

Instituto de Neurociencias
Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias de la Salud
Unidad de Psicobiología
Universidad Autónoma de Barcelona

Tesis Doctoral

**LA CITICOLINA Y EL EJERCICIO FÍSICO REVIERTEN EL DÉFICIT
EN LA MEMORIA DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS EN
RATAS CON DAÑO CEREBRAL TRAUMÁTICO**

Alejandra Jacotte Simancas

Enero de 2013

Este trabajo se ha realizado bajo la dirección de:

Dra.

Isabel Portell Cortés.

Profesora Titular del Departamento
De Psicobiología y Metodología de las
Ciencias de la Salud.

Dr.

David Costa Miserachs

Profesor Titular del Departamento
De Psicobiología y Metodología de las
Ciencias de la Salud.

Esta investigación se ha podido realizar gracias a:

Una beca de Formación de personal Investigador (FPI) del Ministerio de Ciencia y Tecnología
(número de expediente BES 2008_007827).

Financiación del Ministerio de Educación y Ciencia (SEJ 2006_14226/PSIC) y del Ministerio de
Ciencia y tecnología (PSI 2009-08034).

Agradecemos a JJ Secades (Ferrer Internacional, S.A.) por la donación de citicolina.

Agradecimientos

A Mabe, David, Marga y Meritxell, mi grupo, por sus orientaciones y por el apoyo que me han brindado durante todo este tiempo.

A Mar Castillo, por enseñarme muchas de las técnicas que hoy manejo dentro del laboratorio.

A Nuria Barba, por la ayuda que me brindaste en en uno de los momentos más complicados de la tesis cuando parecía que las horas frente al micro no acabarían nunca.

A todos los profesores del Departamento por su interés en el desarrollo de este trabajo, y por los momentos que compartimos durante estos cuatro años.

A los becarios, porque han sido un apoyo durante los buenos y no tan buenos momentos vividos.

A los técnicos y practicum por hacernos el trabajo un poco más fácil.

Y a todas las demás personas, que he conocido por el camino y que de una u otra forma han colaborado conmigo.

A todos, muchas gracias.

ÍNDICE

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
2. MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES EXPERIMENTALES	19
2.1. LESION CEREBRAL TRAUMATICA (TBI)	21
2.1.1. Modelos animales de lesiones cerebrales traumáticas	21
2.1.1.1. Impacto cortical controlado (CCI)	23
2.1.1.2. Daño cerebral por percusión de fluido (LFP)	24
2.1.1.3. Caída de un peso sobre el cráneo	25
2.1.1.4. Modelo de inflado de balón	25
2.2. EJERCICIO FISICO Y PROCESOS COGNITIVOS	25
2.2.1. Efectos potenciadores en individuos sanos	26
2.2.1.1. Estudios en humanos	26
2.2.1.2. Estudios en animales	40
2.2.2. Efectos neuroprotectores y neuroreparadores	50
2.2.2.1. Perdida de la memoria asociada a la vejez	50
2.2.2.2. Trastornos neurodegenerativos	67
2.2.2.3. Accidentes cerebrovasculares (ACV)	75
2.2.2.4. Lesiones cerebrales traumáticas (TBI)	80
2.2.2.5. Epilepsia	84
2.2.3. Mecanismos de acción	88
2.2.3.1. Factores de crecimiento	88
2.2.3.2. Neurogénesis	91
2.2.3.3. Angiogénesis	95
2.2.3.4. Otros	97
2.3. CITICOLINA Y PROCESOS COGNITIVOS	98
2.3.1. Efectos sobre los procesos de aprendizaje y memoria	99
2.3.2. Efectos neuroprotectores y neuroreparadores	105
2.3.3. Efectos sobre los neurotransmisores	109
2.3.4. Conclusiones	109
2.4. LA MEMORIA DE RECONOCIMIENTO DE OBJETO (MRO)	110
2.4.1. Regiones cerebrales relacionadas	111
2.4.2. Familiaridad vs recuerdo	116
2.4.3. Modelo de memoria episódica	118
3. TRABAJO EXPERIMENTAL	121
3.1. MATERIAL Y PROCEDIMIENTO	123
3.1.1. Etica y bienestar animal	123
3.1.2. Sujetos	123
3.1.3. Intervención quirúrgica	123
3.1.4. Citicolina	125
3.1.5. Ejercicio en la rueda de actividad	125
3.1.6. Pruebas neurológicas	127
3.1.7. Inyecciones de BrdU	128
3.1.8. Tarea de memoria de reconocimiento de objeto (MRO)	129
3.1.8.1. Habitación	130
3.1.8.2. Test de neofobia	130

3.1.8.3. Adquisición del aprendizaje	131
3.1.8.4. Retención 1 (3horas)	131
3.1.8.5. Retención 2 (24 horas)	131
3.1.9. Histología	133
3.1.9.1. Sacrificio y perfusión intracardíaca	133
3.1.9.2. Medición macroscópica de la lesión: tinción de Nissl	133
3.1.9.3. Inmunohistoquímica de BrdU y DCX	134
3.1.9.4. Cuantificación de células BrdU+ y células BrdU+/DCX+	135
3.1.9.5. Resumen del diseño experimental	136
3.1.9.6. Análisis estadístico	136
4.- RESULTADOS	139
4.1. Evolución del peso de los animales	141
4.2. Evolución del ejercicio físico: distancia media recorrida	142
4.3. Pruebas neurológicas	144
4.4. Memoria de reconocimiento de objeto	146
4.4.1. Neofobia	146
4.4.2. Actividad exploratoria durante la sesión de adquisición	148
4.4.3. Retención 1 (3 horas)	148
4.4.4. Retención 2 (24horas)	150
4.5. Volumen del daño cerebral	152
4.6. Proliferación celular y neurogénesis	154
4.6.1. Cuantificación de las células BrdU+	155
4.6.2. Cuantificación de células con doble marcaje BrdU+/DCX+	156
4.5.3. Porcentaje de células BrdU+/DCX+	159
4.7. Correlaciones entre proliferación celular y neurogénesis, MRO y ejercicio físico	160
5. DISCUSION	161
5.1. Efectos de la lesión	163
5.2. Efectos de la citicolina	165
5.3. Efectos del ejercicio	168
5.4. Efectos del tratamiento combinado citicolina-ejercicio	172
6. CONCLUSIONES	175
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	181

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Modelos de TBI	23
Tabla 2. Ejercicio y funciones cognitivas en humanos	32
Tabla 3. Ejercicio y funciones cognitivas en animales	46
Tabla 4. Ejercicio y neuroprotección en la vejez. Estudios longitudinales y trasversales	56
Tabla 5. Ejercicio y neuroprotección en la vejez. Estudios de intervención	57
Tabla 6. Ejercicio y cambios cerebrales en la vejez	64
Tabla 7. Ejercicio y neuroprotección en ratas envejecidas	66
Tabla 8. Ejercicio y trastornos neurodegenerativos	71
Tabla 9. Ejercicio y accidentes cerebrovasculares	78
Tabla 10. Ejercicio y lesiones cerebrales traumáticas	83
Tabla 11. Ejercicio y epilepsia	86
Tabla 12. Citicolina y funciones cognitivas	103
Tabla 13. Citicolina y neuroprotección en roedores	108
Tabla 14. Combinación de los objetos para los test de adquisición y retención	133
Tabla 15. Resumen del diseño experimental	136
Tabla 16. Puntuaciones de la evaluación neurológica	145
Tabla 17. Valores descriptivos del daño cerebral	153

ABREVIATURAS

Barrera Hematoencefálica (BHE)

5 Bromo-2-desoxiuridina (BrdU)

Daño por percusión de fluido (*lateral fluid percusión*; LFP)

Doblecortina (DCX)

Enfermedad de Alzheimer (EA)

Enfermedad de Parkinson (EP)

Factor de crecimiento derivado del endotelio (*vascular endothelial derived growth factor*) (VEGF)

Factor de crecimiento tipo insulina (*Insuline growth factor*) (IGF)

Factor neurotrófico derivado del cerebro (*Brain derived neurotrophic factor*; BDNF)

Giro dentado (GD)

Impacto cortical controlado (*controled cortical impact*; CCI)

Lesión cerebral traumática (*traumatic brain injury*; TBI)

Memoria de Reconocimiento de Objeto (MRO)

Neurotrofinas (NT)

Oclusión de la arteria cerebral media (OACM)

Potenciales relacionados con eventos (PRE)

Zona subgranular (ZSG)

Zona subventricular (ZSV)

PLANTEAMIENTO Y
OBJETIVOS EXPERIMENTALES

1.- PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS EXPERIMENTALES

La lesión cerebral traumática (TBI) es una condición aguda que deja secuelas crónicas en individuos, además de efectos en las familias y en el sistema de salud en general (1). A nivel individual produce daños neurológicos y déficits cognitivos, emocionales y conductuales (2). Las secuelas más persistentes suelen ser las cognitivas, en especial las referidas a la función ejecutiva, lo cual dificulta el desenvolvimiento del individuo en diferentes áreas como la educativa y la ocupacional (1). A nivel neurológico suele producir epilepsia y trastornos de sueño (3), y es un factor que incrementa el riesgo de sufrir enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer (EA) (4).

El TBI comienza con el impacto inicial que induce una rápida deformación del tejido cerebral, continúa con una serie de daños ocasionados por la isquemia, la inflamación y las alteraciones neuronales y gliales y da lugar finalmente a una cascada de eventos neuroquímicos que incluyen alteración de la neurotransmisión, de la membrana celular y de la homeostasis iónica, entre otros (5-7). Las lesiones pueden ser focales o difusas. Las primeras se definen como un daño tisular localizado, mientras que las difusas resultan de los efectos del impacto asociados con el daño, y que producen afectación a nivel neuronal, axonal y microvascular (5). Se trata, pues, de una condición clínica heterogénea que varía en función del tipo de lesión y del paciente.

Se han desarrollado varios modelos animales que intentan reproducir las características del TBI en humanos, a fin de estudiar los diferentes mecanismos fisiopatológicos, bioquímicos y conductuales que se producen como consecuencia del trauma y así determinar las medidas terapéuticas más eficaces que conlleven a la reducción de las secuelas y a lograr una mejora en el desenvolvimiento del individuo en su entorno. Entre los modelos más utilizados se encuentran el impacto cortical controlado (CCI) y el daño por percusión de fluido (LFP). Los estudios realizados con modelos animales han servido para valorar el efecto de distintos tratamientos sobre las alteraciones moleculares, celulares y tisulares que se producen tras un TBI, pero también para evaluar el efecto que tiene sobre las secuelas cognitivas.

Entre los diferentes tratamientos que se están investigando para reducir los efectos del TBI, especialmente los déficits cognitivos, se encuentra el ejercicio físico, ya que éste parece tener un impacto positivo en las funciones cognitivas, y disminuye los riesgos de sufrir enfermedades neurodegenerativas como la EA.

Las investigaciones que relacionan el ejercicio físico con las funciones cognitivas se han realizado tanto en humanos como en animales. En humanos, si bien los estudios epidemiológicos aportan datos importantes, los estudios de intervención permiten valorar el efecto del ejercicio sobre diferentes funciones cognitivas en una condición más controlada, permitiendo establecer los parámetros de intervención (intensidad, duración, etc) que sean más beneficiosos, en función de la edad, la patología, etc. En animales, los estudios se han realizado básicamente en roedores (ratas y ratones) empleando mayormente dos tipos de ejercicio, el forzado y el voluntario. En el primero, es el experimentador quien establece las condiciones de distancia, tiempo y duración del ejercicio (8), mientras que en el segundo, el animal corre de acuerdo a sus necesidades. En líneas generales los estudios tanto en humanos como en animales, demuestran que el ejercicio físico es capaz de potenciar diferentes funciones cognitivas en sujetos sanos, al mismo tiempo que reduce las deficiencias cognitivas asociadas a la edad y disminuye el riesgo de padecer enfermedades neurodegenerativas como la EA. Aunado a todo lo anterior, algunos trabajos han mostrado que el ejercicio puede tener efectos neuroprotectores tras patologías como los accidentes cerebrovasculares (ACV), el TBI y la epilepsia, reduciendo el tamaño de la lesión e interviniendo en las cascadas moleculares que se generan tras el daño, y reduciendo los déficits cognitivos. Específicamente, en el caso del TBI se ha observado que la actividad física puede reducir los déficits de aprendizaje y memoria, medidos en el laberinto de Morris y en evitación pasiva, causados por la lesión (9-12) y un estudio en humanos parece corroborar los efectos beneficiosos de este tratamiento (13). Si bien los resultados obtenidos en estos experimentos son esperanzadores, son necesarios más trabajos para evaluar el alcance y las condiciones en las que este tratamiento es capaz de reducir los déficits cognitivos asociados al TBI, así como los mecanismos por los cuales sería eficaz.

A este respecto, se han sugerido diferentes mecanismos de acción del ejercicio físico, entre los cuales destacan los factores de crecimiento como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el factor de crecimiento tipo insulina (IGF) y el factor de crecimiento derivado del endotelio (VEGF) (14,15), así como la neurogénesis adulta. Numerosas investigaciones en animales han demostrado que el ejercicio, tanto forzado (16,17) como voluntario (18-20) es capaz de promover la neurogénesis adulta y que ésta, junto con el BDNF, contribuyen a la mejora que produce el ejercicio sobre la cognición (21). Además, el ejercicio físico influye en la vascularización del cerebro, incrementando la proliferación de células endoteliales y la angiogénesis a través de los factores VEGF e IGF (22), constituyendo éste un tercer posible mecanismo de acción del ejercicio.

Otro tratamiento, muy diferente al ejercicio físico, que podría contribuir a la reducción de las secuelas asociadas a un TBI es la citicolina. Algunas enfermedades como la isquemia, la hipoxia, el TBI, las enfermedades neurodegenerativas y el envejecimiento, presentan como característica común la disrupción de la membrana celular así como alteraciones en el metabolismo de los fosfolípidos (23). La citicolina, al ser una molécula intermediaria en la síntesis de fosfolípidos (24,25), que además incrementa el metabolismo cerebral y afecta a distintos neurotransmisores como la acetilcolina, la dopamina, la serotonina, la noradrenalina y el glutamato (23,26), podría tener efectos neuroprotectores y neuroreparadores frente a este tipo de patologías.

De acuerdo con ello, diferentes estudios tanto en animales como en humanos demuestran que la citicolina es capaz de mejorar las funciones cognitivas tras sufrir patologías de diferente etiología como el TBI, la isquemia y la pérdida de memoria asociada a la edad. Al mismo tiempo, también han revelado que la citicolina protege de los daños producidos a nivel molecular, celular y tisular que se generan tras estas enfermedades.

Dado que tanto el ejercicio físico como la citicolina parecen tener efectos neuroprotectores, aunque por diferentes mecanismos, nos planteamos como hipótesis que tanto el ejercicio físico como la citicolina son capaces de reducir las deficiencias cognitivas ocasionadas por un TBI, además de que reducen el volumen de la lesión. Además, hipotetizamos que la

combinación de ambos tratamientos puede tener un mayor efecto que cada tratamiento por separado. Para contrastar esta hipótesis hemos realizado un experimento en el que hemos estudiado si el ejercicio físico y/o la citicolina son capaces de reducir el déficit de memoria causado por un TBI. Adicionalmente, hemos estudiado el efecto de estos tratamientos en animales no lesionados. El modelo animal de TBI utilizado ha sido la lesión por CCI, la cual es una lesión focal que intenta reproducir la contusión cortical, que es la lesión cerebral más común seguida de un TBI en humanos (27). Con este modelo se genera pérdida de tejido, daño talámico e hipocampal (28); muerte neuronal, expansión ventricular (29) y daños cognitivos que varían en función del lugar de la lesión (30).

El déficit cognitivo lo hemos estudiado por medio de la memoria de reconocimiento de objeto (MRO), la cual tiene características semejantes a la memoria episódica en humanos (31,32). Para poder obtener mayor información de los efectos de los tratamientos, en cada animal hemos medido la memoria en dos intervalos, a corto (3 horas) y a largo (24 horas) plazo.

En nuestro experimento, hemos evaluado, además, dos de los posibles mecanismos por los cuales estos tratamientos podrían tener efectos beneficiosos: la neuroprotección (estimada a partir de la medición del volumen de la lesión y del tejido cerebral intacto, y la neurogénesis en el hipocampo (estimada a partir del conteo de células nuevas en la capa de células granulares del giro dentado (GD) del hipocampo).

De acuerdo con lo anterior, los objetivos concretos que nos planteamos en el presente trabajo son:

1. Estudiar si el ejercicio físico y/o la citicolina facilitan la MRO en animales no lesionados.
2. Establecer el efecto de una lesión moderada con CCI sobre la MRO.
3. Determinar si el ejercicio físico voluntario y la citicolina reducen las deficiencias en la MRO, a corto (3 horas) y a largo plazo (24 horas), ocasionadas por una lesión con CCI, y si la combinación de ambos tratamientos tiene un mayor efecto que cada tratamiento por separado.

4. Establecer el grado de afectación sensoriomotor de los animales lesionados y determinar si los tratamientos con citicolina y/o ejercicio físico voluntario reducen las alteraciones observadas.
5. Estudiar si el ejercicio físico voluntario, la citicolina y/o la combinación de ambos tratamientos reducen el volumen de la lesión y/o la pérdida de tejido intacto producidos por CCI.
6. Determinar si los animales lesionados tratados con ejercicio físico voluntario, citicolina, o ambos tratamientos muestran un aumento en la neurogénesis y si esto se relaciona con una reducción en el déficit de memoria.

MARCO TEORICO Y

ANTECEDENTES EXPERIMENTALES

2. MARCO TEORICO Y ANTECEDENTES EXPERIMENTALES

2.1. DAÑO CEREBRAL TRAUMÁTICO (*traumatic brain injury, TBI*)

El TBI se define como una condición no degenerativa ni congénita que se produce como consecuencia de una fuerza mecánica externa que genera daños a corto y/o largo plazo en las funciones cognitivas, físicas y/o fisiológicas (5,33).

Las causas más comunes de TBI son los accidentes automovilísticos, las armas de fuego, las caídas y las actividades deportivas y recreativas. Aunque un TBI es agudo puede dejar secuelas crónicas en los individuos (1). Las secuelas más comunes incluyen cambios en la personalidad, convulsiones, problemas cognitivos, daños en la función motora y una reducción en la calidad de vida (3). El déficit en las funciones cognitivas es el más persistente, en especial en aquellas funciones relacionadas con el control ejecutivo tales como la atención, la memoria de trabajo o la organización, las cuales pueden llevar a dificultar el desenvolvimiento del individuo en algunos aspectos de su vida como el académico o el ocupacional (1). A nivel psiquiátrico, la depresión, la ansiedad generalizada, el estrés post-traumático y la agorafobia son las patologías más comunes tras una TBI (34). También se ha visto que incrementa el riesgo de sufrir enfermedades neurodegenerativas como la EA (2,4). (Para una revisión más detallada ver Masel y DeWitt 2010 (3)).

Se pueden distinguir dos tipos de TBI, los focales y los difusas (6). El daño focal se describe por el daño tisular localizado (5) e incluye contusiones, laceraciones, hematomas intracraneales y aumento de la presión intracraneal (5,6,35). El daño difuso resulta de los efectos mecánicos asociados con el daño neuronal, microvascular y la inflamación cerebral y se cree que son producto de la distorsión del tejido causada por las fuerzas que están presentes en el momento del daño (5); incluye daño axonal difuso y edema cerebral difuso (6).

En cuanto a la clasificación neuropatológica se han distinguido tres tipos. El daño primario, que se produce como consecuencia del impacto, ocurre inmediatamente en el momento del trauma e incluye las fracturas, las contusiones, las laceraciones y el daño axonal difuso; el daño secundario, que aunque se inicia en el momento de la lesión, se manifiesta varias horas

o días después e incluye daños debido a isquemia, inflamación y alteraciones en la función neuronal y glial; y el daño terciario, que se refiere a todos los eventos bioquímicos que tienen lugar a nivel celular e incluye alteración en la función de los neurotransmisores, la pérdida de la integridad de la membrana celular, los cambios en la homeostasis iónica y las alteraciones de las vías metabólicas (5,6).

2.1.1. Modelos animales de lesiones cerebrales traumáticas

Los modelos experimentales de TBI intentan replicar en animales (sobre todo en ratas y ratones) aquellos componentes bioquímicos, fisiológicos y conductuales que se producen en traumatismos craneales clínicos a fin de entender los cambios resultantes que pueden servir de diana terapéutica. Dado que las situaciones clínicas pueden ser muy heterogéneas, se han desarrollado numerosos modelos de TBI (véase tabla 1), que intentan reproducir los diferentes cambios patológicos observables tras un traumatismo en humanos, aunque naturalmente ninguno de ellos reproduce todo el espectro de cambios. (5,27). Por lo general, los modelos de TBI se clasifican como focales, difusos y mixtos, pero hay que señalar que incluso los focales producen un daño cerebral difuso considerable (27). En nuestro trabajo hemos utilizado una lesión por CCI que es, junto con el LFP, uno de los modelos experimentales más utilizados. Dado que ambos modelos se incluyen dentro de los clasificados como focales, en este trabajo únicamente describiremos este tipo de lesiones.

MODELOS EXPERIMENTALES DE LESION CEREBRAL TRAUMÁTICA	
Modelos de daño cerebral traumático focal	Caída de un peso sobre el cráneo Percusión lateral por fluido Impacto cortical controlado Inflado de balón
Modelos de daño cerebral traumático difuso	Aceleración-desaceleración Impacto-aceleración por caída libre de peso Impacto-aceleración por aire comprimido
Modelos de daño cerebral mixto	Hipoxia Hipotensión

Tabla 1. Modelos de TBI. Adaptado de R. Pietro y cols 2009.

2.1.1.1. Impacto cortical controlado (CCI)

En este modelo, la TBI se produce con un impactador (pistón) sólido que tras la liberación de energía mecánica a través de aire presurizado, genera una presión sobre el cerebro expuesto (6,35). El dispositivo consiste en un cilindro neumático el cual está montado sobre una barra que permite ajustar la posición del impactador. El impactador tiene una medida de 3 y 6 mm para ajustarse según la especie (rata o ratón). Tres parámetros importantes en el uso de este modelo son la velocidad de impacto, que puede variar entre 0.5 y 10 m/seg; la profundidad de la deformación cortical, que puede ser entre 1mm y 3mm y la duración del impacto que puede ser ajustada entre 25 y 250ms (36).

A nivel fisiopatológico las lesiones con este dispositivo producen un aumento de la presión intracraneal, disminución de la presión arterial y de la presión por perfusión así como un período de coma variable (6) y alteraciones en las respuestas neurológicas (37). A nivel histológico se genera muerte neuronal (37-39), pérdida de tejido y expansión ventricular (Dixon 1999). También se han reportado alteraciones cognitivas que son dependientes del tamaño de la lesión (30).

Este modelo tiene la ventaja de que es muy reproducible, ya que se pueden controlar parámetros como el tiempo, la velocidad y la profundidad del impacto (5). Dado que es un

modelo de daño focal, es útil además para estudiar la fisiopatología del daño secundario (40). Además de ello, en este modelo, comparado con los dispositivos basados en la gravedad, no se corre el riesgo de que el animal sufra daño por rebote (35).

2.1.1.2. Daño cerebral por percusión de fluido (LFP)

Este es un modelo de lesión en el que un fluido impacta sobre el cerebro del animal produciendo el desplazamiento de éste (6). El dispositivo consiste en un cilindro de plexiglás en el que uno de sus extremos se conecta a un transductor y el otro se conecta a un tubo que se fija al cráneo alrededor de un orificio practicado en el mismo. Usando un péndulo, se genera un pulso de presión sobre el fluido contenido dentro del tubo, lo que produce una lesión al impactar sobre la duramadre (6).

Entre las respuestas fisiológicas que se producen tras la lesión se encuentra el aumento de la presión arterial, la apnea breve, el aumento de la presión intracraneal y el aumento del flujo sanguíneo cerebral (6). A nivel histológico se ha reportado pérdida del tejido cortical y subcortical (41), muerte neuronal (41-43), alargamiento del ventrículo lateral y gliosis en el área circundante (41), aumento de la proliferación de astrocitos entre los 3 días y 1 semana postlesión (44), y alteraciones cognitivas (45). Los efectos varían en función de la localización de la craneotomía (46), encontrándose que la localización medial y caudal produce mayores déficits en la adquisición del laberinto espacial de Morris que la localización rostral y lateral, y la localización rostral produce daño cortical difuso pero poca pérdida celular en el hipocampo.

La principal ventaja de este modelo es que puede inducir diferentes niveles de daño cerebral. No obstante, dado que los mecanismos de daño tisular asociados con la percusión de fluido no son similares a los observados en la clínica y que la velocidad, dirección y desplazamiento del fluido depende de la geometría del cerebro y de la especie empleada, es un modelo con el cual se hace difícil realizar un análisis biomecánico del daño resultante (5).

2.1.1.3. Caída de un peso sobre el cráneo

Este modelo usa la fuerza gravitatoria de la caída libre de un peso para producir la lesión (40). La intensidad de trauma se ajusta en función de la altura desde la que se deja caer el peso (6). La evaluación histológica de este modelo muestra pérdida celular en la zona del impacto y daño bilateral en la corteza y en regiones del hipocampo, así como cambios axonales (35). La ventaja del modelo radica en que es fácil de usar; no obstante, el número de fracturas craneales es elevado cuando la intensidad del trauma es alto, se puede producir daño adicional por rebote (35), y existe una alta variabilidad inter-animal e inter-investigador. Por todo ello, es un modelo poco usado en la actualidad (6) .

2.1.1.4. Modelo de inflado de balón

Este modelo reproduce la compresión por una masa en el cerebro y sirve para estudiar las alteraciones que se producen tras la evacuación de la masa (6).

2.2. EJERCICIO FISICO Y PROCESOS COGNITIVOS

Está bien establecido que el ejercicio físico mejora la salud en general. Numerosos datos demuestran que la falta de ejercicio está asociada a un mayor riesgo de obesidad, enfermedades cardiovasculares, diabetes, osteoporosis, cáncer y depresión (47). Pero además, hay un creciente cuerpo de investigaciones que muestran que el ejercicio físico también mejora las capacidades cognitivas. Los efectos beneficiosos ocurren en aquellos procesos que requieren control ejecutivo como programación, planificación, monitorización y tareas de coordinación (47), así como en los procesos de memoria (48).

Los efectos beneficiosos del ejercicio se han observado tanto en humanos como en animales. En humanos, los datos existentes se han obtenido a partir de estudios epidemiológicos, así como de investigaciones más controladas en las que se introduce el ejercicio físico en personas sedentarias para estudiar su efecto sobre las funciones cognitivas. Por su parte, los trabajos en animales se han realizado por lo general con roedores (ratas y ratones), y comportan ciertas ventajas con respecto a los estudios en humanos, entre las que destaca la reducción de variables extrañas que afectan la

investigación como la adherencia al tratamiento o la covariancia con factores asociados al estilo de vida (dieta, interacción social etc.) (49).

En los estudios con animales se han desarrollado modelos de ejercicio para simular la actividad física en humanos, e incluyen una escala de ejercicio que va desde baja a alta intensidad, intermitente o sostenido, de corta o larga duración (50). Estos modelos son el ejercicio voluntario en una rueda de actividad, ejercicio forzado en una cinta de correr o en una rueda de actividad, y la natación forzada, siendo este último el modelo menos empleado (50).

El ejercicio forzado es un entrenamiento que obliga al animal a correr de acuerdo a unos parámetros de tiempo, distancia y duración establecidos por el experimentador (8), mientras que en el ejercicio voluntario, por el contrario, el animal corre en función de sus necesidades.

Las principales diferencias entre ambos modelos son: 1) el ejercicio voluntario permite al animal determinar cuándo, con qué frecuencia y por cuánto tiempo correr, mientras que los parámetros del ejercicio forzado están predeterminados por el experimentador con lo cual disminuye la motivación, 2) el ejercicio forzado incrementa el número de defecaciones emocionales y la ansiedad en comparación con el ejercicio voluntario, y 3) con el ejercicio voluntario se puede alcanzar una velocidad mucho más alta que con el ejercicio forzado (51). Todas ellas son variables que pueden afectar a los resultados experimentales.

2.2.1. Efectos potenciadores en individuos sanos

2.2.1.1. Estudios en humanos

En humanos, en general, el ejercicio físico está asociado con una mejora de la memoria de reconocimiento (52,53), la atención sostenida y selectiva (54,55), las funciones ejecutivas (56-69) y la memoria (70-72), lo que habla de un efecto potenciador de la función cognitiva (véase tabla 2). Este efecto potenciador se ha observado en las diferentes etapas de la vida: niñez-adolescencia (9-17 años), juventud (18-30 años), mediana edad (36-60 años), y vejez. Esta última la analizaremos en el apartado 2.2.2.1.

El efecto del ejercicio físico en humanos ha sido evaluado en tres tipos de estudios: de intervención, que intentan determinar la influencia del ejercicio sobre la cognición introduciendo este tratamiento en individuos previamente sedentarios; transversales, en los que se intenta establecer una relación entre la condición física y la cognición; y longitudinales, en los que se estudia el efecto del ejercicio a lo largo de varios años, generalmente para determinar su influencia sobre la pérdida de capacidades cognitivas en la vejez, o sobre el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas. Por ello, hablaremos con más detalle, de estos últimos estudios en el apartado 2.2.2.1, dedicado a la vejez.

En los estudios de intervención, suele utilizarse mayormente el ejercicio aeróbico tipo correr, caminar o el ciclismo. Algunos trabajos se han centrado en valorar el efecto que tiene el ejercicio agudo en diferentes funciones cognitivas, mientras otros evalúan el efecto de una intervención más larga empleando el ejercicio crónico o regular durante varias semanas.

Los estudios que usan ejercicio agudo se basan en la premisa de que las respuestas fisiológicas (frecuencia cardíaca, cambios en las catecolaminas, etc) del ejercicio tienen un impacto en la función cognitiva, la cual puede ser valorada antes y durante o después de la sesión de ejercicio, empleando medidas comportamentales (73). En estos trabajos se utiliza una única sesión de ejercicio, que por lo general suele ser aeróbico, en una cinta de correr (63,74) o en una bicicleta estática (53,59,64,65,68,75,76), con una duración de entre 30-40 minutos. En general los resultados de estas investigaciones si bien hablan de un efecto positivo sobre la función cognitiva, no siempre son consistentes.

En algunos de ellos se han reportado efectos negativos cuando la evaluación cognitiva (tests que dependen de la corteza prefrontal) se realiza durante el ejercicio (77). En otras investigaciones se ha encontrado que el efecto positivo deja de observarse cuando la evaluación se realiza posterior a la sesión de ejercicio (1-2, 15, y 30 minutos después) (59,65). Finalmente, en otros estudios se han visto efectos diferenciales del ejercicio en función de la tarea. Así, después de una sesión de ejercicio aeróbico en una bicicleta ergométrica Griffin y col. (53) evaluaron memoria y función ejecutiva y hallaron que el

ejercicio mejoraba la tarea hipocampo-dependiente (memoria) pero no la tarea dependiente de la corteza prefrontal (función ejecutiva).

Finalmente, otro factor a tener en cuenta es la intensidad del ejercicio. En los estudios revisados aquí, los protocolos suelen ser de una intensidad moderada con una duración que varía entre 20-30 minutos o hasta el agotamiento. La intensidad parece tener un efecto en relación con el momento de la evaluación cognitiva. En su estudio metanalítico Chang y col. (73) establecen que cuando la evaluación cognitiva tiene lugar inmediatamente después del ejercicio, intensidades bajas son más beneficiosas, pero cuando la evaluación ocurre tras una demora de más de 1 minuto intensidades moderadas o altas producen un mayor efecto. Respecto a la duración del ejercicio, se ha observado que cuando la evaluación cognitiva se realiza durante la intervención los efectos se producen a partir de 19 minutos de comenzar el ejercicio (65) lo que sugiere que es necesaria cierta cantidad de ejercicio para comenzar a obtener resultados favorables, por lo que se podría pensar que las sesiones de una duración de 20 minutos o más son mejores.

En general, los resultados obtenidos con una única sesión de ejercicio, demuestran que éste produce cambios eventuales (en los neurotransmisores, por ejemplo) que impactan de manera positiva en diferentes funciones cognitivas, lo que hace pensar que una intervención más larga generará cambios más estables que conduzcan a una mejora más sólida a nivel cognitivo.

Por lo que respecta al ejercicio regular, se suele emplear un programa de intervención que varía entre 1 y 6 meses de actividad aeróbica, tipo correr o ciclismo, con una frecuencia de 2-3 días por semana y una duración de entre 30-60 minutos por sesión.

Con este tipo de intervención se ha visto también efectos beneficiosos en diferentes tareas cognitivas. Hotting y col. (78) encontraron que 6 meses de ejercicio aeróbico (ciclismo) y anaeróbico (estiramiento y flexibilidad) producía mejoras en la memoria en sujetos con edades comprendidas entre 40 y 56 años, en comparación con el grupo control. Masley y col. (58) encontraron mejoras en flexibilidad cognitiva cuando se controlaban las variables

por edad, sexo y educación en una muestra de sujetos con edades entre 18 y 70 años. La memoria visuo-espacial (70) y las tareas que requieren control ejecutivo (79) también se ven favorecidas por este tipo de intervención. Al igual que con el ejercicio agudo, los resultados con ejercicio regular no siempre son consistentes o no siempre producen efectos positivos en las funciones cognitivas evaluadas. Por ejemplo Strogh y col. (70) observaron efectos positivos en memoria visuo-espacial pero no en memoria verbal en sujetos que participaron en un programa de ejercicio 30 minutos a la semana durante 6 semanas.

En los estudios transversales, se intenta establecer una relación entre la condición física y la cognición, y para ello se analiza si las personas con una mejor condición física obtienen mejores resultados en las tareas cognitivas estudiadas en comparación con aquéllos que tienen una peor condición física. Algunos de estos estudios se han llevado a cabo con niños y adolescentes en un intento de determinar la utilidad, que para fines académicos, puede tener el ejercicio en esta población. Chaddock y col. (80) asignaron a 39 niños de 9-10 años al grupo de alta y baja condición física en función de los resultados obtenidos en la medición del (VO_{2max}), que es un indicador de la capacidad aeróbica de un individuo. Estos investigadores encontraron que los niños que tenían mejor condición física mostraban mayor control ejecutivo que los de baja condición física. Estos resultados se corresponden con los obtenidos en otros estudios que evalúan la misma función cognitiva (81,82) o la memoria (83). En sujetos de edad más avanzada también se ha encontrado esta asociación positiva entre la condición física y flexibilidad en el control cognitivo (62) y otras tareas cognitivas (60) o entre la condición física y la inteligencia global (84).

Además de evaluar el efecto del ejercicio en la función cognitiva, otros estudios se han centrado en determinar el impacto que tiene el ejercicio en la función cerebral y en diferentes estructuras cerebrales. A diferencia de los trabajos que se realizan en animales, en humanos, este tipo de investigación está limitado a medidas macroscópicas que se hacen mediante técnicas de neuroimagen como la resonancia magnética. Algunos de estos estudios se han realizado en niños e intentan establecer si existe una asociación entre la condición física y la activación cerebral durante la realización de una tarea. Chaddock y col. (80) encontraron que los niños con mejor condición física mostraban un mayor control

ejecutivo sobre todo cuando la demanda de la tarea era mayor, produciéndose a la par, una activación de la corteza parietal y prefrontal. Esto es importante dado que altos niveles de control ejecutivo permiten focalizar la atención selectivamente, inhibir respuestas inapropiadas, una mayor flexibilidad de pensamiento y el mantenimiento de la información en la memoria, las cuales son habilidades necesarias a nivel académico (80). Cuando se realiza una intervención con ejercicio aeróbico, durante 3 meses, también se observa una mayor activación de áreas relacionadas con la tarea, en niños que han realizado ejercicio, lo cual redundará en una mejor ejecución de la tarea (79). Los mismos resultados se han observado en sujetos de 19-24 años (67).

Respecto a los cambios estructurales, se ha estudiado la relación entre el ejercicio, el volumen de determinadas regiones cerebrales y la función cognitiva. Chaddock y col. (81) relacionaron la ejecución en una tarea de control ejecutivo con una alta o baja condición física y con el volumen de regiones específicas de los ganglios basales en niños, y encontraron que los niños con una mejor condición física mostraban un mayor volumen en el caudado, el putamen y el globo pálido en comparación con los niños con una condición física menor. Lo mismo se observó con la tarea cognitiva, los niños con mejor condición física mostraron una ejecución superior en comparación con los niños con una condición física menor. En otra investigación se encontró un incremento en el volumen de del hipocampo (83) una estructura cuya asociación con la memoria espacial está ampliamente documentada. En este estudio se trabajó con memoria relacional y los niños tenían que, por un lado, reconocer si tres formas habían sido presentadas previamente y por el otro, relacionar si tres formas se habían presentado juntas previamente. Los autores encontraron que los niños con una mejor condición física mostraban un mayor volumen bilateral del hipocampo y una mejor ejecución en la tarea en comparación con los niños con una menor condición física (83). Otro de los hallazgos producidos por estos estudios es que el volumen del flujo sanguíneo del GD del hipocampo se incrementa después de un entrenamiento en ejercicio aeróbico en sujetos entre 21 y 45 años (85).

Los investigadores también han realizado estudios electrofisiológicos para valorar el efecto del ejercicio en sistemas neurales que están involucrados en diferentes tareas cognitivas; a

tal efecto se han medido los potenciales relacionados con eventos (PRE). Este componente de los potenciales evocados, ocurre aproximadamente entre 300-800ms después de que el estímulo se ha establecido y proporciona información sobre las fuentes atencionales dirigidas al estímulo (61). La amplitud de la P3 es proporcional a la cantidad de atención dedicada a la codificación del estímulo por la memoria de trabajo, mientras la latencia refleja la velocidad de evaluación cognitiva del estímulo (63). Así por ejemplo, Hillman y col. (63) encontraron que una sesión de ejercicio aeróbico provocaba, en sujetos de 20 años, un incremento de la amplitud de la P3 durante la ejecución de una tarea de función ejecutiva. Por su parte, Kamijo y col. (75) también encontraron que una única sesión de ejercicio aeróbico (ciclismo), de intensidad leve y moderada, provocaba un incremento en la amplitud de la P3, mientras que la latencia sólo se modificaba cuando la condición de la tarea requería más control ejecutivo.

En resumen, el ejercicio físico tanto a edades tempranas como en la etapa media de la vida tiene efectos beneficiosos que se traducen en mejores ejecuciones en diferentes pruebas cognitivas, mayor volumen y activación de diferentes estructuras relacionadas con la función cognitiva, y en definitiva una mayor adaptación funcional del cerebro a las demandas ambientales. No obstante, es necesario tener en cuenta que no todos los resultados son consistentes y no siempre se obtienen resultados positivos ni es eficaz para mejorar todas las funciones cognitivas (véase tabla 2). Hay muchas variables intervinientes que pueden variar el efecto del ejercicio, entre ellas el protocolo de intervención.

Autor	Tipo de estudio	Sujetos edad	Tipo de ejercicio/control	Duración	Intensidad	Tarea	Momento de la evaluación cognitiva	Funciones cognitivas evaluadas	Resultados
Aberg y col. 2009 (84)	Logitudinal	Adultos jóvenes, 15-18 años	Alta condición física Media condición física Baja condición física					Medida de inteligencia global, espacial, técnica, verbal y lógica	Ejercicio regular: + -el incremento en la capacidad cardiorespiratoria entre 15-18 años, se asocia con mejora en la inteligencia global a los 18 años
Chaddock y col. 2012 (86)	Longitudinal	32 niños, 9-10 años	-Alta condición física -Baja condición física	1 año		Flanker Task	Línea base y al año	Función ejecutiva	Ejercicio regular: + - mejor ejecución en la tarea -mayor volumen bilateral en el estriado dorsal y en el globo pálido
Aberg y col. 2009 (84)	Transversal	Adultos jóvenes, 18 años	Medida de capacidad cardiorespiratoria					Medida de inteligencia global, espacial, técnicas, verbal y lógica	Ejercicio regular: + - correlación entre la capacidad cardiorespiratoria y la inteligencia global
Chaddock y col. 2012 (80)	Transversal	32 niños, 9-10 años	-Alta condición física -Baja condición física			Flanker task		Función ejecutiva	Ejercicio regular: + - mejor control cognitivo -mayor activación de cortezas parietal y prefrontal en la tarea de mayor demanda
Chaddock y col. 2009 (83)	Transversal	59 niños, 9-10 años	-Alta condición física -Baja condición física			Tarea de memoria relacional		Memoria	Ejercicio regular: + -mayor volumen bilateral del hipocampo -correlación positiva entre el volumen del hipocampo ejecución de la tarea.
Chaddock y col. 2010 (81)	Transversal	55 niños, 9-10 años	-Alta condición física -Baja condición física			Flanker task		Función ejecutiva	Ejercicio regular: + - superior ejecución en la tarea - mayor volumen en el caudado y putamen izquierdo y en el globo pálido izquierdo y derecho - correlación positiva entre el ejercicio, el volumen del estriado dorsal y el control cognitivo
Kamijo y col. 2009 (60)	Transversal	40 sujetos, 21 años de media.	-Activos físicamente -Sedentarios			Paradigma de priming espacial		Función ejecutiva	Ejercicio regular: + - mejor control ejecutivo - menor latencia de la P3
Kamijo y col. 2010 (57)	Transversal	40 sujetos, media 21.4 años	-Activos físicamente -Sedentarios			Paradigma switching		Función ejecutiva	Ejercicio regular: + -en tareas que requieren mayor control ejecutivo, los sujetos más activos muestran un mejor funcionamiento

Autor	Tipo de estudio	Sujetos edad	Tipo de ejercicio/control	Duración	Intensidad	Tarea	Momento de la evaluación cognitiva	Funciones cognitivas evaluadas	Resultados
Themanson y col. 2008 (62)	Transversal	72 adultos jóvenes, 18-25 años	Medida de la VO ₂ max			Ericksen Flanker	Después del ejercicio	Función ejecutiva	Ejercicio regular: + mayor flexibilidad para implementar el control cognitivo.
Tin-Wu y col. 2011 (82)	Transversal	48 niños, 8-11 años	-Alta condición física -Baja condición física			Flanker task		Función ejecutiva	Ejercicio regular: + correlación positiva entre nivel de condición física y ejecución de la tarea
Audiffren y col. 2009 (59)	Intervención	19 adultos jóvenes, 18-25 años	Ejercicio agudo aeróbico : bicicleta ergométrica	1 sesión, 40 min	Moderado	Generación de números al azar (Random Number Generation)	Antes, durante y después del ejercicio	Función ejecutiva	Ejercicio agudo aeróbico: + -efecto durante el ejercicio, pero no después
Audiffren y col. 2008 (65)	Intervención	28 adultos, 18-25 años	Ejercicio agudo aeróbico: bicicleta ergométrica	1 sesión, 40 min	Moderado	Tiempo de reacción para la elección entre dos estímulos auditivos	Antes, durante y después del ejercicio	Función ejecutiva	Ejercicio agudo aeróbico: + efecto durante el ejercicio, pero no después
Budde y col. 2008 (55)	Intervención	115 jóvenes, 13-16 años	-Ejercicio coordinado (un circuito con diferentes tipos de ejercicio que requiere habilidades de coordinación bilateral) - Grupo control: clase de educación física (sin requisitos de coordinación)	1 sesión, 10 min	Moderado	D2	Antes del ejercicio, y 10 minutos después	Atención y concentración	Ejercicio agudo: + efecto facilitador con ejercicio coordinado, y en menor medida, con la clase de educación física
Budde y col. 2012 (54)	Intervención	46 adultos jóvenes, 19-29 años	-Ejercicio aeróbico agudo. -Grupo control: sin ejercicio	1 sesión, 8 min	Intenso	D2	Después de la intervención	Atención sostenida y selectiva	Ejercicio agudo aeróbico: o -en general, ningún efecto significativo del ejercicio agudo en la tarea - mejora en la ejecución de la tarea, después del ejercicio agudo, sólo en los sujetos con un nivel de actividad física alta

Autor	Tipo de estudio	Sujetos edad	Tipo de ejercicio/control	Duración	Intensidad	Tarea	Momento de la evaluación cognitiva	Funciones cognitivas evaluadas	Resultados
Coles y col. 2008 (76)	Intervención	18 adultos jóvenes, media 22.2 años	Ejercicio agudo aeróbico: bicicleta ergométrica	1 sesión, 40 min	Moderado	Test de Brown-Peterson, set-switching test, recuerdo libre	Antes y después	Memoria y función ejecutiva	Ejercicio agudo aeróbico: 0,+ -no facilita tareas de switching ni de memoria a corto plazo -el recuerdo libre disminuye durante el descanso y en la condición sin ejercicio, pero se mantiene después del ejercicio
Chang y col. 2012 (56)	Intervención	30 adultos, media de 57, 20 años	-Ejercicio agudo de resistencia. -Grupo control: lectura	1 sesión: dos bloques de 7 ejercicios con 10 repeticiones	70% de la repetición máxima del ejercicio	Torre de Londres	Antes y después del ejercicio	Planificación (función ejecutiva)	Ejercicio agudo de resistencia: +
Chang y col. 2009 (69)	Intervención	68 adultos jóvenes, media de 26 años	-Ejercicio agudo de resistencia. -Grupo control.	1 sesión	40%,70%,100 % de la repetición máxima		Línea base, y antes y después del ejercicio	Velocidad de procesamiento y control ejecutivo	Ejercicio agudo de resistencia: + -ejercicio intenso: mejora la velocidad de procesamiento -ejercicio moderado: mejora el control ejecutivo
Davis y col. 2011 (79)	Intervención	171 niños, 7-11 años sedentarios	-Ejercicio aeróbico: saltar la cuerda, fútbol y baloncesto. -Grupo control: sin ejercicio	20 min/día o 40 min/día, 3 meses	Frecuencia cardíaca: 150 latidos por min	Cognitive Assessment System (sistema de evaluación cognitiva) y test de Woodcok – Johnson Test of Achievement III	Línea base y después de la intervención	Planificación, atención y otras	Ejercicio agudo aeróbico : + Ejercicio regular aeróbico : + - mejora en la ejecución cognitiva -efecto dosis dependiente en función ejecutiva y matemáticas - activación de la corteza prefrontal y decremento de la activación de la corteza parietal
Davranche y col. 2009 (87)	Intervención	12 sujetos, media de 32 años	Ejercicio agudo aeróbico: bicicleta ergométrica	1 sesión de 21min	Moderado	Simon task	Durante el ejercicio	Tiempo de reacción (Función ejecutiva)	Ejercicio agudo aeróbico: +,0 mejor tiempo de reacción durante el ejercicio que durante el periodo de descanso. La inhibición de la respuesta se deteriora durante el ejercicio

Autor	Tipo de estudio	Sujetos edad	Tipo de ejercicio/control	Duración	Intensidad	Tarea	Momento de la evaluación cognitiva	Funciones cognitivas evaluadas	Resultados
Dietrich y col. 2004 (77)	Intervención	24 adultos jóvenes, 23.7 años.	Ejercicio agudo aeróbico: (correr o ciclismo). Grupo control: sin ejercicio.	1 sesión, 50 min	Moderado	Test de las cartas de Wisconsin (WCST), test breve de inteligencia de Kaufman (K-BIT), Paced auditory serial Addition (PASAT) y Peabody Picture Vocabulary (PPVT)	25 min después de comenzar el ejercicio	Función ejecutiva y funcionamiento cognitivo general	Ejercicio agudo: - -deterioro en la ejecución de la tarea que mide función ejecutiva
		8 sujetos, media 25.1 años	Ejercicio agudo aeróbico: cinta de correr	1 sesión, 65 min	Moderado		40 minutos después de comenzar el ejercicio	Atención sostenida, memoria de trabajo, habilidades verbales	Ejercicio agudo: -,o -deterioro en atención sostenida y memoria de trabajo. No se observaron diferencias en la habilidad verbal entre condiciones
Grego y col. 2004 (88)	Intervención	12 sujetos, media 29 años	Ejercicio agudo aeróbico: ciclismo	1 sesión, 3 horas	Moderado	Procedimiento odd-ball			Ejercicio agudo: +,- -incremento en la amplitud de la P3 entre la 1era y 2ª hora e incremento en la latencia después de 2 horas -incremento de la atención, y deterioro en la velocidad de procesamiento
Griffin y col. 2011 (53)	Intervención	47 adultos, media de 22 años, sedentarios	- Ejercicio agudo aeróbico: prueba de esfuerzo en una bicicleta ergométrica. - Ejercicio regular aeróbico: bicicleta ergométrica. -Grupo control: sin ejercicio	- 1 sesión -3 días a la semana, 30-60 min, 3 y 5 semanas	-Hasta el agotamiento - Moderado	Tarea de apareamiento cara-nombre, test de Stroop	Antes y después de cada tratamiento	Memoria y función ejecutiva	Ejercicio agudo aeróbico: +,o Ejercicio regular aeróbico: +,? -ejercicio agudo: mejora la tarea de memoria pero no la tarea de control ejecutivo -ejercicio regular: mejora la tarea de memoria después de 5 semanas de tratamiento pero no a las 3 semanas. No se midió función ejecutiva con este protocolo
Hillman y col. 2003 (63)	Intervención	20 adultos, 20 años	Ejercicio agudo aeróbico: una cinta de correr	1 sesión, 30 min		Eriksen flanker task	Antes y después de la sesión de ejercicio	Función ejecutiva	Ejercicio agudo: + -incremento en la amplitud de la P3 - no efecto en la latencia

Autor	Tipo de estudio	Sujetos edad	Tipo de ejercicio/control	Duración	Intensidad	Tarea	Momento de la evaluación cognitiva	Funciones cognitivas evaluadas	Resultados
Hopkins y col. 2012 (52)	Intervención	75 adultos jóvenes, 18-36 años	-Ejercicio agudo: correr o caminar. -Ejercicio regular: correr o caminar. -Grupo control: sin ejercicio	30 min, 1 sesión. 30 min/sesión, 4 semanas	3,5 mph	MRO	Antes y después de la intervención	Memoria episódica	Ejercicio agudo: o -ningún efecto en la MRO Ejercicio regular: + -mejora en la MRO
Hogervorst y col. 1996 (68)	Intervención (atletas)	15 atletas, 18-42 años	Ejercicio agudo aeróbico: una bicicleta ergométrica		75% de su capacidad máxima	Tiempo de reacción, Stroop, tarea de teclear secuencia con el dedo	Antes e inmediatamente después del ejercicio	Función ejecutiva	Ejercicio agudo: + -incremento en la velocidad de ejecución en el Stroop
Holzschneider y col. 2012 (89)	Intervención	47 adultos, 40-55 años	-Ejercicio aeróbico: ciclismo + intervención cognitiva para mejorar las subfunciones de cognición espacial necesarias para la tarea a realizar -Grupo control: estiramiento y coordinación	2 d/semana, 60 min diarios, 6 meses. Entrenamiento Cognitivo: 1-2 sesiones por semana, 40 min (2 últimos meses de ejercicio)		Laberinto virtual	Antes y después de la intervención	Aprendizaje espacial	Ejercicio regular aeróbico: o -mejora en habilidades cognitivas en sujetos con entrenamiento espacial -correlación positiva entre condición física y activación cerebral durante la tarea -no variación de aprendizaje espacial en función de la condición física
Hotting y col. 2012 (78)	Intervención	68 adultos, 40-56 años	-Ejercicio aeróbico: ciclismo. -Ejercicio anaeróbico: estiramiento y flexibilidad. -Grupo control: sedentario	2 días a la semana, 6 meses			Línea base y después de la intervención.	Memoria episódica, velocidad perceptiva, control ejecutivo, razonamiento espacial	Ejercicio regular aeróbico: +, o Ejercicio regular anaeróbico: +, o -ejercicios aeróbico y anaeróbico: facilitan la memoria, -ejercicio anaeróbico: mejora atención selectiva
Joyce y col. 2009 (64)	Intervención	10 sujetos	Ejercicio agudo aeróbico: ciclismo	1 sesión, 30 min	Moderado	Stop Signal Task (TR)	Inmediata y 30 min después del ejercicio	Función ejecutiva	Ejercicio agudo aeróbico: + -mejora la velocidad de respuesta durante el ejercicio en comparación con el periodo de descanso -duración del efecto hasta 52 min después del cese del ejercicio

Autor	Tipo de estudio	Sujetos edad	Tipo de ejercicio/control	Duración	Intensidad	Tarea	Momento de la evaluación cognitiva	Funciones cognitivas evaluadas	Resultados
Kamijo y col. 2007 (75)	Intervención	13 adultos jóvenes, 22-30 años	Ejercicio agudo aeróbico: bicicleta ergométrica.	1 sesión al día de diferente intensidad (3 sesiones en total), 20 minutos	Leve, moderado e intensa	Flanker task	Línea base y después del ejercicio	Función ejecutiva	Ejercicio agudo aeróbico: + -el tiempo de reacción fue menor que en línea base, después del ejercicio independientemente de su intensidad Ejercicio de intensidad leve y moderada: -incremento de la amplitud de la P3 -disminución de latencia de la P3 sólo cuando la tarea requiere más control ejecutivo Ejercicio de intensidad alta: ningún efecto
Labban y col. 2011 (71)	Intervención	48 adultos, media 22.02 años	-Ejercicio agudo aeróbico: bicicleta ergométrica. -Grupo control: sin ejercicio	1 sesión de 30 min	Moderado	New York University Paragraphs	Ejercicio antes de la exposición y después de la exposición	Memoria a largo plazo	Ejercicio agudo aeróbico: + -mejora del recuerdo en ambos grupos de ejercicio pero sólo el grupo de ejercicio antes de la exposición recordó más ítems significativamente
Lo Bue-estes y col. 2008 (74)	Intervención	26 mujeres, 18-25 años	-Ejercicio agudo aeróbico: cinta de correr. -control: sin ejercicio	1 sesión hasta el agotamiento	Intenso		Antes, durante y después del ejercicio	Atención, memoria a corto plazo, memoria de trabajo, memoria visual espacial, tiempo de reacción	Ejercicio regular: +,0 Mujeres activas: menor tiempo de reacción, independientemente del ejercicio agudo. Ejercicio agudo aeróbico: -,0 Deteriora la memoria de trabajo durante e inmediatamente después del ejercicio, pero mejora después de la recuperación
Masley y col. 2009 (58)	Intervención	91 adultos, 18-70 años	-Ejercicio aeróbico. -Grupo control: sin ejercicio	5-6 días por semana, 30-45 min por día, 10 semanas	70-85% de su frecuencia cardíaca	Batería computarizada (The Central Nervous System Vital Signs)	Después de la intervención	Atención, flexibilidad cognitiva, velocidad psicomotora, procesamiento de la información	Ejercicio regular aeróbico: + -mejora de la ejecución cognitiva, sobre todo de la función ejecutiva

Autor	Tipo de estudio	Sujetos edad	Tipo de ejercicio/control	Duración	Intensidad	Tarea	Momento de la evaluación cognitiva	Funciones cognitivas evaluadas	Resultados
Netz y col. 2007 (66)	Intervención	59 sujetos de 50-64 años	-Ejercicio agudo aeróbico. -Grupo control: sedentario	1 sesión de	Moderado y moderado alto	Test de usos alternativos (Guldford's Alternate Uses), span de dígitos directo (Wechsler)	Antes y después del ejercicio	Flexibilidad cognitiva y atención	Ejercicio agudo: +,o -mejora la flexibilidad cognitiva. No afecta a la atención
Pontifex y col. 2009 (61)	Intervención	21 sujetos	-Ejercicio agudo aeróbico -Ejercicio agudo de resistencia -Control: sin ejercicio	30 min		Tarea de memoria de trabajo de Stenberg	Antes, inmediatamente después y 30 min después del ejercicio	Tiempo de reacción (Función ejecutiva)	Ejercicio agudo aeróbico: + Ejercicio agudo anaeróbico: o -efecto inmediatamente y 30 minutos después del ejercicio.
Pereira y col. 2007 (85)	Intervención	11 adultos , 21 a 45 años	Ejercicio aeróbico (ciclismo, cinta de correr, elíptica y escalada)	4 días a la semana, 60 min, 3 meses		Tarea de recuerdo de palabras, Test de aprendizaje auditivo verbal de Rey (RALVT)	Antes y después de la intervención de ejercicio	Memoria	Ejercicio regular: + -mejora de la ejecución cognitiva -incremento del flujo sanguíneo cerebral en el giro dentado del hipocampo -correlación entre ejecución cognitiva postejercicio y el flujo sanguíneo cerebral
Stroth y col. 2009 (70)	Intervención	28 adultos jóvenes , 17–29 años	-Ejercicio aeróbico: correr. - Grupo control: sin ejercicio	30 min por semana, 6 semanas	bajo – moderado	Test de memoria visual, test de memoria verbal, D2	Después de la intervención	Memoria viso-espacial y memoria verbal	Ejercicio regular aeróbico: +,o -mejora de la memoria viso-espacial. -ningún efecto en la memoria verbal
Serwah y col. 2006 (90)	Intervención	8 adultos jóvenes, media 24.5 años	Ejercicio agudo aeróbico: ciclismo + hidratación	1 sesión, 90 min o hasta la fatiga		Tarea de tiempo de reacción	Antes, después de 20 o 40 min del ejercicio, y al finalizar la intervención		Ejercicio agudo: + -mejora el tiempo de reacción a medida que progresa el ejercicio; empeora al finalizar ejercicio.
Winter y col. 2007 (72)	Intervención	30 adultos jóvenes, 19-27 años	-Ejercicio aeróbico (correr) moderado o intenso. - Grupo control: sedentario	1 sesión, 40 min Hasta el agotamiento	Moderado o Intenso	Tarea de aprendizaje de vocabulario	15 min después del ejercicio	Memoria verbal	Ejercicio agudo aeróbico: + Efecto facilitador con ejercicio intenso, pero no con ejercicio moderado

Autor	Tipo de estudio	Sujetos edad	Tipo de ejercicio/control	Duración	Intensidad	Tarea	Momento de la evaluación cognitiva	Funciones cognitivas evaluadas	Resultados
Yanagisawa y col. 2010 (67)	Intervención	20 adultos jóvenes, 19-24 años	-Ejercicio agudo aeróbico: bicicleta ergométrica -Grupo control: sin ejercicio		Moderado	Test de Stroop	Antes y 15 minutos después del ejercicio	Función ejecutiva	Ejercicio agudo aeróbico:+ -mejora significativa en la ejecución cognitiva -mayor activación de la corteza prefrontal (CPF) lateral de ambos hemisferios, siendo significativa en la CPF dorsolateral izquierda. -correlación positiva entre activación CPF dorsolateral izquierdo y mejora de la tarea

Tabla 2. Ejercicio y funciones cognitivas en humanos.

2.2.1.2. Estudios en animales

En concordancia con los estudios en humanos, en animales (ratas y ratones) también se ha observado que en general el ejercicio es capaz de mejorar las funciones cognitivas, en especial el aprendizaje y la memoria (véase tabla 3). Como se dijo anteriormente, en roedores se ha empleado principalmente dos tipos de ejercicio, el voluntario en una rueda de actividad y el forzado en una cinta de correr o en una rueda de actividad. No obstante, al igual que ocurre con estudios en humanos, los resultados son discrepantes, debido probablemente a diferentes factores tales como el tipo de ejercicio empleado (voluntario o forzado) (8,51), la duración y la intensidad de la actividad física (91), y el tipo y dificultad de la tarea (92). Del mismo modo algunas investigaciones revelan que el ejercicio puede mejorar selectivamente determinados aspectos de una tarea, por ejemplo la adquisición o la retención (22,93).

Son pocas las investigaciones que han evaluado el efecto del ejercicio, bien sea forzado o voluntario, en las tareas que no dependen del hipocampo. Una de estas tareas es la evitación activa de dos sentidos en la que el animal debe asociar una señal (generalmente un tono) con un choque eléctrico, y debe aprender que tras la presentación de esta señal debe cruzar al compartimiento adyacente para evitar recibir un choque eléctrico en las patas. Esta tarea depende del estriado (94), y se ha visto que el ejercicio voluntario regular no tiene efectos ni en la adquisición ni en la retención evaluada 20 días después de la sesión de adquisición (95).

El miedo condicionado a una señal es una tarea dependiente de la amígdala. Esta estructura media la formación de conductas que se basan en la asociación de un estímulo neutro con eventos biológicos que tienen propiedades afectivas (94). Baruch y col. (96) hicieron uso de esta tarea para evaluar el efecto del ejercicio voluntario sobre el miedo condicionado por señales sin encontrar efectos positivos. Por el contrario, Falls y col. (97) observaron una potenciación del miedo condicionado a una señal tras someter a ratones a ejercicio voluntario durante dos semanas.

Existe un mayor cuerpo de investigaciones que han estudiado el efecto del ejercicio en tareas hipocampo-dependientes. Muchas de estas tareas requieren que los animales hagan una asociación entre los estímulos y el contexto. Una de las más empleadas por los investigadores ha sido el laberinto acuático de Morris, la cual requiere el uso de señales contextuales para determinar la localización de una plataforma sumergida. Con ejercicio forzado, la mayoría de las investigaciones han reportado mejoras en la ejecución de esta tarea. Estos efectos se han visto tanto en ratas (16,98-100) como en ratones (101), aunque se ha reportado que en edades avanzadas (9 y 12 meses de edad), este tipo de ejercicio no produce efectos beneficiosos (98). La intensidad del ejercicio forzado parece influir en el efecto que produce sobre esta tarea, probablemente debido a que este tipo de ejercicio genera estrés, y que la duración y la intensidad del estrés tienen efectos diferenciales en la memoria, siendo los niveles más altos más deteriorantes. Blustein y col. (102) encontraron que las ratas sometidas a ejercicio forzado de alta intensidad recorrieron más distancia para encontrar la plataforma de escape en comparación con aquéllas que estaban sometidas a un protocolo de ejercicio de baja intensidad, concluyendo que este tipo de ejercicio, a una intensidad alta, deteriora la adquisición de la tarea y no promueve el aprendizaje espacial.

La mayoría de los estudios con ejercicio voluntario, también reportan efectos beneficiosos sobre el aprendizaje en el laberinto de Morris cuando los animales tienen acceso libre a la rueda de actividad (103-105), pero no cuando el acceso se restringe (51). Hay que hacer notar que no siempre el ejercicio voluntario o el forzado pueden mejorar tanto la adquisición como la retención, sino que a veces sólo tiene efectos en algunos de los dos procesos (22).

El aprendizaje espacial en el laberinto de Barnes ha sido poco empleado para estudiar el efecto del ejercicio. Esta tarea es parecida al laberinto de Morris pero sin el uso de agua. En ella los animales deben aprender la ubicación de un túnel de escape guiándose por señales espaciales en un entorno con iluminación intensa. Usando esta tarea se ha observado que 14 días de ejercicio voluntario, con acceso libre a la rueda, mejoran la adquisición de la misma (Jacotte Simancas y col. 2012).

El laberinto radial es otra de las tareas hipocampo-dependiente que ha sido utilizada para valorar el efecto del ejercicio en la función cognitiva de los roedores. De las investigaciones revisadas aquí, esta tarea se ha evaluado sólo con ejercicio voluntario. En uno de estos trabajos se observó que tras 7 semanas de ejercicio voluntario los animales necesitaron un 30% menos de ensayos para adquirir el criterio de ejecución en el laberinto radial de 8 brazos, en comparación a los animales sedentarios (106). También se ha visto que el ejercicio voluntario regular no afecta sustancialmente la memoria de trabajo (el animal ha de evitar volver al mismo brazo que contenía el reforzador en el ensayo anterior), pero sí la memoria de referencia (el animal ha de recordar las reglas que determinan qué brazos son los reforzados) (107).

Una variante de esta tarea es el laberinto radial acuático, considerado un híbrido entre el laberinto de Morris y el laberinto radial, que tiene la ventaja de que no requiere la privación de alimento. Se ha demostrado que 6 semanas de ejercicio voluntario contribuye a mejorar la adquisición de la tarea a partir del segundo día, a la par que mejora la memoria a corto, medio y largo plazo (30 minutos, 5 y 24 horas después de la fase de adquisición, respectivamente) (108).

Otra tarea dependiente de hipocampo es la evitación pasiva, en la que los animales deben aprender a no entrar en una cámara oscura para evitar así recibir una descarga eléctrica en las patas. El ejercicio forzado tiene también un impacto positivo sobre esta tarea (109-111), mientras que con el ejercicio voluntario no se ha observado efectos (109).

Algunos trabajos con ejercicio voluntario también han reportado la mejora del aprendizaje y la memoria de una tarea de miedo condicionado a un contexto, que se evidencia en un aumento de los niveles de freezing (respuesta de inmovilización o congelamiento) cuando los animales regresan a la caja de entrenamiento que ha sido previamente asociada a una descarga eléctrica en las patas. Aunque en esta tarea están involucrados tanto el hipocampo como la amígdala, la actividad física promueve el aprendizaje contextual a través del hipocampo, siendo éste último crítico para la memoria de contexto, mientras la amígdala almacena la asociación entre el contexto y el choque durante el condicionamiento (112). El

ejercicio voluntario regular, previo a la adquisición del miedo condicionado, facilita el aprendizaje y la memoria de esta respuesta, (96,113-115), aunque no tiene efectos en la extinción (116).

En un estudio más reciente, Greenwood y col. (116) llevaron a cabo una investigación para estudiar si el ejercicio voluntario facilitaba el miedo a un contexto y para valorar si tenía efectos en otras conductas como la generalización y la extinción. Observaron que el ejercicio previo al condicionamiento mejoraba la memoria pero no tenía efecto en la extinción mientras que el ejercicio posterior al condicionamiento no tenía ningún efecto. También encontraron que el ejercicio reducía la generalización de la conducta de miedo a un nuevo contexto que no había sido previamente asociado con un choque eléctrico es decir, el ejercicio facilitaba la discriminación entre diferentes contextos.

Finalmente, la tarea de reconocimiento de objetos evalúa el recuerdo de un objeto presentado previamente, sobre la base de que los roedores tienen más tendencia a explorar los objetos novedosos que los familiares. Esta tarea parece estar relacionada con la corteza perirrinal, y en determinadas circunstancias también con el hipocampo (117-119). En un estudio realizado en nuestro laboratorio en el que los animales estuvieron en la rueda de actividad durante 9 semanas, se observó que aquellos que corrieron de forma ligera mejoraron su recuerdo a las 24 y a las 72 horas después de la sesión de adquisición (95). Con el ejercicio forzado también se han reportado mejoras en la retención de la tarea medida 24 horas después de la sesión de adquisición (120), incluso cuando la dificultad de la tarea es mayor (92). En este estudio, Griffin y colegas evaluaron la modalidad estándar de la tarea y la memoria de localización de objeto empleando 3 y 4 objetos respectivamente y encontraron que el ejercicio físico forzado facilitaba la retención en ambas modalidades.

Un aspecto interesante es el curso temporal del efecto del ejercicio sobre las funciones cognitivas. Hopkins y col. (121) evaluaron el efecto del ejercicio voluntario en la memoria de reconocimiento de objetos empleando animales de 25 días y de 8 semanas. Si bien 4 semanas de ejercicio mejoraron la retención en los animales adultos, el efecto no se mantuvo tras dos semanas de cesar el mismo; en los animales adolescentes, 4 semanas de

ejercicio no afectaron la retención cuando se evaluó inmediatamente después, pero sí la mejoró tras 3 y 4 semanas de cesar el ejercicio (121). Esto sugiere que cuando el ejercicio se realiza en etapas tempranas tiene efectos más persistentes que cuando se realiza en edades más avanzadas. En un estudio realizado en nuestro laboratorio en el que se utilizó ejercicio voluntario para determinar el efecto que tiene sobre la memoria espacial medida en el laberinto de Barnes, se encontró que tras 15 días sin acceso a la rueda de actividad, no se observaron diferencias entre los animales con ejercicio y sedentarios, ni en la retención de la tarea previa, ni en la adquisición de una tarea equivalente en la que se había cambiado la posición de la caja de escape (Jacotte Simancas y col. 2012). Berchtold y col. (93) encontraron que luego de 3 semanas de ejercicio voluntario los ratones que fueron entrenados en el laberinto acuático radial, tras una demora de 1 semana mostraron una más rápida adquisición y una mejor retención para localizar la plataforma de escape.

En conclusión se puede decir que el efecto del ejercicio se ha observado sobre todo en tareas que dependen del hipocampo, como el aprendizaje espacial, mientras que en los pocos trabajos realizados con tareas no hipocampo-dependientes, en la mayoría de los casos no se ha observado ningún efecto. De las investigaciones revisadas también se desprenden tres aspectos importantes que parecen influir en los efectos del ejercicio sobre los procesos cognitivos:

- La intensidad/cantidad del ejercicio. En algunos trabajos se ha visto que el nivel de actividad influye en los resultados, aunque la naturaleza de esta influencia parece depender del tipo de tarea. En este sentido, en la memoria de reconocimiento de objetos, los niveles bajos de actividad parecen mejorar la ejecución (95), mientras que en tareas de miedo condicionado al contexto parece ser mejor un nivel alto de ejercicio (113). Por su parte, en el laberinto de Morris una intensidad moderada no produce efectos significativos y niveles altos deterioran la tarea (102). No obstante, es necesario realizar más investigaciones para intentar dilucidar los efectos de la intensidad en diferentes tareas y comparando el ejercicio forzado y voluntario.

- El tiempo que duran los efectos del ejercicio una vez que éste ha cesado. Si bien con el ejercicio voluntario se ha llegado a ver efectos facilitadores tras una semana sin ejercicio (93), en otros trabajos no se ha visto efecto del ejercicio cuando éste finaliza 15 días antes del aprendizaje ((121) (Jacotte Simancas y col. 2012)). No obstante, son necesarias más investigaciones a fin de determinar el curso temporal del efecto tanto del ejercicio voluntario como del forzado, así como la cantidad de ejercicio previo que se requiere para prolongar el efecto del mismo.

Autor/año	Animal	Edad	Tipo de ejercicio	Duración del ejercicio	Tarea	Tipo de tarea cognitiva	Resultados de la evaluación cognitiva
Adlard y col. 2011 (122)	Ratones C57/Bl6	-2 meses - 24 meses	Voluntario	1 semana	Evitación activa de dos sentidos	No hipocampo dependiente	Ratones 2 meses: + Ratones 24 meses: +
Ahmadi y col. 2008 (98)	Ratas Wistar	3 meses	Forzado	3,6 y 9 meses	Laberinto de Morris	Hipocampo dependiente	Animales de 6 meses: + Animales de 9 y 12 meses: 0
Alaei y col. 2006 (110)	Ratas Wistar	95 días.	Forzado + uso de morfina	10 días	Evitación Pasiva	Hipocampo-dependiente	+
Anderson y col. 2000 (106).	Ratas Long Evans	5 meses	Voluntario	7 semanas	Laberinto Radial	Hipocampo dependiente	+
Ang y col. 2006 (99)	Ratas Wistar		Forzado	12 semanas	Laberinto de Morris	Hipocampo-dependiente	+
Baruch y col. 2004 (96)	Ratas Long Evans		Voluntario	30 días	Miedo condicionado: - a señal -a contexto	Dependiente de amígdala Dependiente de hipocampo	0 +
Berchtold y col. 2010 (93)	Ratones C57bl/6	2 meses	Voluntario	3 semanas	Laberinto Radial en agua -Inmediatamente tras ejercicio -Tras 1 semana -Tras 2 semanas	Hipocampo dependiente	- Los animales con ejercicio mostraron mejor ejecución en la tarea en comparación con los sedentarios - Aprendizaje Inmediatamente tras ejercicio: adquisición: 0 Memoria: + -Aprendizaje tras una semana sin ejercicio: adquisición: + Memoria: 0
Billig y col. 2008 (123)	Ratas Wistar	45 y 80 días	Forzado + estrés	8 semanas (crónico) o 2 semanas (agudo)	Laberinto de Morris MRO	Hipocampo-dependiente No hipocampo-dependiente	Laberinto de Morris -2 semanas: 0 -8 semanas: 0 MRO: -2 semanas: - -8 semanas: 0
Billig Mello y col. 2009 (124)	Ratas Wistar con privación maternal	21 días	Forzado	8 semanas	Laberinto Morris Evitación pasiva y MRO	Hipocampo dependiente no hipocampo dependientes	Laberinto de Morris: + (sólo en adquisición) Evitación pasiva: + MRO: 0
Blustein y col. 2006 (102)	Ratas Sprague-Dawley	2-3 meses	Forzado (alta y baja intensidad)	7 días	Laberinto de Morris	Hipocampo-dependiente	Ejercicio de alta intensidad: - Ejercicio de baja intensidad: 0
Braszko y col. 2001 (125)	Ratas Wistar	6 semanas	Forzado	3 semanas	No apareamiento con la muestra demorado (Delayed non-matching-to sample)	Working memory	-

Autor/año	Animal	Edad	Tipo de ejercicio	Duración del ejercicio	Tarea	Tipo de tarea cognitiva	Resultados de la evaluación cognitiva
Burghardt y col. 2004 (91)	Ratas Sprague-Dawley		Voluntario y Forzado	4 y 8 semanas el ejercicio voluntario y 8 semanas el ejercicio forzado	Miedo condicionado al contexto	Hipocampo-dependiente	0
Burghardt y col. 2006 (113)	Ratas Sprague-Dawley		Voluntario	8 semanas	Miedo condicionado a un contexto	Hipocampo-dependiente	+
Cassilhas y col. 2012 (126)	Ratas Wistar	3 meses	-Ejercicio forzado -Ejercicio de resistencia (5 sesiones por semana, 8 sesiones de escalada)	8 semanas	Laberinto de Morris	Hipocampo-dependiente	Ejercicio forzado: + Ejercicio resistencia: +
Christie y col. 2005 (127)	Ratas Sprague-Dawley con exposición prenatal al alcohol	54 días	Voluntario		Laberinto de Morris	Hipocampo-dependiente	Reducción de los déficits cognitivos
Chytrova y col. 2009 (104)	Ratas Sprague-Dawley	2 meses	Voluntario + suplemento dietético	12 días	Laberinto de Morris	Hipocampo-dependiente	Ejercicio: + Ejercicio + suplemento dietético: +
Falls y col. 2010 (97)	Ratones C57Bl6/j	2 meses	Voluntario	2 semanas	Miedo condicionado a un tono	Dependiente de la amígdala	+
Fordyce y col. 1993 (101)	Ratones C57BL/6lbg y DBA/2lbg	3 meses de edad	Forzado	8 semanas	Laberinto de Morris	Hipocampo dependiente	+
García-Capdevilla y col. 2009 (95)	Ratas Wistar	60 días	Voluntario	9 semanas	MRO Evitación activa en dos sentidos	Hipocampo-dependiente No hipocampo-dependiente	MRO: Ejercicio leve: + Moderado: 0 Intenso: 0 Evitación activa 2 sentidos: 0
Greenwood y col. 2003 (115)	Ratas Sprague Dawley		Voluntario	6 semanas	Evitación activa de dos sentidos Miedo condicionado a un contexto	No hipocampo dependiente Hipocampo dependiente	+ +
Greenwood y col. 2005 (114)	Ratas F344		Voluntario	3 o 6 semanas	Evitación activa de dos sentidos Miedo condicionado a contexto	No hipocampo dependiente e Hipocampo dependiente	6 semanas de ejercicio: +, +

Autor/año	Animal	Edad	Tipo de ejercicio	Duración del ejercicio	Tarea	Tipo de tarea cognitiva	Resultados de la evaluación cognitiva
Greenwood y col. 2007 (128)	Ratas F334		Voluntario	2 o 6 semanas	Evitación activa de dos sentidos Miedo condicionado a un contexto	No hipocampo dependiente Hipocampo dependiente	6 semanas de ejercicio: +,+
Greenwood y col. 2009 (116)	Ratas F344		Voluntario	6 semanas	Miedo condicionado a un contexto	Hipocampo-dependiente	Ejercicio antes del condicionamiento: Memoria: + Extinción: 0 Ejercicio después del condicionamiento: 0
Griffin y col. 2009 (92)	Ratas Wistar		Forzado	7 días	MRO	Hipocampo-dependiente y no hipocampo dependiente	MRO (en las dos modalidades): +
Hansalik y col. 2006 (129)	Ratas Sprague Dawley	5,10, 18 meses	Voluntario y Forzado		Laberinto de Morris	Hipocampo-dependiente	Ratas de 5 meses: 0 Ratas de 10 y 18 meses: 0
Hopkins y col. 2010 (130)	Ratas Long Evans	2 meses	Voluntario	2 semanas	Miedo condicionado al contexto	Hipocampo dependiente	-Aprendizaje en primera parte del ciclo de luz: + -Aprendizaje al final del ciclo de luz: -
Hopkins y col. 2011 (121)	Ratas Long Evans	-2 meses -25 días	Voluntario	4 semanas	MRO - inmediatamente tras ejercicio -Tras 2 semanas	No hipocampo-dependiente	MRO inmediatamente tras ejercicio: - Ratas 2 meses: + - Ratas adolescentes: 0 MRO 2 semanas después ejercicio: - Ratas 2 meses: 0 - Ratas adolescentes: +
Ing Cheng y col. 2008 (111)	Ratas Sprague Dawley	4-6 semanas	Forzado	4 semanas	Evitación pasiva	Hipocampo-dependiente	+
Khabour y col. 2010 (108)	Ratas Wistar	5 meses	Voluntario + restrcción dietética	6 semanas	Laberinto Radial en agua	Hipocampo-dependiente	+
Jacotte Simancas y col. 2012 proceso de publicación	Sprague-Dawley	2 meses	Voluntario	18 días	Laberinto de Barnes	Hipocampo-dependiente	Adquisición: + Memoria a largo plazo: 0 Aprendizaje de <i>Reversal</i> (tras 2 semanas sin ejercicio): 0
Langdon y col. 2012 (131)	Ratas Sprague Dawley	2 meses	Voluntario + entrenamiento cognitivo	-2 h/ día, 5 días/ semana, 2 semanas -4 h/día, 5 días/ semana, 2 semanas	Laberinto Radial de 8 brazos	Hipocampo-dependiente	Ejercicio físico + ejercicio cognitivo: +
Leasure y col. 2008 (51)	Ratas Long Evans		Voluntario y Forzado	8 semanas	Laberinto de Morris	Hipocampo-dependiente	Ejercicio voluntario: 0 Ejercicio forzado: 0
Liu y col. 2009 (109)	Ratones Balb C	3 meses	Voluntario y Forzado	28 días	Evitación pasiva y Laberinto de Morris	Hipocampo-dependientes	Ejercicio forzado: Evitación pasiva: + Memoria espacial: + Ejercicio voluntario: Evitación pasiva: 0 Memoria espacial: +

Autor/año	Animal	Edad	Tipo de ejercicio	Duración del ejercicio	Tarea	Tipo de tarea cognitiva	Resultados de la evaluación cognitiva
Molteni y col. 2004 (105)	Fisher 344	2 meses	Voluntario + dieta alta en grasa	2 meses	Laberinto de Morris	Hipocampo-dependiente	Ejercicio + dieta normal: + (adquisición y retención) Ejercicio + dieta alta en grasa: + (Normaliza ejecución)
Ni y col. 2011 (100)	Ratas Sprague Dawley	21 días	Forzado	6 días	Laberinto de Morris	Hipocampo dependiente	Adquisición: + Memoria: 0
O'Callaghan y col. 2007 (120)	Ratas Wistar	4 meses	Forzado	7 días	MRO Laberinto de Morris	No hipocampo dependiente Hipocampo dependiente	MRO: + Laberinto de Morris: 0
Radak y col. 2001 (132)	Ratas Wistar	4 semanas y 14 meses	Natación	9 semanas	Evitación pasiva y Evitación activa (pole-jumping)	Hipocampo-dependiente s	Ratas de 4 semanas: + (ambas tareas) Ratas de 14 meses: + (evitación activa)
Radak y col. 2006 (133)	Ratas Wistar	13 meses	Natación	8 semanas	Evitación pasiva	Hipocampo-dependiente	+
Schweitzer y cols 2006 (107)	Ratas Sprague-Dawley		Voluntario -Acceso libre a rueda -En caja de actividad física, sesiones de 60 min 2 veces por semana.		Laberinto Radial de 8 brazos	Hipocampo-dependiente	Ejercicio de acceso libre: + Ejercicio restringido: +
Uysal y col. 2005 (16)	Ratas Wistar	22 días	Forzado	8 semanas	Laberinto de Morris	Hipocampo-dependiente	+
Van der Borgh y col. 2007 (134)	Ratones CB57BL/6	10 semanas	Voluntario	14 días	Laberinto en Y	Hipocampo dependiente	Adquisición: + Retención: + Aprendizaje de <i>Reversal</i> : +
Vaynman y cols 2004 (103)	Ratas Sprague-Dawley	3 meses	Voluntario	1 semana	Laberinto de Morris	Hipocampo-dependiente	+

Tabla 3. Ejercicio y funciones cognitivas en animales.

2.2.2. Efectos neuroprotectores y neuroreparadores

2.2.2.1. Pérdida de memoria asociada a la vejez

Con el incremento en la expectativa de vida ha aumentado en la población el porcentaje de personas que alcanzan una edad en la que es común sufrir un declive cognitivo y/o algún tipo de enfermedad neurodegenerativa. Por ello, existe un creciente interés, por parte de los investigadores, en el estudio de la influencia que tienen diferentes factores del estilo de vida (interacción social, nutrición y actividades físicas) sobre la capacidad cognitiva de los adultos mayores (135). Uno de estos factores, el ejercicio físico, ha generado numerosas investigaciones en las que se ha intentado determinar si éste produce cambios a nivel cognitivo en la población mayor y reduce el riesgo de sufrir demencia. El ejercicio se ha convertido así en uno de los factores del estilo de vida más críticos asociados con la preservación de la función cognitiva en la población mayor (136). Así lo demuestran los estudios epidemiológicos y los de intervención, los cuales no sólo han medido los efectos que el ejercicio tiene sobre diferentes funciones cognitivas como la atención, la velocidad de procesamiento de la información y el control ejecutivo, sino que también han evaluado el impacto que genera sobre la estructura, la función cerebral y la plasticidad neural.

En general, los estudios longitudinales demuestran que el ejercicio físico tiene un efecto positivo sobre la función cognitiva, en sujetos de edad avanzada (a partir de 60 años), que se evidencia en una reducción del declive cognitivo, medido generalmente con el Mini Mental Examination Test (un test de screening cognitivo que valora diferentes dominios sobre una escala de 30 puntos), o en un decremento del riesgo de sufrir demencia (véase tabla 4). El ejercicio, por tanto, parece ser capaz de preservar las funciones cognitivas, protegiendo contra el establecimiento de la EA u otras demencias o reduciendo el riesgo de padecer dichas enfermedades.

En este tipo de estudios, los datos sobre el ejercicio físico se obtienen generalmente mediante un informe que realizan los sujetos, sobre la frecuencia, duración y la intensidad con la que participan en determinadas actividades físicas como caminar, correr, montar en bicicleta, nadar, etc., luego de lo cual realizan un seguimiento durante algunos años (1-12 años), evaluando el curso de la función cognitiva.

Son varios los factores que influyen en el efecto que tiene el ejercicio. El nivel de actividad física realizada parece influir de manera diferencial en los resultados, siendo los niveles altos los más beneficiosos. Por ejemplo, Sturman y col. (137) llevaron a cabo un estudio longitudinal con un seguimiento de 6,4 años en sujetos que reportaron cuál era su participación en diferentes actividades físicas y no encontraron efectos positivos del ejercicio (caminar) sobre la función cognitiva, argumentando que pudo ser debido a que los niveles de actividad física fueron bajos (el 61,8% de la población estudiada caminaba menos de 0,4 km/día). De la misma forma, Abbott y col. (138) hallaron que las personas que caminaban menos de 3,2 km/día tenían mayor riesgo de padecer EA en comparación con aquellos que caminaban más. Por su parte Laurin y col. (139) encontraron que la actividad física, fuera baja, alta o moderada, estuvo asociada a un menor déficit cognitivo, mientras que sólo los niveles bajo y moderado se asociaron con un menor riesgo de demencia. En este estudio el nivel de la actividad física se definió en función del número de días a la semana que se dedicaban a caminar, nivel bajo (menos de 3 días por semana), moderado (3 días por semana) o alto (más de 3 días por semana) y la intensidad (menos vigoroso que caminar, igual que caminar y más vigoroso que caminar).

Otro aspecto que se deriva de estos estudios es que el ejercicio parece afectar diferencialmente a mujeres y hombres, aunque los resultados no quedan claros. Por ejemplo, las mujeres que hacen ejercicio más de 4 horas/semana tienen menor riesgo de padecer déficits cognitivos (88%) comparadas con las menos activas, mientras que este efecto no se observa en los hombres (140). Y en el trabajo de Laurin y col. (139) mencionado más arriba, el efecto beneficioso del ejercicio fue más intenso en las mujeres que en los hombres. Las mujeres más activas mostraron aproximadamente una reducción del 50% de los déficits cognitivos y del 60% de sufrir EA en comparación con las menos activas, mientras que en los hombres esta asociación no fue significativa. Contrariamente, Dik y col. (141) encontraron que los hombres, pero no las mujeres, que eran más activos físicamente a una edad más temprana, mostraron una mejor ejecución en velocidad de procesamiento de la información cuando eran mayores.

Resulta interesante destacar la posible interacción del ejercicio con la predisposición genética de padecer de EA. En este sentido, en algunas investigaciones no se ha observado ninguna influencia de la predisposición genética (142); en otras, la reducción del riesgo de demencia en los sujetos más activos físicamente se produce en sujetos con un alto riesgo genético de padecer la enfermedad (143); y en otras, se produce en los sujetos que no son portadores (144). Son necesarias más investigaciones dirigidas a aclarar qué población puede beneficiarse más de este tipo de intervención.

Aunque la mayoría de estos estudios miden el ejercicio en base a un informe que hacen los sujetos acerca de su participación en actividades físicas, Barnes y col. (145) incluyeron una medición objetiva sobre la capacidad cardiorespiratoria de los participantes y encontraron una relación inversa significativa entre la medición objetiva del ejercicio y el declive cognitivo.

En líneas generales, los datos aportados por los estudios longitudinales reflejan una relación inversa entre la actividad física y el declive cognitivo y/o el riesgo de sufrir demencia, si bien los resultados son poco consistentes debido a diferentes factores como el tamaño de la muestra, la forma de recoger información sobre el ejercicio, el fallo a la hora de distinguir entre el ejercicio aeróbico y anaeróbico, la forma de valorar la intensidad, la frecuencia y la duración de las actividades, y la dificultad de eliminar sujetos con signos sub-clínicos de demencia (135).

En los estudios de intervención, como se dijo en un apartado anterior, se incorpora aleatoriamente a los sujetos a un grupo de ejercicio y un grupo control y, tras una medición de línea base, se realiza una intervención, luego de lo cual se valora el efecto que tiene el ejercicio sobre diferentes funciones cognitivas (véase tabla 5).

Para esta población, estos estudios utilizan tres tipos de ejercicio: de resistencia, aeróbico y anaeróbico. El primero ha sido poco utilizado hasta la fecha, y comprende actividades tales como flexión y extensión de bíceps y tríceps, elevación de talones, uso de bandas elásticas, etc. Su intensidad se ajusta en función del número de repeticiones realizadas de cada

ejercicio. Los resultados con este tipo de ejercicio son equívocos, dado que algunas investigaciones reportan efectos positivos (146,147) mientras otras no (148-150). Con respecto a los otros dos tipos de ejercicio, los investigadores refieren que el ejercicio aeróbico está asociado con mejores ejecuciones a nivel cognitivo mientras que el ejercicio anaeróbico no tiene el mismo efecto (151). Esto se deriva de los resultados de numerosas investigaciones en las que usando ejercicio aeróbico del tipo caminar, correr o montar en bicicleta, se observaron mejorías en la memoria (152) y el control ejecutivo (153,154). Son pocas las investigaciones que utilizan el ejercicio anaeróbico como intervención (152), y generalmente se emplea en el grupo de control (153,155).

De estos estudios se desprende que la duración del programa de intervención puede tener influencia sobre los efectos que se observan a nivel cognitivo. En las intervenciones con ejercicio de resistencia, casi todos los trabajos reportados que tienen un programa de intervención con una duración de 2 (148) 3 (149) o 6 meses (150) no tienen efectos, (149,150) mientras que los estudios con programas de intervención más largos, por ejemplo, 12 meses (147) sí reflejan efectos beneficiosos. En cuanto al ejercicio aeróbico, la mayoría de las investigaciones reseñadas en este trabajo y que reportan efectos beneficiosos emplean un programa de ejercicio de 6 meses (152,154,156,157) o más (153) con lo que no podemos observar si el ejercicio aeróbico con programas de corta duración impactan de igual manera.

La duración de las sesiones de ejercicio también parece ser un factor importante. En la mayoría de los estudios que hemos revisado, suelen utilizar sesiones que se incrementan gradualmente hasta llegar a una duración de 40-45 minutos (155,158,159) o bien tienen una duración pre-establecida que puede variar entre 25-30, 60 o 90 minutos (152,153,160,161). En un estudio meta-analítico Colcombe y col. (162) hallaron que sesiones con una duración de 31 a 45 minutos tenía mejores efectos que aquellos programas con una duración menor a 30 minutos.

Finalmente, la intensidad es otra variable que parece influir en los efectos que tiene el ejercicio sobre las funciones cognitivas. Por ejemplo, en el ejercicio de resistencia, como se dijo anteriormente, la intensidad del entrenamiento varía en función del número de

repeticiones que se realizan en cada ejercicio. Lachman y col. (150) por ejemplo, utilizaron 35 minutos de un video con un programa de 10 ejercicios con bandas elásticas e instruyeron a los sujetos a emplear bandas de más resistencia si completaban, sin fatiga, 10 repeticiones de un ejercicio, por lo que podría decirse que es una intensidad baja. Este grupo no encontró efectos del ejercicio sobre la memoria. Por el contrario, en el grupo de Cassilhas y col. (163), aunque la duración de la intervención fue de 6 meses, la intensidad del ejercicio empleada fue moderada y alta, y encontraron efectos positivos en la memoria. Esto quizás indique que entrenamientos de corta duración son efectivos si la intensidad del ejercicio es mayor.

Otro aspecto a destacar son las funciones cognitivas que se ven beneficiadas por el ejercicio físico. Si bien el ejercicio es capaz de mejorar el estatus cognitivo global (164) y funciones cognitivas en particular como la memoria (152,156,163), la velocidad de procesamiento y la función visuo-espacial (162), la mayoría de los estudios demuestran que las tareas que requieren más control ejecutivo se benefician más (146,147,153,154,157,165), siendo éstas las funciones cognitivas más estudiadas. El control ejecutivo se refiere a las capacidades que ayudan al individuo a actuar de forma organizada, flexible, permitiendo adaptarse a las situaciones nuevas que se plantean (166) e incluye actividades relacionadas con la organización, planificación, anticipación, inhibición, memoria de trabajo, flexibilidad, autorregulación y control de la conducta (167). Es una función que depende de la integridad del lóbulo frontal y al ser ésta una de las regiones cerebrales afectadas por la edad (168), esta función suele verse deteriorada, con la consiguiente implicación que tienen para la vida normal de estas personas.

Un factor importante es a qué edad genera más beneficios el ejercicio. En el meta-análisis de Colcombe y col. (162) destaca que el tamaño del efecto varía en función de la edad de los participantes. Ellos establecieron tres rangos de edad: 55-65, 66-70 y 71-80 y el tamaño del efecto fue 0.29, 0.69 y 0.55, respectivamente.

Es importante saber si las ganancias que se obtienen con el ejercicio se mantienen en el tiempo una vez que el tratamiento ha finalizado o si por el contrario finalizan al cesar el mismo. Davis y col. (169) estudiaron si los efectos del entrenamiento en resistencia (1 o 2

sesiones de ejercicio a la semana durante 1 año) se mantenían 1 año después de cesar la intervención, y encontraron que los sujetos que habían realizado ejercicio 1 vez a la semana mostraron una mejoría del 15% en el test de Stroop, en comparación con el grupo control.

Los estudios transversales, como se dijo anteriormente, intentan relacionar la condición física con las funciones cognitivas. En líneas generales, se ha descrito una asociación positiva entre el ejercicio físico y una mejor ejecución de las funciones cognitivas (ver tabla 4), es decir, aquellos sujetos que realizan actividades físicas con regularidad y que tienen una condición física mejor obtienen mejores puntuaciones en los diferentes test cognitivos que aquéllos más sedentarios (170-173).

Autor	Tipo de estudio	Tiempo del seguimiento	Sujetos, condición y edad	Tipo de ejercicio	Medida de ejercicio	Test	Resultados (reducción de riesgo de pérdida cognitiva)
Chang y col. 2005 (174)	Transversal		140 adultos, ≥56 años	-Mente cuerpo (MC) -Cardiovascular (CV) -CV+MC -No ejercicio	RAF	The Hong Kong List Test Learning	Relación: + Correlación positiva entre la participación en MB y CV y memoria
Erikson y col. 2009 (173)	Transversal		165 mayores sanos, 59-81 años	Medida del VO _{2max}		Test de memoria espacial	Relación + Correlación positiva entre actividad física y memoria espacial
Roth y col. 2003 (175)	Transversal		140 mayores, 65-95 años	Se divide a sujetos en función de actividad física en activos y no activos	RAF	Test de atención visual	Relación + (pero sólo en el 15% de sujetos que se ejercitaban regularmente, mostraron mejor ejecución que sujetos no activos)
Themanson y col. 2006 (171)	Transversal		66 mayores (60-71 años)	Se divide a los sujetos en función de su nivel de actividad física		Switch task	Relación + Relación entre mayor actividad física y ejecución en la tarea
Voelcker y col. 2010 (170)	Transversal		92 mayores, 62-79 años	Se divide a los sujetos en función de su condición física y motora		Flanker task, n Back task, y Visual Search task, Identical Picture	Relación + Correlación positiva entre la condición física y el test de control ejecutivo Correlación positiva entre la condición motora y el test de control ejecutivo y de velocidad perceptual
Winker y col. 2010 (172)	Transversal		136 mayores, ≥ 60 años	Sujetos atletas: corredores de maratón o ciclistas comparados con un grupo de sujetos sedentarios		Batería de pruebas neuropsicológicas de Viena y el CERAD	Relación + Mejor ejecución en la tarea "The Five Point Test y casi significativamente mejor en "The NAI Stroop test"
Abbott y col. 2004 (138)	Longitudinal	4.7 años	2.257 adultos, 71-93 años	Caminar	RAF	CASI	Ejercicio: + (reduce riesgo de sufrir demencia)
Barnes D.E 2003 (145)	Longitudinal	6 años	349 adultos ≥55 años		RAF y medida objetiva de la actividad cardiorespiratoria	MMSE. Test de control ejecutivo, fluidez verbal, memoria verbal	Ejercicio (medido objetivamente): + (Correlación negativa entre la medición objetiva del ejercicio y el deterioro cognitivo) Ejercicio (a partir de RAF): 0
Davis y col. 2010 (169)	Longitudinal	1 año	109 adultos, media de 71,6 años	Ejercicio de resistencia durante 1 año		Test Stroop (control ejecutivo)	Ejercicio de resistencia: +
Dik col. 2003 (141)	Longitudinal		1.241 adultos, 62- 85 años		RAF		Ejercicio regular: + Correlación positiva entre el ejercicio regular y la ejecución en el test en los hombres pero no en las mujeres
Floel y col. 2010 (48)	Longitudinal		75 adultos, 50-78 años		RAF y capacidad cardiorespiratoria	Memoria	Actividad física: +

Autor	Tipo de estudio	Tiempo del seguimiento	Sujetos, condición y edad	Tipo de ejercicio	Medida de ejercicio	Test	Resultados (reducción de riesgo de pérdida cognitiva)
Larson y cols. 2006 (142)	Longitudinal	6,2 años	1.740 adultos sin demencia > 65 años		RAF	CASI	Ejercicio (3 o más veces por semana): + (Menor riesgo de demencia)
Laurin y col. 2001 (139)	Longitudinal	(5 años)	4.615 adultos ≥65 años	Caminar		MMSE	Ejercicio: + (Correlación negativa entre nivel de actividad física y riesgo de deterioro cognitivo y de sufrir Alzheimer)
Lytle y col. 2004 (176)	Longitudinal	2 años	1.146 adultos, >65 años		RAF	MMSE	Ejercicio: + (Correlación negativa entre el ejercicio y el deterioro cognitivo)
Pignatti y col. 2002 (177)	Longitudinal	12 años	Mujeres adultas, 70-75 años	Caminar	2 km/d se consideraba ejercicio de alta intensidad	MMSE	Ejercicio: + (Correlación negativa entre actividad física y el riesgo de deterioro cognitivo)
Podewils y col. 2005 (144)	Longitudinal	5,4 años	3.373 adultos, ≥65 años		RAF	MMSE	Ejercicio: + (correlación negativa entre la actividad física y el riesgo de sufrir demencia en los no portadores a APOE e4)
Rovio y col. 2005 (143)	Longitudinal	21 años	1.449 adultos, 65-79 años		RAF		Ejercicio: + (Reduce riesgo de demencia en personas con alto riesgo genético de padecer la enfermedad)
Singh-Manoux y col. 2005 (178)	Longitudinal	11 años	7.830 adultos, 46-68 años		RAF	Test de vocabulario Mill Hill, test de inteligencia fluida Alice Heim 4-I, fluidez de fonemas	Ejercicio: + (Correlación positiva entre la actividad física y el funcionamiento cognitivo)
Sturman y col. 2005 (137)	Longitudinal	6,4 años	4.055 adultos ≥ 65 años		RAF	MMSE, East Boston Test of Immediate Memory and Delayed Recall Test dígito-símbolo	Ejercicio: 0
Sumic y col. 2007 (140)	Longitudinal		66 adultos, > 85 años	Ejercicio de intensidad leve y alta	RAF	MMSE, CDR	Ejercicio + (reducción en un 88% del riesgo de déficits cognitivos en las mujeres)
Van Gelder y col. 2004 (179)	Longitudinal	10 años	295 adultos sanos		RAF	MMSE	Ejercicio: + (Correlación negativa entre actividad física y deterioro cognitivo)
Yaffe y col. 2001 (180)	Longitudinal	(6 a 8 años)	5.925 mujeres de 65 años o más	Caminar	RAF	MMSE	Ejercicio: + (Correlación negativa entre actividad física en línea base y riesgo de deterioro cognitivo)

Tabla 4. Ejercicio y neuroprotección en la vejez. Estudios longitudinales y transversales. Abreviaturas: Cerad: *Consortium to Establish a Register for Alzheimer's Disease*. CASI: *Cognitive Abilities Screening Instrument*, MMSE: *Minimental State Examination*, CDR: *Clinical Demencia Rating*.

Autor/año	Sujetos y edad	Tipo de ejercicio	Intensidad	Frecuencia	Duración de la intervención	Momento de la evaluación cognitiva	Funciones cognitivas	Resultados
Albinet y col. 2010 (165)	24 adultos, 65-78 años	-Ejercicio aeróbico. -Grupo control: ejercicio anaeróbico (estiramientos)		3 días a la semana, 60 min	3 meses	Antes y después de la intervención	Memoria de trabajo (Función ejecutiva)	Ejercicio aeróbico: +
Anderson y col. 2010 (146)	32 adultos sanos , 55-85 años	-Ejercicio anaeróbico. -Grupo control: lista de espera		2 o 3 días a la semana, 60 min	1 mes	Antes y después de la intervención	Función ejecutiva	Ejercicio anaeróbico: +
Blumenthal y col. 1991 (160)	101 adultos sanos (H y M) ≥ 60 años	- Ejercicio aeróbico -Ejercicio anaeróbico -Grupo control: lista de espera			14 meses	Antes y después de la intervención	Memoria	Poca mejora a nivel cognitivo
Cassilhas y col. 2007 (163)	62 adultos, 65-75 años	Ejercicio de resistencia	Alta y moderada	3 días a la semana	6 meses	Antes y después de la intervención	Memoria, Formación de conceptos Atención	Ejercicio de resistencia: +
Erickson y col. 2011 (155)	120 adultos , 55-80 años	-Ejercicio aeróbico: caminar. -Grupo control: ejercicio anaeróbico (estiramientos y tonificación	Moderada	3 días a la semana (gradual hasta llegar a 40 min)	1 año	Antes de la intervención, 6 meses después y al finalizar el programa de intervención	Memoria espacial	Ejercicio aeróbico: + Ejercicio anaeróbico: + Correlación positiva entre actividad física previa a intervención y memoria en línea base
Evers y col. 2011 (156)	259 mujeres, (70-93 años)	-Ejercicio aeróbico (bicicleta o cinta de correr) -Actividad mental (escribir, calcular, navegar en internet, etc) -Grupo control		3 días a la semana, 90 min	6 meses	Antes y después de la intervención	Memoria episódica, memoria de trabajo, atención, fluidez verbal	Grupo Ejercicio aeróbico: + Grupo actividad mental: +
Kimura y col. 2010 (149)	171 adultos sanos, ≥ 65 años	-Ejercicio de resistencia progresiva y entrenamiento de equilibrio. -Grupo control: programa de educación en salud	.	2 días a la semana, 90 min, 34 sesiones en total	3 meses	Antes y después de la intervención	Función ejecutiva	Ejercicio resistencia: 0
Lachman y col. 2006 (150)	210 sujetos sedentarios	Ejercicio de resistencia: ejercicios con bandas elásticas de diferente resistencia)	Baja	35 min, 10 ejercicios	6 meses	Antes, y durante la intervención (3 y 6 meses)	Memoria	Ejercicio de resistencia: 0 Cambios en la resistencia de las bandas usadas se asoció con cambios en memoria
Liu-Ambrose y col. 2010 (181)	135 mujeres, 65-75 años	-Ejercicio de resistencia -Grupo control tonificación y equilibrio		60 min, 1 día a la semana o 2 días a la semana	12 meses	1 mes antes de la intervención y al terminar la intervención	Función ejecutiva	Ejercicio de resistencia: + (mejora es similar en los dos grupos)

Autor/año	Sujetos y edad	Tipo de ejercicio	Intensidad	Frecuencia	Duración de la intervención	Momento de la evaluación cognitiva	Funciones cognitivas	Resultados
Muscari y col. 2010 (164)	120 adultos, 65-74 años	-Ejercicio aeróbico bicicleta ergométrica, cinta de correr. -Grupo control: Educación sobre estilo de vida		3 horas a la semana	12 meses	Antes y después de finalizar el tratamiento	Estatus cognitivo global	Ejercicio aeróbico: +
Perrig-Chielo y col. 1998 (148)	46 adultos, media 73 años	-Ejercicio de resistencia -Grupo control		1 día a la semana	2 meses	Antes y después de intervención	Memoria (Lista de palabras, Test dígito-símbolo)	Ejercicio de resistencia: + -en memoria y reconocimiento respecto a su línea base -en reconocimiento más no en memoria respecto al grupo control
Ruscheweyh y col. 2011 (152)	75 adultos, 50-78 años	-Ejercicio aeróbico : caminar, -Ejercicio anaeróbico: estiramiento y tonificación. -Grupo control: sin ejercicio	Aeróbico: mediana intensidad. Anaeróbico: baja intensidad	Al menos 3 sesiones por semana, 50 min al día	6 meses	Línea base y después del tratamiento	Memoria episódica	Ejercicio aeróbico: + Ejercicio anaeróbico: +
Smiley y col. 2008 (153)	57 adultos sanos, 65-79 años	-Ejercicio aeróbico: elíptica, bicicleta estática, máquina de caminar, cinta de correr. -Grupo control: flexibilidad y tonificación	Gradual 45-60% del ritmo cardiaco, luego a 60-70%, y en los últimos 10 meses a 65-80% .	3 días a la semana, 25-30 min	10 meses	- Tiempo de reacción y test de Stroop: Al mes de inicio intervención, a 4-5 meses y después de finalizar la intervención. -Test de cartas de Wisconsin: al mes de intervención y al finalizar la misma.	Memoria visuo-espacial Función ejecutiva	Ejercicio aeróbico: 0, + (efecto en tareas con mayor componente de control ejecutivo, como test de Stroop) Cambios en la capacidad aeróbica no se relacionaron con cambios en la función cognitiva

Tabla 5. Ejercicio y neuroprotección en la vejez. Estudios de intervención.

Otro tipo de investigaciones, se centran en el estudio de los cambios estructurales, funcionales y de la plasticidad neural que se producen como consecuencia de la edad.

Raz afirma que el declive estructural sigue una tendencia no lineal, sugiriendo que los cambios a lo largo de la vida tienen una forma de U invertida, con un incremento en el volumen en etapas tempranas, un tope a la edad media y un declive en edades más avanzadas (182). El envejecimiento se caracteriza por un deterioro de la sustancia gris y blanca en la corteza prefrontal, temporal y parietal con una relativa conservación del tejido en otras regiones como la corteza motora primaria y la corteza visual (183). El deterioro en estas áreas tiene importantes implicaciones a nivel cognitivo dada la relación que tienen éstas áreas con distintas funciones cognitivas como la memoria o el control ejecutivo. Por esta razón el desarrollo de intervenciones que ayuden a preservar el volumen de las distintas estructuras cerebrales podría colaborar con las mejoras a nivel cognitivo. Los cambios que se producen a nivel estructural pueden verse afectados por diferentes factores (genéticos, enfermedades, etc) que varían entre individuos (182) a la par que no se producen con la misma rapidez en todas las estructuras del cerebro (184).

En este sentido, algunos estudios han demostrado que una mayor cantidad de actividad física como caminar, está asociada a un mayor volumen de la sustancia gris en la corteza prefrontal y temporal (185,186). Del mismo modo Johnson y col. (187) encontraron una correlación positiva entre la capacidad cardiorespiratoria y la integridad de la sustancia blanca del cuerpo calloso, especialmente de aquellas partes que interconectan áreas homólogas de la corteza pre-motora involucradas en la planificación motora.

Una de las primeras investigaciones que valoró, en un estudio de intervención, la relación entre el ejercicio aeróbico y el volumen de algunas regiones asociadas al declive cognitivo fue realizada por Colcombe y col. (188). En este estudio los investigadores demostraron que el entrenamiento aeróbico, durante 6 meses, incrementaba significativamente el volumen de la sustancia gris y blanca en algunas regiones, en comparación con el grupo control (para ver detalles ver la tabla 6). En un estudio posterior Ruscheweyh y col. (152) evaluaron el efecto de diferentes regímenes de ejercicio físico en el volumen de la sustancia gris en

adultos con edades comprendidas entre 50 y 78 años. Utilizaron dos intensidades, moderada y baja, con sesiones de 50 minutos al día, al menos 3 días a la semana, durante 6 meses y encontraron que el incremento en la actividad física estaba relacionado con un aumento en el volumen de la sustancia gris en la corteza prefrontal y la corteza cingulada. En general, estos estudios reflejan que el ejercicio preserva el tejido cerebral de la pérdida asociada a la edad.

Otra estructura que también se ve afectada por el envejecimiento es el hipocampo, el cual sufre una atrofia sustancial con la edad (182) además de que se deteriora a una velocidad significativamente mayor en comparación con otras estructuras como la corteza frontal (168). Estudios longitudinales reportan que la atrofia del hipocampo sigue una tendencia no lineal con una relativa conservación del volumen del hipocampo en los primeros 50 años, luego de lo cual se produce un declive que varía entre 1% y 2% al año en personas que no tienen demencia (189,190) y de hasta 5% en sujetos con déficit cognitivo leve (190) y con EA (191). El hipocampo es importante por su implicación en la memoria, por lo que su deterioro precede a déficits en esta función. No obstante, el declive de las estructuras cerebrales puede modificarse en función de diferentes factores, algunos de ellos asociados al estilo de vida, como el ejercicio físico. Así lo demuestran estudios en los que se ha visto cómo el volumen del hipocampo anterior (que incluye el subículum, la zona CA3 y el GD) tanto derecho como izquierdo, se incrementa, en los sujetos que han tenido un entrenamiento con ejercicio aeróbico a lo largo de 1 año (155). En esta investigación se observó que el hipocampo izquierdo se incrementaba en un 2.12% y el derecho en un 1,97% mientras que en los sujetos del grupo control experimentaron un declive de 1.40% y 1,43% respectivamente. También se ha reportado una asociación positiva entre la capacidad cardiorespiratoria y el volumen de esta estructura (155,173). En uno de estos estudios, los investigadores encontraron que los sujetos que realizaban ejercicio aeróbico mejoraron en un 7.78% su capacidad cardiorespiratoria mientras que los sujetos del grupo control, que realizaban estiramientos y tonificación, sólo mejoraron un 1.11%, y vieron además que estos cambios estuvieron relacionados con el incremento en el volumen hipocampal (173).

El impacto del ejercicio en los cambios funcionales también ha generado varias investigaciones. Park y col. (192) sostienen que mientras realizan diferentes tareas cognitivas, en las personas mayores se activan más áreas cerebrales y con menos especificidad que en las personas jóvenes. Colcombe y col. (159) demostraron que la realización de ejercicio aeróbico permite una mayor activación de áreas cerebrales relacionadas con el control atencional mientras se realiza una tarea de función ejecutiva. Específicamente se observó activación en el giro medial frontal y el lóbulo parietal superior, la primera, relacionada con el mantenimiento de las metas, lo que es importante para focalizar la atención y recordar qué se necesita hacer en una tarea, y la segunda, relacionada con la focalización de la atención en diferentes lugares del espacio visual (136), de ahí que el grupo con ejercicio aeróbico mejorara la ejecución en esta tarea en un 16% en comparación con el 6% del grupo control. En otra investigación más reciente Rosano y col. (193) un año de intervención con ejercicio aeróbico aumentó la activación de áreas relacionadas con la velocidad de procesamiento (corteza parietal posterior, la corteza cingulada anterior y la corteza prefrontal dorsolateral). Estos estudios reflejan que el ejercicio físico aeróbico es capaz de mejorar la función neural en diferentes áreas del cerebro, a partir de intervenciones relativamente cortas (6 meses).

Diferentes trabajos han sugerido que el ejercicio físico provoca cambios en los PRE, por lo que las personas de edad avanzada que realizan ejercicio muestran patrones que se asemejan a los encontrados en los jóvenes al ejecutar la misma tarea; específicamente, los cambios en la amplitud y la latencia del componente P3 sugieren que el ejercicio físico puede alterar la distribución de los recursos atencionales y acelerar la velocidad de procesamiento cognitivo (136). Por ejemplo, Hillman y col. (194) encontraron un aumento de la amplitud y un decremento en la latencia de la P3 mientras realizaban una tarea de control ejecutivo en sujetos mayores que participaban en actividades físicas de alta y moderada intensidad, sugiriendo que el ejercicio físico puede proporcionar un efecto neuroprotector contra el declive cognitivo.

Otra forma de medir la función cerebral es examinando cómo las diferentes áreas del cerebro se comunican bajo pequeñas demandas cognitivas (195). Como se dijo antes, los

estudios de resonancia magnética han revelado que durante el envejecimiento se produce una variabilidad en los patrones de activación. Los investigadores han caracterizado redes cerebrales funcionales compuestas por regiones separadas pero que están conectadas temporalmente, lo que podría ayudar a descubrir los cambios en los patrones de activación, a nivel de sistema, durante el envejecimiento (196). Una de esas redes es la conocida Red Neuronal por Defecto (*Default Mode Network* DMN). Las regiones cerebrales que forman parte de esta red son la corteza cingulada posterior, la corteza parahipocampal, el hipocampo, la corteza occipital lateral, la corteza temporal medial, y las cortezas frontal medial superior y ventral (197), y está relacionada con el pensamiento autoreferencial, la consolidación de la memoria, la memoria autobiográfica y la función ejecutiva (198). Se ha observado que el ejercicio aeróbico incrementa la conectividad de la DMN (158,196) y que el aumento en la conectividad de esta red media parcialmente el efecto que tiene el ejercicio en la cognición en la población de edad avanzada (196).

Todos estos estudios reflejan que el ejercicio tiene un efecto neuroprotector y neuroreparador que se evidencia en una preservación del tejido, una mayor activación de las áreas en función de la demanda, y un incremento en la conectividad de las áreas cerebrales, todo lo cual redundaría en una mejora a nivel cognitivo. No obstante, como dicen Voss y col. (195) es necesario realizar más investigaciones dirigidas a determinar el efecto de distintos tipos de ejercicio sobre la cognición y el cerebro, dilucidando además cómo las diferencias individuales genéticas, personalidad, enfermedades, etc., pueden mediar o moderar los efectos de diferentes tipos de ejercicio.

Autor	Tipo de estudio	Sujetos	Tipo de ejercicio	Duración	Técnicas empleadas	Resultados (relación entre ejercicio y medidas cerebrales estructurales y funcionales)
Burdette y col. 2010 (199)	Intervención	10 adultos mayores con pérdida de memoria, 70-85 años	-Ejercicio aeróbico: caminar. -Grupo control: Educación y estiramiento	4 meses	RM dentro del mes siguiente después de la intervención	Grupo de ejercicio aeróbico: -Incremento del flujo sanguíneo del hipocampo que se asoció con una mayor conectividad. - El hipocampo y la corteza cingulada anterior estuvieron altamente interconectados
Colcombe y col. 2004(159)	Transversal	41 sujetos	Evaluación del estado físico: medida de la actividad cardiovascular (185) durante un ejercicio aeróbico	Se obtuvieron medidas del VO ₂ max	RMF	Una alta capacidad cardiovascular produce una mayor activación en diferentes regiones corticales asociadas con el control atencional
	Intervención	29 adultos, 58-77 años	-Ejercicio aeróbico: caminar. - Grupo control: ejercicio anaeróbico	Gradual hasta llegar a 40-45 min a los 3 meses, 3 días a la semana, 6 meses	RMF (1 semana antes y 1 semana después de la intervención)	Grupo de ejercicio aeróbico: Mayor activación de áreas relacionadas con el control atencional y un decremento en la corteza cingulada anterior
Colcombe y col. 2003 (186)	Transversal	55 adultos, 55-79 años	Evaluación del estado físico: medida de la actividad cardiovascular durante un ejercicio aeróbico	Medidas de VO ₂ max	RM MBV	Una mayor capacidad cardiovascular reduce el declive de la densidad del tejido en la corteza frontal, parietal y temporal
Colcombe y col. 2006 (188)	Intervención	59 adultos, 60-79 años	-Ejercicio aeróbico -Ejercicio anaeróbico: estiramiento y tonificación	1 hora, 3 días a la semana, 6 meses.	RM antes y después de los 6 meses de intervención	Grupo con ejercicio aeróbico: Incremento en el volumen de la sustancia gris y blanca
Erickson y col. 2011 (155)	Intervención	120 adultos, 55-80 años	-Ejercicio aeróbico moderado: caminar. -Grupo control: estiramientos y tonificación	3 días a la semana, gradual hasta 40 min, 1 año	RM	Grupo de ejercicio: Incremento en el tamaño del hipocampo. Grupo control: Reducción del tamaño del hipocampo Correlación positiva entre capacidad cardiorespiratoria y volumen del hipocampo
Erickson y col. 2009 (173)	Transversal	165 adultos, 59-81 años		Se midió consumo de oxígeno (VO ₂ max) en una cinta de correr	MRI	Correlación positiva entre capacidad cardiorespiratoria y volumen del hipocampo derecho e izquierdo
Erickson y col. 2010 (185)	Longitudinal	299 adultos, ≥65 años	Ejercicio aeróbico: caminar	9 años	RM a los 2-3 años y 9 años después de la línea base. MBV	Mayor cantidad de actividad física se asocia con un mayor volumen de sustancia gris especialmente en la corteza pre-frontal y temporal
Hillman y col. 2004 (194)	Transversal	32 adultos, ≥ 65 años	RAF	Alta, moderada y baja intensidad	EEG	Incremento en la amplitud de la P ₃ **** en sujetos con actividad alta y moderada La latencia fue mayor en la condición ejercicio de baja intensidad, seguida por la moderada, y la alta
Johnson y col. 2012 (187)	Transversal	26 adultos, 60-69 años	Evaluación del estado físico: Ejercicio cardiovascular en una cinta de correr		RM	Correlación positiva entre capacidad cardiorespiratoria e integridad de la sustancia blanca en el cuerpo calloso
Rosano y col. 2010 (193)	Intervención	30 mayores, 70-89 años	-Combinación de ejercicio aeróbico y anaeróbico. -Grupo control: clases de salud	1 año	RMF	Quienes permanecieron más activos después de la intervención: mayor activación en áreas importantes para la velocidad de procesamiento y mejores resultados en la tarea de control ejecutivo

Autor	Tipo de estudio	Sujetos	Tipo de ejercicio	Duración	Técnicas empleadas	Resultados (relación entre ejercicio y medidas cerebrales estructurales y funcionales)
Ruscheweyh y col. 2011 (152)	Intervención	62 adultos, 50-78 años	-Ejercicio aeróbico: caminar. -Ejercicio anaeróbico: estiramiento y tonificación. -Grupo control: sin ejercicio	Al menos 3 sesiones por semana, 50 min al día, 6 meses	RM, MBV,	Correlación positiva entre niveles altos de actividad física y volumen de la sustancia gris de la corteza prefrontal y cingulada
Voss y col. 2010a (196)	Transversal	-32 adultos jóvenes, 18-35 años -120 mayores, 55-80 años	Evaluación del estado físico: medida del consumo de oxígeno (VO ₂ max) durante ejercicio aeróbico		RM	Sujetos con mejor forma física muestran una mayor conectividad funcional
Voss y col. 2010b (158)	Intervención	-Adultos de 55-80 años -Adultos de 18 y 35 años	-Ejercicio aeróbico: caminar. - Grupo control: ejercicio anaeróbico (flexibilidad, tonificación y control de equilibrio)	Gradual hasta llegar a 40 min, 1 año	Línea base, a los 6 meses y al año	Ejercicio aeróbico: aumenta la conectividad de la DMN al año Ejercicio no aeróbico: aumento de la conectividad de la DMN a los 6 meses y de la RPF después de los 12 meses

Tabla 6. Ejercicio y cambios cerebrales en la vejez. Abreviaturas: RMF: resonancia magnética funcional, MBV: morfometría basada en el volumen, EEG: electroencefalograma.

Al igual que ocurre en humanos con la edad, las ratas también muestran cambios morfológicos, bioquímicos y metabólicos (200), además de un declive de las funciones cognitivas como por ejemplo, la memoria espacial medida con diferentes tareas (200-203) o la memoria de reconocimiento (204). El ejercicio, en animales envejecidos, también es capaz de revertir los déficits cognitivos asociados con la edad; así, se ha visto mejora en diferentes tareas cognitivas tanto en ratas (133,205-208) como en ratones (122,209). (Véase tabla 7).

Autor	Animal	Edad	Tipo de ejercicio	Duración	Tarea	Resultados
Adlard y col. 2011 (122)	Ratones C57/Bl6	2 meses y 24 meses	Voluntario	1 semana	Evitación activa de dos sentidos	Ejercicio voluntario: + Mejora de la retención tanto en los animales jóvenes como en los viejos
Albeck y col. 2006 (207)	Ratas Brown Norway/Fisher 344	23 meses	Forzado	7 semanas	Laberinto de Morris	Ejercicio forzado: +
Barnes y col. 1991 (210)	Ratas Fisher 344		Forzado	10 semanas	Tarea espacial	Ejercicio forzado: 0
Barrientos y col. 2011 (205)	Ratas F344xBN F1	22 meses	Voluntario	6 semanas	Miedo condicionado a un contexto	Ejercicio voluntario: + Reversión del déficit en memoria a largo plazo causado en un modelo de infección bacteriana
Kim y col. 2010 (206)	Ratas Sprague Dawley	5 meses y 24 meses	Forzado	6 semanas	Laberinto radial, evitación pasiva	Ejercicio forzado: + Mejora en la memoria a corto plazo y en la memoria espacial
Hansalik y col. 2006 (129)	Ratas Sprague Dawley	5,10,18 meses	Voluntario y Forzado		Laberinto de Morris	Ambos tipos de ejercicio: 0 Mejores resultados en animales más jóvenes La ejecución de las ratas de 18 meses fue mejor cuando recibieron entrenamiento en el laberinto a los 10 meses
Ogonovszky y col. 2005 (208)	Ratas Wistar	20 meses	Natación: moderado, severo y sobre entrenamiento	8 semanas	Evitación pasiva	Natación (sobreentrenamiento): +
Pietrelli y col. 2012 (211)	Ratas Wistar	8 meses y 18 meses	Forzado	6 semanas	Laberinto Radial	Ejercicio forzado: + Ratas 8 meses: mejor ejecución de tarea. Ratas viejas: alcanzaron el criterio más rápido que las ratas de 8 meses sedentarias
Radak y cols. 2006 (133)	Ratas Sprague Dawley	13 meses	Natación	8 semanas (5 días/sem, 2 h/día)	Evitación pasiva	Natación: + Después de desentrenarlas no hubo diferencias entre los grupos
Samorajki y col. 1985 (212)	Ratones C57BL/6J	10-14 m, 20-24 m, 28-40 m	Voluntario		Evitación pasiva	Ejercicio voluntario: + Mayor efecto en los ratones 20-24 meses, después en los de 28-40 y luego en los de 10-14 meses
Van Praag y col. 2005 (209)	Ratones	19 meses	Voluntario	45 días	Laberinto de Morris	Ejercicio voluntario: + (adquisición y retención)

Tabla 7. Ejercicio y neuroprotección en ratas envejecidas.

2.2.2.2. Trastornos neurodegenerativos

Como vimos en el apartado anterior, los estudios en humanos indican que en personas sanas, el ejercicio contribuye a reducir el riesgo de sufrir demencia (138,139,142-144). En este apartado hablaremos del efecto que tiene el ejercicio en personas que ya han desarrollado la enfermedad o se encuentran en una fase temprana de la misma. De acuerdo con los trabajos revisados en la tabla 8, el ejercicio físico parece tener efectos neuroprotectores y neuroreparadores frente a algunos trastornos neurodegenerativos, como la EA y la enfermedad de Parkinson, retrasando su establecimiento así como su evolución.

El deterioro cognitivo leve es considerado un estado intermedio entre los cambios cognitivos del envejecimiento normal y la EA, en el que las personas experimentan una pérdida de memoria que ocurre más rápidamente de lo que cabría esperar para su edad y que, visto longitudinalmente, su progreso clínico sería la EA (213). Estudios observacionales revelan que el ejercicio moderado, en etapas medias de la vida, está asociado con una reducción del 39% para el deterioro cognitivo leve mientras que realizar ejercicio en edades más avanzadas se asocia con una reducción del 32% (214). Los estudios de intervención muestran también que el ejercicio aeróbico mejora la función cognitiva, especialmente las habilidades de control ejecutivo, en personas con deterioro cognitivo leve (157).

La EA es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la presencia de ovillos neurofibrilares producidos por la hiperfosforilación de la proteína tau, y placas seniles extracelulares generadas por agregados de proteína beta-amiloide (β A) (215). Estos cambios se acompañan de atrofia en diferentes áreas del cerebro. Estudios post-mortem sugieren que los cambios más importantes comienzan a verse en el lóbulo temporal, especialmente en la corteza entorrinal y el hipocampo (216). Estudios volumétricos con resonancia magnética muestran un incremento en la velocidad de atrofia hipocampal tanto en la EA (217-219) como en el deterioro cognitivo leve (217,220).

Varios estudios han demostrado que la participación en actividades físicas está asociada con el incremento del volumen en algunas regiones cerebrales (221-223). Por ejemplo, Bugg y

col. (221) encontraron que los sujetos que participan más en actividades físicas mostraban mayor volumen del lóbulo temporal medial en comparación con sujetos que realizan una actividad física menor. De la misma forma, Honea y col. (222) encontraron una asociación positiva entre la capacidad cardiorespiratoria de los sujetos con EA en estadio temprano y el volumen de la sustancia blanca del hipocampo y la corteza parahipocampal (222).

Por su parte, los estudios realizados en modelos animales de la EA empleando ratones transgénicos, corroboran los datos obtenidos en humanos. Por ejemplo, los trabajos que evalúan la función cognitiva tras realizar ejercicio indican que éste mejora el aprendizaje espacial en el laberinto de Morris, tanto si el ejercicio es voluntario (224-226) como forzado (227,228).

La deposición de la proteína β -amiloide (β A) es uno de los primeros cambios vistos en el cerebro de las personas con EA, siendo la corteza cerebral, en particular la isocorteza, el sitio en el que más se depositan (216). En estudios con modelos animales se ha observado que 4-5 meses de ejercicio físico voluntario tiene efectos beneficiosos sobre las placas de β A, contribuyendo a reducir la deposición de las mismas (226,229).

La mayoría de las lesiones que se encuentran en el cerebro de los pacientes con esta enfermedad están relacionadas con el ataque de los radicales libres (daño en el ADN, oxidación de proteínas, peroxidación lipídica) y de metales (hierro, aluminio, zinc) (230). Tanto el ejercicio voluntario (225) como el forzado (231) reducen el estrés oxidativo, proporcionando un efecto neuroprotector.

La inflamación es la respuesta fisiológica a un daño físico, y en condiciones anormales es un proceso clave en la neuropatogénesis de un amplio rango de enfermedades neurodegenerativas como la EA (215). El proceso inflamatorio de este trastorno involucra la microglía y los astrocitos, y se caracteriza por una regulación a la alza de la glía o por la expresión de una serie de moléculas relacionadas con la respuesta inflamatoria como las citoquinas, (232). Aparte de la terapia farmacológica que contribuye a reducir la respuesta inflamatoria, se ha demostrado que terapias no farmacológicas como el ejercicio físico

contribuyen a disminuir la respuesta proinflamatoria asociada a la enfermedad. En este sentido, Leem y col. (215) demostraron que el ejercicio forzado crónico durante tres meses reduce el incremento de las células GFAP positivas y MAC-1 en el hipocampo de una manera dependiente de la intensidad del ejercicio, y al mismo tiempo reduce la expresión de las citoquinas proinflamatorias y los mediadores proinflamatorios iNOS y COX-2. Además, el ejercicio disminuye la atrofia hipocámpal (229) y la tau fosforilada en la zona CA3 del hipocampo (233). El decremento en la activación de la microglía tras el ejercicio se ha visto tanto en ratones adultos (7-8 meses) como en ratones envejecidos (24 meses) (234). Resultados similares a los obtenidos por el grupo de Leem y col. (233) los obtuvieron Nichol y col. (235), con tres semanas de ejercicio voluntario. Estos autores encontraron que los niveles de IL-1 β y TNF- α en los animales transgénicos se redujeron hasta llegar a igualarse con los del grupo sedentario no transgénico.

Como se puede observar, el ejercicio puede contribuir a la mejora de los pacientes con EA no sólo reduciendo los déficits cognitivos sino incidiendo positivamente en los aspectos moleculares claves de la enfermedad como la deposición de β A y la fosforilación de la proteína tau.

Otra enfermedad neurodegenerativa que ha sido objeto de estudio es la EP. Esta es una enfermedad degenerativa progresiva del sistema nervioso central que afecta principalmente al sistema motor y a la función cognitiva y que está asociada con la pérdida de neuronas dopaminérgicas en los ganglios basales (236).

Estudios en humanos revelan que el ejercicio físico mejora la función motora (237) y las capacidades cognitivas (238) y reduce la tasa de mortalidad de estos pacientes (239).

En modelos animales de EP ha quedado demostrado que el ejercicio físico es capaz de reducir los síntomas motores y los déficits neuroquímicos asociados a la enfermedad (240). Algunas investigaciones muestran que el ejercicio forzado tiene efectos positivos tanto a nivel neuronal como conductual. Por ejemplo Tajiri y col. (241) encontraron que el ejercicio forzado contribuye a conservar las fibras que contienen tirosina hidroxilasa en el estriado y

las neuronas positivas para esta enzima en la sustancia negra, a la vez que mejora los resultados de los test utilizados para medir el grado de afectación en modelos animales como el test del cilindro (que sirve para medir el grado de asimetría de las patas) y la rotación por anfetamina. De forma parecida, en el grupo de Yoon y col. (242) observaron que tras 14 semanas de ejercicio forzado los animales mostraron una reducción en la asimetría rotacional y un incremento en la supervivencia de las neuronas dopaminérgicas.

Otros investigadores sólo han encontrado resultados favorables o a nivel neural o conductual. Poulton y col. (243) por ejemplo, reportaron una atenuación en la muerte neuronal en el estriado pero no hallaron efectos en la actividad locomotora de los animales, mientras que O'Dell y col. (244) no hallaron efectos a nivel neural pero sí una mejoría a nivel motor en los animales sometidos a ejercicio voluntario.

Fox y col. (245) señalan 5 principios que regulan el efecto del ejercicio físico sobre la neuroplasticidad en asociación con la EP. (1) la actividad intensa maximiza la plasticidad sináptica, (2) las actividades complejas promueven adaptación estructural; (3) actividades gratificantes incrementan los niveles de dopamina promoviendo el aprendizaje y reaprendizaje; (4) las neuronas dopaminérgicas responden en gran medida al ejercicio y a la inactividad; (5) la introducción temprana del ejercicio retarda la progresión de la enfermedad.

En general se considera que el ejercicio retarda el envejecimiento y los procesos neurodegenerativos de la enfermedad, probablemente debido a la plasticidad aportada por el ejercicio físico regular para facilitar procesos reparadores (236).

Patología	Autor/año	Animal/Edad	Tipo de ejercicio	Intensidad	Duración	Pruebas cognitivas/bioquímicas /histológicas	Resultados (relación de condición física/ejercicio con efectos neuroprotectores, reducción de déficits cognitivos o neurogénesis)		
Enfermedad de Alzheimer (EA)	Humanos	Baker y col. 2010 (intervención) (157)	33 adultos con DCL, (17 M y 15H) 55-85 años	-Ejercicio aeróbico - Grupo control: estiramiento	Alta intensidad	4 días a la semana, 45-60 min, 6 meses	Memoria y función ejecutiva	Ejercicio aeróbico: -control ejecutivo, flexibilidad cognitiva, eficiencia en el procesamiento de la información y atención selectiva: + -memoria declarativa: 0	
		Bugg y col. 2011 (transversal) (221)	52 sujetos, 55-79 años	Reporte sobre la actividad física realizada en los 10 años previos a la entrevista.			RM	Efecto neuroprotector: + Mayor volumen de la corteza frontal superior y la corteza pericalcarina y menor atrofia del lóbulo temporal en sujetos con mayor participación en actividades físicas	
		Burns y col. 2008 (transversal) (223)	64 sujetos sin demencia y 57 en el estado temprano del EA	Valoración de estado físico (VO ₂ max)				RM	Efecto neuroprotector: + -Correlación positiva entre condición física en la etapa temprana de la EA y el volumen cerebral conservado (menor atrofia cerebral), independientemente de la edad y la severidad de la demencia
		Geda y col. 2010 (epidemiológico) (214)	198 sujetos con DCL (78-86 años) y 1.126 sujetos con cognición normal (76-84)	Reporte sobre el ejercicio que realizaban 1 año previo al estudio y a la edad de 50-65 años				Evaluación neuropsicológica: Escala de Memoria de Wechsler revisada, test de aprendizaje auditivo, Trail Making Test B, CDR	Efecto neuroprotector: + -El ejercicio moderado en la mediana edad: reducción del 39% de sufrir daños cognitivos leves -Ejercicio moderado a edad más avanzada: reducción de 32% de sufrir daños cognitivos leves
		Honea y col. 2009 (transversal) (222)	117 sujetos en estado temprano de EA. Grupo control: sujetos sin demencia, ≥65 años	Valoración de estado físico (VO ₂ max), e información sobre el nivel de actividad				RM y MBV	Efecto neuroprotector: + Sujetos con demencia: Correlación positiva entre capacidad cardiorespiratoria y volumen de la sustancia blanca de corteza parietal inferior bilateral, hipocampo y corteza parahipocampal.
		Scherder y col. 2005 (intervención) (246)	43 sujetos con DCL, media de edad 86 años	Ejercicio aeróbico: caminar Ejercicio anaeróbico: mano/cara control	30 minutos al día, 3 días a la semana	6 semanas		Batería de pruebas neuropsicológicas	Reducción de déficits cognitivos (ambos tipos de ejercicio): +
		Vidoni y cols 2012 (longitudinal) (247)	90 sujetos sin demencia y con demencia en estadio temprano, ≥ 60 años	Valoración de estado físico (VO ₂ max)			2,1 años	MMSE	Efecto neuroprotector: + Grupo con EA: -Menor nivel cardiorespiratorio que grupo sin EA -Nivel CR bajo al inicio del estudio correlacionó con una mayor progresión de la demencia -Declive en nivel CR se relacionó con atrofia cerebral en varias regiones del cerebro Grupo sin EA: -Nivel CR bajo se asoció con un declive en la cognición global

Roedores	Adlard y col. 2005 (226)	Ratones TgCRND8	Ejercicio voluntario		1 mes o 5 meses	Laberinto de Morris	Efecto neuroprotector: + Reducción de déficits cognitivos: + -5 meses de ejercicio voluntario redujo la deposición extracelular de placas de βA en la corteza frontal y el hipocampo. También mejoró la adquisición en el Laberinto de Morris, pero no la memoria
	Cho y col. 2010 (228)	Ratones TG NSE/APPSw, 13 meses de edad	Ejercicio forzado + ácido lipoico	13.2m/min, 5 d/s. 60 min/d	16 semanas	-Laberinto de Morris -Medidas bioquímicas	Efecto neuroprotector de ejercicio: o -Ejercicio + ácido lipoico mejoran los déficits en aprendizaje y memoria en comparación con el grupo sedentario o con los grupos con un solo tratamiento -No se observaron diferencias entre grupos en cuanto a βA_{42}
	García Mesa y col. 2011 (225)	Ratones 3xTg-AD, y ratones no Tg, 4 y 7 meses de edad	Ejercicio voluntario		1 mes (hasta 4 meses de edad) 1 mes o 6 meses (hasta 7 meses de edad)	Laberinto de Morris, tarea de inhibición del pre-pulso, test de Boissier de 4 agujeros, test de luz-oscuridad	Reducción de déficits cognitivos: + Efecto neuroprotector: + -Ejercicio disminuyó el deterioro cognitivo y los síntomas comportamentales y psicológicos de demencia. Se redujo el estrés oxidativo -En los ratones Tg de 7 meses la mayor neuroprotección se obtuvo después de los 6 meses de ejercicio
	Giménez-Llort y col. 2010 (231)	Ratones 3xTg- AD	Ejercicio forzado	De 15min/d, 5 cm/s a 30min/d, 7 cm/s	5 semanas	-Corner test, campo abierto, test de luz-oscuridad, laberinto de Morris, y laberinto en T -Medidas bioquímicas	Reducción de déficits cognitivos: o Efecto neuroprotector: + -Ejercicio no mejoró ejecución en tareas de aprendizaje y memoria -Mejoró la función sensoriomotora en hembras -Ejercicio redujo el estrés oxidativo y la disfunción del receptor GABA-A en ratones machos -Redujo los niveles de la $\beta A_{42/40}$
	Hyum Leem y col. 2009 (233)	Tg-NSE/htau23, no Tg control, 16 meses de edad	Ejercicio forzado	Leve y Moderada	3 meses	Medidas bioquímicas	Efecto neuroprotector: + -Ejercicio reguló a la alza el sistema antioxidante de los ratones Tg, y redujo los niveles de hiperfosforilación de la tau de una manera dosis dependiente
	Ke y col. 2011 (234)	Ratones Tg APP/PS1, 7-8 meses y 24 meses y ratones WT	Ejercicio Forzado		4 semanas	-Evitación pasiva, laberinto de Morris. 4 semanas después del tratamiento -Medidas bioquímicas	Reducción de déficits cognitivos: + Efecto neuroprotector: + -Ejercicio mejoró el aprendizaje y la memoria espaciales y la actividad exploratoria con una reducción de la ansiedad, en ratones Tg APP/PS1 de edad avanzada -Ejercicio redujo la activación de la microglía en el hipocampo en estos animales e incrementó el número de neuronas colinérgicas y serotoninérgicas de los ratones tg de 24 meses
	Leem y col. 2011 (215)	Ratones Tg-NSE/htau23/no Tg, 16 meses de edad	Ejercicio forzado	Leve 12m/min moderado 17m/min, 1 h/d, 5 d/s	3 meses	Medidas bioquímicas	Efecto neuroprotector: + -El ejercicio atenuó la activación de microglía y astrocitos, y redujo el incremento de TNF- α , IL-6, IL-1 β , COX-2, e iNOS. También suprimió la hiperfosforilación de la tau
	Maesako y col. 2012 (224)	Ratones Tg APPSwe/Ind, 2-3 meses de edad	Ejercicio voluntario + dieta alta en calorías		2 meses y medio	Laberinto de Morris	Reducción de déficits cognitivos: + Efecto neuroprotector: + -Ejercicio disminuyó los déficits de memoria en el laberinto de Morris, producidos por una dieta alta en calorías -Marcada reducción de la deposición de βA en el grupo de dieta alta en calorías + ejercicio, y en menor medida en grupos con dieta alta en calorías + dieta control, y dieta alta en calorías + dieta control + ejercicio
	Nichol y col. 2008 (235)	Tg 2576 y C57Bl/SJL, 16-18 meses de edad	Ejercicio voluntario		3 semanas	Medidas bioquímicas	Efecto neuroprotector: + -Ejercicio redujo las citoquinas en el hipocampo de los ratones Tg de edad avanzada

Enfermedad de Parkinson (EP)		Parachikova y col. 2008 (248)	Ratones Tg 2576 y grupo no Tg, 15-19 meses de edad	Ejercicio voluntario		3 semanas	-Laberinto Radial en agua -Medidas bioquímicas	Reducción de déficits cognitivos: + Efecto neuroprotector: o -Los animales Tg expuestos a ejercicio ejecutaron mejor la tarea espacial que los animales Tg sedentarios -No se observaron diferencias en la βA entre los animales Tg con ejercicio y los Tg sin ejercicio	
		Richter y col. 2008 (249)	Tg CRND8 y WT, 80 días	Ejercicio voluntario		2 meses y medio	MRO, Laberinto de Barnes	Reducción de déficits cognitivos: o Efecto neuroprotector: o -En animales tg, el ejercicio no mejoró habilidades cognitivas ni afectó el nivel de actividad, pero disminuyó las estereotipias. Tampoco redujo la deposición de βA	
		Um y col. 2011 (227)	Ratones TgNSE/hPS2m y no Tg, 24 meses de edad	Ejercicio Forzado		3 meses	-Laberinto de Morris -Medidas bioquímicas asociadas a EA	Reducción de déficits cognitivos: + Efecto neuroprotector: + -Ejercicio redujo la deposición de βA_{42} en el hipocampo de los Tg, a través de la disminución de la tau hiperfosforilada, y mejoró la ejecución en el laberinto de Morris	
		Wolf y col. 2006 (250)	Ratones APP23, 10 semanas de edad	-Ejercicio voluntario -Ambiente enriquecido		11 meses	-Laberinto de Morris -Medidas bioquímicas -Estudio de neurogénesis	Reducción de déficits cognitivos: o -Ejercicio: regulación a la baja de los factores neurotróficos. -Ambiente enriquecido: mejora en la ejecución de la tarea y una regulación a la alza, de las neurotrofinas NT3 y BDNF y un incremento de la neurogénesis	
		Yuede y col. 2009 (229)	Ratones Tg 2576,	Ejercicio Voluntario y forzado		4 meses	-MRO -Medidas bioquímicas	Reducción de déficits cognitivos: + Efecto neuroprotector: + -Ejercicio voluntario: mejoró la retención de la tarea. Redujo placas de amiloide. -Ejercicio voluntario y forzado: aumentó volumen del hipocampo en comparación con los sedentarios. -Los niveles de βA_{40} y 42 no se diferenciaron entre grupos	
	Humanos	Hurwitz y col. 1989 (238)	29 pacientes ambulatorios con EP	Ejercicio supervisado en casa	1 día a la semana			Reducción de déficits cognitivos: +	
		Sunvisson y col. 1997 (237)	12 personas de 60-78 años con EP	Caminar	Diariamente, 4 km			Reducción de síntomas motores: parcial -Se observó una mejora en la función motora inmediatamente después de 1 semana y a las 3 semanas, pero no 6 meses después	
		Roedores	O'Dell y col. 2007 (244)	Ratas Sprague Dawley adultas	Ejercicio voluntario y voluntario + forzado	Antes y después de la lesión	6 semanas y media	Asimetría de la extremidad anterior	Efecto neuroprotector parcial -Reducción de síntomas motores -Ninguna mejora en cuanto a la pérdida de transportadores de dopamina y de células de tirosina hidroxilasa positivas
			Poulton y col. 2005 (243)	Ratas Long Evans	Ejercicio forzado	2 sesiones, 20 min diarios, 24 horas después de la lesión	30 días	-Medidas conductuales - Determinación de neuronas DA	Efecto neuroprotector: parcial -Reducción de la muerte de las neuronas DA del estriado. -Ningún efecto en los déficits locomotores
			Tajiri y col. 2010 (241)	Ratas Sprague Dawley	Ejercicio forzado	30 m/d, 11m/min, 24 horas después de la lesión	5 días	-Test del cilindro a 1,2,3 y 4 semanas de la lesión y test de rotación inducida por anfetamina a 2 y 4 semanas de la lesión - Determinación de neuronas DA -Estudio de neurogénesis	Efecto neuroprotector: + -Reducción de síntomas motores (test del cilindro y rotaciones inducidas por anfetamina) -Mayor conservación de fibras con tirosina hidroxilasa en el estriado y neuronas positivas para esta misma enzima en la sustancia negra -Mayor migración de células BrdU+ y DCX+ hacia el estriado lesionado -Aumento de BDNF y GDNF
Tillerson y col. 2003 (240)	Ratones C57bl		Ejercicio forzado	2 veces al día después de la lesión	10 días	-Medidas conductuales - Determinación de neuronas DA	Efecto neuroprotector: + - Ausencia de déficits conductuales - Mayor conservación de las neuronas DA en el estriado		

		Yoon y col. 2007 (242)	Ratas Sprague Dawley	Ejercicio forzado	1 vez al día, 30 min, después de la lesión	14 días	-Medidas conductuales - Determinación de neuronas DA	Efecto neuroprotector: + -Reducción de la asimetría rotacional. -Incremento de la supervivencia de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra y de sus fibras de proyección hacia el estriado
--	--	---------------------------	-------------------------	-------------------	--	---------	--	---

Tabla 8. Ejercicio y trastornos neurodegenerativos. Abreviaturas: DCL: deterioro cognitivo leve, RM: resonancia magnética, MBV: morfometría basada en el volumen, MMSE: *Minimal State Examination*, DA: dopaminérgicas.

2.2.2.3. Accidentes cerebrovasculares (ACV)

La interrupción del suministro sanguíneo al cerebro da lugar a un accidente cerebrovascular ACV, en el que las neuronas privadas de oxígeno y nutrientes mueren al cabo de un plazo tan breve como 2 minutos (251). Muchos pacientes sobreviven al evento y experimentan una cierta recuperación funcional espontánea. Esta recuperación se produce debido a que muchos de los genes relacionados con el crecimiento neural y la sinaptogénesis, que se expresan fundamentalmente durante el desarrollo temprano del cerebro, vuelven a activarse durante un período limitado tras una lesión cerebral o un ACV (251). Parece existir, por lo tanto, un período crítico de elevada neuroplasticidad, durante el cual los tratamientos encaminados a la recuperación de funciones podrían tener un mayor efecto que tras ese período. Los modelos animales parecen indicar que esta ventana de mayor neuroplasticidad duraría aproximadamente un mes, aunque durante los primeros días (unos 5 días) tras el infarto cerebral los tratamientos de rehabilitación podrían aumentar los daños histológicos (252).

En humanos se ha encontrado que la actividad física se asocia a un menor riesgo de sufrir un ACV (253-257); (véase tabla 9). Estudios meta-analíticos corroboran este efecto preventivo del ejercicio físico (258,259). Por ejemplo, Lee y col. (258) reportaron que en las personas más activas físicamente, el riesgo de sufrir ACV se redujo en un 27% en comparación con los sujetos menos activos.

En pacientes que ya han sufrido un ACV y en los que se ha introducido el ejercicio como intervención, se ha observado una mejoría significativa en diferentes funciones cognitivas como la memoria de trabajo (260), la memoria verbal y la flexibilidad cognitiva (261), y la velocidad de procesamiento (262).

En animales, una de las técnicas más utilizada para inducir experimentalmente un ACV es la oclusión de la arteria cerebral media (OACM). Este modelo animal ha permitido observar que el ejercicio físico podría tener efectos neuroprotectores frente al daño cerebral provocado por los ACV. En este sentido, se ha reportado una reducción del volumen del

infarto tanto en animales que han sido sometidos a ejercicio físico antes de la lesión (263-265) como en aquellos que lo han hecho con posterioridad a la lesión (266).

En uno de los trabajos que han estudiado el efecto neuroprotector del ejercicio físico previo a la lesión, Ang y col. (263) indujeron un infarto cerebral mediante OACM en ratas sedentarias o que habían realizado ejercicio forzado durante 4, 8 o 12 semanas, siendo sacrificadas 24 horas después. Al medir el volumen del infarto, los autores encontraron una reducción del 33% en los animales que habían sido sometidos a ejercicio físico forzado durante 12 semanas antes de la lesión (263). Resultados similares han sido obtenidos por investigadores de otro laboratorio (264), que sometieron a los animales a 1-3 semanas de ejercicio forzado (15m/min por 30 minutos cada día) previo a la lesión por OACM, y hallaron que los animales con ejercicio mostraban un volumen del infarto de 11% del hemisferio contralateral en comparación con el 52% observado en los animales sedentarios. Aunado a ello, en los animales con ejercicio, la lesión estaba restringida al estriado en contraste con el área infartada de los animales sin ejercicio que incluía el estriado dorsolateral y la corteza frontoparietal. Estos resultados son corroborados por otras investigaciones (265,267-269).

También se han observado efectos neuroprotectores del ejercicio cuando éste se aplica con posterioridad a la lesión. Yang y col. (266) encontraron que 1-2 semanas de ejercicio físico forzado 24 horas después de una OACM reduce el volumen de la región cerebral infartada y mejora la función neurológica en comparación con la recuperación espontánea que se produce en los animales sedentarios. De la misma manera, cuatro semanas de ejercicio forzado también reduce el volumen del infarto en comparación con la recuperación espontánea; no obstante, no se observó una mejora significativa en la función neurológica, probablemente debido a un efecto techo en el sistema de medición. Cechetti y col. (270) estudiaron el efecto del ejercicio forzado en la actividad cognitiva y el estatus oxidativo en el hipocampo, el estriado, y la corteza cerebral en animales con daño cognitivo producido por la hipoperfusión crónica (oclusión bilateral permanente de las arterias carótidas comunes). Para ello emplearon tres protocolos de ejercicio de intensidad moderada: pre, post, y pre+post lesión. Estos autores encontraron que el ejercicio post y pre+post lesión previene el déficit cognitivo causado por esta lesión.

En estudios que comparan el efecto neuroprotector del ejercicio voluntario y el ejercicio forzado se han encontrado diferencias según la especie que se utilice. En ratas, el ejercicio forzado parece tener un efecto más potente en la reducción del volumen del infarto que el ejercicio voluntario (271), mientras que en ratones ambos tipos de ejercicio parecen ejercer un efecto positivo reduciendo el volumen del infarto, incrementado el flujo sanguíneo y mejorando los déficits neurológicos tras una isquemia (272).

En líneas generales el ejercicio físico sirve tanto de prevención como tratamiento de los ACV ya que es capaz por un lado, de reducir los riesgos de sufrir la enfermedad, y por el otro de mejorar los déficits cognitivos y neurológicos, así como de reparar el daño tisular, una vez que ésta se ha establecido.

Sujetos experimentales	Autor/año	Características de la muestra	Tipo de ejercicio	Inicio del ejercicio	Intensidad	Duración	Pruebas cognitivas / bioquímicas / histológicas	Resultados
Humanos	Ellekjaer y col. 2000 (255)	Mujeres sin ACV al momento la línea base	Baja, media y alta actividad física	----	-----	Longitudinal, 10 años	-----	Prevención de ACV por ejercicio: + (Correlación negativa entre actividad física y riesgo de ACV en todos los rangos de edad 50-69, 70-79 y 80-101)
	Evenson y col. 1999 (254)	15.792 adultos, 45-64 años	RAF	----	-----	Longitudinal, 7.4 años	-----	Prevención de isquemia por ejercicio: + (Correlación negativa entre actividad física y riesgo de isquemia)
	Gillum y col. 1996 (253)	5.852 adultos	RAF	-----	-----	Longitudinal, 12 años	-----	Prevención de isquemia por ejercicio: + (Correlación positiva entre el sedentarismo y el riesgo de sufrir isquemia tanto en mujeres como en hombres)
	Hu y col. 2000 (256)	72.488 mujeres, 40-65 años	RAF	----	-----	Longitudinal, 8 años	-----	Prevención de isquemia por ejercicio: +
	Kluding y col. 2011 (260)	24 adultos con un episodio de ACV durante los 6 meses previos	Ejercicio aeróbico y de resistencia	Postlesión	3 días a la semana, 1 hora	12 semanas	Dígitos en orden inverso, Flanker test, escala de impacto de ictus	Reducción de déficit cognitivo (Ejercicio combinado): + -Mejora la memoria de trabajo -Correlación positiva entre la condición física y la función ejecutiva
	Luft y col. 2008 (273)	Adultos, 45 años con un episodio de ACV durante los 6 meses previos	Ejercicio aeróbico Grupo control: estiramiento	Postlesión	Gradual hasta 60% HRmax, 40 min por semana	6 meses	-----	Capacidad cardiorespiratoria: + (mejora en un 18%) Activación cerebral: + (incremento del 72% en el lóbulo posterior del cerebelo y de 18% en el mesencéfalo)
	Quaney y col. 2009 (262)	38 adultos con un episodio de ACV durante los 6 meses previos	-Ejercicio aeróbico: ciclismo Ejercicio anaeróbico: estiramiento	Postlesión	3 días a la semana, 45 min	8 meses	Test de Wisconsin, Trail Making Test, tarea de tiempo de reacción	Reducción de déficit cognitivo (ambos tipos de ejercicio): -Velocidad de procesamiento: + -Aprendizaje motor: + -Velocidad de procesamiento: + -Función ejecutiva: o
	Rand y col. 2010 (261)	11 adultos con ACV crónico	Ejercicio anaeróbico: estiramiento, equilibrio etc.	Postlesión	2 días a la semana, 1 hora + 1 hora de actividades sociales	6 meses	Test de Stroop, Figura de Rey, test de aprendizaje auditivo, dígitos en orden inverso, Trail Making Test, andar mientras se habla	Reducción de déficit cognitivo (ejercicio anaeróbico): -Memoria verbal y flexibilidad cognitiva: + Función ejecutiva: o
	Willey y col. 2011 (257)	1.238 adultos sin isquemia, > 55 años	RAF	-----	-----	-----	-----	Prevención de isquemia por ejercicio: + (Asociación entre una alta participación en actividades físicas con una baja prevalencia de infarto cerebral subclínico)

Roedores	Ang y col. 2003 (263)	Ratas Wistar (OACM)	Ejercicio forzado	Antes de la lesión	30m/min, 50min/d	4,8,12 semanas	Medidas de neuroprotección y de plasticidad	-Reducción del volumen del infarto en un 33%. -Incremento del NGF y de p75 tras 12 semanas de ejercicio
	Cechetti y col. 2012 (270)	Ratas Wistar (hipoperfusión cerebral crónica)	Ejercicio forzado	-Prelesión Postlesión -Pre y post lesión	20m/d, 3d/s intensidad moderada	12 semanas (20d-3meses, 3-6meses, 20d-6meses), pre, post y pre+post respectivamente	3 meses post lesión: - Laberinto de Morris -Medidas de neuroprotección	Ejercicio postlesión, y pre y postlesión: -Reducción de déficit cognitivo): + -Regulación del daño oxidativo y de la actividad de las enzimas antioxidantes en el hipocampo
	Ding y col. 2005 (264)	Ratas Sprague Dawley, (OACM)	Ejercicio forzado	Antes de la lesión	15m/min, 30min/d	1-3 semanas	Medidas de neuroprotección	Neuroprotección: + -Reducción del volumen del infarto (11% en ratas con ejercicio vs 52% en sedentarias) -Incremento del TNF α después de 2 y 3 semanas de ejercicio -Reducción de la formación de leucocitos y de expresión de mediadores inflamatorios
	Ding y col. 2006 (267)	Ratas Sprague Dawley (OACM)	Ejercicio forzado	Antes de la lesión	30 min/d	3 semanas	Medidas de neuroprotección	Neuroprotección: + -reducción del volumen del infarto -inhibición del factor de necrosis tumoral TNF α)
	Ding y col. 2004 (274)	Ratas Sprague Dawley, (OACM)	Ejercicio forzado	Antes de la lesión	30 min/d	1,3,0 6 semanas	-Medidas de neuroprotección. -Medidas de angiogénesis.	-Neuroprotección: + (Reducción del volumen del infarto) -Angiogénesis: + (Incremento de angiopoyetina 1 y 2, y de VEGF) -Reducción de déficits neurológicos: +
	Ding y col. 2006 (268)	Ratas Sprague Dawley, (OACM)	Ejercicio forzado	Antes de la lesión	30 min/d	3 semanas	Medidas de neuroprotección	Neuroprotección: + -Reducción del volumen del infarto en la corteza frontoparietal y el estriado dorsolateral en un 79% -Reducción del edema cerebral con un decremento del volumen del infarto a las 3 semanas
	Ding y col. 2006 (265)	Ratas Sprague Dawley (OACM)	Ejercicio forzado	Antes de la lesión	15 m/min, 30 min/día 6 d/s	3 semanas	Medidas de neuroprotección	Neuroprotección: + -Reducción del volumen del infarto y del edema cerebral. -Incremento de algunas integrinas
	Endres y col. 2003 (272)	Ratones 129/sw y eNos Knockout	Ejercicio voluntario y forzado	-----	Forzado: 12m/min, durante 30 min	3 semanas	-Medidas de neuroprotección -Evaluación neurológica	-Ambos tipos de ejercicio: reducción del tamaño de la lesión y aumento del flujo sanguíneo. -Ejercicio voluntario: Reducción de los déficits neurológicos.
	Hayes y col. 2008 (271)	Ratas Sprague-Dawley (OACM 2h)	-Ejercicio voluntario -Ejercicio forzado			3 semanas	Medidas de neuroprotección	Reducción en el volumen del infarto: -Ejercicio forzado: + -Ejercicio voluntario: o
	Ru Yan y col. 2003 (266)	Ratas Sprague Dawley, (OACM)	Ejercicio forzado	24 horas postlesión	20m/min, 30 min/d	1,2,4 semanas	-Medidas de neuroprotección -Evaluación neurológica (a 1, 2 y 4 semanas después de la lesión)	Neuroprotección: + -Reducción del volumen del infarto en animales con ejercicio vs los sedentarios a 1, 2 y 4 semanas de la lesión. -Reducción de déficits neurológicos: + (a 1 y 2 semanas pero no a 4 semanas).

Tabla 9. Ejercicio y accidentes cerebrovasculares. Abreviaturas: OACM: oclusión de la arteria cerebral media. RAF: reporte de la actividad física.

2.2.2.4. Daño cerebral traumático (TBI)

Al igual que el ACV, el TBI activa una serie de cambios que conducen a una progresión del daño del tejido cerebral; principalmente se produce apoptosis, excitotoxicidad, estrés oxidativo, inflamación, daño en la función mitocondrial y rotura de la barrera hematoencefálica (BHE) (33,275), así como déficit cognitivo y disminución de la plasticidad sináptica (Szabo et al 2010). Existe una variedad de mecanismos biológicos, tales como neurogénesis, sinaptogénesis y angiogénesis, que pueden contribuir a proteger frente a este daño cerebral, y diferentes datos indican que estos mecanismos pueden ser potenciados por el ejercicio físico (33). Esto podría contribuir a reducir el déficit cognitivo asociado al TBI.

Sólo hemos encontrado un trabajo en humanos en el que se haya estudiado el efecto del ejercicio tras un TBI. En este estudio se encontró que después de 4 semanas de intervención los pacientes ejecutaron mejor que el grupo control en la tarea de dígito-símbolo y en tareas visuales y verbales, y se observó asimismo una significativa mejora en el tiempo de reacción después de una única sesión de ejercicio (13).

Los estudios con animales ponen de manifiesto el efecto neuroprotector que tiene el ejercicio físico tras un TBI (véase tabla 10). Las investigaciones que hemos revisado emplean el ejercicio como terapia postlesión evaluando el efecto que éste tiene a nivel cognitivo, celular y molecular.

El TBI produce deterioro en los procesos de aprendizaje y memoria que involucran el hipocampo (276), y algunas investigaciones revelan que el ejercicio físico es capaz de mejorar tales déficits cognitivos. Empleando el laberinto de Morris, diferentes investigadores han demostrado que tanto el ejercicio voluntario (9,10) como el forzado (12) son capaces de mejorar la adquisición o retención de la tarea después de una lesión cerebral traumática. Esta mejoría también se ha visto empleando una tarea de evitación pasiva (11).

Hay que hacer notar que el efecto que tiene el ejercicio sobre las funciones cognitivas parece depender del tiempo que pasa entre el momento que ocurre la lesión y el momento en el que comienza el ejercicio. Por ejemplo Hick y col. (277) no hallaron diferencias significativas

entre grupos en la memoria espacial medida con el test de Morris, tras 18 días de ejercicio físico forzado que comenzó un día después de la lesión. En concordancia con esto, cuando Griesbach y col. (10) evaluaron a animales cuyo tratamiento con ejercicio voluntario comenzó el día 0 de la lesión, el desempeño en el test de los animales lesionados con ejercicio fue peor en comparación con los otros grupos. Esto parece indicar que es necesario esperar cierto periodo de tiempo tras la lesión, antes de introducir el ejercicio, para que éste sea capaz de producir los cambios necesarios que conduzcan a la mejora de las funciones afectadas. Como argumentan Griesbach y col. (278) la aplicación prematura de ejercicio después de un TBI no disminuye los déficits sino que los potencia, incrementando la sintomatología e interrumpiendo el proceso de recuperación.

El tiempo que habría que esperar antes de introducir el ejercicio, tras una lesión, parece depender de la intensidad del daño ocasionado. Griesbach y col. (279) realizaron un experimento con ejercicio voluntario en animales sometidos a TBI leve y moderado. Se emplearon tres demoras 0-6, 14-20 y 30-36 días postlesión. Estos investigadores encontraron un incremento de BDNF en los animales con ejercicio que fue dependiente del tiempo en el que el ejercicio comenzó y de la severidad del daño. En los animales con lesión leve y con ejercicio durante los 6 primeros días (0-6) postlesión no se observó incremento de BDNF; no obstante, sí se observó en los animales con ejercicio a 14-20 días. En cambio, en los animales con lesión moderada, sólo se observó incremento de BDNF en los que se ejercitaron entre 30-36 días. Éste último grupo también tuvo un incremento de sinapsina I y CREB.

El efecto neuroprotector en animales con TBI también se ha visto a nivel celular y molecular. Itoh y col. (12) observaron que tras 7 días de ejercicio forzado que comenzó un día después de la lesión, se produjo una reducción del área del cerebro dañada. En un estudio semejante, Itoh y col. (280) estudiaron el efecto del ejercicio en la proliferación de células madre neurales alrededor del tejido dañado tras el mismo tipo de TBI. Observaron que el número de células positivas para Nestin (marcador de células madres neurales) y Ki67 (marcador de proliferación celular) a los 3 y 7 días postlesión, fue significativamente mayor en el grupo con ejercicio que en el sedentario; de la misma forma, encontraron en estudios *ex vivo* que se

podían aislar esferas de células madre neurales del tejido del cerebro dañado, en el grupo de ejercicio, a los 3 y 7 días postlesión, pero sólo a los 3 días en el grupo sedentario, y que estas esferas extraídas del tejido dañado eran más grandes en el grupo de ejercicio que en el grupo sedentario. De esta forma concluyeron que el ejercicio incrementa la proliferación de células madres alrededor del área dañada tras un traumatismo.

Luego de un TBI también hay una respuesta inflamatoria del cerebro. El ejercicio regular aumenta la competencia inmune, favoreciendo un equilibrio entre la respuesta inflamatoria y anti-inflamatoria (281).

La rotura de la BHE también se ha documentado tras un traumatismo craneal; los estudios con animales han demostrado que la rotura de esta barrera está involucrada en el inicio de cambios transcripcionales en la red neurovascular que conducen finalmente a una degeneración neuronal (282). Se ha encontrado que cuatro semanas de ejercicio físico forzado, previo a la lesión, protege contra los daños que produce una TBI en la BHE (283).

	Autor/año	Sujetos	Tipo de lesión	Tipo de ejercicio	Inicio del tratamiento	Intensidad	Duración	Pruebas cognitivas/bioquímicas/Histológicas	Resultados	
TBI	Humanos	Grealy y col. 1999 (13)	13 sujetos	Traumatismo craneoencefálico	-Ejercicio regular en ambiente virtual -Ejercicio agudo		4 semanas 1 sesión	Test de atención y procesamiento de la información, aprendizaje y memoria	Ejercicio regular: + (test de dígito-símbolo y tareas visuales y verbales) Ejercicio agudo: + (tiempo de reacción)	
		Roedores	Griesbach y col. 2012 (284)	Ratas Sprague-Dawley	LFP: 1.5 atm	-Voluntario -Forzado (en rueda)	3 a 5 horas después	V: Acceso libre F:20 min, 2 días a la semana	4 días	Niveles BDNF, Receptores de glucocorticoides
	Griesbach y col. 2009 (9)		Ratas Sprague-Dawley	LFP: 1.5 atm	Voluntario	14 días después		7 días	Laberinto de Morris	Test cognitivo: +
	Griesbach y col. 2007 (279)		Ratas Sprague-Dawley	LFP: 2.5-2.65 y 2.7-3.2 atm	Voluntario	0, 14 o 30 días después		7 días	Niveles BDNF	Lesión leve: Ejercicio 0 días postlesión - Ejercicio 14 días postlesión + Lesión moderada Ejercicio 30 días postlesión +
	Griesbach y col. 2004 (285)		Ratas Sprague-Dawley	LFP: 1.5atm	Voluntario	Inmediatamente		7 días	Medidas plasticidad	Plasticidad: - (Decremento de CREBS, Sinapsin I, PKC, CAMKII, MAPKI, y MAPKII)
	Griesbach y col. 2004 (10)		Ratas Sprague-Dawley	LFP: 1.5 atm	Voluntario	0 o 14 días después		7 días	-Laberinto de Morris -BDNF, otras medidas plasticidad	Ejercicio 14 días postlesión: test cognitivo: + BDNF: + Ejercicio 0 días postlesión: test cognitivo: - BDNF: o
	Hicks y col. 1998 (277)		Sprague-Dawley	LFP: 2.0 - 2.1 atm	Forzado	1 día después de la lesión	Gradual hasta llegar a 60 min/d	18 días	Laberinto de Morris	Test cognitivo: o
	Itoh y col. 2011 (12)(12)		Ratas Wistar	CCI: 2mm profundidad, 4 m/seg velocidad	Forzado	1 día después	30 min/d, 22m/min	7 días	-Laberinto de Morris -Medidas de neurogénesis -Tamaño lesión	-Test cognitivo: + -Neurogénesis: + (Incremento de células NeuN+ y disminución de células GFAP). - Reducción significativa del área dañada
	Itoh y col. 2011 (280)		Ratas Wistar	CCI: 2 mm profundidad, 4 m/seg velocidad	Forzado	1 día después	30 min/d, 22m/min	7 días	- Medidas de proliferación	Proliferación: + (aumento de células Nestin+, Ki-67+, y de esferas Nestin aisladas del tejido dañado)
	Kim y col. 2010 (11)	Ratas Sprague-Dawley, 7 semanas	CCI: 2.5 mm profundidad 5m/seg velocidad	Forzado	2 días después	Gradual hasta 30 min/d 8m/min	10 días	-Evitación pasiva -Medidas de neuroprotección	-Test cognitivo: + -Neuroprotección: + (Reducción de la fragmentación de ADN, supresión de la expresión de caspasa 3, de Bax e incremento de Bcl-2)	

Tabla 10. Ejercicio y lesiones cerebrales traumáticas. Abreviaturas: CCI impacto cortical controlado, LFP: daño por percusión de fluido.

2.2.2.5. Epilepsia

Finalmente, el efecto del ejercicio físico también se ha estudiado en la epilepsia (ver tabla 11). En el pasado a las personas con epilepsia se les prevenía de practicar alguna actividad física a fin de evitar que se produjeran ataques epilépticos; en especial, aquellas personas con ataques incontrolados debían tener más cuidado con la elección de la actividad física que realizaban (286). La creencia era que el ejercicio inducía o aumentaba la probabilidad de sufrir convulsiones. No obstante, algunas investigaciones han demostrado que el ejercicio tiene un efecto contrario a dicha creencia, reduciendo las convulsiones (287-289).

Aunque se reconocen los efectos positivos del ejercicio, los mecanismos a través de los cuales éste interfiere con la epileptogénesis y reduce la susceptibilidad de las convulsiones aún no queda claro (290). En este sentido, los investigadores han desarrollado varios modelos animales que comparten características con la epilepsia del lóbulo temporal, para estudiar la biología molecular de los procesos epileptogénicos y tratar de entender los mecanismos de acción del ejercicio. Estos modelos son la administración de agentes convulsivantes como el ácido kainico y la poliacarpina y la estimulación eléctrica (Para una revisión ver (291)).

Utilizando estos modelos, se ha evaluado el efecto que tiene el ejercicio en la enfermedad. Cuando se emplea el ejercicio previo a la epilepsia los efectos parecen ser claros. Con respecto al ejercicio forzado, se ha observado que reduce la intensidad de los síntomas motores inducidos por poliacarpina (292), demora la aparición de los signos de la enfermedad y reduce la intensidad y la frecuencia de las convulsiones (293), o incrementa el número de estimulaciones necesarias para alcanzar un estado convulsivo generalizado en comparación con los animales del grupo control (294). Con el ejercicio voluntario algunos investigadores han encontrado efectos similares. Por ejemplo Reiss y col. (295) encontraron que tras 3 semanas de ejercicio físico voluntario se produce una reducción de la gravedad de las convulsiones inducidas por ácido kainico.

Aunque muchos estudios han reportado efectos positivos, algunos resultados también son contradictorios. Gobbo y col. (296) encontraron que el ejercicio voluntario mejoraba el

aprendizaje, pero no protegía contra la pérdida de neuronas en las zonas CA1, CA2 y CA3 del hipocampo.

El uso del ejercicio posterior a la inducción de epilepsia ha sido menos estudiado. De los artículos revisados en este trabajo, sólo en uno se reporta el estudio del efecto del ejercicio (297). Estos investigadores realizaron un experimento en el que evaluaron si el ejercicio revertía los cambios electrofisiológicos del hipocampo (zona CA1; *in vitro*) en ratas con epilepsia, encontrando que el ejercicio reducía el incremento de la respuesta del hipocampo y modificaba la plasticidad sináptica en estos animales.

Se puede concluir entonces que el ejercicio físico puede ser empleado como una estrategia de intervención adicional para reducir las convulsiones y el establecimiento de la epilepsia crónica.

	Autor/año	Sujetos	Tipo de ejercicio	Intensidad	Duración	Momento del ejercicio	Pruebas cognitivas/Técnicas	Resultados	
Epilepsia	Humanos	Camilo y col. 2009 (288)	17 personas con epilepsia del lóbulo temporal, 23-70 años	Test ergométrico				Ningún paciente reportó convulsiones durante el test ergométrico ni durante el período de recuperación	
		De Lima y col.(287) 2011 (287)	24 personas con epilepsia mioclónica juvenil, 16-45 años	Ejercicio aeróbico en una bicicleta ergométrica	Hasta el agotamiento	1 sesión, hasta el agotamiento			Reducción del número de descargas epilépticas en el período de recuperación en comparación con el periodo de descanso
		Eriksen y col. 1992 (298)	15 personas con epilepsia intratable	Ejercicio aeróbico de resistencia y estiramientos		2 días/sem, 60 min, 15 sem			Menor frecuencia de convulsiones durante la intervención
		Nakken y col. 1990 (289)	21 sujetos, 18 39 años	Ejercicio aeróbico	60% del VO ₂ max	3 días/sem, 45 min, 4 sem			Pocos pacientes tuvieron convulsiones durante el ejercicio
	Roedores	Arida y col. 1998 (294)	Ratas Wistar (EC)	Ejercicio forzado	Agudo y crónico: 20m/min, 40min/d	Agudo: 1 día a la semana Crónico: 7 días a la semana , 45 días	Antes de la inducción de la epilepsia		Ejercicio crónico: los animales requirieron mayor número de estimulaciones para alcanzar una convulsión generalizada en comparación con el ejercicio agudo y el grupo control
		Arida y col. 2007 (299)	Ratas Wistar, 21 días (EC)	Ejercicio forzado	Gradual hasta 24-26mts/min, 60m/d	1 día a la semana, 39 días	Antes de la inducción de epilepsia		Ningún efecto
		Arida y col. 2004 (297)	Ratas Wistar (policarpina)	Ejercicio forzado	Gradual hasta llegar a 22-25m/min, 60 min, 6 d/s	45 días	Después de la inducción de la epilepsia		Marcado cambio en las anomalías electrofisiológicas del hipocampo inducidas por la epilepsia. Mejora de la potenciación a largo plazo
		Arida y col. 1999 (300)	Ratas Wistar (policarpina)	Ejercicio Forzado	Gradual hasta llegar a 20-22m/min 40min/d, 7 d/s	45 días			Ningún cambio significativo en la frecuencia de las convulsiones a lo largo de 135 días de observación
		Gobo y col. 2005 (296)	Ratas Wistar (AK)	Ejercicio voluntario y ambiente enriquecido		5 días	Antes de la inducción de la epilepsia	Laberinto de Morris, MRO	-Ejercicio: mejora de la ejecución de las dos tareas -Ambiente enriquecido: ningún efecto en las tareas Ningún efecto de ningún tratamiento contra la pérdida de neuronas en las zonas CA1, CA2 y CA3 del hipocampo
		Gomes da Silva y col. 2011 (292)	Ratas Wistar, 21 días (Policarpina)	Ejercicio Forzado	Gradual hasta llegar a 18 m/min, 60 min	40 días	Antes de la inducción de epilepsia		Demora en el establecimiento y reducción de la intensidad de los síntomas motores inducidos por policarpina.

		Reiss y col. 2009 (295)	Ratas Sprague Dawley (AK)	Ejercicio voluntario		3 semanas	Antes de la inducción de la epilepsia		Reducción de la gravedad de las convulsiones que se produjeron por inyección intraperitoneal de AK o por la inyección intracerebro-ventricular de 0.2 µg de AK. Ningún efecto en las convulsiones inducidas por la dosis de 0.4 µg de AK.
		Setkowitz y col. 2006 (293)	Ratas Wistar, 35 días (policarpina)	Ejercicio forzado y natación	Forzado: 18m/min, 20 min Natación: 20 min	45 días	Antes de la inducción de la epilepsia		Mejora del curso de la epilepsia. Mayor demora en mostrar los signos inducidos por policarpina. Menor frecuencia, intensidad y duración en las convulsiones.

Tabla 11. Ejercicio y epilepsia. Abreviaturas: EC: estimulación eléctrica, AK: ácido kaínico.

2.2.3. Mecanismos de acción

2.2.3.1. Factores de crecimiento

Las neurotrofinas (NT) son una familia de factores de crecimiento que comparten características estructurales comunes (301). Están involucradas en procesos de plasticidad neuronal, regulando la supervivencia, proliferación, diferenciación, mielinización, crecimiento axónico y mantenimiento de algunas funciones en poblaciones específicas de neuronas (302,303). En los mamíferos, se han caracterizado 4 NT: el factor de crecimiento neural (NGF, *nerve growth factor*), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, *brain derived neurotrophic factor*), la neurotrofina 3 (NT-3) y la neurotrofina 4 (NT-4) (304). Dos tipos de receptores median la actividad de las NT, los de alta afinidad, llamados receptores de tirosina kinasa (TrK), y los de baja afinidad, llamados pan-neurotrofina (p75) (305).

Las neuronas del sistema nervioso central dependen de señales de estimulación para su crecimiento y mantenimiento. En el hipocampo y la corteza cerebral, la principal de estas señales de estimulación parece ser el BDNF (14) que es además la NT más abundante en el cerebro (306). Además, es esencial para la función del hipocampo, la plasticidad sináptica (potenciación a largo plazo) y el aprendizaje (22). En animales, se ha encontrado un incremento en el BDNF tras el entrenamiento en el laberinto de Morris (307), el miedo condicionado (308,309) y el laberinto radial (310), lo que habla de la relación entre el BDNF y la cognición. También es uno de los mayores reguladores de la neurogénesis (311,312).

La memoria no es una entidad unitaria sino que implica al menos cuatro fases: adquisición, consolidación, almacenamiento y recuperación (313). En cuanto al aprendizaje y la memoria, el BDNF parece estar implicado en algunas fases del proceso de memoria aunque su participación en cada una de ellas aun no queda claro (314) y aunque parece que juega un papel importante en la adquisición y consolidación, el rol en la recuperación aún queda por dilucidarse (313). Se ha visto, así, que cuando se interfiere con la acción del BDNF se producen déficits en la memoria del laberinto radial (310), la evitación pasiva (315) y del miedo condicionado al contexto (314), todas ellas tareas hipocampo dependientes.

En humanos, los estudios genéticos sobre el polimorfismo del gen del BDNF han establecido también una relación entre éste y la cognición. La sustitución de un aminoácido produce una menor liberación de BDNF y puede conllevar a déficits en la función cerebral y en la plasticidad (316).

El BDNF también está relacionado con algunas enfermedades neurodegenerativas como la EP, la EA y la enfermedad de Huntington, y con enfermedades neuropsiquiátricas como el trastorno bipolar y la depresión, trastornos en los que se ha visto un decremento de los niveles de BDNF (312). En este sentido, esta NT resulta ser una diana terapéutica para tratar los déficits cognitivos y este tipo de enfermedades.

Numerosos estudios han mostrado que el ejercicio físico aumenta los niveles de BDNF. En humanos, este incremento se produce tanto con ejercicio aeróbico (53) como con ejercicio de resistencia (317), pero no con el ejercicio anaeróbico tipo estiramiento (318,319). En animales, se ha visto que el ejercicio incrementa el BDNF tanto en animales jóvenes (108,130,320) como en animales viejos (226), aunque la duración de la expresión del BDNF parece variar en función de la edad de los animales (321).

Con respecto al ejercicio voluntario, se ha reportado que con sólo una semana de exposición se produce un incremento en la expresión del gen del BDNF en la zona CA1, CA2, el GD y el hilus del hipocampo (14), manteniéndose el incremento a lo largo del programa de intervención (316). Con este tipo de ejercicio, el BDNF se incrementa gradualmente tanto si el régimen es diario como alternado, y desde el segundo día de intervención (316), manteniéndose los niveles hasta 2 semanas después que el ejercicio ha cesado y retornando a niveles basales entre las 3 y 4 semanas (93). De igual manera, los niveles de BDNF se recuperan rápidamente tras una re-exposición al ejercicio (316).

El incremento del BDNF con el ejercicio forzado ha sido menos estudiado. No obstante, se ha visto que este tipo de ejercicio también aumenta los niveles de BDNF (92,109,120,322). Este aumento se ha observado que se produce tras una semana de intervención (92,120) y se mantiene hasta 4 horas después de que el ejercicio ha cesado (323).

Cuando se utilizan ambos tipos de ejercicio para comparar el efecto que tienen sobre la regulación del BDNF, se ha encontrado que si bien ambos regulan a la alza el BDNF en el hipocampo, a 0 y 24 horas después de que el ejercicio ha terminado, y en consecuencia, facilitan la memoria espacial, sólo el ejercicio forzado incrementa el factor en la amígdala facilitando la tarea de evitación pasiva (109). Esto sugiere que ambos tipos de ejercicio podrían afectar la neuroplasticidad cerebral en diferentes regiones.

Finalmente, se ha observado que la mejora que produce el ejercicio a nivel cognitivo está asociada con el incremento en el BDNF (92,93,103,130). Al bloquear la acción del BDNF se deteriora la mejora producida por el ejercicio en diferentes tareas cognitivas como por ejemplo, el Morris (103).

Otros factores de crecimiento que también son incrementados por el ejercicio son el factor de crecimiento de tipo insulina (IGF-1, *insulin-like growth factor*) y el factor de crecimiento derivado del endotelio vascular (VEGF, *vascular endothelial derived growth factor*) (22). Ambos son incrementados en la periferia del organismo por el ejercicio y cruzan la BHE llegando al cerebro (324-326), para mediar la estimulación de la neurogénesis y la angiogénesis.

El factor de crecimiento IGF1 se incrementa en las neuronas hipocámpales en respuesta al ejercicio y al igual que el BDNF está relacionado con la mejora que genera el ejercicio en el aprendizaje; mediante el bloqueo de la señalización de IGF1 se ha determinado que este factor juega un papel importante en las tareas dependientes de hipocampo y en la plasticidad (22). Al bloquear la acción del IGF1, por ejemplo, se ha observado que se deteriora el recuerdo pero no la adquisición de una tarea hipocampo dependiente (327). Junto con el VEGF, el IGF1, está relacionado con el crecimiento y la remodelación de los vasos sanguíneos en el cerebro adulto, garantizando un efecto neuroprotector dado que el incremento en la vascularización asegura el suministro de nutrientes y de oxígeno a las neuronas (326).

Por su parte, el VEGF es uno de los moduladores críticos de la angiogénesis, regulando la proliferación endotelial, la permeabilidad y la supervivencia (328), siendo un factor que estimula la división de las células endoteliales (329). El VEGF es también necesario para que el ejercicio induzca neurogénesis hipocampal (324,325).

2.2.3.2. Neurogénesis

La neurogénesis se define como la capacidad de generación de nuevas neuronas funcionales a partir de células precursoras (330). Tradicionalmente, se consideraba que esto sólo podía ocurrir durante las etapas embrionarias y perinatales. Los estudios de Altman y Das publicados en 1965 y realizados en roedores usando una tinción con [3H]-timidina y técnicas autorradiográficas fueron los primeros en reportar neurogénesis adulta en GD (331). A partir de los años 80 el desarrollo de nuevas técnicas para el marcaje de células en división, particularmente usando un análogo de la timidina, la 5-bromo-2-desoxiuridina (BrdU) y el desarrollo de nuevos protocolos para estudiar la proliferación celular y la neurogénesis *in situ* han contribuido a confirmar que la neurogénesis ocurre en el cerebro adulto (331). La [3H]-timidina y la BrdU son marcadores que se incorporan al ADN de las células que están en la fase S del ciclo de división con lo cual han sido empleados para el estudio de la proliferación, migración, supervivencia y diferenciación celular (331,332).

Hoy día se sabe que la neurogénesis adulta tiene lugar fundamentalmente en dos áreas del cerebro, la zona subventricular de los ventrículos laterales (ZSV) y la zona subgranular (ZSG) del GD del hipocampo (333-337) (figura.1), representando una forma de plasticidad estructural en el cerebro de los mamíferos adultos. En otras regiones del cerebro adulto se cree que la neurogénesis es muy restringida en condiciones fisiológicas normales, pero puede incrementarse tras una lesión cerebral (338).

Las células madre se definen como células no diferenciadas capaces de autorrenovarse por división celular y capaces de dar lugar a diferentes tipos de células (336,339). En la ZSG del GD hay dos tipos de células progenitoras neurales. Las de tipo 1 tienen procesos radiales que se extienden a través de la capa de células granulares y pueden identificarse mediante marcadores como GFAP, Nestin o Sox2. Se cree que son células madre temporalmente

inactivas, con un ciclo de división celular muy lento, de 28 días, y generan células tipo 2. Estas últimas actúan como células progenitoras neurales intermedias, que se autoamplifican activamente, tienen un ciclo de división celular mucho más rápido (unas 12 horas), no pueden autorrenovarse de forma indefinida, no tienen procesos radiales, y expresan Sox2 y Nestin, pero no GFAP. Las células tipo 2 generan neuroblastos positivos para doblecortina (DCX), los cuales se diferencian sobre todo como células granulares glutamatérgicas del GD (330,333,336,340).

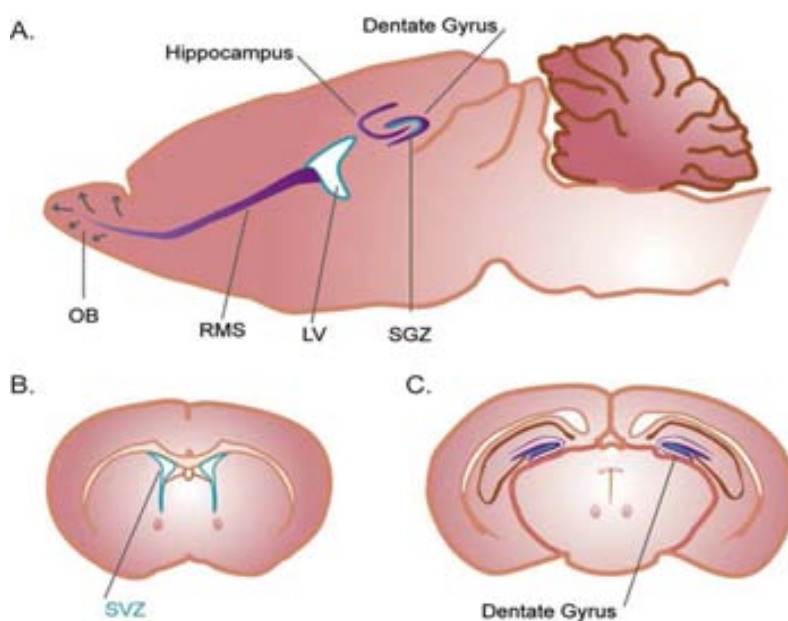


Figura 1. Nichos neurogénicos en el cerebro de la rata adulta. (A) sección sagital, B y C secciones coronales. Muestra las áreas conocidas que contienen células madres neurales: ZSV y ZSG del GD del hipocampo. Tomado de Vuvovik y col., 2011.

La mayor parte de las células que se generan en el GD se convierten en neuronas, sólo una pequeña parte se convierte en algún tipo de célula glial, sobre todo astrocitos y de todas las neuronas nuevas que se generan, sólo el 60% sobrevive (336).

Aunque inicialmente el significado funcional de las nuevas neuronas estaba poco claro (14) ha crecido la evidencia de que las nuevas neuronas generadas se integran dentro de las redes neuronales existentes y se vuelven funcionalmente activas (341), agregando un cierto nivel de plasticidad a la red (342). Durante la primera semana después del nacimiento, las células nuevas se someten a una diferenciación inicial y migran a la capa granular del GD. Durante la segunda semana, las dendritas se extienden hacia la capa molecular, para recibir

inputs desde la corteza entorrinal, y los axones crecen a través del hilus hacia la zona CA3, para inervar a las células piramidales de CA3 y las interneuronas del hilus. Durante la tercera semana comienzan las conexiones aferentes y eferentes con las redes neurales locales y reciben inputs glutamatérgicos desde la corteza entorrinal a través de la vía perforante; alrededor de la sexta semana las neuronas muestran propiedades estructurales y fisiológicas parecidas a las de las neuronas maduras (330,340,343). En comparación con las células granulares maduras, las nuevas neuronas muestran temporalmente hiperexcitabilidad y una mayor plasticidad sináptica, hasta que se afianzan como neuronas maduras (330).

La neurogénesis hipocampal adulta parece estar involucrada en la modulación de tareas hipocampo-dependientes (344,345). El aprendizaje de tareas que dependen del hipocampo influye en la neurogénesis que tiene lugar en el GD, regulando la supervivencia de las neuronas nuevas en función de la edad de estas neuronas respecto al entrenamiento y en función de la fase de aprendizaje (346,347). Específicamente parece tener un papel importante en las memorias espaciales y asociativas relacionadas con el GD (345). Se ha propuesto que las nuevas neuronas servirían para separar los eventos de acuerdo con sus características espaciales y temporales, lo cual permitiría diferenciar entre memorias semejantes (336,345,348). Estas nuevas neuronas también podrían tener una función en la reparación del daño cerebral (349). En este sentido las lesiones cerebrales pueden estimular la neurogénesis adulta no sólo en el hipocampo, sino también en otras regiones cerebrales como la neocorteza, el estriado, la amígdala o el hipotálamo (338).

Existen diferentes factores internos como los neurotransmisores, los factores de crecimiento, la edad o los trastornos neurodegenerativos, y externos, como el aprendizaje, el ejercicio físico, o las lesiones cerebrales, involucrados en la modulación y regulación de la neurogénesis.

El ejercicio físico es uno de los factores externos que más influencia parece tener sobre la neurogenesis adulta en el hipocampo, efecto que parece estar mediado por diversos factores de crecimiento como el VEGF (324). Numerosas investigaciones han demostrado

que el ejercicio físico promueve la neurogénesis (14,350) e incrementa la supervivencia de las neuronas existentes (350). Respecto a esto último, Van Praag y col. (351) encontraron mayor número de células Brdu+ y mayor comarcaje de células Brdu+ y NeuN+ (un marcador de neuronas maduras) en el hipocampo de ratones de 3 meses sometidos a ejercicio voluntario, lo que habla de la supervivencia de estas nuevas neuronas. Resultados parecidos fueron encontrados en otra investigación (352) en la que los animales de la misma edad y con ejercicio físico voluntario mostraron un mayor número de células Brdu+ y mayor supervivencia de éstas 4 semanas después de la última inyección de BrdU. El aumento de neurogénesis se ha reportado tanto en investigaciones que emplean ejercicio físico forzado (16,17) como en otras que utilizan ejercicio físico voluntario (18-20,353).

Dado que el ejercicio estimula la neurogénesis y además facilita el aprendizaje y la memoria, podría ser que el aumento de neuronas nuevas fuera responsable de la mejora de estos procesos cognitivos. De acuerdo con esto, algunas investigaciones han demostrado una asociación entre neurogénesis y aprendizaje (354-356) y un incremento en neurogénesis que se produce paralelamente a las mejoras en el aprendizaje tras la realización de ejercicio (134,209,351). Sin embargo, no está claro que el ejercicio facilite el aprendizaje y la memoria a través de la neurogénesis y podría ser clave un tercer factor, el BDNF; esta neurotrofina podría aumentar la neurogénesis y con ello el aprendizaje pero también es posible que fuera responsable directo del aumento tanto de la neurogénesis como del aprendizaje (21). Como hemos visto antes, el ejercicio físico aumenta los niveles de BDNF, especialmente en el hipocampo y se ha comprobado que esta NT es capaz de facilitar la plasticidad sináptica y el aprendizaje y la memoria. Además, parece ser capaz de estimular la neurogénesis (357,358).

El efecto del ejercicio sobre la neurogénesis adulta puede verse afectado por diversas variables que influyen asimismo este proceso. En este sentido, el envejecimiento y el declive cognitivo ligado al mismo se asocian con un decremento en la neurogénesis (206,359). Van Praag y col. (209) observaron que tanto en animales jóvenes (3 meses) como en animales viejos (19 meses) se producía neurogénesis tras realizar ejercicio físico, aunque ésta fue mayor en los animales jóvenes; de hecho, los animales viejos mostraron menor neurogénesis incluso que los animales jóvenes control (sin ejercicio). El comarcaje de Brdu+

y NeuN+ permitió determinar, además, que el porcentaje de células nuevas que sobrevivieron y se desarrollaron como neuronas maduras fue mayor en los animales jóvenes que en los viejos, si bien en estos también se detectaron células positivas para ambos marcadores.

Diversas condiciones patológicas afectan asimismo diferentes aspectos de la neurogénesis adulta. Así, por ejemplo, la isquemia genera un aumento de células nuevas en la ZSV y migración de nuevas neuronas hacia el área dañada pero que no sobreviven por largo tiempo (360). También se ha visto una alteración en la neurogénesis en enfermedades neurodegenerativas como la EA. Por ejemplo, Haughey y col. (361) reportaron una reducción de la proliferación y la supervivencia de las células nuevas en el GD de ratones transgénicos APP con placas de β A. Finalmente, el estrés, tanto agudo como crónico reduce la proliferación celular en el GD del hipocampo al parecer, en función del género (362), encontrándose un efecto inhibitorio en los machos y efectos estimuladores o ningún efecto en las hembras (363).

2.2.3.3. Angiogénesis

La angiogénesis es la formación de nuevos capilares sanguíneos a partir de los vasos existentes (328,364), y tiene un papel fundamental en una variedad de procesos fisiológicos y patológicos como el desarrollo embrionario, la cicatrización de heridas y el crecimiento de tumores (365). Es un proceso complejo que involucra una interacción entre células, factores solubles y componentes de la matriz extracelular (366).

La construcción de una red vascular requiere de una serie de pasos que comienzan con la liberación de proteasas de las células endoteliales con la subsiguiente degradación de la membrana basal que rodea el vaso existente, la migración de las células endoteliales dentro del espacio intersticial, la proliferación de células endoteliales y la diferenciación en vasos sanguíneos maduros (366). Este proceso es mediado por un balance de moléculas proangiogénicas tales como los factores de crecimiento y las citoquinas, así como por factores inhibidores que incluyen proteínas y fragmentos de la matriz extracelular (367).

Una vez finalizada la formación de los vasos sanguíneos durante el desarrollo, la angiogénesis cerebral se mantiene para responder a las demandas funcionales, produciéndose remodelación vascular en el cerebro adulto en respuesta a estímulos específicos (326). Dos de los estímulos que contribuyen a la angiogénesis son el daño cerebral, que conduce a una neovascularización distorsionada, probablemente debida al daño producido en el tejido y a la formación de cicatrices, y el ejercicio físico, que conduce al desarrollo de nuevos vasos en un ambiente menos perturbado (326).

El ejercicio físico influye en la vascularización cerebral incrementando la proliferación de células endoteliales y la angiogénesis sobre todo a través de un aumento de los niveles de dos factores de crecimiento, el IGF y el VEGF (22).

El efecto angiogénico del ejercicio forzado ha quedado demostrado en varias investigaciones (269,274,368). Por ejemplo, en uno de estos trabajos Ding y col. (274) sometieron a ratas a 2 horas de OACM seguida por 48 horas de reperusión y encontraron que el ejercicio forzado incrementó los niveles de angiopoyetina 1 y 2, de cuatro isoformas (120, 144, 164 y 188) del ARNm del VEGF y la densidad de microvasos. Todos estos cambios fueron más robustos a las 3 semanas del ejercicio, sugiriendo que el efecto neuroprotector del ejercicio frente a la lesión isquémica está asociada con la angiogénesis inducida por factores angiogénicos tras el ejercicio. En otro estudio Ding y col. (269) observaron que el ejercicio previo a la isquemia incrementaba la expresión del factor de crecimiento nervioso (*nerve growth factor*; NGF) y el BDNF en la corteza (neuronas) y el estriado (glía) de los animales con ejercicio que habían sido sometidos a una OACM; al mismo tiempo encontraron un incremento en la densidad de los microvasos del estriado. Finalmente, Ding y col. (368) también reportaron un incremento en la densidad de los microvasos una vez terminado el régimen de ejercicio en ratas sanas de 22 meses de edad, al igual que un incremento de angiopoyetina 1 y 2 y de cuatro isoformas de VEGF, demostrando que en animales envejecidos la angiogénesis puede inducirse con el ejercicio físico.

En estudios con ejercicio físico voluntario se ha observado un incremento de los capilares en regiones motoras del cerebro, dentro de los 30 días desde el establecimiento del régimen de

ejercicio (369). Van der Borght y col. (370) también encontraron que el ejercicio físico voluntario incrementaba la densidad de los vasos que contienen transportadores de glucosa (Glut1) especialmente en el GD, después de 3 días de ejercicio los cuales volvieron a su línea base tras 24 horas de haber cesado el ejercicio. Podría pensarse que la angiogénesis que se produce tras el ejercicio podría tener alguna implicación en la mejora que produce el ejercicio en la cognición, aunque no ha sido estudiado.

2.2.3.4. Otros

Densidad de espinas

El ejercicio también modifica las propiedades de las espinas dendríticas, especialmente su longitud y cantidad (15,353). Eadie y col. (353) analizaron células granulares individuales de ratas sometidas a ejercicio voluntario para determinar si este tratamiento alteraba algunos aspectos de la morfología celular en el cerebro y encontraron un incremento significativo en la longitud de las dendritas, la densidad de las espinas dendríticas y en el número de espinas disponibles para el contacto sináptico. Asimismo, Redila y col. (18) observaron que el ejercicio físico voluntario incrementó la neurogénesis y aumentó el número de procesos dendríticos primarios, la arborización dendrítica y la longitud de las dendritas. Este, por tanto, es otro factor que puede contribuir a los efectos potenciadores del ejercicio sobre los procesos cognitivos.

Sistemas de neurotransmisión

Algunos neurotransmisores se ven afectados por el ejercicio (15,50). Así, se ha reportado un incremento de 5HT, dopamina (371) y acetilcolina (372) en el cerebro de ratas sometidas a ejercicio. La serotonina y la noradrenalina son activadas tanto por el ejercicio físico forzado (373) como por el ejercicio físico voluntario (374). Genes relacionados con el sistema glutamatérgico son regulados a la alza mientras que aquellos relacionados con GABA son regulados a la baja (375).

Como ya se dijo en un apartado anterior, diversos neurotransmisores regulan la migración, maduración e integración de las nuevas neuronas. El glutamato se encuentra entre los neurotransmisores que regulan la neurogénesis; algunos estudios al respecto se han

centrado en el efecto de los receptores NMDA y AMPA. Por ejemplo, relacionado con el primero, los resultados indican que la administración de NMDA reduce la proliferación celular del hipocampo y que el efecto contrario ocurre cuando se administra un antagonista del receptor NMDA (376-378). La 5-HT también está involucrada, observándose que el bloqueo de su síntesis o la lesión del sistema provoca una reducción de la proliferación de nuevas células en el hipocampo y en la ZSV (379). La depleción de la dopamina disminuye la proliferación de células nuevas tanto en la ZSV como en la ZSG, que se restablece completamente por un agonista (380). La depleción de noradrenalina resulta en una reducción del 63% en la proliferación celular del GD mientras que la diferenciación de estas células en neuronas o glía no se ve afectada (381).

En definitiva, el efecto del ejercicio depende de una serie de mecanismos que son activados como respuesta a la actividad física y que en conjunto son capaces de generar efectos beneficiosos.

2.3. CITICOLINA Y PROCESOS COGNITIVOS

Numerosos datos sugieren que la citicolina, o CDP-colina (difosfato de citidina de colina), tiene efectos neuroprotectores, y podría tener asimismo efectos neuroreparadores (25,382). La citicolina es un nucleótido, que se encuentra por lo general en todas las células y participa como intermediaria en la biosíntesis de los fosfolípidos (24,25). Estas moléculas son constituyentes esenciales de las membranas celulares, siendo imprescindibles para el cumplimiento de sus funciones: mantenimiento de la homeostasis y la compartimentalización celular, actividades enzimáticas asociadas a los sistemas membranosos, acoplamiento entre el receptor y la señal intracelular, y en el caso de las neuronas, conducción y transmisión del potencial de acción (23). La integridad de la membrana celular, así como el metabolismo de los fosfolípidos, resultan afectados por la isquemia, la hipoxia, el TBI, las enfermedades neurodegenerativas o el envejecimiento cerebral, por lo que la citicolina podría tener sus efectos neuroprotectores y de facilitación de la recuperación contribuyendo al mantenimiento de la integridad y la reparación de las membranas celulares (23). La citicolina, además, forma parte del metabolismo de la acetilcolina, por lo que su administración puede servir como aporte exógeno de colina y

aumentar la síntesis de este neurotransmisor (23). También se ha visto que la citicolina es capaz de aumentar la síntesis de dopamina. Todos estos efectos de la citicolina (neuroprotección, neuroreparación y efectos sobre diferentes neurotransmisores) podrían contribuir a reducir los déficits cognitivos asociados a un TBI y a otros procesos que se acompañan de degeneración del tejido nervioso.

En general, la administración de citicolina es segura y los riesgos de sufrir efectos adversos son mínimos, y aunque muestra potenciales beneficios para el tratamiento de diversas patologías, como dicen Arenth y col. (26) son necesarias muchas más investigaciones a fin de responder numerosas cuestiones acerca de su uso como por ejemplo, la dosis más adecuada, el tiempo de espera para iniciar el tratamiento desde que se produce el daño, etc.

2.3.1. Efectos sobre los procesos de aprendizaje y memoria

En estudios clínicos se ha encontrado que pacientes con diferentes patologías adquiridas o asociadas a la edad, que han sido tratados con citicolina, han mejorado algunas de sus funciones cognitivas (ver tabla 12). Por ejemplo, Ortega y col. (citado por (23)) hallaron que los pacientes con isquemia que han sido tratados con citicolina (1gr/d) durante 6 meses, mejoran funciones cognitivas como la atención, el control ejecutivo y la orientación espacial. En pacientes con traumatismo craneal, la citicolina mejoró la memoria de reconocimiento visual (383) y la ejecución en tareas de fluidez verbal (384). También se ha reportado mejoras en la memoria verbal en personas mayores con déficits de memoria (385), y en la atención en pacientes con patología vascular (386). Pacientes con enfermedades neurodegenerativas como la EA también se han beneficiado del tratamiento con citicolina (387-390). Por ejemplo, Caamano y col. (387) encontraron que pacientes con EA que habían recibido un tratamiento con citicolina (1000mg) durante un mes, mostraron mejores resultados en la cognición global medida con el Mini Mental Examination Test. Resultados parecidos se encontraron en otro estudio (390) en el que los sujetos tratados con citicolina mejoraron su cognición global.

En concordancia con los estudios en humanos, la administración de citicolina en modelos animales de diversas patologías ha mostrado resultados similares. En éstos, la

administración del fármaco se ha realizado bien de manera oral o bien intraperitoneal (i.p), realizándose estudios tanto en animales jóvenes como en animales envejecidos. Según los datos recogidos, las dosis empleadas suelen ser más altas en animales jóvenes (300-500mg) que en los animales envejecidos (10-100mg/kg) y el período de intervención suele ser muy variable entre 5 días a 1 año.

En general, los estudios en animales con déficits en aprendizaje y memoria de origen diverso (TBI, isquemia, asociada a la vejez, etc) revelan que la citicolina mejora las funciones cognitivas, tanto en tareas hipocampo-dependientes como el laberinto radial, el laberinto de Morris o la evitación pasiva, como no hipocampo dependientes como la evitación activa de dos sentidos. Por ejemplo, Drago y col. (391) estudiaron el efecto de la citicolina (10 o 20 mg/kg al día) en animales de 24 meses que presentaban déficits cognitivos y motores y en ratas con alteraciones comportamentales inducidas farmacológicamente, y tras 20 días de tratamiento encontraron no sólo una mejora a nivel motor y de coordinación sino también en aprendizaje y memoria medidos con los tests de evitación activa y pasiva. El efecto de la citicolina en ratas con déficits de memoria inducidos farmacológicamente también ha sido estudiado por Petkov y col. (392), en un experimento en el que administraron citicolina por vía oral, en dosis diarias de 10-50 o 100mg/kg durante 7 días, a animales jóvenes (5 meses) y a animales viejos (22 meses) y en animales con poca capacidad de retención inducida farmacológicamente, observando que la citicolina redujo los déficits en memoria.

El efecto de la citicolina en los déficits cognitivos generados como consecuencia de estar sometidos a ambientes empobrecidos también ha sido estudiado por Teather y col. (393). En este caso, la citicolina se administró en la dieta de los animales (dieta enriquecida con citicolina 500mg/kg), y los investigadores compararon la ejecución de ratas que habían estado en condición de aislamiento o en ambiente enriquecido durante 3 meses, en una tarea espacial (laberinto de Morris). Estos investigadores encontraron que las primeras mostraban un déficit selectivo en la memoria espacial, que podía ser disminuido con la administración de citicolina, siempre que el tratamiento fuera continuo durante tres meses. En cambio, en las ratas que estuvieron en un ambiente enriquecido la citicolina no tuvo ningún efecto. Los investigadores concluyeron que el fármaco disminuye el déficit de

memorias dependientes de hipocampo que se producen como consecuencia de estar en ambientes empobrecidos, y que esa acción resulta en parte gracias al aumento de la síntesis de fosfolípidos de membrana.

La pérdida de memoria asociada al envejecimiento ha sido estudiada por Crespo y col. (394) en ratones de 12 y 24 meses de edad a los que se les administró citicolina en una dosis de 150mg/kg día por vía oral, encontrando un efecto beneficioso en el laberinto radial que se tradujo en una disminución de los errores de referencia. Teather y col. (395) también estudiaron el efecto de la citicolina administrada en la dieta (dieta enriquecida con citicolina 500mg/kg), sobre la pérdida de memoria asociada a la vejez, y encontraron que tras la administración del fármaco durante 8 semanas, las ratas envejecidas mostraron una ejecución en el laberinto de Morris muy parecida a la de los animales jóvenes. En este estudio no se vio efecto de la citicolina en animales jóvenes.

Zhao y col. (396) investigaron el efecto que la citicolina tiene en la memoria espacial, medida a través del laberinto de Morris, en ratas con isquemia cerebral focal, y encontraron que mientras que los animales del grupo control mostraban serias deficiencias en la memoria espacial, los animales tratados con citicolina (500mg/kg, i.p) mostraron mejores resultados evidenciados en una latencia de escape significativamente menor y un mayor porcentaje de tiempo en el cuadrante adecuado. En otro estudio con ratas sometidas a hipoperfusión cerebral crónica, Lee y col. (397) encontraron que el grupo que recibió citicolina (500 mg/día, i.p) inmediatamente después de la lesión mostró una conservación de las funciones cognitivas medidas con el laberinto radial, en comparación con el grupo vehículo, mientras que el grupo que recibió citicolina con demora (8 días después) mejoró los resultados de la valoración cognitiva.

En modelos de demencia cerebrovascular (con episodios de isquemia repetidos) se ha reportado que la administración de citicolina en dosis de 100, 300 o 1000 mg/kg por día mejora la memoria espacial en el laberinto radial, lo cual se evidencia en un incremento del número de elecciones correctas y una disminución del número de errores, siendo el efecto dosis dependiente, es decir, a mayor dosis mayor efecto (398).

Finalmente, Dixon y col. (399) realizaron un estudio en el que determinaron si la administración exógena de citicolina podía atenuar el déficit en memoria espacial en ratas con un TBI provocado por un CCI. La citicolina fue administrada i.p un día después de la lesión y durante 18 días, en dosis de 100mg/kg. Estos autores encontraron que los animales tratados con citicolina mostraban significativamente menores déficits cognitivos en el laberinto de Morris, entre los días 14 y 18 postlesión que los animales tratados con salino.

Todos estos estudios tanto en humanos como en animales contribuyen a demostrar que la citicolina es un fármaco capaz de revertir los déficits cognitivos asociados con el envejecimiento, así como los que ocurren como consecuencia de diversas patologías, principalmente trastornos vasculares, pero también TBI.

	Autor	Sujetos/especie	Dosis	Administración	Duración del tto	Momento de la evaluación	Resultados
Humanos	Alvarez y col. 1997 (400)	Sujetos con pérdida de memoria asociada a la edad sin demencia	1000mg/día, 500 mg/día y citicolina + nipodimine 300mg/día+90 mg/día	oral	1 mes		+ Mejora en las tareas de recuerdo libre pero no en los test de reconocimiento en los tres subgrupos de citicolina
	Caamano y col. 1994 (387)	Sujetos con EA	1000mg/día	oral	1 mes	Línea base y después del tratamiento	+ Mejores resultados en el MMSE Test en pacientes con un temprano establecimiento de la enfermedad
	Cacabelos y col. 1996 (390)	Sujetos con EA	1000mg/día	oral	1 mes		Mejora significativa en el MMSE en el grupo de establecimiento temprano de la enfermedad con una tendencia en el grupo en general
	Cacabelos y col. 1993 (388)	Pacientes con demencia senil (EA y demencia multiinfarto)	1000mg/día	oral	3 meses		+ Mejora de la ejecución en todos los grupos incluyendo el control evaluados mediante diferentes tareas el Mini Mental Examination Test y la escala de depresión de Hamilton
	Franco-Maside y col 1994 (389)	Sujetos con EA	1000mg/día		1 mes	Después del tratamiento	+ Mejora en la función cognitiva en pacientes con un establecimiento temprano de la enfermedad
	Levin y col. 2001 (383)	Sujetos con TBI	1 gr	oral		Línea base y un mes después del tratamiento	+ Reducción de los síntomas post-contusionales. Mejora en la memoria de reconocimiento
	León-Carrión y col. 2000 (384)	Sujetos con TBI	1 gr	oral			+ Mejoría en aprendizaje, memoria y fluencia verbal
	Ortega y col. 2010	Sujetos con isquemia	2 gr/d 1gr/día		6 semanas y 6 meses	Línea base, 6 semanas y 6 meses	+ A los 6 meses los pacientes tratados con citicolina mostraron una mejora en atención, control ejecutivo y orientación temporal
	Piccoli y col. 1994 (386)	Sujetos con patología vascular	1000mg/día	i.m	2 ciclos, 4 semanas cada una		+ Mejora en tareas de atención
	Spiers y col. 1996 (385)	Sujetos con pérdida de memoria asociada a la vejez	1000mg/día y 200mg/día		3 meses y 2 meses		+ Con dosis de 1000mg/kg: mejora en el recuerdo demorado. Con dosis de 200mg/día: mejora en la memoria inmediata y demorada
Animales	Crespo y col. 2004 (394)	Ratones de 12, 24 meses de edad pérdida de memoria asociada a la vejez	150mg/kg día	oral	1 año, desde 12 a 24 meses		+ Mejora en la memoria medida en el laberinto radial (especialmente en los errores de referencia)
	Dixon y col. 1997 (399)	Ratas con TBI (CCI) 2mm de deformación	100 mg/kg	ip	18 días empezando el día 1 postlesión		Menos déficits en el laberinto de Morris entre los días 14 y 18. Incremento de Ach en el hipocampo dorsal y la neocorteza

Drago y col. 1993 (391)	Ratas de 24 meses y ratas con déficit cognitivo inducido farmacológicamente	10 o 20 mg/kg día	ip	20 días		Mejora en la ejecución motora y en la coordinación. Mejora cognitiva evaluada con el test de evitación activa y pasiva
Getova y col. 1990 (401)	Ratas sin patología	100mg/kg	oral	5 días		Mejora en el laberinto de Morris con la administración de citicolina
Lee y col. 2009 (397)	Ratas con hipoperfusión crónica	500mg/kg por día	ip	21 días (inmediata a la lesión o empezando 8 días después de la lesión)	Día 17 de la administración de citicolina	Administración inmediata: preservación de las funciones cognitivas Administración con demora: mejora cognitiva más evidente en relación con el grupo control
Mosharrof y col. 1987 (402)	Ratas de 22 meses	Meclofenoxate: 50mg/kg o Citicolina: 10mg/kg		2 veces al día por 7 días		Ambas drogas mejoran la retención de los animales en tareas de evitación pasiva y evitación activa. Ambas drogas previenen los déficits de memoria producidos por escopolamina
Petkov y col. 1993 (392)	Ratas 5 y 22 meses y ratas y ratones con déficit cognitivo inducido farmacológicamente	10-50mg/kg día 100 mg/kg día		7 días		Mejora en la memoria particularmente en los animales con déficit
Teather y col. 2005 (393)	Ratas Sprague Dawley 3 meses en ambiente empobrecido o ambiente enriquecido	Dieta con suplemento de citicolina 500mg/kg día	oral	3 meses	Después del tratamiento	Ratas jóvenes en condición de aislamiento + Ratas jóvenes sometidas a un ambiente enriquecido -
Teather y col. 2003 (395)	Ratas envejecidas 15 meses	Dieta con suplemento de citicolina 500mg/kg día	oral	2 meses	Después del tratamiento	+ La mayoría de las ratas envejecidas tratadas con citicolina tuvieron una ejecución en el laberinto de Morris parecida a la de los animales jóvenes. Ningún efecto en animales jóvenes
Takasaki y col. 2001 (398)	Ratas con demencia cerebro-vascular	Citicolina o donepezil 100, 300 1000mg/kg día	oral	1 hora después de la primera oclusión, 7 días	Después del tratamiento	Ambos tratamientos: + Mejora en la ejecución en el laberinto radial de una manera dosis dependiente
Zhao y col. 2006 (396)	Ratas con OACM	500mg/kg	ip	1 vez al día, 2 semanas después de la lesión	15 días después de la lesión por 5 días	+ Mejora en la ejecución del laberinto de Morris

Tabla 12. Citicolina y funciones cognitivas. Abreviaturas: MMSE: *Minimental State Examination*, OACM: oclusión de la arteria cerebral media.

2.3.2. Efectos neuroprotectores

En los párrafos anteriores vimos cómo los estudios, tanto en humanos como en animales, han demostrado que el uso de la citicolina como tratamiento para los déficits cognitivos de diferente etiología puede reportar beneficios importantes para la posterior recuperación. Ahora nos centraremos en los efectos neuroprotectores que se han descubierto con los estudios histológicos y/o bioquímicos en los modelos animales.

La citicolina ha despertado mucho interés, entre los investigadores, como tratamiento de diferentes patologías como la isquemia y el TBI, así como también de enfermedades neurodegenerativas, patologías éstas en las que son comunes la disrupción de la señalización neuroquímica y las alteraciones del metabolismo y la integridad de la membrana celular (26).

En general, los estudios que valoran el efecto neuroprotector de la citicolina utilizan dosis muy variables 100-1000mg/kg, la principal vía de administración es i.p y suelen emplearse tratamientos cortos (1-3 inyecciones) que comienzan en un período de tiempo muy breve después del daño (ver tabla 13).

La isquemia es una de las patologías en las que se ha visto los efectos protectores de la citicolina. Por ejemplo, en un estudio que realizaron para evaluar la neuroprotección proporcionada por la citicolina durante la oclusión (interrumpida e ininterrumpida) de la arteria basilar, después de una hemorragia subaracnoidea en ratas, Alkan y col. (403) encontraron una reducción significativa de la mortalidad, y una disminución en el volumen del infarto en los animales tratados con citicolina en comparación con el grupo tratado con salino. Hurtado y col. (404) estudiaron los efectos neuroprotectores de la citicolina en modelos en vivo e *in vitro* de isquemia y encontraron que la citicolina (0.5, 1 y 2 gr/kg), administrada 1 hora antes de la oclusión, producía una reducción del tamaño del infarto en el estriado, y que la incubación con 10 y 100µM de citicolina en cultivos de neuronas corticales prevenía los efectos de la privación de oxígeno-glucosa y la excesiva liberación de glutamato, y recuperaba los niveles de adenosín trifosfato (ATP). Alonso de Leciana y col. (405) hallaron que, comparados con el grupo control, los animales con isquemia a los que se

les administró 250mg/kg de citicolina después de un tratamiento de trombolisis, mostraron una reducción en la mortalidad causada por la lesión isquémica, una reducción del volumen del infarto y una disminución del número de células Túnel+ (marcador de muerte neuronal) en el estriado; la citicolina como monoterapia sólo produjo una reducción de la muerte neuronal en el estriado. En otro estudio en el que se empleó 400mg/kg por día, i.p, de citicolina en combinación con hipotermia en animales con isquemia, se encontró un efecto superior cuando se combinaron ambos tratamientos que cuando se emplearon por separado (406). Finalmente, Suaih y col. (407) también encontraron que la combinación de citicolina y urokinasa ofrecía mayor neuroprotección que la citicolina sola, reduciendo el tamaño del volumen del infarto al 13,6% en comparación con el 20,9% que se observó con una dosis de citicolina, el 18,9% con tres dosis y el 33,1% en los animales tratados con salino.

Existen pocos estudios con modelos animales de TBI, pero en ellos también se han evidenciado los efectos neuroprotectores de la citicolina. Aunque los datos de los que disponemos son reducidos y no podemos sacar conclusiones definitivas, las dosis bajas de citicolina como 50mg/kg parecen tener menos efectos tras una lesión con CCI moderada que las dosis altas. Por ejemplo, Baskaya y col. (408) examinaron los efectos de la administración de dos inyecciones, i.p., de citicolina, en dosis de 50, 100 o 400 mg/kg al día), después de una lesión con CCI, sobre el daño secundario, el edema cerebral y la rotura de la BHE. Observaron que la dosis de 50 mg/kg no produjo efectos beneficiosos significativos, la de 100 mg/kg dio lugar a una atenuación de la rotura de la BHE tanto en la corteza dañada como el hipocampo ipsilateral y redujo el edema sólo en la corteza dañada, mientras que la dosis de 400 mg/kg redujo el edema cerebral y la ruptura de la BHE en ambas zonas, lo que revela un efecto neuroprotector dosis dependiente. En otro estudio, Dempsey y col. (409) evaluaron el efecto de diferentes dosis de citicolina (100, 200 y 400mg/kg, i.p tras una lesión con CCI moderada, para lo cual administraron dos inyecciones, una inmediatamente después de la lesión y otra a las 6 horas. Observaron que la dosis de 100 mg/kg no tuvo efecto sobre la pérdida neuronal en el hipocampo, mientras que la dosis de 200mg/kg previno la muerte de las neuronas en las zonas CA2 (76%) y CA3 (88%). La dosis de 400mg/kg no tuvo un efecto protector mayor. De la misma forma, con estas dos últimas dosis se

disminuyó significativamente el volumen de la contusión y hubo una mayor recuperación neurológica.

Finalmente, al igual que con la isquemia, con el TBI se han realizado estudios en los que se combina la citicolina con otros fármacos para determinar si la terapia combinada tiene efecto mayor que cada tratamiento por separado. Por ejemplo, Menku y col. (24) usaron como modelo de lesión cerebral la caída de un peso, y compararon los efectos del propofol y la combinación de citicolina 250mg/kg más propofol 100mg/kg, en la peroxidación lipídica. El tratamiento fue administrado 10 minutos después de la lesión y encontraron que el uso combinado de estas drogas no tenía un efecto superior que la administración de cada una por separado.

Todos estos estudios evidencian que la citicolina es un fármaco capaz de producir neuroprotección tras diferentes patologías que producen daños a nivel celular y molecular.

Autor	Patología	Sujetos	Dosis	Administración	Duración del tto	Resultados (neuroprotección)
Alkan y col. 2001 (403)	Isquemia	Ratas Sprague Dawley	400mg/kg	ip	Inmediatamente después de la hemorragia subaracnoidea	Neuroprotección: + Menor mortalidad en el grupo tratado con citicolina. Incremento de la presión arterial 30-40 minutos después de la oclusión. Menor volumen del infarto
Baskaya y col. 2000 (408)	TBI (CCI) 2 mm deformación	Ratas Sprague Dawley	50, 100 y 400 mg/kg	ip	2 inyecciones después de la lesión	Neuroprotección: + Ningún efecto con la dosis de 50mg/kg. Con dosis de 100mg/kg: atenuación de la extravasación de la Evans blue dye tanto en la corteza dañada como en el hipocampo ipsilateral, reducción del edema sólo en la corteza. Con dosis de 400mg/kg: reducción del edema y de la rotura de la BHE en ambas zonas
Dempsey y col. 2003 (409)	TBI (CCI) 2 mm deformación	Ratas Sprague Dawley	100, 200, 400mg/kg	ip	2 veces: inmediata a la lesión y 6 horas después	Neuroprotección: + Menor pérdida neuronal en el hipocampo con dosis de 200 y 400mg/kg. Decremento del volumen de la contusión. Mejora a nivel neurológico
Hurtado y col. 2005 (404)	Isquemia	Ratas Fischer	0.5, 1 y 2gr/kg	ip	1 hora antes de la oclusión	Neuroprotección: + Reducción del volumen del infarto en el estriado que correlaciona con el decremento de la concentración extracelular de glutamato. Inhibición del decremento de los niveles de ATP
Lecinaga y col. 2006 (405)	Isquemia	Ratas Long Evans	250mg/kg y Trombolisis	ip	3 inyecciones	Neuroprotección (citicolina después de trombolisis): + Reducción del volumen del infarto, de la muerte neuronal y de los niveles en plasma de TNF α a 3 y 72 horas. Reducción de la mortalidad debida a daño cerebral y una mejora de los resultados clínicos
Menku y col. 2010 (24)	TBI (caída de un peso)	Ratas Swiss Albino	Propofol 100mg/kg y citicolina 250mg/kg + propofol 100mg/kg	ip	10 minutos después del trauma	Neuroprotección: + La combinación de citicolina y propofol protege contra del daño cerebral inhibiendo la peroxidación lipídica pero su efecto no es superior al del propofol sólo.
Sahin y col. 2010 (406)	Isquemia	Ratas Sprague Dawley	Citicolina 400mg/kg día, hipotermia y citicolina + Hipotermia	ip	Después del período isquémico	Neuroprotección: + Citicolina y citicolina + hipotermia producen más neuroprotección que la hipotermia sola. Reducción de las proteínas pro-apoptóticas, especialmente caspasa 9
Shuaib y col. 2000 (407)	Isquemia	Ratas	Citicolina 300mg/kg y citicolina + urokinasa intra-arterial	ip	1 inyección (2h después de la oclusión) o 3 inyecciones (en las siguientes 72h)	Neuroprotección: + Reducción del daño neuronal en la corteza de los animales tratados con citicolina sola en los dos grupos. Citicolina + urokinasa: mayor protección que con cada tratamiento por separado
Takasaki y col. 2001 (398)	Demencia cerebrovascular	Ratas	Citicolina o donepezil 100, 300 1000mg/kg día	oral	1 hora después de la primera oclusión, 7 días	Citicolina: Neuroprotección + Supresión de la muerte neuronal y de caspasa 3 en el hipocampo

Tabla 13. Citicolina y efectos neuroprotectores en roedores. Abreviaturas: CCI: Impacto cortical controlado, BHE: barrera hematoencefálica.

2.3.3. Efectos sobre los neurotransmisores

La citicolina también actúa sobre algunos neurotransmisores, por ejemplo, es un precursor de la acetilcolina, un neurotransmisor que tiene un papel importante en distintas funciones del sistema nervioso central y periférico, en especial, en el funcionamiento motor y cognitivo (26). Específicamente el sistema colinérgico juega un papel crucial en el aprendizaje y la memoria. Las neuronas colinérgicas utilizan colina tanto para fabricar acetilcolina como el fosfolípido de membrana fosfatidilcolina. Si la colina se agota, por ejemplo debido a una hiperactivación de las neuronas colinérgicas causada por la liberación de aminoácidos excitatorios en la isquemia cerebral, la fosfatidilcolina se hidroliza y proporciona una fuente de colina para fabricar acetilcolina (410). La neurotransmisión se mantiene pero a expensas de los fosfolípidos, lo cual puede dar lugar a la muerte de la neurona. En este sentido, la citicolina es una fuente suplementaria de colina que previene la hidrólisis de fosfatidilcolina y la muerte de neuronas colinérgicas (410).

La citicolina también actúa como agonista de la dopamina, aumentando su síntesis en el estriado, probablemente a través de una activación de la tirosina hidroxilasa. Este aumento estaría determinado en parte por una inhibición de la recaptación de dopamina, relacionada con la acción de la citicolina en la síntesis de fosfolípidos (23).

Finalmente, la citicolina parece tener también un cierto efecto sobre la serotonina y la noradrenalina, sobre los receptores muscarínicos y nicotínicos y sobre el glutamato, los opioides y el GABA (23).

2.3.4. Conclusiones

En general se puede decir que los estudios demuestran que la citicolina tiene efectos potencialmente beneficiosos para el tratamiento de algunas patologías, siendo por un lado neuroprotector, actuando sobre las cascadas moleculares que se presentan tras el daño y por otro, neurofacilitador, mejorando la recuperación en el curso de la rehabilitación (26). A partir de los estudios analizados podemos derivar algunas conclusiones:

- La citicolina parece mejorar las funciones cognitivas afectadas tras diferentes patologías.
- La citicolina puede demorar el establecimiento de la pérdida de memoria asociada a la vejez.
- La citicolina mejora la función de algunos neurotransmisores como la dopamina y la acetilcolina contribuyendo por ende a la mejora de las funciones cognitivas.
- La citicolina parece tener efectos positivos con intervenciones relativamente cortas.

A pesar de todo lo anterior, son necesarias muchas más investigaciones a fin de determinar las mejores condiciones de tratamiento. En especial, en el caso de un TBI que es el que nos ocupa, las investigaciones conducentes a valorar el efecto neuroprotector de la citicolina son muy reducidas. En este sentido, un mayor número de investigaciones son necesarias a fin de determinar qué dosis es más efectiva, la duración del tratamiento que resulte más eficaz, la ventana de tiempo más adecuada entre el establecimiento de la lesión y la administración del fármaco, y efectos diferenciales en lesiones leves, moderadas y severas. También sería interesante determinar si la citicolina tiene un efecto preventivo en algún tipo de lesión.

2.4. MEMORIA DE RECONOCIMIENTO DE OBJETO (MRO)

La memoria de reconocimiento es la habilidad para juzgar si algo es novedoso o familiar, lo cual es una capacidad central para el recuerdo (411). En roedores puede ser evaluada usando un paradigma de conducta espontánea que se construye en base a la preferencia de los animales por explorar algo novedoso (412-414). Consiste en una fase de familiarización, un intervalo de demora y una fase de evaluación, siendo la preferencia de los animales por la novedad un índice de la memoria (415). Esta tarea tiene numerosas ventajas sobre otras, entre ellas: explota la preferencia innata de los sujetos por explorar lo novedoso, y no necesita un extensivo pre-entrenamiento ni el aprendizaje de reglas (415); tampoco requiere el uso de reforzadores como alimento o descargas eléctricas en las patas, por lo que es una tarea que genera muy poco estrés (118).

Existen diversas variantes de la tarea de reconocimiento de objetos. La memoria de reconocimiento de objeto estándar (MRO) se basa en la tendencia espontánea de los

animales por explorar preferentemente un objeto nuevo, en lugar de uno familiar que ha sido presentado previamente. Otras versiones de esta tarea son 1) la memoria de reconocimiento de la localización de un objeto, basada en la capacidad de los animales para detectar que un objeto ha sido movido a una nueva posición no ocupada previamente por ningún objeto; 2) la memoria de reconocimiento del objeto en el lugar, que evalúa la asociación de diferentes ítems con localizaciones particulares, y en la que se mide concretamente la capacidad de los animales para detectar que algunos de los objetos intercambian su posición, y 3) la memoria de reconocimiento de orden temporal, que mide la habilidad para diferenciar entre dos objetos familiares presentados anteriormente en diferentes momentos (411).

2.4.1. Regiones cerebrales relacionadas

Los estudios acerca de las bases neurales de la MRO demuestran que hay varias regiones implicadas: la corteza perirrinal, el hipocampo y la corteza prefrontal medial (416).

Corteza perirrinal

En el cerebro de la rata la corteza perirrinal se sitúa a lo largo de la mayor parte del surco rinal, y corresponde a las áreas 35 y 36 de Brodmann en humanos (417). Delimita, rostralmente, con la corteza insular agranular posterior y el área visceral; caudalmente, con la corteza postrinal; ventralmente, con la corteza entorrinal lateral, y dorsalmente con las áreas de asociación temporal (418). Junto con la corteza entorrinal, la postrinal, el presubíulum y el parasubíulum (417,419) son considerados la región parahipocampal.

La corteza perirrinal es una estructura central en el procesamiento de las informaciones que llegan y salen del hipocampo. Contribuye directa e indirectamente (a través de la corteza entorrinal) a las proyecciones al hipocampo, y es asimismo una de las principales estructuras que recibe eferencias desde el hipocampo. Forma también conexiones recíprocas con las cortezas entorrinal y postrinal (417) y con la corteza prefrontal (411). La corteza perirrinal recibe numerosos inputs de otras áreas corticales como las cortezas precentral, cingulada, parietal, frontal, piriforme, insular, prelímbica, infralímbica y de asociación visual y auditiva (417). Las aferencias corticales están dominadas por la información polimodal (419). En

cuanto a las proyecciones subcorticales éstas se originan en la amígdala, el tálamo, el hipotálamo, los ganglios basales, el núcleo de rafe y el bulbo olfatorio (417).

Está ampliamente aceptado que la corteza perirrinal es crucial para la memoria de reconocimiento (420). La corteza perirrinal parece actuar como un detector de la novedad y aunque otras áreas tales como las cortezas visual, de asociación temporal y entorrinal, el tálamo y el hipocampo también muestran signos de activación durante las tareas de reconocimiento de objeto, es la corteza perirrinal la que juega el papel más importante (417).

En ratas, las lesiones permanentes de esta región cerebral deterioran la MRO cuando el test se realiza con demoras de 15 minutos o más (118,421,422). El papel de la corteza perirrinal en diferentes estadios de esta memoria ha sido estudiado mediante la infusión bilateral de lidocaína (423). La infusión de esta droga inmediatamente antes de la fase de adquisición deteriora la memoria de reconocimiento tanto con una demora cercana a 0 como con demoras de 5, 20 y 180 minutos, lo que sugiere que la corteza perirrinal interviene en la codificación de las características de los objetos; lo mismo ocurre con la inactivación de la corteza perirrinal inmediatamente antes de la retención. La inactivación de la corteza perirrinal inmediatamente o 20 minutos después de la fase de adquisición también afecta la memoria, mientras que la inactivación 40, 60 u 80 minutos después no tiene el mismo efecto.

En otras versiones de la tarea de reconocimiento, la lesión de la corteza perirrinal tiene diferentes consecuencias. Por ejemplo, cuando se mide la habilidad de los animales para detectar que un objeto ha sido movido a una nueva localización (memoria de localización del objeto), se ha observado que la ejecución de los animales no se ve afectada por la lesión (424). En cambio, las lesiones de la corteza perirrinal sí que parecen afectar la ejecución cuando el objetivo de la tarea es medir la asociación de un objeto con una localización particular, lo que requiere que el animal combine e integre información del lugar (dónde) y del objeto (qué) (425,426), así como en la tarea de reconocimiento de orden temporal en la

que el animal tiene que diferenciar entre dos objetos familiares que han sido presentados previamente en diferentes momentos (426).

En conjunto, la corteza perirrinal parece ser crítica para almacenar las informaciones que permiten reconocer si un determinado objeto es nuevo o ha ocurrido previamente, así como para el procesamiento de las memorias de reconocimiento temporal y de objeto en el lugar (427), pero no para recuerdo de localización de un objeto. En la línea de lo propuesto por McKenzie y Eichenbaum (428), los dos últimos tipos de memoria se diferenciarían en que en la tarea de reconocimiento de objeto en el lugar hay un componente de representación configuracional (objeto y contexto como formando parte de una representación unitaria), función en la que estaría implicada la corteza perirrinal/postrinal (aprendizaje configuracional); en cambio, en el reconocimiento de la localización de un objeto se recuerda el objeto en relación a otros estímulos contextuales, pero sin que se establezca una representación configuracional, y este recuerdo de las relaciones espaciales que se establecen entre diferentes estímulos está relacionado con el hipocampo (aprendizaje relacional).

Hipocampo

La ubicación del hipocampo en todos los mamíferos es más o menos similar. Dos puntos de referencia en el cerebro que definen sus límites son el surco rinal y la fisura hipocampal (429). Está compuesto por el cuerno de Amón (CA1, CA2 y CA3), el GD y el complejo subicular (430). Recibe una gran variedad de inputs los cuales llegan a través de la corteza entorrinal, mientras que sus outputs viajan principalmente a través del subíulum y la fimbria/fornix (430).

El papel del hipocampo en la MRO es controvertido (416); mientras un gran número de investigaciones muestra que las lesiones en el hipocampo no afectan esta tarea (431-436) otros reportan importantes déficits (117,437-441). Los diferentes resultados probablemente se deben a diferencias en los procedimientos empleados aunque no parece claro cuál o cuáles son los parámetros clave. Por ejemplo, en algunos estudios, durante la fase de adquisición se coloca a los animales en la caja experimental y se les deja allí hasta que han

explorado los objetos durante un determinado período de tiempo (20-30 segundos) garantizando que todos los animales exploran los objetos durante el mismo tiempo. En uno de los estudios en los que se empleó este protocolo los autores encontraron importantes déficits tras la lesión hipocampal (439) mientras que otros no observaron efectos (431,432,435). En otros estudios por el contrario, se establece un período de tiempo determinado que varía entre 3-5 minutos y se deja a los animales que exploren cuanto quieran, generando diferencias en cuanto a la cantidad de tiempo que los animales exploran los objetos durante la fase de familiarización. Usando este protocolo, también se han reportado resultados contradictorios, mientras que en algunos, la lesión en el hipocampo no afecta la memoria de reconocimiento (433,434) en otros sí (117,438). En estos dos últimos estudios se empleó una fase de adquisición con una duración de 15 minutos. Estos resultados podrían indicar que este tipo de memoria dependería del hipocampo cuando la fase de adquisición empleada es larga (431). Situación parecida ocurre con la duración de la retención, en la que algunos autores establecen un periodo de tiempo fijo que suele ser 3-5 minutos mientras que otros esperan que el animal haya explorado determinada cantidad de tiempo 20-30 segundos.

Otro aspecto que varía entre estudios es la caja experimental empleada. La mayoría de los investigadores utilizan un campo abierto mientras que otros hacen uso de un laberinto en Y (432,435) para eliminar el efecto de señales espaciales y contextuales. Clark y col. (439) observaron afectación de la memoria de reconocimiento después de una lesión hipocampal, en un estudio en el que usaron un campo abierto; no obstante, Ainge y col. (431) haciendo uso del mismo protocolo, no encontraron los mismos resultados.

Finalmente, otro factor que varía entre investigaciones es la demora entre las sesiones de adquisición y retención. Parece haber una relación entre la duración de la fase de adquisición, la demora de la retención y el tamaño de la lesión. Las demoras empleadas por los investigadores suelen variar desde pocos segundos hasta 48 horas. Los grupos de Gould y Broadbent usaron una fase de adquisición fija de 15 minutos. En el estudio de Gould y col. (438) la retención se midió al cabo de 1 hora, y encontraron déficit en los animales con una lesión hipocampal grande. Por su parte, Broadbent y col. (117) midieron la retención a las 3

horas y encontraron afectación en aquellos animales que tenían una lesión del 75-100%, pero no en aquellos con lesiones parciales del 50-75%. Ainge y col. (431) emplearon una fase de adquisición compuesta por 3 sesiones de 5 minutos cada una, y midieron la retención a 10 minutos, 1, 4 y 24 horas, observando que con lesiones del hipocampo del 90-100% los animales mostraban déficits importantes en la MRO en las cuatro demoras. Los estudios con una duración más corta, 3-5 minutos, contrastan con estos resultados (433,434). Estos resultados sugieren, por tanto, que el papel del hipocampo en la MRO sería mayor en aquellos procedimientos en los que la duración de la sesión de adquisición es suficientemente larga.

En líneas generales los hallazgos señalan que el hipocampo es necesario para las versiones asociativas de la tarea de reconocimiento de objetos, como el reconocimiento del objeto en el lugar, el reconocimiento de orden temporal y el reconocimiento de localización del objeto (430). Es decir, el hipocampo es crítico en condiciones en las cuales la memoria de reconocimiento tiene un componente espacial o temporal (416). En ausencia de estos componentes esta región cerebral no parece ser necesaria, aunque determinadas condiciones, como una mayor duración de la sesión de adquisición, pueden dar lugar a la participación del hipocampo en la formación de este tipo de memorias.

Aunque la implicación del hipocampo no está tan clara en el caso de la MRO como en otras variantes de la memoria de reconocimiento que implican una asociación entre el objeto y el espacio o entre el objeto y el orden temporal, los estudios en humanos y en monos muestran de forma consistente que las lesiones restringidas al hipocampo producen un deterioro en la ejecución de la tarea estándar (442). Estos investigadores sugieren que el hipocampo podría intervenir únicamente cuando se codifican diferentes atributos de una experiencia (visual, táctil, espacial, etc), pero no cuando sólo se codifica un atributo. La codificación de más de un atributo podría ocurrir por ejemplo cuando la exploración de los animales al entorno y a los objetos fuera suficientemente duradera (442).

Corteza Prefrontal Medial

La corteza prefrontal de la rata se divide en tres regiones topológicamente diferentes: la corteza prefrontal medial, la corteza orbitofrontal y la corteza prefrontal lateral (443).

Citoarquitectónicamente se subdivide en cuatro regiones diferentes, la corteza precentral medial, la corteza cingulada anterior, la corteza infralímbica y la prelímbica; juntas estas áreas están involucradas en la memoria de trabajo, atención, control y planificación (443). Más específicamente, las regiones dorsales (precentral medial y cingulada) están implicadas en conductas motoras mientras que la región ventral (infralímbica y prelímbica) está asociada con procesos cognitivos, mnemónicos y emocionales (444).

Algunas investigaciones han demostrado que la implicación de la corteza prefrontal medial se puede evidenciar al emplear diferentes modalidades de la memoria de reconocimiento de objeto. Así, lesiones en la corteza prefrontal no parecen afectar la MRO (445,446) ni la memoria de localización del objeto (445), pero sí que deterioran la memoria de orden temporal y la memoria del objeto en el lugar (426,446,447).

Dado que la corteza prefrontal medial es una estructura heterogénea, también se han realizado investigaciones para determinar específicamente qué área de ésta corteza afecta a qué tipo de modalidad de la tarea de reconocimiento de objeto. Nelson y col. (448) realizaron un estudio para determinar la implicación de la corteza prelímbica e infralímbica en esta tarea y encontraron que lesiones en la corteza infralímbica afectan la memoria de localización del objeto, lesiones tanto en la corteza prelímbica y la infralímbica afectan la memoria de orden temporal, y ninguna de las lesiones afecta la modalidad estándar de la tarea (MRO).

2.4.2. Familiaridad vs recuerdo

Se considera que la memoria de reconocimiento tiene dos componentes: recuerdo (episódico) y familiaridad (449,450). El primero consiste en recordar detalles contextuales específicos de un aprendizaje anterior, mientras que la familiaridad hace referencia al conocimiento de que un ítem ha sido presentado previamente, sin tener disponible ninguna información adicional. Existe controversia acerca de si ambos componentes de la memoria de reconocimiento son dos procesos diferenciados, cualitativamente diferentes, o bien forman parte de un mismo proceso unitario, y sólo se diferencian por la fuerza de la huella de memoria, más débil en el caso de la familiaridad y más intensa en el caso del recuerdo

(411). Brown y Aggleton (450) fueron los primeros en proponer el modelo dual, según el cual recuerdo y familiaridad son procesos cualitativamente diferentes, con una base neuroanatómica también diferente. Según lo propuesto por estos investigadores, el recuerdo depende del hipocampo, mientras que la familiaridad depende de la corteza perirrinal. En los últimos años, se han acumulado numerosos datos que apoyan este modelo dual. Es el caso de los resultados obtenidos recientemente por el grupo de Eichenbaum (451). En su trabajo, han observado que la lesión bilateral de la amígdala deteriora la familiaridad, pero no afecta al recuerdo, mientras que un estudio previo del mismo grupo mostraba lo contrario para el hipocampo: su lesión deteriora el recuerdo, sin afectar a la familiaridad, en ratas sometidas a las mismas pruebas conductuales. Ambas regiones, por lo tanto, parecen contribuir de forma independiente al reconocimiento. Estos investigadores proponen un modelo de memoria de reconocimiento según el cual la amígdala contribuye a los aspectos de familiaridad procesados por la corteza perirrinal, que son diferentes a la información sobre los estímulos que esta región cortical envía al hipocampo para sustentar el recuerdo.

El modelo unitario es defendido principalmente por el grupo de Squire (442,449). Estos investigadores consideran que los estudios en los que se controla la fuerza de estos dos tipos de memoria (recuerdo y familiaridad) muestran que el hipocampo está relacionado con ambos. Wixted y Squire (442) proponen que la función que distinguiría al hipocampo de otras estructuras del lóbulo temporal medial podría ser su capacidad para combinar los diferentes atributos asociados a una determinada experiencia, para formar una huella de memoria integrada. El hipocampo puede no ser necesario para reconocer como familiar un objeto visual simple, pero sí un estímulo complejo formado por múltiples elementos. Proponen que el papel integrador del hipocampo serviría tanto para el recuerdo como para la familiaridad.

Existan o no dos procesos diferenciados en la memoria de reconocimiento (familiaridad vs recuerdo), en general no se sabe la estrategia que utiliza el animal (o la persona) para discriminar entre un estímulo que ha ocurrido previamente y otro nuevo, pero se cree que ambas estrategias se utilizan en muchas tareas (411). Existen datos que sugieren que en las tareas de reconocimiento asociativas, en general, tanto los humanos como las ratas tienden

a utilizar principalmente una estrategia de recuerdo; sin embargo, cuando el hipocampo está lesionado los animales pueden pasar a utilizar una estrategia de familiaridad (probablemente unificando los estímulos para formar una representación configuracional, y no relacional), lo cual les permite ejecutar la tarea de reconocimiento a un nivel similar a los sujetos no lesionados (452).

2.4.3. Modelo de memoria episódica

Existen datos que respaldan que la MRO tiene las características necesarias para ser considerada un modelo animal de memoria episódica (32,453). Endel Tulving acuñó el término “memoria episódica” en 1972, y la definió como la capacidad de recuperar conscientemente experiencias vividas personalmente en el pasado (449,454). De acuerdo con esta definición, la memoria episódica requiere la recuperación consciente de la experiencia y esto es difícil de demostrar sin el uso del lenguaje; por ello, a menudo se ha asumido que la memoria episódica es exclusiva de los humanos (455). La falta de tareas experimentales en animales, que simulen la memoria episódica en humanos, ha dificultado el estudio de las bases neurales de este tipo de memoria (456). No obstante, el propio Tulving se refirió a la memoria episódica como “una memoria que almacena y recibe información acerca de episodios o eventos fechados temporalmente, y la relación espacio temporal entre ellos” (citada en (456)). De acuerdo con esta última definición, en los últimos años se han desarrollado algunas tareas que comparten algunas características con la memoria episódica en humanos (454). Concretamente, permiten demostrar en animales, a nivel comportamental y sin necesidad del lenguaje, la recuperación e integración simultánea de la información sobre los tres componentes (qué, cuándo y dónde) de una única experiencia (457).

Dos tareas con características de memoria episódica que los investigadores han adaptado para poder evaluar los diferentes componentes de la misma son el no apareamiento demorado con la muestra (*delayed non-matching to sample; DNMS*) (458) y la MRO (453). La característica clave de estas tareas es que incluye el aprendizaje simultáneo del qué, el dónde y el cuándo de un evento (459).

Probablemente, no todos los procedimientos de MRO tienen las características necesarias para que el sujeto pueda aprender los diferentes componentes del qué, dónde y cuándo. Por ejemplo, es difícil que estos componentes puedan aprenderse cuando la exposición a la muestra es de corta duración. Pero en aquellos casos de MRO en los que la exposición a la muestra es duradera (10-15 minutos), y existen elementos que posibilitan una cierta orientación del sujeto en la jaula de aprendizaje, parecen darse las condiciones para que los sujetos puedan aprender la tarea de acuerdo con las características de una memoria episódica. De acuerdo con esto, en nuestro laboratorio llevamos a cabo un experimento en el que pudimos observar que el mismo procedimiento de MRO permitía a los animales recordar el objeto en sí, así como el lugar que ocupaba el mismo en la sesión de muestra (32). El componente temporal no pudo ser valorado, ya que nuestro procedimiento consistía en una única sesión de muestra. En los procedimientos de MRO que tienen características de memoria episódica, el hipocampo probablemente interviene en relación al componente de localización del objeto en el espacio, la corteza perirrinal, en relación al componente del objeto en sí, y la corteza prefrontal medial, en relación al componente de orden temporal (453). Aunque es difícil saber si estos procedimientos de MRO son realmente equivalentes a la memoria episódica en humanos, ya que falta el componente de recuerdo consciente, creemos que pueden ser útiles para estudiar posibles tratamientos encaminados a reducir los déficits de memoria episódica que se dan a menudo en pacientes con trastornos neurodegenerativos o con TBI.

TRABAJO EXPERIMENTAL

3. TRABAJO EXPERIMENTAL

3.1. MATERIAL Y PROCEDIMIENTO

3.1.1. Etica y bienestar animal

El procedimiento experimental llevado a cabo en esta investigación se ha realizado siguiendo la normativa vigente de la Unión Europea referente a las disposiciones legales, de reglamento y administrativas respecto a la protección de los animales empleados en la experimentación y otras finalidades científicas (86/609/CEE, de 24 de noviembre de 1986), y el decreto de la Generalitat de Catalunya (DOG 2450- 7/08/1997) que regula los aspectos éticos de cuidado y de control de los animales para experimentación. Además el procedimiento está aprobado por la Comisión de Etica en experimentación animal y humana (CEEAH) de la Universidad Autónoma de Barcelona y por el Departament de Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Natural (DAAM) de la Generalitat de Catalunya (nº de orden 5036).

3.1.2. Sujetos

En esta investigación se utilizaron un total de 89 ratas albinas macho, de la cepa Sprague-Dawley (Prolabor, Barcelona) con un peso medio inicial de 263,07gr (SD 39,15). Las ratas permanecían 8 días en la sala de cuarentena a fin de asegurar que no padecían ningún problema de salud. Pasada la cuarentena los animales, de dos meses de edad, se separaban en jaulas individuales. En el presente experimento administramos a los animales 3 tratamientos, lesión por CCI o sham, citicolina o vehículo, y ejercicio o sedentario. En el momento de la separación, los animales eran asignados al azar a uno de los 8 grupos experimentales posibles: sham-vehículo-sedentario (sham-veh-sed), sham-citicolina-sedentario (sham-cit-sed), sham-vehículo-ejercicio (sham-veh-eje), sham-citicolina-ejercicio (sham-cit-eje), lesión-vehículo-sedentario (les-veh-sed), lesión-citicolina-sedentario (les-cit-sed), lesión-vehículo-ejercicio (les-veh-eje), lesión-citicolina-ejercicio (les-cit-eje).

3.1.3. Intervención quirúrgica

Los animales eran introducidos en una caja de metacrilato (20x13x13) para proceder a la inducción de la anestesia, administrando isoflurano al 5% mezclado con oxígeno (flujo de 0,6 l/min), durante 6 minutos. Una vez el animal estaba anestesiado, se fijaba en el aparato de

estereotaxia (David Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA), y se aplicaba una máscara para mantener al animal anestesiado a lo largo de toda la intervención quirúrgica (dosis de mantenimiento: isoflurano al 2%, flujo de oxígeno de 1 l/min). Se afeitaba la cabeza de la rata, se realizaba una incisión en la piel para exponer el cráneo del animal y se limpiaba con suero fisiológico. A continuación, se realizaba una craneotomía de aproximadamente 5 mm de diámetro sobre el hemisferio derecho (anteroposterior: -4,5 mm desde Bregma; Lateral: -3,0 mm desde la línea media) dejando intacta la duramadre.



Figura 2. Dispositivo de impacto cortical controlado.

La lesión cerebral traumática se realizaba mediante un dispositivo de impacto cortical controlado (Pittsburgh Precision Instruments, Inc, USA) (figura 2 y 3). El brazo del dispositivo se fijaba con una inclinación de 15° respecto a la vertical, y en su extremo se situaba una punta aplanada de 3mm de base. Después de situar la punta sobre la duramadre, se accionaba el dispositivo neumático del aparato de forma que la punta impactaba sobre el cerebro de la rata a una velocidad de 6 m/s, alcanzando una profundidad de 2mm, y durante 150 mseg, para generar una lesión cerebral moderada(409). Un transductor (Macrosensors, Pensauken, N.J) conectado al dispositivo medía la velocidad y la duración para asegurar que éstos permanecieran constantes entre animales (véase figura 2 y 3). Después de producirse la lesión, se limpiaba el área y se suturaba. Finalmente, se administraba al animal una inyección subcutánea de 0,2 ml de Buprenorfina (Buprex, Schering-Plough, SA). Una parte de los animales (grupos sham) pasaba por las mismas condiciones que los lesionados (anestesia, craneotomía y sutura) pero no se accionaba el

dispositivo neumático. A lo largo de toda la intervención quirúrgica se mantenía la temperatura corporal de los animales mediante una esterilla eléctrica. Una vez realizada la cirugía los animales eran colocados en sus respectivas jaulas y colocados en la sala de estabulación para su posterior recuperación.



Figura 3. Detalle de un animal colocado en el aparato estereotáxico y con el dispositivo de CCI preparado para realizar el impacto.

3.1.4. Citicolina

Cuatro horas después de la operación se suministraba a los animales una inyección intraperitoneal (i.p), bien de citicolina [Ferrer Internacional, S.A Barcelona] o de vehículo (suero fisiológico), y a partir del día de la operación, cada 24 horas hasta completar cinco inyecciones. La citicolina se disolvía en suero fisiológico y se administraba una dosis de 200mg/kg, en un volumen de 2ml/kg. Se escogió esta dosis basada en estudios previos (409). Tras la inyección de citicolina o vehículo los animales eran devueltos a sus respectivas jaulas.

3.1.5. Ejercicio en la rueda de actividad

Tras la última inyección de citicolina o suero fisiológico, los animales que pertenecían al grupo de ejercicio pasaban a ser estabulados en jaulas de plástico transparente de 48 x 26 x 20 cm, que estaban acopladas a una rueda de actividad (Rat Wheel, ENV-042, Med Associates, Inc. USA) de 37 cm de diámetro, a la cual tenían acceso libre (figura 4). La rueda contaba con un cuenta-kilómetros que permitía registrar diariamente la distancia recorrida. Por su parte, los animales que pertenecían a los grupos sedentarios eran estabulados en jaulas de plástico transparente, de 52 x 28 x 18 cm (figura 4).



Figura 4. Detalle de las jaulas de estabulación en la condición sedentaria y en la condición de ejercicio.

Las ratas comenzaban a hacer ejercicio 4 días después de la intervención. En total, los animales de los grupos con ejercicio tenían acceso a la rueda por un período de 19 días antes de la sesión de adquisición de la MRO.

Durante todo el experimento, se controlaba la cantidad de alimento para evitar diferencias excesivas de peso entre ambos grupos, debidas principalmente a que los animales sedentarios tienden a comer en exceso si disponen de grandes cantidades de comida. Se les suministraba ocho pellets diarios, cantidad que está por encima de los requerimientos diarios de alimentación, incluso en los animales con ejercicio. Se les proporcionaba agua *ad libitum* y se mantenían en condiciones de temperatura (20-22 °C) y humedad (40-70%) regulados, con un ciclo de 12 horas de luz (8-20 horas) y 12 horas de oscuridad (20-8 horas) controlado artificialmente.

3.1.6. Pruebas neurológicas

Se realizaron dos evaluaciones neurológicas. La primera, el día después de la intervención quirúrgica (evaluación neurológica 1) y la segunda antes del aprendizaje (evaluación neurológica 2). La evaluación neurológica comprendía: el grip test, el plano inclinado y una batería de pruebas estándar: el neuroscore. El neuroscore es una evaluación con buena fiabilidad entre observadores y es útil para evaluar el efecto de diferentes tratamientos (460).

Grip test: Consiste en colocar a la rata en un dispositivo que mide la fuerza contraria que el animal realiza cuando se le tira por la cola (figura. 5).



Figura 5. Rata al ser evaluada usando el dispositivo de *grip test*.

Plano inclinado: consiste en colocar al animal en la parte superior de un plano que tiene una inclinación de 80° y determinar si el animal es capaz de sostenerse durante un minuto. La puntuación que se le daba al animal iba en una escala de 4 a 1, dándosele 4 puntos si lo hacía muy bien y 1 punto si lo hacía mal (caía, resbalaba, etc). (figura 6).



Figura 6. Una rata al ser evaluada en el plano inclinado.

Neuroscore-extremidades anteriores (*forelimb*): Se coge al animal por la cola y acercándolo a la mesa, sin que llegue a tocar, se observa si es capaz de estirar las patas delanteras por delante del morro.

Neuroscore-extremidades posteriores (*hindlimb*): Tras dejar al animal sobre la mesa, se estira por la cola hacia atrás y hacia arriba, de manera que sus patas traseras estén en el aire. Se observa si el animal es capaz de estirar las patas hacia atrás.

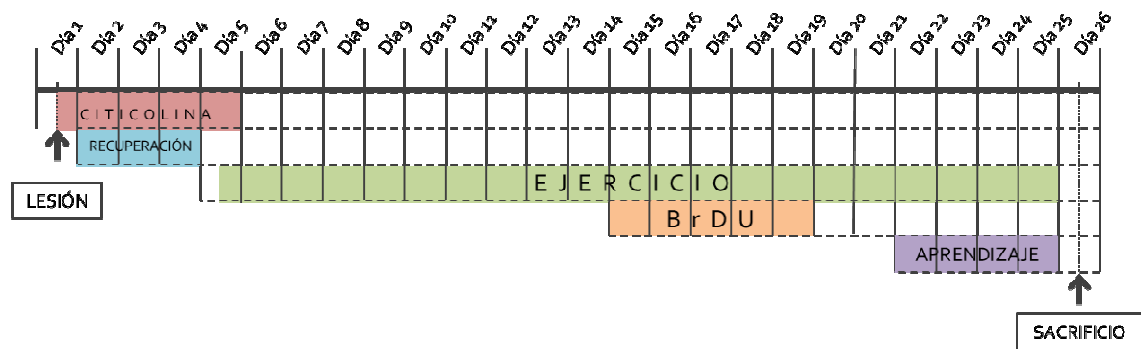
Neuroscore-resistencia lateral: se deja al animal sobre la mesa, se sujeta por la cola y se le empuja por el lomo, primero hacia un lado y luego hacia el otro. Se observa la fuerza contraria que realiza en cada lado.

Cada prueba del neuroscore se evaluaba entre 4 y 1, donde 4 correspondía a una ejecución muy buena y 1 a una ejecución muy mala. Se tomaban puntuaciones tanto del lado izquierdo como del lado derecho y la puntuación final para cada hemicuerpo se obtenía a partir de la suma de cada prueba del neuroscore hasta un máximo de 12 puntos para cada lado.

3.1.7. Inyecciones de BrdU

Para la evaluación de la proliferación celular en el GD durante el procedimiento experimental utilizamos Bromodeoxiuridina (BrdU), un nucleótido sintético análogo a la timidina que se incorpora al ADN de las células durante la fase de síntesis del mismo (fase S) del ciclo celular, y permite así marcar las células nuevas, mediante métodos estándares de inmunohistoquímica (339).

A los 10 días de comenzar el ejercicio físico (o el equivalente en los grupos sedentarios), y durante 5 días consecutivos, todos los animales recibieron una inyección i.p diaria de 200mg/kg de BrdU (Sigma-Aldrich, Madrid), disuelta en PBS a una concentración de 20mg/ml. La dosis empleada se basó en estudios previos (353). En el siguiente esquema se muestra la secuencia temporal en que se introducía cada tratamiento, así como su duración.



3.1.8. Tarea de memoria de reconocimiento de objeto (MRO)

Tal como hemos explicado anteriormente (apartado 2.4), la MRO se basa en la tendencia espontánea de los roedores por explorar estímulos novedosos. Para esta tarea hemos utilizado un campo abierto cuadrado, de conglomerado forrado de melamina de color marrón oscuro, con unas medidas de 65,5 x 65,5 x 35. La caja experimental estaba situada en el interior de una caja de aislamiento que tenía unas medidas de 157x71,5 x 71,5cm. En el techo de la caja de aislamiento se situó un fluorescente que proporcionaba 30 luxes de iluminación. Un extractor permitía la renovación de aire, y al mismo tiempo proporcionaba un ruido blanco constante que evitaba que se escucharan sonidos ajenos en la sala experimental. Finalmente, en el centro de la parte superior de la caja de aislamiento había una cámara de vídeo que permitía grabar la conducta de los animales durante las sesiones de MRO.

Se utilizaron cuatro tipos de objetos diferentes: uno para la prueba de neofobia, (hecho con piezas de Lego), y otros tres pares para las sesiones de adquisición y las dos sesiones de retención. Estos últimos eran de diferentes materiales y consistían en un objeto hecho con piezas de Lego, un colgador y una lata de refresco. Los tres objetos tenían aproximadamente el mismo tamaño aunque eran de colores y texturas diferentes y habían sido elegidos tras un estudio piloto que permitió descartar posibles preferencias hacia alguno de los objetos.

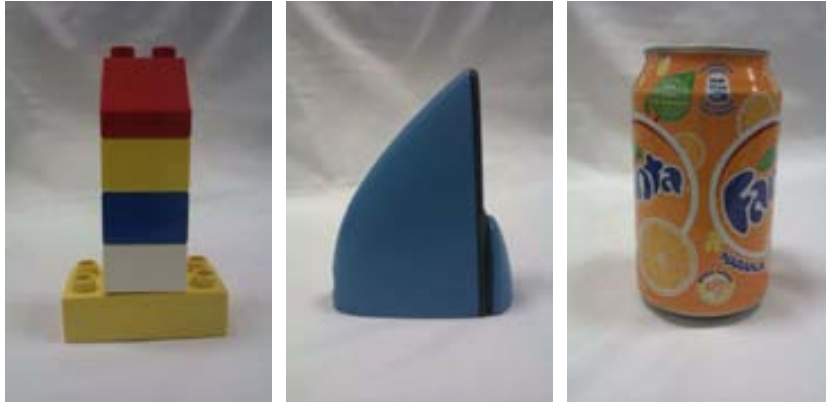


Figura 7. De izquierda a derecha, objetos utilizados para el test de neofobia (objeto neofobia) y para la adquisición y retenciones (lego, colgador y lata de refresco).

Tanto la caja experimental (paredes y base) como los objetos eran limpiados antes y después de trabajar con un animal, empleando para ello una solución de agua destilada y alcohol al 70% a fin de evitar señales olfativas.

3.1.8.1. Habitación

Tras 16 días en la condición de ejercicio o sedentario, los animales realizaban tres sesiones de habitación. Dos el primer día, (separadas por un intervalo de 2 horas) y otra el segundo día. En esta sesión se colocaba al animal dentro de la caja experimental, sin ningún objeto dentro y con la luz y el sonido encendidos y se la dejaba explorar libremente durante un período de 12 minutos.

3.1.8.2. Test de neofobia

Dos horas después de la tercera sesión de habitación, los animales pasaban por una prueba para medir el grado de ansiedad que mostraban frente a la presencia de un objeto novedoso. Para tal fin se colocó en el centro de la caja experimental un objeto hecho con piezas de lego (véase figura 8A), fijado al suelo de la caja con una cinta adhesiva para impedir que la rata lo moviera. Luego se colocaba a la rata dentro de la caja, de espaldas al objeto. Se cerraba la puerta de la caja experimental y se dejaba al animal 10 minutos para que explorara libremente. Esta prueba, al igual que las siguientes, era grabada en video para ser analizada posteriormente.

3.1.8.3. Adquisición del aprendizaje

Venticuatro horas después de la prueba de ansiedad se realizaba la prueba de adquisición. Para esto se colocaba, en las esquinas posteriores de la caja experimental y a una distancia de 10cm de las paredes, dos objetos idénticos (Lego-Lego, colgador-colgador o lata-lata) (véase figura 8B). Se colocaba a la rata dentro de la caja, mirando hacia la pared opuesta a los objetos, se cerraba la puerta y se la dejaba explorar por un período de 15 minutos. Una vez finalizada la prueba el animal era devuelto a su jaula. Se medía el tiempo de exploración tanto al objeto de la derecha como al de la izquierda. En esta y en las otras pruebas se consideraba que el animal había explorado cuando tocaba los objetos con el hocico o se acercaba a ellos a una distancia al menos de 2cm. Dado que para este tipo de tarea es imprescindible que los animales exploren los objetos un tiempo mínimo, se estableció un criterio de exploración mínima de 10 segundos en la sesión de adquisición para incluir a los sujetos en los análisis de la MRO.

3.1.8.4. Retención 1 (3 horas)

Tres horas después de la prueba de adquisición, los animales realizaban una primera prueba de retención. Para esto se colocaba, en las esquinas posteriores de la caja experimental y a una distancia de 10 cm de las paredes, uno de los objetos empleados en la sesión de adquisición (objeto familiar) y otro objeto diferente que el animal nunca había visto antes (objeto nuevo) (véase figura 8C). Se colocaba al animal dentro de la caja, mirando hacia el lado opuesto de los objetos y se le dejaba explorar durante 5 minutos. En esta prueba, se midió el tiempo que los animales exploraban cada uno de los objetos.

3.1.8.5. Retención 2 (24 horas)

La segunda prueba de retención se realizaba 24 horas después de la sesión de adquisición. El procedimiento era exactamente igual que para la primera prueba de retención, con la diferencia de que el objeto nuevo era otro objeto desconocido para el animal (véase figura 8D). Además del criterio relativo a la exploración en la sesión de adquisición, tanto en la retención 1 como en la 2 se estableció un criterio adicional de exploración mínima superior a 2 segundos.

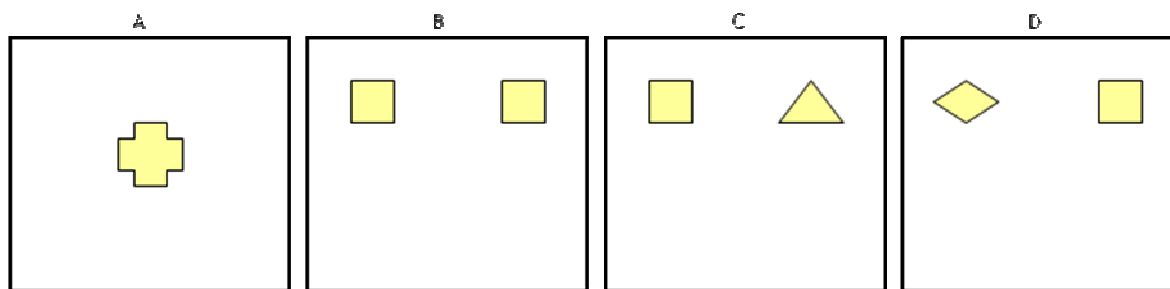


Figura 8. Representación de la disposición de los objetos en las distintas fases del procedimiento de MRO: neofobia (A), adquisición (B), retención 1 (C) y retención 2 (D).

Para determinar el recuerdo del animal por el objeto familiar, en cada una de las sesiones de retención se calculó el índice de discriminación del objeto nuevo respecto al objeto viejo a partir de la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Tiempo de exploración objeto nuevo} - \text{tiempo de exploración de objeto familiar}}{\text{Tiempo de exploración objeto nuevo} + \text{objeto familiar}} \times 100$$

Con esta medida, el cero revela que no hay diferencias en la exploración de los dos objetos (familiar y nuevo), valores por encima de cero reflejan una mayor exploración del objeto nuevo, mientras que valores por debajo de cero indican que el animal exploró más el objeto familiar que el objeto novedoso.

Se utilizaron tres pares de objetos idénticos en la adquisición (A - A, B - B, C - C) y un tercio de los animales de cada grupo adquirió la tarea con una pareja de ellos. Con el fin de controlar la posible preferencia tanto por el objeto como por su localización (derecha o izquierda) se contrabalancearon los objetos, de acuerdo con un criterio previamente establecido idéntico para todos los grupos experimentales (tabla 14).

ADQUISICIÓN		RETENCIÓN 1		RETENCIÓN 2	
Lego	Lego	Lego	Lata	Colgador	Lego
Lata	Lata	Lata	Colgador	Lego	Lata
Colgador	Colgador	Colgador	Lego	Lata	Colgador
Lego	Lego	Lata	Lego	Lego	Colgador
Lata	Lata	Colgador	Lata	Lata	Lego
Colgador	Colgador	Lego	Colgador	Colgador	Lata

Tabla 14 Combinación de los objetos para los test de adquisición y retención.

3.1.9. Histología

3.1.9.1. Sacrificio y perfusión intracardíaca

Veinticuatro horas después de la retención 2 los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico (Dolethal, 200 mg/kg; Vetoquinol S.A; Madrid-España) y perfundidos intracardíacamente con paraformaldehído (PFA) al 4% (Sigma Aldrich, Madrid) disuelto en PBS. Se utilizó una bomba de perfusión a 30 r.p.m. con un caudal aproximado de 70 ml/minuto (J.P Selecta, S.A Barcelona). Se extrajeron los cerebros y se sumergieron en una solución de PFA al 4% durante tres horas a -4°C, para su postfijación. A continuación, se realizaron tres lavados, cada 20 minutos, con tampón fosfato (pH 7.4, 0.1M), para luego colocarlos en una solución crioprotectora de sacarosa (30%) y tampón fosfato a 4°C. Fueron conservados a una temperatura de -80°C hasta que fueron cortados. Mediante un criostato (Shandom Criotome FSE, Thermo Electron Corporation) se obtuvieron secciones coronales de 40 µm de grosor que fueron conservadas a -20°C en solución anticongelante de Olmos para su posterior tinción.

3.1.9.2. Medición macroscópica de la lesión: tinción de Nissl

En los sujetos de los cuatro grupos de lesión, se realizó una tinción con violeta de cresilo para determinar el volumen de la lesión, para lo cual se tomaron 1 de cada 10 secciones a lo largo de toda la extensión anteroposterior de la lesión. Los cortes se incubaron en una solución de violeta de cresilo al 0,5% luego de lo cual se deshidrataron en alcohol 70%, 95%, 100% consecutivamente. Las muestras se conservaron en xilol mientras se montaban en los portaobjetos usando DPX (Sigma Aldrich, Madrid).

La valoración del tamaño de la lesión se llevó a cabo escaneando las secciones de tejido teñidas (HP Scanjet G4050) y posteriormente dibujando el área de lesión mediante el software de análisis de imagen de muestras biológicas Fiji (461). Para cada corte analizado se multiplicó el área de la lesión por el grosor de éste (0,04mm) y por el número de secciones hasta la siguiente sección analizada (10 secciones). El volumen de la lesión se obtuvo sumando los volúmenes parciales obtenidos en el cálculo anterior.

Además, se evaluó cómo afectó la lesión al tejido del hemisferio dañado. Para cada hemisferio, se obtuvo el volumen del hipocampo del ventrículo lateral y del tejido intacto y se calculó el porcentaje del volumen de estas estructuras en el hemisferio ipsilateral respecto al hemisferio contralateral.

3.1.9.3. Inmunohistoquímica de BrdU y DCX

Como hemos mencionado más arriba, 7 días antes del inicio de la fase de aprendizaje y durante 5 días consecutivos, se administraron inyecciones de BrdU. La inmunohistoquímica de BrdU permitió posteriormente determinar la proliferación celular durante el período concreto en que se administró esta sustancia. Para determinar propiamente la neurogénesis, es decir, cuántas de esas células nuevas se diferenciaban en neuronas, se realizó además una inmunohistoquímica de doblecortina (DCX). La DCX es una fosfoproteína asociada a microtúbulos que marca neuronas inmaduras (462) y que se expresa durante las dos primeras semanas después del nacimiento de la neurona (463). Dado que en nuestro procedimiento el sacrificio de los animales tenía lugar antes de que las neuronas nuevas marcadas con BrdU pudieran convertirse en neuronas maduras, consideramos que este marcador era apropiado para determinar propiamente la neurogénesis.

Se realizó un único procedimiento de inmunofluorescencia por flotación para los dos marcadores, BrdU y DCX. Las secciones fueron tratadas con una solución de HCl 1M durante 1 hora a 37°C para desnaturalizar el ADN. Posteriormente fueron tratadas con tampón borato 0.1M, pH 8,5. Se realizó un lavado con Glicina 0,3M (Sigma Aldrich, Madrid) durante 30 minutos para reducir la autofluorescencia. Seguidamente se realizó un bloqueo de uniones inespecíficas con suero fetal bovino al 10% (Sigma Aldrich, Madrid) en PBS-T

durante 30 minutos. Las secciones fueron incubadas con los anticuerpos primarios para BrdU (dilución 1:2000; Rat antiBrdU ab6326, Abcam) y para DCX (dilución 1:4000; Rabbit anti DCX ab 18723), durante toda la noche a 4°C más una hora a temperatura ambiente. Los anticuerpos secundarios fluorescentes para BrdU y DCX (dilución 1:400; Goat anti rat IgG Dylight 488 Jackson Immunoresearch, y Goat anti-rabbit IgG Dylight 649 Jackson Immunoresearch, respectivamente) fueron incubados durante 2 horas a temperatura ambiente. Finalmente las muestras fueron incubadas con DAPI (Sigma Aldrich, Madrid) durante 5 minutos. Las secciones fueron montadas en portaobjetos usando el medio de montaje Fluoromount (Sigma Aldrich Madrid).

Los procedimientos inmunohistoquímicos descritos se realizaron en los animales de los cuatro grupos con lesión y en el grupo sham-veh-sed.

3.1.9.4. Cuantificación de células BrdU+ y células BrdU+/DCX+

Las células BrdU+ se cuantificaron tanto en el lado ipsilateral como en el contralateral, en cortes coronales de 40µm utilizando el mismo procedimiento de estudios previos (353,464). Con un microscopio confocal (Olympus Fluoview 1000) y usando un objetivo a 20x se tomaron imágenes de todo el GD en 1 de cada 15 secciones hasta un total de 5. Se contó manualmente el número de células BrdU+, en la capa granular del GD del hipocampo a nivel rostro-caudal (de Bregma -2,52mm a -4.92mm). Para cada corte se multiplicó el número de células BrdU+ por el número de cortes hasta la siguiente sección analizada (15 secciones). Finalmente, para obtener una aproximación del número total de células BrdU+ del GD se sumaron los 5 valores obtenidos.

Para cuantificar el doble marcaje de BrdU+/DCX+ se tomaron imágenes en un microscopio confocal (Olympus Fluoview 1000) usando un objetivo por inmersión de aceite de 60x. Se escogieron al azar 25 células BrdU+ a nivel rostro caudal (de Bregma -2,52mm a -4,92mm) y luego se calculó el porcentaje de éstas que también expresaban DCX. En aquellos casos en los que el número total de células BrdU+ en los cortes estudiados no llegó a 25 se realizó el estudio del comarcaje en todas ellas. Finalmente, para cada sujeto se estimó el número total de células BrdU+/DCX+ a partir del número de células BrdU+ y del porcentaje BrdU+/DCX+.

3.1.9.5 Resumen del diseño experimental

FASE EXPERIMENTAL	GRUPOS EXPERIMENTALES							
	Lesión				Sham			
	Citicolina		Vehículo		Citicolina		Vehículo	
	Eje	Sed	Eje	Sed	Eje	Sed	Eje	Sed
Separación	Establación en jaulas individuales. 3 sesiones de manipulación suave							
Intervención quirúrgica	Lesión moderada (CCI): impactador: 3mm, duración 150mseg, velocidad: 6 mts/seg, profundidad: 2 mm)				Intervención sham (sin bajar punta de lesión)			
Tratamiento 1 (citicolina) (inicio 4 h después de operación)	Citicolina i.p (5 inyecciones, 200mg/kg cada 24h)		Vehículo (suero fisiológico)		Citicolina i.p (5 inyecciones, 200mg/kg cada 24h)		Vehículo (suero fisiológico)	
Exploración neurológica 1	Batería de pruebas (1sesión, 24h después de operación)							
Tratamiento 2 (Ejercicio) (inicio 5 días después de operación hasta el final del experimento)	Libre acceso a rueda de actividad	Sin acceso a rueda	Libre acceso a rueda de actividad	Sin acceso a rueda	Libre acceso a rueda de actividad	Sin acceso a rueda	Libre acceso a rueda de actividad	Sin acceso a rueda
BrdU (inicio 14 días después de la operación)	5 inyecciones, 1 diaria, de 200mg/kg cada una							
Exploración neurológica 2	Batería de pruebas (1 sesión, 18 días después de la lesión)							
Aprendizaje (21 días después de la operación)	Habitación al entorno de aprendizaje (3 sesiones, 12 min cada una)							
	Test de neofobia (1 sesión de 5 min)							
	Adquisición de la tarea de reconocimiento de un objeto nuevo (una sesión de 15 min)							
	Retención (2 sesiones, una a las 3h y otra a las 24h)							
Perfusión e histología	Fijación, extracción y procesamiento histológico del tejido nervioso para evaluar la extensión de la lesión (violeta de cresilo), la neuroprotección (NeuN) y la neurogénesis (BrdU-Dcx)							

Tabla 15. Resumen del diseño experimental.

3.1.9.6. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS 17.0 para Windows. En la mayoría de los casos se utilizó un análisis multivariante de la varianza (MANOVA) de tres factores entre grupos: lesión, citicolina y ejercicio. En el caso de las medidas referentes sólo

a los grupos de ejercicio físico, o aquellas medidas registradas antes del inicio del tratamiento con ejercicio físico, los análisis sólo tenían en cuenta dos factores entre grupo: lesión y citicolina.

Los análisis relativos a las medidas histológicas se llevaron a cabo principalmente mediante análisis de la varianza (ANOVA) para hacer comparaciones entre múltiples grupos.

Adicionalmente se realizaron pruebas t student de una muestra, para cada uno de los grupos individuales en las sesiones de retención 1 y 2, con el fin de evaluar si los animales recordaban el objeto novedoso. Estos mismos análisis se llevaron a cabo para algunas de las medidas histológicas.

Finalmente, en algunos casos se han llevado a cabo también pruebas de correlación de Pearson.

RESULTADOS

4.- RESULTADOS

Tres de los sujetos fallecieron durante la intervención quirúrgica, por lo que la muestra definitiva estaba formada por 86 sujetos (13 en el grupo sham-veh-sed; 9 en el grupo sham-cit-sed, 9 en el grupo sham-veh-eje, 9 en el grupo sham-cit-eje, 13 en el grupo les-veh-sed; 11 en el grupo les-cit-sed; 11 en el grupo les-veh-eje; y 11 en el grupo les-cit-eje). Además, uno de los animales del grupo sham-cit-eje mostró una conducta prácticamente nula en la rueda de actividad a lo largo de todo el período en que tuvo acceso a ella, por lo que este sujeto fue excluido de los análisis referentes a las medidas registradas desde el inicio del ejercicio físico.

4.1. Evolución del peso de los animales

En la figura 9 se muestra el peso de los animales en diferentes momentos del procedimiento experimental.

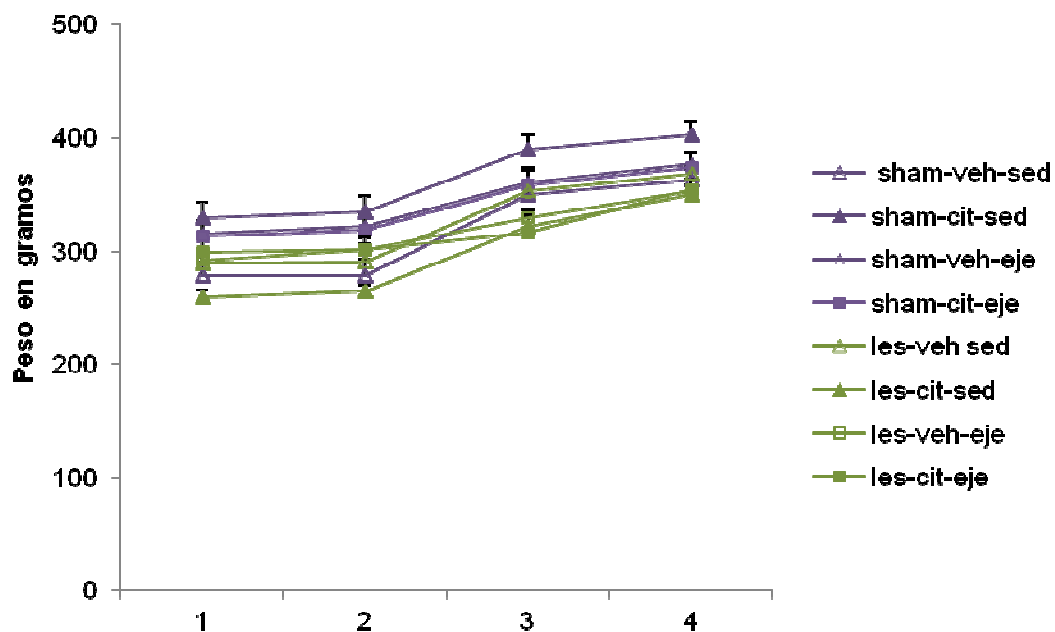


Figura 9. Evolución del peso medio de los animales de cada uno de los grupos experimentales. Se muestra el peso inmediatamente antes de la intervención quirúrgica (1), 4 días después de la misma (2), 10 días después de iniciado el ejercicio (3) y en la sesión de adquisición (18 días después del inicio del ejercicio) (4). Los datos se presentan en media más error estándar.

Para determinar el efecto de los diferentes tratamientos aplicados sobre la evolución del peso corporal, y teniendo en cuenta que los animales eran jóvenes y, por tanto, aún en fase

de crecimiento, se calcularon los incrementos de peso en diferentes momentos. Concretamente, para evaluar la influencia de la lesión y de la citicolina se calculó el incremento de peso (en porcentaje) el último día de tratamiento con citicolina (4 días después de la intervención quirúrgica y justo antes del inicio de la fase de ejercicio físico) respecto al peso previo a la intervención quirúrgica. Por otro lado, para valorar la influencia de la lesión, la citicolina y el ejercicio físico, se calcularon los incrementos de peso (en porcentaje) a los 10 y a los 18 días de iniciada la fase de ejercicio físico, en relación al peso previo al inicio de dicho tratamiento.

Un MANOVA indicó que ninguno de los dos factores principales (lesión y citicolina), ni la interacción entre los mismos, tenían un efecto significativo sobre el incremento de peso registrado cuatro días después de la cirugía. Es decir, todos los grupos evolucionaban de manera similar, independientemente de los tratamientos aplicados.

Por otro lado, el MANOVA llevado a cabo para examinar el incremento de peso posterior a la introducción del ejercicio indicó un efecto significativo del factor ejercicio [$F_{(1,77)}=28.54$; $p<0.001$], en el sentido de que el incremento de peso de los sujetos eran menor en los grupos con ejercicio físico que en los sedentarios. Ninguno de los demás factores ni la interacción entre ellos eran significativos.

4.2. Evolución del ejercicio físico: distancia media diaria recorrida

Se registró diariamente la distancia recorrida para cada uno de los animales sometidos a ejercicio físico (véase figura 10). Los análisis de esta variable se llevaron a cabo agrupando las sesiones de ejercicio por semanas, tal como puede verse en la figura 11. Así, se analizaron, mediante MANOVA de dos factores (lesión y citicolina), las medias de la distancia media diaria recorrida para cada uno de los tres períodos siguientes: días 1-6, días 7-13 y días 14-20.

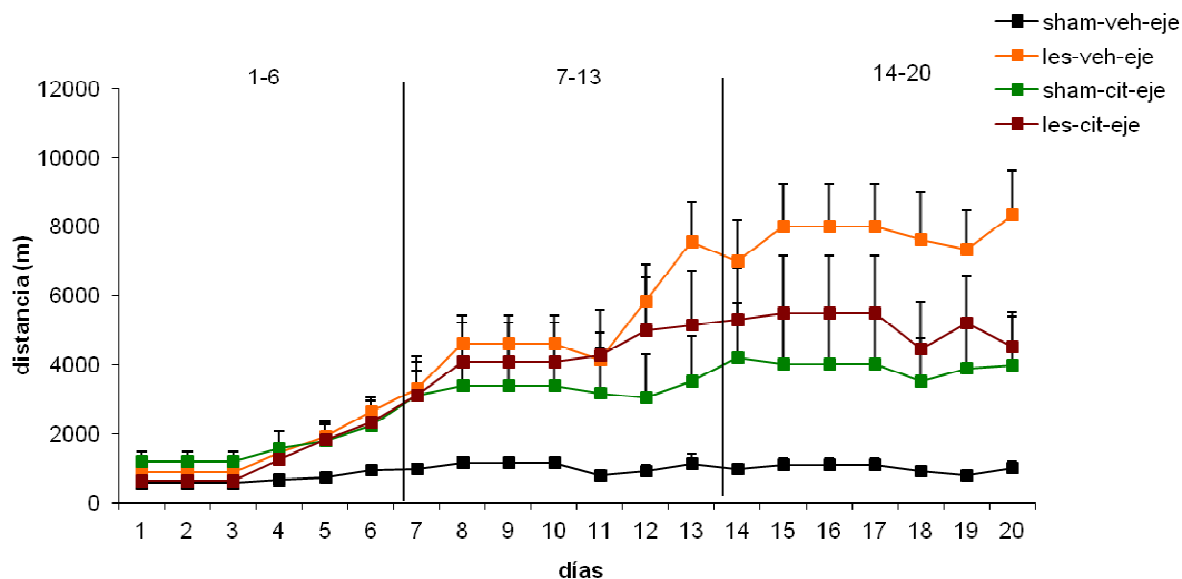


Figura 10. Distancia media en metros recorrida por los animales de cada uno de los grupos experimentales durante la fase de tratamiento. Los datos se presentan en media más error estándar.

Respecto a la distancia diaria recorrida en los días 1-6, un MANOVA indicó una interacción significativa entre los factores citicolina y lesión [$F_{(1,35)} = 4,50$; $p = 0,041$]. Con el fin de clarificar dicha interacción, se analizó separadamente el efecto del factor citicolina en los animales con lesión y en los sujetos sham. Dichos análisis indicaron que el factor citicolina era significativo sólo en los sujetos sham pero no en los lesionados [$F_{(1,36)} = 5,34$; $P = 0,027$] en el sentido de que los animales sham tratados con citicolina corrían más que los tratados con vehículo.

Por lo que respecta a los días 7-13, un MANOVA puso de manifiesto un efecto significativo del factor lesión [$F_{(1,35)} = 6,30$; $p = 0,017$], siendo la distancia media recorrida por los animales lesionados, superior a la de los grupos sham. Finalmente, respecto a los días 14-20, un MANOVA indicó un efecto significativo del factor lesión [$F_{(1,35)} = 12,41$; $p = 0,001$], así como de la interacción entre los factores lesión y citicolina [$F_{(1,35)} = 6,07$; $p = 0,019$]. Sin embargo, el análisis del factor citicolina separadamente para los animales lesionados y sham no mostró diferencias entre los sujetos tratados con citicolina o vehículo en ninguna de las dos condiciones.

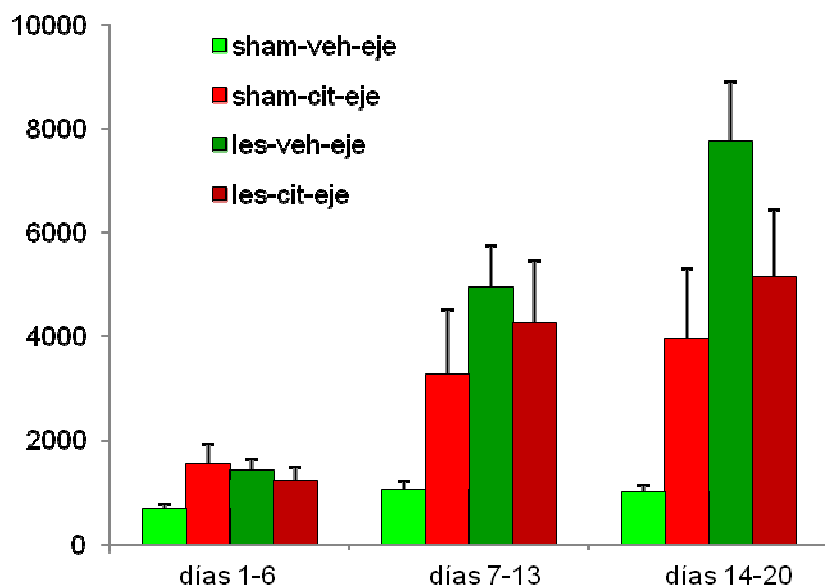


Figura 11. Distancia media en metros recorrida por los animales de cada uno de los grupos experimentales durante la fase de tratamiento agrupados en los períodos: días 1-6, días 7-13 y días 14-20. Los datos se presentan en media más error estándar.

4.3. Pruebas neurológicas

En la tabla 16 se muestran los resultados obtenidos por los animales de cada uno de los grupos experimentales en las diferentes pruebas realizadas en las evaluaciones neurológicas 1 (24 horas después de la intervención quirúrgica) y 2 (18 días después de la intervención quirúrgica). Dado que el día de la primera evaluación neurológica todavía no se había iniciado el tratamiento con ejercicio físico, en el MANOVA de los datos referentes a dicha evaluación sólo se examinó el efecto de los factores lesión y citicolina, pero no el del factor ejercicio.

Los análisis indicaron un efecto significativo de ambos factores sobre la puntuación del neuroscore, tanto en el lado ipsilateral [lesión: $F_{(1,82)}=20.71$; $p<0.001$; citicolina: $F_{(1,82)}=6.08$; $p=0.016$], como en el lado contralateral a la lesión [lesión: $F_{(1,82)}=11.22$; $p=0.001$; citicolina: $F_{(1,82)}=8.21$; $p=0.005$]. En concreto, tanto la lesión como la citicolina redujeron las puntuaciones del neuroscore. Ambos factores ejercían también un efecto significativo sobre la puntuación en el plano inclinado [lesión: $F_{(1,82)}=11.40$; $p=0.001$; citicolina $F_{(1,82)}=5.26$; $p=0.024$]. Concretamente, esta puntuación era inferior en los animales lesionados respecto a

los sham y en los sujetos tratados con citicolina respecto a los que recibieron vehículo. La puntuación total en el grip test sólo se vio influida significativamente por el factor lesión [$F_{(1,82)}=5.92$; $p=0.017$], en el sentido de que los animales lesionados mostraban una puntuación inferior a los sham.

Tratamiento		Evaluación neurológica 1 (24 h después de la intervención)				Evaluación neurológica 2 (18 días después de la intervención)			
		NS1 ipsi	NS1 contra	PI1	griptest 1	NS2 ipsi	NS2 contra	PI2	griptest 2
Sham-veh-sed	Media	11,42	11,42	4,00	694,67	11,50	11,38	4,00	829,05
	Desv. típ.	0,86	0,75	0,00	237,33	0,763	0,74	0,00	238,28
Les-veh-sed	Media	11,03	10,26	3,69	627,77	11,30	11,26	4,00	798,81
	Desv. típ.	1,05	0,85	0,75	215,18	0,83	0,69	0,00	184,47
Sham-cit-sed	Media	11,11	10,77	3,77	759,82	11,44	11,44	4,00	792,28
	Desv. típ.	0,78	0,83	0,44	360,78	0,463	0,46	0,00	265,50
Les-cit- sed	Media	9,54	9,59	3,45	585,21	11,18	10,95	3,81	832,73
	Desv. típ.	1,61	1,42	0,72	122,73	0,716	0,93	0,40	121,23
Sham-veh-eje	Media	10,94	11,11	3,88	704,72	11,27	11,38	4,0	909,92
	Desv. típ.	0,46	0,33	0,33	163,93	0,66	0,85	0,00	204,15
Les-veh- eje	Media	10,04	9,54	3,18	625,33	11,09	10,86	3,72	861,81
	Desv. típ.	1,35	1,27	1,07	187,42	0,80	0,97	0,467	229,93
Sham-cit-eje	Media	10,83	10,55	3,66	737,85	11,43	11,62	3,45	785,50
	Desv. típ.	0,96	1,23	0,70	93,99	0,42	0,44	0,68	181,56
Les-cit-eje	Media	9,31	9,40	2,545	590,70	11,04	11,04	3,45	785,50
	Desv. típ.	1,45	1,06	0,82	127,92	0,65	0,47	0,68	181,55

Tabla 16. Puntuaciones (media y desviación típica) obtenidas por cada uno de los grupos experimentales en las dos evaluaciones neurológicas. Abreviaturas: NS1 ipsi: neuroscore 1 ipsilateral, NS1 contra: neuroscore 1 contralateral, NS2 ipsi: neuroscore 2 ipsilateral, NS2 contra: neuroscore 2 contralateral, PI1: plano inclinado 1, PI2: plano inclinado 2.

Por lo que respecta a la segunda evaluación neurológica, llevada a cabo dos días antes del inicio de los procedimientos de MRO, se halló un efecto significativo del factor lesión sobre el neuroscore del lado ipsilateral [$F_{(1,77)}=3.85$; $p=0.05$], en el sentido de que los animales lesionados mostraron significativamente menores puntuaciones en el neuroscore del lado ipsilateral que los animales sin lesión. No se observaron efectos significativos sobre la puntuación del neuroscore del lado contralateral a la lesión, ni sobre la puntuación en el grip test, en ninguno de los factores ni las interacciones entre los mismos. Por lo que respecta al

plano inclinado, se hallaron efectos significativos de los factores lesión [$F_{(1,77)}=12.16$; $P=0.01$] y ejercicio [$F_{(1,77)}=4.48$; $p=0.038$], así como de la interacción entre ambos [$F_{(1,77)}=4.48$; $p=0.038$]. Para clarificar el sentido de dicha interacción, se analizó separadamente el efecto del factor ejercicio en los animales lesionados y en los sham. Estos análisis indicaron que este factor era significativo sólo en los animales lesionados [$F_{(1,82)}=8.89$; $p=0.004$] pero no en los sham. Esto indica que el ejercicio redujo la puntuación del plano inclinado en los animales lesionados.

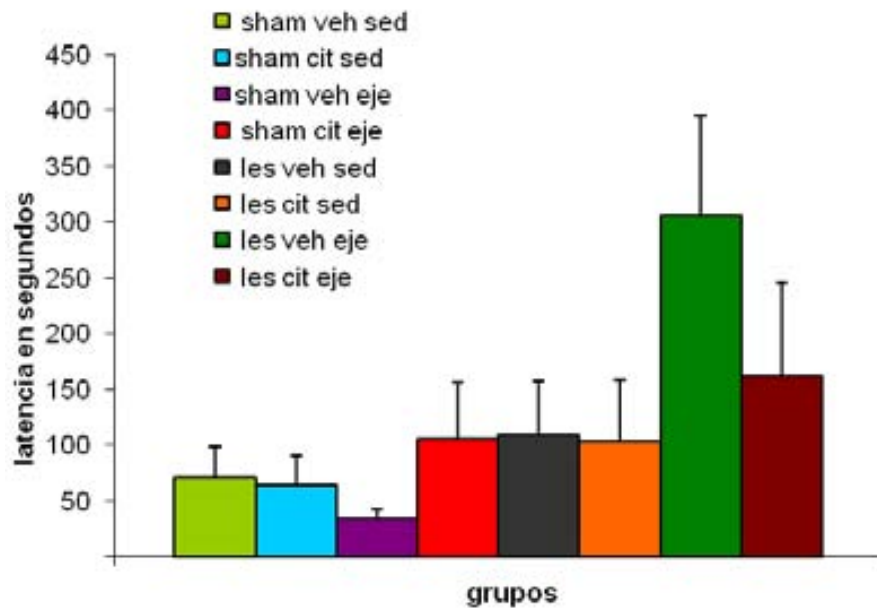
4.4. Memoria de Reconocimiento de Objeto

Una vez que se excluyeron de los análisis estadísticos de la MRO los animales que no alcanzaron el criterio de exploración mínimo establecido (10 segundos; véase 3.1.8.3.), la muestra estuvo formada por 80 animales distribuidos de la siguiente manera: 13 en el grupo sham-veh-sed; 9 en el grupo sham-cit-sed, 9 en el grupo sham-veh-eje, 9 en el grupo sham-cit-eje, 12 en el grupo les-veh-sed; 10 en el grupo les-cit-sed; 10 en el grupo les-veh-eje; y 8 en el grupo les-cit-eje).

4.4.1. Neofobia

La figura 12 muestra la latencia y el tiempo de exploración en el test de neofobia. Los análisis estadísticos indicaron un efecto significativo del factor lesión sobre la latencia de exploración [$F_{(1,70)}=7.01$; $p=0.010$] y sobre el tiempo de exploración en la prueba de neofobia [$F_{(1,70)}=4.06$; $p=0.048$]. Concretamente, los animales lesionados tardaban más en explorar por primera vez el objeto y exploraban menos tiempo que los animales sham.

A



B

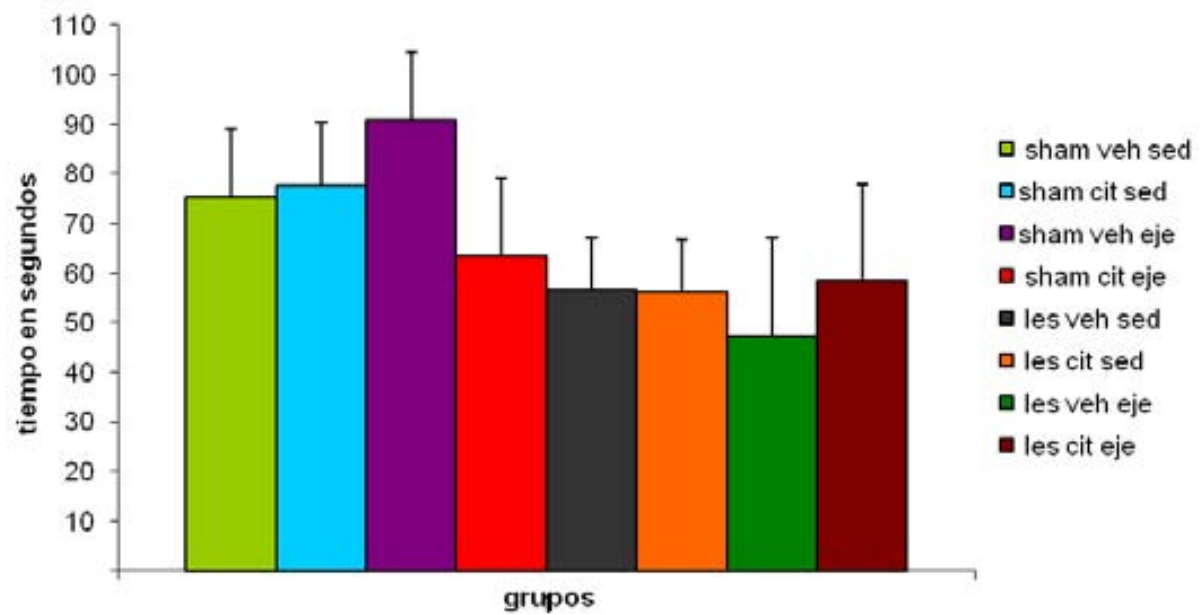


Figura 12. Resultados de la prueba de neofobia para cada uno de los grupos experimentales. A) Latencia de exploración. B) Tiempo total de exploración. Los datos se presentan en media más el error estándar.

4.4.2. Actividad exploratoria durante la sesión de adquisición

En la figura 13 se representa el nivel de exploración de los animales durante la sesión de adquisición. Los análisis estadísticos indicaron un efecto significativo del factor ejercicio sobre el tiempo de exploración durante la adquisición [$F_{(1,70)} = 4.29$; $p=0.042$], mientras que el factor lesión mostraba una tendencia a la significación estadística ($p=0.066$). En concreto, la exploración era menor en animales con ejercicio físico y tendía a ser inferior en los sujetos con lesión.

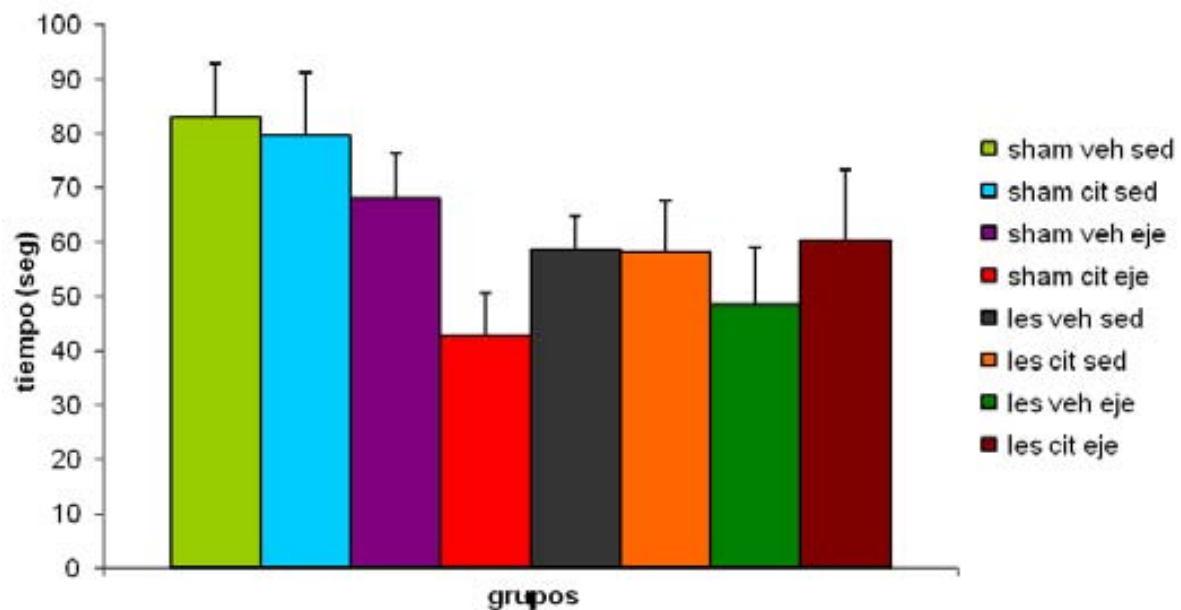


Figura 13. Tiempo total de exploración de los animales de cada uno de los grupos experimentales durante la fase de adquisición en la MRO. Los datos se presentan como media más error estándar.

4.4.3. Retención 1 (3 horas)

Una vez aplicados los criterios de exclusión (exploración <10 seg. en la adquisición y exploración ≤ 2 seg. en la retención 1; véase 3.1.8.5.) se analizaron los datos de 75 sujetos distribuidos de la siguiente forma: sham-veh-sed ($n=13$), les-veh-sed ($n=12$), les-veh-eje ($n=9$), les-cit-sed ($n=10$), les-cit-eje ($n=8$), sham-veh-eje ($n=8$), sham-cit-sed ($n=8$), sham-cit-eje ($n=7$).

En la figura 14 se muestran el índice de discriminación para cada uno de los grupos experimentales durante la primera sesión de retención. La prueba t student para una

muestra reveló que los animales de los grupos les-veh-sed [$t_{(11)} = -1.17$, $p = 0.226$] y les-veh-eje [$t_{(8)} = -0.12$, $p = 0.907$] no lograron discriminar entre el objeto familiar y el objeto novedoso. En cambio, los grupos sham-veh-sed [$t_{(12)} = 3.14$, $p = 0.008$], sham-cit-sed [$t_{(7)} = 4.22$, $p = 0.004$], sham-veh-eje [$t_{(7)} = 3.25$, $p = 0.01$], sham-cit-eje [$t_{(6)} = 3.63$, $p = 0.011$], les-cit-sed [$t_{(9)} = 4.83$; $p = 0.001$] y les-cit-eje [$t_{(7)} = 4.49$; $p = 0.003$] mostraron una clara discriminación entre ambos objetos.

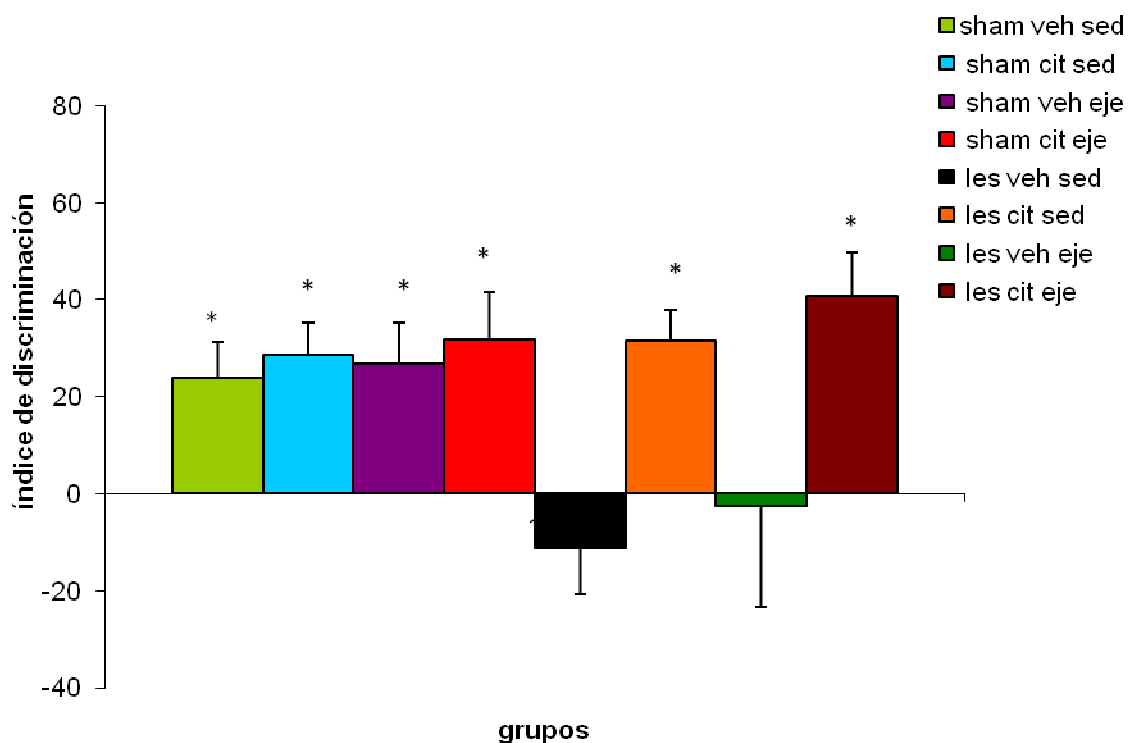


Figura 14. Índice de discriminación en la retención 1 (3 horas) para cada uno de los grupos experimentales. Los datos se presentan como media más error estándar. (*: diferencias respecto a 0).

Al estudiar la influencia de los diferentes tratamientos sobre el índice de discriminación, un MANOVA mostró un efecto significativo del factor citicolina [$F_{(1,67)} = 10.59$; $p = 0.002$], así como de la interacción entre los factores citicolina x lesión [$F_{(1,67)} = 6.12$; $p = 0.016$]. Para estudiar el sentido de dicha interacción se analizó, por un lado, el efecto de la lesión separadamente en los sujetos que recibieron citicolina y en los sujetos vehículo, y por otro lado, el efecto de la citicolina separadamente en los sujetos lesionados y en los animales sham. Dichos análisis indicaron que la lesión reducía significativamente el índice de discriminación, pero sólo en

los sujetos vehículo [$F_{(1,72)}=9.50$; $p=0.003$], y no en los animales con citicolina. Se halló también un efecto significativo del factor citicolina sobre los animales con lesión [$F_{(1,72)}=18.86$; $p<0.001$]. Concretamente, la citicolina aumentó el índice de discriminación de los animales lesionados, pero no tenía ningún efecto sobre los animales sham. Es decir, la lesión deterioró la MRO a corto plazo, mientras que la citicolina revirtió dicho efecto.

No se hallaron correlaciones significativas entre el índice de discriminación en la retención 1 y la exploración total en la prueba de neofobia, así como en las sesiones de adquisición de la MRO, retención 1 y retención 2.

4.4.4 Retención 2 (24 horas)

Una vez aplicados los criterios de exclusión (exploración <10 seg en la adquisición y ≤ 2 seg. en la retención 2), se analizaron los datos de 70 animales (sham-veh-sed: $n=13$, les-veh-sed: $n=9$, les-veh-eje: $n=9$, les-cit-sed: $n=7$, les-cit-eje: $n=7$, sham-veh-eje: $n=8$, sham-cit-sed: $n=9$, sham-cit-eje: $n=8$).

La figura 15 muestra el índice de discriminación de los diferentes grupos experimentales en la sesión de retención 2. La prueba t de student para cada uno de los grupos indicó que el índice de discriminación en la retención 2 era significativamente diferente a 0 en los grupos sham-veh-sed [$t_{(12)}=6.08$; $p<0.001$], sham-cit-sed [$t_{(8)}=2.77$; $p=0.02$] sham-veh-eje [$t_{(7)}=6.14$; $p<0.001$] y les-veh-eje [$t_{(8)}=3.79$; $p=0.005$], lo cual indica que estos cuatro grupos recordaban el objeto. En cambio, el índice de discriminación no era estadísticamente diferente a 0 (indicando falta de recuerdo) en los restantes grupos: sham-cit-eje [$t_{(7)}=1.74$; $p=0.12$], les-veh-sed [$t_{(8)}=-0.90$; $p=0.39$], les-cit-sed [$t_{(6)}=1.43$; $p=0.20$] y les-cit-eje [$t_{(6)}=-0.08$; $p=0.93$]. Por lo tanto, los sujetos sham recordaban el objeto familiar, a excepción de los que habían recibido la combinación de citicolina y ejercicio. Por otro lado, entre los sujetos lesionados, sólo los sometidos a ejercicio físico (pero sin citicolina) recordaban dicho objeto.

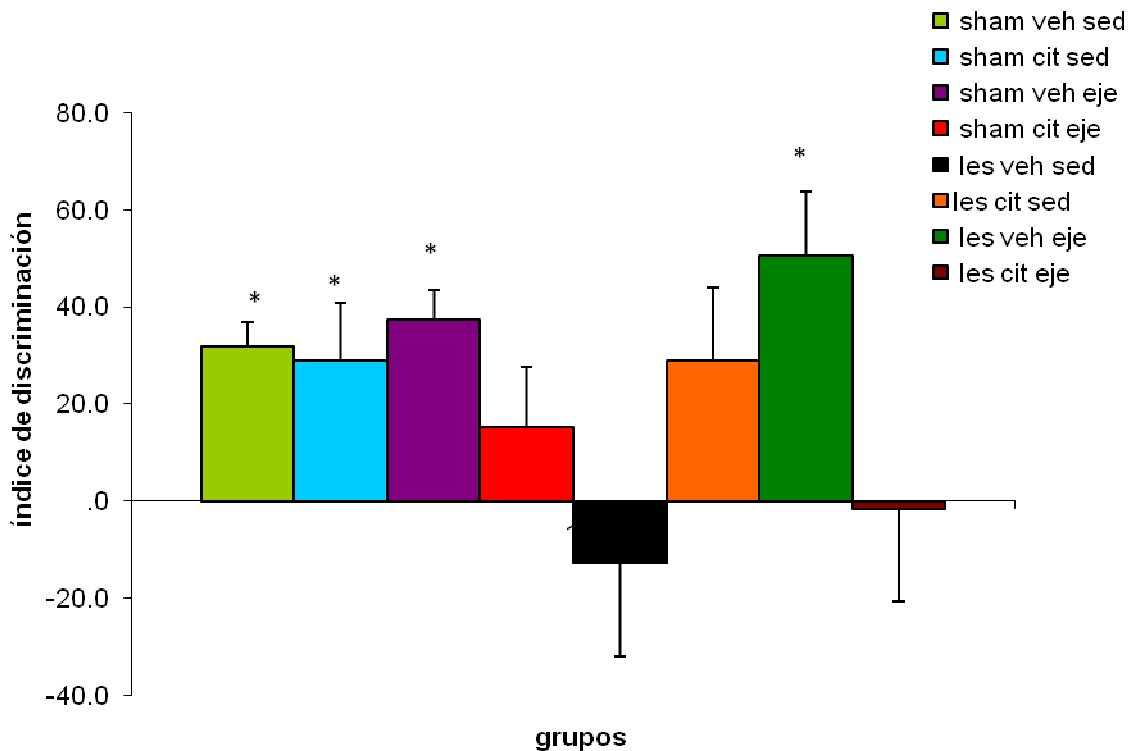


Figura 15. Índice de discriminación en la retención 2 (24 horas) para cada uno de los grupos experimentales. Los datos se presentan como media más error estándar. (*: diferencias respecto a 0).

Por lo que respecta al efecto de los diferentes factores sobre el índice de discriminación, un MANOVA indicó un efecto significativo del factor lesión [$F_{(1,62)} = 4.85$; $p=0.031$] y de la interacción entre los factores citicolina y ejercicio [$F_{(1,62)} = 8.20$; $p=0.006$]. Para analizar dicha interacción, se analizó la influencia del factor ejercicio separadamente en los animales tratados con citicolina y en los tratados con vehículo. Dichos análisis indicaron que el factor ejercicio mejoraba el índice de discriminación en los sujetos vehículo [$F_{(1,67)} = 5.94$; $p=0.018$], pero no en los sujetos con citicolina. En resumen, la lesión redujo el índice de discriminación 2, mientras que el ejercicio revirtió este efecto en los sujetos inyectados con vehículo. La citicolina impidió el efecto beneficioso del ejercicio físico.

A pesar de que los resultados del MANOVA indican que el efecto beneficioso del ejercicio físico es independiente de la lesión, ya que la interacción entre la lesión y el ejercicio no es significativa, y por tanto el efecto del ejercicio se daría tanto en los sujetos sham como en los lesionados, los datos nos llevan a suponer que el efecto beneficioso sólo se observa en los animales con lesión (véase figura 15). Para verificar dicha suposición llevamos a cabo una

prueba t para muestras independientes con el fin de comparar el índice de discriminación 2 de los grupos sham-veh-sed y sham-veh-eje. Esta prueba indicó que no había diferencias entre estos dos grupos. En cambio la misma prueba estadística indicó la existencia de diferencias significativas entre los grupos les-veh-sed y les-veh-eje [$t_{(1,16)} = -3,05$; $p = 0.008$]. Por tanto, parece razonable concluir que el efecto beneficioso del ejercicio sobre la retención 2 sólo se produce en los animales lesionados.

No se hallaron correlaciones significativas entre el índice de discriminación en la retención 2 y la exploración total en la prueba de ansiedad, así como en las sesiones de adquisición de la MRO, retención 1 y retención 2.

4.5. Volumen del daño cerebral

La determinación del volumen de la lesión y de otros parámetros del tejido lesionado mediante violeta de cresilo se llevó a cabo en los animales de los cuatro grupos sometidos a TBI, con la excepción de aquéllos que fueron excluidos de los análisis de la MRO (véase apartado 4.4), y de un animal que tuvo que ser excluidos por problemas técnicos. La muestra total para dicha determinación fue de 39 sujetos: 12 en el grupo les-veh-sed, 10 en el grupo les-cit-sed, 9 en el grupo les-veh-eje y 8 en el grupo les-cit-eje. La figura 16 muestra dos secciones cerebrales representativas del cerebro de uno de los animales lesionados, procesado mediante tinción con violeta de cresilo. A su vez, la tabla 17 muestra las medias y desviaciones estándar de algunas de las mediciones efectuadas en los cerebros lesionados.

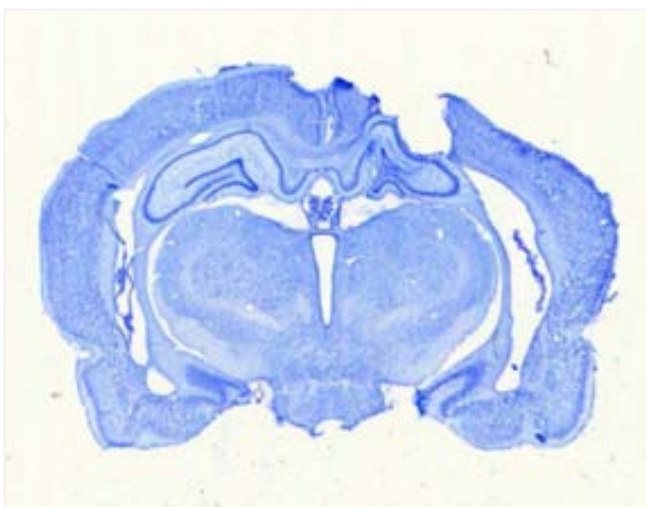


Figura 16. Corte coronal de una rata lesionada en la que se muestra la afectación de la corteza, el hipocampo y el ventrículo lateral.

PARAMETROS		les-veh-sed	les-cit-sed	les-veh-eje	les-cit-eje	Muestra total
Coordenada más anterior en la que se aprecia lesión (mm posteriores a Bregma)	Media	1,9	2,16	1,71	2,23	1,99
	Desv. típ.	0,58	0,38	0,71	1,19	0,73
Coordenada más posterior en la que se aprecia lesión (mm posteriores a Bregma)	Media	6,04	6,48	6,19	6,39	6,26
	Desv. típ.	0,77	0,58	1,07	0,90	0,82
Extensión anteroposterior de las regiones con lesión (en mm)	Media	4,16	4,78	4,48	4,17	4,39
	Desv. típ.	0,85	1,62	0,88	0,81	1,09
% de volumen de tejido lesionado respecto al volumen total del hemisferio ipsilateral	Media	8,81	4,97	5,73	5,35	6,40
	Desv. típ.	7,56	2,34	2,56	0,90	4,70
% hipocampo ipsilateral/hipocampo contralateral	Media	92,68*	93,43*	97,63	92,20*	93,92
	Desv. típ.	11,33	8,86	10,40	9,17	9,92
% volumen ventrículo h. ipsilateral/volumen ventrículo h. contralateral	Media	150,38*	136,37*	108,42	100,49	126,87
	Desv. típ.	71,75	35,96	33,92	35,31	51,90

Tabla 17. Valores descriptivos del daño cerebral. Se muestran los datos para cada uno de los grupos experimentales así como para la muestra total. Los datos se presentan en media y desviación típica. (*: significativamente diferente de 100).

Tal como se indica en la tabla 17 y si tenemos en cuenta toda la muestra de sujetos, la extensión anteroposterior media de las regiones en las que se apreciaba lesión estaba comprendida entre 1.99 y 6.3 mm posteriores a Bregma, es decir la lesión se extendía aproximadamente 4,4 mm en sentido anteroposterior. En la región anteroposterior analizada, el volumen medio ocupado por la lesión constituía aproximadamente un 6,4% del hemisferio ipsilateral. Además, se observó una disminución del volumen del hipocampo del hemisferio ipsilateral y una distorsión de la morfología del mismo, mientras que el volumen del ventrículo lateral del hemisferio lesionado estaba aumentado. Concretamente, la ratio entre el hipocampo del hemisferio lesionado y del hemisferio contralateral era de 93,9% (es decir el hipocampo derecho mostraba una disminución de volumen de aproximadamente un 6,1% respecto al hipocampo izquierdo). En cambio la ratio entre el ventrículo del hemisferio

ipsilateral y el del contralateral era de un 126,8%; es decir, el ventrículo del hemisferio lesionado mostraba un volumen aproximadamente un 27% superior al del ventrículo del hemisferio no lesionado.

Los ANOVA que se realizaron para comparar las distintas medidas macroscópicas de daño cerebral no detectaron diferencias significativas entre los cuatro grupos.

Se realizaron también pruebas t para una muestra con el fin de analizar si el porcentaje de volumen del hipocampo y del ventrículo del hemisferio ipsilateral respecto al contralateral era estadísticamente diferente al valor de referencia (100%). Dichos análisis indicaron que ambos porcentajes eran significativos en los grupos les-veh-sed [hipocampo: $t_{(11)} = -2,24$; $p=0.047$, ventrículo: $t_{(11)}=2,43$; $p=0.033$], y les-cit-sed [hipocampo: $t_{(9)} = -2.34$; $P=0.044$; ventrículo $t_{(9)}=3.20$; $p=0.011$]. En el grupo les-cit-eje sólo era significativo el porcentaje de volumen del hipocampo [$t_{(7)}=-2.40$; $p=0.047$], pero no el del ventrículo. Finalmente, ninguno de los dos porcentajes difería significativamente del valor de referencia en el grupo les-veh-eje. Estos datos sugieren que en los grupos con ejercicio parece haber una reducción del daño cerebral.

Las principales regiones que mostraban lesión se hallaban en la corteza motora y en la corteza somatosensorial, así como en el hipocampo dorsal. En algunos casos, la lesión también afectaba levemente a la corteza retrosplenial.

4.6. Proliferación celular y neurogénesis

Las variables relativas a neurogénesis (contaje de células BrdU+ y DCX+) fueron analizadas en los animales de los cuatro grupos con lesión y del grupo sham-veh-sed. A causa de problemas técnicos, en cinco de los animales no fue posible realizar los procedimientos inmunohistoquímicos, por lo que la muestra total para el análisis de las variables relativas a estas medidas fue de 48 sujetos: 11 en el grupo sham-veh-sed, 11 en el grupo les-veh-sed, 10 en el grupo les-cit-sed, 8 en el grupo les-veh-eje y 8 en el grupo les-cit-eje.

4.6.1. Cuantificación de células BrdU+

La figura 17 muestra el número medio de células BrdU+, tanto en el lado ipsilateral como en el contralateral a la lesión, estimado según los cálculos indicados en el apartado 3.1.9.4 para cada uno de los cinco grupos. En la figura 18 se muestra el marcaje de células BrdU+ en un sujeto con ejercicio y en un sujeto sedentario.

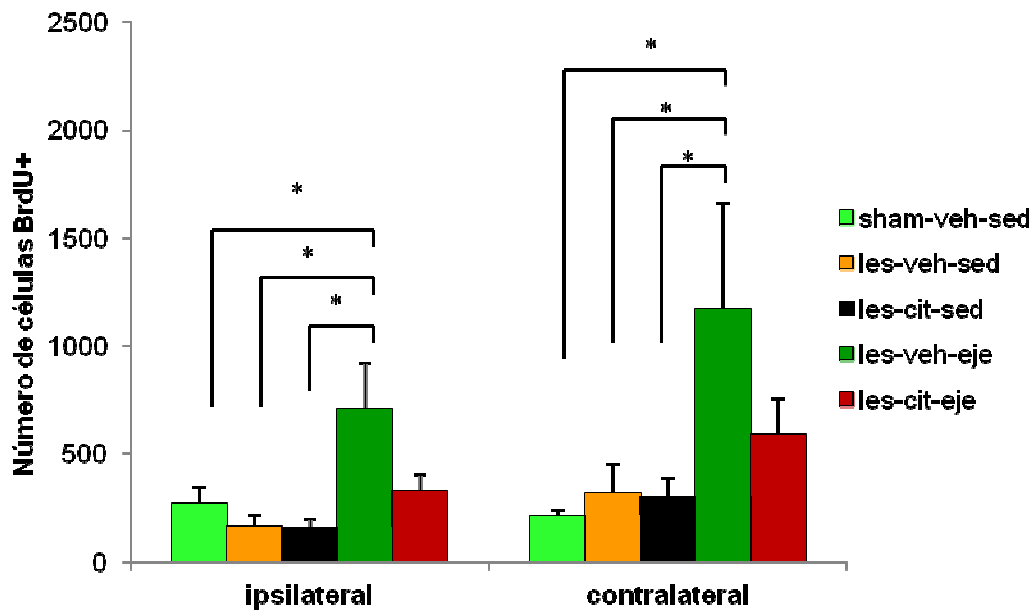


Figura 17. Número de células BrdU+ en el GD del hipocampo, tanto en el lado ipsilateral como contralateral para cada uno de los grupos experimentales. Los datos se presentan en media más error estándar.

Un ANOVA indicó la existencia de diferencias significativas entre los grupos en el número de células BrdU+, tanto en el lado ipsilateral a la lesión [$F_{(4,43)} = 4.825$; $p = 0.003$], como en el lado contralateral a la misma [$F_{(4,43)} = 3.288$; $p = 0.019$].

Las comparaciones post-hoc entre los diferentes grupos experimentales (contraste Tukey) indicaron que, tanto en el hemisferio ipsilateral como en el contralateral, el grupo les-veh-eje presentaba un número de células BrdU+ significativamente superior al de los grupos sham-veh-sed (ipsilateral: $p = 0.026$, contralateral: $p = 0.018$), les-veh-sed (ipsilateral: $p = 0.003$; contralateral: $p = 0.045$) y les-cit-sed (ipsilateral: $p = 0.004$; contralateral: $p = 0.047$), mientras que no había diferencias entre los grupos les-veh-eje y les-cit-eje. Tampoco eran significativas las comparaciones entre los demás grupos.

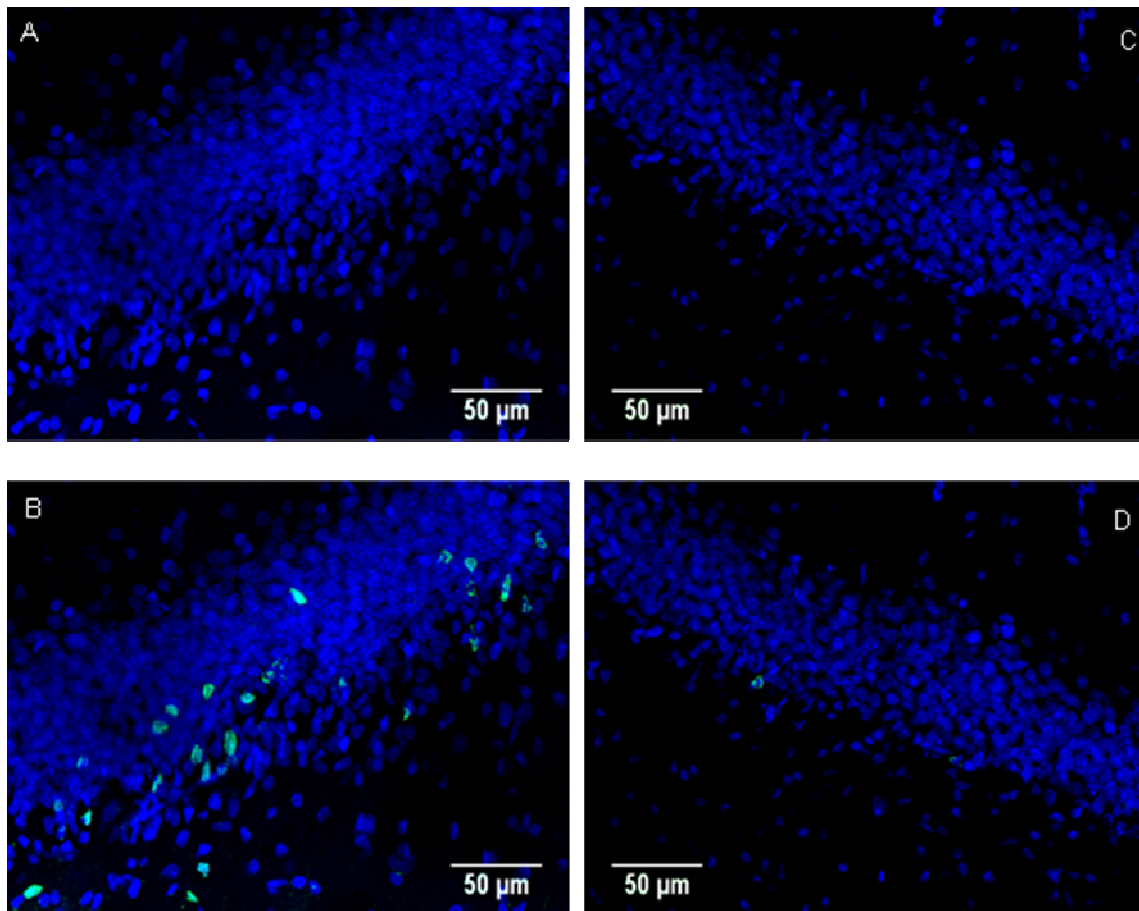


Figura 18. Muestra representativa de células BrdU+ en el GD del hipocampo, en una rata del grupo les-veh-eje (A) y una rata del grupo sham-veh-sed (B). Azul: células con DAPI; verde: células marcadas con BrdU.

Así pues, estos datos indican que en los animales lesionados, el ejercicio físico aumentó la proliferación celular en ambos hemisferios.

4.6.2. Cuantificación de células con doble marcaje BrdU+/DCX+

La cuantificación de las células BrdU+/DCX+ permite obtener una estimación de la cantidad de células nuevas que se diferencian como neuronas inmaduras. La figura 19 muestra el número medio de estas neuronas, tanto en el lado ipsilateral como en el contralateral a la lesión, para cada uno de los grupos experimentales en los que se llevó a cabo dicha determinación. La figura 20 muestra un ejemplo de células BrdU+/DCX+ en un animal con ejercicio físico y en uno sedentario.

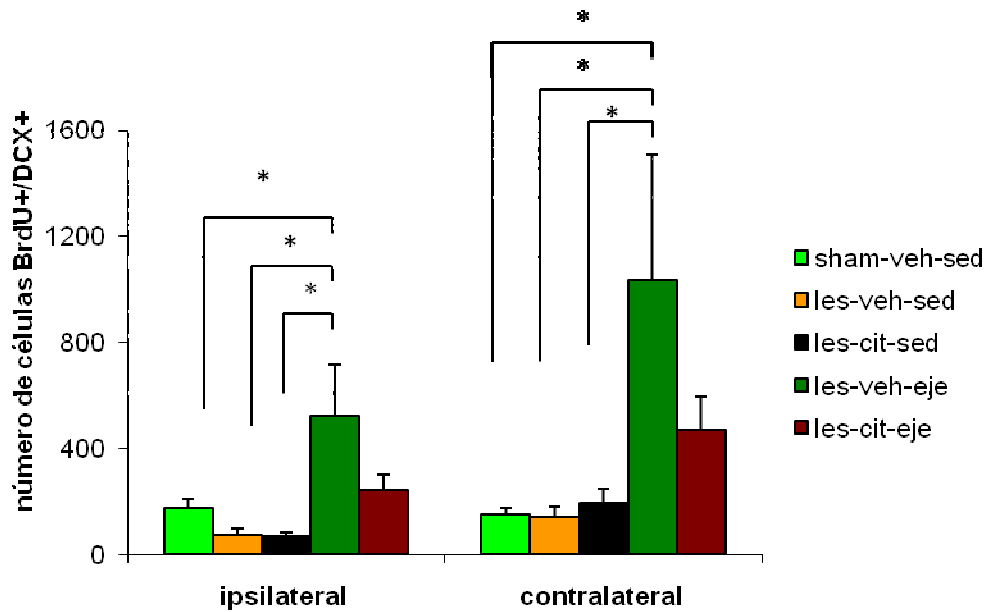


Figura 19. Número de células BrdU+/DCX+ en el GD del hipocampo, tanto en el lado ipsilateral como contralateral para cada uno de los grupos experimentales. Los datos se presentan en media y error estándar.

Un ANOVA indicó la existencia de diferencias significativas entre los diferentes grupos, tanto en el hemisferio ipsilateral [$F_{(4,43)}=5.21$; $p=0.002$], como en el contralateral [$F_{(4,43)}=3.91$; $p=0.009$]. Las comparaciones entre los diferentes grupos, mediante contrastes Tukey indicaron que en ambos hemisferios el número de células BrdU+/DCX+, era significativamente superior en el grupo les-veh-eje que en los grupo sham veh-sed (ipsilateral: $p=0.027$; contralateral $P=0.013$), les-veh-sed (ipsilateral: $p=0.002$; contralateral $p=0.012$) y les-cit-sed (ipsilateral: $p=0.002$; contralateral $p=0.025$). No se hallaron diferencias significativas entre las restantes parejas de grupos.

En resumen, en los animales lesionados, el ejercicio físico aumentó el número de células BrdU+ que se diferencian como neuronas en ambos hemisferios.

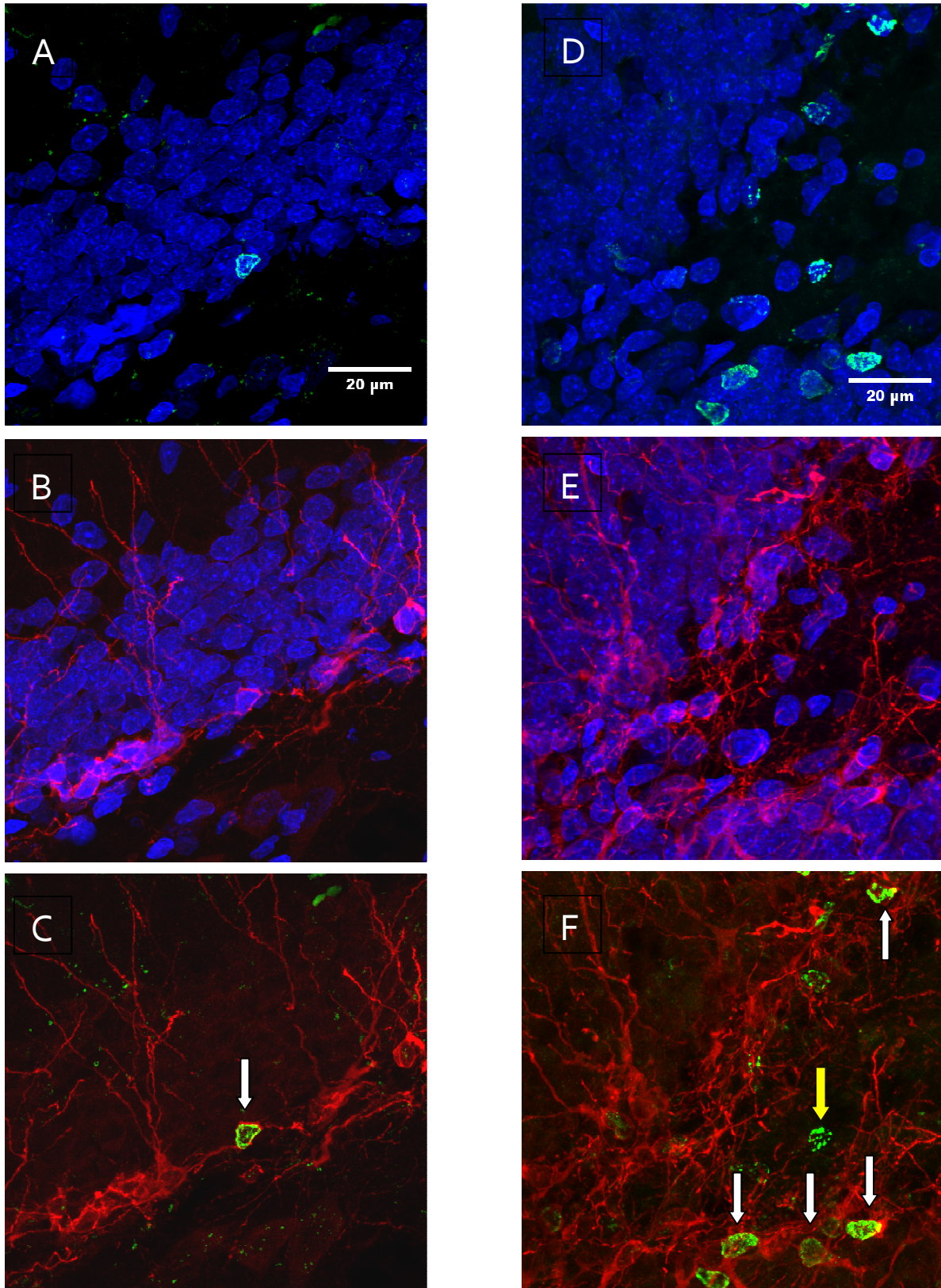


Figura 20. Muestra representativa de células BrdU+/DCX+ de una rata sedentaria del grupo sham-veh-sed (A-B-C) y de un animal con ejercicio del grupo les-veh-eje (D-E-F). Azul: células marcadas con Dapi, rojo: células marcadas con DCX y verde: células marcadas con BrdU. Flechas blancas: células con doble marcaje BRDU/DCX. Flechas amarillas: células BrdU+ sin comarcaje con DCX.

4.6.3. Porcentaje de células BrdU+/DCX+

La figura 21 muestra el porcentaje de células BrdU+/DCX+, en el GD del hipocampo, tanto del lado ipsilateral como contralateral para cada uno de los grupos.

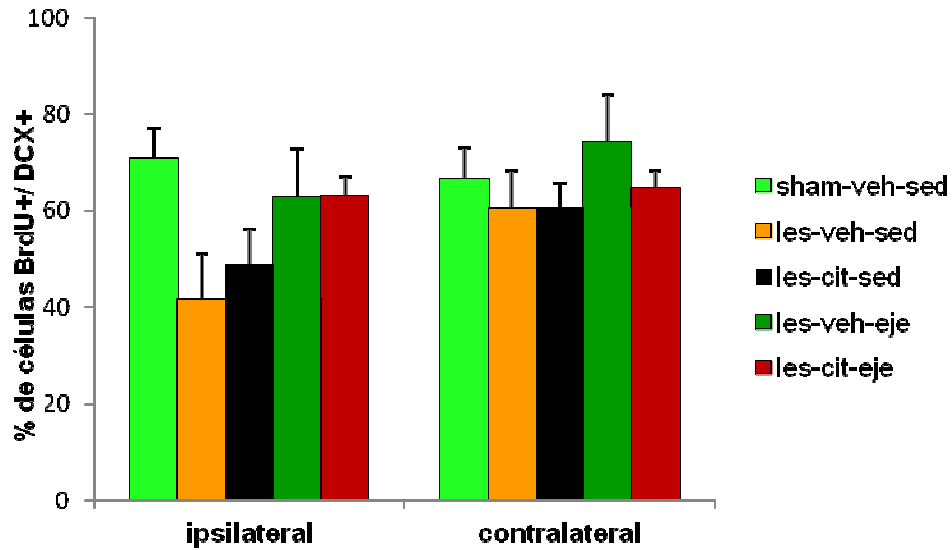


Figura 21. Porcentaje de células BrdU+/DCX+, en el GD del hipocampo, tanto del lado ipsilateral como contralateral para cada uno de los grupos experimentales. Los datos se presentan en media más error estándar.

No se hallaron diferencias significativas entre grupos en el porcentaje de células BrdU+/DCX+, en ninguno de los dos hemisferios.

4.7. Correlaciones entre proliferación celular y neurogénesis, MRO y ejercicio físico.

No se halló ninguna correlación significativa entre el número de células BrdU+, en los lados tanto ipsilateral como contralateral a la lesión, y ninguno de los dos índices de discriminación de la MRO, aunque las correlaciones entre el índice de discriminación en la retención a 24 horas y el número de células BrdU+ en los hemisferios ipsilateral ($p=0.083$) y contralateral ($p=0.077$) tendían a la significación estadística.

Por lo que respecta a la posible relación entre la MRO y la generación de nuevas neuronas, se halló que el índice de discriminación en la retención a largo plazo (24 horas) correlacionaba de manera positiva y significativa con la neurogénesis y, más específicamente, con el número de células BrdU+/DCX+ en el hemisferio contralateral ($r=0.269$; $p=0.037$).

Tomando únicamente la muestra formada por los animales del grupo les-veh-eje, se hallaron correlaciones positivas entre la cantidad de ejercicio en los períodos próximos a la administración de inyecciones de BrdU y el número de células BrdU+ y BrdU-DCX+ en el hemisferio contralateral. Concretamente, el número de células BrdU+ en el hemisferio contralateral correlacionaba de manera significativa con la distancia media recorrida en los días 7-13 ($r=0.668$; $p=0.025$) y 14-20 ($r=0.596$; $p=0.045$).

A su vez, el número de células BrdU+/DCX+ del hemisferio contralateral correlacionaba de manera significativa con la distancia media recorrida los días 7-13 ($r=0.650$; $p=0.029$), hallándose también una correlación tendente a la significación con la distancia media recorrida los días 14-20 ($p=0.058$).

DISCUSSION

5.- DISCUSION

El principal objetivo de nuestra investigación era determinar si la citicolina y el ejercicio físico voluntario reducen las deficiencias en la MRO a corto y a largo plazo, ocasionados por una lesión por CCI, y si la combinación de ambos tratamientos tiene un mayor efecto que cada tratamiento por separado. Los resultados obtenidos muestran que la lesión por CCI deterioró la MRO tanto en la retención 1 (3 horas) como en la retención 2 (24 horas), y que tanto la citicolina como el ejercicio físico voluntario fueron capaces de reducir este déficit de memoria en alguna de las dos sesiones. Concretamente, la citicolina revirtió el déficit de memoria en la sesión de retención a 3 horas, mientras que el ejercicio físico voluntario revirtió el deterioro en la retención a 24 horas. Nuestros resultados también evidencian que la combinación de ambos tratamientos no sólo no tuvo un mayor efecto que cada tratamiento por separado, sino que supuso la anulación del efecto facilitador del ejercicio sobre la memoria a largo plazo.

5.1. Efectos de la lesión

La lesión producida por CCI fue similar en los diferentes grupos experimentales, y afectó principalmente a las cortezas motora y somatosensorial. Además, en comparación con el hemisferio contralateral a la lesión, en el hemisferio ipsilateral el TBI redujo significativamente el volumen del hipocampo y aumentó el del ventrículo lateral. En cuanto al peso corporal, los animales lesionados mostraron un incremento a lo largo del experimento similar al de los animales sham.

Los resultados muestran que los animales lesionados recorrían una mayor distancia diaria en la rueda de actividad que los sujetos sham. A la vista de estos datos la interpretación más plausible es que la lesión genera un aumento en la cantidad de ejercicio que realizan los sujetos. Si bien es cierto que un trabajo reciente (465) ha mostrado que la lesión altera los patrones circadianos de ejercicio, disminuyendo la distancia recorrida durante la noche y también durante el día en la primera semana postlesión y aumentando la distancia diurna durante la segunda semana postlesión, los trabajos existentes hasta el momento han mostrado una disminución de la cantidad diaria de ejercicio (465,466) o simplemente una falta de efecto (9,10,279,467,468). Esta falta de congruencia entre nuestros resultados y los

trabajos previos nos llevó a pensar que quizás no fueran los grupos con lesión los que mostraron niveles incrementados de ejercicio, sino que el grupo sham-veh-eje presentaba niveles anormalmente bajos. En efecto, la distancia recorrida por los animales de este grupo se mantuvo en los mismos niveles desde el inicio del tratamiento. Nuestra propia experiencia ((95), Jacotte Simancas y col. 2012) así como otros trabajos (91,113) nos hacen pensar que esta falta de evolución es anómala. Tras descartar posibles errores metodológicos (como, por ejemplo, la asignación de los animales a ruedas concretas) creemos que existe alguna variable extraña que causó esta disminución en la distancia recorrida por los animales sham-veh-eje.

El grado de afectación neurológica ocasionado por la lesión se estudió mediante dos exploraciones, una realizada al día siguiente de la lesión y la otra dos días antes del inicio de las pruebas de aprendizaje. De acuerdo con investigaciones previas (37,409,469), en nuestro trabajo hemos observado que la lesión aplicada deterioró las conductas sensoriomotoras valoradas en la exploración neurológica. Concretamente, la lesión generada provocó déficits neurológicos a las 24 horas postlesión, que consistieron en una disminución significativa de las puntuaciones del grip test, del plano inclinado y del neuroscore, tanto del lado ipsilateral como contralateral a la lesión. En la segunda valoración neurológica se observó también una disminución de las puntuaciones en el neuroscore en el lado ipsilateral a la lesión. Estos efectos eran esperables teniendo en cuenta que la lesión afectó principalmente a regiones corticales motoras y sensoriomotoras.

La lesión también produjo déficits en la MRO, tanto a 3 horas como a 24 horas. La falta de recuerdo en estos animales no parece estar relacionada con un menor nivel de exploración en la sesión de adquisición, ya que, aunque estos animales tendieron a explorar menos en esta sesión, no se observó ninguna correlación entre esta variable y el recuerdo que mostraron los animales en las sesiones de retención. La menor exploración del objeto nuevo respecto al objeto familiar, observado en los animales lesionados, tampoco parece deberse a un aumento de la neofobia, ya que si bien estos animales mostraron un mayor índice de neofobia en comparación con los animales sham, no existió correlación entre el tiempo de exploración del objeto desconocido en el test de neofobia y el índice de discriminación de las sesiones de retención. Los resultados obtenidos en la MRO parecen deberse, por tanto, a un

efecto disruptor de la lesión sobre los procesos de aprendizaje y memoria a corto y a largo plazo. El déficit de memoria observado en el presente experimento como consecuencia de la lesión por TBI resulta respaldado por otros trabajos anteriores, en los que también se ha observado que este tipo de lesiones puede producir un deterioro mnésico (12,277,470,471).

Se ha documentado que tras lesiones cerebrales de diferente etiología se pueden producir cambios en la neurogénesis adulta (330). En nuestro estudio, no hemos encontrado diferencias significativas entre el grupo les-veh-sed y el grupo sham-veh-sed en el número de células marcadas con BrdU en la capa de células granulares del GD, lo cual pone de manifiesto que la lesión no afectó a la proliferación celular. Esto no se correspondería con lo encontrado en otras investigaciones que reportan un incremento en la proliferación celular tras un TBI (472-475). De la misma manera, la lesión no afectó a la proporción de nuevas neuronas respecto al total de células nuevas generadas, ni al número de neuronas inmaduras en la capa de células granulares del GD, lo cual se corresponde con lo observado por Gao y Chen (476).

5.2. Efectos de la citicolina

En los animales sin lesión, la citicolina no mostró prácticamente ningún efecto, a excepción de una disminución en la puntuación del neuroscore durante la primera valoración neurológica, realizada 24 horas después de la intervención quirúrgica y tras una sola inyección de citicolina. Dado que esta disminución desapareció en la segunda exploración neurológica, parece deberse a un efecto transitorio de la citicolina. A nivel cognitivo, en los animales sham la citicolina no afectó a la MRO, ni tampoco a la exploración de los objetos en el test de neofobia y en la sesión de adquisición de la tarea. Estos resultados parecen indicar que en los animales sanos este fármaco no es capaz de potenciar las funciones cognitivas, cuando es administrado muchos días antes de las pruebas conductuales. De acuerdo con esto, si bien existen algunos trabajos en los que se ha estudiado el efecto de la citicolina en animales sanos, durante o inmediatamente después de finalizar este tratamiento, no conocemos estudios en los que se haya valorado dicho efecto al cabo de varias semanas de finalizar el tratamiento.

Por lo que se refiere a los animales lesionados, el tratamiento con citicolina no redujo el volumen del daño cerebral, ni mostró efecto alguno sobre las otras medidas macroscópicas relativas a la lesión del tejido nervioso (diferencias interhemisféricas en el volumen de hipocampo y de ventrículo). Estos resultados no se corresponden con los encontrados en otras investigaciones en las que se ha reportado efectos neuroprotectores tras patologías como la isquemia (403-405) o el TBI (408,409). Hay que señalar que entre estas investigaciones y la nuestra existen grandes diferencias metodológicas, por ejemplo en la forma de valorar la neuroprotección. Si nos centramos en los estudios con TBI, Dempsey y col. (409) realizaron una estimación del número de neuronas en hipocampo, mientras que Baskaya y col. (408) estudiaron los efectos de la administración de citicolina sobre el edema cerebral y la permeabilidad de la BHE. Además, cabe destacar que en nuestro estudio la demora de administración de citicolina después de la lesión es mayor que en otras investigaciones realizadas tanto con TBI como con isquemia. Así, en los estudios con TBI, Dempsey y col. (409) administraron la primera dosis de citicolina inmediatamente después de la lesión y Baskaya y col. (408) 5 minutos después de la lesión. En nuestro caso, administramos la citicolina 4 horas después, ya que consideramos que ésta sería una demora más parecida a lo que probablemente sería el tiempo que podría tardar un paciente de TBI en recibir el primer tratamiento. No podemos descartar que con una menor demora entre la generación de la lesión y la primera inyección de citicolina quizás habríamos visto efectos neuroprotectores.

Al igual que en los animales sham, en los animales lesionados la citicolina tuvo un efecto negativo sobre la primera evaluación neurológica, en la que se observó una reducción significativa de la puntuación del neuroscore tanto del lado ipsilateral como contralateral a la lesión. Al valorarse el efecto del tratamiento en la segunda evaluación neurológica, realizada dos días antes del aprendizaje, no se encontró ningún efecto de la citicolina, es decir, esta sustancia no fue capaz de revertir los déficits sensoriomotores ocasionados por la lesión. Estos resultados no se corresponden con los encontrados en otra investigación en la que los animales con TBI moderado, tratados con citicolina en dosis de 200 o 400mg/kg, mostraban una recuperación significativa de las deficiencias neurológicas generadas tras la lesión (409). Como ya hemos comentado, es posible que la discrepancia en los resultados

pueda deberse a diferencias en el procedimiento y concretamente a la demora entre la generación de la lesión y la primera inyección de citicolina.

Aún cuando en nuestro experimento la citicolina no fue capaz de reducir el daño cerebral ni los déficits sensoriomotores causados por la lesión, sí que redujo parte de los déficits cognitivos. Concretamente, los animales que recibieron citicolina mostraron un índice de discriminación en la sesión de retención a 3 horas significativamente mayor que el de los animales lesionados que no recibieron este tratamiento, y semejante al de los animales sham. Este efecto de la citicolina sobre la ejecución en el test de memoria a 3 horas no parece estar relacionado con una mayor exploración durante la sesión de aprendizaje, ya que este tratamiento no afectó a esta medida; tampoco parece estar relacionado con una menor reactividad emocional ante objetos desconocidos, dado que la citicolina no tuvo efectos sobre la prueba de neofobia. La mejor ejecución en la retención a 3 horas de los animales lesionados que recibieron citicolina parece deberse a un efecto de esta sustancia sobre los procesos de aprendizaje y memoria. El efecto beneficioso de la citicolina sobre la memoria se corresponde con lo reportado por otras investigaciones realizadas en animales en las que se han encontrado efectos positivos a nivel cognitivo, al emplearse como tratamiento para diferentes patologías o condiciones como la pérdida de memoria asociada a la vejez (394), los déficits cognitivos inducidos farmacológicamente (391,392), la hipoperfusión crónica (397), la demencia cerebrovascular (398) y el TBI (399).

A diferencia de lo observado en la memoria en la retención a 3 horas, la citicolina no fue capaz de revertir el déficit de memoria en la retención a 24 horas. Éste fue un resultado inesperado, y sugiere que la citicolina es capaz de mejorar la memoria a corto plazo, pero no la memoria a largo plazo. De todas formas, dado que en nuestro experimento administramos pocas inyecciones de citicolina, en comparación a otros trabajos (233,391,393,395,399), es posible que un tratamiento más prolongado de citicolina fuera capaz de revertir el déficit de la memoria tanto a corto como a largo plazo.

A pesar de que en un trabajo reciente (477) se halló que la citicolina aumentaba la proliferación celular en la región circundante a una lesión por isquemia, en nuestro experimento no se observó ningún efecto de esta sustancia, cuando fue administrada como tratamiento único, ni sobre la proliferación celular ni sobre la neurogénesis en el GD del

hipocampo. Por lo tanto, estos resultados descartan que los efectos de la citicolina sobre la memoria, que hemos observado en la sesión de retención a 3 horas, estén relacionados con un aumento de la neurogénesis. Probablemente estén relacionados con efectos neuroprotectores, aunque las valoraciones macroscópicas, llevadas a cabo en nuestro experimento no nos han permitido detectar cambios en este sentido. Aún así, el hecho de que este tratamiento haya sido capaz de revertir el déficit en la MRO en la sesión de retención a 3 horas nos induce a pensar que la citicolina ha tenido algún efecto neuroprotector y/o neuroreparador que ha afectado a regiones relacionadas con esta tarea, diferentes al hipocampo, como la corteza perirrinal.

5.3. Efectos del ejercicio

Los animales con ejercicio mostraron un menor incremento del peso a lo largo del experimento que las ratas sedentarias, tal como era de esperar debido a su mayor actividad física. Además también mostraron una menor exploración en la sesión de adquisición de la MRO. Este último efecto ha sido observado previamente en nuestro laboratorio (95). Sin embargo, otros investigadores no han hallado ningún efecto (121).

En los animales no lesionados, el ejercicio no tuvo ningún efecto sobre los tests de retención de la MRO, lo que indica que no fue capaz de potenciar las funciones cognitivas en los sujetos sanos. Estos resultados difieren de los obtenidos en numerosas investigaciones en las que se ha estudiado el efecto del ejercicio voluntario en animales sin ningún tipo de lesión, tanto en ratas (103,121,128) como en ratones (93,97,109,122,134). De hecho, en nuestro propio laboratorio y utilizando el mismo tipo de tarea, hemos observado que el ejercicio físico voluntario es capaz de facilitar la memoria a 24 y 72 horas en animales sanos (95) . Tal y como hemos mencionado anteriormente, el nivel de ejercicio del grupo sham-veh-eje fue inferior a lo esperado según la literatura y según los resultados de nuestro trabajo anterior, por tanto, es muy probable que la falta de efecto sobre la MRO se deba a que este grupo no realizó suficiente ejercicio.

A diferencia de lo observado con la citicolina, el ejercicio físico redujo el daño cerebral producido por la lesión, ya que en estos sujetos (les-veh-eje) el volumen del hipocampo y del ventrículo fueron semejantes en ambos hemisferios; es decir, este tratamiento logró

revertir la disminución observada en los sujetos lesionados sedentarios (les-veh-sed). Este resultado concuerda con lo observado por Itoh y col. (12) quienes, tras una valoración macroscópica de la lesión, hallaron efectos neuroprotectores que se tradujeron en un menor tamaño del área de lesión en los animales con ejercicio. En otros estudios en los que se han utilizado medidas más finas, como la cuantificación de determinadas proteínas (11,283), también se ha observado que el ejercicio reduce la muerte celular producida por TBI.

Con respecto a la valoración sensoriomotora, el ejercicio no fue capaz de mejorar los déficits neurológicos producidos por el TBI en ninguna de las dos valoraciones realizadas. De hecho, incluso se observó un empeoramiento en la prueba del plano inclinado en la segunda evaluación neurológica, quizás debido a un efecto de fatiga en estos sujetos. En una investigación previa, Hicks y col. (277) tampoco encontraron mejoras de la función motora en animales con TBI que habían sido tratados con ejercicio forzado a partir del segundo día postlesión.

En cuanto a la MRO, el ejercicio revirtió el déficit en la retención a 24 horas, pero no tuvo ningún efecto en el test de memoria a 3 horas. En este sentido, en la sesión de retención a 24 horas, el grupo les-veh-eje mostró un índice de retención significativamente mayor al del grupo les-veh-sed, y similar al de los grupos sham. Estos resultados no fueron debidos a una mayor exploración de los objetos en la sesión de adquisición, ya que en los animales lesionados con ejercicio la exploración en esta sesión no fue diferente a la observada en los animales lesionados sin ejercicio. Tampoco parecen ser debidos a una menor neofobia, ya que no se observó correlación entre el tiempo de exploración del objeto desconocido en el test de neofobia y el índice de retención a 24 horas. La mejor ejecución en la retención a 24 horas observada en los animales lesionados con ejercicio parece ser debida, por tanto, a un efecto del ejercicio sobre los procesos de memoria.

El efecto beneficioso del ejercicio sobre las funciones cognitivas, en animales con TBI, también ha sido reportado en otras investigaciones en las que, empleando diferentes modelos animales de TBI, se ha demostrado que el ejercicio físico tanto forzado (11,12) como voluntario (9,10) es capaz de revertir los déficits cognitivos tras este tipo de lesiones. Aunque en algunos estudios el ejercicio no ha sido capaz de revertir el déficit cognitivo producido por TBI (10,277), la ausencia de efecto parece estar relacionada con un intervalo

demasiado breve entre la lesión y el inicio del ejercicio (menos de dos días). Así, un corto período entre el ejercicio y la lesión parece reducir las probabilidades de éxito del tratamiento.

Uno de los mecanismos por los cuales el ejercicio físico podría revertir el déficit cognitivo producido por el TBI es mediante la generación de nuevas neuronas. En el presente experimento hemos encontrado que, en los animales lesionados, el ejercicio físico voluntario incrementó significativamente la proliferación celular (células BrdU+) y la neurogénesis (células BrdU+/DCX+) en el GD de ambos hemisferios, tanto respecto a los animales lesionados sin ejercicio, como respecto a la de los animales sham-veh-sed. Además, se observó que, en los animales del grupo les-veh-eje la cantidad de ejercicio correlacionaba positivamente con la cantidad de células BrdU+ y BrdU+/DCX+. Nuestros resultados se corresponden con las investigaciones que han documentado un incremento en la proliferación celular (16-20,209,351-353) y en la neurogénesis (17,206,209,478-480). Puesto que el ejercicio aumenta la permeabilidad de la BHE (331,353), incrementando así la captación de BrdU, a dosis bajas de este marcador el ejercicio puede dar lugar a un aumento de marcaje causado por una mayor captación y no por un aumento real de la proliferación celular. En nuestro caso, el uso de una dosis de saturación (200mg/kg) descarta esta posibilidad.

Para determinar si el incremento en la proliferación y en la neurogénesis tenía relación con la recuperación de los déficits de memoria ocasionados tras un TBI, se realizó un análisis de correlación, que demostró que el índice de discriminación en la retención a 24 horas, pero no a 3 horas, correlacionaba positiva y significativamente con el número de neuronas inmaduras (BrdU+/DCX+) en el hemisferio contralateral a la lesión. Además, existió una tendencia a la significación en la correlación con la proliferación celular en ambos hemisferios.

Estos resultados apoyan fuertemente que la reversión del déficit de memoria observada en la retención a 24 horas en el grupo les-veh-eje está relacionada con un aumento en la proliferación celular y, más concretamente, con la neurogénesis en el GD del hipocampo. El hipocampo juega un papel importante en el aprendizaje de tareas espaciales y asociativas, y la neurogénesis que tiene lugar en el GD del hipocampo, parece tener un papel en este tipo

de memorias (344,345). En varias investigaciones se ha encontrado que el incremento de la neurogénesis estaría asociado con el aprendizaje de tareas hipocampo-dependientes (354-356).

¿Por qué el ejercicio y la citicolina facilitaron en sesiones de retención diferentes? Una posible explicación consiste en la implicación diferencial del hipocampo en ambas sesiones. El ejercicio logró revertir la disminución de volumen hipocampal generada por la lesión y aumentó la proliferación y la neurogénesis en el GD. Además, la cantidad de ejercicio diario correlacionó con la proliferación y neurogénesis, y ésta última, a su vez, con la retención a 24 horas, pero no a 3 horas. La citicolina, no tuvo ningún efecto sobre las variables macroscópicas y microscópicas estudiadas en el hipocampo y no logró revertir el deterioro en la retención a 24 horas, pero sí a 3 horas, sesión en la que no existió correlación entre la memoria y la neurogénesis o la proliferación en el GD.

Es decir, los datos sugieren que el ejercicio tuvo un efecto neuroprotector y/o neuroreparador sobre el hipocampo y que este efecto se tradujo en una mejor ejecución en la sesión a 24 horas, que probablemente tiene un mayor componente hipocampo-dependiente; mientras que la citicolina pudo tener este efecto, pero sobre otras estructuras más relacionadas con la sesión a más corto plazo, como por ejemplo la corteza perirrinal.

El hecho de que nuestros resultados respalden un papel de la neurogénesis en los efectos de reversión del déficit de memoria producidos por el ejercicio físico no descarta que en este efecto intervengan además otros mecanismos, como son el incremento de factores neurotróficos, especialmente el BDNF (14,92,109,120,316,322), el aumento de la angiogenesis (269,274,368,369), la modificación de las espinas dendríticas (15), o la actuación sobre los sistemas de neurotransmisión (372,373). El BDNF es uno de los principales mecanismos que se han propuesto para explicar los efectos del ejercicio físico. Esta neurotrofina está relacionada con la plasticidad sináptica y con la consolidación de la memoria (313,315,481). Varias investigaciones han reportado que el ejercicio es capaz de incrementar los niveles de BDNF en el hipocampo (92,108,316,321,482), y más específicamente, algunas investigaciones han reportado que el ejercicio aumenta los niveles de BDNF en animales con TBI (279,466) Podría ser entonces que ambos mecanismos,

neurogénesis y BDNF, participaran de alguna manera en la recuperación del déficit cognitivo causado por TBI, en los animales con ejercicio.

5.4. Efecto del tratamiento combinado citicolina-ejercicio

A excepción de la memoria a largo plazo y de las medidas histológicas, en aquellas variables en las que uno de los dos tratamientos tuvo efecto, los grupos que recibieron la combinación de ambos mostraron valores similares a los grupos con el tratamiento individual.

Como se indica en los apartados anteriores, el TBI redujo el volumen del hipocampo y aumentó el del ventrículo del hemisferio ipsilateral. Este efecto deteriorante no fue modificado por la administración de citicolina, pero sí fue revertido por el ejercicio físico. La combinación de los dos tratamientos impidió el efecto del ejercicio sobre el hipocampo, pero no sobre el ventrículo; es decir, la citicolina redujo el efecto neuroprotector del ejercicio.

Por lo que respecta a la MRO, en los animales lesionados la combinación de ambos tratamientos impidió que el ejercicio produjera una reversión del déficit de memoria en la sesión de retención a 24 horas. Específicamente, el grupo lesionado que recibió los dos tratamientos mostró un índice de discriminación inferior al mostrado por la mayoría de los grupos sham y por el grupo lesionado con ejercicio, y semejante al mostrado por los animales lesionados sin tratamiento. Estos resultados indican una interacción negativa entre los dos tratamientos sobre la memoria a largo plazo, consistente en que la citicolina bloquea el efecto beneficioso del ejercicio en los animales lesionados. Además, la interacción entre estos dos tratamientos deterioró ligeramente la MRO en los animales sham, de manera que estos animales no mostraron recuerdo en esta sesión.

Respecto a la proliferación celular y a la neurogénesis, hemos visto en los apartados correspondientes que la citicolina no tuvo ningún efecto sobre estas medidas mientras que el ejercicio incrementó ambas. Los animales que recibieron ambos tratamientos combinados no mostraron ningún incremento significativo, en comparación con el grupo les-veh-sed, ni en el número de células BrdU+, ni en el número de neuronas inmaduras (BrdU+/DCX+). Es decir, la citicolina redujo el incremento en la proliferación celular y la neurogénesis inducido por el ejercicio físico.

Tal como hemos mencionado anteriormente (apartado 5.3), el aumento en la neurogénesis podría explicar el efecto facilitador del ejercicio en la memoria a largo plazo. El hecho de que la citicolina interfiera en este incremento en la neurogénesis podría explicar por qué en los sujetos en los que se combinan ambos tratamientos no se observa el efecto de reversión del déficit de memoria a largo plazo mostrado en los sujetos tratados sólo con ejercicio.

En resumen, la combinación de ambos tratamientos ha sido claramente perjudicial en el caso de la memoria a largo plazo, pero no ha tenido un efecto negativo en la memoria a corto plazo; es decir, el ejercicio físico no ha impedido el efecto beneficioso de la citicolina en la retención a 3 horas, pero la citicolina sí que ha impedido el efecto del ejercicio sobre la retención a 24 horas. Además, este efecto funcional también se ha visto respaldado por los datos histológicos. ¿Significa esto que ambos tratamientos son incompatibles? En nuestro caso ambos tratamientos fueron introducidos de forma secuencial en el experimento, es decir, el ejercicio físico empezó justo después de finalizado el tratamiento con citicolina. Es posible que una pauta diferente de administración, ya sea introduciendo una demora entre ambos tratamientos o manteniendo la administración de citicolina durante la fase de ejercicio físico pudiera cambiar este efecto negativo de la interacción y, muy al contrario, complementar los efectos vistos sobre la memoria corto y a largo plazo con cada uno de los tratamientos por separado. En cualquier caso, creemos que los datos obtenidos pueden ser de gran relevancia terapéutica y estimulan a continuar estudiando el efecto de la combinación de ambos tratamientos para revertir los déficits cognitivos producidos por TBI.

CONCLUSIONES

6.- CONCLUSIONES

1. La lesión inducida por TBI produce una pérdida substancial de tejido cerebral, así como alteraciones morfológicas y volumétricas en la región hipocampal. Produce además un deterioro claro de la memoria a corto y a largo plazo.
2. El ejercicio físico muestra claramente un efecto neuroprotector y neuroreparador. En el terreno histológico, este efecto se plasma tanto a nivel microscópico (proliferación celular y neurogénesis) como a nivel macroscópico (volumen de hipocampo y ventrículos). Además, estos cambios celulares han supuesto cambios funcionales, ya que han revertido el déficit generado por la lesión sobre la memoria a largo plazo.
3. La citicolina ha tenido también un efecto funcional de reversión del déficit producido por la lesión, en este caso sobre la memoria a corto plazo, pero las variables estudiadas no nos han permitido proponer un mecanismo de acción a nivel celular que pueda explicar este efecto beneficioso.
4. Así pues, tanto la citicolina como el ejercicio físico han mostrado un elevado potencial terapéutico en el tratamiento de los déficits de memoria producidos por TBI.
5. La combinación de ejercicio físico y citicolina no sólo no ha sido más beneficiosa que cada tratamiento por separado, sino que incluso ha tenido efectos negativos. En este sentido, el ejercicio físico no ha impedido el efecto beneficioso de la citicolina en la retención a 3 horas, pero en cambio, la citicolina sí que ha impedido el efecto positivo del ejercicio sobre la memoria a largo plazo y sobre los cambios histológicos inducidos por éste último.
6. La interacción negativa entre ambos tratamientos podría estar relacionada con la pauta de administración utilizada, y que con otras pautas sea posible potenciar el efecto beneficioso de cada uno de los tratamientos por separado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. Referencias bibliográficas

- (1) Chen AJ, D'Espósito M. Traumatic brain injury from bench to bedside to society. *Neuron* 2010;66:11-14.
- (2) Sivanandam TM, Thakur MK. Traumatic brain injury: A risk factor for Alzheimer's disease. *Neurosci Biobehav Rev* 2012 May;36(5):1376-1381.
- (3) Masel BE, DeWitt DS. Traumatic brain injury: a disease process, not an event. *J Neurotrauma* 2010 Aug;27(8):1529-1540.
- (4) Jellinger KA, Paulus W, Wrocklage C, Litvan I. Traumatic brain injury as a risk factor for Alzheimer disease. Comparison of two retrospective autopsy cohorts with evaluation of ApoE genotype. *BMC Neurol* 2001 Dec 18;1:3.
- (5) O'Connor WT, Smyth A, Gilchrist MD. Animal models of traumatic brain injury: a critical evaluation. *Pharmacol Ther* 2011 May;130(2):106-113.
- (6) R. Prieto, R. Guierrez-González, J.M Pascual, J.M Roda, S. Cerdan, J. Matias-Guiu y J.A. Barcia. Modelos experimentales de traumatismo craneoencefálico. *Neurocirugía* 2009;20:225-244.
- (7) Ray SK, Dixon CE, Banik NL. Molecular mechanisms in the pathogenesis of traumatic brain injury. *Histol Histopathol* 2002 Oct;17(4):1137-1152.
- (8) Arida RM, Scorza CA, da Silva AV, Scorza FA, Cavalheiro EA. Differential effects of spontaneous versus forced exercise in rats on the staining of parvalbumin-positive neurons in the hippocampal formation. *Neurosci Lett* 2004 Jul 8;364(3):135-138.
- (9) Griesbach GS, Hovda DA, Gomez-Pinilla F. Exercise-induced improvement in cognitive performance after traumatic brain injury in rats is dependent on BDNF activation. *Brain Res* 2009 Sep 8;1288:105-115.
- (10) Griesbach GS, Hovda DA, Molteni R, Wu A, Gomez-Pinilla F. Voluntary exercise following traumatic brain injury: brain-derived neurotrophic factor upregulation and recovery of function. *Neuroscience* 2004;125(1):129-139.
- (11) Kim DH, Ko IG, Kim BK, Kim TW, Kim SE, Shin MS, et al. Treadmill exercise inhibits traumatic brain injury-induced hippocampal apoptosis. *Physiol Behav* 2010 Dec 2;101(5):660-665.
- (12) Itoh T, Imano M, Nishida S, Tsubaki M, Hashimoto S, Ito A, et al. Exercise inhibits neuronal apoptosis and improves cerebral function following rat traumatic brain injury. *J Neural Transm* 2011 Mar 27.
- (13) Grealy MA, Johnson DA, Rushton SK. Improving cognitive function after brain injury: the use of exercise and virtual reality. *Arch Phys Med Rehabil* 1999 Jun;80(6):661-667.
- (14) Cotman CW, Berchtold NC. Physical activity and the maintenance of cognition: learning from animal models. *Alzheimers Dement* 2007 Apr;3(2 Suppl):S30-7.

- (15) van Praag H. Exercise and the brain: something to chew on. *Trends Neurosci* 2009 May;32(5):283-290.
- (16) Uysal N, Tugyan K, Kayatekin BM, Acikgoz O, Bagriyanik HA, Gonenc S, et al. The effects of regular aerobic exercise in adolescent period on hippocampal neuron density, apoptosis and spatial memory. *Neurosci Lett* 2005 Aug 5;383(3):241-245.
- (17) Lou SJ, Liu JY, Chang H, Chen PJ. Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. *Brain Res* 2008 May 19;1210:48-55.
- (18) Redila VA, Christie BR. Exercise-induced changes in dendritic structure and complexity in the adult hippocampal dentate gyrus. *Neuroscience* 2006;137(4):1299-1307.
- (19) Helfer JL, Goodlett CR, Greenough WT, Klintsova AY. The effects of exercise on adolescent hippocampal neurogenesis in a rat model of binge alcohol exposure during the brain growth spurt. *Brain Res* 2009 Oct 19;1294:1-11.
- (20) Farmer J, Zhao X, van Praag H, Wodtke K, Gage FH, Christie BR. Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience* 2004;124(1):71-79.
- (21) Bekinschtein P, Oomen CA, Saksida LM, Bussey TJ. Effects of environmental enrichment and voluntary exercise on neurogenesis, learning and memory, and pattern separation: BDNF as a critical variable? *Semin Cell Dev Biol* 2011 Jul 7.
- (22) Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci* 2007 Sep;30(9):464-472.
- (23) Secades JJ. Citicoline: pharmacological and clinical review, 2010 update. *Rev Neurol* 2011 Mar 14;52 Suppl 2:S1-S62.
- (24) Menku A, Ogden M, Saraymen R. The protective effects of propofol and citicoline combination in experimental head injury in rats. *Turk Neurosurg* 2010 Jan;20(1):57-62.
- (25) Hurtado O, Lizasoain I, Moro MA. Neuroprotection and recovery: recent data at the bench on citicoline. *Stroke* 2011 Jan;42(1 Suppl):S33-5.
- (26) Arenth PM, Russell KC, Ricker JH, Zafonte RD. CDP-choline as a biological supplement during neurorecovery: a focused review. *PM R* 2011 Jun;3(6 Suppl 1):S123-31.
- (27) Marklund N, Hillered L. Animal modelling of traumatic brain injury in preclinical drug development: where do we go from here? *Br J Pharmacol* 2011 Oct;164(4):1207-1229.
- (28) Saatman KE, Feeko KJ, Pape RL, Raghupathi R. Differential behavioral and histopathological responses to graded cortical impact injury in mice. *J Neurotrauma* 2006 Aug;23(8):1241-1253.
- (29) Dixon CE, Kochanek PM, Yan HQ, Schiding JK, Griffith RG, Baum E, et al. One-year study of spatial memory performance, brain morphology, and cholinergic markers after moderate controlled cortical impact in rats. *J Neurotrauma* 1999 Feb;16(2):109-122.

- (30) Yu S, Kaneko Y, Bae E, Stahl CE, Wang Y, van Loveren H, et al. Severity of controlled cortical impact traumatic brain injury in rats and mice dictates degree of behavioral deficits. *Brain Res* 2009 Sep 1;1287:157-163.
- (31) Dere E, Kart-Teke E, Huston JP, De Souza Silva MA. The case for episodic memory in animals. *Neurosci Biobehav Rev* 2006;30(8):1206-1224.
- (32) Jurado-Berbel P, Costa-Miserachs D, Torras-Garcia M, Coll-Andreu M, Portell-Cortes I. Standard object recognition memory and "what" and "where" components: Improvement by post-training epinephrine in highly habituated rats. *Behav Brain Res* 2010 Feb 11;207(1):44-50.
- (33) Archer T, Svensson K, Alricsson M. Physical exercise ameliorates deficits induced by traumatic brain injury. *Acta Neurol Scand* 2012 Jan 11.
- (34) Bryant RA, O'Donnell ML, Creamer M, McFarlane AC, Clark CR, Silove D. The psychiatric sequelae of traumatic injury. *Am J Psychiatry* 2010 Mar;167(3):312-320.
- (35) Morales DM, Marklund N, Lebold D, Thompson HJ, Pitkanen A, Maxwell WL, et al. Experimental models of traumatic brain injury: do we really need to build a better mousetrap? *Neuroscience* 2005;136(4):971-989.
- (36) Cernak I. Animal models of head trauma. *NeuroRx* 2005 Jul;2(3):410-422.
- (37) Colicos MA, Dixon CE, Dash PK. Delayed, selective neuronal death following experimental cortical impact injury in rats: possible role in memory deficits. *Brain Res* 1996 Nov 11;739(1-2):111-119.
- (38) Singleton RH, Yan HQ, Fellows-Mayle W, Dixon CE. Resveratrol attenuates behavioral impairments and reduces cortical and hippocampal loss in a rat controlled cortical impact model of traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2010 Jun;27(6):1091-1099.
- (39) Yang L, Afroz S, Michelson HB, Goodman JH, Valsamis HA, Ling DS. Spontaneous epileptiform activity in rat neocortex after controlled cortical impact injury. *J Neurotrauma* 2010 Aug;27(8):1541-1548.
- (40) Albert-Weissenberger C, Siren AL. Experimental traumatic brain injury. *Exp Transl Stroke Med* 2010 Aug 13;2(1):16.
- (41) Vink R, Mullins PG, Temple MD, Bao W, Faden AI. Small shifts in craniotomy position in the lateral fluid percussion injury model are associated with differential lesion development. *J Neurotrauma* 2001 Aug;18(8):839-847.
- (42) Sato M, Chang E, Igarashi T, Noble LJ. Neuronal injury and loss after traumatic brain injury: time course and regional variability. *Brain Res* 2001 Oct 26;917(1):45-54.
- (43) Grady MS, Charleston JS, Maris D, Witgen BM, Lifshitz J. Neuronal and glial cell number in the hippocampus after experimental traumatic brain injury: analysis by stereological estimation. *J Neurotrauma* 2003 Oct;20(10):929-941.

- (44) Hill-Felberg SJ, McIntosh TK, Oliver DL, Raghupathi R, Barbarese E. Concurrent loss and proliferation of astrocytes following lateral fluid percussion brain injury in the adult rat. *J Neurosci Res* 1999 Jul 15;57(2):271-279.
- (45) Thompson HJ, LeBold DG, Marklund N, Morales DM, Hagner AP, McIntosh TK. Cognitive evaluation of traumatically brain-injured rats using serial testing in the Morris water maze. *Restor Neurol Neurosci* 2006;24(2):109-114.
- (46) Floyd CL, Golden KM, Black RT, Hamm RJ, Lyeth BG. Craniectomy position affects morris water maze performance and hippocampal cell loss after parasagittal fluid percussion. *J Neurotrauma* 2002 Mar;19(3):303-316.
- (47) Dishman RK, Berthoud HR, Booth FW, Cotman CW, Edgerton VR, Fleshner MR, et al. Neurobiology of exercise. *Obesity (Silver Spring)* 2006 Mar;14(3):345-356.
- (48) Floel A, Ruscheweyh R, Kruger K, Willemer C, Winter B, Volker K, et al. Physical activity and memory functions: are neurotrophins and cerebral gray matter volume the missing link? *Neuroimage* 2010 Feb 1;49(3):2756-2763.
- (49) Hillman CH, Erickson KI, Kramer AF. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nat Rev Neurosci* 2008 Jan;9(1):58-65.
- (50) Arida RM, Scorza FA, da Silva SG, Cysneiros RM, Cavalheiro EA. Exercise Paradigms to Study Brain Injury Recovery in Rodents. *Am J Phys Med Rehabil* 2011 Jan 5.
- (51) Leasure JL, Jones M. Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience* 2008 Oct 15;156(3):456-465.
- (52) Hopkins ME, Caroline Davis F, Vantighem MR, Whalen PJ, Bucci DJ. Differential Effects of Acute and Regular Physical Exercise on Cognition and Affect. *Neuroscience* 2012 Apr 30.
- (53) Griffin EW, Mullally S, Foley C, Warmington SA, O'Mara SM, Kelly AM. Aerobic exercise improves hippocampal function and increases BDNF in the serum of young adult males. *Physiol Behav* 2011 Oct 24;104(5):934-941.
- (54) Budde H, Brunelli A, Machado S, Velasques B, Ribeiro P, Arias-Carrion O, et al. Intermittent maximal exercise improves attentional performance only in physically active students. *Arch Med Res* 2012 Feb;43(2):125-131.
- (55) Budde H, Voelcker-Rehage C, Pietrabyk-Kendziorra S, Ribeiro P, Tidow G. Acute coordinative exercise improves attentional performance in adolescents. *Neurosci Lett* 2008 Aug 22;441(2):219-223.
- (56) Chang YK, Ku PW, Tomporowski PD, Chen FT, Huang CC. The Effects of Acute Resistance Exercise on Late-Middle-Aged Adults' Goal Planning. *Med Sci Sports Exerc* 2012 Mar 28.
- (57) Kamijo K, Takeda Y. Regular physical activity improves executive function during task switching in young adults. *Int J Psychophysiol* 2010 Mar;75(3):304-311.

- (58) Masley S, Roetzheim R, Gualtieri T. Aerobic exercise enhances cognitive flexibility. *J Clin Psychol Med Settings* 2009 Jun;16(2):186-193.
- (59) Audiffren M, Tomporowski PD, Zagrodnik J. Acute aerobic exercise and information processing: modulation of executive control in a Random Number Generation task. *Acta Psychol (Amst)* 2009 Sep;132(1):85-95.
- (60) Kamijo K, Takeda Y. General physical activity levels influence positive and negative priming effects in young adults. *Clin Neurophysiol* 2009 Mar;120(3):511-519.
- (61) Pontifex MB, Hillman CH, Fernhall B, Thompson KM, Valentini TA. The effect of acute aerobic and resistance exercise on working memory. *Med Sci Sports Exerc* 2009 Apr;41(4):927-934.
- (62) Themanson JR, Pontifex MB, Hillman CH. Fitness and action monitoring: evidence for improved cognitive flexibility in young adults. *Neuroscience* 2008 Nov 19;157(2):319-328.
- (63) Hillman CH, Snook EM, Jerome GJ. Acute cardiovascular exercise and executive control function. *Int J Psychophysiol* 2003 Jun;48(3):307-314.
- (64) Joyce J, Graydon J, McMorris T, Davranche K. The time course effect of moderate intensity exercise on response execution and response inhibition. *Brain Cogn* 2009 Oct;71(1):14-19.
- (65) Audiffren M, Tomporowski PD, Zagrodnik J. Acute aerobic exercise and information processing: energizing motor processes during a choice reaction time task. *Acta Psychol (Amst)* 2008 Nov;129(3):410-419.
- (66) Netz Y, Tomer R, Axelrad S, Argov E, Inbar O. The effect of a single aerobic training session on cognitive flexibility in late middle-aged adults. *Int J Sports Med* 2007 Jan;28(1):82-87.
- (67) Yanagisawa H, Dan I, Tsuzuki D, Kato M, Okamoto M, Kyutoku Y, et al. Acute moderate exercise elicits increased dorsolateral prefrontal activation and improves cognitive performance with Stroop test. *Neuroimage* 2010 May 1;50(4):1702-1710.
- (68) Hogervorst E, Riedel W, Jeukendrup A, Jolles J. Cognitive performance after strenuous physical exercise. *Percept Mot Skills* 1996 Oct;83(2):479-488.
- (69) Chang YK, Etnier JL. Exploring the dose-response relationship between resistance exercise intensity and cognitive function. *J Sport Exerc Psychol* 2009 Oct;31(5):640-656.
- (70) Stroth S, Hille K, Spitzer M, Reinhardt R. Aerobic endurance exercise benefits memory and affect in young adults. *Neuropsychol Rehabil* 2009 Apr;19(2):223-243.
- (71) Labban JD, Etnier JL. Effects of acute exercise on long-term memory. *Res Q Exerc Sport* 2011 Dec;82(4):712-721.
- (72) Winter B, Breitenstein C, Mooren FC, Voelker K, Fobker M, Lechtermann A, et al. High impact running improves learning. *Neurobiol Learn Mem* 2007 May;87(4):597-609.
- (73) Chang YK, Labban JD, Gapin JI, Etnier JL. The effects of acute exercise on cognitive performance: a meta-analysis. *Brain Res* 2012 May 9;1453:87-101.

- (74) Lo Bue-Estes C, Willer B, Burton H, Leddy JJ, Wilding GE, Horvath PJ. Short-term exercise to exhaustion and its effects on cognitive function in young women. *Percept Mot Skills* 2008 Dec;107(3):933-945.
- (75) Kamijo K, Nishihira Y, Higashiura T, Kuroiwa K. The interactive effect of exercise intensity and task difficulty on human cognitive processing. *Int J Psychophysiol* 2007 Aug;65(2):114-121.
- (76) Coles K, Tomporowski PD. Effects of acute exercise on executive processing, short-term and long-term memory. *J Sports Sci* 2008 Feb 1;26(3):333-344.
- (77) Dietrich A, Sparling PB. Endurance exercise selectively impairs prefrontal-dependent cognition. *Brain Cogn* 2004 Aug;55(3):516-524.
- (78) Hotting K, Reich B, Holzschneider K, Kauschke K, Schmidt T, Reer R, et al. Differential cognitive effects of cycling versus stretching/coordination training in middle-aged adults. *Health Psychol* 2012 Mar;31(2):145-155.
- (79) Davis CL, Tomporowski PD, McDowell JE, Austin BP, Miller PH, Yanasak NE, et al. Exercise improves executive function and achievement and alters brain activation in overweight children: a randomized, controlled trial. *Health Psychol* 2011 Jan;30(1):91-98.
- (80) Chaddock L, Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, VanPatter M, Pontifex MB, et al. A functional MRI investigation of the association between childhood aerobic fitness and neurocognitive control. *Biol Psychol* 2012 Jan;89(1):260-268.
- (81) Chaddock L, Erickson KI, Prakash RS, VanPatter M, Voss MW, Pontifex MB, et al. Basal ganglia volume is associated with aerobic fitness in preadolescent children. *Dev Neurosci* 2010 Aug;32(3):249-256.
- (82) Wu CT, Pontifex MB, Raine LB, Chaddock L, Voss MW, Kramer AF, et al. Aerobic fitness and response variability in preadolescent children performing a cognitive control task. *Neuropsychology* 2011 May;25(3):333-341.
- (83) Chaddock L, Erickson KI, Prakash RS, Kim JS, Voss MW, Vanpatter M, et al. A neuroimaging investigation of the association between aerobic fitness, hippocampal volume, and memory performance in preadolescent children. *Brain Res* 2010 Oct 28;1358:172-183.
- (84) Aberg MA, Pedersen NL, Toren K, Svartengren M, Backstrand B, Johnsson T, et al. Cardiovascular fitness is associated with cognition in young adulthood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009 Dec 8;106(49):20906-20911.
- (85) Pereira AC, Huddlestone DE, Brickman AM, Sosunov AA, Hen R, McKhann GM, et al. An in vivo correlate of exercise-induced neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007 Mar 27;104(13):5638-5643.
- (86) Chaddock L, Hillman CH, Pontifex MB, Johnson CR, Raine LB, Kramer AF. Childhood aerobic fitness predicts cognitive performance one year later. *J Sports Sci* 2012;30(5):421-430.
- (87) Davranche K, McMorris T. Specific effects of acute moderate exercise on cognitive control. *Brain Cogn* 2009 Apr;69(3):565-570.

- (88) Grego F, Vallier JM, Collardeau M, Bermon S, Ferrari P, Candito M, et al. Effects of long duration exercise on cognitive function, blood glucose, and counterregulatory hormones in male cyclists. *Neurosci Lett* 2004 Jul 1;364(2):76-80.
- (89) Holzschneider K, Wolbers T, Roder B, Hotting K. Cardiovascular fitness modulates brain activation associated with spatial learning. *Neuroimage* 2012 Feb 1;59(3):3003-3014.
- (90) Serwah N, Marino FE. The combined effects of hydration and exercise heat stress on choice reaction time. *J Sci Med Sport* 2006 May;9(1-2):157-164.
- (91) Burghardt PR, Fulk LJ, Hand GA, Wilson MA. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. *Brain Res* 2004 Sep 3;1019(1-2):84-96.
- (92) Griffin EW, Bechara RG, Birch AM, Kelly AM. Exercise enhances hippocampal-dependent learning in the rat: evidence for a BDNF-related mechanism. *Hippocampus* 2009 Oct;19(10):973-980.
- (93) Berchtold NC, Castello N, Cotman CW. Exercise and time-dependent benefits to learning and memory. *Neuroscience* 2010 May 19;167(3):588-597.
- (94) McDonald RJ, White NM. A triple dissociation of memory systems: hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. *Behav Neurosci* 1993 Feb;107(1):3-22.
- (95) Garcia-Capdevila S, Portell-Cortes I, Torras-Garcia M, Coll-Andreu M, Costa-Miserachs D. Effects of long-term voluntary exercise on learning and memory processes: dependency of the task and level of exercise. *Behav Brain Res* 2009 Sep 14;202(2):162-170.
- (96) Baruch DE, Swain RA, Helmstetter FJ. Effects of exercise on Pavlovian fear conditioning. *Behav Neurosci* 2004 Oct;118(5):1123-1127.
- (97) Falls WA, Fox JH, MacAulay CM. Voluntary exercise improves both learning and consolidation of cued conditioned fear in C57 mice. *Behav Brain Res* 2010 Mar 5;207(2):321-331.
- (98) Naser Ahmadi Asl, Farzam Sheikhzade, Mahmood Torchi, eila Roshangar, Saeed Khamnei. Long-term regular exercise promotes memory and learning in young but not in older rats. *Pathophysiology* 2008;15:9-12.
- (99) Ang ET, Dawe GS, Wong PT, Moochhala S, Ng YK. Alterations in spatial learning and memory after forced exercise. *Brain Res* 2006 Oct 3;1113(1):186-193.
- (100) Ni H, Li C, Feng X, Cen JN. Effects of forced running exercise on cognitive function and its relation to zinc homeostasis-related gene expression in rat hippocampus. *Biol Trace Elem Res* 2011 Sep;142(3):704-712.
- (101) Fordyce DE, Wehner JM. Physical activity enhances spatial learning performance with an associated alteration in hippocampal protein kinase C activity in C57BL/6 and DBA/2 mice. *Brain Res* 1993 Aug 13;619(1-2):111-119.
- (102) Blustein JE, McLaughlin M, Hoffman JR. Exercise effects stress-induced analgesia and spatial learning in rats. *Physiol Behav* 2006 Nov 30;89(4):582-586.

- (103) Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci* 2004 Nov;20(10):2580-2590.
- (104) Gabriela Chytrova, Zhe Ying, Fernando Gomez Pinilla. Exercise contributes to the effect of DHA dietary supplementation by acting on membrane-related synaptic systems. *Brain Research* 2009:1-9.
- (105) Molteni R, Wu A, Vaynman S, Ying Z, Barnard RJ, Gomez-Pinilla F. 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* 2004;123(2):429-440.
- (106) Anderson BJ, Rapp DN, Baek DH, McCloskey DP, Coburn-Litvak PS, Robinson JK. Exercise influences spatial learning in the radial arm maze. *Physiol Behav* 2000 Sep 15;70(5):425-429.
- (107) Schweitzer NB, Alessio HM, Berry SD, Roeske K, Hagerman AE. Exercise-induced changes in cardiac gene expression and its relation to spatial maze performance. *Neurochem Int* 2006 Jan;48(1):9-16.
- (108) Khabour OF, Alzoubi KH, Alomari MA, Alzubi MA. Changes in spatial memory and BDNF expression to concurrent dietary restriction and voluntary exercise. *Hippocampus* 2009 Jun 15.
- (109) Liu YF, Chen HI, Wu CL, Kuo YM, Yu L, Huang AM, et al. Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I. *J Physiol* 2009 Jul 1;587(Pt 13):3221-3231.
- (110) Alaei H, Borjeian L, Azizi M, Orian S, Pourshanazari A, Hanninen O. Treadmill running reverses retention deficit induced by morphine. *Eur J Pharmacol* 2006 Apr 24;536(1-2):138-141.
- (111) Chen HI, Lin LC, Yu L, Liu YF, Kuo YM, Huang AM, et al. Treadmill exercise enhances passive avoidance learning in rats: the role of down-regulated serotonin system in the limbic system. *Neurobiol Learn Mem* 2008 May;89(4):489-496.
- (112) Huff NC, Rudy JW. The amygdala modulates hippocampus-dependent context memory formation and stores cue-shock associations. *Behav Neurosci* 2004 Feb;118(1):53-62.
- (113) Burghardt PR, Pasumarthi RK, Wilson MA, Fadel J. Alterations in fear conditioning and amygdalar activation following chronic wheel running in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2006 Jun;84(2):306-312.
- (114) Greenwood BN, Foley TE, Burhans D, Maier SF, Fleshner M. The consequences of uncontrollable stress are sensitive to duration of prior wheel running. *Brain Res* 2005 Feb 8;1033(2):164-178.
- (115) Greenwood BN, Foley TE, Day HE, Campisi J, Hammack SH, Campeau S, et al. Freewheel running prevents learned helplessness/behavioral depression: role of dorsal raphe serotonergic neurons. *J Neurosci* 2003 Apr 1;23(7):2889-2898.
- (116) Greenwood BN, Strong PV, Foley TE, Fleshner M. A behavioral analysis of the impact of voluntary physical activity on hippocampus-dependent contextual conditioning. *Hippocampus* 2009 Oct;19(10):988-1001.

- (117) Broadbent NJ, Squire LR, Clark RE. Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Oct 5;101(40):14515-14520.
- (118) Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(5):673-704.
- (119) Winters BD, Saksida LM, Bussey TJ. Object recognition memory: neurobiological mechanisms of encoding, consolidation and retrieval. *Neurosci Biobehav Rev* 2008 Jul;32(5):1055-1070.
- (120) O'Callaghan RM, Ohle R, Kelly AM. The effects of forced exercise on hippocampal plasticity in the rat: A comparison of LTP, spatial- and non-spatial learning. *Behav Brain Res* 2007 Jan 25;176(2):362-366.
- (121) Hopkins ME, Nitecki R, Bucci DJ. Physical exercise during adolescence versus adulthood: differential effects on object recognition memory and brain-derived neurotrophic factor levels. *Neuroscience* 2011 Oct 27;194:84-94.
- (122) Adlard PA, Engesser-Cesar C, Cotman CW. Mild stress facilitates learning and exercise improves retention in aged mice. *Exp Gerontol* 2011 Jan;46(1):53-59.
- (123) Mello PB, Benetti F, Cammarota M, Izquierdo I. Effects of acute and chronic physical exercise and stress on different types of memory in rats. *An Acad Bras Cienc* 2008 Jun;80(2):301-309.
- (124) Mello PB, Benetti F, Cammarota M, Izquierdo I. Physical exercise can reverse the deficit in fear memory induced by maternal deprivation. *Neurobiol Learn Mem* 2009 Oct;92(3):364-369.
- (125) Braszko JJ, Kaminski KA, Hryszko T, Jedynak W, Brzosko S. Diverse effects of prolonged physical training on learning of the delayed non-matching to sample by rats. *Neurosci Res* 2001 Jan;39(1):79-84.
- (126) Cassilhas RC, Lee KS, Fernandes J, Oliveira MG, Tufik S, Meeusen R, et al. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. *Neuroscience* 2012 Jan 27;202:309-317.
- (127) Brian R. Christie, Sarah E. Swann, Christopher J. Fox, David Froc, Stephanie E. Lieblich, Van Redila, et al. Voluntary exercise rescues deficits in spatial memory and long-term potentiation in prenatal ethanol-exposed male in rats. *European Journal of neuroscience* 2005;21:1719-1726.
- (128) Greenwood BN, Strong PV, Dorey AA, Fleshner M. Therapeutic effects of exercise: wheel running reverses stress-induced interference with shuttle box escape. *Behav Neurosci* 2007 Oct;121(5):992-1000.
- (129) Hansalik M, Skalicky M, Viidik A. Impairment of water maze behaviour with ageing is counteracted by maze learning earlier in life but not by physical exercise, food restriction or housing conditions. *Exp Gerontol* 2006 Feb;41(2):169-174.
- (130) Hopkins ME, Bucci DJ. BDNF expression in perirhinal cortex is associated with exercise-induced improvement in object recognition memory. *Neurobiol Learn Mem* 2010 Jun 30.

- (131) Langdon KD, Corbett D. Improved working memory following novel combinations of physical and cognitive activity. *Neurorehabil Neural Repair* 2012 Jun;26(5):523-532.
- (132) Radak Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Pucsok J, Sasvari M, et al. Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. *Neurochem Int* 2001 Jan;38(1):17-23.
- (133) Radak Z, Toldy A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochem Int* 2006 Sep;49(4):387-392.
- (134) Van der Borght K, Havekes R, Bos T, Eggen BJ, Van der Zee EA. Exercise improves memory acquisition and retrieval in the Y-maze task: relationship with hippocampal neurogenesis. *Behav Neurosci* 2007 Apr;121(2):324-334.
- (135) Kramer AF, Erickson KI, Colcombe SJ. Exercise, cognition, and the aging brain. *J Appl Physiol* 2006 Oct;101(4):1237-1242.
- (136) Kramer AF, Erickson KI. Effects of physical activity on cognition, well-being, and brain: human interventions. *Alzheimers Dement* 2007 Apr;3(2 Suppl):S45-51.
- (137) Sturman MT, Morris MC, Mendes de Leon CF, Bienias JL, Wilson RS, Evans DA. Physical activity, cognitive activity, and cognitive decline in a biracial community population. *Arch Neurol* 2005 Nov;62(11):1750-1754.
- (138) Abbott RD, White LR, Ross GW, Masaki KH, Curb JD, Petrovitch H. Walking and dementia in physically capable elderly men. *JAMA* 2004 Sep 22;292(12):1447-1453.
- (139) Laurin D, Verreault R, Lindsay J, MacPherson K, Rockwood K. Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Arch Neurol* 2001 Mar;58(3):498-504.
- (140) Sumic A, Michael YL, Carlson NE, Howieson DB, Kaye JA. Physical activity and the risk of dementia in oldest old. *J Aging Health* 2007 Apr;19(2):242-259.
- (141) Dik M, Deeg DJ, Visser M, Jonker C. Early life physical activity and cognition at old age. *J Clin Exp Neuropsychol* 2003 Aug;25(5):643-653.
- (142) Larson EB, Wang L, Bowen JD, McCormick WC, Teri L, Crane P, et al. Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older. *Ann Intern Med* 2006 Jan 17;144(2):73-81.
- (143) Rovio S, Kareholt I, Helkala EL, Viitanen M, Winblad B, Tuomilehto J, et al. Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2005 Nov;4(11):705-711.
- (144) Podewils LJ, Guallar E, Kuller LH, Fried LP, Lopez OL, Carlson M, et al. Physical activity, APOE genotype, and dementia risk: findings from the Cardiovascular Health Cognition Study. *Am J Epidemiol* 2005 Apr 1;161(7):639-651.
- (145) Barnes DE, Yaffe K., Satariano WA, Tager IB. A longitudinal study of cardiorespiratory fitness and cognitive function in healthy older adults. *J Am Geriatr Soc* 2003 2003;51:459-465.

- (146) Anderson-Hanley C, Nimon JP, Westen SC. Cognitive health benefits of strengthening exercise for community-dwelling older adults. *J Clin Exp Neuropsychol* 2010 Nov;32(9):996-1001.
- (147) Liu-Ambrose T, Nagamatsu LS, Graf P, Beattie BL, Ashe MC, Handy TC. Resistance training and executive functions: a 12-month randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2010 Jan 25;170(2):170-178.
- (148) Perrig-Chiello P, Perrig WJ, Ehram R, Staehelin HB, Krings F. The effects of resistance training on well-being and memory in elderly volunteers. *Age Ageing* 1998 Jul;27(4):469-475.
- (149) Kimura K, Obuchi S, Arai T, Nagasawa H, Shiba Y, Watanabe S, et al. The influence of short-term strength training on health-related quality of life and executive cognitive function. *J Physiol Anthropol* 2010;29(3):95-101.
- (150) Lachman ME, Neupert SD, Bertrand R, Jette AM. The effects of strength training on memory in older adults. *J Aging Phys Act* 2006 Jan;14(1):59-73.
- (151) Miller DI, Taler V, Davidson PS, Messier C. Measuring the impact of exercise on cognitive aging: methodological issues. *Neurobiol Aging* 2012 Mar;33(3):622.e29-622.e43.
- (152) Ruscheweyh R, Willemer C, Kruger K, Duning T, Warnecke T, Sommer J, et al. Physical activity and memory functions: an interventional study. *Neurobiol Aging* 2011 Jul;32(7):1304-1319.
- (153) Smiley-Oyen AL, Lowry KA, Francois SJ, Kohut ML, Ekkekakis P. Exercise, fitness, and neurocognitive function in older adults: the "selective improvement" and "cardiovascular fitness" hypotheses. *Ann Behav Med* 2008 Dec;36(3):280-291.
- (154) Kramer AF, Hahn S, Cohen NJ, Banich MT, McAuley E, Harrison CR, et al. Ageing, fitness and neurocognitive function. *Nature* 1999 Jul 29;400(6743):418-419.
- (155) Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L, et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011 Feb 15;108(7):3017-3022.
- (156) Evers A, Klusmann V, Schwarzer R, Heuser I. Improving cognition by adherence to physical or mental exercise: A moderate mediation analysis. *Aging and Mental Health* 2011 2011;15:4:446-455.
- (157) Baker LD, Frank LL, Foster-Schubert K, Green PS, Wilkinson CW, McTiernan A, et al. Effects of aerobic exercise on mild cognitive impairment: a controlled trial. *Arch Neurol* 2010 Jan;67(1):71-79.
- (158) Voss MW, Prakash RS, Erickson KI, Basak C, Chaddock L, Kim JS, et al. Plasticity of brain networks in a randomized intervention trial of exercise training in older adults. *Front Aging Neurosci* 2010 Aug 26;2:32.
- (159) Colcombe SJ, Kramer AF, Erickson KI, Scalf P, McAuley E, Cohen NJ, et al. Cardiovascular fitness, cortical plasticity, and aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Mar 2;101(9):3316-3321.
- (160) Blumenthal JA, Emery CF, Madden DJ, Schniebolk S, Walsh-Riddle M, George LK, et al. Long-term effects of exercise on psychological functioning in older men and women. *J Gerontol* 1991 Nov;46(6):P352-61.

- (161) Madden DJ, Blumenthal JA, Allen PA, Emery CF. Improving aerobic capacity in healthy older adults does not necessarily lead to improved cognitive performance. *Psychol Aging* 1989 Sep;4(3):307-320.
- (162) Colcombe S, Kramer AF. Fitness effects on the cognitive function of older adults: a meta-analytic study. *Psychol Sci* 2003 Mar;14(2):125-130.
- (163) Cassilhas RC, Viana VA, Grassmann V, Santos RT, Santos RF, Tufik S, et al. The impact of resistance exercise on the cognitive function of the elderly. *Med Sci Sports Exerc* 2007 Aug;39(8):1401-1407.
- (164) Muscari A, Giannoni C, Pierpaoli L, Berzigotti A, Maietta P, Foschi E, et al. Chronic endurance exercise training prevents aging-related cognitive decline in healthy older adults: a randomized controlled trial. *Int J Geriatr Psychiatry* 2010 Oct;25(10):1055-1064.
- (165) Albinet CT, Boucard G, Bouquet CA, Audiffren M. Increased heart rate variability and executive performance after aerobic training in the elderly. *Eur J Appl Physiol* 2010 Jul;109(4):617-624.
- (166) Barroso JM, León-Carrión J. Funciones ejecutivas: control planificación y organización del conocimiento. *Revista de Psicología General y Aplicada* 2002 2002;55:1:27-44.
- (167) Soprano AM. Evaluación de las funciones ejecutivas en el niño. *Revista de neurología* 2003 2003;37: 1:44-50.
- (168) Jernigan TL, Archibald SL, Fennema-Notestine C, Gamst AC, Stout JC, Bonner J, et al. Effects of age on tissues and regions of the cerebrum and cerebellum. *Neurobiol Aging* 2001 Jul-Aug;22(4):581-594.
- (169) Davis JC, Marra CA, Beattie BL, Robertson MC, Najafzadeh M, Graf P, et al. Sustained cognitive and economic benefits of resistance training among community-dwelling senior women: a 1-year follow-up study of the Brain Power study. *Arch Intern Med* 2010 Dec 13;170(22):2036-2038.
- (170) Voelcker-Rehage C, Godde B, Staudinger UM. Physical and motor fitness are both related to cognition in old age. *Eur J Neurosci* 2010 Jan;31(1):167-176.
- (171) Themanson JR, Hillman CH, Curtin JJ. Age and physical activity influences on action monitoring during task switching. *Neurobiol Aging* 2006 Sep;27(9):1335-1345.
- (172) Winker R, Lukas I, Perkmann T, Haslacher H, Ponocny E, Lehrner J, et al. Cognitive function in elderly marathon runners: cross-sectional data from the marathon trial (APSOEM). *Wien Klin Wochenschr* 2010 Dec;122(23-24):704-716.
- (173) Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, Chaddock L, Hu L, Morris KS, et al. Aerobic fitness is associated with hippocampal volume in elderly humans. *Hippocampus* 2009 Oct;19(10):1030-1039.
- (174) Chan AS, Ho YC, Cheung MC, Albert MS, Chiu HF, Lam LC. Association between mind-body and cardiovascular exercises and memory in older adults. *J Am Geriatr Soc* 2005 Oct;53(10):1754-1760.
- (175) Roth DL, Goode KT, Clay OJ, Ball KK. Association of physical activity and visual attention in older adults. *J Aging Health* 2003 Aug;15(3):534-547.

- (176) Lytle ME, Vander Bilt J, Pandav RS, Dodge HH, Ganguli M. Exercise level and cognitive decline: the MoVIES project. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2004 Apr-Jun;18(2):57-64.
- (177) Pignatti F, Rozzini R, Trabucchi M. Physical activity and cognitive decline in elderly persons. *Arch Intern Med* 2002 Feb 11;162(3):361-362.
- (178) Singh-Manoux A, Hillsdon M, Brunner E, Marmot M. Effects of physical activity on cognitive functioning in middle age: evidence from the Whitehall II prospective cohort study. *Am J Public Health* 2005 Dec;95(12):2252-2258.
- (179) van Gelder BM, Tijhuis MA, Kalmijn S, Giampaoli S, Nissinen A, Kromhout D. Physical activity in relation to cognitive decline in elderly men: the FINE Study. *Neurology* 2004 Dec 28;63(12):2316-2321.
- (180) Yaffe K, Barnes D, Nevitt M, Lui LY, Covinsky K. A prospective study of physical activity and cognitive decline in elderly women: women who walk. *Arch Intern Med* 2001 Jul 23;161(14):1703-1708.
- (181) Liu-Ambrose T, Davis JC, Nagamatsu LS, Hsu CL, Katarynych LA, Khan KM. Changes in executive functions and self-efficacy are independently associated with improved usual gait speed in older women. *BMC Geriatr* 2010 May 19;10:25.
- (182) Raz N, Lindenberger U, Rodrigue KM, Kennedy KM, Head D, Williamson A, et al. Regional brain changes in aging healthy adults: general trends, individual differences and modifiers. *Cereb Cortex* 2005 Nov;15(11):1676-1689.
- (183) Raz N, Rodrigue KM. Differential aging of the brain: patterns, cognitive correlates and modifiers. *Neurosci Biobehav Rev* 2006;30(6):730-748.
- (184) Park DC, Polk TA, Mikels JA, Taylor SF, Marshuetz C. Cerebral aging: integration of brain and behavioral models of cognitive function. *Dialogues Clin Neurosci* 2001 Sep;3(3):151-165.
- (185) Erickson KI, Raji CA, Lopez OL, Becker JT, Rosano C, Newman AB, et al. Physical activity predicts gray matter volume in late adulthood: the Cardiovascular Health Study. *Neurology* 2010 Oct 19;75(16):1415-1422.
- (186) Colcombe SJ, Erickson KI, Raz N, Webb AG, Cohen NJ, McAuley E, et al. Aerobic fitness reduces brain tissue loss in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2003 Feb;58(2):176-180.
- (187) Johnson NF, Kim C, Clasey JL, Bailey A, Gold BT. Cardiorespiratory fitness is positively correlated with cerebral white matter integrity in healthy seniors. *Neuroimage* 2012 Jan 16;59(2):1514-1523.
- (188) Colcombe SJ, Erickson KI, Scalf PE, Kim JS, Prakash R, McAuley E, et al. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006 Nov;61(11):1166-1170.
- (189) Raz N, Rodrigue KM, Head D, Kennedy KM, Acker JD. Differential aging of the medial temporal lobe: a study of a five-year change. *Neurology* 2004 Feb 10;62(3):433-438.
- (190) Mungas D, Harvey D, Reed BR, Jagust WJ, DeCarli C, Beckett L, et al. Longitudinal volumetric MRI change and rate of cognitive decline. *Neurology* 2005 Aug 23;65(4):565-571.

- (191) Jack CR, Jr, Petersen RC, Xu Y, O'Brien PC, Smith GE, Ivnik RJ, et al. Rate of medial temporal lobe atrophy in typical aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 1998 Oct;51(4):993-999.
- (192) Park HL, O'Connell JE, Thomson RG. A systematic review of cognitive decline in the general elderly population. *Int J Geriatr Psychiatry* 2003 Dec;18(12):1121-1134.
- (193) Rosano C, Venkatraman VK, Guralnik J, Newman AB, Glynn NW, Launer L, et al. Psychomotor speed and functional brain MRI 2 years after completing a physical activity treatment. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010 Jun;65(6):639-647.
- (194) Hillman CH, Belopolsky AV, Snook EM, Kramer AF, McAuley E. Physical activity and executive control: implications for increased cognitive health during older adulthood. *Res Q Exerc Sport* 2004 Jun;75(2):176-185.
- (195) Voss MW, Nagamatsu LS, Liu-Ambrose T, Kramer AF. Exercise, brain, and cognition across the life span. *J Appl Physiol* 2011 Nov;111(5):1505-1513.
- (196) Voss MW, Erickson KI, Prakash RS, Chaddock L, Malkowski E, Alves H, et al. Functional connectivity: a source of variance in the association between cardiorespiratory fitness and cognition? *Neuropsychologia* 2010 Apr;48(5):1394-1406.
- (197) Chaddock L, Voss WM, Kramer F. Physical activity and fitness effects on cognition and brain health in children and older adults. *Kinesiology Review* 2012 2012;1:37-45.
- (198) Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann N Y Acad Sci* 2008 Mar;1124:1-38.
- (199) Burdette JH, Laurienti PJ, Espeland MA, Morgan A, Telesford Q, Vechlekar CD, et al. Using network science to evaluate exercise-associated brain changes in older adults. *Front Aging Neurosci* 2010 Jun 7;2:23.
- (200) Gage FH, Chen KS, Buzsaki G, Armstrong D. Experimental approaches to age-related cognitive impairments. *Neurobiol Aging* 1988 Sep-Dec;9(5-6):645-655.
- (201) Barnes CA. Memory deficits associated with senescence: A neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 1979 1979;93(1):74-104.
- (202) Barnes CA, Nadel L, Honig WK. Spatial memory deficit in senescent rats. *Canadian Journal of Psychology* 1980 1980;34 (1):29-39.
- (203) Frick KM, Baxter MG, Markowska AL, Olton DS, Price DL. Age-related spatial reference and working memory deficits assessed in the water maze. *Neurobiology of Aging* 1995 1995;16(2):149-160.
- (204) Robitsek RJ, Fortin NJ, Koh MT, Gallagher M, Eichenbaum H. Cognitive aging: a common decline of episodic recollection and spatial memory in rats. *J Neurosci* 2008 Sep 3;28(36):8945-8954.
- (205) Barrientos RM, Frank MG, Crysdale NY, Chapman TR, Ahrendsen JT, Day HE, et al. Little exercise, big effects: reversing aging and infection-induced memory deficits, and underlying processes. *J Neurosci* 2011 Aug 10;31(32):11578-11586.

- (206) Kim SE, Ko IG, Kim BK, Shin MS, Cho S, Kim CJ, et al. Treadmill exercise prevents aging-induced failure of memory through an increase in neurogenesis and suppression of apoptosis in rat hippocampus. *Exp Gerontol* 2010 Feb 13.
- (207) Albeck DS, Sano K, Prewitt GE, Dalton L. Mild forced treadmill exercise enhances spatial learning in the aged rat. *Behav Brain Res* 2006 Apr 3;168(2):345-348.
- (208) Ogonovszky H, Berkes I, Kumagai S, Kaneko T, Tahara S, Goto S, et al. The effects of moderate-, strenuous- and over-training on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in rat brain. *Neurochem Int* 2005 Jun;46(8):635-640.
- (209) van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci* 2005 Sep 21;25(38):8680-8685.
- (210) Barnes CA, Forster MJ, Fleshner M, Ahanotu EN, Laudenslager ML, Mazzeo RS, et al. Exercise does not modify spatial memory, brain autoimmunity, or antibody response in aged F-344 rats. *Neurobiol Aging* 1991 Jan-Feb;12(1):47-53.
- (211) Pietrelli A, Lopez-Costa J, Goni R, Brusco A, Basso N. Aerobic exercise prevents age-dependent cognitive decline and reduces anxiety-related behaviors in middle-aged and old rats. *Neuroscience* 2012 Jan 27;202:252-266.
- (212) Samorajski T, Delaney C, Durham L, Ordy JM, Johnson JA, Dunlap WP. Effect of exercise on longevity, body weight, locomotor performance, and passive-avoidance memory of C57BL/6J mice. *Neurobiol Aging* 1985 Spring;6(1):17-24.
- (213) Petersen RC, Doody R, Kurz A, Mohs RC, Morris JC, Rabins PV, et al. Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2001 Dec;58(12):1985-1992.
- (214) Geda YE, Roberts RO, Knopman DS, Christianson TJ, Pankratz VS, Ivnik RJ, et al. Physical exercise, aging, and mild cognitive impairment: a population-based study. *Arch Neurol* 2010 Jan;67(1):80-86.
- (215) Leem YH, Lee YI, Son HJ, Lee SH. Chronic exercise ameliorates the neuroinflammation in mice carrying NSE/htau23. *Biochem Biophys Res Commun* 2011 Mar 18;406(3):359-365.
- (216) Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991;82(4):239-259.
- (217) Jack CR, Jr, Petersen RC, Xu Y, O'Brien PC, Smith GE, Ivnik RJ, et al. Rates of hippocampal atrophy correlate with change in clinical status in aging and AD. *Neurology* 2000 Aug 22;55(4):484-489.
- (218) Du AT, Schuff N, Kramer JH, Ganzer S, Zhu XP, Jagust WJ, et al. Higher atrophy rate of entorhinal cortex than hippocampus in AD. *Neurology* 2004 Feb 10;62(3):422-427.
- (219) Jack CR, Jr, Shiung MM, Gunter JL, O'Brien PC, Weigand SD, Knopman DS, et al. Comparison of different MRI brain atrophy rate measures with clinical disease progression in AD. *Neurology* 2004 Feb 24;62(4):591-600.

- (220) Jack CR, Jr, Shiung MM, Weigand SD, O'Brien PC, Gunter JL, Boeve BF, et al. Brain atrophy rates predict subsequent clinical conversion in normal elderly and amnesic MCI. *Neurology* 2005 Oct 25;65(8):1227-1231.
- (221) Bugg JM, Head D. Exercise moderates age-related atrophy of the medial temporal lobe. *Neurobiol Aging* 2011 Mar;32(3):506-514.
- (222) Honea RA, Thomas GP, Harsha A, Anderson HS, Donnelly JE, Brooks WM, et al. Cardiorespiratory fitness and preserved medial temporal lobe volume in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2009 Jul-Sep;23(3):188-197.
- (223) Burns JM, Cronk BB, Anderson HS, Donnelly JE, Thomas GP, Harsha A, et al. Cardiorespiratory fitness and brain atrophy in early Alzheimer disease. *Neurology* 2008 Jul 15;71(3):210-216.
- (224) Maesako M, Uemura K, Kubota M, Kuzuya A, Sasaki K, Hayashida N, et al. Exercise is more effective than diet control in preventing high fat diet-induced beta-amyloid deposition and memory deficit in amyloid precursor protein transgenic mice. *J Biol Chem* 2012 May 4.
- (225) Garcia-Mesa Y, Lopez-Ramos JC, Gimenez-Llort L, Revilla S, Guerra R, Gruart A, et al. Physical exercise protects against Alzheimer's disease in 3xTg-AD mice. *J Alzheimers Dis* 2011;24(3):421-454.
- (226) Adlard PA, Perreau VM, Pop V, Cotman CW. Voluntary exercise decreases amyloid load in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2005 Apr 27;25(17):4217-4221.
- (227) Um HS, Kang EB, Koo JH, Kim HT, Jin-Lee, Kim EJ, et al. Treadmill exercise represses neuronal cell death in an aged transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurosci Res* 2011 Feb;69(2):161-173.
- (228) Cho JY, Um HS, Kang EB, Cho IH, Kim CH, Cho JS, et al. The combination of exercise training and alpha-lipoic acid treatment has therapeutic effects on the pathogenic phenotypes of Alzheimer's disease in NSE/APPsw-transgenic mice. *Int J Mol Med* 2010 Mar;25(3):337-346.
- (229) Yuede CM, Zimmerman SD, Dong H, Kling MJ, Bero AW, Holtzman DM, et al. Effects of voluntary and forced exercise on plaque deposition, hippocampal volume, and behavior in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 2009 Sep;35(3):426-432.
- (230) Christen Y. Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr* 2000 2000;71 (suppl):621S-9S.
- (231) Gimenez-Llort L, Garcia Y, Buccieri K, Revilla S, Sunol C, Cristofol R, et al. Gender-Specific Neuroimmunoendocrine Response to Treadmill Exercise in 3xTg-AD Mice. *Int J Alzheimers Dis* 2010 Oct 12;2010:128354.
- (232) Zilka N, Ferencik M, Hulin I. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: protector or promoter? *Bratisl Lek Listy* 2006;107(9-10):374-383.
- (233) Leem YH, Lim HJ, Shim SB, Cho JY, Kim BS, Han PL. Repression of tau hyperphosphorylation by chronic endurance exercise in aged transgenic mouse model of tauopathies. *J Neurosci Res* 2009 Aug 15;87(11):2561-2570.

- (234) Ke HC, Huang HJ, Liang KC, Hsieh-Li HM. Selective improvement of cognitive function in adult and aged APP/PS1 transgenic mice by continuous non-shock treadmill exercise. *Brain Res* 2011 Jul 27;1403:1-11.
- (235) Nichol KE, Poon WW, Parachikova AI, Cribbs DH, Glabe CG, Cotman CW. Exercise alters the immune profile in Tg2576 Alzheimer mice toward a response coincident with improved cognitive performance and decreased amyloid. *J Neuroinflammation* 2008 Apr 9;5:13.
- (236) Archer T, Fredriksson A, Johansson B. Exercise alleviates Parkinsonism: clinical and laboratory evidence. *Acta Neurol Scand* 2011 Feb;123(2):73-84.
- (237) Sunvisson H, Lökk J, Ericson K, Winblad B, Ekman SL. Changes in motor performance in persons with Parkinson's disease after exercise in a mountain area. *J Neurosci Nurs* 1997 Aug;29(4):255-260.
- (238) Hurwitz A. The benefit of a home exercise regimen for ambulatory Parkinson's disease patients. *J Neurosci Nurs* 1989 Jun;21(3):180-184.
- (239) Kuroda K, Tatara K, Takatorige T, Shinsho F. Effect of physical exercise on mortality in patients with Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand* 1992 Jul;86(1):55-59.
- (240) Tillerson JL, Caudle WM, Reveron ME, Miller GW. Exercise induces behavioral recovery and attenuates neurochemical deficits in rodent models of Parkinson's disease. *Neuroscience* 2003;119(3):899-911.
- (241) Tajiri N, Yasuhara T, Shingo T, Kondo A, Yuan W, Kadota T, et al. Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's disease model of rats. *Brain Res* 2010 Jan 15;1310:200-207.
- (242) Yoon MC, Shin MS, Kim TS, Kim BK, Ko IG, Sung YH, et al. Treadmill exercise suppresses nigrostriatal dopaminergic neuronal loss in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's rats. *Neurosci Lett* 2007 Aug 9;423(1):12-17.
- (243) Poulton NP, Muir GD. Treadmill training ameliorates dopamine loss but not behavioral deficits in hemi-parkinsonian rats. *Exp Neurol* 2005 May;193(1):181-197.
- (244) O'Dell SJ, Gross NB, Fricks AN, Casiano BD, Nguyen TB, Marshall JF. Running wheel exercise enhances recovery from nigrostriatal dopamine injury without inducing neuroprotection. *Neuroscience* 2007 Feb 9;144(3):1141-1151.
- (245) Fox CM, Ramig LO, Ciucci MR, Sapir S, McFarland DH, Farley BG. The science and practice of LSVT/LOUD: neural plasticity-principled approach to treating individuals with Parkinson disease and other neurological disorders. *Semin Speech Lang* 2006 Nov;27(4):283-299.
- (246) Scherder EJ, Van Paasschen J, Deijen JB, Van Der Knokke S, Orlebeke JF, Burgers I, et al. Physical activity and executive functions in the elderly with mild cognitive impairment. *Aging Ment Health* 2005 May;9(3):272-280.
- (247) Vidoni ED, Honea RA, Billinger SA, Swerdlow RH, Burns JM. Cardiorespiratory fitness is associated with atrophy in Alzheimer's and aging over 2 years. *Neurobiol Aging* 2012 Aug;33(8):1624-1632.

- (248) Parachikova A, Nichol KE, Cotman CW. Short-term exercise in aged Tg2576 mice alters neuroinflammation and improves cognition. *Neurobiol Dis* 2008 Apr;30(1):121-129.
- (249) Richter H, Ambree O, Lewejohann L, Herring A, Keyvani K, Paulus W, et al. Wheel-running in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: protection or symptom? *Behav Brain Res* 2008 Jun 26;190(1):74-84.
- (250) Wolf SA, Kronenberg G, Lehmann K, Blankenship A, Overall R, Staufenbiel M, et al. Cognitive and physical activity differently modulate disease progression in the amyloid precursor protein (APP)-23 model of Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 2006 Dec 15;60(12):1314-1323.
- (251) Murphy TH, Corbett D. Plasticity during stroke recovery: from synapse to behaviour. *Nat Rev Neurosci* 2009 Dec;10(12):861-872.
- (252) Krakauer JW, Carmichael ST, Corbett D, Wittenberg GF. Getting Neurorehabilitation Right: What Can Be Learned From Animal Models? *Neurorehabil Neural Repair* 2012 Mar 30.
- (253) Gillum RF, Mussolino ME, Ingram DD. Physical activity and stroke incidence in women and men. The NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *Am J Epidemiol* 1996 May 1;143(9):860-869.
- (254) Evenson KR, Rosamond WD, Cai J, Toole JF, Hutchinson RG, Shahar E, et al. Physical activity and ischemic stroke risk. The atherosclerosis risk in communities study. *Stroke* 1999 Jul;30(7):1333-1339.
- (255) Ellekjaer H, Holmen J, Ellekjaer E, Vatten L. Physical activity and stroke mortality in women. Ten-year follow-up of the Nord-Trondelag health survey, 1984-1986. *Stroke* 2000 Jan;31(1):14-18.
- (256) Hu FB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, Rexrode KM, Willett WC, et al. Physical activity and risk of stroke in women. *JAMA* 2000 Jun 14;283(22):2961-2967.
- (257) Willey JZ, Moon YP, Paik MC, Yoshita M, Decarli C, Sacco RL, et al. Lower prevalence of silent brain infarcts in the physically active: the Northern Manhattan Study. *Neurology* 2011 Jun 14;76(24):2112-2118.
- (258) Lee CD, Folsom AR, Blair SN. Physical activity and stroke risk: a meta-analysis. *Stroke* 2003 Oct;34(10):2475-2481.
- (259) Wendel-Vos GC, Schuit AJ, Feskens EJ, Boshuizen HC, Verschuren WM, Saris WH, et al. Physical activity and stroke. A meta-analysis of observational data. *Int J Epidemiol* 2004 Aug;33(4):787-798.
- (260) Kluding PM, Tseng BY, Billinger SA. Exercise and executive function in individuals with chronic stroke: a pilot study. *J Neurol Phys Ther* 2011 Mar;35(1):11-17.
- (261) Rand D, Eng JJ, Liu-Ambrose T, Tawashy AE. Feasibility of a 6-month exercise and recreation program to improve executive functioning and memory in individuals with chronic stroke. *Neurorehabil Neural Repair* 2010 Oct;24(8):722-729.
- (262) Quaney BM, Boyd LA, McDowd JM, Zahner LH, He J, Mayo MS, et al. Aerobic exercise improves cognition and motor function poststroke. *Neurorehabil Neural Repair* 2009 Nov;23(9):879-885.

- (263) Ang ET, Wong PT, Moochhala S, Ng YK. Neuroprotection associated with running: is it a result of increased endogenous neurotrophic factors? *Neuroscience* 2003;118(2):335-345.
- (264) Ding YH, Young CN, Luan X, Li J, Rafols JA, Clark JC, et al. Exercise preconditioning ameliorates inflammatory injury in ischemic rats during reperfusion. *Acta Neuropathol* 2005 Mar;109(3):237-246.
- (265) Ding YH, Li J, Yao WX, Rafols JA, Clark JC, Ding Y. Exercise preconditioning upregulates cerebral integrins and enhances cerebrovascular integrity in ischemic rats. *Acta Neuropathol* 2006 Jul;112(1):74-84.
- (266) Yang YR, Wang RY, Wang PS, Yu SM. Treadmill training effects on neurological outcome after middle cerebral artery occlusion in rats. *Can J Neurol Sci* 2003 Aug;30(3):252-258.
- (267) Ding YH, Mrizek M, Lai Q, Wu Y, Reyes R, Jr, Li J, et al. Exercise preconditioning reduces brain damage and inhibits TNF-alpha receptor expression after hypoxia/reoxygenation: an in vivo and in vitro study. *Curr Neurovasc Res* 2006 Nov;3(4):263-271.
- (268) Ding YH, Ding Y, Li J, Bessert DA, Rafols JA. Exercise pre-conditioning strengthens brain microvascular integrity in a rat stroke model. *Neurol Res* 2006 Mar;28(2):184-189.
- (269) Ding Y, Li J, Luan X, Ding YH, Lai Q, Rafols JA, et al. Exercise pre-conditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin. *Neuroscience* 2004;124(3):583-591.
- (270) Cechetti F, Worm PV, Elsner VR, Bertoldi K, Sanches E, Ben J, et al. Forced treadmill exercise prevents oxidative stress and memory deficits following chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Neurobiol Learn Mem* 2012 Jan;97(1):90-96.
- (271) Hayes K, Sprague S, Guo M, Davis W, Friedman A, Kumar A, et al. Forced, not voluntary, exercise effectively induces neuroprotection in stroke. *Acta Neuropathol* 2008 Mar;115(3):289-296.
- (272) Endres M, Gertz K, Lindauer U, Katchanov J, Schultze J, Schrock H, et al. Mechanisms of stroke protection by physical activity. *Ann Neurol* 2003 Nov;54(5):582-590.
- (273) Luft AR, Macko RF, Forrester LW, Villagra F, Ivey F, Sorkin JD, et al. Treadmill exercise activates subcortical neural networks and improves walking after stroke: a randomized controlled trial. *Stroke* 2008 Dec;39(12):3341-3350.
- (274) Ding YH, Luan XD, Li J, Rafols JA, Guthinkonda M, Diaz FG, et al. Exercise-induced overexpression of angiogenic factors and reduction of ischemia/reperfusion injury in stroke. *Curr Neurovasc Res* 2004 Dec;1(5):411-420.
- (275) Archer T. Influence of Physical Exercise on Traumatic Brain Injury Deficits: Scaffolding Effect. *Neurotox Res* 2011 Dec 20.
- (276) Chauhan NB, Gatto R, Chauhan MB. Neuroanatomical correlation of behavioral deficits in the CCI model of TBI. *J Neurosci Methods* 2010 Jun 30;190(1):1-9.
- (277) Hicks RR, Boggs A, Leider D, Kraemer P, Brown R, Scheff SW, et al. Effects of Exercise Following Lateral Fluid Percussion Brain Injury in Rats. *Restor Neurol Neurosci* 1998;12(1):41-47.

- (278) Griesbach GS. Exercise after traumatic brain injury: is it a double-edged sword? *PM R* 2011 Jun;3(6 Suppl 1):S64-72.
- (279) Griesbach GS, Gomez-Pinilla F, Hovda DA. Time window for voluntary exercise-induced increases in hippocampal neuroplasticity molecules after traumatic brain injury is severity dependent. *J Neurotrauma* 2007 Jul;24(7):1161-1171.
- (280) Itoh T, Imano M, Nishida S, Tsubaki M, Hashimoto S, Ito A, et al. Exercise increases neural stem cell proliferation surrounding the area of damage following rat traumatic brain injury. *J Neural Transm* 2011 Feb;118(2):193-202.
- (281) Fehrenbach E, Schneider ME. Trauma-induced systemic inflammatory response versus exercise-induced immunomodulatory effects. *Sports Med* 2006;36(5):373-384.
- (282) Shlosberg D, Benifla M, Kaufer D, Friedman A. Blood-brain barrier breakdown as a therapeutic target in traumatic brain injury. *Nat Rev Neurol* 2010 Jul;6(7):393-403.
- (283) Mota BC, Pereira L, Souza MA, Silva LF, Magni DV, Ferreira AP, et al. Exercise pre-conditioning reduces brain inflammation and protects against toxicity induced by traumatic brain injury: behavioral and neurochemical approach. *Neurotox Res* 2012 Feb;21(2):175-184.
- (284) Griesbach GS, Tio DL, Vincelli J, McArthur DL, Taylor AN. Differential Effects of Voluntary and Forced Exercise after Traumatic Brain injury on Stress Responses. *J Neurotrauma* 2012 Jan 10.
- (285) Griesbach GS, Gomez-Pinilla F, Hovda DA. The upregulation of plasticity-related proteins following TBI is disrupted with acute voluntary exercise. *Brain Res* 2004 Aug 6;1016(2):154-162.
- (286) Arida RM, Scorza FA, Gomes da Silva S, Schachter SC, Cavalheiro EA. The potential role of physical exercise in the treatment of epilepsy. *Epilepsy Behav* 2010 Apr;17(4):432-435.
- (287) de Lima C, Vancini RL, Arida RM, Guilhoto LM, de Mello MT, Barreto AT, et al. Physiological and electroencephalographic responses to acute exhaustive physical exercise in people with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy Behav* 2011 Dec;22(4):718-722.
- (288) Camilo F, Scorza FA, de Albuquerque M, Vancini RL, Cavalheiro EA, Arida RM. Evaluation of intense physical effort in subjects with temporal lobe epilepsy. *Arq Neuropsiquiatr* 2009 Dec;67(4):1007-1012.
- (289) Nakken KO, Bjorholt PG, Johannessen SI, Loyning T, Lind E. Effect of physical training on aerobic capacity, seizure occurrence, and serum level of antiepileptic drugs in adults with epilepsy. *Epilepsia* 1990 Jan-Feb;31(1):88-94.
- (290) Arida RM, Scorza FA, Cavalheiro EA. Favorable effects of physical activity for recovery in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2010 Jul;51 Suppl 3:76-79.
- (291) Arida RM, Scorza FA, Scorza CA, Cavalheiro EA. Is physical activity beneficial for recovery in temporal lobe epilepsy? Evidences from animal studies. *Neurosci Biobehav Rev* 2009 Mar;33(3):422-431.

- (292) Gomes da Silva S, de Almeida AA, Silva Araujo BH, Scorza FA, Cavalheiro EA, Arida RM. Early physical exercise and seizure susceptibility later in life. *Int J Dev Neurosci* 2011 Dec;29(8):861-865.
- (293) Setkowicz Z, Mazur A. Physical training decreases susceptibility to subsequent pilocarpine-induced seizures in the rat. *Epilepsy Res* 2006 Oct;71(2-3):142-148.
- (294) Arida RM, de Jesus Vieira A, Cavalheiro EA. Effect of physical exercise on kindling development. *Epilepsy Res* 1998 Apr;30(2):127-132.
- (295) Reiss JI, Dishman RK, Boyd HE, Robinson JK, Holmes PV. Chronic activity wheel running reduces the severity of kainic acid-induced seizures in the rat: possible role of galanin. *Brain Res* 2009 Apr 17;1266:54-63.
- (296) Gobbo OL, O'Mara SM. Exercise, but not environmental enrichment, improves learning after kainic acid-induced hippocampal neurodegeneration in association with an increase in brain-derived neurotrophic factor. *Behav Brain Res* 2005 Apr 15;159(1):21-26.
- (297) Arida RM, Sanabria ER, da Silva AC, Faria LC, Scorza FA, Cavalheiro EA. Physical training reverts hippocampal electrophysiological changes in rats submitted to the pilocarpine model of epilepsy. *Physiol Behav* 2004 Oct 30;83(1):165-171.
- (298) Eriksen HR, Ellertsen B, Gronningsaeter H, Nakken KO, Loyning Y, Ursin H. Physical exercise in women with intractable epilepsy. *Epilepsia* 1994 Nov-Dec;35(6):1256-1264.
- (299) Arida RM, Scorza FA, de Lacerda AF, Gomes da Silva S, Cavalheiro EA. Physical training in developing rats does not influence the kindling development in the adult life. *Physiol Behav* 2007 Mar 16;90(4):629-633.
- (300) Arida RM, Scorza FA, dos Santos NF, Peres CA, Cavalheiro EA. Effect of physical exercise on seizure occurrence in a model of temporal lobe epilepsy in rats. *Epilepsy Res* 1999 Oct;37(1):45-52.
- (301) Lewin, G.R., Barde, Y.A.,. Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci* 1996.;19,:289-317.
- (302) Thoenen H,. Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science* 1995:593-598.
- (303) Arevalo JC, Wu SH. Neurotrophin signaling: many exciting surprises! *Cell Mol Life Sci* 2006 Jul;63(13):1523-1537.
- (304) Huang, E.J., Reichardt, L.F. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:677-736.
- (305) Tyler WJ, Alonso M, Bramham CR, Pozzo-Miller LD. From acquisition to consolidation: on the role of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampal-dependent learning. *Learn Mem* 2002 Sep-Oct;9(5):224-237.
- (306) Nakajo Y, Miyamoto S, Nakano Y, Xue JH, Hori T, Yanamoto H. Genetic increase in brain-derived neurotrophic factor levels enhances learning and memory. *Brain Res* 2008 Nov 19;1241:103-109.

- (307) Kesslak JP, So V, Choi J, Cotman CW, Gomez-Pinilla F. Learning upregulates brain-derived neurotrophic factor messenger ribonucleic acid: a mechanism to facilitate encoding and circuit maintenance? *Behav Neurosci* 1998 Aug;112(4):1012-1019.
- (308) Hall J, Thomas KL, Everitt BJ. Rapid and selective induction of BDNF expression in the hippocampus during contextual learning. *Nat Neurosci* 2000 Jun;3(6):533-535.
- (309) Rattiner LM, Davis M, French CT, Ressler KJ. Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor B involvement in amygdala-dependent fear conditioning. *J Neurosci* 2004 May 19;24(20):4796-4806.
- (310) Mizuno M, Yamada K, Olariu A, Nawa H, Nabeshima T. Involvement of brain-derived neurotrophic factor in spatial memory formation and maintenance in a radial arm maze test in rats. *J Neurosci* 2000 Sep 15;20(18):7116-7121.
- (311) Radak Z, Kumagai S, Taylor AW, Naito H, Goto S. Effects of exercise on brain function: role of free radicals. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007 Oct;32(5):942-946.
- (312) Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors* 2004 Sep;22(3):123-131.
- (313) Bekinschtein P, Cammarota M, Izquierdo I, Medina JH. BDNF and memory formation and storage. *Neuroscientist* 2008 Apr;14(2):147-156.
- (314) Lee JL, Everitt BJ, Thomas KL. Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science* 2004 May 7;304(5672):839-843.
- (315) Alonso M, Vianna MR, Depino AM, Mello e Souza T, Pereira P, Szapiro G, et al. BDNF-triggered events in the rat hippocampus are required for both short- and long-term memory formation. *Hippocampus* 2002;12(4):551-560.
- (316) Berchtold NC, Chinn G, Chou M, Kesslak JP, Cotman CW. Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. *Neuroscience* 2005;133(3):853-861.
- (317) Yarrow JF, White LJ, McCoy SC, Borst SE. Training augments resistance exercise induced elevation of circulating brain derived neurotrophic factor (BDNF). *Neurosci Lett* 2010 Jul 26;479(2):161-165.
- (318) Goekint M, De Pauw K, Roelands B, Njemini R, Bautmans I, Mets T, et al. Strength training does not influence serum brain-derived neurotrophic factor. *Eur J Appl Physiol* 2010 Sep;110(2):285-293.
- (319) Correia PR, Pansani A, Machado F, Andrade M, Silva AC, Scorza FA, et al. Acute strength exercise and the involvement of small or large muscle mass on plasma brain-derived neurotrophic factor levels. *Clinics (Sao Paulo)* 2010;65(11):1123-1126.
- (320) Marlatt MW, Potter MC, Lucassen PJ, van Praag H. Running throughout middle-age improves memory function, hippocampal neurogenesis, and BDNF levels in female C57BL/6J mice. *Dev Neurobiol* 2012 Jun;72(6):943-952.

- (321) Adlard PA, Perreau VM, Cotman CW. The exercise-induced expression of BDNF within the hippocampus varies across life-span. *Neurobiol Aging* 2005 Apr;26(4):511-520.
- (322) Soya H, Nakamura T, Deocaris CC, Kimpara A, Imura M, Fujikawa T, et al. BDNF induction with mild exercise in the rat hippocampus. *Biochem Biophys Res Commun* 2007 Jul 13;358(4):961-967.
- (323) Liu YF, Chen HI, Yu L, Kuo YM, Wu FS, Chuang JI, et al. Upregulation of hippocampal TrkB and synaptotagmin is involved in treadmill exercise-enhanced aversive memory in mice. *Neurobiol Learn Mem* 2008 Jul;90(1):81-89.
- (324) Fabel K, Fabel K, Tam B, Kaufer D, Baiker A, Simmons N, et al. VEGF is necessary for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci* 2003 Nov;18(10):2803-2812.
- (325) Trejo JL, Carro E, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci* 2001 Mar 1;21(5):1628-1634.
- (326) Lopez-Lopez C, LeRoith D, Torres-Aleman I. Insulin-like growth factor I is required for vessel remodeling in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Jun 29;101(26):9833-9838.
- (327) Ding Q, Vaynman S, Akhavan M, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Insulin-like growth factor I interfaces with brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity to modulate aspects of exercise-induced cognitive function. *Neuroscience* 2006 Jul 7;140(3):823-833.
- (328) Pandya NM, Dhalla NS, Santani DD. Angiogenesis--a new target for future therapy. *Vascul Pharmacol* 2006 May;44(5):265-274.
- (329) Conn G, Bayne ML, Soderman DD, Kwok PW, Sullivan KA, Palisi TM, et al. Amino acid and cDNA sequences of a vascular endothelial cell mitogen that is homologous to platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990 Apr;87(7):2628-2632.
- (330) Ming GL, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron* 2011 May 26;70(4):687-702.
- (331) Taupin P. Protocols for studying adult neurogenesis: insights and recent developments. *Regen Med* 2007 Jan;2(1):51-62.
- (332) Taupin P. BrdU immunohistochemistry for studying adult neurogenesis: paradigms, pitfalls, limitations, and validation. *Brain Res Rev* 2007 Jan;53(1):198-214.
- (333) Arias-Carrion O, Olivares-Bunuelos T, Drucker-Colin R. Neurogenesis in the adult brain. *Rev Neurol* 2007 May 1-15;44(9):541-550.
- (334) Zhao C, Deng W, Gage FH. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell* 2008 Feb 22;132(4):645-660.
- (335) Young SZ, Taylor MM, Bordey A. Neurotransmitters couple brain activity to subventricular zone neurogenesis. *Eur J Neurosci* 2011 Mar;33(6):1123-1132.

- (336) Abrous DN, Koehl M, Le Moal M. Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology. *Physiol Rev* 2005 Apr;85(2):523-569.
- (337) Gemma C, Bachstetter AD, Bickford PC. Neuron-Microglia Dialogue and Hippocampal Neurogenesis in the Aged Brain. *Aging Dis* 2010 Dec 1;1(3):232-244.
- (338) Gould E. How widespread is adult neurogenesis in mammals? *Nat Rev Neurosci* 2007 Jun;8(6):481-488.
- (339) Christie BR, Cameron HA. Neurogenesis in the adult hippocampus. *Hippocampus* 2006;16(3):199-207.
- (340) Mu Y, Lee SW, Gage FH. Signaling in adult neurogenesis. *Curr Opin Neurobiol* 2010 Aug;20(4):416-423.
- (341) Lledo PM, Gheusi G. Adult neurogenesis: from basic research to clinical applications. *Bull Acad Natl Med* 2006 Feb;190(2):385-400; discussion 400-2.
- (342) Kempermann G, Fabel K, Ehninger D, Babu H, Leal-Galicia P, Garthe A, et al. Why and how physical activity promotes experience-induced brain plasticity. *Front Neurosci* 2010 Dec 8;4:189.
- (343) Deng W, Aimone JB, Gage FH. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat Rev Neurosci* 2010 May;11(5):339-350.
- (344) Inokuchi K. Adult neurogenesis and modulation of neural circuit function. *Curr Opin Neurobiol* 2011 Apr;21(2):360-364.
- (345) Koehl M, Abrous DN. A new chapter in the field of memory: adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci* 2011 Mar;33(6):1101-1114.
- (346) Dobrossy MD, Drapeau E, Aurousseau C, Le Moal M, Piazza PV, Abrous DN. Differential effects of learning on neurogenesis: learning increases or decreases the number of newly born cells depending on their birth date. *Mol Psychiatry* 2003 Nov;8(12):974-982.
- (347) Drapeau E, Montaron MF, Aguerre S, Abrous DN. Learning-induced survival of new neurons depends on the cognitive status of aged rats. *J Neurosci* 2007 May 30;27(22):6037-6044.
- (348) Aimone JB, Deng W, Gage FH. Adult neurogenesis: integrating theories and separating functions. *Trends Cogn Sci* 2010 Jul;14(7):325-337.
- (349) van Praag H, Schinder AF, Christie BR, Toni N, Palmer TD, Gage FH. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 2002 Feb 28;415(6875):1030-1034.
- (350) Kraft E. Cognitive function, physical activity, and aging: Possible biological links and implications for multimodal interventions. *Neuropsychol Dev Cogn B Aging Neuropsychol Cogn* 2012 Jan;19(1-2):248-263.
- (351) van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999 Nov 9;96(23):13427-13431.

- (352) van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci* 1999 Mar;2(3):266-270.
- (353) Eadie BD, Redila VA, Christie BR. Voluntary exercise alters the cytoarchitecture of the adult dentate gyrus by increasing cellular proliferation, dendritic complexity, and spine density. *J Comp Neurol* 2005 May 23;486(1):39-47.
- (354) Bruel-Jungerman E, Laroche S, Rampon C. New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment. *Eur J Neurosci* 2005 Jan;21(2):513-521.
- (355) Shors TJ, Townsend DA, Zhao M, Kozorovitskiy Y, Gould E. Neurogenesis may relate to some but not all types of hippocampal-dependent learning. *Hippocampus* 2002;12(5):578-584.
- (356) Shors TJ, Miesegaes G, Beylin A, Zhao M, Rydel T, Gould E. Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature* 2001 Mar 15;410(6826):372-376.
- (357) Scharfman H, Goodman J, Macleod A, Phani S, Antonelli C, Croll S. Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. *Exp Neurol* 2005 Apr;192(2):348-356.
- (358) Linnarsson S, Willson CA, Ernfors P. Cell death in regenerating populations of neurons in BDNF mutant mice. *Brain Res Mol Brain Res* 2000 Jan 10;75(1):61-69.
- (359) Drapeau E, Mayo W, Aurousseau C, Le Moal M, Piazza PV, Abrous DN. Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003 Nov 25;100(24):14385-14390.
- (360) Arvidsson A, Collin T, Kirik D, Kokaia Z, Lindvall O. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nat Med* 2002 Sep;8(9):963-970.
- (361) Haughey NJ, Nath A, Chan SL, Borchard AC, Rao MS, Mattson MP. Disruption of neurogenesis by amyloid beta-peptide, and perturbed neural progenitor cell homeostasis, in models of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2002 Dec;83(6):1509-1524.
- (362) Mirescu C, Gould E. Stress and adult neurogenesis. *Hippocampus* 2006;16(3):233-238.
- (363) Falconer EM, Galea LA. Sex differences in cell proliferation, cell death and defensive behavior following acute predator odor stress in adult rats. *Brain Res* 2003 Jun 13;975(1-2):22-36.
- (364) Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microsc Res Tech* 2003 Jan 1;60(1):107-114.
- (365) Risau W. Angiogenic growth factors. *Prog Growth Factor Res* 1990;2(1):71-9 1990 1990;2(1):71-9.
- (366) Liekens S, De Clercq E, Neyts J. Angiogenesis: regulators and clinical applications. *Biochem Pharmacol* 2001 Feb 1;61(3):253-270.

- (367) Contois LW, Nugent DP, Caron JM, Cretu A, Tweedie E, Akalu A, et al. Insulin-like growth factor binding protein-4 differentially inhibits growth factor-induced angiogenesis. *J Biol Chem* 2012 Jan 13;287(3):1779-1789.
- (368) Ding YH, Li J, Zhou Y, Rafols JA, Clark JC, Ding Y. Cerebral angiogenesis and expression of angiogenic factors in aging rats after exercise. *Curr Neurovasc Res* 2006 Feb;3(1):15-23.
- (369) Swain RA, Harris AB, Wiener EC, Dutka MV, Morris HD, Theien BE, et al. Prolonged exercise induces angiogenesis and increases cerebral blood volume in primary motor cortex of the rat. *Neuroscience* 2003;117(4):1037-1046.
- (370) Van der Borght K, Kobor-Nyakas DE, Klauke K, Eggen BJ, Nyakas C, Van der Zee EA, et al. Physical exercise leads to rapid adaptations in hippocampal vasculature: temporal dynamics and relationship to cell proliferation and neurogenesis. *Hippocampus* 2009 Oct;19(10):928-936.
- (371) Blomstrand E, Perrett D, Parry-Billings M, Newsholme EA. Effect of sustained exercise on plasma amino acid concentrations and on 5-hydroxytryptamine metabolism in six different brain regions in the rat. *Acta Physiol Scand* 1989 Jul;136(3):473-481.
- (372) Fordyce DE, Farrar RP. Enhancement of spatial learning in F344 rats by physical activity and related learning-associated alterations in hippocampal and cortical cholinergic functioning. *Behav Brain Res* 1991 Dec 20;46(2):123-133.
- (373) Chaouloff F. Physical exercise and brain monoamines: a review. *Acta Physiol Scand* 1989 Sep;137(1):1-13.
- (374) Soares J, Holmes PV, Renner KJ, Edwards GL, Bunnell BN, Dishman RK. Brain noradrenergic responses to footshock after chronic activity-wheel running. *Behav Neurosci* 1999 Jun;113(3):558-566.
- (375) Molteni R, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Differential effects of acute and chronic exercise on plasticity-related genes in the rat hippocampus revealed by microarray. *Eur J Neurosci* 2002 Sep;16(6):1107-1116.
- (376) Cameron HA, McEwen BS, Gould E. Regulation of adult neurogenesis by excitatory input and NMDA receptor activation in the dentate gyrus. *J Neurosci* 1995 Jun;15(6):4687-4692.
- (377) Cameron HA, Tanapat P, Gould E. Adrenal steroids and N-methyl-D-aspartate receptor activation regulate neurogenesis in the dentate gyrus of adult rats through a common pathway. *Neuroscience* 1998 Jan;82(2):349-354.
- (378) Nacher J, Rosell DR, Alonso-Llosa G, McEwen BS. NMDA receptor antagonist treatment induces a long-lasting increase in the number of proliferating cells, PSA-NCAM-immunoreactive granule neurons and radial glia in the adult rat dentate gyrus. *Eur J Neurosci* 2001 Feb;13(3):512-520.
- (379) Brezun JM, Daszuta A. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience* 1999;89(4):999-1002.
- (380) Hoglinger GU, Rizk P, Muriel MP, Duyckaerts C, Oertel WH, Caille I, et al. Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. *Nat Neurosci* 2004 Jul;7(7):726-735.

- (381) Kulkarni VA, Jha S, Vaidya VA. Depletion of norepinephrine decreases the proliferation, but does not influence the survival and differentiation, of granule cell progenitors in the adult rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 2002 Nov;16(10):2008-2012.
- (382) Fisher M. New approaches to neuroprotective drug development. *Stroke* 2011 Jan;42(1 Suppl):S24-7.
- (383) Levin HS. Treatment of postconcussional symptoms with CDP-choline. *J Neurol Sci* 1991 Jul;103 Suppl:S39-42.
- (384) Leon-Carrion J, Dominguez-Roldan JM, Murillo-Cabezas F, del Rosario Dominguez-Morales M, Munoz-Sanchez MA. The role of citicholine in neuropsychological training after traumatic brain injury. *NeuroRehabilitation* 2000;14(1):33-40.
- (385) Spiers PA, Myers D, Hochanadel GS, Lieberman HR, Wurtman RJ. Citicoline improves verbal memory in aging. *Arch Neurol* 1996 May;53(5):441-448.
- (386) Piccoli F, Battistini N, Carbonin P, Curro Dossi B, Fiori L, La Bella V, et al. CDP-choline in the treatment of chronic cerebrovasculopathies. *Arch Gerontol Geriatr* 1994 May-Jun;18(3):161-168.
- (387) Caamano J, Gomez MJ, Franco A, Cacabelos R. Effects of CDP-choline on cognition and cerebral hemodynamics in patients with Alzheimer's disease. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1994 Apr;16(3):211-218.
- (388) Cacabelos R, Alvarez XA, Franco-Maside A, Fernandez-Novoa L, Caamano J. Effect of CDP-choline on cognition and immune function in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia. *Ann N Y Acad Sci* 1993 Sep 24;695:321-323.
- (389) Franco-Maside A, Caamano J, Gomez MJ, Cacabelos R. Brain mapping activity and mental performance after chronic treatment with CDP-choline in Alzheimer's disease. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1994 Oct;16(8):597-607.
- (390) Cacabelos R, Caamano J, Gomez MJ, Fernandez-Novoa L, Franco-Maside A, Alvarez XA. Therapeutic effects of CDP-choline in Alzheimer's disease. Cognition, brain mapping, cerebrovascular hemodynamics, and immune factors. *Ann N Y Acad Sci* 1996 Jan 17;777:399-403.
- (391) Drago F, Mauceri F, Nardo L, Valerio C, Genazzani AA, Grassi M. Effects of cytidine-diphosphocholine on acetylcholine-mediated behaviors in the rat. *Brain Res Bull* 1993;31(5):485-489.
- (392) Petkov VD, Kehayov RA, Mosharrof AH, Petkov VV, Getova D, Lazarova MB, et al. Effects of cytidine diphosphate choline on rats with memory deficits. *Arzneimittelforschung* 1993 Aug;43(8):822-828.
- (393) Teather LA, Wurtman RJ. Dietary CDP-choline supplementation prevents memory impairment caused by impoverished environmental conditions in rats. *Learn Mem* 2005 Jan-Feb;12(1):39-43.
- (394) Crespo D, Megias M, Fernandez-Viadero C, Verduga R. Chronic treatment with a precursor of cellular phosphatidylcholine ameliorates morphological and behavioral effects of aging in the mouse [correction of rat] hippocampus. *Ann N Y Acad Sci* 2004 Jun;1019:41-43.

- (395) Teather LA, Wurtman RJ. Dietary cytidine (5')-diphosphocholine supplementation protects against development of memory deficits in aging rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003 Jun;27(4):711-717.
- (396) Zhao JJ, Liu Y, Chen XL, Liu JX, Tian YF, Zhang PB, et al. Effect of citicoline on spatial learning and memory of rats after focal cerebral ischemia. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2006 Feb;26(2):174-176.
- (397) Lee HJ, Kang JS, Kim YI. Citicoline protects against cognitive impairment in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *J Clin Neurol* 2009 Mar;5(1):33-38.
- (398) Takasaki K, Uchida K, Fujikawa R, Nogami A, Nakamura K, Kawasaki C, et al. Neuroprotective effects of citidine-5-diphosphocholine on impaired spatial memory in a rat model of cerebrovascular dementia. *J Pharmacol Sci* 2011;116(2):232-237.
- (399) Dixon CE, Ma X, Marion DW. Effects of CDP-choline treatment on neurobehavioral deficits after TBI and on hippocampal and neocortical acetylcholine release. *J Neurotrauma* 1997 Mar;14(3):161-169.
- (400) Alvarez XA, Laredo M, Corzo D, Fernandez-Novoa L, Mouzo R, Perea JE, et al. Citicoline improves memory performance in elderly subjects. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1997 Apr;19(3):201-210.
- (401) Getova D, Petkov V. The effects on the learning process of 4 pyrrolidine derivatives and of cyticholine (experiments on rats in a water maze). *Eksp Med Morfol* 1990;29(1):39-44.
- (402) Mosharraf AH, Petkov VD, Petkov VV. Effects of meclofenoxate and citicholine on learning and memory in aged rats. *Acta Physiol Pharmacol Bulg* 1987;13(4):17-24.
- (403) Alkan T, Kahveci N, Goren B, Korfali E, Ozluk K. Ischemic brain injury caused by interrupted versus uninterrupted occlusion in hypotensive rats with subarachnoid hemorrhage: neuroprotective effects of citicoline. *Arch Physiol Biochem* 2001 Apr;109(2):161-167.
- (404) Hurtado O, Moro MA, Cardenas A, Sanchez V, Fernandez-Tome P, Leza JC, et al. Neuroprotection afforded by prior citicoline administration in experimental brain ischemia: effects on glutamate transport. *Neurobiol Dis* 2005 Mar;18(2):336-345.
- (405) Alonso de Lecinana M, Gutierrez M, Roda JM, Carceller F, Diez-Tejedor E. Effect of combined therapy with thrombolysis and citicoline in a rat model of embolic stroke. *J Neurol Sci* 2006 Sep 25;247(2):121-129.
- (406) Sahin S, Alkan T, Temel SG, Tureyen K, Tolunay S, Korfali E. Effects of citicoline used alone and in combination with mild hypothermia on apoptosis induced by focal cerebral ischemia in rats. *J Clin Neurosci* 2010 Feb;17(2):227-231.
- (407) Shuaib A, Yang Y, Li Q. Evaluating the efficacy of citicoline in embolic ischemic stroke in rats: neuroprotective effects when used alone or in combination with urokinase. *Exp Neurol* 2000 Feb;161(2):733-739.

- (408) Baskaya MK, Dogan A, Rao AM, Dempsey RJ. Neuroprotective effects of citicoline on brain edema and blood-brain barrier breakdown after traumatic brain injury. *J Neurosurg* 2000 Mar;92(3):448-452.
- (409) Dempsey RJ, Raghavendra Rao VL. Cytidinediphosphocholine treatment to decrease traumatic brain injury-induced hippocampal neuronal death, cortical contusion volume, and neurological dysfunction in rats. *J Neurosurg* 2003 Apr;98(4):867-873.
- (410) Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Citicoline: neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia. *J Neurochem* 2002 Jan;80(1):12-23.
- (411) Warburton EC, Brown MW. Findings from animals concerning when interactions between perirhinal cortex, hippocampus and medial prefrontal cortex are necessary for recognition memory. *Neuropsychologia* 2010 Jul;48(8):2262-2272.
- (412) Vann SD, Albasser MM. Hippocampus and neocortex: recognition and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol* 2011 Jun;21(3):440-445.
- (413) Davis S, Renaudineau S, Poirier R, Poucet B, Save E, Laroche S. The formation and stability of recognition memory: what happens upon recall? *Front Behav Neurosci* 2010 Nov 19;4:177.
- (414) Ennaceur A, Michalikova S, Bradford A, Ahmed S. Detailed analysis of the behavior of Lister and Wistar rats in anxiety, object recognition and object location tasks. *Behav Brain Res* 2005 Apr 30;159(2):247-266.
- (415) Clark RE, Martin SJ. Interrogating rodents regarding their object and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol* 2005 Oct;15(5):593-598.
- (416) Barker GR, Warburton EC. When is the hippocampus involved in recognition memory? *J Neurosci* 2011 Jul 20;31(29):10721-10731.
- (417) Kealy J, Commins S. The rat perirhinal cortex: A review of anatomy, physiology, plasticity, and function. *Prog Neurobiol* 2011 Apr;93(4):522-548.
- (418) Suzuki WA. The anatomy, physiology and functions of the perirhinal cortex. *Curr Opin Neurobiol* 1996 Apr;6(2):179-186.
- (419) Furtak SC, Wei SM, Agster KL, Burwell RD. Functional neuroanatomy of the parahippocampal region in the rat: the perirhinal and postrhinal cortices. *Hippocampus* 2007;17(9):709-722.
- (420) Clark RE, Squire LR. An animal model of recognition memory and medial temporal lobe amnesia: history and current issues. *Neuropsychologia* 2010 Jul;48(8):2234-2244.
- (421) Hannesson DK, Howland JG, Pollock M, Mohapel P, Wallace AE, Corcoran ME. Anterior perirhinal cortex kindling produces long-lasting effects on anxiety and object recognition memory. *Eur J Neurosci* 2005 Feb;21(4):1081-1090.
- (422) Norman G, Eacott MJ. Dissociable effects of lesions to the perirhinal cortex and the postrhinal cortex on memory for context and objects in rats. *Behav Neurosci* 2005 Apr;119(2):557-566.

- (423) Winters BD, Bussey TJ. Transient inactivation of perirhinal cortex disrupts encoding, retrieval, and consolidation of object recognition memory. *J Neurosci* 2005 Jan 5;25(1):52-61.
- (424) Warburton EC, Baird AL, Morgan A, Muir JL, Aggleton JP. Disconnecting hippocampal projections to the anterior thalamus produces deficits on tests of spatial memory in rats. *Eur J Neurosci* 2000 May;12(5):1714-1726.
- (425) Bussey TJ, Duck J, Muir JL, Aggleton JP. Distinct patterns of behavioural impairments resulting from fornix transection or neurotoxic lesions of the perirhinal and postrhinal cortices in the rat. *Behav Brain Res* 2000 Jun 15;111(1-2):187-202.
- (426) Barker GR, Bird F, Alexander V, Warburton EC. Recognition memory for objects, place, and temporal order: a disconnection analysis of the role of the medial prefrontal cortex and perirhinal cortex. *J Neurosci* 2007 Mar 14;27(11):2948-2957.
- (427) Brown MW, Warburton EC, Aggleton JP. Recognition memory: material, processes, and substrates. *Hippocampus* 2010 Nov;20(11):1228-1244.
- (428) McKenzie S, Eichenbaum H. New approach illuminates how memory systems switch. *Trends Cogn Sci* 2012 Feb;16(2):102-103.
- (429) Insausti R. Comparative anatomy of the entorhinal cortex and hippocampus in mammals. *Hippocampus* 1993 1993;3:19-26.
- (430) Langston RF, Stevenson CH, Wilson CL, Saunders I, Wood ER. The role of hippocampal subregions in memory for stimulus associations. *Behav Brain Res* 2010 Dec 31;215(2):275-291.
- (431) Ainge JA, Heron-Maxwell C, Theofilas P, Wright P, de Hoz L, Wood ER. The role of the hippocampus in object recognition in rats: examination of the influence of task parameters and lesion size. *Behav Brain Res* 2006 Feb 15;167(1):183-195.
- (432) Forwood SE, Winters BD, Bussey TJ. Hippocampal lesions that abolish spatial maze performance spare object recognition memory at delays of up to 48 hours. *Hippocampus* 2005;15(3):347-355.
- (433) Gaskin S, Tremblay A, Mumby DG. Retrograde and anterograde object recognition in rats with hippocampal lesions. *Hippocampus* 2003;13(8):962-969.
- (434) Mumby DG, Gaskin S, Glenn MJ, Schramek TE, Lehmann H. Hippocampal damage and exploratory preferences in rats: memory for objects, places, and contexts. *Learn Mem* 2002 Mar-Apr;9(2):49-57.
- (435) Winters BD, Forwood SE, Cowell RA, Saksida LM, Bussey TJ. Double dissociation between the effects of peri-postrhinal cortex and hippocampal lesions on tests of object recognition and spatial memory: heterogeneity of function within the temporal lobe. *J Neurosci* 2004 Jun 30;24(26):5901-5908.
- (436) Langston RF, Wood ER. Associative recognition and the hippocampus: differential effects of hippocampal lesions on object-place, object-context and object-place-context memory. *Hippocampus* 2010 Oct;20(10):1139-1153.

- (437) de Lima MN, Luft T, Roesler R, Schroder N. Temporary inactivation reveals an essential role of the dorsal hippocampus in consolidation of object recognition memory. *Neurosci Lett* 2006 Sep 11;405(1-2):142-146.
- (438) Gould TJ, Rowe WB, Heman KL, Mesches MH, Young DA, Rose GM, et al. Effects of hippocampal lesions on patterned motor learning in the rat. *Brain Res Bull* 2002 Sep 30;58(6):581-586.
- (439) Clark RE, Zola SM, Squire LR. Impaired recognition memory in rats after damage to the hippocampus. *J Neurosci* 2000 Dec 1;20(23):8853-8860.
- (440) Prusky GT, Douglas RM, Nelson L, Shabanpoor A, Sutherland RJ. Visual memory task for rats reveals an essential role for hippocampus and perirhinal cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Apr 6;101(14):5064-5068.
- (441) Moses SN, Sutherland RJ, McDonald RJ. Differential involvement of amygdala and hippocampus in responding to novel objects and contexts. *Brain Res Bull* 2002 Sep 15;58(5):517-527.
- (442) Wixted JT, Squire LR. The medial temporal lobe and the attributes of memory. *Trends Cogn Sci* 2011 May;15(5):210-217.
- (443) Heidbreder CA, Groenewegen HJ. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci Biobehav Rev* 2003 Oct;27(6):555-579.
- (444) Vertes RP. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse* 2004 Jan;51(1):32-58.
- (445) Ennaceur A, Neave N, Aggleton J. Espontaneous object recognition and object location memory in rats: the effect of lesions in the cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix. *Exp Brain Res* 1997;113:509-519.
- (446) Hannesson DK, Howland JG, Phillips AG. Interaction between perirhinal and medial prefrontal cortex is required for temporal order but not recognition memory for objects in rats. *J Neurosci* 2004 May 12;24(19):4596-4604.
- (447) Hannesson DK, Vacca G, Howland JG, Phillips AG. Medial prefrontal cortex is involved in spatial temporal order memory but not spatial recognition memory in tests relying on spontaneous exploration in rats. *Behav Brain Res* 2004 Aug 12;153(1):273-285.
- (448) Nelson AJ, Cooper MT, Thur KE, Marsden CA, Cassaday HJ. The effect of catecholaminergic depletion within the prelimbic and infralimbic medial prefrontal cortex on recognition memory for recency, location, and objects. *Behav Neurosci* 2011 Jun;125(3):396-403.
- (449) Squire LR, Wixted JT, Clark RE. Recognition memory and the medial temporal lobe: a new perspective. *Nat Rev Neurosci* 2007 Nov;8(11):872-883.
- (450) Brown MW, Aggleton JP. Recognition memory: what are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus? *Nat Rev Neurosci* 2001 Jan;2(1):51-61.

- (451) Farovik A, Place RJ, Miller DR, Eichenbaum H. Amygdala lesions selectively impair familiarity in recognition memory. *Nat Neurosci* 2011 Sep 25;14(11):1416-1417.
- (452) Sauvage MM, Fortin NJ, Owens CB, Yonelinas AP, Eichenbaum H. Recognition memory: opposite effects of hippocampal damage on recollection and familiarity. *Nat Neurosci* 2008 Jan;11(1):16-18.
- (453) Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. Integrated memory for objects, places, and temporal order: evidence for episodic-like memory in mice. *Neurobiol Learn Mem* 2005 Nov;84(3):214-221.
- (454) Eacott MJ, Easton A. On familiarity and recall of events by rats. *Hippocampus* 2007;17(9):890-897.
- (455) Clayton NS, Salwiczek LH, Dickinson A. Episodic memory. *Curr Biol* 2007 Mar 20;17(6):R189-91.
- (456) Eacott MJ, Easton A, Zinkivskay A. Recollection in an episodic-like memory task in the rat. *Learn Mem* 2005 May-Jun;12(3):221-223.
- (457) Clayton NS, Griffiths DP, Emery NJ, Dickinson A. Elements of episodic-like memory in animals. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001 Sep 29;356(1413):1483-1491.
- (458) Eacott MJ, Gaffan EA. The roles of perirhinal cortex, postrhinal cortex, and the fornix in memory for objects, contexts, and events in the rat. *Q J Exp Psychol B* 2005 Jul-Oct;58(3-4):202-217.
- (459) Aggleton JP, Brown MW. Interleaving brain systems for episodic and recognition memory. *Trends Cogn Sci* 2006 Oct;10(10):455-463.
- (460) Yakovlev AG, Knoblach SM, Fan L, Fox GB, Goodnight R, Faden AI. Activation of CPP32-like caspases contributes to neuronal apoptosis and neurological dysfunction after traumatic brain injury. *J Neurosci* 1997 Oct 1;17(19):7415-7424.
- (461) Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods* 2012 Jun 28;9(7):676-682.
- (462) Wojtowicz JM, Kee N. BrdU assay for neurogenesis in rodents. *Nat Protoc* 2006;1(3):1399-1405.
- (463) McDonald HY, Wojtowicz JM. Dynamics of neurogenesis in the dentate gyrus of adult rats. *Neurosci Lett* 2005;385:70-75.
- (464) Epp JR, Spritzer MD, Galea LA. Hippocampus-dependent learning promotes survival of new neurons in the dentate gyrus at a specific time during cell maturation. *Neuroscience* 2007 Oct 26;149(2):273-285.
- (465) Griesbach GS, Tio DL, Nair S, Hovda D. Temperature and Heart Rate Responses to Exercise following Mild Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma* 2012 Sep 25.
- (466) Griesbach GS, Hovda DA, Gomez-Pinilla F, Sutton RL. Voluntary exercise or amphetamine treatment, but not the combination, increases hippocampal brain-derived neurotrophic factor and synapsin I following cortical contusion injury in rats. *Neuroscience* 2008 Jun 23;154(2):530-540.

- (467) Grace Sophia Griesbach, Fernando Gomez-Pinilla, David Allen Hovda. The upregulation of plasticity proteins following TBI is disrupted with acute voluntary exercise. *Brain Research* 2004;1016:154-162.
- (468) Crane AT, Fink KD, Smith JS. The effects of acute voluntary wheel running on recovery of function following medial frontal cortical contusions in rats. *Restor Neurol Neurosci* 2012;30(4):325-333.
- (469) Frey LC, Hellier J, Unkart C, Lepkin A, Howard A, Hasebroock K, et al. A novel apparatus for lateral fluid percussion injury in the rat. *J Neurosci Methods* 2009 Mar 15;177(2):267-272.
- (470) Adelson PD, Fellows-Mayle W, Kochanek PM, Dixon CE. Morris water maze function and histologic characterization of two age-at-injury experimental models of controlled cortical impact in the immature rat. *Childs Nerv Syst* 2012 Oct 23.
- (471) Adelson PD, Dixon CE, Kochanek PM. Long-term dysfunction following diffuse traumatic brain injury in the immature rat. *J Neurotrauma* 2000 Apr;17(4):273-282.
- (472) Chirumamilla S, Sun D, Bullock MR, Colello RJ. Traumatic brain injury induced cell proliferation in the adult mammalian central nervous system. *J Neurotrauma* 2002 Jun;19(6):693-703.
- (473) Dash PK, Mach SA, Moore AN. Enhanced neurogenesis in the rodent hippocampus following traumatic brain injury. *J Neurosci Res* 2001 Feb 15;63(4):313-319.
- (474) Sun D, Colello RJ, Daugherty WP, Kwon TH, McGinn MJ, Harvey HB, et al. Cell proliferation and neuronal differentiation in the dentate gyrus in juvenile and adult rats following traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2005 Jan;22(1):95-105.
- (475) Rice AC, Khaldi A, Harvey HB, Salman NJ, White F, Fillmore H, et al. Proliferation and neuronal differentiation of mitotically active cells following traumatic brain injury. *Exp Neurol* 2003 Oct;183(2):406-417.
- (476) Gao X, Chen J. Moderate traumatic brain injury promotes neural precursor proliferation without increasing neurogenesis in the adult hippocampus. *Exp Neurol* 2012 Sep 26;239C:38-48.
- (477) Gutierrez-Fernandez M, Rodriguez-Frutos B, Fuentes B, Vallejo-Cremades MT, Alvarez-Grech J, Exposito-Alcaide M, et al. CDP-choline treatment induces brain plasticity markers expression in experimental animal stroke. *Neurochem Int* 2012 Feb;60(3):310-317.
- (478) Wu CW, Chang YT, Yu L, Chen HI, Jen CJ, Wu SY, et al. Exercise enhances the proliferation of neural stem cells and neurite growth and survival of neuronal progenitor cells in dentate gyrus of middle-aged mice. *J Appl Physiol* 2008 Nov;105(5):1585-1594.
- (479) Naylor AS, Bull C, Nilsson MK, Zhu C, Bjork-Eriksson T, Eriksson PS, et al. Voluntary running rescues adult hippocampal neurogenesis after irradiation of the young mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008 Sep 23;105(38):14632-14637.
- (480) Yau SY, Lau BW, Tong JB, Wong R, Ching YP, Qiu G, et al. Hippocampal neurogenesis and dendritic plasticity support running-improved spatial learning and depression-like behaviour in stressed rats. *PLoS One* 2011;6(9):e24263.

(481) Mizuno M, Yamada K, He J, Nakajima A, Nabeshima T. Involvement of BDNF receptor TrkB in spatial memory formation. *Learn Mem* 2003 Mar-Apr;10(2):108-115.

(482) Boehme F, Gil-Mohapel J, Cox A, Patten A, Giles E, Brocardo PS, et al. Voluntary exercise induces adult hippocampal neurogenesis and BDNF expression in a rodent model of fetal alcohol spectrum disorders. *Eur J Neurosci* 2011 May;33(10):1799-1811.