales una de las razones por las que la encefalopatía del prematuro, y por tanto la excitotoxicidad, se presentan (Back & Volpe, 2018; Kinney & Volpe, 2012; Rorke, 1992), la angiogénesis es uno de los mecanismos del ejercicio más importantes que interfieren a favor del cerebro con lesión excitotóxica en desarrollo, pues lidia directamente con una de las causas de fondo: el flujo sanguíneo y la cantidad de oxígeno/glucosa que se recibe en el cerebro. La probable restauración de éste mecanismo es posible que haya prevenido ampliamente la subsecuente pérdida de tejido y por tanto impedido el progreso de la lesión.

En resumen, la interacción múltiple de los efectos relacionados con el ejercicio como son la reducción del ambiente neurotóxico creado por las citoquinas pro inflamatorias y radicales libres, entre otros, así como el aumento de los factores de crecimiento, angiogénesis y posterior neurogénesis y gliogénesis, se juntan para producir un ambiente más favorable ante la lesión. Todos estos factores podrían ser capaces de explicar por qué las ratas que en este estudio llevaron a cabo la tarea de nado no perdieron una cantidad de tejido, ya fuera del hipocampo dorsal o del hemisferio contralateral a la lesión, tan grande como se observó en los animales lesionados sedentarios.

Conclusiones

El nado como ejercicio llevado a cabo del día postnatal 7 al 30 por ratas con lesión excitotóxica en el día postnatal 5 y evaluadas tanto histológica como conductualmente en el día 50 y 60 de edad:

- No fue capaz de disminuir de una manera contundente la distancia total recorrida en la prueba de campo abierto durante el día 50 de edad.

- Fue capaz de proteger al hipocampo dorsal, principalmente en el hemisferio contralateral, donde no hubo signos evidentes de la lesión y redujo ampliamente el tamaño de la lesión en el hemisferio ipsilateral.

Si bien no se pudo comprobar su efecto en la prueba de reconocimiento de objetos dependiente de lugar debido a fallas en la prueba. Los resultados obtenidos sugieren que la corteza peririnal es una estructura que merece la pena ser estudiada posteriormente.

Como conclusión general, se puede considerar al ejercicio como un agente con amplias posibilidades en el mundo de las terapias rehabilitadoras ya que tratamientos no invasivos como las estimulaciones táctiles o el ejercicio mismo son fáciles de implementar y no tienen consecuencias o efectos secundarios obvios, mientras que sus beneficios son amplios. No obstante, aún existen muchos campos en los que es necesaria mayor investigación para poder definir el mejor modo de empleo del ejercicio, por ejemplo, la etapa del desarrollo en la cual éste puede tener un mayor impacto, así como la duración mínima y máxima durante la cual el ejercicio produce resultados benéficos. Además, es muy importante definir las intensidades adecuadas con las que se puede trabajar para de esa manera evitar daños provocados por un exceso de glucocorticoides o un decremento drástico de energía.

Finalmente, el ejercicio como terapia alternativa tiene la capacidad de fungir un gran rol dentro de un tratamiento holístico diseñado para abordar las lesiones desde distintos enfoques, pues es cada vez más reconocido que un único tratamiento no es probable que solucione todas las necesidades terapéuticas (Arida et al., 2011).

Bibliografía

- Abbott, L. C., & Nigussie, F. (2020). Adult neurogenesis in the mammalian dentate gyrus. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 49(1), 3-16. <https://doi.org/10.1111/ahe.12496>
- Aberg, N. D., Brywe, K. G., & Isgaard, J. (2006). Aspects of growth hormone and insulin-like growth factor-i related to neuroprotection, regeneration, and functional plasticity in the adult brain. *The Scientific World Journal*, 6, 53-80. <https://doi.org/10.1100/tsw.2006.22>
- Ahn, J.-R., & Lee, I. (2017). Neural correlates of both perception and memory for objects in the rodent perirhinal cortex. *Cerebral Cortex*, 27(7), 3856-3868. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx093>
- Ahya, K., & Suryawanshi, P. (2018). Neonatal periventricular leukomalacia: Current perspectives. *Research and Reports in Neonatology, Volume 8*, 1-8. <https://doi.org/10.2147/RRN.S125575>
- Albasser, M. M., Olarte-Sánchez, C. M., Amin, E., Brown, M. W., Kinnavane, L., & Aggleton, J. P. (2015). Perirhinal cortex lesions in rats: Novelty detection and sensitivity to interference. *Behavioral Neuroscience*, 129(3), 227-243. <https://doi.org/10.1037/bne0000049>
- Almli, C. R., Levy, T. J., Han, B. H., Shah, A. R., Gidday, J. M., & Holtzman, D. M. (2000). Bdnf protects against spatial memory deficits following neonatal hypoxia-ischemia. *Experimental Neurology*, 166(1), 99-114. <https://doi.org/10.1006/exnr.2000.7492>
- Alvarado, I., Poblano, A., Marosi, E., Corsi-Cabrera, M., & Otero, G. (2011). Early intervention in the neurodevelopment of premature infants during the first six months of life. *Neuroscience & Medicine*, 02. <https://doi.org/10.4236/nm.2011.22015>
- Alvarez-Saavedra, M., De Repentigny, Y., Yang, D., O'Meara, Ryan W., Yan, K., Hashem, Lukas E., Racacho, L., Ioshikhes, I., Bulman, Dennis E., Parks, Robin J., Kothary, R., & Picketts, David J. (2016). Voluntary running triggers vgf-mediated oligodendrogenesis to prolong the lifespan of snf2h-null ataxic mice. *Cell Reports*, 17(3), 862-875. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.09.030>
- Amaral, D., & Lavenex, P. (2007). Hippocampal neuroanatomy. In P. Andersen, R. Morris, D. Amaral, T. Bliss, & J. O'Keefe (Eds.), *The hippocampus book* (pp. 37-114). New York, NY, US: Oxford University Press.
- Andersen, P., Morris, R., Amaral, D., Bliss, T., & O'Keefe, J. (2007). The hippocampal formation. In P. Andersen, R. Morris, D. Amaral, T. Bliss, & J. O'Keefe (Eds.), *The hippocampus book* (pp. 3-8). New York, NY, US: Oxford University Press.
- Anderson, P. J. (2014). Neuropsychological outcomes of children born very preterm. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 19(2), 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2013.11.012>

- Ang, E. T., Dawe, G. S., Wong, P. T., Moochhala, S., & Ng, Y. K. (2006). Alterations in spatial learning and memory after forced exercise. *Brain Research*, 1113(1), 186-193. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.07.023>
- Ang, E. T., & Gomez-Pinilla, F. (2007). Potential therapeutic effects of exercise to the brain. *Current Medicinal Chemistry*, 14(24), 2564-2571. <https://doi.org/10.2174/092986707782023280>
- Ang, E. T., Wong, P. T., Moochhala, S., & Ng, Y. K. (2003). Neuroprotection associated with running: Is it a result of increased endogenous neurotrophic factors? *Neuroscience*, 118(2), 335-345.
- Annunziato, L., Cataldi, M., Pignataro, G., Secondo, A., & Molinaro, P. (2007). Glutamate-independent calcium toxicity. *Stroke*, 38(2), 661-664. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000247942.42349.37>
- Antunes, M., & Biala, G. (2012). The novel object recognition memory: Neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive Processing*, 13(2), 93-110. <https://doi.org/10.1007/s10339-011-0430-z>
- Arida, R., Scorza, F., Gomes da Silva, S., Cysneiros, R., & Cavalheiro, E. (2011). Exercise paradigms to study brain injury recovery in rodents. *American journal of physical medicine & rehabilitation / Association of Academic Physiatrists*, 90, 452-465. <https://doi.org/10.1097/PHM.0b013e3182063a9c>
- Arida, R. M., Scorza, C. A., da Silva, A. V., Scorza, F. A., & Cavalheiro, E. A. (2004). Differential effects of spontaneous versus forced exercise in rats on the staining of parvalbumin-positive neurons in the hippocampal formation. *Neuroscience Letters*, 364(3), 135-138. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.03.086>
- Arrazola Cortés, A. R. (2016). *Efecto del nado forzado sobre la actividad motora espontánea de la rata con lesión perinatal inducida con nmda*. (Maestría en Ciencias (Neurobiología)). Universidad Nacional Autónoma de México, Juriquilla, Qro.
- Avecilla-Ramirez, G. N., Ruiz-Correa, S., Marroquin, J. L., Harmony, T., Alba, A., & Mendoza-Montoya, O. (2011). Electrophysiological auditory responses and language development in infants with periventricular leukomalacia. *Brain and Language*, 119(3), 175-183. <https://doi.org/10.1016/j.bandl.2011.06.002>
- Back, S. A. (2017). White matter injury in the preterm infant: Pathology and mechanisms. *Acta Neuropathologica*, 134(3), 331-349. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1718-6>
- Back, S. A., & Volpe, J. J. (2018). Encephalopathy of prematurity: Pathophysiology. In J. J. Volpe, T. E. Inder, B. T. Darras, L. S. de Vries, A. J. du Plessis, J. J. Neil, & J. M. Perlman (Eds.), *Volpe's neurology of the newborn (sixth edition)* (pp. 405-424.e408): Elsevier.
- Barker, D. J. P. (1995). The fetal and infant origins of disease. *European Journal of Clinical Investigation*, 25(7), 457-463. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.1995.tb01730.x>
- Barker, G. R. I., Bird, F., Alexander, V., & Warburton, E. C. (2007). Recognition memory for objects, place, and temporal order: A disconnection analysis of the role of the medial prefrontal cortex and perirhinal cortex. *The Journal of Neuroscience*, 27(11), 2948-2957. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5289-06.2007>

- Bass, W. (2011). Periventricular leukomalacia. *NeoReviews*, 12, e76-e84. <https://doi.org/10.1542/neo.12-2-e76>
- Baud, O., Daire, J.-L., Dalmaz, Y., Fontaine, R., Krueger, J. R., Sebag, G., Evrard, P., Gressens, P., & Verney, C. (2004). Gestational hypoxia induces white matter damage in neonatal rats: A new model of periventricular leukomalacia. *Brain Pathology*, 14, 1-10. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2004.tb00492.x>
- Bauer, C. M., & Papadelis, C. (2019). Alterations in the structural and functional connectivity of the visuomotor network of children with periventricular leukomalacia. *Seminars in Pediatric Neurology*, 31, 48-56. <https://doi.org/10.1016/j.spen.2019.05.009>
- Bello-Medina, P. C., Sanchez-Carrasco, L., Gonzalez-Ornelas, N. R., Jeffery, K. J., & Ramirez-Amaya, V. (2013). Differential effects of spaced vs. Massed training in long-term object-identity and object-location recognition memory. *Behavioural Brain Research*, 250, 102-113. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.04.047>
- Belovicova, K., Bogi, E., Csatosova, K., & Dubovicky, M. (2017). Animal tests for anxiety-like and depression-like behavior in rats. *Interdisciplinary Toxicology*, 10(1), 40-43. <https://doi.org/10.1515/intox-2017-0006>
- Berchtold, N. C., Castello, N., & Cotman, C. W. (2010). Exercise and time-dependent benefits to learning and memory. *Neuroscience*, 167(3), 588-597. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.02.050>
- Black, J. E., Isaacs, K. R., Anderson, B. J., Alcantara, A. A., & Greenough, W. T. (1990). Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(14), 5568-5572. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.14.5568>
- Blauw-Hospers, C. H., & Hadders-Algra, M. (2005). A systematic review of the effects of early intervention on motor development. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 47(6), 421-432. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2005.tb01165.x>
- Bronstein, J. M. (2016). The clinical dimension: Causes, treatments, and outcomes of preterm birth. In *Preterm birth in the united states: A sociocultural approach* (pp. 1-41). Cham: Springer International Publishing.
- Bruun, T. U. J., DesRoches, C.-L., Wilson, D., Chau, V., Nakagawa, T., Yamasaki, M., Hasegawa, S., Fukao, T., Marshall, C., & Mercimek-Andrews, S. (2018). Prospective cohort study for identification of underlying genetic causes in neonatal encephalopathy using whole-exome sequencing. *Genetics in Medicine*, 20(5), 486-494. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.129>
- Burd, I., Balakrishnan, B., & Kannan, S. (2012). Models of fetal brain injury, intrauterine inflammation, and preterm birth. *American Journal of Reproductive Immunology*, 67(4), 287-294. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2012.01110.x>
- Carbajal-Valenzuela, C. C., Santiago-Rodríguez, E., Quirarte, G. L., & Harmony, T. (2016). Development of emotional face processing in premature and full-term infants: A quantitative eeg study. *Clinical EEG and Neuroscience*. <https://doi.org/10.1177/1550059416647904>

- Carter, M., & Shieh, J. (2015). Animal behavior. In M. Carter & J. Shieh (Eds.), *Guide to research techniques in neuroscience (second edition)* (pp. 39-71). San Diego: Academic Press.
- Castaldi, E., Tinelli, F., Cicchini, G. M., & Morrone, M. C. (2018). Supramodal agnosia for oblique mirror orientation in patients with periventricular leukomalacia. *Cortex*, *103*, 179-198. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2018.03.010>
- Castaño, J. (2002). Plasticidad neuronal y las bases científicas de la neurorehabilitación. *Revista de Neurología*, *34*(S1), 130. <https://doi.org/10.33588/rn.34S1.2002033>
- Cetinkaya, C., Sisman, A. R., Kiray, M., Camsari, U. M., Gencoglu, C., Baykara, B., Aksu, I., & Uysal, N. (2013). Positive effects of aerobic exercise on learning and memory functioning, which correlate with hippocampal igf-1 increase in adolescent rats. *Neuroscience Letters*, *549*, 177-181. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.06.012>
- Chahboune, H., Ment, L. R., Stewart, W. B., Rothman, D. L., Vaccarino, F. M., Hyder, F., & Schwartz, M. L. (2009). Hypoxic injury during neonatal development in murine brain: Correlation between in vivo dti findings and behavioral assessment. *Cerebral Cortex*, *19*(12), 2891-2901. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp068>
- Chawanpaiboon, S., Vogel, J. P., Moller, A.-B., Lumbiganon, P., Petzold, M., Hogan, D., Landoulsi, S., Jampathong, N., Kongwattanakul, K., Laopaiboon, M., Lewis, C., Rattanakanokchai, S., Teng, D. N., Thinkhamrop, J., Watananirun, K., Zhang, J., Zhou, W., & Gülmezoglu, A. M. (2019). Global, regional, and national estimates of levels of preterm birth in 2014: A systematic review and modelling analysis. *The Lancet. Global health*, *7*(1), e37-e46. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30451-0](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30451-0)
- Chen, A., Dimambro, N., & Clowry, G. J. (2008). A comparison of behavioural and histological outcomes of periventricular injection of ibotenic acid in neonatal rats at postnatal days 5 and 7. *Brain Research*, *1201*, 187-195. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.01.066>
- Cheng, B., & Mattson, M. P. (1991). Ngf and bfgf protect rat hippocampal and human cortical neurons against hypoglycemic damage by stabilizing calcium homeostasis. *Neuron*, *7*(6), 1031-1041. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90347-3](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90347-3)
- Cherubini, E., & Miles, R. (2015). The ca3 region of the hippocampus: How is it? What is it for? How does it do it? *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *9*, 19-19. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00019>
- Choi, E.-K., Park, D., Kim, T. K., Lee, S. H., Bae, D.-K., Yang, G., Yang, Y.-H., Kyung, J., Kim, D., Lee, W. R., Suh, J.-G., Jeong, E.-S., Kim, S. U., & Kim, Y.-B. (2011). Animal models of periventricular leukomalacia. *Laboratory Animal Research*, *27*(2), 77-84. <https://doi.org/10.5625/lar.2011.27.2.77>
- Choi, J. Y., Rha, D.-w., & Park, E. S. (2016). The effects of the severity of periventricular leukomalacia on the neuropsychological outcomes of preterm children. *Journal of Child Neurology*, *31*(5), 603-612. <https://doi.org/10.1177/0883073815604229>

- Clowry, G. J., Basuodan, R., & Chan, F. (2014). What are the best animal models for testing early intervention in cerebral palsy? *Frontiers in Neurology*, *5*, 258. <https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00258>
- Cohen, S. J., & Stackman, R. W., Jr. (2015). Assessing rodent hippocampal involvement in the novel object recognition task. A review. *Behavioural Brain Research*, *285*, 105-117. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.002>
- Colvin, M., McGuire, W., & Fowlie, P. W. (2004). Neurodevelopmental outcomes after preterm birth. *BMJ*, *329*(7479), 1390-1393. <https://doi.org/10.1136/bmj.329.7479.1390>
- Cotman, C., & Berchtold, N. (2002). Exercise: A behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends in Neurosciences*, *25*, 292-298. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(02\)02143-4](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(02)02143-4)
- Cotman, C. W., Berchtold, N. C., & Christie, L.-A. (2007). Exercise builds brain health: Key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends in Neurosciences*, *30*(9), 464-472. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.06.011>
- Delcour, M., Olivier, P., Chambon, C., Pansiot, J., Russier, M., Liberge, M., Xin, D., Gestreau, C., Alescio-Lautier, B., Gressens, P., Verney, C., Barbe, M. F., Baud, O., & Coq, J. O. (2012). Neuroanatomical, sensorimotor and cognitive deficits in adult rats with white matter injury following prenatal ischemia. *Brain Pathology*, *22*(1), 1-16. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2011.00504.x>
- Delcour, M., Russier, M., Amin, M., Baud, O., Paban, V., Barbe, M. F., & Coq, J.-O. (2012). Impact of prenatal ischemia on behavior, cognitive abilities and neuroanatomy in adult rats with white matter damage. *Behavioural Brain Research*, *232*(1), 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.03.029>
- Dell'Anna, M. E., Calzolari, S., Molinari, M., Iuvone, L., & Calimici, R. (1991). Neonatal anoxia induces transitory hyperactivity, permanent spatial memory deficits and ca1 cell density reduction in developing rats. *Behavioural Brain Research*, *45*(2), 125-134. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(05\)80078-6](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(05)80078-6)
- Denenberg, V. H. (1969). Open-field behavior in the rat: What does it mean? *Annals of the New York Academy of Sciences*, *159*(3), 852-859. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1969.tb12983.x>
- Denninger, J. K., Smith, B. M., & Kirby, E. D. (2018). Novel object recognition and object location behavioral testing in mice on a budget. *Journal of Visualized Experiments*, (141), 10.3791/58593. <https://doi.org/10.3791/58593>
- Desilva, T. M., & Rosenberg, P. A. (2010). Glutamate receptors, transporters and periventricular leukomalacia. In E. Mathey & P. Armati (Eds.), *The biology of oligodendrocytes* (pp. 186-201). Cambridge: Cambridge University Press.
- Devine, J. M., & Zafonte, R. D. (2009). Physical exercise and cognitive recovery in acquired brain injury: A review of the literature. *PM&R*, *1*(6), 560-575. <https://doi.org/10.1016/j.pmrj.2009.03.015>
- Ding, Q., Vaynman, S., Akhavan, M., Ying, Z., & Gomez-Pinilla, F. (2006). Insulin-like growth factor i interfaces with brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity to modulate aspects of exercise-induced cognitive function. *Neuroscience*, *140*(3), 823-833. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.02.084>
- Ding, Y.-H., Luan, X.-D., Li, J., Rafols, J., A., Guthinkonda, M., Diaz, F., G., & Ding, Y. (2004). Exercise-induced overexpression of angiogenic factors and

- reduction of ischemia / reperfusion injury in stroke. *Current Neurovascular Research*, 1(5), 411-420. <https://doi.org/10.2174/1567202043361875>
- Ding, Y. H., Li, J., Zhou, Y., Rafols, J. A., Clark, J. C., & Ding, Y. (2006). Cerebral angiogenesis and expression of angiogenic factors in aging rats after exercise. *Current Neurovascular Research*, 3(1), 15-23. <https://doi.org/10.2174/156720206775541787>
- Duman, C. H., Schlesinger, L., Russell, D. S., & Duman, R. S. (2008). Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice. *Brain Research*, 1199, 148-158. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.12.047>
- Durán-Carabali, L. E., Arcego, D. M., Odorcyk, F. K., Reichert, L., Cordeiro, J. L., Sanches, E. F., Freitas, L. D., Dalmaz, C., Pagnussat, A., & Netto, C. A. (2018). Prenatal and early postnatal environmental enrichment reduce acute cell death and prevent neurodevelopment and memory impairments in rats submitted to neonatal hypoxia ischemia. *Molecular Neurobiology*, 55(5), 3627-3641. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0604-5>
- Ekici, B., Aydın, N., Aydın, K., Çalışkan, M., Eraslan, E., & Özmen, M. (2013). Epilepsy in children with periventricular leukomalacia. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 115(10), 2046-2048. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2013.06.014>
- El Falougy, H., Kubikova, E., & Benuska, J. (2008). The microscopical structure of the hippocampus in the rat. *Bratislavske Lekarske Listy*, 109(3), 106-110. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18517132>
- Elser, H. E., Holditch-Davis, D., & Brandon, D. H. (2011). Cerebral oxygenation monitoring: A strategy to detect ivh and pvl. *Newborn and Infant Nursing Reviews*, 11(3), 153-159. <https://doi.org/10.1053/j.nainr.2011.07.007>
- Ennaceur, A. (2010). One-trial object recognition in rats and mice: Methodological and theoretical issues. *Behavioural Brain Research*, 215(2), 244-254. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.12.036>
- Espinosa-Jeffrey, A., Barajas, S. A. R., Arrazola, A. R., Taniguchi, A., Zhao, P. M., Bokhoor, P., Holley, S. M., Dejarne, D. P., Chu, B., Cepeda, C., Levine, M. S., Gressens, P., Feria-Velasco, A., & de Vellis, J. (2013). White matter loss in a mouse model of periventricular leukomalacia is rescued by trophic factors. *Brain Sciences*, 3(4), 1461-1482. <https://doi.org/10.3390/brainsci3041461>
- Fan, L. W., Lin, S., Pang, Y., Lei, M., Zhang, F., Rhodes, P. G., & Cai, Z. (2005). Hypoxia-ischemia induced neurological dysfunction and brain injury in the neonatal rat. *Behavioural Brain Research*, 165(1), 80-90. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.06.033>
- Fanselow, M. S., & Dong, H. W. (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron*, 65(1), 7-19. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031>
- Finkbeiner, S., Tavazoie, S. F., Maloratsky, A., Jacobs, K. M., Harris, K. M., & Greenberg, M. E. (1997). Creb: A major mediator of neuronal neurotrophin responses. *Neuron*, 19(5), 1031-1047. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80395-5](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80395-5)

- Fraser, J., Walls, M., & McGuire, W. (2004). Respiratory complications of preterm birth. *BMJ*, 329(7472), 962-965. <https://doi.org/10.1136/bmj.329.7472.962>
- Gaynor, L. S., Johnson, S. A., Mizell, J. M., Campos, K. T., Maurer, A. P., Bauer, R. M., & Burke, S. N. (2018). Impaired discrimination with intact crossmodal association in aged rats: A dissociation of perirhinal cortical-dependent behaviors. *Behavioral Neuroscience*, 132(3), 138-151. <https://doi.org/10.1037/bne0000246>
- Ghiani, C. A., Ying, Z., de Vellis, J., & Gomez-Pinilla, F. (2007). Exercise decreases myelin-associated glycoprotein expression in the spinal cord and positively modulates neuronal growth. *Glia*, 55(9), 966-975. <https://doi.org/10.1002/glia.20521>
- Gluck, M. A., & Mercardo, M. (2016). Learning and memory: From brain to behavior In C. E. Myers (Ed.), (3rd ed.). New York, NY Mcmillan Learning.
- Gogas, K. R., Lechner, S. M., Markison, S., Williams, J. P., McCarthy, W., Grigoriadis, D. E., & Foster, A. C. (2007). Anxiety. In J. B. Taylor & D. J. Triggle (Eds.), *Comprehensive medicinal chemistry ii* (pp. 85-115). Oxford: Elsevier.
- Goldenberg, R. L., Culhane, J. F., Iams, J. D., & Romero, R. (2008). Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*, 371(9606), 75-84. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60074-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60074-4)
- Goldenberg, R. L., & McClure, E. M. (2010). The epidemiology of preterm birth. In V. Berghella (Ed.), *Preterm birth* (pp. 22-38). Singapore: Blackwell Publishing.
- Gomes da Silva, S., Simões, P. S. R., Mortara, R. A., Scorza, F. A., Cavalheiro, E. A., da Graça Naffah-Mazzacoratti, M., & Arida, R. M. (2013). Exercise-induced hippocampal anti-inflammatory response in aged rats. *Journal of Neuroinflammation*, 10, 61-61. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-10-61>
- Gorantla, V. R., Pemminati, S., Bond, V., Meyers, D. G., & Millis, R. M. (2016). Effects of swimming exercise on learning and memory in the kainate-lesion model of temporal lobe epilepsy. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(11), CF01-CF05. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/22100.8835>
- Gould, T. D., Dao, D. T., & Kovacsics, C. E. (2009). The open field test. In T. D. Gould (Ed.), *Mood and anxiety related phenotypes in mice: Characterization using behavioral tests* (pp. 1-20). Totowa, NJ: Humana Press.
- Grace, L., Heschem, S., Kellaway, L. A., Bugarith, K., & Russell, V. A. (2009). Effect of exercise on learning and memory in a rat model of developmental stress. *Metabolic Brain Disease*, 24(4), 643-657. <https://doi.org/10.1007/s11011-009-9162-5>
- Griesbach, G. S., Hovda, D. A., Molteni, R., Wu, A., & Gomez-Pinilla, F. (2004). Voluntary exercise following traumatic brain injury: Brain-derived neurotrophic factor upregulation and recovery of function. *Neuroscience*, 125(1), 129-139. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.01.030>
- Guan, J., Bennet, L., Gluckman, P. D., & Gunn, A. J. (2003). Insulin-like growth factor-1 and post-ischemic brain injury. *Progress in Neurobiology*, 70(6), 443-462. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2003.08.002>
- Hadders-Algra, M., Boxum, A. G., Hielkema, T., & Hamer, E. G. (2017). Effect of early intervention in infants at very high risk of cerebral palsy: A systematic

- review. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 59(3), 246-258. <https://doi.org/10.1111/dmcn.13331>
- Hagberg, H., Peebles, D., & Mallard, C. (2002). Models of white matter injury: Comparison of infectious, hypoxic-ischemic, and excitotoxic insults. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, 8(1), 30-38. <https://doi.org/10.1002/mrdd.10007>
- Hampson, R. E., Simeral, J. D., & Deadwyler, S. A. (1999). Distribution of spatial and nonspatial information in dorsal hippocampus. *Nature*, 402(6762), 610-614. <https://doi.org/10.1038/45154>
- Handelmann, G. E., & Olton, D. S. (1981). Spatial memory following damage to hippocampal ca3 pyramidal cells with kainic acid: Impairment and recovery with preoperative training. *Brain Research*, 217(1), 41-58. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)90183-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)90183-9)
- Harmony, T. (2017). Outcome of infants at risk of brain damage after katona neurohabilitation therapy. *International Journal of Neurorehabilitation*, 04. <https://doi.org/10.4172/2376-0281.1000277>
- Harmony, T., Barrera-Reséndiz, J., Juárez-Colín, M. E., Carrillo-Prado, C., del Consuelo Pedraza-Aguilar, M., Asprón Ramírez, A., Hinojosa-Rodríguez, M., Fernández, T., & Ricardo-Garcell, J. (2016). Longitudinal study of children with perinatal brain damage in whom early neurohabilitation was applied: Preliminary report. *Neuroscience Letters*, 611, 59-67. [/http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2015.11.013](http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2015.11.013)
- Hatzidaki, E., Giahnakis, E., Maraka, S., Korakaki, E., Manoura, A., Saitakis, E., Papamastoraki, I., Margari, K.-M., & Giannakopoulou, C. (2009). Risk factors for periventricular leukomalacia. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 88(1), 110-115. <https://doi.org/10.1080/00016340802503039>
- Haynes, R. L., Baud, O., Li, J., Kinney, H. C., Volpe, J. J., & Folkerth, R. D. (2005). Oxidative and nitrate injury in periventricular leukomalacia: A review. *Brain Pathology*, 15(3), 225-233. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2005.tb00525.x>
- Haynes, R. L., Folkerth, R. D., Keefe, R. J., Sung, I., Swzeda, L. I., Rosenberg, P. A., Volpe, J. J., & Kinney, H. C. (2003). Nitrosative and oxidative injury to premyelinating oligodendrocytes in periventricular leukomalacia. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 62(5), 441-450. <https://doi.org/10.1093/jnen/62.5.441>
- Haynes, R. L., Sleeper, L. A., Volpe, J. J., & Kinney, H. C. (2013). Neuropathologic studies of the encephalopathy of prematurity in the late preterm infant. *Clinics in Perinatology*, 40(4), 707-722. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2013.07.003>
- Heller, A., Hutchens, J. O., Kirby, M. L., Karapas, F., & Fernandez, C. (1979). Stereotaxic electrode placement in the neonatal rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 1(1), 41-76.
- Herskind, A., Greisen, G., & Nielsen, J. B. (2015). Early identification and intervention in cerebral palsy. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 57(1), 29-36. <https://doi.org/10.1111/dmcn.12531>
- Hötting, K., & Röder, B. (2013). Beneficial effects of physical exercise on neuroplasticity and cognition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(9, Part B), 2243-2257. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.04.005>

- Hu, S., Sheng, W. S., Ehrlich, L. C., Peterson, P. K., & Chao, C. C. (2000). Cytokine effects on glutamate uptake by human astrocytes. *Neuroimmunomodulation*, 7(3), 153-159. <https://doi.org/10.1159/000026433>
- Hutchinson, K. J., Gomez-Pinilla, F., Crowe, M. J., Ying, Z., & Basso, D. M. (2004). Three exercise paradigms differentially improve sensory recovery after spinal cord contusion in rats. *Brain*, 127(Pt 6), 1403-1414. <https://doi.org/10.1093/brain/awh160>
- Imamura, T., Ariga, H., Kaneko, M., Watanabe, M., Shibukawa, Y., Fukuda, Y., Nagasawa, K., Goto, A., & Fujiki, T. (2013). Neurodevelopmental outcomes of children with periventricular leukomalacia. *Pediatrics & Neonatology*, 54(6), 367-372. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2013.04.006>
- IMSS. (2018). Por problemas de salud en las mamás, aumenta el nacimiento de bebés prematuros en el imss. Retrieved from <http://www.imss.gob.mx/prensa/archivo/201807/179>
- Inder, T. E., & Volpe, J. J. (2018). Pathophysiology: General principles. In J. J. Volpe, T. E. Inder, B. T. Darras, L. S. de Vries, A. J. du Plessis, J. J. Neil, & J. M. Perlman (Eds.), *Volpe's neurology of the newborn* (6th ed., pp. 325-388.e326): Elsevier.
- Insausti, R., Marcos, M. P., Mohedano-Moriano, A., Arroyo-Jiménez, M. M., Córcoles-Parada, M., Artacho-Pérula, E., Ubero-Martínez, M. M., & Muñoz-López, M. (2017). The nonhuman primate hippocampus: Neuroanatomy and patterns of cortical connectivity. In D. E. Hannula & M. C. Duff (Eds.), *The hippocampus from cells to systems: Structure, connectivity, and functional contributions to memory and flexible cognition* (pp. 3-36). Cham: Springer International Publishing.
- Isaacs, K. R., Anderson, B. J., Alcantara, A. A., Black, J. E., & Greenough, W. T. (1992). Exercise and the brain: Angiogenesis in the adult rat cerebellum after vigorous physical activity and motor skill learning. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 12(1), 110-119. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1992.14>
- Jacklin, D. L., Cloke, J. M., Potvin, A., Garrett, I., & Winters, B. D. (2016). The dynamic multisensory engram: Neural circuitry underlying crossmodal object recognition in rats changes with the nature of object experience. *The Journal of Neuroscience*, 36(4), 1273-1289. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3043-15.2016>
- Jalali, A., Simpao, A. F., Gálvez, J. A., Licht, D. J., & Nataraj, C. (2018). Prediction of periventricular leukomalacia in neonates after cardiac surgery using machine learning algorithms. *Journal of Medical Systems*, 42(10), 177. <https://doi.org/10.1007/s10916-018-1029-z>
- Jantzie, L. L., & Robinson, S. (2015). Preclinical models of encephalopathy of prematurity. *Developmental Neuroscience*, 37(4-5), 277-288. <https://doi.org/10.1159/000371721>
- Jia, J., Hu, Y.-S., Wu, Y., Liu, G., Yu, H.-X., Zheng, Q.-P., Zhu, D.-N., Xia, C.-M., & Cao, Z.-J. (2009). Pre-ischemic treadmill training affects glutamate and gamma aminobutyric acid levels in the striatal dialysate of a rat model of cerebral ischemia. *Life Sciences*, 84(15), 505-511. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2009.01.015>

- Johansson, S., & Cnattigius, S. (2010). Epidemiology of preterm birth. In C. Nosarti., R. M. Murray, & M. Hack. (Eds.), *Neurodevelopmental outcomes of preterm birth: From childhood to adult life* (pp. 1-16). United Kingdom: Cambridge University Press.
- Johnston, M. V., Ferriero, D. M., Vannucci, S. J., & Hagberg, H. (2005). Models of cerebral palsy: Which ones are best? *Journal of Child Neurology*, *20*(12), 984-987. <https://doi.org/10.1177/08830738050200121001>
- Kesner, R. P., Taylor, J. O., Hoge, J., & Andy, F. (2015). Role of the dentate gyrus in mediating object-spatial configuration recognition. *Neurobiology of Learning and Memory*, *118*, 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.11.004>
- Khazipov, R., Zaynutdinova, D., Ogievetsky, E., Valeeva, G., Mitrukhina, O., Manent, J.-B., & Represa, A. (2015). Atlas of the postnatal rat brain in stereotaxic coordinates. *Frontiers in Neuroanatomy*, *9*, 161. <https://doi.org/10.3389/fnana.2015.00161>
- Kim, H. N., Pak, M. E., Shin, M. J., Kim, S. Y., Shin, Y. B., Yun, Y. J., Shin, H. K., & Choi, B. T. (2017). Comparative analysis of the beneficial effects of treadmill training and electroacupuncture in a rat model of neonatal hypoxia-ischemia. *International Journal of Molecular Medicine*, *39*(6), 1393-1402. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.2970>
- Kim, K., Shin, M. S., Cho, H. S., & Kim, Y. P. (2014). Effects of endurance exercise on expressions of glial fibrillary acidic protein and myelin basic protein in developing rats with maternal infection-induced cerebral palsy. *Journal of Exercise Rehabilitation*, *10*(1), 9-14. <https://doi.org/10.12965/jer.140084>
- Kinney, H. C. (2006). The near-term (late preterm) human brain and risk for periventricular leukomalacia: A review. *Seminars in Perinatology*, *30*(2), 81-88. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2006.02.006>
- Kinney, H. C., & Volpe, J. J. (2012). Modeling the encephalopathy of prematurity in animals: The important role of translational research. *Neurology Research International*, *2012*, 295389-295389. <https://doi.org/10.1155/2012/295389>
- Kinney, H. C., & Volpe, J. J. (2018). Encephalopathy of prematurity: Neuropathology. In J. J. Volpe, T. E. Inder, B. T. Darras, L. S. de Vries, A. J. du Plessis, J. J. Neil, & J. M. Perlman (Eds.), *Volpe's neurology of the newborn* (6 th ed., pp. 389-404): Elsevier.
- Kinney, H. C., & Volpe, J. J. (2018). Hypoxic-ischemic injury in the term infant: Neuropathology. In J. J. Volpe, T. E. Inder, B. T. Darras, L. S. de Vries, A. J. du Plessis, J. J. Neil, & J. M. Perlman (Eds.), *Volpe's neurology of the newborn (sixth edition)* (pp. 484-499): Elsevier.
- Kleim, J. A., Cooper, N. R., & VandenBerg, P. M. (2002). Exercise induces angiogenesis but does not alter movement representations within rat motor cortex. *Brain Research*, *934*(1), 1-6. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)02239-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)02239-4)
- Knierim, J. J. (2015). The hippocampus. *Current Biology*, *25*(23), R1116-R1121. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.10.049>
- Koehl, M., Meerlo, P., Gonzales, D., Rontal, A., Turek, F. W., & Abrous, D. N. (2008). Exercise-induced promotion of hippocampal cell proliferation requires β -

- endorphin. *The FASEB Journal*, 22(7), 2253-2262. <https://doi.org/10.1096/fj.07-099101>
- Kolb, B., Mychasiuk, R., Williams, P., & Gibb, R. (2011). Brain plasticity and recovery from early cortical injury. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 53(s4), 4-8. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2011.04054.x>
- Komitova, M., Zhao, L. R., Gidö, G., Johansson, B. B., & Eriksson, P. (2005). Postischemic exercise attenuates whereas enriched environment has certain enhancing effects on lesion-induced subventricular zone activation in the adult rat. *European Journal of Neuroscience*, 21(9), 2397-2405. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04072.x>
- Kraeuter, A., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. (2019). The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior. In P. Guest (Ed.), *Pre-clinical models. Methods in molecular biology* (Vol. 1916, pp. 99–103). New York, NY: Humana Press.
- Krityakiarana, W., Espinosa-Jeffrey, A., Ghiani, C. A., Zhao, P. M., Topaldjikian, N., Gomez-Pinilla, F., Yamaguchi, M., Kotchabhakdi, N., & de Vellis, J. (2010). Voluntary exercise increases oligodendrogenesis in spinal cord. *The International Journal of Neuroscience*, 120(4), 280-290. <https://doi.org/10.3109/00207450903222741>
- Kurahashi, H., Okumura, A., Kubota, T., Kidokoro, H., Maruyama, K., Hayakawa, M., Itakura, A., Matsuzawa, K., Yamamoto, H., Kato, T., Hayakawa, F., & Watanabe, K. (2016). Increased fetal heart rate variability in periventricular leukomalacia. *Brain and Development*, 38(2), 196-203. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2015.08.008>
- Lamprea, M. R., Cardenas, F. P., Setem, J., & Morato, S. (2008). Thigmotactic responses in an open-field. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 41, 135-140. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2008000200010>
- Larson, J. E., Desai, S. A., & McNett, W. (2010). Perinatal care and long-term implications. In V. Berghella (Ed.), *Preterm birth: Prevention and management* (pp. 252–261). Singapore: Wiley-Blackwell.
- Leasure, J. L., & Jones, M. (2008). Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience*, 156(3), 456-465. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.07.041>
- Lee, S. W., Kim, Y. S., Jun, T. W., Seo, J. H., Kim, K., Shin, M. S., & Kim, C. J. (2013). The impact of duration of one bout treadmill exercise on cell proliferation and central fatigue in rats. *Journal of Exercise Rehabilitation*, 9(5), 463-469. <https://doi.org/10.12965/jer.130069>
- Leite, H. R., Mourão, F. A. G., Drumond, L. E., Ferreira-Vieira, T. H., Bernardes, D., Silva, J. F., Lemos, V. S., Moraes, M. F. D., Pereira, G. S., Carvalho-Tavares, J., & Massensini, A. R. (2012). Swim training attenuates oxidative damage and promotes neuroprotection in cerebral cortical slices submitted to oxygen glucose deprivation. *Journal of Neurochemistry*, 123(2), 317-324. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2012.07898.x>
- Leite, M. R., Cechella, J. L., Mantovani, A. C., Duarte, M. M. M. F., Nogueira, C. W., & Zeni, G. (2015). Swimming exercise and diphenyl diselenide-supplemented diet affect the serum levels of pro- and anti-inflammatory cytokines differently

- depending on the age of rats. *Cytokine*, 71(1), 119-123. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.09.006>
- Li, J., Ding, Y.-H., Rafols, J. A., Lai, Q., McAllister, J. P., & Ding, Y. (2005). Increased astrocyte proliferation in rats after running exercise. *Neuroscience Letters*, 386(3), 160-164. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.06.009>
- Lingam, I., Avdic-Belltheus, A., & Robertson, N. J. (2016). Using animal models to improve care of neonatal encephalopathy. *Archives of Disease in Childhood: Education and Practice Edition*, 101(5), 271-276. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2015-309927>
- Liu, W., Sheng, H., Xu, Y., Liu, Y., Lu, J., & Ni, X. (2013). Swimming exercise ameliorates depression-like behavior in chronically stressed rats: Relevant to proinflammatory cytokines and ido activation. *Behavioural Brain Research*, 242, 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.12.041>
- Liu, X., Yang, L. J., Fan, S. J., Jiang, H., & Pan, F. (2010). Swimming exercise effects on the expression of hsp70 and inos in hippocampus and prefrontal cortex in combined stress. *Neuroscience Letters*, 476(2), 99-103. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2010.04.011>
- Llorens-Martin, M., Torres-Aleman, I., & Trejo, J. L. (2008). Growth factors as mediators of exercise actions on the brain. *Neuromolecular Medicine*, 10(2), 99-107. <https://doi.org/10.1007/s12017-008-8026-1>
- Lueptow, L. M. (2017). Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. *Journal of Visualized Experiments*, (126), 55718. <https://doi.org/10.3791/55718>
- Lupien, S. B., Bluhm, E. J., & Ishii, D. N. (2003). Systemic insulin-like growth factor-i administration prevents cognitive impairment in diabetic rats, and brain igf regulates learning/memory in normal adult rats. *Journal of Neuroscience Research*, 74(4), 512-523. <https://doi.org/10.1002/jnr.10791>
- MacDorman, M. F., & Mathews, T. J. (2013). Infant deaths - united states, 2005-2008. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 62(3), 171-175.
- Mang, C. S., Campbell, K. L., Ross, C. J. D., & Boyd, L. A. (2013). Promoting neuroplasticity for motor rehabilitation after stroke: Considering the effects of aerobic exercise and genetic variation on brain-derived neurotrophic factor. *Physical Therapy*, 93(12), 1707-1716. <https://doi.org/10.2522/ptj.20130053>
- Marcelino, T. B., de Lemos Rodrigues, P. I., Klein, C. P., Santos, B. G. d., Miguel, P. M., Netto, C. A., Silva, L. O. P., & Matté, C. (2016). Behavioral benefits of maternal swimming are counteracted by neonatal hypoxia-ischemia in the offspring. *Behavioural Brain Research*, 312, 30-38. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.06.009>
- Marosi, K., Bori, Z., Hart, N., Sárga, L., Koltai, E., Radák, Z., & Nyakas, C. (2012). Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. *Neuroscience*, 226, 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.09.001>
- Mathiasen, J. R., & DiCamillo, A. (2010). Novel object recognition in the rat: A facile assay for cognitive function. *Current Protocols in Pharmacology*, 49(1), 5.59.51-55.59.15. <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0559s49>

- Matute, C. (2006). Oligodendrocyte nmda receptors: A novel therapeutic target. *Trends in Molecular Medicine*, 12(7), 289-292. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2006.05.004>
- Matute, C., Alberdi, E., Domercq, M., Perez-Cerda, F., Perez-Samartin, A., & Sanchez-Gomez, M. V. (2001). The link between excitotoxic oligodendroglial death and demyelinating diseases. *Trends in Neurosciences*, 24(4), 224-230. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(00\)01746-x](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(00)01746-x)
- McGuire, W., Clerihew, L., & Fowlie, P. W. (2004). Infection in the preterm infant. *BMJ*, 329(7477), 1277-1280. <https://doi.org/10.1136/bmj.329.7477.1277>
- McKenzie, I. A., Ohayon, D., Li, H., de Faria, J. P., Emery, B., Tohyama, K., & Richardson, W. D. (2014). Motor skill learning requires active central myelination. *Science*, 346(6207), 318-322. <https://doi.org/10.1126/science.1254960>
- McTighe, S. M., Cowell, R. A., Winters, B. D., Bussey, T. J., & Saksida, L. M. (2010). Paradoxical false memory for objects after brain damage. *Science*, 330(6009), 1408-1410. <https://doi.org/10.1126/science.1194780>
- Mehrdad, J., Sadeghi, Y., Hosseini, A., & Naghdi, N. (2007). The astrocytes number in different subfield of rat's hippocampus in reference memory learning method. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(21), 3964-3966. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.3964.3966>
- Mesplès, B., Plaisant, F., Fontaine, R., & Gressens, P. (2005). Pathophysiology of neonatal brain lesions: Lessons from animal models of excitotoxicity. *Acta Paediatrica*, 94(2), 185-190. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2005.tb01888.x>
- Miki, T., Satriotomo, I., Li, H.-P., Matsumoto, Y., Gu, H., Yokoyama, T., Lee, K.-Y., Bedi, K. S., & Takeuchi, Y. (2005). Application of the physical disector to the central nervous system: Estimation of the total number of neurons in subdivisions of the rat hippocampus. *Anatomical Science International*, 80(3), 153. <https://doi.org/10.1111/j.1447-073x.2005.00121.x>
- Minguet-Romero, R., Cruz-Cruz Pdel, R., Ruiz-Rosas, R. A., & Hernandez-Valencia, M. (2014). Incidencia de nacimientos pretermino en el imss (2007-2012). *Ginecologia y Obstetricia de Mexico*, 82(7), 465-471.
- Molteni, R., Wu, A., Vaynman, S., Ying, Z., Barnard, R. J., & Gómez-Pinilla, F. (2004). Exercise reverses the harmful effects of consumption of a high-fat diet on synaptic and behavioral plasticity associated to the action of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience*, 123(2), 429-440. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.09.020>
- Molteni, R., Ying, Z., & Gómez-Pinilla, F. (2002). Differential effects of acute and chronic exercise on plasticity-related genes in the rat hippocampus revealed by microarray. *European Journal of Neuroscience*, 16(6), 1107-1116. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02158.x>
- Morillas, E., Gómez-Chacón, B., & Gallo, M. (2017). Flavor and object recognition memory impairment induced by excitotoxic lesions of the perirhinal cortex. *Neurobiology of Learning and Memory*, 144, 230-234. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.08.002>
- Mourão, F. A. G., Leite, H. R., de Carvalho, L. E. D., Ferreira e Vieira, T. H., Pinto, M. C. X., de Castro Medeiros, D., Andrade, I. L. L., Gonçalves, D. F., Pereira,

- G. S., Dutra Moraes, M. F., & Massensini, A. R. (2014). Neuroprotective effect of exercise in rat hippocampal slices submitted to in vitro ischemia is promoted by decrease of glutamate release and pro-apoptotic markers. *Journal of Neurochemistry*, *131*(1), 65-73. <https://doi.org/10.1111/jnc.12786>
- Numis, A. L., Foster-Barber, A., Deng, X., Rogers, E. E., Barkovich, A. J., Ferriero, D. M., & Glass, H. C. (2019). Early changes in pro-inflammatory cytokine levels in neonates with encephalopathy are associated with remote epilepsy. *Pediatric Research*, *86*(5), 616-621. <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0473-x>
- O'Callaghan, R. M., Ohle, R., & Kelly, Á. M. (2007). The effects of forced exercise on hippocampal plasticity in the rat: A comparison of ltp, spatial- and non-spatial learning. *Behavioural Brain Research*, *176*(2), 362-366. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.10.018>
- Ogonovszky, H., Berkes, I., Kumagai, S., Kaneko, T., Tahara, S., Goto, S., & Radák, Z. (2005). The effects of moderate-, strenuous- and over-training on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in rat brain. *Neurochemistry International*, *46*(8), 635-640. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2005.02.009>
- Oka, A., Belliveau, M. J., Rosenberg, P. A., & Volpe, J. J. (1993). Vulnerability of oligodendroglia to glutamate: Pharmacology, mechanisms, and prevention. *The Journal of Neuroscience*, *13*(4), 1441-1453. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.13-04-01441.1993>
- Panoz-Brown, D., Iyer, V., Carey, L. M., Sluka, C. M., Rajic, G., Kestenman, J., Gentry, M., Brotheridge, S., Somekh, I., Corbin, H. E., Tucker, K. G., Almeida, B., Hex, S. B., Garcia, K. D., Hohmann, A. G., & Crystal, J. D. (2018). Replay of episodic memories in the rat. *Current Biology*, *28*(10), 1628-1634.e1627. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.04.006>
- Patejdl, R., & Zettl, U., K. (2012). Animal models in neurology: Drawbacks and opportunities. *Current Pharmaceutical Design*, *18*(29), 4443-4452. <https://doi.org/10.2174/138161212802502233>
- Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (6th ed.). Burlington, MA: Academic Press.
- Perals Bertomeu, D., Griffin, A., Bartomeus, I., & Sol, D. (2017). Revisiting the open-field test: What does it really tell us about animal personality? *Animal Behaviour*, *123*. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2016.10.006>
- Pereira, A. C., Huddleston, D. E., Brickman, A. M., Sosunov, A. A., Hen, R., McKhann, G. M., Sloan, R., Gage, F. H., Brown, T. R., & Small, S. A. (2007). An in vivo correlate of exercise-induced neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(13), 5638-5643. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611721104>
- Pérez, M. J. A., & Zanabria, M. A. (2004). Sistema de diagnóstico y tratamiento del desarrollo temprano de ferenc katona. Plasticidad y restauración neurológica. *Plasticidad y Restauración Neurológica*, *3*(1-2), 59-62.
- Petersen, A. M. W., & Pedersen, B. K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *Journal of Applied Physiology*, *98*(4), 1154-1162. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00164.2004>
- Pierson, C. R., Folkerth, R. D., Billiards, S. S., Trachtenberg, F. L., Drinkwater, M. E., Volpe, J. J., & Kinney, H. C. (2007). Gray matter injury associated with

- periventricular leukomalacia in the premature infant. *Acta Neuropathologica*, 114(6), 619-631. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0295-5>
- Pietrelli, A., Lopez-Costa, J., Goñi, R., Brusco, A., & Basso, N. (2012). Aerobic exercise prevents age-dependent cognitive decline and reduces anxiety-related behaviors in middle-aged and old rats. *Neuroscience*, 202, 252-266. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.11.054>
- Pin-Barre, C., & Laurin, J. (2015). Physical exercise as a diagnostic, rehabilitation, and preventive tool: Influence on neuroplasticity and motor recovery after stroke. *Neural Plasticity*, 608581-608581. <https://doi.org/10.1155/2015/608581>
- Porras-Kattz, E., & Harmony, T. (2007). Neurohabilitación: Un método diagnóstico y terapéutico para prevenir secuelas por lesión cerebral en el recién nacido y el lactante. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 64(2), 125-135.
- Prut, L., & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. *European Journal of Pharmacology*, 463(1), 3-33. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X)
- Quesada, A. A., Tristão, R. M., Pratesi, R., & Wolf, O. T. (2014). Hyper-responsiveness to acute stress, emotional problems and poorer memory in former preterm children. *Stress*, 17(5), 389-399. <https://doi.org/10.3109/10253890.2014.949667>
- Ra, S. M., Kim, H., Jang, M. H., Shin, M. C., Lee, T. H., Lim, B. V., Kim, C. J., Kim, E. H., Kim, K. M., & Kim, S. S. (2002). Treadmill running and swimming increase cell proliferation in the hippocampal dentate gyrus of rats. *Neuroscience Letters*, 333(2), 123-126. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(02\)01031-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(02)01031-5)
- Radak, Z., Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Pucsok, J., Sasvári, M., Nyakas, C., & Goto, S. (2001). Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. *Neurochemistry International*, 38, 17-23. [https://doi.org/10.1016/S0197-0186\(00\)00063-2](https://doi.org/10.1016/S0197-0186(00)00063-2)
- Radak, Z., Toldy, A., Szabo, Z., Siamilis, S., Nyakas, C., Silye, G., Jakus, J., & Goto, S. (2006). The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochemistry International*, 49(4), 387-392. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2006.02.004>
- Requejo, J. H., & Merialdi, M. (2010). The global impact of preterm birth. In *Preterm birth* (pp. 1-7).
- Resch, B., Neubauer, K., Hofer, N., Resch, E., Maurer, U., Haas, J., & Müller, W. (2012). Episodes of hypocarbia and early-onset sepsis are risk factors for cystic periventricular leukomalacia in the preterm infant. *Early Human Development*, 88(1), 27-31. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2011.06.011>
- Rhyu, I. J., Bytheway, J. A., Kohler, S. J., Lange, H., Lee, K. J., Boklewski, J., McCormick, K., Williams, N. I., Stanton, G. B., Greenough, W. T., & Cameron, J. L. (2010). Effects of aerobic exercise training on cognitive function and cortical vascularity in monkeys. *Neuroscience*, 167(4), 1239-1248. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.03.003>

- Rojas, J. J., Deniz, B. F., Miguel, P. M., Diaz, R., Hermel, É. d. E.-S., Achaval, M., Netto, C. A., & Pereira, L. O. (2013). Effects of daily environmental enrichment on behavior and dendritic spine density in hippocampus following neonatal hypoxia–ischemia in the rat. *Experimental Neurology*, *241*, 25-33. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.11.026>
- Rorke, L. B. (1992). Anatomical features of the developing brain implicated in pathogenesis of hypoxic-ischemic injury. *Brain Pathology*, *2*(3), 211-221. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1992.tb00694.x>
- Rueda-Orozco, P. E., Montes-Rodriguez, C. J., Soria-Gomez, E., Méndez-Díaz, M., & Prospéro-García, O. (2008). Impairment of endocannabinoids activity in the dorsolateral striatum delays extinction of behavior in a procedural memory task in rats. *Neuropharmacology*, *55*(1), 55-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.04.013>
- Saigal, S., & Doyle, L. W. (2008). An overview of mortality and sequelae of preterm birth from infancy to adulthood. *The Lancet*, *371*(9608), 261-269. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60136-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60136-1)
- Sanches, E. F., Van de Looij, Y., Toulotte, A., da Silva, A. R., Romero, J., & Sizonenko, S. V. (2018). Brain metabolism alterations induced by pregnancy swimming decreases neurological impairments following neonatal hypoxia-ischemia in very immature rats. *Frontiers in Neurology*, *9*, 480-480. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00480>
- Santos, V. R., Melo, I. s., Pacheco, A. L. D., & Castro, O. W. d. (2019). Life and death in the hippocampus: What's bad? *Epilepsy & Behavior*. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.106595>
- Sarkar, S., Shankaran, S., Barks, J., Do, B. T., Lupton, A. R., Das, A., Ambalavanan, N., Van Meurs, K. P., Bell, E. F., Sanchez, P. J., Hintz, S. R., Wyckoff, M. H., Stoll, B. J., Carlo, W. A., & Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network (2018). Outcome of preterm infants with transient cystic periventricular leukomalacia on serial cranial imaging up to term equivalent age. *The Journal of Pediatrics*, *195*, 59-65.e53. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2017.12.010>
- Saunders, D. H., Greig, C. A., & Mead, G. E. (2014). Physical activity and exercise after stroke. *Stroke*, *45*(12), 3742-3747. <https://doi.org/doi:10.1161/STROKEAHA.114.004311>
- Scafidi, J., Fagel, D. M., Ment, L. R., & Vaccarino, F. M. (2009). Modeling premature brain injury and recovery. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *27*(8), 863-871. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2009.05.009>
- Scaplen, K. M., Agster, K. L., & Burwell, R. D. (2017). Anatomy of the hippocampus and the declarative memory system. In J. H. Byrne (Ed.), *Learning and memory: A comprehensive reference* (2nd ed., pp. 49-67). Oxford: Academic Press.
- Schmidt-Kastner, R., & Hossmann, K. A. (1988). Distribution of ischemic neuronal damage in the dorsal hippocampus of rat. *Acta Neuropathologica*, *76*(4), 411-421. <https://doi.org/10.1007/BF00686979>

- Seibenhener, M. L., & Wooten, M. C. (2015). Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *Journal of Visualized Experiments*, (96), e52434-e52434. <https://doi.org/10.3791/52434>
- Shen, Y., Isaacson, R. L., & Smotherman, W. P. (1991). The behavioral and anatomical effects of prenatal umbilical cord clamping in the rat and their alteration by the prior maternal administration of nimodipine. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 3(1), 11-22. <https://doi.org/10.3233/rnn-1991-3102>
- Shen, Y., Plane, J. M., & Deng, W. (2010). Mouse models of periventricular leukomalacia. *Journal of Visualized Experiments*, (39), 1951. <https://doi.org/10.3791/1951>
- Sierra, A., Camacho-Abrego, I., Escamilla, C., Negrete-Diaz, J. V., Rodriguez-Sosa, L., & Flores, G. (2009). Plataforma economica para cirugia estereotaxica en rata neonata. *Revista de Neurologia*, 48(3), 141-146. <https://doi.org/10.33588/rn.4803.2008571>
- Song, D., Yu, D. S. F., Li, P. W. C., & Lei, Y. (2018). The effectiveness of physical exercise on cognitive and psychological outcomes in individuals with mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Nursing Studies*, 79, 155-164. <https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2018.01.002>
- Sosa, P. M., Schimidt, H. L., Altermann, C., Vieira, A. S., Cibir, F. W. S., Carpes, F. P., & Mello-Carpes, P. B. (2015). Physical exercise prevents motor disorders and striatal oxidative imbalance after cerebral ischemia-reperfusion. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 48, 798-804. <https://doi.org/10.1590/1414-431x20154429>
- Stranahan, A. M., Khalil, D., & Gould, E. (2007). Running induces widespread structural alterations in the hippocampus and entorhinal cortex. *Hippocampus*, 17(11), 1017-1022. <https://doi.org/10.1002/hipo.20348>
- Strange, B. A., Witter, M. P., Lein, E. S., & Moser, E. I. (2014). Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(10), 655-669. <https://doi.org/10.1038/nrn3785>
- Sturman, O., Germain, P.-L., & Bohacek, J. (2018). Exploratory rearing: A context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. *Stress*, 21(5), 443-452. <https://doi.org/10.1080/10253890.2018.1438405>
- Swain, R. A., Harris, A. B., Wiener, E. C., Dutka, M. V., Morris, H. D., Theien, B. E., Konda, S., Engberg, K., Lauterbur, P. C., & Greenough, W. T. (2003). Prolonged exercise induces angiogenesis and increases cerebral blood volume in primary motor cortex of the rat. *Neuroscience*, 117(4), 1037-1046. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00664-4](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00664-4)
- Swamy, G. K., Østbye, T., & Skjærven, R. (2008). Association of preterm birth with long-term survival, reproduction, and next-generation preterm birth. *JAMA*, 299(12), 1429-1436. <https://doi.org/10.1001/jama.299.12.1429>
- Szpecht, D., Wiak, K., Braszak, A., Surzyn, E., Szymankiewicz, M., & Gadzinowski, J. (2017). Risk factors of periventricular leukomalacia in singleton infants born from 23rd to 26th weeks of gestation – retrospective study. *Pediatrics Polska*, 92(3), 266-270. <https://doi.org/10.1016/j.pepo.2017.02.002>

- Takamatsu, Y., Tamakoshi, K., Waseda, Y., & Ishida, K. (2016). Running exercise enhances motor functional recovery with inhibition of dendritic regression in the motor cortex after collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats. *Behavioural Brain Research*, *300*, 56-64. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.12.003>
- Tucker, J., & McGuire, W. (2004). Epidemiology of preterm birth. *BMJ* *329*(7467), 675-678. <https://doi.org/10.1136/bmj.329.7467.675>
- Uda, M., Ishido, M., Kami, K., & Masuhara, M. (2006). Effects of chronic treadmill running on neurogenesis in the dentate gyrus of the hippocampus of adult rat. *Brain Research*, *1104*(1), 64-72. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.05.066>
- UNICEF. (2018). Every child alive the urgent need to end newborn deaths. Retrieved from <https://www.unicef.org/reports/every-child-alive>
- Uysal, N., Tugyan, K., Kayatekin, B. M., Acikgoz, O., Bagriyanik, H. A., Gonenc, S., Ozdemir, D., Aksu, I., Topcu, A., & Semin, I. (2005). The effects of regular aerobic exercise in adolescent period on hippocampal neuron density, apoptosis and spatial memory. *Neuroscience Letters*, *383*(3), 241-245. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.04.054>
- Valvassori, S. S., Varela, R. B., & Quevedo, J. (2017). Animal models of mood disorders: Focus on bipolar disorder and depression. In P. M. Conn (Ed.), *Animal models for the study of human disease* (2nd ed., pp. 991-1001): Academic Press.
- van Baar, A., Jong, M., & Verhoeven, M. (2013). Moderate preterm children born at 32-36 weeks gestational age around 8 years of age: Differences between children with and without identified developmental and school problems. In O. Erez (Ed.), *Preterm birth* (pp. 175-189): InTech.
- Van der Borght, K., Kóbor-Nyakas, D. É., Klauke, K., Eggen, B. J. L., Nyakas, C., Van der Zee, E. A., & Meerlo, P. (2009). Physical exercise leads to rapid adaptations in hippocampal vasculature: Temporal dynamics and relationship to cell proliferation and neurogenesis. *Hippocampus*, *19*(10), 928-936. <https://doi.org/10.1002/hipo.20545>
- van Praag, H., Shubert, T., Zhao, C., & Gage, F. H. (2005). Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *The Journal of Neuroscience*, *25*(38), 8680-8685. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1731-05.2005>
- van Strien, N. M., Cappaert, N. L. M., & Witter, M. P. (2009). The anatomy of memory: An interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(4), 272-282. <https://doi.org/10.1038/nrn2614>
- van Tilborg, E., Achterberg, E. J. M., van Kammen, C. M., van der Toorn, A., Groenendaal, F., Dijkhuizen, R. M., Heijnen, C. J., Vanderschuren, L. J. M. J., Benders, M. N. J. L., & Nijboer, C. H. A. (2018). Combined fetal inflammation and postnatal hypoxia causes myelin deficits and autism-like behavior in a rat model of diffuse white matter injury. *Glia*, *66*(1), 78-93. <https://doi.org/10.1002/glia.23216>

- Vanderbeken, I., & Kerckhofs, E. (2016). A systematic review of the effect of physical exercise on cognition in stroke and traumatic brain injury patients. *NeuroRehabilitation*, *40*, 1-16. <https://doi.org/10.3233/NRE-161388>
- Verboon-Maciolek, M. A., Truttmann, A. C., Groenendaal, F., Skranes, J., Døllner, H., Hunt, R. W., Hayman, M., Dippersloot, R. J., van Loon, A. M., & de Vries, L. S. (2012). Development of cystic periventricular leukomalacia in newborn infants after rotavirus infection. *The Journal of Pediatrics*, *160*(1), 165-168.e161. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2011.08.053>
- Vogel-Ciernia, A., & Wood, M. A. (2014). Examining object location and object recognition memory in mice. *Current Protocols in Neuroscience*, *69*, 8.31.31-38.31.17. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0831s69>
- Volpe, J. J. (2009). The encephalopathy of prematurity--brain injury and impaired brain development inextricably intertwined. *Seminars in Pediatric Neurology*, *16*(4), 167-178. <https://doi.org/10.1016/j.spen.2009.09.005>
- Volpe, J. J. (2017). Confusions in nomenclature: "Periventricular leukomalacia" and "white matter-injury" -identical, distinct, or overlapping? *Pediatric Neurology*, *73*, 3-6. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2017.05.013>
- Walsh, R. N., & Cummins, R. A. (1976). The open-field test: A critical review. *Psychological Bulletin*, *83*(3), 482-504. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.83.3.482>
- Walz, N., Mühlberger, A., & Pauli, P. (2016). A human open field test reveals thigmotaxis related to agoraphobic fear. *Biological Psychiatry*, *80*(5), 390-397. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.12.016>
- Wang, L. W., Lin, Y. C., Tu, Y. F., Wang, S. T., & Huang, C. C. (2017). Isolated cystic periventricular leukomalacia differs from cystic periventricular leukomalacia with intraventricular hemorrhage in prevalence, risk factors and outcomes in preterm infants. *Neonatology*, *111*(1), 86-92. <https://doi.org/10.1159/000448615>
- Warburton, E. C., & Brown, M. W. (2015). Neural circuitry for rat recognition memory. *Behavioural Brain Research*, *285*, 131-139. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.09.050>
- Webber, D. J., van Blitterswijk, M., & Chandran, S. (2009). Neuroprotective effect of oligodendrocyte precursor cell transplantation in a long-term model of periventricular leukomalacia. *The American Journal of Pathology*, *175*(6), 2332-2342. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.090051>
- Westbrook, S. R., Brennan, L. E., & Stanton, M. E. (2014). Ontogeny of object versus location recognition in the rat: Acquisition and retention effects. *Developmental Psychobiology*, *56*(7), 1492-1506. <https://doi.org/10.1002/dev.21232>
- Wogensen, E., Malá, H., & Mogensen, J. (2015). The effects of exercise on cognitive recovery after acquired brain injury in animal models: A systematic review. *Neural Plasticity*, *2015*, 830871-830871. <https://doi.org/10.1155/2015/830871>
- Yap, V., & Perlman, J. M. (2019). Intraventricular hemorrhage and white matter injury in the preterm infant. In J. M. Perlman & M. R. Cilio (Eds.), *Neurology (third edition)* (pp. 27-46). Philadelphia: Content Repository Only!

- Zaghloul, N., & Ahmed, M. (2017). Pathophysiology of periventricular leukomalacia: What we learned from animal models. *Neural Regeneration Research*, 12(11), 1795-1796. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.219034>
- Zeng, Y., Wang, H., Zhang, L., Tang, J., Shi, J., Xiao, D., Qu, Y., & Mu, D. (2019). The optimal choices of animal models of white matter injury. *Reviews in the Neurosciences*, 30(3), 245-259. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2018-0044>
- Zhang, M., Zhai, Y., Sun, Y., Zhang, W., Li, Q., Brann, D., & Wang, R. (2018). Swimming improves cognitive reserve in ovariectomized rats and enhances neuroprotection after global cerebral ischemia. *Brain Research*, 1692, 110-117. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.05.020>