

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

Tesis Doctoral
Neurociencias

**Ejercicio físico y recuperación cognitiva tras un
daño cerebral traumático: Efectos de la intensidad
del ejercicio y del sexo.**

Ángel Gómez Porcuna

Codirigida por:

David Costa Miserachs

Meritxell Torras Garcia

Tutor académico:

David Costa Miserachs

Departament de Psicobiologia i de Metodologia de les Ciències de la Salut

Universitat Autònoma de Barcelona, 2024

Tesis Doctoral
Neurociències

**Ejercicio físico y recuperación cognitiva tras un
daño cerebral traumático: Efectos de la intensidad
del ejercicio y del sexo.**

Ángel Gómez Porcuna

Bellaterra, 2024

1. Planteamiento	7
2. Marco teórico	13
2.1. Daño cerebral traumático	15
2.1.1. Epidemiología	15
2.1.2. Clasificación del TBI	17
2.1.3. Consecuencias funcionales del TBI.....	19
2.1.4. Fisiopatología del daño cerebral traumático	21
2.1.4.1. Procesos excitotóxicos	21
2.1.4.2. Respuesta inmunitaria.....	23
2.1.5. Modelos animales de lesión cerebral traumática	28
2.2. Ejercicio físico	29
2.2.1. Modelos animales de ejercicio físico	31
2.2.2. Efectos del ejercicio físico tras un daño cerebral traumático.....	32
2.2.3. Parámetros relevantes del ejercicio físico como tratamiento tras un daño cerebral traumático.....	33
2.2.4. Mecanismos de acción	38
2.2.4.1. Mecanismos neuroprotectores	39
2.2.4.2. Mecanismos neuroreparadores	41
2.3. Memoria de reconocimiento de objetos	43
3. Hipótesis y objetivos.....	47
3.1. Hipótesis	49
3.2. Objetivos.....	49
4. Métodos.....	51
4.1. Ética y bienestar animal.....	53
4.2. Sujetos	53
4.3. Intervención quirúrgica	55
4.4. Ejercicio físico	58
4.4.1. Ruedas de actividad motorizadas	58

4.4.2. Programas de ejercicio físico forzado	59
4.5. Tarea de reconocimiento de objetos	61
4.6. Eutanasia y fijación del tejido	66
4.7. Obtención de muestras	67
4.8. Análisis del volumen hipocampal: Violeta de cresilo	67
4.9. Análisis de la densidad neuronal y de la neurogénesis	69
4.9.1. Inmunohistoquímica de NeuN y de DCX	70
4.9.2. Cuantificación de células NeuN+	71
4.9.3. Cuantificación de células DCX+	74
4.10. Análisis de los datos	75
5. Resultados	77
5.1. Sujetos	79
5.2. Evolución del peso	79
5.3. Tarea de reconocimiento de objetos	81
5.3.1. Habitación	81
5.3.2. Neofobia	82
5.3.3. Adquisición	84
5.3.4. Retención a las 3 h	84
5.3.5. Retención a las 24 h	86
5.4. Volumen del hipocampo	87
5.5. Densidad neuronal	89
5.5.1. Células NeuN+ en la corteza perirrinal	89
5.5.2. Células NeuN+ en el hilus del giro dentado del hipocampo	91
5.6. Células DCX+ en el giro dentado del hipocampo contralateral	93
6. Discusión	95
6.1. Efectos del impacto cortical controlado	97
6.2. Efectos del ejercicio físico tras un TBI: importancia de la intensidad del tratamiento	98

6.3. Mecanismos de acción del ejercicio físico tras un TBI	101
7. Conclusiones	105
8. Referencias	109

Abreviaturas:

ANOVA	Análisis de la varianza (<i>Analysis of variance</i>)
ATP	Adenosín trifosfato (<i>Adenosine triphosphate</i>)
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro (<i>Brain-derived neurotrophic factor</i>)
BHE	Barrera hematoencefálica
CCI	Impacto cortical controlado (<i>Controlled cortical impact</i>)
DAMP	Patrones moleculares asociados a daños (<i>Damage-associated molecular patterns</i>)
DAP	Diaminobencidina
DCX	Doblecortina
EF	Ejercicio forzado
EV	Ejercicio voluntario
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos (<i>Fibroblast growth factor</i>)
FPI	Lesión por percusión de fluidos (<i>Fluid percussion injury</i>)
GCS	Escala de Coma de Glasgow (<i>Glasgow Coma Scale</i>)
GD	Giro dentado
IFN tipo 1	Interferón humano tipo I
IFN-γ	Interferón gamma
IGF-1	Factor de crecimiento insulínico tipo 1 (<i>Insulin-like growth factor 1</i>)
IL-10	Interleucina-10
IL-12	Interleucina-12
IL-13	Interleucina-13
IL-1β	Interleucina-1 beta
IL-4	Interleucina-4
IL-6	Interleucina-6
LPS	Lipopolisacárido
MET	Equivalente metabólico de tarea (<i>Metabolic equivalent of task</i>)
NeuN	Proteína nuclear neuronal
NF-kB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (<i>Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>)
NSPC	Progenitor neuronal (<i>Neural precursor stem cells</i>)
OMS	Organización Mundial de la Salud
ORT	Tarea de reconocimiento de objetos (<i>Object recognition task</i>)
PFA	Paraformaldehído
PRR	Receptores de reconocimiento de patrones (<i>Pattern recognition receptor</i>)
PTA	Amnesia postraumática (<i>Post-traumatic amnesia</i>)
Ratas SD	Ratas Sprague-Dawley
Ratas W	Ratas Wistar
Ratones SW	Ratones Swiss-Webster

ROI	Región de interés (<i>Region of interest</i>)
ROS	Especies reactivas de oxígeno (<i>Reactive oxygen species</i>)
TBI	Daño cerebral traumático (<i>Traumatic brain injury</i>)
TGF-β	Factor de crecimiento transformante beta (<i>Transforming growth factor beta</i>)
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa (<i>Tumor necrosis factor alpha</i>)
TrkB	Receptor tirosina quinasa B
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular (<i>Vascular endothelial growth factor</i>)
VO₂	Consumo máximo de oxígeno
ZSV	Zona subventricular

1. Planteamiento

El daño cerebral traumático (TBI) se define como una alteración de la función cerebral causada por una fuerza mecánica externa (Menon et al., 2010), que conlleva la aparición de trastornos neuropsicológicos y psiquiátricos (Zaninotto et al., 2018). Es una de las principales causas de incapacidad severa y crónica en la población mundial y se estima que cada año se diagnostican entre 50 y 70 millones de nuevos casos a nivel mundial (Dewan et al., 2019; Mollayeva et al., 2018), siendo un 40% más común en hombres que en mujeres. Uno de los síntomas más referidos por los pacientes y sus familiares son los problemas de memoria, concretamente la incapacidad para crear nuevos recuerdos a largo plazo o amnesia anterógrada (Azouvi et al., 2017; Palacios et al., 2013).

La fisiopatología del TBI se puede diferenciar en dos fases: el daño primario y el daño secundario. El daño primario se produce inmediatamente en el momento del traumatismo y es causado por las fuerzas mecánicas del impacto sobre el tejido. Este daño puede caracterizarse por contusiones o laceraciones de la masa cerebral, desgarro de los axones, falta de riego sanguíneo o hemorragias intracraneales subdurales o subaracnoideas (Ortega-Pérez & Amaya-Rey, 2018). El daño primario activa una serie de procesos que dan lugar a un daño secundario. Por un lado, se producen procesos excitotóxicos causados por la desregulación del flujo de iones y la liberación masiva de glutamato que provocan muerte celular (Barkhoudarian et al., 2016; Reinert et al., 2000). Por otro lado, se activa una respuesta inmunitaria que tiene un componente proinflamatorio y antiinflamatorio. La microglía activada con actividad proinflamatoria se encarga de eliminar los restos ocasionados por el TBI (Yamasaki et al., 2014), mientras que la activada por señales antiinflamatorias se encarga de aumentar la neurogénesis y de la liberación de factores de crecimiento con efectos beneficiosos (Francos-Quijorna et al., 2016; Kolosowska et al., 2019). Un desequilibrio entre las señales pro y antiinflamatorias puede

producir un estado inflamatorio crónico llegando a causar un proceso neurodegenerativo (Witcher et al., 2018).

A pesar de los avances significativos en la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos del TBI, no existen protocolos terapéuticos eficaces para su tratamiento (Alves et al., 2019; Galgano et al., 2017). Uno de los factores que podría explicar esta falta de eficacia está relacionado con el sesgo de género en la investigación sobre TBI, tanto en los ensayos clínicos, donde se recluta a menos mujeres, como en los modelos animales, que predominantemente utilizan roedores macho (Gupte et al., 2019). Este sesgo no sólo dificulta la comprensión de la fisiopatología del TBI, sino que también obstaculiza el desarrollo de tratamientos efectivos.

Estudios con modelos animales indican que el ejercicio físico podría ser un buen candidato como tratamiento rehabilitador de los déficits cognitivos asociados al TBI. Investigaciones previas han mostrado que este tratamiento reduce los déficits de memoria de reconocimiento de objetos y que estos beneficios podrían estar relacionados con efectos tanto neuroprotectores como neuroreparadores (Jacotte-Simancas et al., 2015; Amorós-Aguilar et al., 2020; Martínez-Drudis et al., 2021; Sánchez-Martín et al., 2024).

A pesar de que el ejercicio físico puede parecer un tratamiento relativamente simple, existe una gran cantidad de parámetros que pueden influir en sus efectos. Por ejemplo, hay que tener en cuenta el tipo de ejercicio físico (voluntario/forzado, aeróbico/anaeróbico), el programa de entrenamiento (continuo/discontinuo), la duración, la intensidad y el volumen del ejercicio, etc. El estudio de estas variables podría ayudar a definir los protocolos óptimos para obtener un mayor beneficio. Cabe destacar que existen pocos estudios

diseñados específicamente para estudiar la importancia de la intensidad del ejercicio.

Teniendo en cuenta lo expuesto, el estudio de los parámetros óptimos del ejercicio específicos para cada sexo puede suponer una mejora en la eficacia del tratamiento y promover mejores resultados clínicos para todos los pacientes con TBI.

2. Marco teórico

2.1. Daño cerebral traumático

El TBI es una de las principales causas de incapacidad severa y crónica entre la población mundial. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el TBI es un daño cerebral agudo resultado de la aplicación de energía mecánica en la cabeza por parte de fuerzas físicas externas (Holm et al., 2005). El Centro de Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos lo define como una alteración del funcionamiento normal del cerebro causada por un golpe, sacudida o herida penetrante en la cabeza (Centers for Disease Control and Prevention, 2018). En general, las definiciones de TBI coinciden en describirlo como una alteración de la función cerebral causada por una fuerza externa (Menon et al., 2010) que se relaciona con la aparición de trastornos neuropsicológicos y psiquiátricos (Zaninotto et al., 2018).

2.1.1. Epidemiología

Por la heterogeneidad de causas y porque los pacientes con traumatismos leves no suelen buscar atención médica, es difícil estimar la incidencia del TBI. Sin embargo, se calcula que cada año se diagnostican entre 50 y 70 millones de casos nuevos a nivel mundial (Dewan et al., 2019; Mollayeva et al., 2018). La incidencia global anual en pacientes pediátricos con TBI (menores de 15 años) es de 110 de cada 100.000 personas, mientras que en mayores de 65 años es de 166 de cada 100.000 personas (Nguyen et al., 2016). Una variable para tener en cuenta son los factores geográficos, ya que las incidencias más altas se encuentran en Estados Unidos y Europa, con 1.299 y 1.012 casos por cada 100.000 personas, respectivamente, y las más bajas en África con 801 casos por cada 100.000 personas (Dewan et al., 2019). Estas diferencias podrían estar

relacionadas con el nivel de ingresos medio de cada país, ya que se ha observado que la incidencia en países con ingresos altos (según división realizada por el World Bank) es tres veces mayor que la de los países con ingresos medios o bajos. El 85% de la población mundial vive en países con ingresos medios o bajos donde, además, la calidad de los datos de los servicios de salud no es del todo fiable, por lo que la diferencia en la incidencia puede deberse a una subestimación (Dewan et al., 2019). En estos países con ingresos medios o bajos, la población más afectada por TBI se encuentra en la edad adulta y las causas mayoritarias de estos son accidentes de tráfico. En cambio, en los países con niveles altos de ingresos, la mayoría de los casos son debidos a caídas en edades avanzadas, aunque también destacan los accidentes de tráfico en la población adulta y las lesiones al realizar deportes y actividades de ocio (Iaccarino et al., 2018; Peeters et al., 2015). Esto apunta a la importancia de factores sociales para la prevención de este tipo de lesiones. En los países con niveles altos de ingresos se ha observado que la existencia de normas de tráfico más estrictas como medida preventiva hace descender la incidencia de TBIs causados por accidentes de tráfico, y que el aumento de la esperanza de vida en un país hace aumentar el número de casos causados por caídas en edades avanzadas (Maas et al., 2008). En niños, el TBI representa la mayor causa de muerte y discapacidad (Sahler & Greenwald, 2012). Las causas más comunes en niños menores de 4 años son caídas, abusos físicos y accidentes de tráfico, y entre los 4 y 8 años destacan las caídas y accidentes relacionados con otros medios de transporte como las bicicletas (Araki et al., 2017).

Existen diferencias significativas en la incidencia del TBI dependiendo del sexo. El TBI es un 40% más común en hombres (151 cada 100.000) que en mujeres (86 cada 100.000) (Nguyen et al., 2016), aunque esta diferencia acaba desapareciendo a partir de los 75 años (Gupte et al., 2019). También existen

diferencias en las consecuencias del TBI, pero no existe un consenso sobre en qué sentido. Por un lado, tenemos investigaciones que muestran que, en general, las mujeres presentan síntomas más intensos y tardan más en recuperarse tras el TBI, y esta diferencia no es explicable por las diferencias a la hora de realizar autorreportes entre los dos géneros (Bardel et al., 2019; Berz et al., 2013; Rubin & Lipton, 2019). En contraposición, encontramos investigaciones que muestran que las mujeres jóvenes presentan una menor cantidad y gravedad de síntomas y de mortalidad (Berry et al., 2009; Saban et al., 2011). Estas discrepancias en la severidad de los síntomas del TBI en mujeres, que podrían explicarse por el momento del ciclo menstrual en que ocurre la lesión, y las fluctuaciones en los niveles hormonales que han demostrado tener efectos neuroprotectores (Geddes et al., 2016; Guennoun, 2020; Sarkaki et al., 2013). Cuando el traumatismo ocurre durante la fase lútea, caracterizada por niveles elevados de progesterona, las pacientes suelen presentar síntomas menores relacionados con el TBI, niveles de estrés más bajos o normalizados y mayores niveles de flujo sanguíneo cerebral (Y. Chen et al., 2021; Wunderle et al., 2014).

2.1.2. Clasificación del TBI

En función de los criterios que tengamos en cuenta o que adoptemos, podemos hacer distintas clasificaciones del TBI. Según las características mecánicas de la lesión, podemos diferenciar entre lesiones abiertas y cerradas. Las lesiones abiertas se caracterizan por la exposición directa del cerebro al trauma debido a la rotura del cráneo. Normalmente, vienen causadas por proyectiles y se pueden subdividir según la velocidad con la que impactan estos proyectiles; por ejemplo, desde un golpe con un objeto a baja velocidad hasta un impacto de

bala (Young et al., 2015). En las lesiones cerradas, el daño se produce por la deformación del cerebro por movimientos bruscos dentro del cráneo. Este tipo de lesiones suele producirse por contusiones contra objetos o por los movimientos repentinos de aceleración y desaceleración (Post & Hoshizaki, 2012).

En función de la gravedad de la sintomatología, el TBI se puede clasificar en leve, moderado o severo. Globalmente, el TBI leve supone un 81% del total de casos, mientras que el moderado y el severo suponen un 11% y un 8%, respectivamente (Dewan et al., 2019; Iaccarino et al., 2018). Esta clasificación se basa en la Escala de Coma de Glasgow (GCS), con la cual se obtiene una puntuación basada en respuestas motoras, verbales y de apertura ocular (Teasdale & Jennett, 1974). En cada uno de estos ámbitos, el paciente puede obtener una serie de puntos: en apertura ocular, de 1 a 4 puntos; en respuestas verbales, de 1 a 5 puntos; y en respuestas motoras, de 1 a 6 puntos.

Dependiendo del rango en el que se encuentre la puntuación total, el TBI se clasifica como leve (puntuación entre 13 y 15), moderado (entre 9 y 12) o severo (menor o igual a 8) (Najem et al., 2018). Estas puntuaciones correlacionan de manera positiva con el índice de mortalidad, que aumenta desde un 1% en pacientes con una puntuación de 15, hasta un 27% en pacientes con una puntuación de 4 (Teasdale et al., 2014).

En función de la extensión del daño, el TBI se clasifica como focal o difuso. El daño focal se caracteriza por la compresión del tejido cerebral en una zona concreta, debido a una fuerza externa. La localización y severidad del impacto determinarán la patología y los déficits asociados al TBI. Entre las heridas causadas por el daño focal destacan las contusiones corticales o subcorticales y los sangrados intracraneales como hematomas subdurales o hemorragias subaracnoideas (Blennow et al., 2012). El daño difuso suele deberse a

aceleraciones y desaceleraciones rápidas que causan desgarros y compresiones en distintas áreas del cerebro, teniendo como consecuencia el daño axonal. La naturaleza elástica de los axones hace que durante los movimientos normales de la cabeza no sufran daños, pero tras un traumatismo, los axones se rompen incluso en áreas alejadas del impacto, causando el daño axonal difuso (Andriessen et al., 2010; Xiong et al., 2013). Si ambos tipos de daño, focal y difuso, afectan a las mismas áreas, pueden tener consecuencias clínicas similares, por ejemplo, pérdida de consciencia o coma, asociados al daño en el diencéfalo o en el tronco del encéfalo (Andriessen et al., 2010).

2.1.3. Consecuencias funcionales del TBI

Los pacientes con TBI pasan por tres fases: una primera, aunque no siempre presente, en la que el paciente se encuentra en coma; en la segunda, tras despertar del coma, existe un estado de conciencia alterada denominado amnesia postraumática (PTA); y una tercera fase en la que el paciente, con conciencia normal, puede comenzar la rehabilitación. No existe una definición concreta de PTA, pero suele caracterizarse por unas puntuaciones en la GCS de 14 o 15, unido a los síntomas cognitivos más comunes como amnesia anterógrada y retrógrada, confusión, agitación, así como problemas de atención y de la función ejecutiva (Friedland & Swash, 2016; Marshman et al., 2013). Este estado alterado de conciencia puede tener duraciones muy variadas, desde días hasta meses. El tiempo de duración puede usarse como indicador de la gravedad del TBI; cuanto más tiempo pase el paciente en PTA, mayor será la gravedad de los síntomas al salir de esta fase (Briggs et al., 2015; N. Chen & Batchelor, 2019).

Tras el período de PTA, uno de los síntomas más referido es la aparición de problemas de memoria, concretamente la incapacidad para crear nuevas memorias a largo plazo o amnesia anterógrada (Azouvi et al., 2017; Palacios et al., 2013). Los pacientes con TBI obtienen puntuaciones peores en todos los índices de la prueba Wechsler Memory Scale que los controles sin TBI (Fisher et al., 2000), y los pacientes con TBI severo obtienen puntuaciones peores que los pacientes con TBI leve o moderado (Carlozzi et al., 2013). Estos déficits pueden prolongarse durante años (Zec et al., 2001) y se deben principalmente a la afectación del hipocampo, una estructura especialmente vulnerable (Bartsch & Wulff, 2015; Williamson & Bilbo, 2013). También son habituales los déficits en la memoria de trabajo. Técnicas de neuroimagen funcional muestran que durante este tipo de tareas se activan las mismas regiones cerebrales que en los sujetos control, pero en mayor grado (McAllister et al., 1999; Plenger et al., 2016), de manera más lateralizada en el hemisferio contralateral a la lesión y también se produce la activación de áreas adyacentes (Christodoulou et al., 2001). Junto con estas secuelas, también se refieren con menor frecuencia, la irritabilidad, la lentitud de procesamiento de información y la dificultad de concentración (Jourdan et al., 2016). Además de las secuelas cognitivas propias del TBI, éste se asocia comúnmente con el trastorno de estrés postraumático, los trastornos del estado de ánimo y los trastornos del sueño. Dentro de los trastornos del estado de ánimo, el más común es la depresión mayor, aunque también son frecuentes la manía y la hipomanía, afectando en gran medida a la recuperación tras el TBI (Jorge & Arciniegas, 2014).

2.1.4. Fisiopatología del daño cerebral traumático

En el momento del traumatismo se produce un daño primario relacionado con las fuerzas mecánicas generadas por el impacto sobre el tejido y que se caracteriza por contusiones o laceraciones de la masa cerebral, desgarro de los axones, falta de riego sanguíneo o hemorragias intracraneales subdurales o subaracnoideas (Ortega-Pérez & Amaya-Rey, 2018). Este daño primario supone la muerte de un gran número de neuronas por necrosis (Raghupathi, 2004; Wallach & Kovalenko, 2014). En apenas unos minutos comienza un daño secundario más difuso que puede prolongarse durante meses e incluso años y afectar a regiones cerebrales alejadas de la zona impactada (Saatman et al., 2008; Xiong et al., 2013). El daño secundario se debe fundamentalmente a dos procesos iniciados por el daño primario. En primer lugar, la desregulación del flujo de iones y la liberación de glutamato suponen la activación de procesos excitotóxicos que conducen a la muerte neuronal. Por otra parte, se produce una activación de procesos inmunitarios que pueden dar lugar a una inflamación crónica.

2.1.4.1. Procesos excitotóxicos

La rotura de las membranas celulares produce, en primer lugar, la liberación masiva de K^+ al espacio extracelular (Reinert et al., 2000; Takahashi et al., 1981). Esto causa la apertura de los canales dependientes de voltaje con la consiguiente entrada de Ca^{++} y el aumento de su concentración intracelular (Barkhoudarian et al., 2011; Blennow et al., 2012). La alta concentración de Ca^{++} causará la liberación de glutamato, que, unido al glutamato ya liberado por la lesión primaria, aumentará la activación de sus receptores y la entrada de más

Ca⁺⁺ a nivel postsináptico (Belov Kirdajova et al., 2020; Gleichmann & Mattson, 2011). Este aumento de glutamato está fuertemente relacionado con la muerte neuronal que puede ocurrir horas o días después de la lesión (Gruenbaum et al., 2022). El exceso de Ca⁺⁺ intracelular puede producir muerte celular principalmente por dos vías. La primera se debe al aumento de diversas moléculas como calpaínas, caspasas, fosfolipasas y óxido nítrico (Ismail et al., 2020; Weber, 2012). La segunda vía tiene que ver con la entrada de Ca⁺⁺ en las mitocondrias, ya que para el funcionamiento normal de las mitocondrias es necesario mantener bajos niveles de Ca⁺⁺. Cuando estos niveles aumentan, las mitocondrias dejan de producir ATP e incluso pueden dañarse sus membranas causando una disfunción que conduce al consumo de ATP (Walkon et al., 2022; Weber, 2012) y al aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Feno et al., 2019). La disminución de la actividad metabólica de las mitocondrias se puede observar hasta 10 días después del daño (Cheng et al., 2012; Hiebert et al., 2015; Hovda et al., 1991). Este déficit energético es especialmente grave ya que, para compensar la desregulación iónica se requiere la activación de bombas de membrana dependientes de ATP, lo que aumenta la demanda energética y conduce a un estado de hiperglucemia mediante la activación de la glucogenólisis (Shi et al., 2016). Esta crisis energética deja al cerebro en un estado de vulnerabilidad (Giri et al., 2000). Además, el mantenimiento de la hiperglucemia puede tener efectos adversos como la neuroinflamación y el aumento de los niveles de estrés oxidativo (Hermanides et al., 2018).

Como parte del proceso de glicólisis se produce lactato que, en condiciones normales, es metabolizado en las mitocondrias. Sin embargo, tras el TBI, el lactato se acumula tanto intracelular como extracelularmente, lo que puede

aumentar la permeabilidad de la membrana celular, provocar acidosis y edema cerebral (Barkhoudarian et al., 2016).

El aumento de Ca^{++} también activa proteasas como la calpaína, que causa la rotura de microtúbulos y la pérdida de la estructura de los neurofilamentos de los axones (Jamjoom et al., 2021; Beirowski et al., 2005; Christman et al., 1994). Estas alteraciones afectan el transporte axoplasmático haciendo que se acumulen orgánulos en la zona dañada y dando lugar a una hinchazón axonal y posterior axotomía (Hill et al., 2016). Hasta 6 meses tras la lesión es posible observar tanto el daño axonal como la hinchazón, donde se va acumulando proteína precursora amiloide en el extremo seccionado (X. H. Chen et al., 2004). La eventual destrucción de estos bulbos axonales causa la liberación al espacio extracelular de proteína beta-amiloide que se agrega en forma de placas (Johnson et al., 2013a), observables en el 38% de personas fallecidas por un TBI entre 6 y 18 días tras el traumatismo, independientemente de la edad (Roberts et al., 1991). La acumulación de estas placas podría explicar la relación existente entre haber sufrido un TBI en algún momento de la vida y desarrollar la enfermedad de Alzheimer en edades avanzadas (Armstrong, 2019; Johnson et al., 2010; Wang et al., 2019).

2.1.4.2. Respuesta inmunitaria

La respuesta inmunitaria tras el traumatismo comienza con la activación de los astrocitos que detectan rápidamente el impacto por sensores mecanosensibles como canales iónicos de K^+ o de Ca^{++} (Michinaga & Koyama, 2021; Sofroniew & Vinters, 2010). La alteración de la permeabilidad de la membrana celular para estos iones genera un aumento en la liberación de ATP, que jugará un papel

como parte de los patrones moleculares asociados al daño (DAMP). Los DAMPs también son liberados por las células directamente dañadas y son reconocidos por los denominados receptores de reconocimiento de patrones (PRR) (McKernan, 2020) que activan más astrocitos y reclutan células de microglía hacia la zona de la lesión (Burda et al., 2016). Los astrocitos activados adquieren una función fagocitaria que permite eliminar los restos extracelulares (Jones et al., 2013) y formar una barrera que separa las zonas dañadas e inflamadas de las zonas intactas, evitando así la propagación del daño (M. A. Anderson et al., 2016). Esta barrera está compuesta principalmente por astrocitos nuevos (Wanner et al., 2013).

Además de estas funciones beneficiosas, los astrocitos también pueden originar efectos perjudiciales tras un TBI. Al activarse, liberan NF- κ B que promueve la liberación de citoquinas proinflamatorias como el TNF- α , contribuyendo a la cronificación del estado inflamatorio, con la consiguiente muerte celular (Jayakumar et al., 2014).

La activación de la microglía ocurre minutos tras la lesión y puede persistir de manera crónica incluso hasta décadas después del traumatismo (Ramlackhansingh et al., 2011). La microglía puede adoptar dos fenotipos distintos, uno proinflamatorio y otro antiinflamatorio, o mostrar características de ambos (Loane & Kumar, 2016; Orihuela et al., 2016; Ransohoff, 2016) (Figura 1). El fenotipo pro o antiinflamatorio dependerá de las señales externas que la activen. Cuando se activa mediante señales proinflamatorias como IFN- γ o LPS (Barrett et al., 2020; Yao et al., 2023) la microglía adquiere actividad fagocítica para eliminar los restos ocasionados por el TBI (Yamasaki et al., 2014). Este fenotipo puede ser neurotóxico, liberando citoquinas, neurotransmisores excitatorios como el glutamato y ROS, lo que puede incrementar el daño al tejido y provocar muerte celular (Donat et al., 2017) (Figura 2).

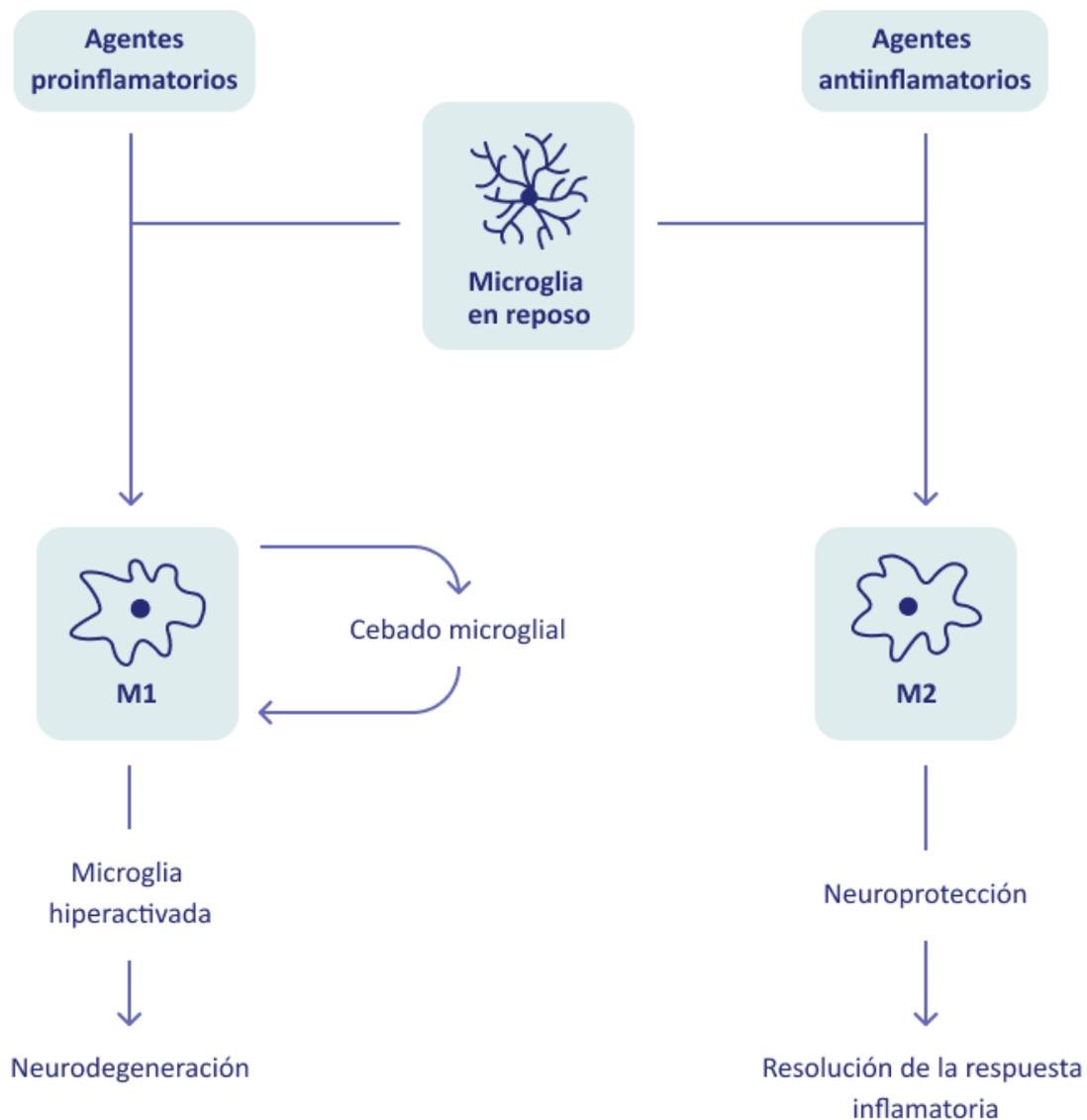


Figura 1. Proceso de respuesta inmune por parte de la microglía.

Entre las citoquinas proinflamatorias liberadas por la microglía se encuentran IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α e IFN tipo 1, que juegan un papel crucial en la respuesta inflamatoria (Bolte & Lukens, 2021). La exposición repetida a altos niveles de estas señales proinflamatorias puede inducir el cebado microglial (Niraula et al., 2017) que aumenta la susceptibilidad de la microglía activada en su forma

proinflamatoria a responder nuevamente a señales proinflamatorias, perpetuando una respuesta inflamatoria exagerada (Perry & Holmes, 2014). Este proceso puede mantenerse crónicamente, extendiendo el daño a lo largo del tiempo y persistiendo durante décadas (Johnson et al., 2013b; Tejera et al., 2019; Witcher et al., 2018).

Las citoquinas liberadas por la microglía también afectan a la barrera hematoencefálica (BHE), aumentando su permeabilidad para facilitar el reclutamiento de otros tipos celulares como los linfocitos T y los macrófagos (Jassam et al., 2017; Walsh et al., 2014). Estos macrófagos tienen una actividad fagocítica más agresiva que la microglía activada, pudiendo incluso iniciar procesos de desmielinización en el cerebro (Yamasaki et al., 2014).

La activación de la microglía por señales antiinflamatorias, como IL-4 o IL-13, promueve una función neuroprotectora (Francos-Quijorna et al., 2016; Kolosowska et al., 2019). En este estado, la microglía se relaciona con la reducción de procesos proinflamatorios (Huang et al., 2018; Yu et al., 2019), la remielinización (Miron et al., 2013), la neuroprotección (Gaire, 2022; Lalancette-Hébert et al., 2007; Neumann et al., 2006) y el aumento de la neurogénesis (Choi et al., 2017; Z. Li et al., 2021; Lilienberg et al., 2022). Estos efectos beneficiosos se atribuyen a la liberación de factores de crecimiento como TGF- β , IGF-1, FGF, NGF y BDNF, entre otros (Palasz et al., 2023).

Existen diferencias en la respuesta inflamatoria tras un TBI según el sexo. En estudios con modelos animales se han observado niveles más altos de agentes antiinflamatorios en hembras en comparación con machos (Prajapati et al., 2023). La evolución de la respuesta inmunitaria también difiere entre los dos sexos. En los machos, se ha observado una mayor infiltración de macrófagos y una mayor activación de la microglía durante los primeros días post-lesión

(Acáz-Fonseca et al., 2015; Doran et al., 2019). Además, en los machos la activación de la microglía ocurre de manera más rápida y abarca tanto formas proinflamatorias como antiinflamatorias durante los primeros 7 días después del TBI, mientras que en las hembras se observa un pico de respuesta proinflamatoria en la primera semana y un pico de actividad antiinflamatoria a los 30 días post-lesión (Villapol et al., 2017).

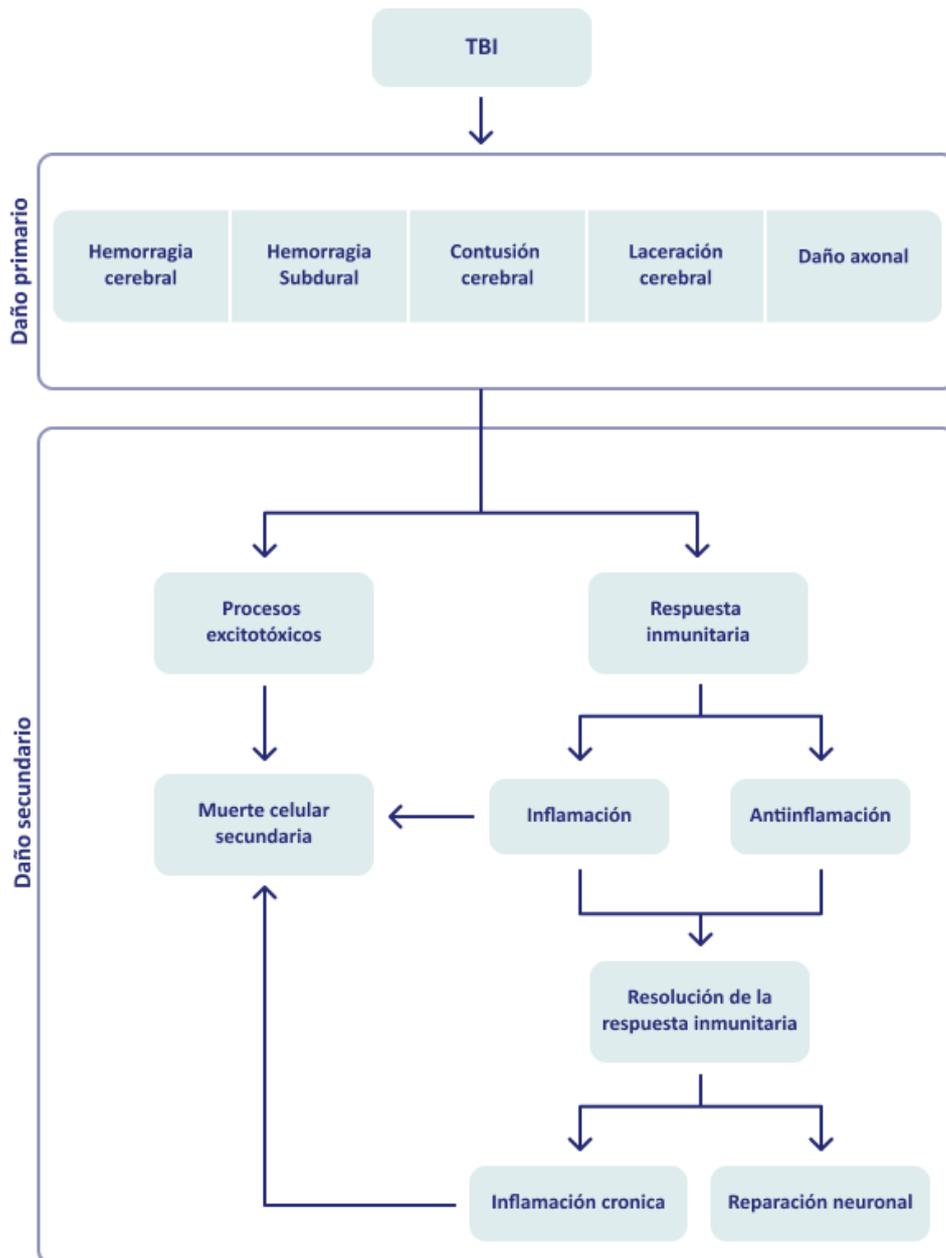


Figura 2. Daño primario y secundario asociado a un TBI.

2.1.5. Modelos animales de lesión cerebral traumática

Existen diversos modelos animales para replicar el daño cerebral traumático. En general, estos modelos se han estandarizado en roedores debido a su bajo coste, su pequeño tamaño y la posibilidad de homogeneidad genética (Xiong et al., 2013).

Los principales modelos animales de TBI son:

- **Modelo de impacto cortical controlado (CCI):** Este es uno de los modelos animales de TBI más comunes debido a su alto nivel de controlabilidad y precisión, además de su capacidad para adaptarse a distintas especies animales (Dean et al., 2017). En este modelo, se utiliza un pistón controlado de manera neumática o electromagnética que impacta sobre la duramadre, lo que requiere la realización de una craneotomía. Se controlan la localización, la profundidad y la velocidad de impacto de la punta del pistón, así como el tiempo de permanencia dentro de la zona de impacto (Osier & Dixon, 2016). Este modelo está asociado principalmente con lesiones focales, replicando traumatismos que podrían ocurrir, por ejemplo, en deportes como el fútbol americano (Ma et al., 2019).
- **Modelo de lesión por percusión de fluidos (FPI):** El TBI se produce por el impacto directo de un líquido contra la duramadre, por lo que se requiere una craneotomía (Lyeth, 2016). Después de realizar la craneotomía, se fija un cilindro conectado a un circuito cerrado lleno de líquido. La activación de un pistón causará un pulso de líquido en el interior del circuito que producirá la lesión (Lifshitz et al., 2016). Este modelo replica tanto daños focales como difusos (Ma et al., 2019).

- **Modelos por caída de peso:** El impacto se genera al dejar caer libremente un peso desde una altura controlada (Chakraborty et al., 2021). Este modelo se utiliza para replicar el daño producido por caídas o accidentes de tráfico. Puede realizarse mediante dos modalidades: con craneotomía previa para replicar un daño focal, o sin craneotomía utilizando un casco o una lámina de metal o kevlar en la cabeza del animal para distribuir la fuerza del impacto, provocando así un daño difuso (Chakraborty et al., 2021; Ma et al., 2019).
- **Modelos de impacto por explosión:** Este modelo se emplea para replicar el daño cerebral causado por explosiones, particularmente en ausencia de heridas externas (Ma et al., 2019; Xiong et al., 2013). En este procedimiento, el animal anestesiado se coloca en un tubo con un interior acolchado para evitar heridas externas. El tubo está dividido en dos zonas separadas por una membrana; en una se coloca al animal y la otra se llena de gas hasta que la presión causa la rotura de la membrana de separación, generando la explosión (Logsdon et al., 2020). Principalmente, este modelo produce daño axonal difuso debido al estiramiento y desgarro de los axones (Blennow et al., 2016).

2.2. Ejercicio físico

El término "actividad física" hace referencia al movimiento del cuerpo causado por la contracción de músculos esqueléticos, lo cual resulta en un aumento del gasto energético del organismo, mientras que el "ejercicio físico" se refiere a una serie de movimientos repetitivos, planeados y estructurados para mantener o mejorar la aptitud física (Chodzko-Zajko et al., 2009). Para determinar el nivel de actividad física se utiliza el índice metabólico de la tarea (MET), siendo 1 MET

la cantidad de energía gastada en estado de reposo. El sedentarismo se define como cualquier actividad en vigilia que requiere un gasto energético menor a 1,5 MET (Leiva et al., 2017; Tremblay et al., 2017). Se considera que un gasto entre 1,5 y 3 MET corresponde a una actividad ligera, entre 3 y 5,9 MET a una actividad moderada, y un valor superior a 6 MET se relaciona con una actividad intensa (Haskell et al., 2007).

A grandes rasgos, podemos distinguir dos tipos de ejercicio físico: anaeróbico y aeróbico. El ejercicio anaeróbico es de corta duración y no precisa de respiración aeróbica para la obtención de energía, ya que obtiene el ATP a través del lactato resultante del metabolismo del fosfato de creatina y del glucógeno (Hargreaves & Spriet, 2020). Ejemplos de ejercicio anaeróbico son las carreras de 100 metros, el lanzamiento de peso y los saltos. El ejercicio aeróbico es aquel que suele durar desde varios minutos hasta horas y depende de la oxidación de carbohidratos y grasas para obtener ATP. Ejemplos de este tipo de ejercicio son el ciclismo, correr o nadar (Hargreaves & Spriet, 2020).

El ejercicio físico tiene numerosos efectos beneficiosos para el organismo (Hillman et al., 2008; Jakovljevic, 2018; Peluso & Andrade, 2005). La recomendación de la OMS para adultos es practicar entre 150 y 300 min semanales de actividad física moderada, o bien entre 75 y 150 min de actividad vigorosa, o una combinación de ambos (World Health Organization, 2020). Los múltiples beneficios para la salud, tanto física como mental, lo convierten en un candidato ideal para el tratamiento de un TBI. Entre estos beneficios destacan: un aumento de la neuroplasticidad (Cotman & Berchtold, 2007), mejoras en la función cognitiva (Erickson, 2015), efectos antiinflamatorios (Petersen & Pedersen, 2005), aumentos en la neurogénesis (van Praag et al., 1999) y mejoras en la salud mental como la prevención de trastornos depresivos (Mammen & Faulkner, 2013) y de ansiedad (E. Anderson & Shivakumar, 2013).

2.2.1. Modelos animales de ejercicio físico

En modelos animales de ejercicio físico, es importante hacer una distinción entre ejercicio físico voluntario y forzado. En los modelos de ejercicio voluntario, el animal escoge el momento, la duración y la intensidad del ejercicio. Habitualmente, el animal corre dentro de una rueda a la que puede acceder libremente o de forma controlada. Este enfoque permite al animal realizar la actividad de manera más similar a como lo haría en la naturaleza, respetando su ritmo circadiano. La principal característica de los modelos de ejercicio forzado es que permiten el control sobre variables como la intensidad, la velocidad y la duración de ejercicio, pero también suponen una fuente de estrés para el animal (Leasure & Jones, 2008; Svensson et al., 2016). Se ha observado consistentemente un aumento de marcadores relacionados con el estrés en animales después de realizar ejercicio físico forzado (Rostami et al., 2021; Svensson et al., 2016). Estos modelos también requieren una mayor implicación de los investigadores y a menudo rompen el ritmo circadiano de los animales (Dudek & Meng, 2014; Sasaki et al., 2016; X. Wu et al., 2011).

Cada modelo de ejercicio forzado tiene características específicas. Entre los más utilizados destacan: la rueda de ejercicio forzado, en la que el animal corre en una rueda motorizada donde el movimiento de la rueda obliga al animal a correr sin necesidad de estímulos aversivos (Garrigos et al., 2021); la cinta de correr, que además permite controlar el nivel de inclinación y a veces se utiliza con shocks eléctricos para evitar que el animal deje de correr (Perrino et al., 2011; Yan et al., 2022); y la natación forzada, que aprovecha la habilidad innata de ratas y ratones para nadar (Commons et al., 2017; Molendijk & de Kloet, 2022; Yankelevitch-Yahav et al., 2015).

2.2.2. Efectos del ejercicio físico tras un daño cerebral traumático

El ejercicio físico como tratamiento ha mostrado tener un efecto beneficioso sobre diversas funciones cognitivas y de salud en pacientes tras un TBI (Cobianchi et al., 2017). Por ejemplo, se han observado mejoras significativas en áreas visuoespaciales, de lenguaje y memoria, correlacionadas con un aumento en el pico de VO_2 , una medida de salud cardiovascular que suele reducirse tras un TBI (Chin et al., 2015; Mossberg et al., 2007). Otro estudio reportó mejoras cognitivas en aprendizaje visual, auditivo y asociativo después de un programa de ejercicio (Grealy et al., 1999). Sin embargo, otros estudios observan que, pese a que el ejercicio mejora la salud cardiovascular (Bateman et al., 2001) y aspectos como el equilibrio, el tiempo de reacción y la calidad del sueño (Damiano et al., 2016), no siempre se observan beneficios cognitivos. El ejercicio físico también ha demostrado ser capaz de mejorar el estado de ánimo en pacientes con TBI, reduciendo los síntomas asociados a la depresión (Gordon et al., 1998). Además, esta mejoría está presente a corto y a largo plazo, comenzando a observarse a partir de la semana 4 (Weinstein et al., 2017).

En modelos animales, aunque en general se ha observado un efecto beneficioso del ejercicio físico a nivel cognitivo tras un TBI, existen resultados dispares. Así, ha mostrado reducir los déficits de memoria en tareas de reconocimiento de objetos (Jacotte-Simancas et al., 2015; Amorós-Aguilar et al., 2020; Martínez-Drudis et al., 2021; Sánchez-Martín et al., 2024), tareas de memoria espacial (Griesbach et al., 2009; Itoh et al., 2011b), tareas de evitación pasiva (Chou et al., 2018; S.-E. Kim et al., 2010) y tareas de memoria de trabajo (Mychasiuk et al., 2016). Sin embargo, también existen trabajos en los que el tratamiento no ha generado efecto (Shen et al., 2013; Taguchi et al., 2019). Algunas investigaciones muestran que tanto el ejercicio físico voluntario como el forzado

proporcionan beneficios similares (Belviranlı & Okudan, 2019; Lin et al., 2021; Lin et al., 2015a; Lin et al., 2015b), mientras que otras sugieren que el ejercicio voluntario (Eldomiaty et al., 2020; Ke et al., 2011) o el forzado (Hayes et al., 2008; Leasure & Jones, 2008) tiene un mayor efecto beneficioso. Esta disparidad de resultados subraya la necesidad de estudiar los parámetros óptimos para obtener un mayor beneficio.

2.2.3. Parámetros relevantes del ejercicio físico como tratamiento tras un daño cerebral traumático

Uno de los parámetros relevantes en la determinación del efecto del ejercicio físico es la intensidad. El control de la intensidad de ejercicio de los animales requiere protocolos de ejercicio forzado. Esta modalidad de ejercicio se ha estudiado previamente como intervención en modelos animales de TBI (Tabla 1).

Referencia	Sujetos	Sexo	Tipo de TBI	Modelo de ejercicio	Resultados conductuales	Resultados histológicos
J. Chen et al., 2023	Ratones C57BL/6 J	♂	CCI	EF en cinta motorizada (15 m/min, 30 min) comenzando 3 días tras el CCI.	Reducción de los déficits causados por el TBI en aprendizaje espacial, novedad social y ansiedad.	Reducción de los niveles de muerte celular y neurodegeneración.
Chou et al., 2018	Ratas SD	♂	FPI	EF en rueda motorizada (30 m/min, 60 min), comenzando 4 días tras el FPI.	Reducción de los déficits causados por el TBI en el aprendizaje de evitación.	Aumento de la expresión de HSP20, BDNF y TrkB.

Referencia	Sujetos	Sexo	Tipo de TBI	Modelo de ejercicio	Resultados conductuales	Resultados histológicos
D. -H. Kim et al., 2010	Ratas SD	♂	CCI	EF en cinta motorizada (8 m/min, 30 min), comenzando 2 días tras del CCI.	Reducción de los déficits causados por el TBI en la memoria de evitación.	Reducción de diversos factores causantes de muerte celular por apoptosis.
Griesbach et al., 2012	Ratas SD	♂	FPI	EF (20 min) y EV en rueda motorizada, comenzando inmediatamente tras la lesión (entre 3 y 5 horas tras la FPI).	-	Ningún tipo de ejercicio realizado inmediatamente tras la lesión produce aumentos de BDNF. El EV aumenta los niveles de cortisol únicamente tras la primera sesión. El EF aumenta los niveles de cortisol tras cada sesión.
Griesbach et al., 2014	Ratas SD	♂	FPI	EF (20 min) rueda motorizada y EV en rueda, comenzando 4 semanas tras el FPI.	-	El EV produce un aumento de BDNF. El EF no produjo aumento de BDNF, pero sí de hormonas relacionadas con el estrés.
Itoh et al., 2011a	Ratas W	♂	CCI	EF en cinta motorizada (22 m/min, 30 min) tras el CCI.	-	Aumento de los precursores neuronales.
Itoh et al., 2011b	Ratas W	♂	CCI	EF en cinta motorizada (22 m/min, 30 min) tras el CCI.	Reducción de los déficits en la memoria espacial.	Reducción de la muerte neuronal por apoptosis.
Karelina et al., 2021	Ratones SW	♂	CCI	EF en cinta motorizada a dos intensidades (8 y 15 m/min) comenzando 3 días tras el CCI.	Reducción de conductas relacionadas con la ansiedad y mejoras en memoria espacial relacionada con hipocampo en el grupo a 15 m/min.	Aumento en la proliferación y supervivencia de nuevas neuronas.

Referencia	Sujetos	Sexo	Tipo de TBI	Modelo de ejercicio	Resultados conductuales	Resultados histológicos
Shen et al., 2013	Ratas SD	♂	CCI	EF en cinta de correr motorizada (8 o 12 m/min durante 30 min) comenzando 1 día tras el CCI.	Únicamente EF 8 m/min produjo mejoras significativas de memoria.	Aumento de los niveles de BDNF únicamente en EF 8 m/min.
Taguchi et al., 2019	Ratas W	♂	TBI por punzada	EF en cinta motorizada (5 m/min). comenzando 1 o 2 días tras el TBI	Ambos grupos de ejercicio empeoraron los déficits motores del TBI.	Aumento de la reacción proinflamatoria al comenzar el ejercicio a las 24 h de la lesión.
White et al., 2023	Ratones SW	♂ y ♀	CCI	EF en cinta motorizada (8, 15 o 20 m/min) comenzando 3 días tras el CCI.	Hembras disminuyen los déficits cognitivos a todas las intensidades. Machos disminuyen los déficits a intensidades bajas, pero no a altas.	Hembras obtienen mejoras en la respiración mitocondrial a una intensidad baja y moderada de ejercicio. Machos no presentan esta mejoría e incluso muestran un empeoramiento a intensidades altas.

Tabla 1. Investigaciones previas que utilizan como tratamiento ejercicio físico forzado en modelos animales de daño cerebral. EF: ejercicio forzado, EV: ejercicio voluntario, W: Wistar, SD: Sprague-Dawley, SW:Swiss-Webster.

En general, todas las investigaciones de la Tabla 1 utilizan como control animales sedentarios que, pese a ser introducidos en la misma máquina de ejercicio forzado, esta no se activa. El uso de modelos de ejercicio forzado también permite, y en ocasiones requiere, el uso de un entrenamiento a una intensidad más baja de la deseada para acostumbrar al animal al ejercicio. La importancia de un entrenamiento previo, especialmente con el objetivo de investigar intensidades altas, reside en el aumento de la capacidad aeróbica en

el individuo además de habituar al animal al espacio y procedimiento del ejercicio para evitar una respuesta de estrés (Høydal et al., 2007). Este entrenamiento en modelos animales de TBI se puede llevar a cabo previamente a la lesión (Chou et al., 2018; Karelina et al., 2021; Shen et al., 2013; White et al., 2023), posterior a la lesión (J. Chen et al., 2023; Itoh et al., 2011a, 2011b), o no llevarse a cabo (D. -H. Kim et al., 2010; Taguchi et al., 2019). Cabe destacar que para controlar el estrés que puede suponer la exposición a la máquina en la que se realiza el ejercicio forzado, en algunas de las investigaciones los animales que servirán de control también pasan por el entrenamiento (Chou et al., 2018; Itoh et al., 2011a, 2011b; Shen et al., 2013; White et al., 2023).

Como puede observarse en la Tabla 1, se han utilizado protocolos de ejercicio muy diversos. En general, las investigaciones con ejercicio forzado tras un TBI encuentran beneficios conductuales en el aprendizaje de evitación (Chou et al., 2018; D. -H. Kim et al., 2010), en la memoria espacial (J. Chen et al., 2023; Itoh et al., 2011b), en la preferencia por la novedad social y en la ansiedad (J. Chen et al., 2023) y beneficios observados a nivel histológico como aumento de factores neuroprotectores o de la neurogénesis (J. Chen et al., 2023; Chou et al., 2018; Itoh et al., 2011a, 2011b; D. -H. Kim et al., 2010). Existen pocas investigaciones donde se estudie el efecto de dos o más intensidades tras un TBI. Utilizando un CCI en ratas macho (Shen et al., 2013), se ha observado que el ejercicio físico a baja intensidad (8 m/min) produce un mayor aumento en los marcadores de plasticidad neuronal en el hipocampo que el producido por el ejercicio de intensidad alta (12 m/min). Esta investigación encontró mejores resultados en pruebas cognitivas y mayores niveles de BDNF en el hipocampo contralateral en los animales que realizaban ejercicio a intensidad baja comparados con los animales que no realizaban ejercicio tras la lesión. Utilizando ratones macho y ejercicio en cinta a dos intensidades (8 y 15 m/min),

Karelina et al. (2021) observó que únicamente la intensidad más alta produce una reducción significativa de los déficits de memoria espacial. A nivel histológico observaron que el ejercicio a ambas intensidades producía una reducción en la cantidad de microglía activada, y una mayor proliferación y supervivencia de neuronas nuevas en el hemisferio contralateral a la lesión.

Hasta la fecha, solo encontramos una investigación que utilice tanto machos como hembras para estudiar el efecto de la intensidad del ejercicio físico. En este estudio, en ratones, se ha evaluado el efecto de tres intensidades de ejercicio físico, 8, 15 y 20 m/min sobre el aprendizaje y la memoria en el laberinto de Barnes (White et al., 2023). Los resultados muestran que los efectos cognitivos, metabólicos y sobre la expresión génica dependen de la intensidad del ejercicio y del sexo. A nivel cognitivo, en los ratones hembra todas las intensidades produjeron una mejora moderada en la fase de adquisición, pero ningún efecto en la retención. En machos, solo las intensidades baja y moderada produjeron una mejora significativa en la fase de aprendizaje y la intensidad elevada supuso un deterioro en la prueba de memoria. En cuanto al volumen de la lesión, en hembras no se detectaron efectos y en machos la intensidad moderada redujo el volumen de la lesión. En cuanto al metabolismo, en hembras la respiración mitocondrial basal aumentó con el ejercicio a baja intensidad mientras que en machos se observó una disminución de esta variable con ejercicio a alta intensidad. En machos, el ejercicio a una intensidad moderada también redujo marcadores de estrés oxidativo tanto en plasma como en el cerebro, mientras que en hembras el ejercicio no tuvo ningún efecto. En cuanto a la expresión génica, no se detectaron efectos relevantes en hembras mientras que en machos el ejercicio de baja intensidad supuso un aumento en la expresión de genes relacionados principalmente con la plasticidad, la diferenciación y la migración neuronal.

2.2.4. Mecanismos de acción

El efecto beneficioso del ejercicio físico sobre la cognición se debe a una combinación de efectos neuroprotectores y neuroreparadores producidos por la mejora cardiovascular, la mejora en la función mitocondrial, los efectos antiinflamatorios, la modulación de factores neurotróficos y el incremento en la neuroplasticidad (Figura 3). La realización de ejercicio físico provoca la liberación de exerquinas (Safdar et al., 2016; Watkins et al., 2024) por parte de los músculos esqueléticos, el corazón o el hígado (Chow et al., 2022).

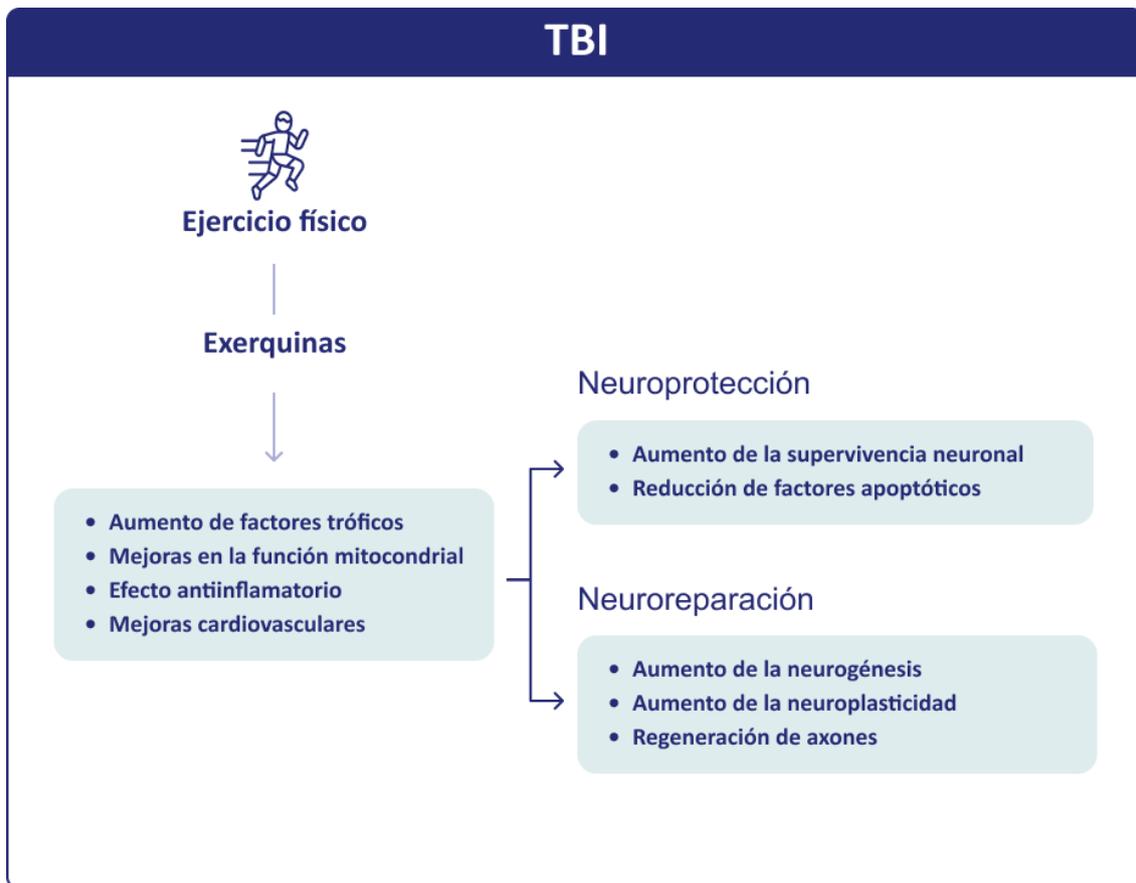


Figura 3. Beneficios del ejercicio físico tras un TBI.

2.2.4.1. Mecanismos neuroprotectores

El ejercicio físico produce un aumento significativo de la angiogénesis y del flujo sanguíneo (Lou et al., 2022; Wightman et al., 2015). La angiogénesis implica la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los ya existentes (Vallon et al., 2014) y está relacionada con la liberación de microRNA por parte del hígado y del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) por el músculo esquelético (Melincovici et al., 2018). La producción de VEGF parece estar vinculada a la producción de lactato durante el ejercicio físico y su acción sobre el receptor HCAR1, involucrado en la angiogénesis, la reducción de la actividad fagocítica de la microglía y la neurogénesis (Kennedy et al., 2022; Morland et al., 2017; Nicola et al., 2022). El VEGF se ha visto relacionado con una reducción de la zona lesionada y con un mayor número de neuronas sanas en modelos animales de daño cerebral (Feng et al., 2008; Y. Sun et al., 2003).

Tras un TBI, se observa un empeoramiento inicial del flujo sanguíneo cerebral a los 3-6 meses, seguido de una mejora significativa entre los 6 y 12 meses, directamente asociada con mejoras en las funciones cognitivas (Gaggi et al., 2023). El ejercicio físico puede mejorar el flujo sanguíneo cerebral que se correlaciona con mejoras en las habilidades cognitivas tanto en pacientes con enfermedades neurodegenerativas como en pacientes con enfermedades cardíacas (Bracko et al., 2020; Ibrahim et al., 2021; Ovsenik et al., 2021). Esta relación puede deberse a que un aumento del flujo sanguíneo conlleva una mayor capacidad de suministro de oxígeno y sustratos hacia el cerebro, factores de vital importancia para reducir el impacto de la lesión secundaria tras un TBI (Bouzat et al., 2013; Siwicka-Gieroba et al., 2022).

Durante el envejecimiento normal, tras lesiones isquémicas y tras un TBI, la función mitocondrial tiende a deteriorarse, contribuyendo a la senescencia

celular, la disfunción de células madre y a procesos de inflamación crónica (Qian et al., 2024; N. Sun et al., 2016). El ejercicio físico mejora la función mitocondrial tanto en el músculo ejercitado como en tejidos distantes, como el cerebro (Memme et al., 2021; Steiner et al., 2011). Este efecto se atribuye a la liberación de irisina, IL-6 y lactato durante el ejercicio (Heo et al., 2023). Se ha observado que el ejercicio físico es capaz de mejorar el funcionamiento de las mitocondrias sanas (Memme et al., 2021), de proteger la función mitocondrial mediante la reparación o eliminación de mitocondrias dañadas y de aumentar la síntesis de nuevas mitocondrias (Sorriento et al., 2021). Como ya hemos explicado, este efecto del ejercicio físico sobre la función mitocondrial depende de la intensidad y del sexo (White et al., 2023).

El ejercicio físico también actúa como un agente antiinflamatorio en todo el organismo. En animales con TBI, este efecto provoca una disminución de la reactividad de la microglía (Amorós-Aguilar et al., 2020; C. K. Kim et al., 2022). El ejercicio físico aumenta los niveles de mioquinas antiinflamatorias como IL-6 que al inhibir la liberación de TNF- α e IL-1 β y promover la liberación de IL-10, tiene efectos neuroprotectores (Docherty et al., 2022; Kawanishi et al., 2010; Scheffer & Latini, 2020; Zhang et al., 2020).

Otro mecanismo neuroprotector se relaciona con el aumento de BDNF que se encuentra en varias partes del cerebro, especialmente en el hipocampo (Bekinschtein et al., 2014; Lu et al., 2014). El ejercicio físico aumenta los niveles de BDNF que puede cruzar la BHE y sumarse al producido en el cerebro (Rentería et al., 2022). En modelos animales de TBI se ha observado que este aumento de BDNF está ligado a mejoras cognitivas (Chou et al., 2018; Griesbach et al., 2004). El efecto neuroprotector del BDNF se produce al unirse al receptor TrkB desencadenando una cascada de señales intracelulares que incluye dos vías principales (Wurzelmann et al., 2017). En primer lugar, la activación de la

vía PI3K/Akt que promueve la supervivencia celular y previene la apoptosis. En segundo lugar, la activación de la vía MAPK/ERK que está involucrada en la promoción de la supervivencia celular y en la regulación de la plasticidad sináptica.

2.2.4.2. Mecanismos neuroreparadores

Los efectos beneficiosos del ejercicio se relacionan con un aumento de la neurogénesis. Las células a partir de las cuales surgen las nuevas neuronas se denominan células madre o progenitoras neurales (NSPCs). Estas células son consistentemente observables en mamíferos en dos zonas cerebrales específicas: el área subventricular (ZSV) en las paredes de los ventrículos laterales y el giro dentado (GD) de la formación hipocampal (Braun & Jessberger, 2014; Cameron & Glover, 2015). Las NSPCs son activadas por diversas señales e inician su proliferación y diferenciación (Kempermann et al., 2004) a través de seis fases identificables mediante marcadores específicos (Figura 4). Aunque se generan continuamente nuevas neuronas tanto en la ZSV como en el GD, no todas estas neuronas sobreviven y se integran en los sistemas existentes (Kempermann et al., 2003). De hecho, en las regiones hipocampales donde migran las nuevas neuronas, se han observado altos niveles de células apoptóticas (Biebl et al., 2000). La supervivencia de estas neuronas parece estar fuertemente vinculada a la experiencia individual del animal (Tashiro et al., 2006).

El ejercicio físico ha mostrado consistentemente promover la neurogénesis en animales tras un TBI (Jacotte-Simancas et al., 2015; Amorós-Aguilar et al., 2020). Se ha demostrado que este aumento en la neurogénesis está mediado por la

activación de TrkB y IL-4 (Ben-Zeev et al., 2022; Zhang et al., 2021). El incremento de IL-4 (Hasanli et al., 2021) activa la microglía que libera BDNF en el hipocampo (Zhang et al., 2021). El BDNF activa los receptores TrkB lo que induce la proliferación de nuevas neuronas en el GD (Numakawa et al., 2018). El bloqueo de los receptores TrkB inhibe estos efectos beneficiosos del ejercicio físico (Y. Li et al., 2008) subrayando la importancia de esta vía en los beneficios cognitivos y neuronales del ejercicio.

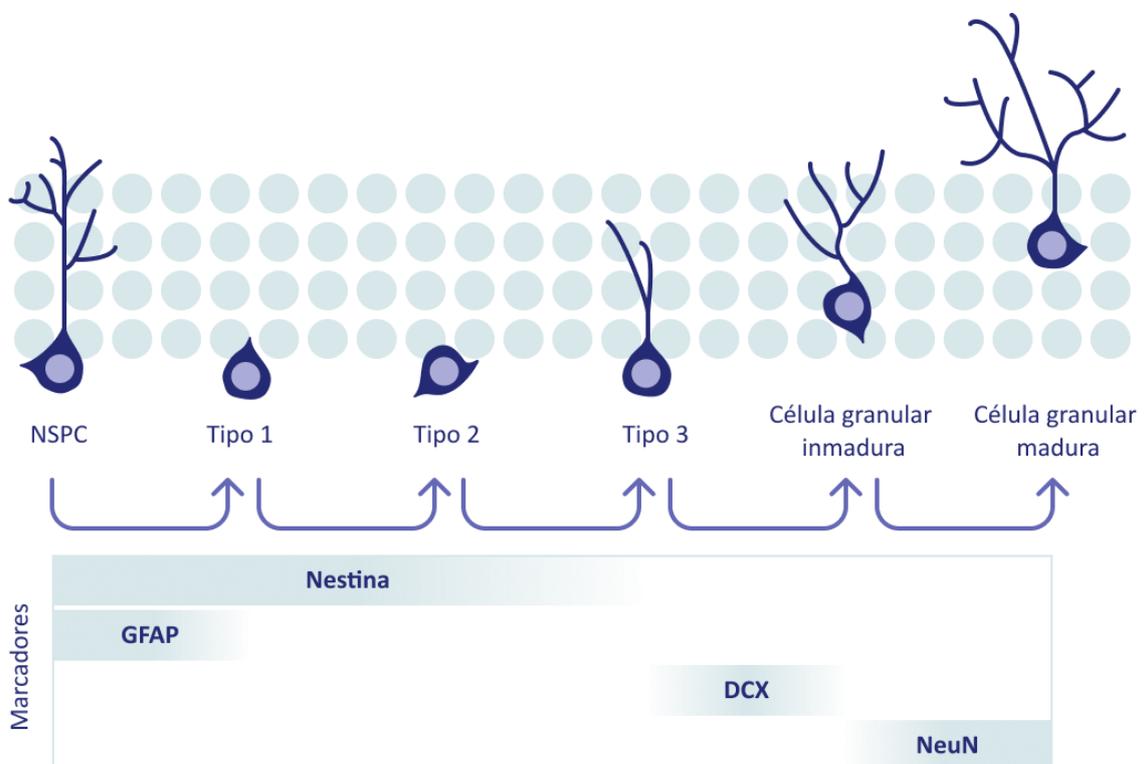


Figura 4. Proceso de neurogénesis y marcadores de las distintas etapas.

El BDNF también promueve la plasticidad neuronal, la formación y mantenimiento de nuevas sinapsis (Belzung & Wigmore, 2013; Lu et al., 2005), así como la regeneración de axones seccionados y el crecimiento de neuritas después de una lesión (McGregor & English, 2019). Los efectos del BDNF sobre

el crecimiento de axones y neuritas son dosis-dependientes, ya que dosis bajas promueven la formación de dendritas y regeneración de axones, mientras que dosis altas inhiben estos efectos (Boyd & Gordon, 2002).

El VEGF es otra de las neurotrofinas que aumenta con el ejercicio físico. La activación del receptor VEGFR-2 presente en las NSPCs (Jin et al., 2002; Wittko-Schneider et al., 2013) aumenta la neurogénesis. Además, el aumento ya comentado de la angiogénesis (Kennedy et al., 2022; Morland et al., 2017; Nicola et al., 2022) mejora el suministro de oxígeno y nutrientes a los precursores neuronales y a las nuevas neuronas facilitando su supervivencia.

2.3. Memoria de reconocimiento de objetos

Los problemas de memoria son frecuentemente reportados por familiares y pacientes tras un TBI. Una de las pruebas utilizadas en humanos para evaluar estos déficits de memoria es la comparación visual emparejada que se fundamenta en el principio de que los estímulos nuevos captan más recursos atencionales tanto en humanos (Eizenman et al., 2019; Ernst et al., 2020; Horstmann & Herwig, 2016) como en animales (Berlyne et al., 1966; Chrzanowska et al., 2022; Straube et al., 2003). Cuando se realiza esta prueba se compara el tiempo durante el cual una persona observa una imagen nueva y una imagen vista previamente (Crutcher et al., 2009). Este tipo de memoria se considera memoria episódica que es el tipo de memoria que hace referencia al recuerdo de hechos específicos en su contexto temporal y espacial (Squire, 2004). En modelos animales, esta memoria se evalúa comúnmente con la tarea de reconocimiento de objetos (ORT) que se basa en la tendencia natural de los roedores a explorar más tiempo objetos nuevos que familiares cuando se

presentan simultáneamente (Bevins & Besheer, 2006; Blaser & Heyser, 2015). Aunque existen múltiples variaciones en la ORT, en general se empieza con unas fases de habituación al espacio donde se presentarán los objetos, seguidas de una sesión de adquisición, donde se presentan dos objetos idénticos para explorar y de una sesión de retención, donde uno de los objetos es reemplazado por otro nuevo (Leger et al., 2013). Este esquema general puede modificarse, por ejemplo, para aumentar el componente espacial de la prueba presentando en la fase de retención los mismos objetos que los utilizados en la adquisición, pero cambiando la posición de uno de ellos.

En modelos animales de TBI se ha observado de manera consistente déficits de memoria de reconocimiento de objetos en los animales lesionados (Jacotte-Simancas et al., 2015; Amorós-Aguilar et al., 2020; Rachmany et al., 2017; Saykally et al., 2012) y que el ejercicio físico es capaz de reducir estos déficits (Jacotte-Simancas et al., 2015; Amorós-Aguilar et al., 2020; Sánchez-Martín et al., 2024).

Tradicionalmente las dos estructuras que más se han relacionado con la memoria de reconocimiento de objetos son la corteza perirrinal y el hipocampo (Cohen & Stackman Jr., 2015; Warburton & Brown, 2015). La corteza perirrinal se encuentra en la parte ventromedial del lóbulo temporal, está rodeada por la corteza entorrinal y la corteza parahipocampal, y es de vital importancia para el reconocimiento visual tanto en animales como en humanos (Albasser et al., 2009; Ramos & Vaquero, 2005; Suzuki & Naya, 2014). La lesión bilateral de esta estructura produce déficits de memoria en la ORT cuando no tienen un componente espacial (Barker & Warburton, 2011). El hipocampo, que en humanos se encuentra en la zona medial del lóbulo temporal y en roedores directamente bajo el neocórtex, se ha asociado con la memoria de

reconocimiento de objetos con un fuerte componente espacial (Barker & Warburton, 2011; Winters et al., 2004).

Se ha propuesto que en la ORT la información del "qué" se procesa en la corteza perirrinal, mientras que la información del "dónde" se procesa en las cortezas parahipocampal y entorrinal. La función del hipocampo sería combinar la información del "qué" y del "dónde". No obstante, en los últimos años ha aumentado el debate sobre si el hipocampo está directamente involucrado en la codificación de los recuerdos del "qué". Cohen y Stackman Jr (2015) proponen un modelo cualitativo según el cual la información adquirida mediante la exploración del objeto durante la adquisición se almacena temporalmente en la corteza perirrinal formando un recuerdo "débil". El aumento de la exploración durante la sesión de adquisición supone una acumulación progresiva de la información sobre el objeto que, superado un determinado umbral, se transfiere al hipocampo formando una memoria episódica. Esta transferencia implica múltiples sinapsis neuronales por lo que requiere de algún tiempo para ser completada y explicaría la implicación del hipocampo según aumenta la demora entre la adquisición y la prueba de retención.

3. Hipótesis y objetivos

3.1. Hipótesis

Existe cierto consenso sobre el potencial terapéutico del ejercicio físico tras un TBI, sin embargo, no está claro cuáles son los parámetros óptimos para conseguir un mayor beneficio cognitivo. La bibliografía existente sugiere que intensidades demasiado elevadas podrían no sólo dejar de ser beneficiosas, sino que incluso podrían llegar a resultar perjudiciales. Además, algunos trabajos sugieren que existen diferencias entre las ratas macho y hembra en la tendencia natural a realizar actividad física, además de una adaptación distinta al mismo. Con todo ello, nuestra hipótesis de trabajo es que el ejercicio físico posterior al traumatismo podrá reducir los déficits de memoria asociados al TBI, pero solamente a intensidades bajas o moderadas. Además, la intensidad óptima para obtener dicho beneficio será distinta en machos y hembras. Este beneficio cognitivo se deberá a una reducción en la muerte neuronal y un aumento en la neurogénesis.

3.2. Objetivos

Los objetivos específicos de la presente investigación son:

1. Evaluar el efecto del ejercicio físico a diferentes intensidades (8, 12 y 16 m/min) sobre:
 - a. el déficit de memoria a corto y largo plazo (ORT) producido por el TBI,
 - b. la neurodegeneración (volumen hipocampal y densidad de neuronas maduras) asociada al TBI,
 - c. la neurogénesis (número de neuronas jóvenes).
2. Evaluar las diferencias en la intensidad óptima en función del sexo.

4. Métodos

4.1. Ética y bienestar animal

El procedimiento experimental se ha llevado a cabo siguiendo la normativa de la Unión Europea en cuanto a las disposiciones legales, de reglamento y administrativas respecto a la protección de animales utilizados en la experimentación y otras finalidades científicas (2010/63/UE, de 22 de septiembre de 2010), y según el decreto del Estado Español (Real Decreto 1386/2018, de 19 de noviembre de 2018) que regula los aspectos éticos y de cuidado de los animales para la experimentación. El experimento ha sido aprobado por la Comisión de Ética en Experimentación Animal y Humana (CEEAH) de la Universitat Autònoma de Barcelona y por la Generalitat de Catalunya (nº de orden 9734/1).

4.2. Sujetos

Para esta investigación se usaron un total de 136 ratas albinas de la cepa Sprague-Dawley, suministradas por Prolabor (Barcelona), de las cuales 72 eran machos y 64 hembras. Todos los animales pasaban por una cuarentena tras la cual, con 8 semanas de edad, eran estabulados individualmente en jaulas de plástico transparente (48 x 26 x 20 cm) en una sala con temperatura (20 – 24 °C) y humedad (40 – 70%) controladas y un ciclo de luz-oscuridad de 12 h (luz: de 08:00 h a 20:00 h).

Los animales disponían de agua *ad libitum* y durante todo el experimento se limitó la comida a 3 pellets diarios para los machos y a 2.5 para las hembras, lo cual no representa una dieta hipocalórica, ya que es una cantidad superior a la que necesitan para mantener el peso adecuado a su edad. Esta limitación de

comida se realizó debido a que en nuestro laboratorio hemos constatado que el acceso ilimitado a comida está asociado a un exceso de ingesta y a una tendencia a la obesidad, especialmente en animales sedentarios.

Durante los 2 días posteriores a la estabulación, los animales se manipulaban durante unos 5 min diarios para habituarlos a las manipulaciones experimentales posteriores. Al terminar cada una de estas sesiones, se realizaba una habituación a la ingesta de crema de cacao y avellanas (Nutella®, Ferrero, Alba, Italia) que era el medio utilizado para la administración de analgésico por vía oral antes de la intervención quirúrgica (Abelson et al., 2012). Para ello, se situaba en la pared interior de la jaula, a unos 5 cm del suelo, una cinta adhesiva con 0.5 g de crema de avellanas y cacao.

El día de la operación los animales eran asignados aleatoriamente a una de las siguientes condiciones experimentales (Figura 5): intervención Sham y condición sedentaria (grupos Sham), lesión por CCI y condición sedentaria (grupos Tbi_Sed), lesión por CCI y ejercicio físico a una velocidad de 8 m/min (grupos Tbi_Exe_8), 12 m/min (grupos Tbi_Exe_12) o 16 m/min (grupos Tbi_Exe_16). En todas las condiciones experimentales había tanto machos como hembras y, por tanto, los animales se distribuyeron en 10 grupos.

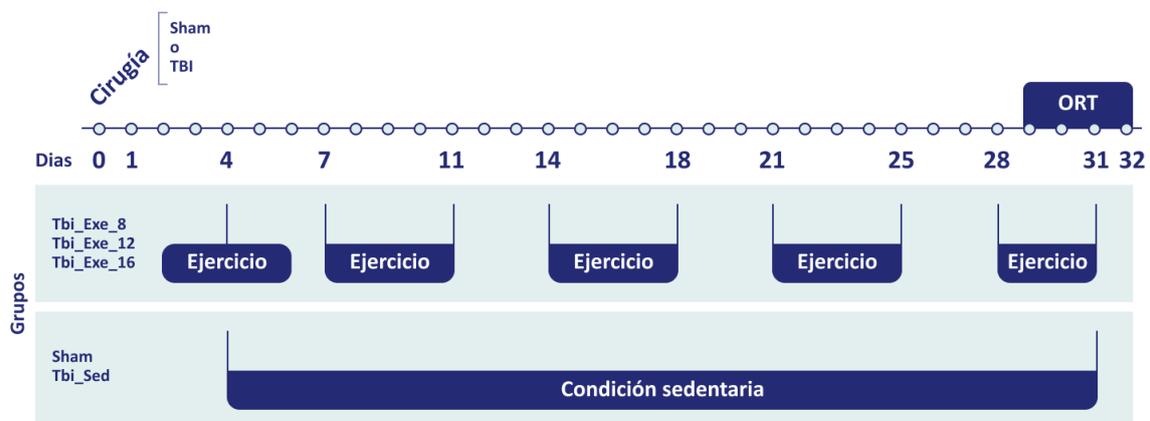


Figura 5. Línea temporal de los procedimientos experimentales.

4.3. Intervención quirúrgica

El sexto día tras la separación, los animales se sometieron a una intervención quirúrgica para realizar el TBI mediante un modelo de CCI. Para prevenir el dolor postoperatorio, 1 h antes de la intervención, los animales ingerían voluntariamente una mezcla de pasta de cacao y buprenorfina (Buprex[®], Indivior, Irlanda) a una concentración de 0.2 mg/g de Nutella y a una dosis de 0.4 mg/kg de peso corporal. Este procedimiento analgésico está validado en ratas (Goldkuhl et al., 2010) y explicado detalladamente por Abelson et al. (2012).

Tras la ingesta, los animales se llevaron a la sala de operaciones. La inducción de la anestesia se realizaba en una caja de metacrilato (20 x 13 x 13 cm) con una mezcla de isoflurano al 5% (IsoFlo, Ecuphar, Porto Salvo, Portugal) en un flujo de 2 l/min de oxígeno durante 5 min. Después de la inducción, los animales se fijaron al aparato estereotáxico (David Kopf Instruments, California, USA) por el canal auditivo. Durante toda la intervención los animales estaban sobre una manta eléctrica para evitar una posible hipotermia y la anestesia era mantenida con isoflurano al 2% en un flujo de oxígeno de 1 l/min que circulaba por medio de una máscara situada en el hocico del animal. Cuando la rata estaba colocada en el aparato de estereotaxia, se administraba una gota de cloruro de sodio 0.9% (FisioVet[®] B. Braun Medical S.A., España) en cada ojo, se procedía a rasurar la parte superior de la cabeza y se aplicaba lidocaína (Xilonibsa[®], 10 mg/pulsación, Inibsa Dental S.L.U., Barcelona, España) tópicamente. Después de controlar que los animales no tuvieran reflejo interdigital ni palpebral, se realizaba un corte sagital de unos 1.5 cm con un bisturí para dejar expuesto el cráneo. A continuación, se limpiaba usando hisopos y suero fisiológico con el objetivo de facilitar la visualización de las suturas craneales y de los puntos

Bregma y Lambda. Después, se realizaba una craneotomía de 5 mm de diámetro sobre el lóbulo parietal derecho en el punto medio entre Bregma y Lambda y a 3 mm lateral (Paxinos & Watson, 2007), dejando intacta la duramadre (Figura 6).

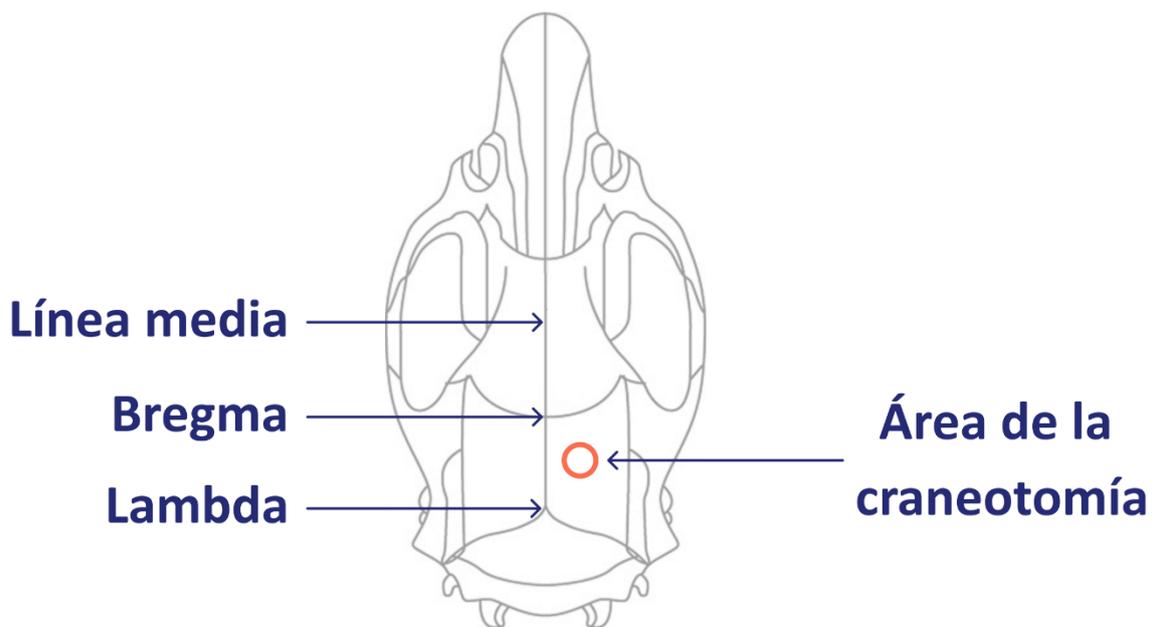


Figura 6. Dibujo de la localización de la craneotomía.

A los animales de los grupos con TBI (Tbi_Sed, Tbi_Exe_8, Tbi_Exe_12 y Tbi_Exe_16) se les realizaba una lesión por medio de un dispositivo de CCI (Pittsburgh Precision Instruments, Inc, USA) con un pistón de 3 mm de diámetro inclinado 15° respecto a la vertical. Dicho pistón impactaba sobre la duramadre a una velocidad de 6 m/s, desplazándola 2 mm durante 150 ms (Figura 7). Tras este paso, se suturaba la piel y se aplicaba una solución bactericida (Topionic, Reig Jofré, S.A., Barcelona España). Los animales de los grupos Sham pasaban por todas las fases de la intervención (anestesia, incisión, craneotomía y sutura) a excepción del impacto mediante el dispositivo mecánico. Se realizaba un control postoperatorio los días 1 y 3 posteriores a la operación, para asegurarse de que no existía ninguna complicación. Tres días después de la intervención

quirúrgica, los animales eran estabulados por parejas en jaulas idénticas a las que estaban antes de la operación con el objetivo de evitar el estrés por aislamiento, controlando siempre que las parejas fueran del mismo sexo. Para la estabulación por parejas se esperaban estos tres días con el fin de evitar que los animales se quitaran los puntos de sutura entre ellos. Los puntos eran extraídos cuando la herida estaba completamente cerrada, aproximadamente entre 7 y 14 días después de la operación.

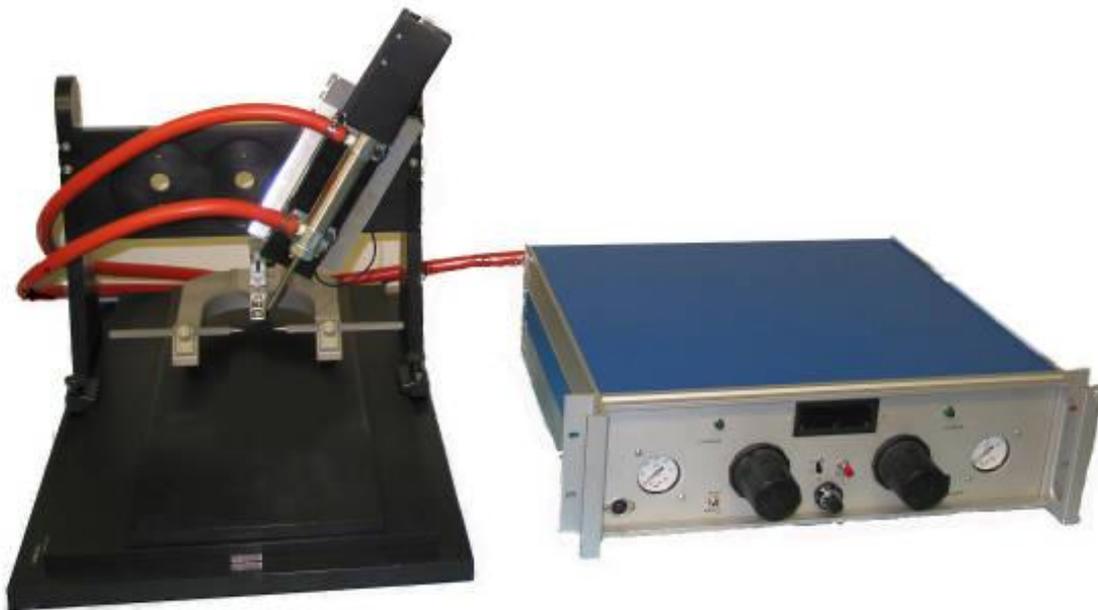


Figura 7. Dispositivo de CCI acoplado al aparato de estereotaxia.

4.4. Ejercicio físico

4.4.1. Ruedas de actividad motorizadas

Cuatro días tras la operación, los animales de los grupos de ejercicio físico comenzaban el tratamiento. Para controlar la intensidad del ejercicio físico se utilizó un modelo de ejercicio forzado en rueda de actividad. Con este fin, se motorizaron ruedas de ejercicio voluntario (37 cm de diámetro, Rat Wheel, ENV-042, Med Associates, Inc., USA) que teníamos en nuestro laboratorio (Figura 8). Para ello se unió, mediante una correa de transmisión, un motor por pasos al eje de la rueda y se utilizó un microprocesador (Arduino® Uno, Arduino SA, Chiasso, Switzerland) para controlar los programas de ejercicio previamente programados. A través de una pantalla se visualizaban los distintos programas de ejercicio que eran seleccionados con tres botones. Además, un potenciómetro permitía bajar en tiempo real la velocidad en caso necesario. En el interior de las ruedas se añadieron unas barreras que impedían que los animales pudieran dar una vuelta completa sujetos a las barras del suelo, asegurando que hacían ejercicio al ritmo marcado por el movimiento automático de las ruedas.

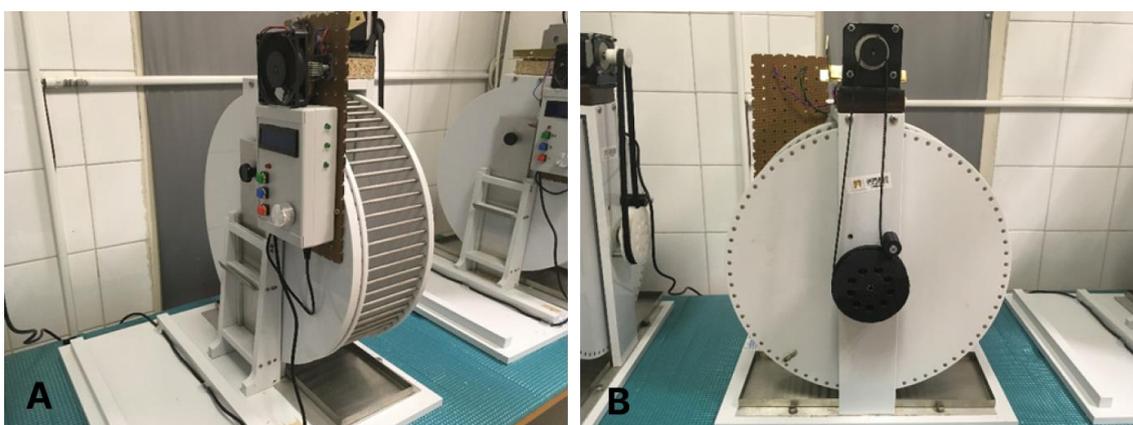


Figura 8. A y B: Ruedas de ejercicio físico voluntario adaptadas para su uso en el modelo de ejercicio forzado.

4.4.2. Programas de ejercicio físico forzado

Los animales en los programas de ejercicio corrían durante 26 min al día, cinco días a la semana, durante 4 semanas. Los primeros días la duración y la intensidad del ejercicio aumentaba progresivamente hasta alcanzar los valores objetivo. Estos entrenamientos eran comunes para todos los animales de los grupos de ejercicio durante los 6 primeros días (Figura 9). El grupo Tbi_Exe_8, a partir del día 7 comenzaba el programa a 8 m/min con el que continuaría hasta el final del experimento. El grupo Tbi_Exe_12 realizaba el programa a 8 m/min el día 7, y el octavo día comenzaba con el programa a 12 m/min. Por último, el grupo Tbi_Exe_16, realizaba el programa a 8 m/min el día 7, del día 8 al 10 el programa de 12 m/min, y el día 11 comenzaba el programa de ejercicio a 16 m/min (Figura 10).

Los animales sedentarios (de los grupos Sham y Tbi_Sed) se introducían en la rueda durante la misma cantidad de tiempo que los animales de los grupos de ejercicio, pero sin seleccionar ningún programa de ejercicio físico y con la rueda bloqueada para que no pudieran correr de manera voluntaria.

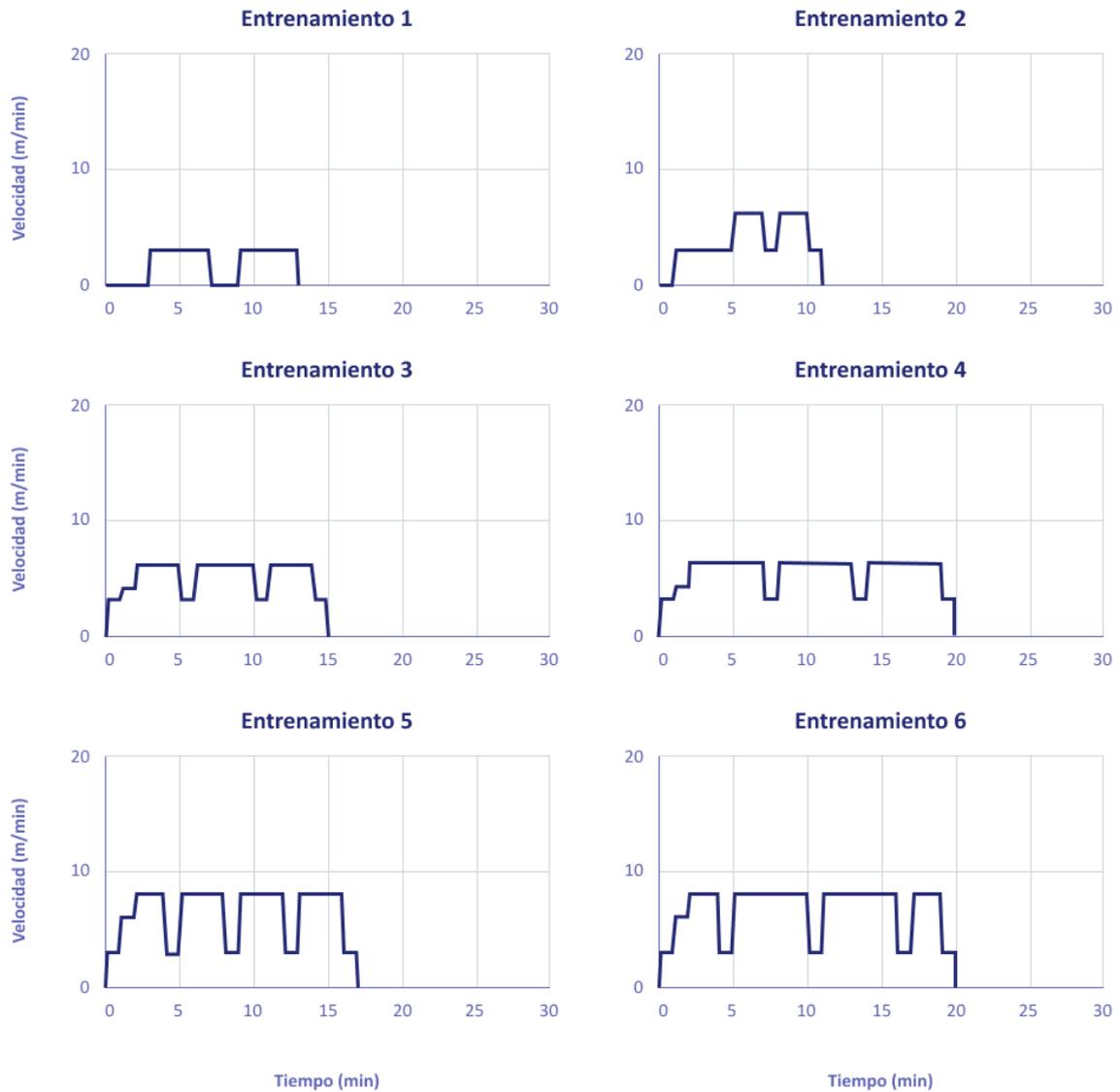


Figura 9. Programa de entrenamiento al ejercicio forzado en la rueda por el que pasaban todos los animales de los grupos de ejercicio desde el día 1 al 6. Los animales de los grupos Sham y Tbi_Sed eran introducidos en la rueda durante la misma cantidad de tiempo, pero con esta bloqueada.

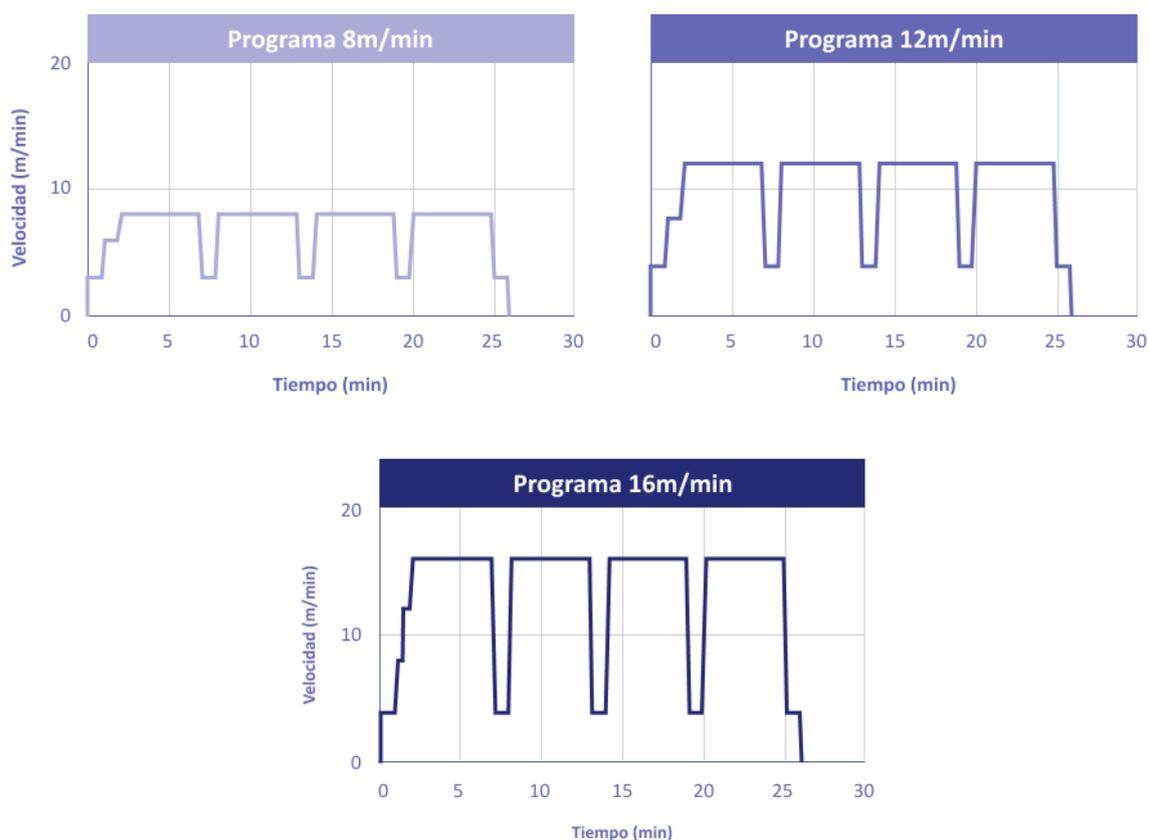


Figura 10. Programas de ejercicio de cada grupo.

4.5. Tarea de reconocimiento de objetos

Durante la última semana de ejercicio, 29 días después de la cirugía, los animales realizaron la ORT. Esta prueba se realizó durante cuatro días y consistió en tres sesiones de habituación a la caja de entrenamiento, una de neofobia, una de adquisición y dos sesiones de retención a las 3 h y 24 h después de la adquisición (Figura 11). Para esta tarea, se utilizó una caja cuadrada (65.5 x 65.5 x 35 cm) abierta por la parte superior, de conglomerado y forrada de melamina de color marrón oscuro. La caja experimental estaba situada dentro de una caja de aislamiento (157 x 71.5 x 71.5 cm) que tenía una luz fluorescente en el techo que proporcionaba 30 luxes de iluminación en el

centro de la base de la caja. Un extractor permitía la renovación del aire y proporcionaba un ruido blanco constante. Todas las sesiones de ORT se grabaron con una cámara de vídeo situada en el centro del techo de la caja de aislamiento.

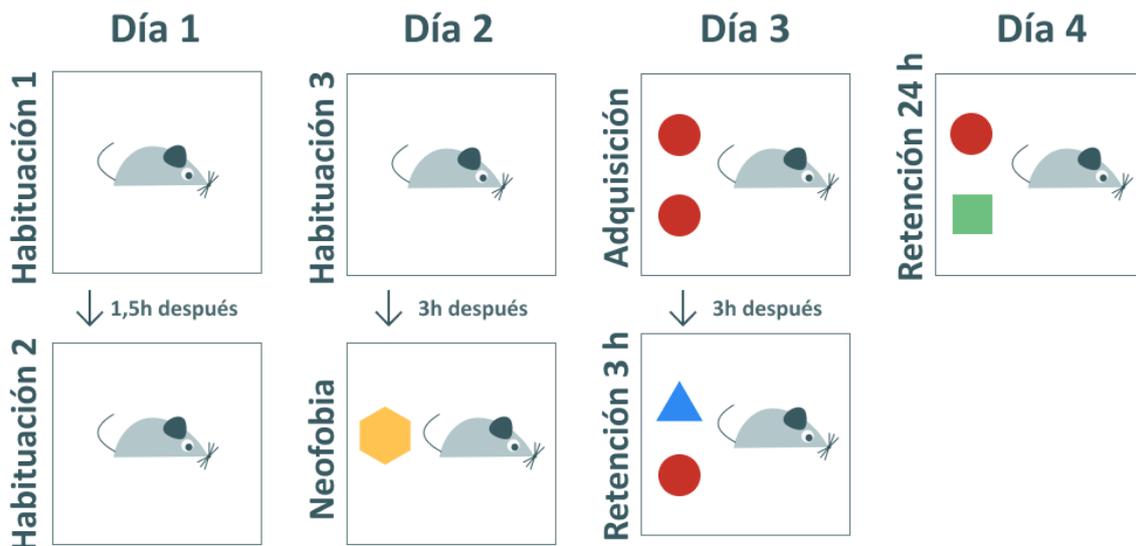


Figura 11. Sesiones de la tarea de memoria de reconocimiento de objetos.

Se utilizaron 4 tipos de objetos (Figura 12): uno para la neofobia (construcción con piezas de Lego) y otros 3 (construcción con piezas de Lego, lata de bebida y colgador) para las sesiones de adquisición y de retención. Estos últimos objetos tenían aproximadamente el mismo tamaño y, en pruebas piloto, se había descartado la posible existencia de preferencia espontánea hacia alguno de ellos.

Para evitar posibles pistas olfativas, la caja y los objetos eran limpiados después de cada sesión con una solución de agua destilada y alcohol al 70%. En la primera sesión, la limpieza se realizaba antes de empezar.

Habitación

Los animales realizaban 3 sesiones de habitación a la caja. En el primer día de la ORT, se realizaban dos sesiones, la segunda 90 min después de la primera. La tercera sesión se realizaba al día siguiente. En estas sesiones, los animales se situaban en el centro de la caja experimental sin ningún objeto. Se dejaba a los animales 12 min de libre exploración. Durante estas sesiones se registró la distancia recorrida.

Neofobia

Pasados 90 min desde la tercera sesión de habitación, se realizaba una prueba de neofobia con el objetivo de evaluar la reactividad emocional ante un objeto nuevo en la caja experimental. En esta sesión, se situaba en el centro de la caja un objeto fijado al suelo con cinta adhesiva para impedir que el animal lo moviera. Se colocaba a la rata dentro de la caja, de espaldas al objeto, y se dejaba 10 min de libre exploración. Se medía la latencia a la primera exploración del objeto y el tiempo total de exploración.

Adquisición

Veinticuatro horas después de la tercera sesión de habitación, se realizaba la sesión de adquisición. Para esta prueba se colocaban 2 objetos idénticos en las esquinas posteriores de la caja experimental a una distancia de 10 cm de las paredes. Los objetos estaban pegados al suelo con cinta adhesiva para impedir que fueran movidos. Se colocaba a la rata dentro de la caja, mirando hacia la pared opuesta a los objetos, y se dejaba que explorara por un período de 15 min. Se medía el tiempo de exploración de cada objeto. Se consideraba exploración si el animal tocaba el objeto con el hocico o cuando su cabeza estaba orientada hacia el objeto y su hocico a menos de 2 cm.

Retención a las 3 horas

Tres horas después de la sesión de adquisición, los animales realizaban la primera sesión de retención. En esta sesión, se colocaba en las esquinas posteriores de la caja experimental y a 10 cm de las paredes, un objeto utilizado en la sesión de adquisición (objeto familiar) y otro diferente que el animal no había visto anteriormente (objeto nuevo). Se colocaba el animal en la caja mirando hacia el lado opuesto a los objetos y se dejaba que los explorase durante 5 min. Se medía el tiempo de exploración a cada objeto. Como esta prueba se basa en la tendencia natural a explorar objetos nuevos, se espera que un animal que recuerde el objeto familiar explore durante más tiempo el objeto nuevo.

Retención a las 24 horas

La segunda sesión de retención se realizaba 24 h después de la adquisición. Se mantenían las mismas condiciones que en la primera sesión de retención en cuanto al procedimiento, el lugar de colocación de los objetos y la duración de la sesión. Se utilizaban 2 objetos: el mismo objeto de la sesión de adquisición (objeto familiar) y otro distinto al presentado en la primera retención (objeto nuevo). Se cuantificaba el tiempo de exploración de cada objeto. La posición del objeto familiar se intercambiaba entre las dos retenciones.

Se utilizaron 3 pares de objetos idénticos durante la adquisición y las dos retenciones, y un objeto distinto en la sesión de neofobia. Con el fin de controlar la posible preferencia tanto por el objeto como por su localización (derecha o izquierda), se contrabalancearon los objetos y su posición de acuerdo con un criterio previamente establecido e idéntico para todos los grupos experimentales.

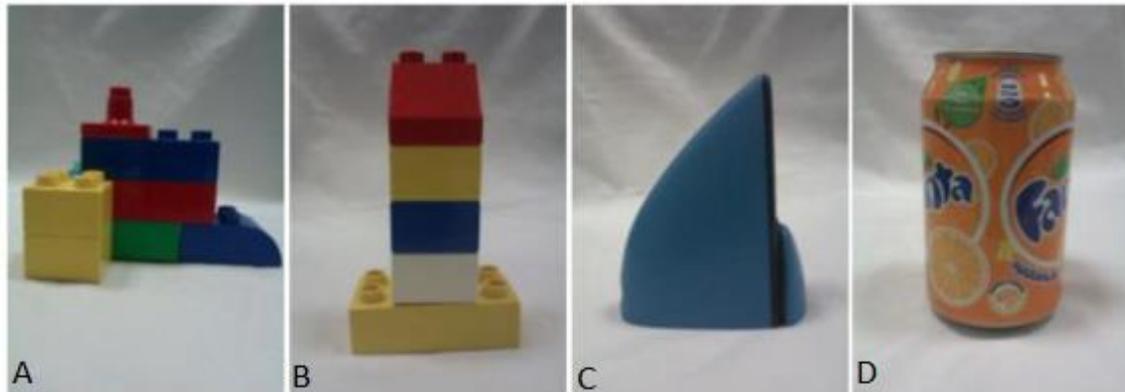


Figura 12. Objetos usados en la tarea de reconocimiento de objetos. A: objeto usado en la neofobia y B, C y D: objetos usados en la adquisición y en las retenciones.

Para analizar los resultados y determinar el recuerdo del animal por el objeto familiar se calculó el siguiente índice de discriminación:

$$\text{Índice de discriminación} = \frac{\text{Tiempo de exploración del objeto nuevo} - \text{Tiempo de exploración del objeto familiar}}{\text{Tiempo de exploración del objeto nuevo} + \text{Tiempo de exploración del objeto familiar}} \times 100$$

Este índice de discriminación permite comparar las diferencias entre el tiempo de exploración del objeto nuevo y del familiar sin la influencia del tiempo total de exploración (Akkerman et al., 2012). Valores similares a cero indican que el animal ha explorado por igual el objeto familiar y el nuevo, por lo que podemos interpretar que no recuerda el objeto familiar. Valores positivos distintos a cero, indican que el animal ha explorado durante más tiempo el objeto nuevo, indicando que recuerda el objeto familiar.

Dado que para esta tarea es imprescindible la exploración de los objetos, se estableció un criterio mínimo de 10 s de exploración en la sesión de adquisición para incluir a los sujetos en los análisis (Akkerman et al., 2012).

4.6. Eutanasia y fijación del tejido

Tras la última sesión de retención, los animales fueron eutanasiados con una sobredosis de pentobarbital sódico (Dolethal, 200 mg/kg, Ventoquinol S.A., Madrid, España) administrada por vía intraperitoneal. Cuando el animal dejaba de presentar reflejo interdigital, se realizaba un corte en la cavidad abdominal para dejar expuesto el corazón y perfundir intracardiácamente con paraformaldehído al 4% (PFA, Sigma-Aldrich, Madrid) mediante una bomba de perfusión (J.P. Selecta, S.A. Barcelona, España) a 28 rpm con un caudal aproximado de 70 ml/min. El caudal se mantenía hasta que el hígado mostraba un aspecto libre de sangre y las extremidades presentaban rigidez muscular, momento en el cual se procedía a extraer el cerebro (Gage et al., 2012; J. Wu et al., 2021).

Los cerebros se dejaban 3 h a 4 °C en solución de PFA al 4% para su postfijación. A continuación, se realizaban tres lavados de 20 min cada uno con tampón fosfato (PB, pH=7.4, 0.1M) y se conservaban a 4 °C en una solución crioprotectora de sacarosa al 30% en PB durante aproximadamente 3 días. Cuando los encéfalos estaban saturados de sacarosa, se congelaban sumergiéndolos en isopentano (2-metilbutano, Sigma-Aldrich) entre -40 °C y -60 °C durante 2 min. Finalmente, se conservaban en un congelador a una temperatura de -80 °C hasta el momento en que habían de ser seccionados. Para poder identificar los hemisferios, se realizaba una señal en el hemisferio contralateral a la lesión.

4.7. Obtención de muestras

Se realizaron diferentes pruebas histológicas. Se utilizó la tinción con violeta de cresilo para la evaluación del volumen hipocampal. Para cuantificar el número de neuronas maduras, se utilizó la técnica inmunohistoquímica de NeuN y para evaluar la neurogénesis utilizamos la inmunohistoquímica de DCX. Estos procedimientos requieren muestras de tejido en condiciones diferentes y, por ello, se recogieron secciones coronales en portaobjetos para la tinción con violeta de cresilo y secciones coronales que se conservaron en *free-floating* en solución anticongelante para las inmunohistoquímicas.

Los cerebros se seccionaron con un grosor de 40 μm mediante un criostato (Shandon Criotome FSE, Thermo Electron Corporation). Se realizaron series de 10 cortes equidistantes a partir de la coordenada -0.72 mm y hasta la coordenada -5.52 mm respecto a Bregma (Paxinos & Watson, 2007). De cada serie, el primer corte se colocaba en un portaobjetos y los 9 restantes se colocaban en placas de pocillos en *free-floating*. Cuando se acababa una serie, se empezaba con la siguiente utilizando el mismo procedimiento: el primer corte se colocaba en el mismo portaobjetos y los cortes restantes en los mismos pocillos. De esta manera, la distancia entre los cortes en cada portaobjetos era la misma y cada pocillo contenía una serie de secciones equidistantes. Todas las muestras obtenidas se conservaban en un congelador a -20 °C en solución anticongelante hasta el momento de su uso.

4.8. Análisis del volumen hipocampal: Violeta de cresilo

En los animales lesionados, se evaluó el volumen del hipocampo dorsal de cada hemisferio a lo largo de toda la extensión de la lesión y en el grupo Sham, desde

la coordenada -1.72 mm hasta -5.52 mm respecto a Bregma (Paxinos & Watson, 2007). Los cortes que estaban en portaobjetos se sumergieron en una solución de violeta de cresilo al 0.5% (Cresyl Violet acetate, Sigma-Aldrich) y posteriormente se deshidrataron pasando por soluciones de etanol a concentraciones crecientes. Finalmente, se cubrieron con un cubreobjetos usando el medio de montaje DPX (Sigma-Aldrich, Madrid, España). Tras este proceso, se dejaron secar durante aproximadamente 3 días y se conservaron a temperatura ambiente.

Las secciones teñidas fueron digitalizadas utilizando un escáner (HP Scanjet G4050, HP Inc., California, USA). Posteriormente, se utilizó el software de análisis de imágenes Fiji (Schindelin et al., 2012) para dibujar el contorno del hipocampo dorsal de cada hemisferio (Figura 13) y obtener el área en mm² del hipocampo en cada sección. A partir de estas áreas, se estimó el volumen de los hipocampos utilizando el método de Cavalieri. Este método se emplea para obtener una estimación del volumen de una estructura a partir de imágenes paralelas bidimensionales de la misma (Karaca et al., 2020). Consiste en multiplicar la superficie de la región de interés en una sección plana por la distancia hasta la siguiente sección, permitiendo inferir el volumen de la estructura entre ambas secciones. Al sumar los resultados de todas las secciones, se infiere el volumen total de la estructura de interés.

Para determinar la pérdida de volumen hipocampal ipsilateral, sin la influencia del número de secciones analizadas en cada sujeto, se calculó la ratio interhemisférica del volumen hipocampal (relación, en porcentaje, entre el volumen del hipocampo ipsilateral y el volumen del hipocampo del hemisferio contralateral). Valores estadísticamente inferiores a 100 indican que el volumen de la estructura es más pequeño en el hemisferio ipsilateral. Valores similares a 100 indican que no hay diferencias en el volumen entre los dos hemisferios.

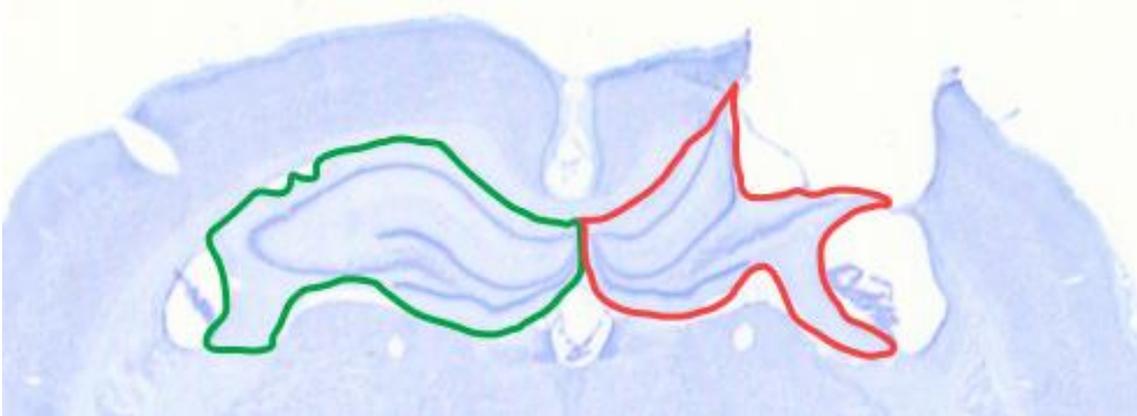


Figura 13: Ejemplo del área cuantificada del hipocampo dorsal. En verde el contorno del hipocampo contralateral a la lesión y en rojo el del ipsilateral.

4.9. Análisis de la densidad neuronal y de la neurogénesis

Para determinar la pérdida de neuronas maduras asociada a la lesión, se realizó la inmunohistoquímica NeuN en el hilus del giro dentado y en la corteza perirrinal que son regiones implicadas en la ORT (Balderas et al., 2015). Esta proteína es un marcador específico de neuronas maduras que se localiza en el núcleo y citoplasma perinuclear de la mayoría de las neuronas maduras del SNC (Duan et al., 2016).

Para determinar la neurogénesis en el giro dentado del hipocampo se realizó el procesamiento inmunohistoquímico de DCX. La DCX es una fosfoproteína no observable en las neuronas adultas y que se asocia a microtúbulos en neuronas inmaduras. Esta proteína se expresa desde pocos días tras del nacimiento de la nueva célula, hasta unas 2-3 semanas (Zhao et al., 2008).

4.9.1. Inmunohistoquímica de NeuN y de DCX

Para cada sujeto y marcador utilizado se realizó un muestreo aleatorio de la serie de secciones coronales. Los procedimientos se realizaron con el método de la estreptavidina-biotina y el revelado con DAP y níquel. Tras seleccionar los cortes en *free floating*, estos se pasaban por 5 lavados de 5 min con TBS (Tris Buffer Saline, HCl 50mmol/L, pH 7.6) para eliminar los restos de anticongelante en el que se conservaban. Posteriormente, se sumergían en una solución de H₂O₂ (0.3%), metanol (70%) y agua destilada, con el objetivo de hacer reaccionar las peroxidasas endógenas del tejido. Nuevamente, se pasaban por baños de TBS y TBS-T (TBS y un 1% de Triton, Thermo Scientific Chemicals) para luego realizar una incubación en una solución de sérum fetal bovino al 10% (Fetal Bovine Serum, Sigma Aldrich) y BSA al 0.3% (Bovine Serum Albumin, Sigma Aldrich) en TBS-T con el objetivo de bloquear uniones inespecíficas. A continuación, se realizaba la incubación con el anticuerpo primario (NeuN: mouse anti-NeuN, MAB377, Sigma, concentración 1:500; DCX: rabbit anti-DCX, Ab18723, Abcam, concentración 1:4000) durante toda la noche a 4 °C y en agitación a 80 rpm. En cada inmunohistoquímica se colocaba un pocillo que servía como control con secciones de varios sujetos distintos y sin anticuerpo primario. El marcaje en estas secciones de control indicaría que el anticuerpo secundario no se une exclusivamente al anticuerpo primario y, por tanto, invalidaría la prueba. A día siguiente, se realizaba una serie de lavados con TBS-T y a continuación la incubación con el anticuerpo secundario (NeuN: goat anti-mouse IgG, SAB4600004, Sigma, concentración 1:1000; DCX: goat anti-rabbit, A16114, Fisher, concentración 1:500) durante 1 h. Después de nuevos lavados en TBS-T, se procedía a la incubación con estreptavidina (1:3600, Streptavidin-HRP, PerkinElmer, Boston, USA) diluida en TBS-T, que se une a la biotina del anticuerpo secundario para el posterior revelado en DAB (DAB substrate kit

peroxidase with nickel, Vector Laboratories, California, USA). Tras nuevos lavados, los cortes eran montados en portaobjetos y deshidratados con disoluciones de etanol progresivamente más altas (50%, 70%, 95% y 100%). Finalmente se aplicaba HistoClear (HistoClear, national diagnostic, Georgia, USA) y se colocaba el cubreobjetos usando como medio de montaje Histomount (Histomount, national diagnostic, Georgia, USA).

4.9.2. Cuantificación de células NeuN+

Para la cuantificación de células NeuN+, se tomaron microfotografías del hilus del giro dentado del hipocampo y de la corteza perirrinal con una cámara fotográfica (Canon EOS 6D, Canon Inc., Tokio, Japón) unida a un microscopio (Zeiss Axio Imager.A1, Zeiss Group, Oberkochen, Alemania) con un objetivo de x10. En total se utilizaron entre 2 y 5 secciones de cada sujeto entre las coordenadas -2.76 a -4.20 mm para el hipocampo y -2.92 a -4.80 para la corteza perirrinal, respecto a Bregma (Paxinos & Watson, 2007). De cada sección se realizaron fotografías parciales para posteriormente realizar un mosaico con el programa de análisis de imágenes Fiji (Schindelin et al., 2012) y obtener una panorámica completa de cada estructura (Figura 14).

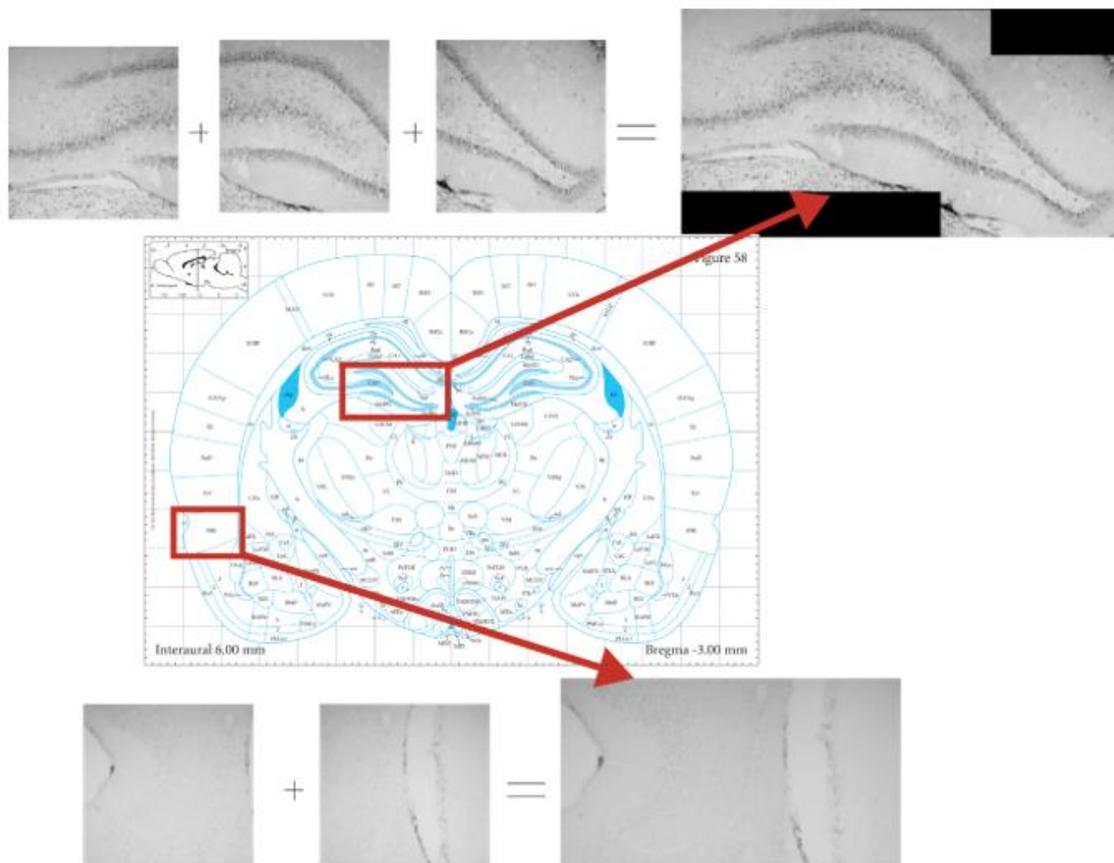


Figura 14. Proceso para la obtención de una panorámica de las regiones de interés a partir de las microfotografías parciales.

Para la cuantificación de células NeuN+ en la corteza perirrinal se realizó una estimación aplicando los principios de estereología. Mediante el software de análisis de imágenes Fiji trazamos el área de la región de interés (ROI) de la corteza perirrinal y se realizó un muestreo aleatorio y sistemático de la misma, generando una cuadrícula posicionada aleatoriamente sobre la imagen. Se seleccionaba 1 de cada 25 cuadrantes (disectores) para su cuantificación (Figura 15). Cada disector tenía un área de $1246 \mu\text{m}^2$. Se cuantificaron el número de disectores que se encontraban en el interior de la ROI y el número de células en el interior de esos disectores. En el caso de las células que tocaban un borde de

los disectores, únicamente se contaban las que coincidían con el borde superior y el borde derecho (lados de inclusión). Se calculó la densidad neuronal en cada sección mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Densidad neuronal corteza perirrinal} = \frac{\text{Número de neuronas contadas}}{\text{Número de disectores} * \text{Área de un disector}}$$

Para la cuantificación de células NeuN+ en el hilus del hipocampo, dada su poca densidad neuronal, se cuantificaron manualmente todas las neuronas en el interior de la ROI. Utilizando la superficie de la ROI y la cantidad de neuronas se calculó la densidad neuronal de cada sección mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad neuronal hipocampo} = \frac{\text{Número de neuronas contadas}}{\text{Área de la estructura}}$$

Después de la obtención de la densidad neuronal, calculamos para cada corte de cada estructura la ratio interhemisférica siguiendo la siguiente ecuación:

$$\text{Ratio interhemisférica} = \frac{\text{Densidad neuronal de la estructura ipsilateral}}{\text{Densidad neuronal de la estructura contralateral}} \times 100$$

Finalmente, se calculó la ratio interhemisférica media para cada estructura y sujeto.

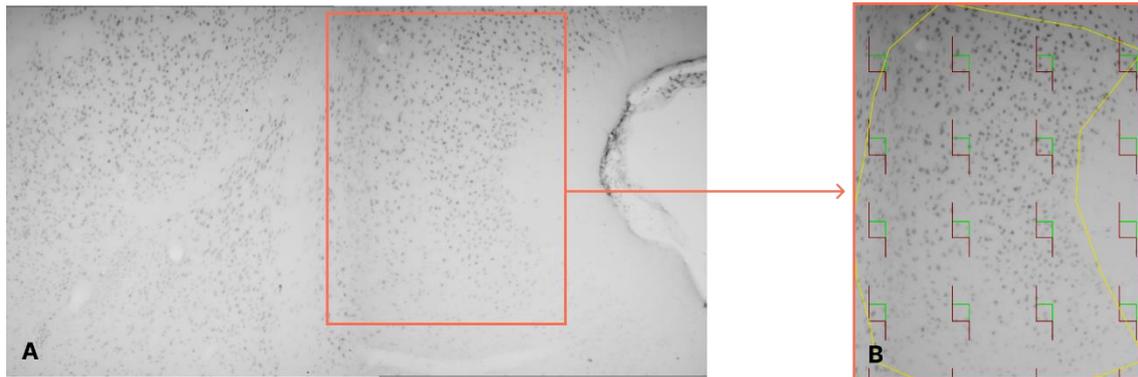


Figura 15. A: Imagen de la corteza perirrinal y B: detalle de la ROI establecida (amarillo) y de los disectores con los lados de inclusión (verde) y exclusión (rojo).

4.9.3. Cuantificación de células DCX+

La cuantificación de células DCX+ en el giro dentado del hipocampo contralateral se realizó directamente mientras se visualizaban los cortes a través de la cámara DSLR (Canon EOS 6D, Canon Inc., Tokio, Japón) acoplada a un microscopio (Zeiss Axio Imager.A1, Zeiss Group, Oberkochen, Alemania) y utilizando un objetivo de x10. Se seleccionaron entre 3 y 4 cortes de cada sujeto entre las coordenadas -2.76 mm y -4 mm respecto a Bregma (Paxinos & Watson, 2007) y se contaron las células marcadas (Figura 16). Para cada sujeto se calculó la media de células DCX+.

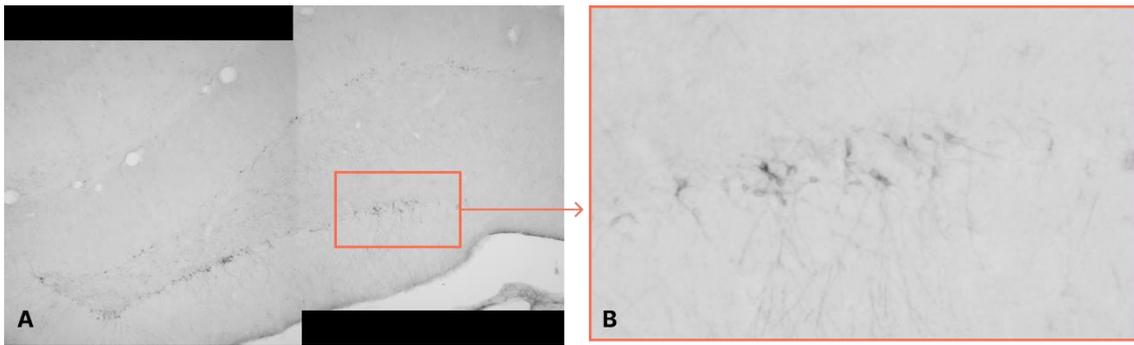


Figura 16. A: Imagen del giro dentado del hipocampo con marcaje DCX y B: magnificación para la cuantificación de células DCX+.

4.10. Análisis de los datos

Los datos fueron analizados con el programa R Versión 3.6.3 (R Core Team, 2022) con el apoyo del software jamovi (The jamovi project, 2023). Se realizaron gráficos box-plot para detectar la existencia de outliers en cada una de las variables estudiadas que, si fueron posteriormente confirmados con pruebas t-test para una muestra, se eliminaron de los análisis correspondientes. Se realizaron pruebas t-test para una muestra para determinar si los índices de discriminación y las ratios interhemisféricas eran estadísticamente diferentes a su valor de referencia. Para analizar las diferencias entre grupos se realizaron, separadamente en machos y hembras, análisis de la variancia (ANOVA) aplicando la corrección de Finner (Finner, 1993) para comparar todos los grupos lesionados con los correspondientes grupos sham, y los grupos con ejercicio con los correspondientes grupos lesionados sedentarios. Para estudiar la evolución entre sesiones de habituación en la ORT, utilizamos un ANOVA de medidas repetidas.

5. Resultados

5.1. Sujetos

De la muestra inicial de 136 sujetos, 5 sujetos murieron durante la intervención quirúrgica y 1 posteriormente. La muestra final fue de 130 sujetos (machos: Sham n=13, Tbi_Sed n= 16, Tbi_Exe_8 n= 12, Tbi_Exe_12 n= 15 y Tbi_Exe_16 n= 12; hembras: Sham n= 14, Tbi_Sed n= 12, Tbi_Exe_8 n= 12, Tbi_Exe_12 n= 12 y Tbi_Exe_16 n= 12).

5.2. Evolución del peso

La evolución del peso fue similar en todos los grupos. En machos no observamos ningún efecto del grupo experimental, pero sí de la semana ($F_{(4,256)}=1710.325$, $p<0.001$). Observamos aumentos de peso entre semanas consecutivas [Semana 1-Semana 2 ($p<0.001$), Semana 2-Semana 3 ($p<0.001$), Semana 3-Semana 4 ($p<0.001$) y Semana 4-Semana 5 ($p<0.001$)]. En hembras encontramos una evolución similar [factor semana ($F_{(4,212)}=936.507$, $p<0.001$)], con aumentos entre semanas consecutivas [Semana 1-Semana 2 ($p<0.001$), Semana 2-Semana 3 ($p<0.001$), Semana 3-Semana 4 ($p<0.001$) y Semana 4-Semana 5 ($p<0.001$)] (Figuras 17 y 18).

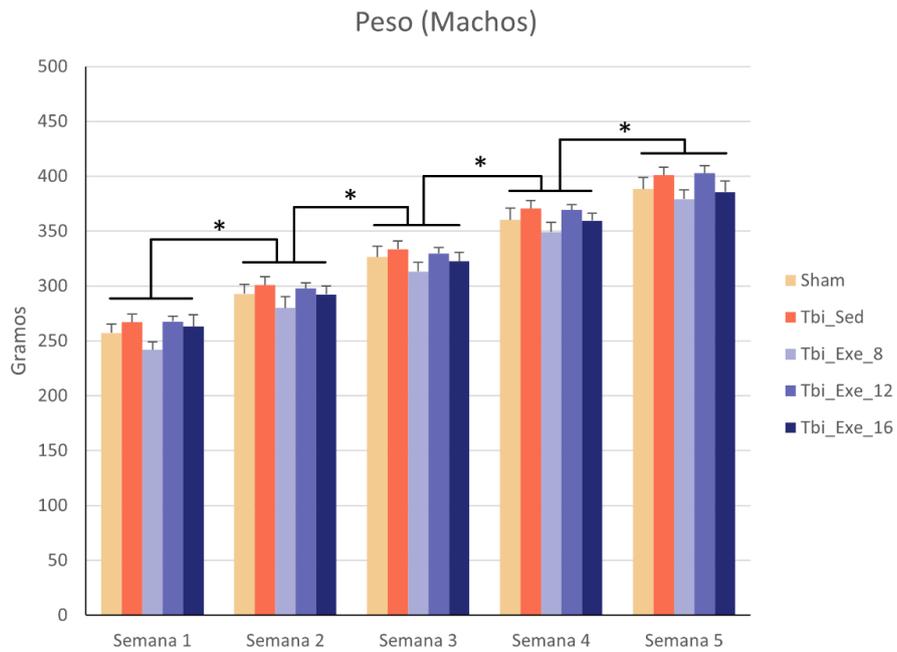


Figura 17. Medias + SEM del peso a lo largo del experimento, en machos. Diferencias significativas marcadas con * ($p < 0.05$) (Sham $n=13$, Tbi_Sed $n=16$, Tbi_Exe_8 $n=12$, Tbi_Exe_12 $n=15$ y Tbi_Exe_16 $n=12$).

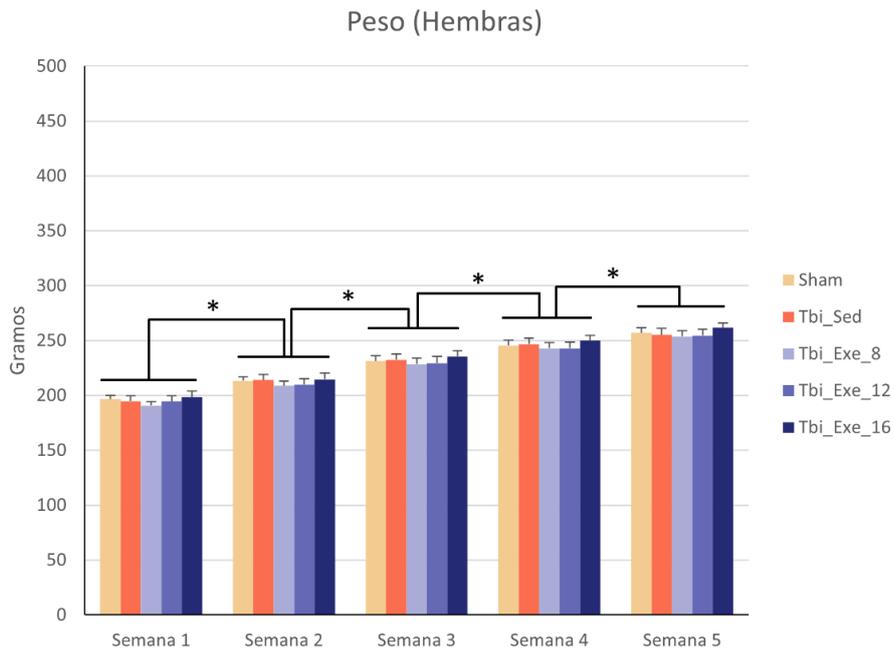


Figura 18. Medias + SEM del peso a lo largo del experimento, en hembras. Diferencias significativas marcadas con * ($p < 0.05$) (Sham $n=14$, Tbi_Sed $n=12$, Tbi_Exe_8 $n=12$, Tbi_Exe_12 $n=12$ y Tbi_Exe_16 $n=12$).

5.3. Tarea de reconocimiento de objetos

5.3.1. Habituaación

En machos, el ANOVA de medidas repetidas mostró una evolución significativa de la distancia recorrida a lo largo de las sesiones de habituación ($F_{(2,126)}=108.66$, $p<0.001$) (Figura 19) que depende de la condición experimental ($F_{(8,126)}=2.79$, $p=0.007$). Sin embargo, una vez realizadas las correcciones por comparaciones múltiples, se observó que todos los grupos disminuían la distancia recorrida entre la primera y segunda sesiones de habituación [Sham ($p=0.01$), Tbi_Sed ($p=0.01$), Tbi_Exe_8 ($p=0.01$), Tbi_Exe_12 ($p=0.01$), Tbi_Exe_16 ($p=0.01$)] y la mantenían entre la segunda y tercera sesiones.

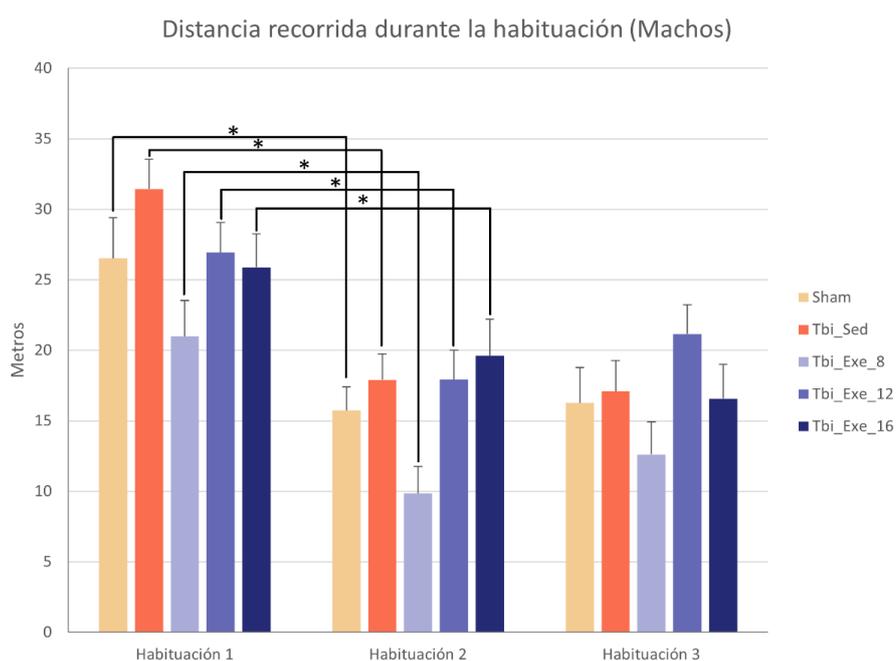


Figura 19. Medias + SEM de la distancia recorrida en las sesiones de habituación, en machos.

*: diferencias significativas (Sham $n=13$, Tbi_Sed $n=16$, Tbi_Exe_8 $n=12$, Tbi_Exe_12 $n=15$ y Tbi_Exe_16 $n=12$).

En el caso de las hembras (Figura 20) sólo se observó un efecto significativo del factor sesión ($F_{(2,112)}=757.51, p<0.001$). Todos los grupos redujeron la distancia recorrida entre la habituación 1 y la habituación 2 ($p<0.001$), pero no entre las sesiones de habituación 2 y 3.

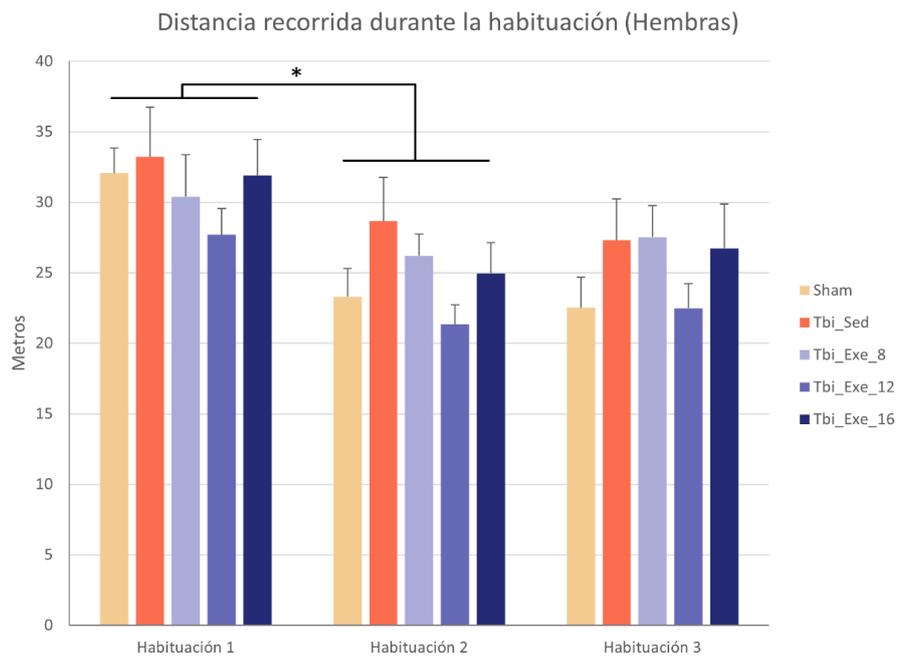


Figura 20. Medias + SEM de la distancia recorrida en las sesiones de habituación, en hembras.

*: diferencias significativas (Sham n=14, Tbi_Sed n=12, Tbi_Exe_8 n=12, Tbi_Exe_12 n=12 y Tbi_Exe_16 n=12).

5.3.2. Neofobia

Tanto en machos como en hembras, no se observaron diferencias entre grupos ni en el tiempo de exploración (Figura 21) ni en la latencia de la primera exploración (Figura 22).

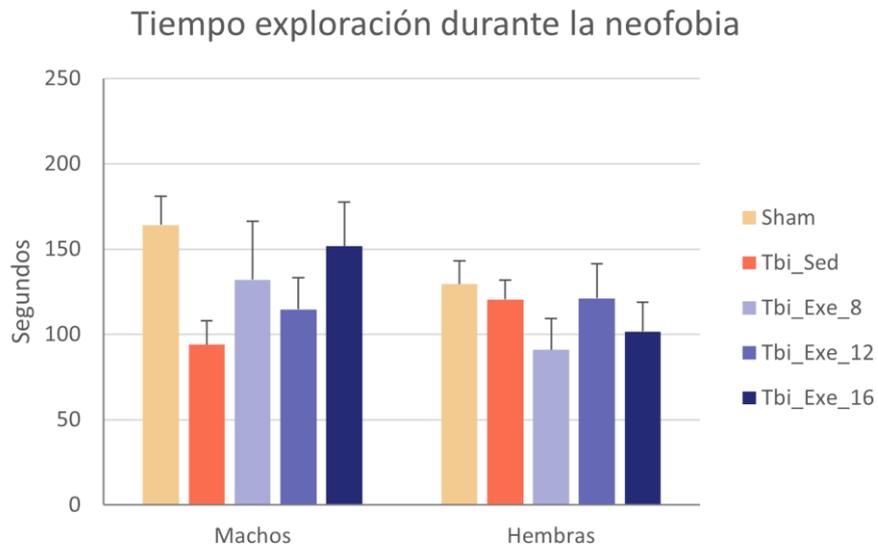


Figura 21. Medias + SEM del tiempo de exploración (Machos: Sham n=13, Tbi_Sed n=15, Tbi_Exe_8 n=11, Tbi_Exe_12 n=15 y Tbi_Exe_16 n=12. Hembras: Sham n=14, Tbi_Sed n=8, Tbi_Exe_8 n=12, Tbi_Exe_12 n=12 y Tbi_Exe_16 n=12).

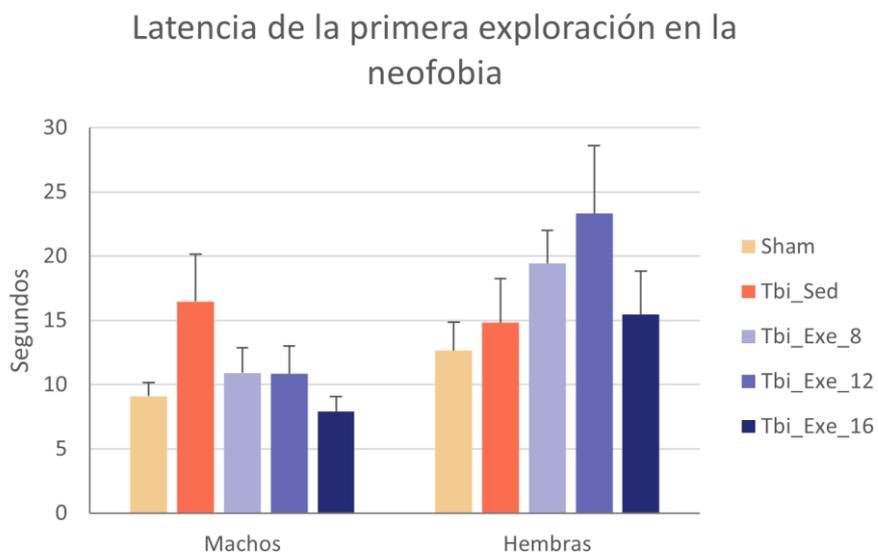


Figura 22. Medias + SEM de la latencia de la primera exploración durante la neofobia (Machos: Sham n=11, Tbi_Sed n=13, Tbi_Exe_8 n=10, Tbi_Exe_12 n=13 y Tbi_Exe_16 n=11. Hembras: Sham n=14, Tbi_Sed n=11, Tbi_Exe_8 n=12, Tbi_Exe_12 n=12 y Tbi_Exe_16 n=11).

5.3.3. Adquisición

No se encontró ningún efecto significativo al analizar el tiempo de exploración total durante la adquisición (Figura 23).

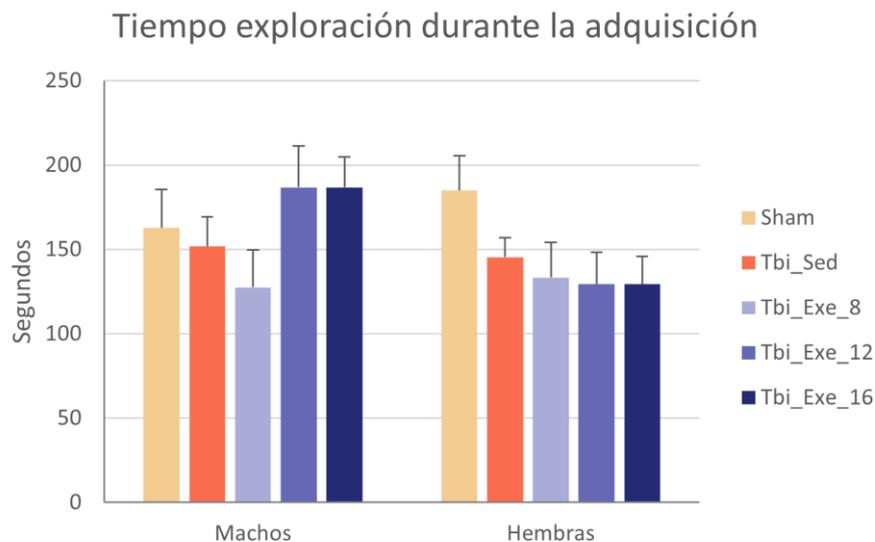


Figura 23. Medias + SEM del tiempo de exploración durante la adquisición (Machos: Sham n=13, Tbi_Sed n=16, Tbi_Exe_8 n=12, Tbi_Exe_12 n=15 y Tbi_Exe_16 n=12. Hembras: Sham n=14, Tbi_Sed n=11, Tbi_Exe_8 n=12, Tbi_Exe_12 n=12 y Tbi_Exe_16 n=12).

5.3.4. Retención a las 3 h

Todos los grupos experimentales, excepto los Tbi_Sed de cada sexo, presentaron índices de discriminación superiores a 0 [machos: Sham ($t_{(12)}=6.43$, $p<0.001$), Tbi_Exe_8 ($t_{(9)}=4.55$, $p=0.001$), Tbi_Exe_12 ($t_{(14)}=5.51$, $p<0.001$) y Tbi_Exe_16 ($t_{(9)}=4.44$, $p=0.002$); hembras: Sham ($t_{(12)}=3.70$, $p=0.003$), Tbi_Exe_8 ($t_{(11)}=7.39$, $p<0.001$), Tbi_Exe_12 ($t_{(10)}=4.02$, $p=0.002$) y Tbi_Exe_16 ($t_{(9)}=6.06$, $p<0.001$)] (Figura 24).

En machos se detectaron diferencias entre grupos ($F_{(4,59)}=2.60$, $p=0.045$), concretamente el índice de discriminación del grupo Tbi_Sed fue inferior al del Sham ($p=0.021$).

El análisis en hembras también detectó diferencias entre grupos ($F_{(4,53)}=5.05$, $p=0.002$). En concreto, los grupos con lesión y tratados con ejercicio físico presentaron un índice de discriminación superior al grupo Tbi_Sed [Tbi_Exe_8 ($p=0.007$), Tbi_Exe_12 ($p=0.007$), Tbi_Exe_16 ($p=0.007$)].

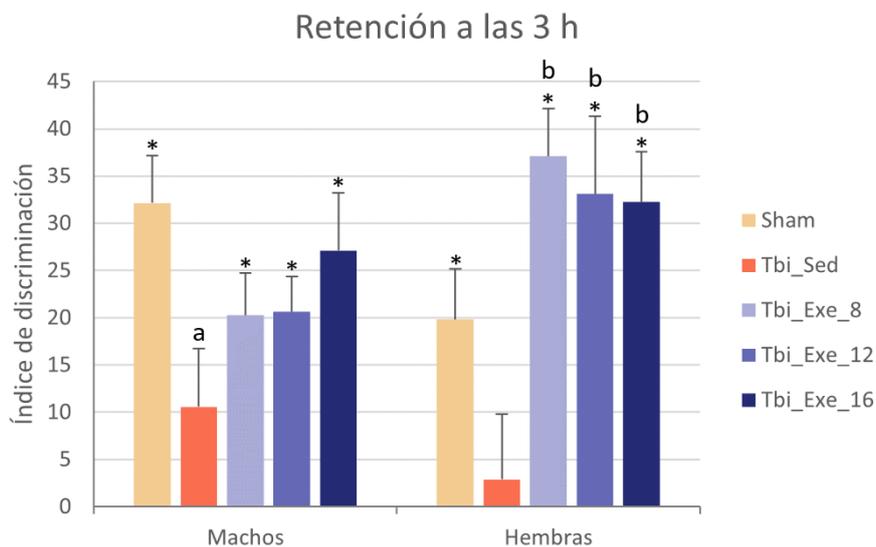


Figura 24. Medias + SEM del índice de discriminación de la retención a las 3 h. *: Diferencias significativas respecto al valor de referencia (0); a: diferencias significativas respecto al grupo Sham de su mismo sexo; b: diferencias significativas respecto al grupo Tbi_Sed de su mismo sexo (Machos: Sham n=13, Tbi_Sed n=16, Tbi_Exe_8 n=10, Tbi_Exe_12 n=15 y Tbi_Exe_16 n=10. Hembras: Sham n=13, Tbi_Sed n=12, Tbi_Exe_8 n=12, Tbi_Exe_12 n=11 y Tbi_Exe_16 n=10).

5.3.5. Retención a las 24 h

Los índices de discriminación (Figura 25) fueron distintos de 0 en los grupos Sham ($t_{(12)}=4.19$, $p=0.001$), Tbi_Exe_8 ($t_{(8)}=8.23$, $p<0.001$) y Tbi_Exe_12 ($t_{(13)}=3.64$, $p=0.003$) en machos, y en todos los grupos salvo el Tbi_Sed en hembras [Sham ($t_{(12)}=4.72$, $p<0.001$), Tbi_Exe_8 ($t_{(11)}=2.76$, $p=0.018$), Tbi_Exe_12 ($t_{(10)}=11.09$, $p<0.001$) y Tbi_Exe_16 ($t_{(8)}=6.26$, $p<0.001$)].

En cuanto al ANOVA, en machos encontramos diferencias entre grupos ($F_{(4,57)}=4.03$, $p=0.006$), en concreto el índice de discriminación del grupo Tbi_Sed fue inferior al de los grupos Sham ($p=0.048$) y Tbi_Exe_8 ($p=0.007$). En hembras, también se observaron diferencias entre grupos ($F_{(4,51)}=4.03$, $p=0.006$), concretamente el índice de discriminación del grupo Tbi_Sed fue inferior al de los grupos Sham ($p=0.010$) y Tbi_Exe_12 ($p=0.007$).

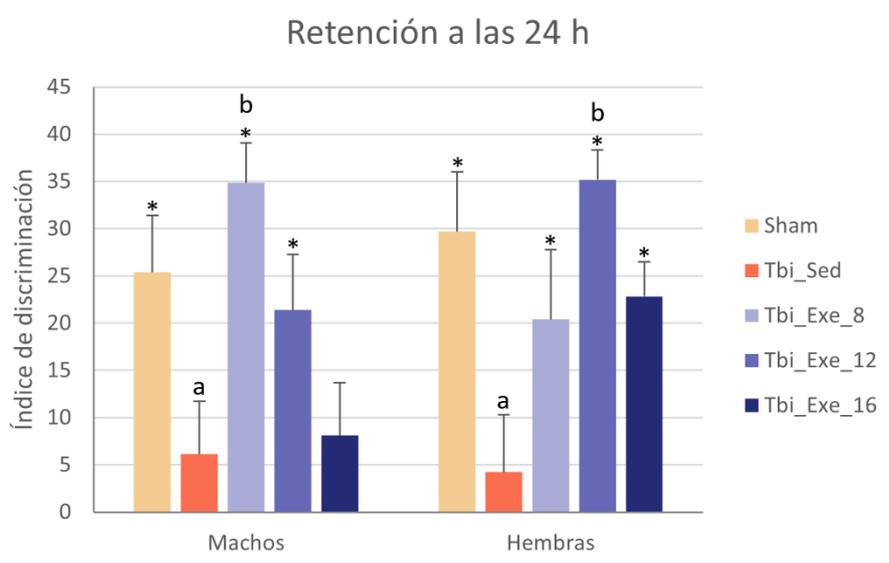


Figura 25. Medias + SEM del índice de discriminación de la retención a las 24 h. *: Diferencias significativas respecto al valor de referencia (0); a: diferencias significativas respecto al grupo Sham de su mismo sexo; b: diferencias significativas respecto al grupo Tbi_Sed de su mismo sexo (Machos: Sham $n=13$, Tbi_Sed $n=16$, Tbi_Exe_8 $n=9$, Tbi_Exe_12 $n=14$ y Tbi_Exe_16 $n=10$. Hembras: Sham $n=13$, Tbi_Sed $n=11$, Tbi_Exe_8 $n=12$, Tbi_Exe_12 $n=11$ y Tbi_Exe_16 $n=9$).

5.4. Volumen del hipocampo

Las pruebas t de Student para una muestra indicaron que el volumen del hipocampo dorsal ipsilateral (Figuras 26 y 27) era significativamente menor al del contralateral en todos los grupos con TBI [machos: Tbi_Sed ($t_{(13)}=-4.45$, $p<0.001$), Tbi_Exe_8 ($t_{(11)}=-7.92$, $p<0.001$), Tbi_Exe_12 ($t_{(14)}=-9.21$, $p<0.001$), Tbi_Exe_16 ($t_{(11)}=-8.29$, $p<0.001$); hembras: Tbi_Sed ($t_{(11)}=-14.48$, $p<0.001$), Tbi_Exe_8 ($t_{(11)}=-8.85$, $p<0.001$), Tbi_Exe_12 ($t_{(11)}=-9.11$, $p<0.001$), Tbi_Exe_16 ($t_{(10)}=-8.62$, $p<0.001$)].

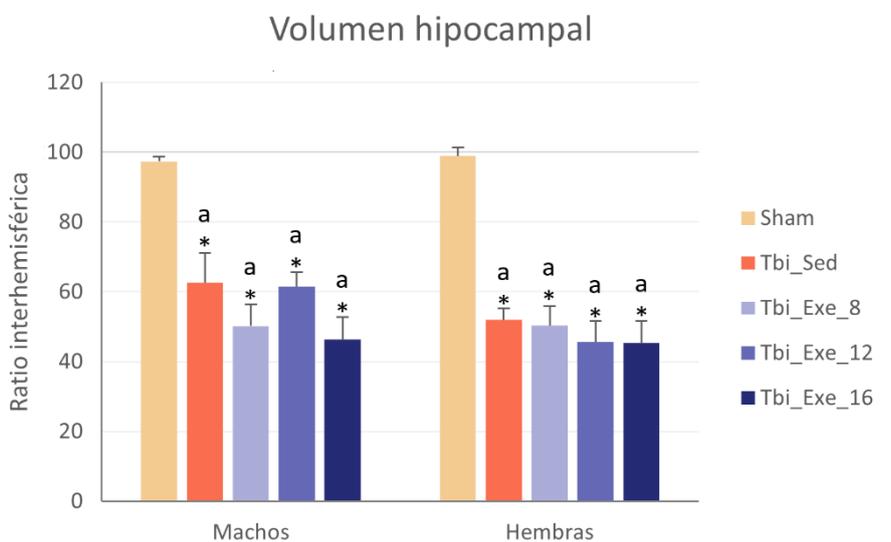


Figura 26. Medias + SEM de la ratio interhemisférica del volumen hipocampal. *: Diferencias significativas respecto al valor de referencia (100); a: diferencias significativas respecto al grupo Sham de su mismo sexo (Machos: Sham n=12, Tbi_Sed n=14, Tbi_Exe_8 n=12, Tbi_Exe_12 n=15 y Tbi_Exe_16 n=12. Hembras: Sham n=14, Tbi_Sed n=12, Tbi_Exe_8 n=12, Tbi_Exe_12 n=12 y Tbi_Exe_16 n=11).

Los ANOVA mostraron diferencias entre grupos (machos: $F_{(4,60)}=10.64$, $p<0.001$, hembras: $F_{(4,56)}=24.59$, $p<0.001$). En concreto, todos los grupos con lesión

mostraron una reducción del volumen del hipocampo ipsilateral en relación con el contralateral [machos: Sham-Tbi_Sed ($p=0.007$), Sham-Tbi_Exe_8 ($p=0.007$), Sham-Tbi_Exe_12 ($p=0.007$), Sham-Tbi_Exe_16 ($p=0.007$); hembras: Sham-Tbi_Sed ($p=0.007$), Sham-Tbi_Exe_8 ($p=0.007$), Sham-Tbi_Exe_12 ($p=0.007$), Sham-Tbi_Exe_16 ($p=0.007$)].

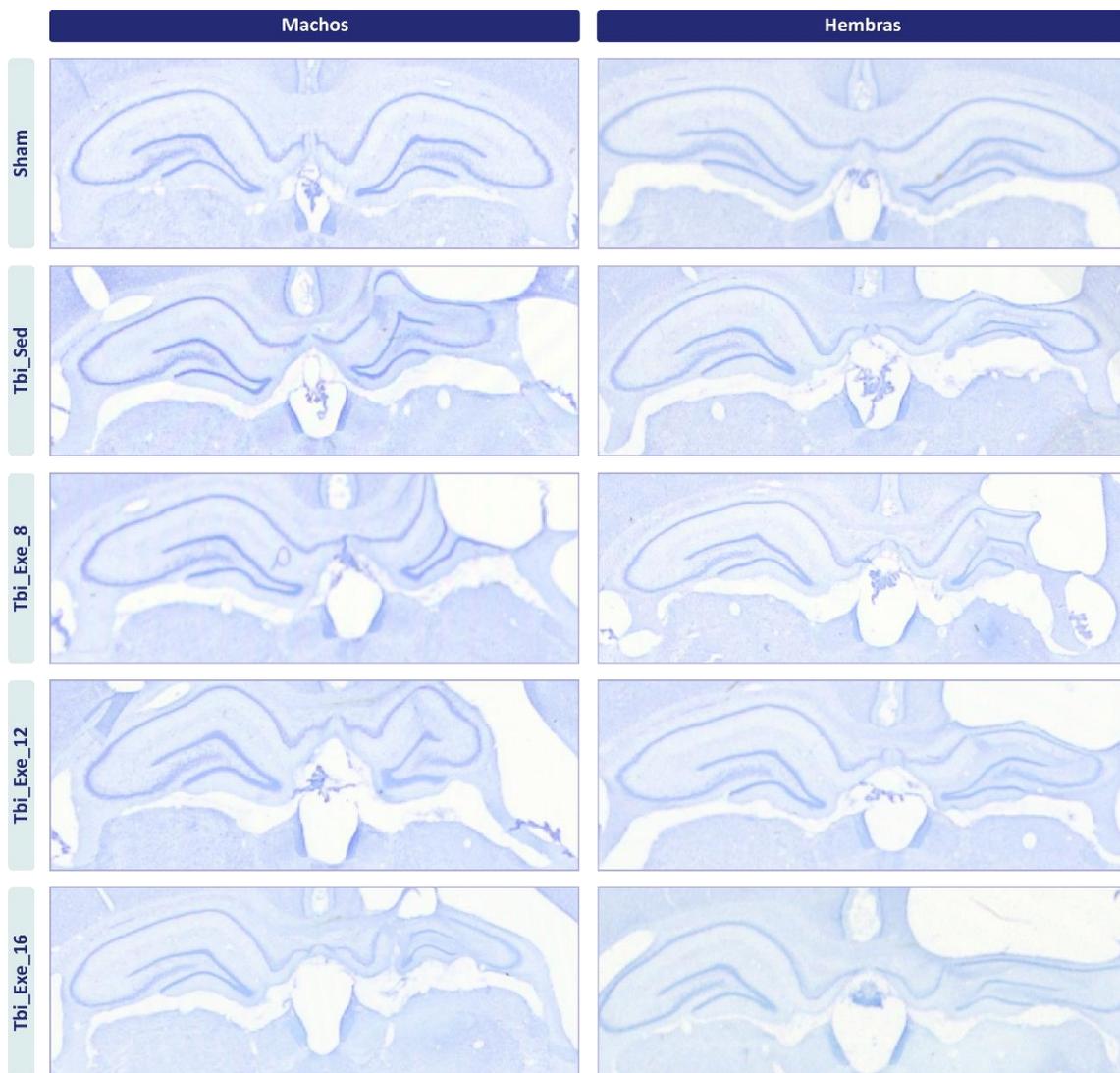


Figura 27. Imágenes representativas de los hipocampos dorsales de cada grupo.

5.5. Densidad neuronal

5.5.1. Células NeuN+ en la corteza perirrinal

En lo que respecta a la corteza perirrinal ningún grupo mostró una ratio interhemisférica distinta de 100. Además, no se observaron diferencias entre grupos ni en machos ni en hembras (Figuras 28 y 29).

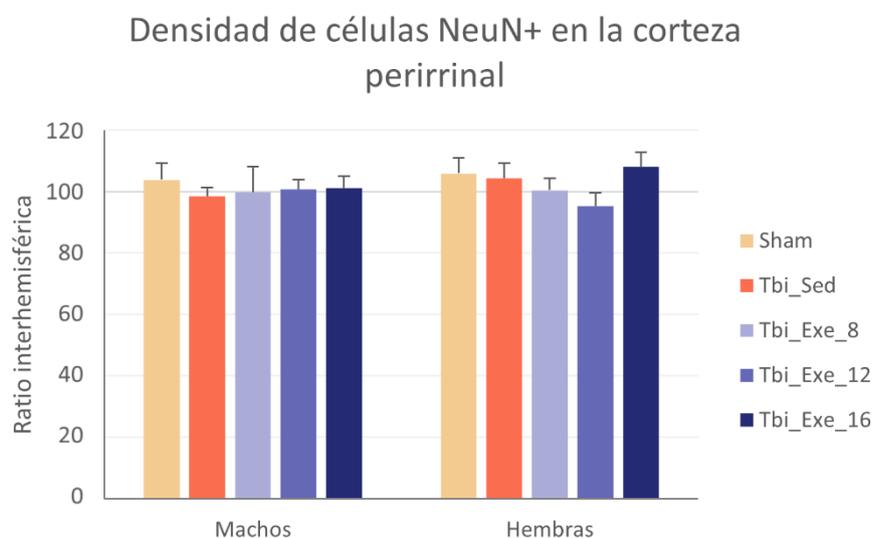


Figura 28. Medias + SEM de la ratio interhemisférica de la densidad de células NeuN+ en la corteza perirrinal (Machos: Sham n=11, Tbi_Sed n=11, Tbi_Exe_8 n=10, Tbi_Exe_12 n=11 y Tbi_Exe_16 n=8. Hembras: Sham n=9, Tbi_Sed n=10, Tbi_Exe_8 n=9, Tbi_Exe_12 n=11 y Tbi_Exe_16 n=8).

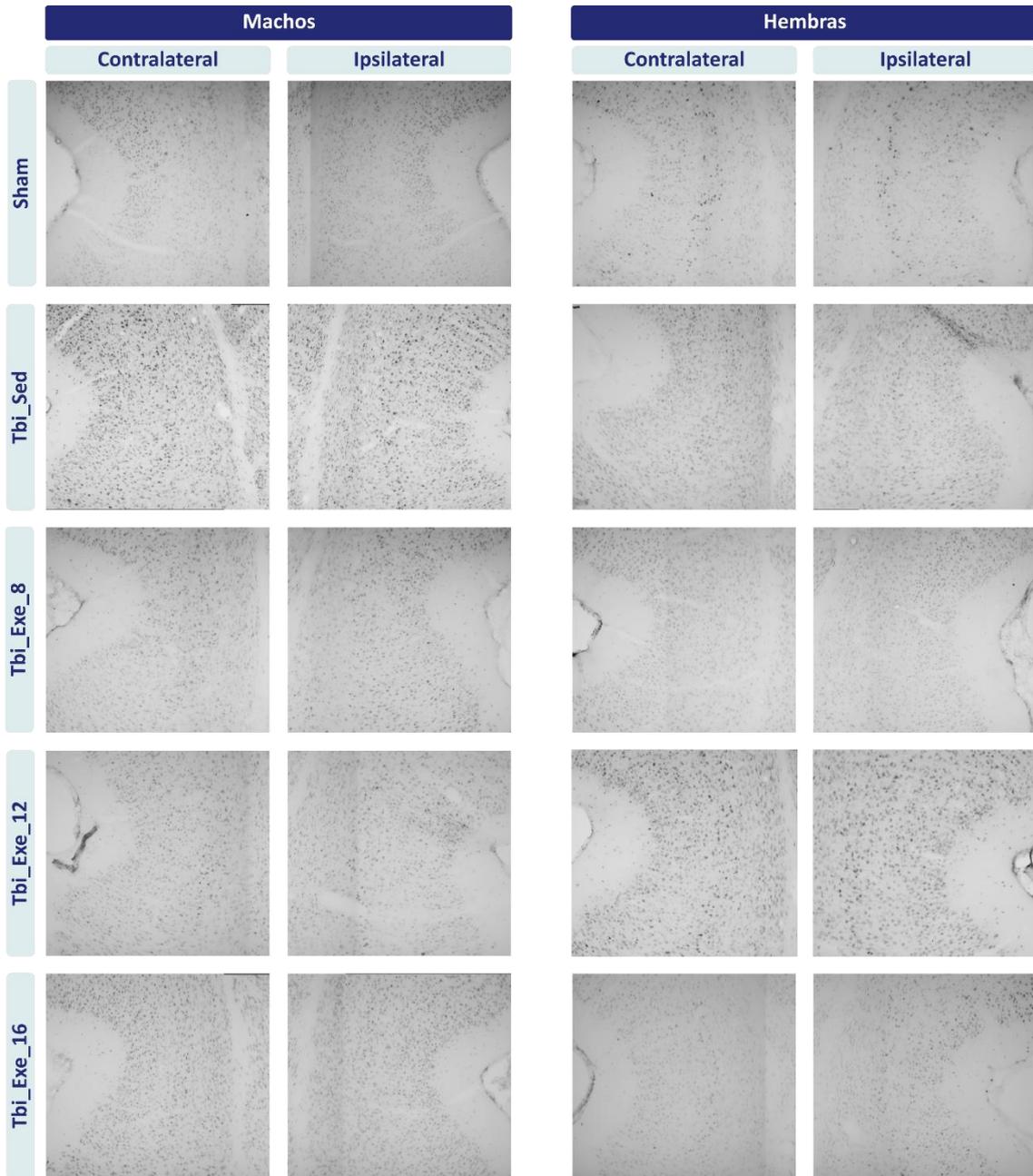


Figura 29. Imágenes representativas de cortes de la corteza perirrinal con marcaje de NeuN para cada grupo.

5.5.2. Células NeuN+ en el hilus del giro dentado del hipocampo

Las ratios interhemisféricas (Figuras 30 y 31) de todos los grupos lesionados fueron inferiores a 100, indicando un pérdida de densidad neuronal en el hipocampo ipsilateral respecto al contralateral [machos: Tbi_Sed ($t_{(10)}=-4.73$, $p<0.001$), Tbi_Exe_8 ($t_{(6)}=-2.55$, $p=0.044$), Tbi_Exe_12 ($t_{(7)}=-3.34$, $p=0.012$), Tbi_Exe_16 ($t_{(4)}=-4.18$, $p=0.014$); hembras: Tbi_Sed ($t_{(8)}=-7.63$, $p<0.001$), Tbi_Exe_8 ($t_{(4)}=-6.38$, $p=0.003$), Tbi_Exe_12 ($t_{(5)}=-3.60$, $p=0.016$), Tbi_Exe_16 ($t_{(4)}=-4.75$, $p=0.009$)].

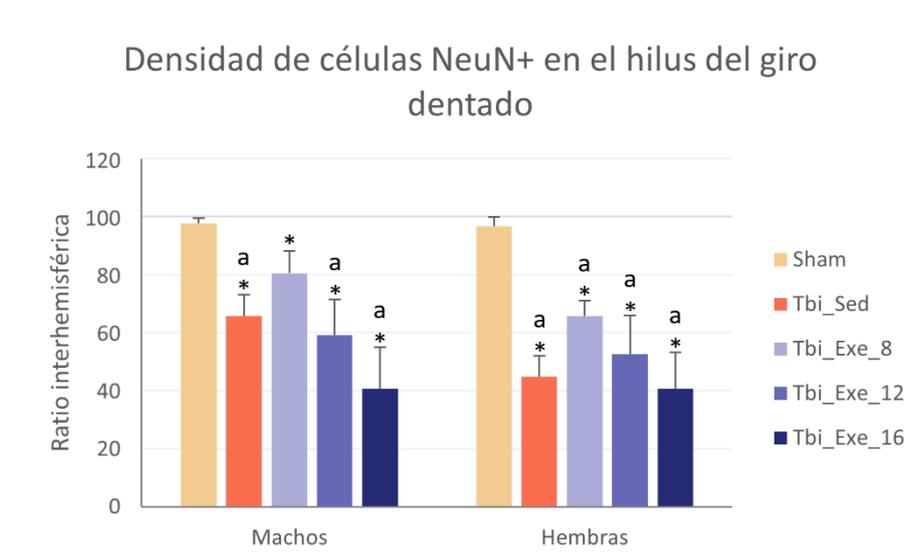


Figura 30. Medias + SEM de la ratio interhemisférica de NeuN en el hipocampo. *: Diferencias significativas respecto al valor de referencia (100); a: diferencias significativas respecto al grupo Sham de su mismo sexo (Machos: Sham n=11, Tbi_Sed n=11, Tbi_Exe_8 n=7, Tbi_Exe_12 n=8 y Tbi_Exe_16 n=5. Hembras: Sham n=11, Tbi_Sed n=9, Tbi_Exe_8 n=5, Tbi_Exe_12 n=6 y Tbi_Exe_16 n=5).

El ANOVA reveló diferencias entre los grupos experimentales en machos ($F_{(4,37)}=6.38$, $p<0.001$) y hembras ($F_{(4,31)}=10.49$, $p<0.001$). Las comparaciones entre grupos mostraron que todos los grupos lesionados, excepto el Tbi_Exe_8

de machos, tenían una ratio interhemisférica menor que la de sus respectivos grupos Sham [machos: Tbi_Sed ($p=0.007$), Tbi_Exe_12 ($p=0.007$), Tbi_Exe_16 ($p=0.007$); hembras: Tbi_Sed ($p=0.007$), Tbi_Exe_8 ($p=0.017$), Tbi_Exe_12 ($p=0.007$), Tbi_Exe_16 ($p=0.007$)].

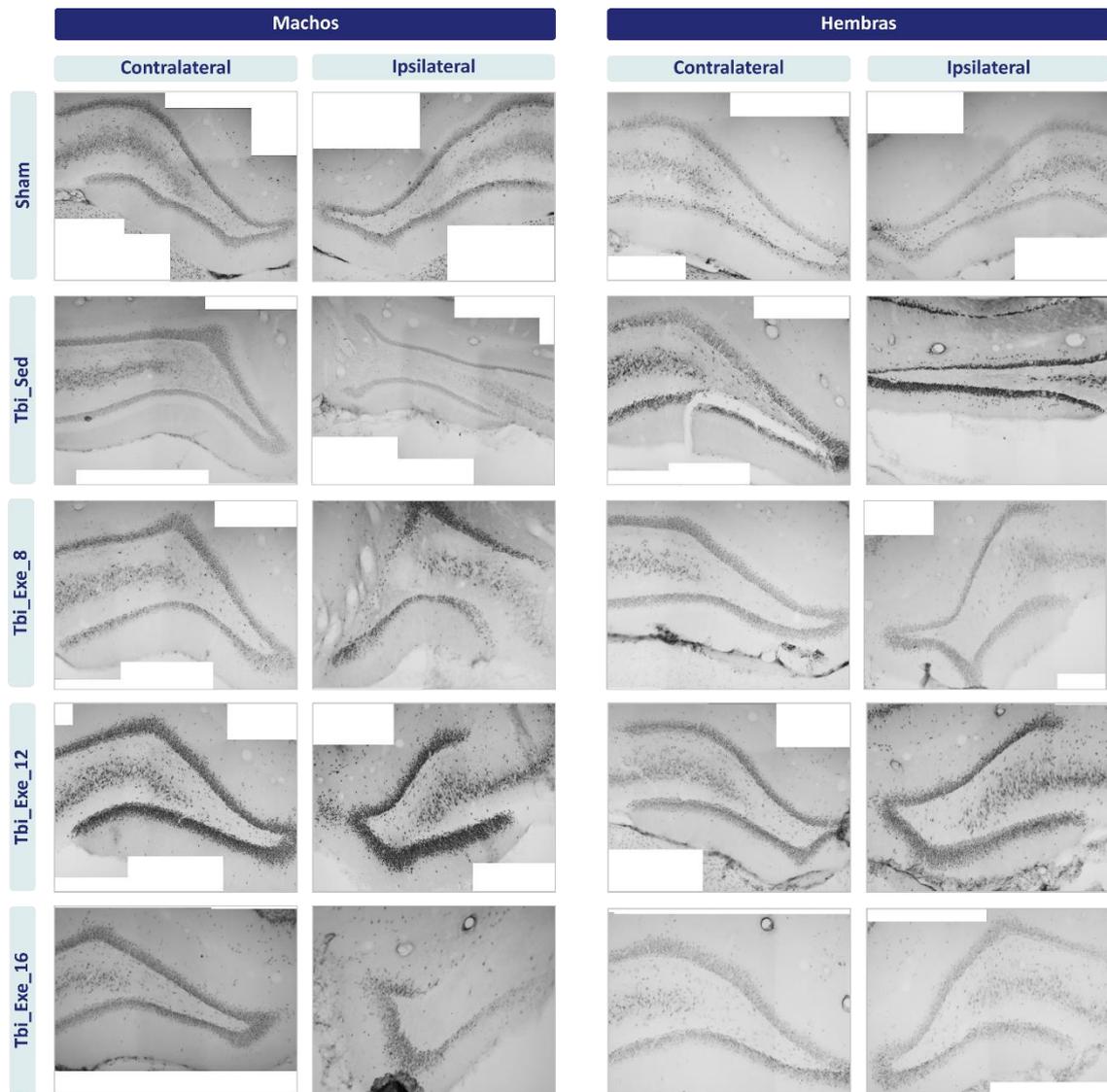


Figura 31. Imágenes representativas de cortes del hilus del giro dentado del hipocampo con marcaje de NeuN para cada grupo.

5.6. Células DCX+ en el giro dentado del hipocampo contralateral

El ANOVA indicó la existencia de diferencias entre grupos en machos ($F_{(4,41)}=3.71$, $p=0.011$) y hembras ($F_{(4,39)}=5.08$, $p=0.002$) en el número de células DCX+ en el giro dentado del hipocampo contralateral (Figuras 32 y 33). En ambos sexos, la intensidad de ejercicio que supuso un beneficio en la prueba de MRO a las 24 h, aumentó el número de neuronas inmaduras en comparación al respectivo grupo Tbi_Sed [machos: Tbi_Exe_8 ($p=0.007$), hembras: Tbi_Exe_12 ($p=0.014$)].

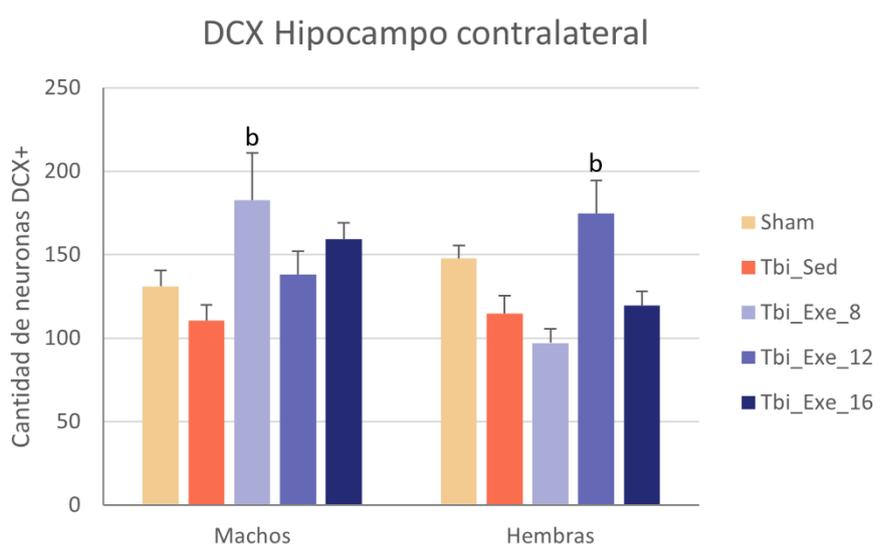


Figura 32: Medias + SEM del número de neuronas DCX+ en el hemisferio contralateral a la lesión. b: diferencias significativas respecto al grupo Tbi_Sed de su mismo sexo (Machos: Sham $n=9$, Tbi_Sed $n=12$, Tbi_Exe_8 $n=6$, Tbi_Exe_12 $n=11$ y Tbi_Exe_16 $n=8$. Hembras: Sham $n=10$, Tbi_Sed $n=10$, Tbi_Exe_8 $n=6$, Tbi_Exe_12 $n=11$ y Tbi_Exe_16 $n=7$).

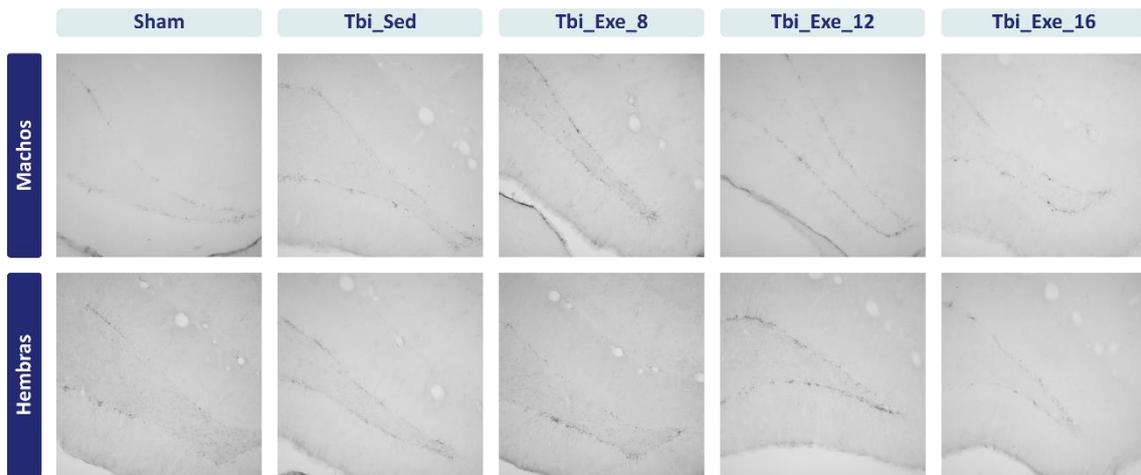


Figura 33. Imágenes representativas de cortes del giro dentado del hipocampo con marcaje de DCX para cada grupo.

6. Discusión

6.1. Efectos del impacto cortical controlado

Los resultados de esta investigación muestran que, en ambos sexos, el daño cerebral traumático provoca déficits en la memoria de reconocimiento de objetos, tanto a corto (3 h) como a largo (24 h) plazo. Estos déficits no parecen estar relacionados con diferencias en la actividad motora, en la neofobia, ni en la cantidad de exploración durante la sesión de adquisición. El déficit en la memoria a corto plazo parece ser mayor en los machos, ya que los animales lesionados y sedentarios no solo no recuerdan el objeto familiar, sino que su índice de discriminación es significativamente inferior al del grupo Sham. En cambio, aunque las hembras tampoco recuerdan el objeto familiar, su índice de discriminación no difiere del grupo Sham. En cuanto a la memoria a largo plazo, los déficits observados son similares en machos y hembras. Estos déficits en la memoria a corto y a largo plazo han sido observados en estudios anteriores realizados con machos en nuestro laboratorio utilizando el mismo modelo de lesión y la misma tarea de aprendizaje (Jacotte-Simancas et al., 2015; Amorós-Aguilar et al., 2020; Sánchez-Martín et al., 2024), aunque existe un estudio en el que el CCI no deterioró la memoria a corto plazo (Amorós-Aguilar et al., 2015).

El estudio histológico mostró, en machos y hembras, que el CCI produjo una reducción del volumen del hipocampo y de la densidad neuronal en el hilus del giro dentado del hemisferio ipsilateral respecto al contralateral a la lesión, sin afectar a la densidad neuronal en la corteza perirrinal ni a la cantidad de células DCX+ en el giro dentado. Como ya hemos comentado, estudios previos postulan que la implicación del hipocampo y la corteza perirrinal en la ORT podría depender de diferentes factores como el tiempo de exploración durante la fase de adquisición, el tiempo transcurrido entre la sesión de adquisición y la retención (Cohen & Stackman Jr., 2015) o la carga del componente espacial en

la sesión de retención (Barker & Warburton, 2011). En concreto, Cohen y Stackman Jr (2015) proponen que cuando la exploración de los objetos en la adquisición supera los 38 s y la demora de retención los 10 min, la información es traspasada desde la corteza perirrinal al hipocampo. En nuestro experimento, los tiempos de exploración y la demora de las dos sesiones de retención superan holgadamente estos valores. Además, en la segunda retención la posición del objeto familiar es cambiada respecto a la sesión a las 3 h, aumentando el componente espacial (Clark & Martin, 2005). Por todo ello, la afectación del hipocampo podría estar explicando los déficits de memoria en la retención tanto a las 3 h como a las 24 h.

6.2. Efectos del ejercicio físico tras un TBI: importancia de la intensidad del tratamiento

Al utilizar el ejercicio físico como tratamiento después de un TBI, parámetros como la demora de inicio tras el impacto, la duración, la cantidad diaria y la intensidad del tratamiento pueden influir en la capacidad para aliviar los déficits cognitivos. Nuestros hallazgos subrayan la importancia de la intensidad. Además, indican que la intensidad óptima puede depender del sexo y del intervalo de retención.

En la sesión de retención a corto plazo, el ejercicio físico, independientemente de la intensidad, muestra un efecto positivo tanto en machos como en hembras, aunque este efecto es mayor en las hembras. Estos resultados no se deben a cambios en la actividad locomotora, en la neofobia, ni en el tiempo de exploración de los objetos en la sesión de adquisición. Experimentos previos en nuestro laboratorio utilizando el mismo protocolo de ORT y ejercicio físico

voluntario en machos muestran un efecto poco consistente del ejercicio sobre la memoria a corto plazo ya que tanto hemos obtenido un beneficio (Amorós-Aguilar et al., 2020) como ningún efecto (Jacotte-Simancas et al., 2015; Sánchez-Martín et al., 2024). Sin embargo, comparar el ejercicio físico forzado y voluntario es complicado. En primer lugar, parámetros del propio tratamiento como la duración diaria, la distribución a lo largo del día, la intensidad o la distancia recorrida pueden variar considerablemente entre animales cuando el ejercicio es voluntario. Además, el ejercicio forzado implica un cierto grado de estrés que no aparece en el ejercicio voluntario (Griesbach et al., 2014).

En cuanto a la memoria a largo plazo, nuestro estudio sugiere que el efecto del ejercicio depende de la intensidad y que la intensidad óptima difiere entre machos y hembras. En ratas macho, los efectos más beneficiosos se obtienen con el tratamiento de baja intensidad (8 m/min), disminuyen a intensidad moderada (12 m/min) y no están presentes a alta intensidad (16 m/min). En cambio, los resultados en ratas hembra indican que el efecto óptimo se asocia a la intensidad moderada (12 m/min), mientras que tanto la intensidad baja (8 m/min) como la alta (16 m/min) producen un beneficio intermedio. Los efectos del ejercicio físico sobre el rendimiento en la prueba de memoria no pueden atribuirse a cambios en la habituación a la jaula de entrenamiento, diferencias en la neofobia, ni a la cantidad de exploración en la sesión de adquisición en ninguno de los sexos.

Basándonos únicamente en nuestros resultados, la relación entre la intensidad del ejercicio físico y los beneficios en la memoria en la prueba de retención a 24 h sugiere una tendencia lineal descendente en los machos y una relación en forma de U invertida en las hembras. Sin embargo, es plausible que el ejercicio físico de intensidad suficientemente baja no tenga efectos en los machos. Esto apoyaría una relación en forma de U invertida en ambos sexos, pero con un pico

específico según el sexo, desplazado a la derecha en las hembras en comparación con los machos.

Investigaciones previas utilizando únicamente machos corroboran la importancia de la intensidad del ejercicio físico en la reducción de los déficits de memoria tras un CCI. Shen et al. (2013), observaron en ratas un beneficio en la memoria espacial con ejercicio de baja (8 m/min), pero no de alta (12 m/min) intensidad. En cambio, Karelina et al. (2021) observaron en ratones que el ejercicio a intensidad moderada (15 m/min) produce un mayor beneficio en el aprendizaje de una tarea en el laberinto de Barnes que un ejercicio a baja intensidad (8 m/min). El único estudio hasta la fecha que ha investigado el efecto de la intensidad del ejercicio físico tras un CCI en machos y hembras (White et al., 2023), muestra la existencia de una interacción entre esta variable y el sexo. En este estudio en ratones (White et al., 2023), el ejercicio a intensidades baja (8 m/min), moderada (15 m/min) o alta (20 m/min) tuvo un efecto moderadamente beneficioso en la fase de adquisición de una tarea de Barnes en hembras, mientras que en machos solo las intensidades baja y moderada tuvieron un efecto positivo. En la sesión de prueba, el ejercicio no tuvo ningún efecto en las hembras. En machos, las intensidades baja y moderada no tuvieron efecto, pero la intensidad alta provocó un deterioro profundo en esta sesión de retención. A pesar de las diferencias entre los tipos de memoria evaluados por la ORT y el laberinto de Barnes, podemos observar resultados similares entre nuestra investigación y la de White et al. (2023), especialmente en machos ya que el efecto beneficioso se observa a intensidad baja y moderada y desaparece o es deteriorante a alta intensidad. Es importante destacar que comparar investigaciones que utilizan diferentes intensidades de ejercicio físico para evaluar sus beneficios es complejo debido a las variaciones entre especies animales (rata vs ratón), la severidad de la lesión y

varios aspectos del ejercicio físico, como el tiempo de inicio después de la lesión, el tipo de aparato utilizado (rueda de correr vs cinta de correr) y el protocolo de entrenamiento específico (progresivo, intervalos, fijo), entre otros factores.

6.3. Mecanismos de acción del ejercicio físico tras un TBI

Como hemos visto, tanto en hembras como en machos el CCI produce una reducción del volumen hipocampal ipsilateral que no es atenuada por el ejercicio físico a ninguna de las intensidades estudiadas. Sin embargo, al estudiar la densidad neuronal en el giro dentado del hipocampo, se observa un efecto neuroprotector del ejercicio físico en ratas macho. Este efecto solo se observa a la intensidad más baja, la más beneficiosa en la prueba de memoria a largo plazo. En contraste, ninguna de las intensidades de ejercicio supuso un beneficio en las ratas hembra, ya que todos los grupos de ejercicio mostraron una pérdida de neuronas similar a la del grupo Tbi_Sed. Investigaciones previas han observado que diferentes programas de ejercicio físico tienen un efecto neuroprotector en machos (Amorós-Aguilar et al., 2020; Y. Chen et al., 2013; Chio et al., 2017; Gu et al., 2014; Jacotte-Simancas et al., 2015; Ko et al., 2018; White et al., 2023; Sánchez-Martín et al., 2024), pero, según nuestro conocimiento, no existen estudios previos del efecto del ejercicio físico sobre la supervivencia neuronal después de un TBI en animales hembra.

Además del efecto neuroprotector, el beneficio cognitivo del ejercicio físico tras un TBI también se ha asociado a un aumento en la activación de mecanismos neuroreparadores como la neurogénesis. En concordancia con estudios previos (Jacotte-Simancas et al., 2015; Amorós-Aguilar et al., 2020; Karelina et al., 2021;

Piao et al., 2013), hemos observado un aumento de la neurogénesis (número de células DCX+) en el giro dentado. Este efecto se obtiene a intensidades diferentes en machos y hembras. Es importante destacar que, en ambos sexos, la intensidad del ejercicio que aumenta la neurogénesis, la más baja para los machos y la moderada para las hembras, es la que produce el mayor beneficio en la memoria a largo plazo.

En resumen, nuestros resultados sugieren que la intensidad óptima del ejercicio físico tras un TBI es mayor en hembras que en machos. Algunos mecanismos que subyacen al efecto beneficioso del ejercicio físico podrían ser compartidos por ambos sexos, mientras que otros podrían ser específicos. Así, hemos observado un aumento de la neurogénesis en ambos sexos, pero la reducción de la pérdida neuronal solo ha sido observada en los machos.

Como hemos comentado anteriormente, proponemos la existencia de una relación en forma de U invertida entre la intensidad del ejercicio y su efecto beneficioso, pero con un pico específico según el sexo, desplazado a la derecha en las hembras en comparación con los machos. Esta diferencia podría estar relacionada con la tendencia natural a correr en una rueda de actividad. Las hembras tienden a ejercitarse a una intensidad mayor que los machos cuando tienen acceso libre a una rueda de ejercicio (Basso & Morrell, 2017) y, por lo tanto, al estudiar el efecto de la intensidad del ejercicio físico es crucial ajustar adecuadamente las etiquetas de los niveles de intensidad (bajo, moderado, alto) en función del sexo. Por ejemplo, una velocidad considerada moderada en machos podría clasificarse como baja en hembras. Así, en nuestro estudio, las intensidades que generan un mayor beneficio, 8 m/min en machos y 12 m/min en hembras, podrían ser etiquetadas como bajas. Además, dado que las ratas macho suelen correr en un rango más estrecho de intensidades en comparación con las hembras (Basso & Morrell, 2017), es plausible que el rango óptimo de

intensidad para los machos sea más limitado que para las hembras, como sugieren White et al. (2023) y también respaldado por nuestros resultados en la prueba de memoria a largo plazo.

7. Conclusiones

1. El modelo de daño cerebral traumático por impacto cortical controlado produce déficits en la memoria de reconocimiento de objetos en la retención a las 3 h y a las 24 h, tanto en ratas macho como hembra. A nivel histológico, produce una pérdida de tejido en el hipocampo y una reducción de la densidad neuronal en el hilus del giro dentado del hipocampo, pero no en la corteza perirrinal.
2. El tratamiento con ejercicio físico tras el traumatismo reduce los déficits de memoria en la tarea de reconocimiento de objetos y tiene un efecto neuroprotector y neuroreparador. Parte de estos efectos son dependientes de la intensidad y del sexo:
 - 2.1. En la retención a las 3 h, todas las intensidades de ejercicio físico reducen los déficits tanto en machos como en hembras.
 - 2.2. En la retención a las 24 h, en machos la intensidad de 8 m/min produce el mayor beneficio, e intensidades mayores suponen un menor (12 m/min) o ningún efecto (16 m/min). En cambio, en hembras todas las intensidades reducen el déficit de memoria, siendo 12 m/min la intensidad que produce el mayor beneficio.
 - 2.3. El ejercicio físico reduce la muerte neuronal en el hilus del giro dentado del hipocampo dorsal solo en machos entrenados a baja intensidad (8 m/min), la intensidad que produce un mayor efecto en la retención a las 24 h.
 - 2.4. En ambos sexos, la intensidad de ejercicio que produce un efecto óptimo en la retención a las 24 h (8 m/min en machos y 12 m/min en hembras), aumenta la neurogénesis en el giro dentado del hipocampo.

8. Referencias

- Abelson, K. S. P., Jacobsen, K. R., Sundbom, R., Kalliokoski, O., & Hau, J. (2012). Voluntary ingestion of nut paste for administration of buprenorphine in rats and mice. *Laboratory Animals*, *46*(4), 349–351. <https://doi.org/10.1258/la.2012.012028>
- Acaz-Fonseca, E., Duran, J. C., Carrero, P., Garcia-Segura, L. M., & Arevalo, M. A. (2015). Sex differences in glia reactivity after cortical brain injury. *Glia*, *63*(11), 1966–1981. <https://doi.org/10.1002/glia.22867>
- Akkerman, S., Blokland, A., Reneerkens, O., van Goethem, N. P., Bollen, E., Gijsselaers, H. J. M., Lieben, C. K. J., Steinbusch, H. W. M., & Prickaerts, J. (2012). Object recognition testing: Methodological considerations on exploration and discrimination measures. *Behavioural Brain Research*, *232*(2), 335–347. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.03.022>
- Albasser, M. M., Davies, M., Futter, J. E., & Aggleton, J. P. (2009). Magnitude of the object recognition deficit associated with perirhinal cortex damage in rats: Effects of varying the lesion extent and the duration of the sample period. *Behavioral Neuroscience*, *123*(1), 115–124. <https://doi.org/10.1037/a0013829>
- Alves, J. L., Rato, J., & Silva, V. (2019). Why Does Brain Trauma Research Fail? *World Neurosurgery*, *130*, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.06.212>
- Amorós-Aguilar, L., Portell-Cortés, I., Costa-Miserachs, D., Torras-Garcia, M., & Coll-Andreu, M. (2015). Traumatic brain injury in late adolescent rats: Effects on adulthood memory and anxiety. *Behavioral Neuroscience*, *129*(2), 149–159. <https://doi.org/10.1037/bne0000046>

- Amorós-Aguilar, L., Portell-Cortés, I., Costa-Miserachs, D., Torras-Garcia, M., Riubugent-Camps, È., Almolda, B., & Coll-Andreu, M. (2020). The benefits of voluntary physical exercise after traumatic brain injury on rat's object recognition memory: A comparison of different temporal schedules. *Experimental Neurology*, 326(January), 113178. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113178>
- Anderson, E., & Shivakumar, G. (2013). Effects of Exercise and Physical Activity on Anxiety. *Frontiers in Psychiatry*, 4(APR). <https://doi.org/10.3389/fpsy.2013.00027>
- Anderson, M. A., Burda, J. E., Ren, Y., Ao, Y., O'Shea, T. M., Kawaguchi, R., Coppola, G., Khakh, B. S., Deming, T. J., & Sofroniew, M. V. (2016). Astrocyte scar formation aids central nervous system axon regeneration. *Nature*, 532(7598), 195–200. <https://doi.org/10.1038/nature17623>
- Andriessen, T. M. J. C., Jacobs, B., & Vos, P. E. (2010). Clinical characteristics and pathophysiological mechanisms of focal and diffuse traumatic brain injury. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(10), 2381–2392. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2010.01164.x>
- Araki, T., Yokota, H., & Morita, A. (2017). Pediatric Traumatic Brain Injury: Characteristic Features, Diagnosis, and Management. *Neurologia Medico-Chirurgica*, 57(2), 82–93. <https://doi.org/10.2176/nmc.ra.2016-0191>
- Armstrong, R. (2019). Risk factors for Alzheimer's disease. *Folia Neuropathologica*, 57(2), 87–105. <https://doi.org/10.5114/fn.2019.85929>
- Azouvi, P., Arnould, A., Dromer, E., & Vallat-Azouvi, C. (2017). Neuropsychology of traumatic brain injury: An expert overview. *Revue Neurologique*, 173(7–8), 461–472. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2017.07.006>

- Balderas, I., Rodriguez-Ortiz, C. J., & Bermudez-Rattoni, F. (2015). Consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Behavioural Brain Research*, *285*, 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.049>
- Bardel, A., Wallander, M.-A., Wallman, T., Rosengren, A., Johansson, S., Eriksson, H., & Svärdsudd, K. (2019). Age and sex related self-reported symptoms in a general population across 30 years: Patterns of reporting and secular trend. *PLOS ONE*, *14*(2), e0211532. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211532>
- Barker, G. R. I., & Warburton, E. C. (2011). When Is the Hippocampus Involved in Recognition Memory? *Journal of Neuroscience*, *31*(29), 10721–10731. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6413-10.2011>
- Barkhoudarian, G., Hovda, D. A., & Giza, C. C. (2011). The Molecular Pathophysiology of Concussive Brain Injury. *Clinics in Sports Medicine*, *30*(1), 33–48. <https://doi.org/10.1016/j.csm.2010.09.001>
- Barkhoudarian, G., Hovda, D. A., & Giza, C. C. (2016). The Molecular Pathophysiology of Concussive Brain Injury – an Update. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, *27*(2), 373–393. <https://doi.org/10.1016/j.pmr.2016.01.003>
- Barrett, J. P., Henry, R. J., Shirey, K. A., Doran, S. J., Makarevich, O. D., Ritzel, R. M., Meadows, V. A., Vogel, S. N., Faden, A. I., Stoica, B. A., & Loane, D. J. (2020). Interferon- β Plays a Detrimental Role in Experimental Traumatic Brain Injury by Enhancing Neuroinflammation That Drives Chronic Neurodegeneration. *The Journal of Neuroscience*, *40*(11), 2357–2370. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2516-19.2020>

- Bartsch, T., & Wulff, P. (2015). The hippocampus in aging and disease: From plasticity to vulnerability. *Neuroscience*, *309*, 1–16.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.07.084>
- Basso, J. C., & Morrell, J. I. (2017). Using wheel availability to shape running behavior of the rat towards improved behavioral and neurobiological outcomes. *Journal of Neuroscience Methods*, *290*, 13–23.
<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2017.07.009>
- Bateman, A., Culpan, F. J., Pickering, A. D., Powell, J. H., Scott, O. M., & Greenwood, R. J. (2001). The effect of aerobic training on rehabilitation outcomes after recent severe brain injury: A randomized controlled evaluation. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *82*(2), 174–182. <https://doi.org/10.1053/apmr.2001.19744>
- Beirowski, B., Adalbert, R., Wagner, D., Grumme, D. S., Addicks, K., Ribchester, R. R., & Coleman, M. P. (2005). The progressive nature of Wallerian degeneration in wild-type and slow Wallerian degeneration (Wlds) nerves. *BMC Neuroscience*, *6*, 6. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-6-6>
- Bekinschtein, P., Cammarota, M., & Medina, J. H. (2014). BDNF and memory processing. *Neuropharmacology*, *76*(PART C), 677–683.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.04.024>
- Belov Kirdajova, D., Kriska, J., Tureckova, J., & Anderova, M. (2020). Ischemia-Triggered Glutamate Excitotoxicity From the Perspective of Glial Cells. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *14*.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00051>
- Belviranlı, M., & Okudan, N. (2019). Voluntary, involuntary and forced exercises almost equally reverse behavioral impairment by regulating hippocampal

neurotrophic factors and oxidative stress in experimental Alzheimer's disease model. *Behavioural Brain Research*, 364, 245–255.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.02.030>

Belzung, C., & Wigmore, P. (2013). *Neurogenesis and Neural Plasticity* (C. Belzung & P. Wigmore, Eds.; Vol. 15). Springer Berlin Heidelberg.

<https://doi.org/10.1007/978-3-642-36232-3>

Ben-Zeev, T., Shoenfeld, Y., & Hoffman, J. R. (2022). The Effect of Exercise on Neurogenesis in the Brain. *The Israel Medical Association Journal : IMAJ*, 24(8), 533–538. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35971998>

Berlyne, D. E., Koenig, I. D., & Hirota, T. (1966). Novelty, arousal, and the reinforcement of diversive exploration in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 62(2), 222–226.

<https://doi.org/10.1037/h0023681>

Berry, C., Ley, E. J., Tillou, A., Cryer, G., Margulies, D. R., & Salim, A. (2009). The Effect of Gender on Patients With Moderate to Severe Head Injuries.

Journal of Trauma: Injury, Infection & Critical Care, 67(5), 950–953.

<https://doi.org/10.1097/TA.0b013e3181ba3354>

Berz, K., Divine, J., Foss, K. B., Heyl, R., Ford, K. R., & Myer, G. D. (2013). Sex-Specific Differences in the Severity of Symptoms and Recovery Rate following Sports-Related Concussion in Young Athletes. *The Physician and Sportsmedicine*, 41(2), 58–63. <https://doi.org/10.3810/psm.2013.05.2015>

Bevins, R. A., & Besheer, J. (2006). Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study “recognition memory.”

Nature Protocols, 1(3), 1306–1311. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.205>

- Biebl, M., Cooper, C. M., Winkler, J., & Kuhn, H. G. (2000). Analysis of neurogenesis and programmed cell death reveals a self-renewing capacity in the adult rat brain. *Neuroscience Letters*, *291*(1), 17–20.
[https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(00\)01368-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(00)01368-9)
- Blaser, R., & Heyser, C. (2015). Spontaneous object recognition: a promising approach to the comparative study of memory. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *9*(JULY). <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00183>
- Blennow, K., Brody, D. L., Kochanek, P. M., Levin, H., McKee, A., Ribbers, G. M., Yaffe, K., & Zetterberg, H. (2016). Traumatic brain injuries. *Nature Reviews Disease Primers*, *2*(1), 16084. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.84>
- Blennow, K., Hardy, J., & Zetterberg, H. (2012). The Neuropathology and Neurobiology of Traumatic Brain Injury. *Neuron*, *76*(5), 886–899.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.11.021>
- Bolte, A. C., & Lukens, J. R. (2021). Neuroimmune cleanup crews in brain injury. *Trends in Immunology*, *42*(6), 480–494.
<https://doi.org/10.1016/j.it.2021.04.003>
- Bouzat, P., Sala, N., Payen, J.-F., & Oddo, M. (2013). Beyond intracranial pressure: optimization of cerebral blood flow, oxygen, and substrate delivery after traumatic brain injury. *Annals of Intensive Care*, *3*(1), 23.
<https://doi.org/10.1186/2110-5820-3-23>
- Boyd, J. G., & Gordon, T. (2002). A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor. *European Journal of Neuroscience*, *15*(4), 613–626.
<https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.01891.x>

- Bracko, O., Njiru, B. N., Swallow, M., Ali, M., Haft-Javaherian, M., & Schaffer, C. B. (2020). Increasing cerebral blood flow improves cognition into late stages in Alzheimer's disease mice. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *40*(7), 1441–1452. <https://doi.org/10.1177/0271678X19873658>
- Braun, S. M. G., & Jessberger, S. (2014). Adult neurogenesis: mechanisms and functional significance. *Development*, *141*(10), 1983–1986. <https://doi.org/10.1242/dev.104596>
- Briggs, R., Brookes, N., Tate, R., & Lah, S. (2015). Duration of post-traumatic amnesia as a predictor of functional outcome in school-age children: a systematic review. *Developmental Medicine & Child Neurology*, *57*(7), 618–627. <https://doi.org/10.1111/dmcn.12674>
- Burda, J. E., Bernstein, A. M., & Sofroniew, M. V. (2016). Astrocyte roles in traumatic brain injury. *Experimental Neurology*, *275*, 305–315. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.03.020>
- Cameron, H. A., & Glover, L. R. (2015). Adult Neurogenesis: Beyond Learning and Memory. *Annual Review of Psychology*, *66*(1), 53–81. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010814-015006>
- Carlozzi, N. E., Grech, J., & Tulsky, D. S. (2013). Memory functioning in individuals with traumatic brain injury: An examination of the Wechsler Memory Scale–Fourth Edition (WMS–IV). *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, *35*(9), 906–914. <https://doi.org/10.1080/13803395.2013.833178>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2018, August 12). *Traumatic brain injury & concussion*. <https://www.cdc.gov/Traumaticbraininjury/Index.html>.

- Chakraborty, N., Hammamieh, R., Gautam, A., Miller, S.-A., Condlin, M. L., Jett, M., & Scrimgeour, A. G. (2021). TBI weight-drop model with variable impact heights differentially perturbs hippocampus-cerebellum specific transcriptomic profile. *Experimental Neurology*, *335*, 113516. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113516>
- Chen, J., Zhu, T., Yu, D., Yan, B., Zhang, Y., Jin, J., Yang, Z., Zhang, B., Hao, X., Chen, Z., Yan, C., & Yu, J. (2023). Moderate Intensity of Treadmill Exercise Rescues TBI-Induced Ferroptosis, Neurodegeneration, and Cognitive Impairments via Suppressing STING Pathway. *Molecular Neurobiology*, *60*(9), 4872–4896. <https://doi.org/10.1007/s12035-023-03379-8>
- Chen, N. Y. C., & Batchelor, J. (2019). Length of post-traumatic amnesia and its prediction of neuropsychological outcome following severe to extremely severe traumatic brain injury in a litigating sample. *Brain Injury*, *33*(8), 1087–1096. <https://doi.org/10.1080/02699052.2019.1610797>
- Chen, X. H., Siman, R., Iwata, A., Meaney, D. F., Trojanowski, J. Q., & Smith, D. H. (2004). Long-Term Accumulation of Amyloid- β , β -Secretase, Presenilin-1, and Caspase-3 in Damaged Axons Following Brain Trauma. *The American Journal of Pathology*, *165*(2), 357–371. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63303-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63303-2)
- Chen, Y., Herrold, A. A., Gallagher, V., Martinovich, Z., Bari, S., Vike, N. L., Vesci, B., Mjaanes, J., McCloskey, L. R., Reilly, J. L., & Breiter, H. C. (2021). Preliminary Report: Localized Cerebral Blood Flow Mediates the Relationship between Progesterone and Perceived Stress Symptoms among Female Collegiate Club Athletes after Mild Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*, *38*(13), 1809–1820. <https://doi.org/10.1089/neu.2020.7217>

- Chen, Y., Yi, Q., Liu, G., Shen, X., Xuan, L., & Tian, Y. (2013). Cerebral white matter injury and damage to myelin sheath following whole-brain ischemia. *Brain Research, 1495*, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.12.006>
- Cheng, G., Kong, R., Zhang, L., & Zhang, J. (2012). Mitochondria in traumatic brain injury and mitochondrial-targeted multipotential therapeutic strategies. *British Journal of Pharmacology, 167*(4), 699–719. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02025.x>
- Chin, L. M., Keyser, R. E., Dsurney, J., & Chan, L. (2015). Improved Cognitive Performance Following Aerobic Exercise Training in People With Traumatic Brain Injury. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation, 96*(4), 754–759. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2014.11.009>
- Chio, C.-C., Lin, H.-J., Tian, Y.-F., Chen, Y.-C., Lin, M.-T., Lin, C.-H., Chang, C.-P., & Hsu, C.-C. (2017). Exercise attenuates neurological deficits by stimulating a critical HSP70/NF-κB/IL-6/synapsin I axis in traumatic brain injury rats. *Journal of Neuroinflammation, 14*(1), 90. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0867-9>
- Chodzko-Zajko, W. J., Proctor, D. N., Fiatarone Singh, M. A., Minson, C. T., Nigg, C. R., Salem, G. J., & Skinner, J. S. (2009). Exercise and Physical Activity for Older Adults. *Medicine & Science in Sports & Exercise, 41*(7), 1510–1530. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181a0c95c>
- Choi, J. Y., Kim, J. Y., Kim, J. Y., Park, J., Lee, W. T., & Lee, J. E. (2017). M2 Phenotype Microglia-derived Cytokine Stimulates Proliferation and Neuronal Differentiation of Endogenous Stem Cells in Ischemic Brain.

Experimental Neurobiology, 26(1), 33–41.

<https://doi.org/10.5607/en.2017.26.1.33>

Chou, W., Liu, Y.-F., Lin, C.-H., Lin, M.-T., Chen, C.-C., Liu, W.-P., Chang, C.-P., & Chio, C.-C. (2018). Exercise Rehabilitation Attenuates Cognitive Deficits in Rats with Traumatic Brain Injury by Stimulating the Cerebral

HSP20/BDNF/TrkB Signalling Axis. *Molecular Neurobiology*, 55(11), 8602–8611. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1011-2>

Chow, L. S., Gerszten, R. E., Taylor, J. M., Pedersen, B. K., van Praag, H., Trappe, S., Febbraio, M. A., Galis, Z. S., Gao, Y., Haus, J. M., Lanza, I. R., Lavie, C. J., Lee, C.-H., Lucia, A., Moro, C., Pandey, A., Robbins, J. M., Stanford, K. I., Thackray, A. E., ... Snyder, M. P. (2022). Exerkines in health, resilience and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, 18(5), 273–289.

<https://doi.org/10.1038/s41574-022-00641-2>

Christman, C. W., Grady, M. S., Walker, S. A., Holloway, K. L., & Povlishock, J. T. (1994). Ultrastructural Studies of Diffuse Axonal Injury in Humans. *Journal of Neurotrauma*, 11(2), 173–186. <https://doi.org/10.1089/neu.1994.11.173>

Christodoulou, C., DeLuca, J., Ricker, J. H., Madigan, N. K., Bly, B. M., Lange, G., Kalnin, A. J., Liu, W. C., Steffener, J., Diamond, B. J., & Ni, A. C. (2001).

Functional magnetic resonance imaging of working memory impairment after traumatic brain injury. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 71(2), 161–168. <https://doi.org/10.1136/jnnp.71.2.161>

Chrzanowska, A., Modlinska, K., Goncikowska, K., & Pisula, W. (2022). Rat's response to a novelty and increased complexity of the environment resulting from the introduction of movable vs. stationary objects in the free

exploration test. *PLOS ONE*, 17(12), e0279006.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0279006>

Clark, R. E., & Martin, S. J. (2005). Interrogating rodents regarding their object and spatial memory. *Current Opinion in Neurobiology*, 15(5), 593–598.

<https://doi.org/10.1016/j.conb.2005.08.014>

Cobianchi, S., Arbat-Plana, A., Lopez-Alvarez, V. M., & Navarro, X. (2017). Neuroprotective Effects of Exercise Treatments After Injury: The Dual Role of Neurotrophic Factors. *Current Neuropharmacology*, 15(4), 495–518.

<https://doi.org/10.2174/1570159X14666160330105132>

Cohen, S. J., & Stackman Jr., R. W. (2015). Assessing rodent hippocampal involvement in the novel object recognition task. A review. *Behavioural Brain Research*, 285, 105–117. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.002>

Commons, K. G., Cholanians, A. B., Babb, J. A., & Ehlinger, D. G. (2017). The Rodent Forced Swim Test Measures Stress-Coping Strategy, Not Depression-like Behavior. *ACS Chemical Neuroscience*, 8(5), 955–960.

<https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.7b00042>

Cotman, C. W., & Berchtold, N. C. (2007). Physical activity and the maintenance of cognition: Learning from animal models. *Alzheimer's & Dementia*, 3(2S), S30–S37. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2007.01.013>

Crutcher, M. D., Calhoun-Haney, R., Manzanares, C. M., Lah, J. J., Levey, A. I., & Zola, S. M. (2009). Eye Tracking During a Visual Paired Comparison Task as a Predictor of Early Dementia. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementiasr*, 24(3), 258–266.

<https://doi.org/10.1177/1533317509332093>

- Damiano, D. L., Zampieri, C., Ge, J., Acevedo, A., & Dsurney, J. (2016). Effects of a rapid-resisted elliptical training program on motor, cognitive and neurobehavioral functioning in adults with chronic traumatic brain injury. *Experimental Brain Research*, *234*(8), 2245–2252. <https://doi.org/10.1007/s00221-016-4630-8>
- Dean, D. D., Frank, J. A., & Turtzo, L. C. (2017). Controlled Cortical Impact in the Rat. *Current Protocols in Neuroscience*, *81*(1), 9.62.1-9.62.12. <https://doi.org/10.1002/cpns.37>
- Dewan, M. C., Rattani, A., Gupta, S., Baticulon, R. E., Hung, Y.-C., Punchak, M., Agrawal, A., Adeleye, A. O., Shrime, M. G., Rubiano, A. M., Rosenfeld, J. V., & Park, K. B. (2019). Estimating the global incidence of traumatic brain injury. *Journal of Neurosurgery*, *130*(4), 1080–1097. <https://doi.org/10.3171/2017.10.JNS17352>
- Docherty, S., Harley, R., McAuley, J. J., Crowe, L. A. N., Pedret, C., Kirwan, P. D., Siebert, S., & Millar, N. L. (2022). The effect of exercise on cytokines: implications for musculoskeletal health: a narrative review. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*, *14*(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s13102-022-00397-2>
- Donat, C. K., Scott, G., Gentleman, S. M., & Sastre, M. (2017). Microglial Activation in Traumatic Brain Injury. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *9*(JUN), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00208>
- Doran, S. J., Ritzel, R. M., Glaser, E. P., Henry, R. J., Faden, A. I., & Loane, D. J. (2019). Sex Differences in Acute Neuroinflammation after Experimental Traumatic Brain Injury Are Mediated by Infiltrating Myeloid Cells. *Journal of Neurotrauma*, *36*(7), 1040–1053. <https://doi.org/10.1089/neu.2018.6019>

- Duan, W., Zhang, Y.-P., Hou, Z., Huang, C., Zhu, H., Zhang, C.-Q., & Yin, Q. (2016). Novel Insights into NeuN: from Neuronal Marker to Splicing Regulator. *Molecular Neurobiology*, *53*(3), 1637–1647.
<https://doi.org/10.1007/s12035-015-9122-5>
- Dudek, M., & Meng, Q.-J. (2014). Running on time: the role of circadian clocks in the musculoskeletal system. *Biochemical Journal*, *463*(1), 1–8.
<https://doi.org/10.1042/BJ20140700>
- Eizenman, M., Chung, J., Yu, M., Jia, H., & Jiang, P. (2019). Attention, novelty preference and the visual paired comparison task. *Experimental Eye Research*, *183*, 52–56. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2018.11.009>
- Eldomiaty, M. A., Elayat, A., Ali, S., Algaidi, S., & Elnaggar, M. (2020). Beneficial effects of voluntary over forced exercise on skeletal muscle structure and myokines' expression. *Folia Morphologica*, *79*(2), 350–358.
<https://doi.org/10.5603/FM.a2019.0131>
- Ernst, D., Becker, S., & Horstmann, G. (2020). Novelty competes with saliency for attention. *Vision Research*, *168*, 42–52.
<https://doi.org/10.1016/j.visres.2020.01.004>
- Feng, Y., Rhodes, P. G., & Bhatt, A. J. (2008). Neuroprotective Effects of Vascular Endothelial Growth Factor Following Hypoxic Ischemic Brain Injury in Neonatal Rats. *Pediatric Research*, *64*(4), 370–374.
<https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e318180ebe6>
- Feno, S., Butera, G., Vecellio Reane, D., Rizzuto, R., & Raffaello, A. (2019). Crosstalk between Calcium and ROS in Pathophysiological Conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2019*, 1–18.
<https://doi.org/10.1155/2019/9324018>

- Finner, H. (1993). On a Monotonicity Problem in Step-Down Multiple Test Procedures. *Journal of the American Statistical Association*, 88(423), 920.
<https://doi.org/10.2307/2290782>
- Fisher, D. C., Ledbetter, M. F., Cohen, N. J., Marmor, D., & Tulsky, D. S. (2000). WAIS-III and WMS-III Profiles of Mildly to Severely Brain-Injured Patients. *Applied Neuropsychology*, 7(3), 126–132.
https://doi.org/10.1207/S15324826AN0703_2
- Franco-Quijorna, I., Amo-Aparicio, J., Martinez-Muriana, A., & López-Vales, R. (2016). IL-4 drives microglia and macrophages toward a phenotype conducive for tissue repair and functional recovery after spinal cord injury. *Glia*, 64(12), 2079–2092. <https://doi.org/10.1002/glia.23041>
- Friedland, D., & Swash, M. (2016). Post-traumatic amnesia and confusional state: hazards of retrospective assessment. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 87(10), 1068–1074.
<https://doi.org/10.1136/jnnp-2015-312193>
- Gage, G. J., Kipke, D. R., & Shain, W. (2012). Whole Animal Perfusion Fixation for Rodents. *Journal of Visualized Experiments*, 65.
<https://doi.org/10.3791/3564>
- Gaggi, N. L., Ware, J. B., Dolui, S., Brennan, D., Torrellas, J., Wang, Z., Whyte, J., Diaz-Arrastia, R., & Kim, J. J. (2023). Temporal dynamics of cerebral blood flow during the first year after moderate-severe traumatic brain injury: A longitudinal perfusion MRI study. *NeuroImage. Clinical*, 37, 103344.
<https://doi.org/10.1016/j.nicl.2023.103344>
- Gaire, B. P. (2022). Microglia as the Critical Regulators of Neuroprotection and Functional Recovery in Cerebral Ischemia. *Cellular and Molecular*

Neurobiology, 42(8), 2505–2525. <https://doi.org/10.1007/s10571-021-01145-9>

Galgano, M., Toshkezi, G., Qiu, X., Russell, T., Chin, L., & Zhao, L.-R. (2017). Traumatic Brain Injury. *Cell Transplantation*, 26(7), 1118–1130. <https://doi.org/10.1177/0963689717714102>

Garrigos, D., Martínez-Morga, M., Toval, A., Kutsenko, Y., Barreda, A., Do Couto, B. R., Navarro-Mateu, F., & Ferran, J. L. (2021). A Handful of Details to Ensure the Experimental Reproducibility on the FORCED Running Wheel in Rodents: A Systematic Review. *Frontiers in Endocrinology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.638261>

Geddes, R. I., Peterson, B. L., Stein, D. G., & Sayeed, I. (2016). Progesterone Treatment Shows Benefit in Female Rats in a Pediatric Model of Controlled Cortical Impact Injury. *PLOS ONE*, 11(1), e0146419. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146419>

Giri, B. K., Krishnappa, I. K., Bryan, R. M., & Robertson, C. (2000). Regional Cerebral Blood Flow After Cortical Impact Injury Complicated by a Secondary Insult in Rats. *Stroke*, 31(4), 961–967. <https://doi.org/10.1161/01.STR.31.4.961>

Gleichmann, M., & Mattson, M. P. (2011). Neuronal Calcium Homeostasis and Dysregulation. *Antioxidants & Redox Signaling*, 14(7), 1261–1273. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3386>

Goldkuhl, R., Jacobsen, K. R., Kalliokoski, O., Hau, J., & Abelson, K. S. P. (2010). Plasma concentrations of corticosterone and buprenorphine in rats subjected to jugular vein catheterization. *Laboratory Animals*, 44(4), 337–343. <https://doi.org/10.1258/la.2010.009115>

- Gordon, W. A., Sliwinski, M., Echo, J., McLoughlin, M., Sheerer, M., & Meili, T. E. (1998). The Benefits of Exercise in Individuals with Traumatic Brain Injury: A Retrospective Study. *Journal of Head Trauma Rehabilitation*, *13*(4), 58–67. <https://doi.org/10.1097/00001199-199808000-00006>
- Grealy, M. A., Johnson, D. A., & Rushton, S. K. (1999). Improving cognitive function after brain injury: The use of exercise and virtual reality. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *80*(6), 661–667. [https://doi.org/10.1016/S0003-9993\(99\)90169-7](https://doi.org/10.1016/S0003-9993(99)90169-7)
- Griesbach, G. S., Hovda, D. A., & Gomez-Pinilla, F. (2009). Exercise-induced improvement in cognitive performance after traumatic brain injury in rats is dependent on BDNF activation. *Brain Research*, *1288*, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.06.045>
- Griesbach, G. S., Hovda, D. A., Molteni, R., Wu, A., & Gomez-Pinilla, F. (2004). Voluntary exercise following traumatic brain injury: brain-derived neurotrophic factor upregulation and recovery of function. *Neuroscience*, *125*(1), 129–139. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.01.030>
- Griesbach, G. S., Tio, D. L., Nair, S., & Hovda, D. A. (2014). Recovery of Stress Response Coincides with Responsiveness to Voluntary Exercise after Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*, *31*(7), 674–682. <https://doi.org/10.1089/neu.2013.3151>
- Griesbach, G. S., Tio, D. L., Vincelli, J., McArthur, D. L., & Taylor, A. N. (2012). Differential Effects of Voluntary and Forced Exercise on Stress Responses after Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*, *29*(7), 1426–1433. <https://doi.org/10.1089/neu.2011.2229>

- Gruenbaum, B. F., Zlotnik, A., Fleidervish, I., Frenkel, A., & Boyko, M. (2022). Glutamate Neurotoxicity and Destruction of the Blood–Brain Barrier: Key Pathways for the Development of Neuropsychiatric Consequences of TBI and Their Potential Treatment Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(17), 9628. <https://doi.org/10.3390/ijms23179628>
- Gu, Y. L., Zhang, L. W., Ma, N., Ye, L. L., Wang, D. X., & Gao, X. (2014). Cognitive improvement of mice induced by exercise prior to traumatic brain injury is associated with cytochrome c oxidase. *Neuroscience Letters*, *570*, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.04.004>
- Guenoun, R. (2020). Progesterone in the Brain: Hormone, Neurosteroid and Neuroprotectant. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(15), 1–21. <https://doi.org/10.3390/ijms21155271>
- Gupte, R., Brooks, W., Vukas, R., Pierce, J., & Harris, J. (2019). Sex Differences in Traumatic Brain Injury: What We Know and What We Should Know. *Journal of Neurotrauma*, *36*(22), 3063–3091. <https://doi.org/10.1089/neu.2018.6171>
- Hargreaves, M., & Spriet, L. L. (2020). Skeletal muscle energy metabolism during exercise. *Nature Metabolism*, *2*(9), 817–828. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-0251-4>
- Hasanli, S., Hojjati, S., & Koushkie Jahromi, M. (2020). The Effect of Exercise and Psychological Stress on Anti- and Proinflammatory Cytokines. *Neuroimmunomodulation*, *27*(4), 186–193. <https://doi.org/10.1159/000512814>
- Haskell, W. L., Lee, I.-M., Pate, R. R., Powell, K. E., Blair, S. N., Franklin, B. A., Macera, C. A., Heath, G. W., Thompson, P. D., & Bauman, A. (2007). Physical

activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 39(8), 1423–1434.
<https://doi.org/10.1249/mss.0b013e3180616b27>

Hayes, K., Sprague, S., Guo, M., Davis, W., Friedman, A., Kumar, A., Jimenez, D. F., & Ding, Y. (2008). Forced, not voluntary, exercise effectively induces neuroprotection in stroke. *Acta Neuropathologica*, 115(3), 289–296.
<https://doi.org/10.1007/s00401-008-0340-z>

Heo, J., Noble, E. E., & Call, J. A. (2023). The role of exerkinases on brain mitochondria: a mini-review. *Journal of Applied Physiology*, 134(1), 28–35.
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00565.2022>

Hermanides, J., Plummer, M. P., Finnis, M., Deane, A. M., Coles, J. P., & Menon, D. K. (2018). Glycaemic control targets after traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care*, 22(1), 11.
<https://doi.org/10.1186/s13054-017-1883-y>

Hiebert, J. B., Shen, Q., Thimmesch, A. R., & Pierce, J. D. (2015). Traumatic brain injury and mitochondrial dysfunction. *The American Journal of the Medical Sciences*, 350(2), 132–138.
<https://doi.org/10.1097/MAJ.0000000000000506>

Hill, C. S., Coleman, M. P., & Menon, D. K. (2016). Traumatic Axonal Injury: Mechanisms and Translational Opportunities. *Trends in Neurosciences*, 39(5), 311–324. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.03.002>

Hillman, C. H., Erickson, K. I., & Kramer, A. F. (2008). Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(1), 58–65. <https://doi.org/10.1038/nrn2298>

- Holm, L., Cassidy, J. D., Carroll, L. J., Borg, J., & Neurotrauma Task Force on Mild Traumatic Brain Injury of the WHO Collaborating Centre. (2005). Summary of the WHO Collaborating Centre for Neurotrauma Task Force on Mild Traumatic Brain Injury. *Journal of Rehabilitation Medicine*, 37(3), 137–141. <https://doi.org/10.1080/16501970510027321>
- Horstmann, G., & Herwig, A. (2016). Novelty biases attention and gaze in a surprise trial. *Attention, Perception & Psychophysics*, 78(1), 69–77. <https://doi.org/10.3758/s13414-015-0995-1>
- Hovda, D. A., Yoshino, A., Kawamata, T., Katayama, Y., & Becker, D. P. (1991). Diffuse prolonged depression of cerebral oxidative metabolism following concussive brain injury in the rat: a cytochrome oxidase histochemistry study. *Brain Research*, 567(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)91429-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)91429-5)
- Høydal, M. A., Wisløff, U., Kemi, O. J., & Ellingsen, Ø. (2007). Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*, 14(6), 753–760. <https://doi.org/10.1097/HJR.0b013e3281eacef1>
- Huang, S., Ge, X., Yu, J., Han, Z., Yin, Z., Li, Y., Chen, F., Wang, H., Zhang, J., & Lei, P. (2018). Increased miR-124-3p in microglial exosomes following traumatic brain injury inhibits neuronal inflammation and contributes to neurite outgrowth via their transfer into neurons. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 32(1), 512–528. <https://doi.org/10.1096/fj.201700673R>

- Iaccarino, C., Carretta, A., Nicolosi, F., & Morselli, C. (2018). Epidemiology of severe traumatic brain injury. *Journal of Neurosurgical Sciences*, *62*(5), 535–541. <https://doi.org/10.23736/S0390-5616.18.04532-0>
- Ibrahim, N. A., Badour, M. I., Stone, R. M., & Shepley, B. R. (2021). The enigma of cerebral blood flow and cognition. *The Journal of Physiology*, *599*(6), 1739–1741. <https://doi.org/10.1113/JP281175>
- Ismail, H., Shakkour, Z., Tabet, M., Abdelhady, S., Kobaisi, A., Abedi, R., Nasrallah, L., Pintus, G., Al-Dhaheeri, Y., Mondello, S., El-Khoury, R., Eid, A. H., Kobeissy, F., & Salameh, J. (2020). Traumatic Brain Injury: Oxidative Stress and Novel Anti-Oxidants Such as Mitoquinone and Edaravone. *Antioxidants*, *9*(10), 943. <https://doi.org/10.3390/antiox9100943>
- Itoh, T., Imano, M., Nishida, S., Tsubaki, M., Hashimoto, S., Ito, A., & Satou, T. (2011a). Exercise increases neural stem cell proliferation surrounding the area of damage following rat traumatic brain injury. *Journal of Neural Transmission*, *118*(2), 193–202. <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0495-3>
- Itoh, T., Imano, M., Nishida, S., Tsubaki, M., Hashimoto, S., Ito, A., & Satou, T. (2011b). Exercise inhibits neuronal apoptosis and improves cerebral function following rat traumatic brain injury. *Journal of Neural Transmission*, *118*(9), 1263–1272. <https://doi.org/10.1007/s00702-011-0629-2>
- Jacotte-Simancas, A., Costa-Miserachs, D., Coll-Andreu, M., Torras-Garcia, M., Borlongan, C. V., & Portell-Cortés, I. (2015). Effects of Voluntary Physical Exercise, Citicoline, and Combined Treatment on Object Recognition Memory, Neurogenesis, and Neuroprotection after Traumatic Brain Injury

in Rats. *Journal of Neurotrauma*, 32(10), 739–751.

<https://doi.org/10.1089/neu.2014.3502>

Jakovljevic, D. G. (2018). Physical activity and cardiovascular aging: Physiological and molecular insights. *Experimental Gerontology*, 109, 67–74.

<https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.05.016>

Jamjoom, A. A. B., Rhodes, J., Andrews, P. J. D., & Grant, S. G. N. (2021). The synapse in traumatic brain injury. *Brain*, 144(1), 18–31.

<https://doi.org/10.1093/brain/awaa321>

Jassam, Y. N., Izzy, S., Whalen, M., McGavern, D. B., & El Khoury, J. (2017). Neuroimmunology of Traumatic Brain Injury: Time for a Paradigm Shift. *Neuron*, 95(6), 1246–1265. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.07.010>

Jayakumar, A. R., Tong, X. Y., Ruiz-Cordero, R., Bregy, A., Bethea, J. R., Bramlett, H. M., & Norenberg, M. D. (2014). Activation of NF- κ B Mediates Astrocyte Swelling and Brain Edema in Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*, 31(14), 1249–1257. <https://doi.org/10.1089/neu.2013.3169>

Jin, K., Zhu, Y., Sun, Y., Mao, X. O., Xie, L., & Greenberg, D. A. (2002). Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(18), 11946–11950. <https://doi.org/10.1073/pnas.182296499>

Johnson, V. E., Stewart, J. E., Begbie, F. D., Trojanowski, J. Q., Smith, D. H., & Stewart, W. (2013). Inflammation and white matter degeneration persist for years after a single traumatic brain injury. *Brain*, 136(1), 28–42.

<https://doi.org/10.1093/brain/aws322>

- Johnson, V. E., Stewart, W., & Smith, D. H. (2010). Traumatic brain injury and amyloid- β pathology: a link to Alzheimer's disease? *Nature Reviews Neuroscience*, 11(5), 361–370. <https://doi.org/10.1038/nrn2808>
- Johnson, V. E., Stewart, W., & Smith, D. H. (2013). Axonal pathology in traumatic brain injury. *Experimental Neurology*, 246, 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.01.013>
- Jones, R. S., Minogue, A. M., Connor, T. J., & Lynch, M. A. (2013). Amyloid- β -induced astrocytic phagocytosis is mediated by CD36, CD47 and RAGE. *Journal of Neuroimmune Pharmacology : The Official Journal of the Society on Neuroimmune Pharmacology*, 8(1), 301–311. <https://doi.org/10.1007/s11481-012-9427-3>
- Jorge, R. E., & Arciniegas, D. B. (2014). Mood disorders after TBI. *The Psychiatric Clinics of North America*, 37(1), 13–29. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2013.11.005>
- Jourdan, C., Bayen, E., Pradat-Diehl, P., Ghout, I., Darnoux, E., Azerad, S., Vallat-Azouvi, C., Charanton, J., Aegerter, P., Ruet, A., & Azouvi, P. (2016). A comprehensive picture of 4-year outcome of severe brain injuries. Results from the Paris-TBI study. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*, 59(2), 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.rehab.2015.10.009>
- Karaca, O., Buyukmert, A., Tepe, N., Ozcan, E., & Kus, I. (2020). Volume estimation of brain ventricles using Cavalieri's principle and Atlas-based methods in Alzheimer disease: Consistency between methods. *Journal of Clinical Neuroscience*, 78, 333–338. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2020.04.092>

- Karelina, K., Schneiderman, K., Shah, S., Fitzgerald, J., Cruz, R. V., Oliverio, R., Whitehead, B., Yang, J., & Weil, Z. M. (2021). Moderate Intensity Treadmill Exercise Increases Survival of Newborn Hippocampal Neurons and Improves Neurobehavioral Outcomes after Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*, *38*(13), 1858–1869.
<https://doi.org/10.1089/neu.2020.7389>
- Kawanishi, N., Yano, H., Yokogawa, Y., & Suzuki, K. (2010). Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice. *Exercise Immunology Review*, *16*, 105–118. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20839495>
- Ke, Z., Yip, S. P., Li, L., Zheng, X.-X., & Tong, K.-Y. (2011). The Effects of Voluntary, Involuntary, and Forced Exercises on Brain-Derived Neurotrophic Factor and Motor Function Recovery: A Rat Brain Ischemia Model. *PLoS ONE*, *6*(2), e16643. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016643>
- Kempermann, G., Gast, D., Kronenberg, G., Yamaguchi, M., & Gage, F. H. (2003). Early determination and long-term persistence of adult-generated new neurons in the hippocampus of mice. *Development*, *130*(2), 391–399.
<https://doi.org/10.1242/dev.00203>
- Kempermann, G., Jessberger, S., Steiner, B., & Kronenberg, G. (2004). Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends in Neurosciences*, *27*(8), 447–452. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.05.013>
- Kennedy, L., Glesaaen, E. R., Palibrk, V., Pannone, M., Wang, W., Al-Jabri, A., Suganthan, R., Meyer, N., Austbø, M. L., Lin, X., Bergersen, L. H., Bjørås, M., & Rinholm, J. E. (2022). Lactate receptor HCAR1 regulates neurogenesis and

microglia activation after neonatal hypoxia-ischemia. *ELife*, 11.

<https://doi.org/10.7554/eLife.76451>

Kim, C. K., Park, J. S., Kim, E., Oh, M.-K., Lee, Y.-T., Yoon, K. J., Joo, K. M., Lee, K., & Park, Y. S. (2022). The effects of early exercise in traumatic brain-injured rats with changes in motor ability, brain tissue, and biomarkers. *BMB Reports*, 55(10), 512–517.

<https://doi.org/10.5483/BMBRep.2022.55.10.097>

Kim, D.-H., Ko, I.-G., Kim, B.-K., Kim, T.-W., Kim, S.-E., Shin, M.-S., Kim, C.-J., Kim, H., Kim, K.-M., & Baek, S.-S. (2010). Treadmill exercise inhibits traumatic brain injury-induced hippocampal apoptosis. *Physiology & Behavior*, 101(5), 660–665. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.09.021>

Kim, S.-E., Ko, I.-G., Kim, B.-K., Shin, M.-S., Cho, S., Kim, C.-J., Kim, S.-H., Baek, S.-S., Lee, E.-K., & Jee, Y.-S. (2010). Treadmill exercise prevents aging-induced failure of memory through an increase in neurogenesis and suppression of apoptosis in rat hippocampus. *Experimental Gerontology*, 45(5), 357–365.

<https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.02.005>

Ko, I.-G., Kim, S.-E., Hwang, L., Jin, J.-J., Kim, C.-J., Kim, B.-K., & Kim, H. (2018). Late starting treadmill exercise improves spatial learning ability through suppressing CREP/BDNF/TrkB signaling pathway following traumatic brain injury in rats. *Journal of Exercise Rehabilitation*, 14(3), 327–334.

<https://doi.org/10.12965/jer.1836248.124>

Kolosowska, N., Keuters, M. H., Wojciechowski, S., Keksa-Goldsteine, V., Laine, M., Malm, T., Goldsteins, G., Koistinaho, J., & Dhungana, H. (2019). Peripheral Administration of IL-13 Induces Anti-inflammatory Microglial/Macrophage Responses and Provides Neuroprotection in

Ischemic Stroke. *Neurotherapeutics : The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 16(4), 1304–1319.

<https://doi.org/10.1007/s13311-019-00761-0>

Lalancette-Hébert, M., Gowing, G., Simard, A., Yuan, C. W., & Kriz, J. (2007). Selective ablation of proliferating microglial cells exacerbates ischemic injury in the brain. *Journal of Neuroscience*, 27(10), 2596–2605.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5360-06.2007>

Leasure, J. L., & Jones, M. (2008). Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience*, 156(3), 456–465.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.07.041>

Leger, M., Quiedeville, A., Bouet, V., Haelewyn, B., Boulouard, M., Schumann-Bard, P., & Freret, T. (2013). Object recognition test in mice. *Nature Protocols*, 8(12), 2531–2537. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.155>

Leiva, A. M., Martínez, M. A., Cristi-Montero, C., Salas, C., Ramírez-Campillo, R., Díaz Martínez, X., Aguilar-Farías, N., & Celis-Morales, C. (2017). El sedentarismo se asocia a un incremento de factores de riesgo cardiovascular y metabólicos independiente de los niveles de actividad física. *Revista Médica de Chile*, 145(4), 458–467.

<https://doi.org/10.4067/S0034-98872017000400006>

Li, Y., Luikart, B. W., Birnbaum, S., Chen, J., Kwon, C.-H., Kernie, S. G., Bassel-Duby, R., & Parada, L. F. (2008). TrkB regulates hippocampal neurogenesis and governs sensitivity to antidepressive treatment. *Neuron*, 59(3), 399–412. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.06.023>

Li, Z., Song, Y., He, T., Wen, R., Li, Y., Chen, T., Huang, S., Wang, Y., Tang, Y., Shen, F., Tian, H.-L., Yang, G.-Y., & Zhang, Z. (2021). M2 microglial small

extracellular vesicles reduce glial scar formation *via* the miR-124/STAT3 pathway after ischemic stroke in mice. *Theranostics*, *11*(3), 1232–1248.
<https://doi.org/10.7150/thno.48761>

Lifshitz, J., Rowe, R. K., Griffiths, D. R., Evilsizor, M. N., Thomas, T. C., Adelson, P. D., & McIntosh, T. K. (2016). Clinical relevance of midline fluid percussion brain injury: Acute deficits, chronic morbidities and the utility of biomarkers. *Brain Injury*, *30*(11), 1293–1301.
<https://doi.org/10.1080/02699052.2016.1193628>

Lilienberg, J., Apáti, Á., Réthelyi, J. M., & Homolya, L. (2022). Microglia modulate proliferation, neurite generation and differentiation of human neural progenitor cells. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *10*.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2022.997028>

Lin, Y., Dong, J., Yan, T., He, X., Zheng, X., Liang, H., & Sui, M. (2015). Involuntary, forced and voluntary exercises are equally capable of inducing hippocampal plasticity and the recovery of cognitive function after stroke. *Neurological Research*, *37*(10), 893–901.
<https://doi.org/10.1179/1743132815Y.0000000074>

Lin, Y., Lu, X., Dong, J., He, X., Yan, T., Liang, H., Sui, M., Zheng, X., Liu, H., Zhao, J., & Lu, X. (2015). Involuntary, Forced and Voluntary Exercises Equally Attenuate Neurocognitive Deficits in Vascular Dementia by the BDNF–pCREB Mediated Pathway. *Neurochemical Research*, *40*(9), 1839–1848.
<https://doi.org/10.1007/s11064-015-1673-3>

Lin, Y., Xu, Y., Feng, H., You, L., Dong, J., Gao, Z., Peng, S., Deng, Y., & Wu, P. (2021). Involuntary, forced or voluntary exercise can ameliorate the cognitive deficits by enhancing levels of hippocampal NMDAR1, pAMPA1

- and pCaMKII in a model of vascular dementia. *Neurological Research*, 43(5), 349–357. <https://doi.org/10.1080/01616412.2020.1866351>
- Loane, D. J., & Kumar, A. (2016). Microglia in the TBI brain: The good, the bad, and the dysregulated. *Experimental Neurology*, 275 Pt 3(0 3), 316–327. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.08.018>
- Logsdon, A. F., Lucke-Wold, B. P., Turner, R. C., Collins, S. M., Reeder, E. L., Huber, J. D., Rosen, C. L., Robson, M. J., & Plattner, F. (2020). Low-intensity Blast Wave Model for Preclinical Assessment of Closed-head Mild Traumatic Brain Injury in Rodents. *Journal of Visualized Experiments*, 165. <https://doi.org/10.3791/61244>
- Lou, J., Wu, J., Feng, M., Dang, X., Wu, G., Yang, H., Wang, Y., Li, J., Zhao, Y., Shi, C., Liu, J., Zhao, L., Zhang, X., & Gao, F. (2022). Exercise promotes angiogenesis by enhancing endothelial cell fatty acid utilization via liver-derived extracellular vesicle miR-122-5p. *Journal of Sport and Health Science*, 11(4), 495–508. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2021.09.009>
- Lu, B., Nagappan, G., & Lu, Y. (2014). BDNF and Synaptic Plasticity, Cognitive Function, and Dysfunction. In *Handbook of Experimental Pharmacology* (Vol. 220, pp. 223–250). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/978-3-642-45106-5_9
- Lu, B., Pang, P. T., & Woo, N. H. (2005). The yin and yang of neurotrophin action. *Nature Reviews. Neuroscience*, 6(8), 603–614. <https://doi.org/10.1038/nrn1726>
- Ma, X., Aravind, A., Pfister, B. J., Chandra, N., & Haorah, J. (2019). Animal Models of Traumatic Brain Injury and Assessment of Injury Severity.

Molecular Neurobiology, 56(8), 5332–5345.

<https://doi.org/10.1007/s12035-018-1454-5>

Maas, A. I., Stocchetti, N., & Bullock, R. (2008). Moderate and severe traumatic brain injury in adults. *The Lancet Neurology*, 7(8), 728–741.

[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70164-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70164-9)

Mammen, G., & Faulkner, G. (2013). Physical activity and the prevention of depression: a systematic review of prospective studies. *American Journal of Preventive Medicine*, 45(5), 649–657.

<https://doi.org/10.1016/j.amepre.2013.08.001>

Marshman, L. A. G., Jakabek, D., Hennessy, M., Quirk, F., & Guazzo, E. P. (2013). Post-traumatic amnesia. *Journal of Clinical Neuroscience*, 20(11), 1475–

1481. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2012.11.022>

Martínez-Drudis, L., Amorós-Aguilar, L., Torras-Garcia, M., Serra-Elias, B., Costa-Miserachs, D., Portell-Cortés, I., & Coll-Andreu, M. (2021). Delayed voluntary physical exercise restores “when” and “where” object recognition memory after traumatic brain injury. *Behavioural Brain Research*, 400,

113048. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.113048>

McAllister, T. W., Saykin, A. J., Flashman, L. A., Sparling, M. B., Johnson, S. C., Guerin, S. J., Mamourian, A. C., Weaver, J. B., & Yanofsky, N. (1999). Brain activation during working memory 1 month after mild traumatic brain injury. *Neurology*, 53(6), 1300–1300.

<https://doi.org/10.1212/WNL.53.6.1300>

McGregor, C. E., & English, A. W. (2019). The Role of BDNF in Peripheral Nerve Regeneration: Activity-Dependent Treatments and Val66Met. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00522>

- McKernan, D. P. (2020). Pattern recognition receptors as potential drug targets in inflammatory disorders. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 119, 65–109. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.09.001>
- Melincovici, C. S., Boşca, A. B., Şuşman, S., Mărginean, M., Mişu, C., Istrate, M., Moldovan, I. M., Roman, A. L., & Mişu, C. M. (2018). Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis. *Romanian Journal of Morphology and Embryology = Revue Roumaine de Morphologie et Embryologie*, 59(2), 455–467. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30173249>
- Memme, J. M., Erlich, A. T., Phukan, G., & Hood, D. A. (2021). Exercise and mitochondrial health. *The Journal of Physiology*, 599(3), 803–817. <https://doi.org/10.1113/JP278853>
- Menon, D. K., Schwab, K., Wright, D. W., & Maas, A. I. (2010). Position Statement: Definition of Traumatic Brain Injury. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 91(11), 1637–1640. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2010.05.017>
- Michinaga, S., & Koyama, Y. (2021). Pathophysiological Responses and Roles of Astrocytes in Traumatic Brain Injury. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12). <https://doi.org/10.3390/ijms22126418>
- Miron, V. E., Boyd, A., Zhao, J.-W., Yuen, T. J., Ruckh, J. M., Shadrach, J. L., van Wijngaarden, P., Wagers, A. J., Williams, A., Franklin, R. J. M., & Ffrench-Constant, C. (2013). M2 microglia and macrophages drive oligodendrocyte differentiation during CNS remyelination. *Nature Neuroscience*, 16(9), 1211–1218. <https://doi.org/10.1038/nn.3469>

- Molendijk, M. L., & de Kloet, E. R. (2022). Forced swim stressor: Trends in usage and mechanistic consideration. *European Journal of Neuroscience*, *55*(9–10), 2813–2831. <https://doi.org/10.1111/ejn.15139>
- Mollayeva, T., Mollayeva, S., & Colantonio, A. (2018). Traumatic brain injury: sex, gender and intersecting vulnerabilities. *Nature Reviews Neurology*, *14*(12), 711–722. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0091-y>
- Morland, C., Andersson, K. A., Haugen, Ø. P., Hadzic, A., Kleppa, L., Gille, A., Rinholm, J. E., Palibrk, V., Diget, E. H., Kennedy, L. H., Stølen, T., Hennestad, E., Moldestad, O., Cai, Y., Puchades, M., Offermanns, S., Vervaeke, K., Bjørås, M., Wisløff, U., ... Bergersen, L. H. (2017). Exercise induces cerebral VEGF and angiogenesis via the lactate receptor HCAR1. *Nature Communications*, *8*, 15557. <https://doi.org/10.1038/ncomms15557>
- Mossberg, K. A., Ayala, D., Baker, T., Heard, J., & Masel, B. (2007). Aerobic capacity after traumatic brain injury: comparison with a nondisabled cohort. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *88*(3), 315–320. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2006.12.006>
- Mychasiuk, R., Hehar, H., Ma, I., Candy, S., & Esser, M. J. (2016). Reducing the time interval between concussion and voluntary exercise restores motor impairment, short-term memory, and alterations to gene expression. *European Journal of Neuroscience*, *44*(7), 2407–2417. <https://doi.org/10.1111/ejn.13360>
- Najem, D., Rennie, K., Ribocco-Lutkiewicz, M., Ly, D., Haukenfrers, J., Liu, Q., Nzau, M., Fraser, D. D., & Bani-Yaghoub, M. (2018). Traumatic brain injury: classification, models, and markers. *Biochemistry and Cell Biology* =

Biochimie et Biologie Cellulaire, 96(4), 391–406.

<https://doi.org/10.1139/bcb-2016-0160>

Neumann, J., Gunzer, M., Gutzeit, H. O., Ullrich, O., Reymann, K. G., & Dinkel, K. (2006). Microglia provide neuroprotection after ischemia. *The FASEB Journal*, 20(6), 714–716. <https://doi.org/10.1096/fj.05-4882fje>

Nguyen, R., Fiest, K. M., McChesney, J., Kwon, C.-S., Jette, N., Frolkis, A. D., Atta, C., Mah, S., Dhaliwal, H., Reid, A., Pringsheim, T., Dykeman, J., & Gallagher, C. (2016). The International Incidence of Traumatic Brain Injury: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien Des Sciences Neurologiques*, 43(6), 774–785. <https://doi.org/10.1017/cjn.2016.290>

Nicola, R., Madar, R., & Okun, E. (2022). HCAR1-Mediated L-Lactate Signaling Suppresses Microglial Phagocytosis. *Neuromolecular Medicine*, 24(4), 399–404. <https://doi.org/10.1007/s12017-022-08710-5>

Niraula, A., Sheridan, J. F., & Godbout, J. P. (2017). Microglia Priming with Aging and Stress. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 42(1), 318–333. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.185>

Numakawa, T., Odaka, H., & Adachi, N. (2018). Actions of Brain-Derived Neurotrophin Factor in the Neurogenesis and Neuronal Function, and Its Involvement in the Pathophysiology of Brain Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11). <https://doi.org/10.3390/ijms19113650>

Orihuela, R., McPherson, C. A., & Harry, G. J. (2016). Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *British Journal of Pharmacology*, 173(4), 649–665. <https://doi.org/10.1111/bph.13139>

Ortega-Pérez, S., & Amaya-Rey, M. C. (2018). Secondary Brain Injury: A Concept Analysis. *Journal of Neuroscience Nursing*, *50*(4), 220–224.
<https://doi.org/10.1097/JNN.0000000000000384>

Osier, N., & Dixon, C. E. (2016). The Controlled Cortical Impact Model of Experimental Brain Trauma: Overview, Research Applications, and Protocol. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1462, pp. 177–192). Humana Press Inc. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3816-2_11

Ovsenik, A., Podbregar, M., & Fabjan, A. (2021). Cerebral blood flow impairment and cognitive decline in heart failure. *Brain and Behavior*, *11*(6).
<https://doi.org/10.1002/brb3.2176>

Palacios, E. M., Sala-Llonch, R., Junque, C., Fernandez-Espejo, D., Roig, T., Tormos, J. M., Bargallo, N., & Vendrell, P. (2013). Long-term declarative memory deficits in diffuse TBI: correlations with cortical thickness, white matter integrity and hippocampal volume. *Cortex; a Journal Devoted to the Study of the Nervous System and Behavior*, *49*(3), 646–657.
<https://doi.org/10.1016/j.cortex.2012.02.011>

Palasz, E., Wilkaniec, A., Stanaszek, L., Andrzejewska, A., & Adamczyk, A. (2023). Glia-Neurotrophic Factor Relationships: Possible Role in Pathobiology of Neuroinflammation-Related Brain Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(7), 6321. <https://doi.org/10.3390/ijms24076321>

Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (G. Paxinos & C. Watson, Eds.; 6th ed.). Elsevier/Academic.

Peeters, W., van den Brande, R., Polinder, S., Brazinova, A., Steyerberg, E. W., Lingsma, H. F., & Maas, A. I. R. (2015). Epidemiology of traumatic brain

injury in Europe. *Acta Neurochirurgica*, 157(10), 1683–1696.

<https://doi.org/10.1007/s00701-015-2512-7>

Peluso, M. A. M., & Andrade, L. H. S. G. de. (2005). Physical activity and mental health: the association between exercise and mood. *Clinics*, 60(1), 61–70.

<https://doi.org/10.1590/S1807-59322005000100012>

Perrino, C., Gargiulo, G., Pironti, G., Franzone, A., Scudiero, L., De Laurentis, M., Magliulo, F., Ilardi, F., Carotenuto, G., Schiattarella, G. G., & Esposito, G. (2011). Cardiovascular effects of treadmill exercise in physiological and pathological preclinical settings. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 300(6), H1983–H1989.

<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00784.2010>

Perry, V. H., & Holmes, C. (2014). Microglial priming in neurodegenerative disease. *Nature Reviews. Neurology*, 10(4), 217–224.

<https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.38>

Petersen, A. M. W., & Pedersen, B. K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *Journal of Applied Physiology*, 98(4), 1154–1162.

<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00164.2004>

Piao, C.-S., Stoica, B. A., Wu, J., Sabirzhanov, B., Zhao, Z., Cabatbat, R., Loane, D. J., & Faden, A. I. (2013). Late exercise reduces neuroinflammation and cognitive dysfunction after traumatic brain injury. *Neurobiology of Disease*, 54, 252–263.

<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.12.017>

Plenger, P., Krishnan, K., Cloud, M., Bosworth, C., Qualls, D., & Marquez de la Plata, C. (2016). fNIRS-based investigation of the Stroop task after TBI. *Brain Imaging and Behavior*, 10(2), 357–366.

<https://doi.org/10.1007/s11682-015-9401-9>

- Post, A., & Hoshizaki, T. B. (2012). Mechanisms of brain impact injuries and their prediction: A review. *Trauma*, *14*(4), 327–349.
<https://doi.org/10.1177/1460408612446573>
- Prajapati, P., Wang, W.-X., Pesina, S. A., Geleta, U., & Springer, J. E. (2023). Sex-Specific Alterations in Inflammatory MicroRNAs in Mouse Brain and Bone Marrow CD11b+ Cells Following Traumatic Brain Injury. *Cellular and Molecular Neurobiology*, *43*(1), 423–429. <https://doi.org/10.1007/s10571-021-01164-6>
- Qian, F., Zhong, Q., & Chen, Z. (2024). Role of mitochondrial dysfunction in acute traumatic brain injury: Evidence from bioinformatics analysis. *Heliyon*, *10*(10), e31121. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31121>
- R Core Team. (2022). *R: A Language and Environment for Statistical Computing [Computer Software]*. R Foundation for Statistical Computing.
<https://www.R-project.org/>
- Rachmany, L., Tweedie, D., Rubovitch, V., Li, Y., Holloway, H. W., Kim, D. S., Ratliff, W. A., Saykally, J. N., Citron, B. A., Hoffer, B. J., Greig, N. H., & Pick, C. G. (2017). Exendin-4 attenuates blast traumatic brain injury induced cognitive impairments, losses of synaptophysin and in vitro TBI-induced hippocampal cellular degeneration. *Scientific Reports*, *7*(1), 3735.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-03792-9>
- Raghupathi, R. (2004). Cell Death Mechanisms Following Traumatic Brain Injury. *Brain Pathology*, *14*(2), 215–222. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2004.tb00056.x>
- Ramlackhansingh, A. F., Brooks, D. J., Greenwood, R. J., Bose, S. K., Turkheimer, F. E., Kinnunen, K. M., Gentleman, S., Heckemann, R. A., Gunanayagam, K.,

- Gelosa, G., & Sharp, D. J. (2011). Inflammation after trauma: microglial activation and traumatic brain injury. *Annals of Neurology*, *70*(3), 374–383. <https://doi.org/10.1002/ana.22455>
- Ramos, J. M. J., & Vaquero, J. M. M. (2005). The perirhinal cortex of the rat is necessary for spatial memory retention long after but not soon after learning. *Physiology & Behavior*, *86*(1–2), 118–127. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.07.004>
- Ransohoff, R. M. (2016). A polarizing question: do M1 and M2 microglia exist? *Nature Neuroscience*, *19*(8), 987–991. <https://doi.org/10.1038/nn.4338>
- Reinert, M., Khaldi, A., Zauner, A., Doppenberg, E., Choi, S., & Bullock, R. (2000). High extracellular potassium and its correlates after severe head injury: relationship to high intracranial pressure. *Neurosurgical Focus*, *8*(1), 1–8. <https://doi.org/10.3171/foc.2000.8.1.2027>
- Rentería, I., García-Suárez, P. C., Fry, A. C., Moncada-Jiménez, J., Machado-Parra, J. P., Antunes, B. M., & Jiménez-Maldonado, A. (2022). The Molecular Effects of BDNF Synthesis on Skeletal Muscle: A Mini-Review. *Frontiers in Physiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.934714>
- Roberts, G. W., Gentleman, S. M., Lynch, A., & Graham, D. I. (1991). β A4 amyloid protein deposition in brain after head trauma. *The Lancet*, *338*(8780), 1422–1423. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)92724-G](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)92724-G)
- Rostami, S., Haghparast, A., & Fayazmilani, R. (2021). The downstream effects of forced exercise training and voluntary physical activity in an enriched environment on hippocampal plasticity in preadolescent rats. *Brain Research*, *1759*, 147373. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147373>

- Rubin, T. G., & Lipton, M. L. (2019). Sex Differences in Animal Models of Traumatic Brain Injury. *Journal of Experimental Neuroscience*, *13*, 117906951984402. <https://doi.org/10.1177/1179069519844020>
- Saatman, K. E., Duhaime, A.-C., Bullock, R., Maas, A. I. R., Valadka, A., Manley, G. T., & Workshop Scientific Team and Advisory Panel Members. (2008). Classification of traumatic brain injury for targeted therapies. *Journal of Neurotrauma*, *25*(7), 719–738. <https://doi.org/10.1089/neu.2008.0586>
- Saban, K. L., Smith, B. M., Collins, E. G., & Pape, T. L.-B. (2011). Sex Differences in Perceived Life Satisfaction and Functional Status One Year After Severe Traumatic Brain Injury. *Journal of Women's Health*, *20*(2), 179–186. <https://doi.org/10.1089/jwh.2010.2334>
- Safdar, A., Saleem, A., & Tarnopolsky, M. A. (2016). The potential of endurance exercise-derived exosomes to treat metabolic diseases. *Nature Reviews Endocrinology*, *12*(9), 504–517. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.76>
- Sahler, C. S., & Greenwald, B. D. (2012). Traumatic Brain Injury in Sports: A Review. *Rehabilitation Research and Practice*, *2012*, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2012/659652>
- Sánchez-Martín, T., Costa-Miserachs, D., Coll-Andreu, M., Portell-Cortés, I., García-Brito, S., & Torras-Garcia, M. (2024). Treating Traumatic Brain Injury with Exercise: Onset Delay and Previous Training as Key Factors Determining its Efficacy. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. <https://doi.org/10.1177/15459683241270023>
- Sarkaki, A. R., Khaksari Haddad, M., Soltani, Z., Shahrokhi, N., & Mahmoodi, M. (2013). Time- and Dose-Dependent Neuroprotective Effects of Sex Steroid Hormones on Inflammatory Cytokines after a Traumatic Brain Injury.

Journal of Neurotrauma, 30(1), 47–54.

<https://doi.org/10.1089/neu.2010.1686>

Sasaki, H., Hattori, Y., Ikeda, Y., Kamagata, M., Iwami, S., Yasuda, S., Tahara, Y., & Shibata, S. (2016). Forced rather than voluntary exercise entrains peripheral clocks via a corticosterone/noradrenaline increase in PER2::LUC mice. *Scientific Reports*, 6, 27607. <https://doi.org/10.1038/srep27607>

Saykally, J. N., Rachmany, L., Hatic, H., Shaer, A., Rubovitch, V., Pick, C. G., & Citron, B. A. (2012). The nuclear factor erythroid 2-like 2 activator, tert-butylhydroquinone, improves cognitive performance in mice after mild traumatic brain injury. *Neuroscience*, 223, 305–314. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.07.070>

Scheffer, D. da L., & Latini, A. (2020). Exercise-induced immune system response: Anti-inflammatory status on peripheral and central organs. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease*, 1866(10), 165823. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165823>

Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., & Cardona, A. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 676–682. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>

Shen, X., Li, A., Zhang, Y., Dong, X., Shan, T., Wu, Y., Jia, J., & Hu, Y. (2013). The effect of different intensities of treadmill exercise on cognitive function deficit following a severe controlled cortical impact in rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(11), 21598–21612. <https://doi.org/10.3390/ijms141121598>

- Shi, J., Dong, B., Mao, Y., Guan, W., Cao, J., Zhu, R., & Wang, S. (2016). Review: Traumatic brain injury and hyperglycemia, a potentially modifiable risk factor. *Oncotarget*, 7(43), 71052–71061.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.11958>
- Siwicka-Gieroba, D., Robba, C., Gołacki, J., Badenes, R., & Dabrowski, W. (2022). Cerebral Oxygen Delivery and Consumption in Brain-Injured Patients. *Journal of Personalized Medicine*, 12(11), 1763.
<https://doi.org/10.3390/jpm12111763>
- Sofroniew, M. V., & Vinters, H. V. (2010). Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, 119(1), 7–35. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0619-8>
- Sorriento, D., Di Vaia, E., & Iaccarino, G. (2021). Physical Exercise: A Novel Tool to Protect Mitochondrial Health. *Frontiers in Physiology*, 12.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2021.660068>
- Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 171–177.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.06.005>
- Steiner, J. L., Murphy, E. A., McClellan, J. L., Carmichael, M. D., & Davis, J. M. (2011). Exercise training increases mitochondrial biogenesis in the brain. *Journal of Applied Physiology*, 111(4), 1066–1071.
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00343.2011>
- Straube, T., Korz, V., & Frey, J. U. (2003). Bidirectional modulation of long-term potentiation by novelty-exploration in rat dentate gyrus. *Neuroscience Letters*, 344(1), 5–8. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(03\)00349-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(03)00349-5)

- Sun, N., Youle, R. J., & Finkel, T. (2016). The Mitochondrial Basis of Aging. *Molecular Cell*, *61*(5), 654–666.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.01.028>
- Sun, Y., Jin, K., Xie, L., Childs, J., Mao, X. O., Logvinova, A., & Greenberg, D. A. (2003). VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia. *Journal of Clinical Investigation*, *111*(12), 1843–1851. <https://doi.org/10.1172/JCI200317977>
- Suzuki, W. A., & Naya, Y. (2014). The Perirhinal Cortex. *Annual Review of Neuroscience*, *37*(1), 39–53. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071013-014207>
- Svensson, M., Rosvall, P., Boza-Serrano, A., Andersson, E., Lexell, J., & Deierborg, T. (2016). Forced treadmill exercise can induce stress and increase neuronal damage in a mouse model of global cerebral ischemia. *Neurobiology of Stress*, *5*, 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.09.002>
- Taguchi, S., Choudhury, M. E., Miyanishi, K., Nakanishi, Y., Kameda, K., Abe, N., Yano, H., Yorozuya, T., & Tanaka, J. (2019). Aggravating effects of treadmill exercises during the early-onset period in a rat traumatic brain injury model: When should rehabilitation exercises be initiated? *IBRO Reports*, *7*(June), 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.ibror.2019.10.002>
- Takahashi, H., Manaka, S., & Sano, K. (1981). Changes in extracellular potassium concentration in cortex and brain stem during the acute phase of experimental closed head injury. *Journal of Neurosurgery*, *55*(5), 708–717. <https://doi.org/10.3171/jns.1981.55.5.0708>
- Tashiro, A., Sandler, V. M., Toni, N., Zhao, C., & Gage, F. H. (2006). NMDA-receptor-mediated, cell-specific integration of new neurons in adult

dentate gyrus. *Nature*, 442(7105), 929–933.

<https://doi.org/10.1038/nature05028>

Teasdale, G., & Jennett, B. (1974). Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *The Lancet*, 304(7872), 81–84.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(74\)91639-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(74)91639-0)

Teasdale, G., Maas, A., Lecky, F., Manley, G., Stocchetti, N., & Murray, G. (2014). The Glasgow Coma Scale at 40 years: standing the test of time. *The Lancet Neurology*, 13(8), 844–854. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70120-](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70120-6)

6

Tejera, D., Mercan, D., Sanchez-Caro, J. M., Hanan, M., Greenberg, D., Soreq, H., Latz, E., Golenbock, D., & Heneka, M. T. (2019). Systemic inflammation impairs microglial A β clearance through <sc>NLRP</sc> 3 inflammasome. *The EMBO Journal*, 38(17). <https://doi.org/10.15252/embj.2018101064>

The EMBO Journal, 38(17). <https://doi.org/10.15252/embj.2018101064>

The jamovi project. (2023). *jamovi (Version 2.3) [Computer Software]*.

<https://www.jamovi.org>

Tremblay, M. S., Aubert, S., Barnes, J. D., Saunders, T. J., Carson, V., Latimer-

Cheung, A. E., Chastin, S. F. M., Altenburg, T. M., Chinapaw, M. J. M., &

SBRN Terminology Consensus Project Participants. (2017). Sedentary

Behavior Research Network (SBRN) - Terminology Consensus Project

process and outcome. *The International Journal of Behavioral Nutrition and*

Physical Activity, 14(1), 75. <https://doi.org/10.1186/s12966-017-0525-8>

Vallon, M., Chang, J., Zhang, H., & Kuo, C. J. (2014). Developmental and

pathological angiogenesis in the central nervous system. *Cellular and*

Molecular Life Sciences : CMLS, 71(18), 3489–3506.

<https://doi.org/10.1007/s00018-014-1625-0>

- van Praag, H., Kempermann, G., & Gage, F. H. (1999). Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience*, 2(3), 266–270. <https://doi.org/10.1038/6368>
- Villapol, S., Loane, D. J., & Burns, M. P. (2017). Sexual dimorphism in the inflammatory response to traumatic brain injury. *Glia*, 65(9), 1423–1438. <https://doi.org/10.1002/glia.23171>
- Walkon, L. L., Strubbe-Rivera, J. O., & Bazil, J. N. (2022). Calcium Overload and Mitochondrial Metabolism. *Biomolecules*, 12(12), 1891. <https://doi.org/10.3390/biom12121891>
- Wallach, D., & Kovalenko, A. (2014). Keeping inflammation at bay. *ELife*, 3(3), e02583. <https://doi.org/10.7554/eLife.02583>
- Walsh, J. G., Muruve, D. A., & Power, C. (2014). Inflammasomes in the CNS. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(2), 84–97. <https://doi.org/10.1038/nrn3638>
- Wang, B., Wu, Q., Lei, L., Sun, H., Michael, N., Zhang, X., Wang, Y., Zhang, Y., Ge, B., Wu, X., Wang, Y., Xin, Y., Zhao, J., & Li, S. (2019). Long-term social isolation inhibits autophagy activation, induces postsynaptic dysfunctions and impairs spatial memory. *Experimental Neurology*, 311, 213–224. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2018.09.009>
- Wanner, I. B., Anderson, M. A., Song, B., Levine, J., Fernandez, A., Gray-Thompson, Z., Ao, Y., & Sofroniew, M. V. (2013). Glial Scar Borders Are Formed by Newly Proliferated, Elongated Astrocytes That Interact to Corral Inflammatory and Fibrotic Cells via STAT3-Dependent Mechanisms after Spinal Cord Injury. *Journal of Neuroscience*, 33(31), 12870–12886. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2121-13.2013>

- Warburton, E. C., & Brown, M. W. (2015). Neural circuitry for rat recognition memory. *Behavioural Brain Research*, *285*, 131–139.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.09.050>
- Watkins, B. A., Smith, B. J., Volpe, S. L., & Shen, C.-L. (2024). Exerkines, Nutrition, and Systemic Metabolism. *Nutrients*, *16*(3).
<https://doi.org/10.3390/nu16030410>
- Weber, J. T. (2012). Altered Calcium Signaling Following Traumatic Brain Injury. *Frontiers in Pharmacology*, *3*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2012.00060>
- Weinstein, A. A., Chin, L. M. K., Collins, J., Goel, D., Keyser, R. E., & Chan, L. (2017). Effect of Aerobic Exercise Training on Mood in People With Traumatic Brain Injury: A Pilot Study. *Journal of Head Trauma Rehabilitation*, *32*(3), E49–E56.
<https://doi.org/10.1097/HTR.0000000000000253>
- White, B. A., Ivey, J. T., Velazquez-Cruz, R., Oliverio, R., Whitehead, B., Pinti, M., Hollander, J., Ma, L., Hu, G., Weil, Z. M., & Karelina, K. (2023). Exercise intensity and sex alter neurometabolic, transcriptional, and functional recovery following traumatic brain injury. *Experimental Neurology*, *368*, 114483. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2023.114483>
- Wightman, E. L., Haskell-Ramsay, C. F., Thompson, K. G., Blackwell, J. R., Winyard, P. G., Forster, J., Jones, A. M., & Kennedy, D. O. (2015). Dietary nitrate modulates cerebral blood flow parameters and cognitive performance in humans: A double-blind, placebo-controlled, crossover investigation. *Physiology & Behavior*, *149*, 149–158.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.05.035>

- Williamson, L. L., & Bilbo, S. D. (2013). Chemokines and the hippocampus: a new perspective on hippocampal plasticity and vulnerability. *Brain, Behavior, and Immunity, 30*, 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.01.077>
- Winters, B. D., Forwood, S. E., Cowell, R. A., Saksida, L. M., & Bussey, T. J. (2004). 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. *The Journal of Neuroscience, 24*(26), 5901–5908. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1346-04.2004>
- Witcher, K. G., Bray, C. E., Dziabis, J. E., McKim, D. B., Benner, B. N., Rowe, R. K., Kokiko-Cochran, O. N., Popovich, P. G., Lifshitz, J., Eiferman, D. S., & Godbout, J. P. (2018). Traumatic brain injury-induced neuronal damage in the somatosensory cortex causes formation of rod-shaped microglia that promote astrogliosis and persistent neuroinflammation. *Glia, 66*(12), 2719–2736. <https://doi.org/10.1002/glia.23523>
- Wittko-Schneider, I. M., Schneider, F. T., & Plate, K. H. (2013). Brain homeostasis: VEGF receptor 1 and 2—two unequal brothers in mind. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS, 70*(10), 1705–1725. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1279-3>
- World Health Organization. (2020). *WHO guidelines on physical activity and sedentary behaviour*.
- Wu, J., cai, yuqi, Wu, X., Ying, Y., Tai, Y., & He, M. (2021). Transcardiac Perfusion of the Mouse for Brain Tissue Dissection and Fixation. *BIO-PROTOCOL, 11*(5). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3988>

- Wu, X., Liu, Z., Shi, G., Xing, L., Wang, X., Gu, X., Qu, Z., Dong, Z., Xiong, J., Gao, X., Zhang, C., & Xu, Y. (2011). The Circadian Clock Influences Heart Performance. *Journal of Biological Rhythms*, *26*(5), 402–411.
<https://doi.org/10.1177/0748730411414168>
- Wunderle, K., Hoeger, K. M., Wasserman, E., & Bazarian, J. J. (2014). Menstrual Phase as Predictor of Outcome After Mild Traumatic Brain Injury in Women. *Journal of Head Trauma Rehabilitation*, *29*(5), E1–E8.
<https://doi.org/10.1097/HTR.0000000000000006>
- Wurzelmann, M., Romeika, J., & Sun, D. (2017). Therapeutic potential of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and a small molecular mimics of BDNF for traumatic brain injury. *Neural Regeneration Research*, *12*(1), 7.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.198964>
- Xiong, Y., Mahmood, A., & Chopp, M. (2013). Animal models of traumatic brain injury. *Nature Reviews. Neuroscience*, *14*(2), 128–142.
<https://doi.org/10.1038/nrn3407>
- Yamasaki, R., Lu, H., Butovsky, O., Ohno, N., Rietsch, A. M., Cialic, R., Wu, P. M., Doykan, C. E., Lin, J., Cotleur, A. C., Kidd, G., Zorlu, M. M., Sun, N., Hu, W., Liu, L., Lee, J.-C., Taylor, S. E., Uehlein, L., Dixon, D., ... Ransohoff, R. M. (2014). Differential roles of microglia and monocytes in the inflamed central nervous system. *Journal of Experimental Medicine*, *211*(8), 1533–1549.
<https://doi.org/10.1084/jem.20132477>
- Yan, K., Gao, H., Liu, X., Zhao, Z., Gao, B., & Zhang, L. (2022). Establishment and identification of an animal model of long-term exercise-induced fatigue. *Frontiers in Endocrinology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.915937>

- Yankelevitch-Yahav, R., Franko, M., Huly, A., & Doron, R. (2015). The forced swim test as a model of depressive-like behavior. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 2015(97). <https://doi.org/10.3791/52587>
- Yao, C., Liu, X., Tang, Y., Wang, C., Duan, C., Liu, X., Chen, M., Zhou, Y., Tang, E., Xiang, Y., Li, Y., Ji, A., & Cai, T. (2023). Lipopolysaccharide induces inflammatory microglial activation through CD147-mediated matrix metalloproteinase expression. *Environmental Science and Pollution Research International*, 30(12), 35352–35365. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-24292-y>
- Young, L., Rule, G. T., Bocchieri, R. T., Walilko, T. J., Burns, J. M., & Ling, G. (2015). When Physics Meets Biology: Low and High-Velocity Penetration, Blunt Impact, and Blast Injuries to the Brain. *Frontiers in Neurology*, 6(MAY). <https://doi.org/10.3389/fneur.2015.00089>
- Yu, T., Yu, H., Zhang, B., Wang, D., Li, B., Zhu, J., & Zhu, W. (2019). Promising Neuroprotective Function for M2 Microglia in Kainic Acid-Induced Neurotoxicity Via the Down-Regulation of NF- κ B and Caspase 3 Signaling Pathways. *Neuroscience*, 406, 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.03.002>
- Zaninotto, A. L. C., Costa, B. T., Ferreira, I. S., French, M., Paiva, W. S., & Fregni, F. (2018). Traumatic Brain Injury. In *Cognitive And Behavioral Neurology* (Vol. 26, Issue 2, pp. 105–138). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7880-9_4
- Zec, R. F., Zellers, D., Belman, J., Miller, J., Matthews, J., Femeau-Belman, D., & Robbs, R. (2001). Long-term consequences of severe closed head injury on

episodic memory. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 23(5), 671–691. <https://doi.org/10.1076/jcen.23.5.671.1247>

Zhang, J., Muri, J., Fitzgerald, G., Gorski, T., Gianni-Barrera, R., Masschelein, E., D’Hulst, G., Gilardoni, P., Turiel, G., Fan, Z., Wang, T., Planque, M., Carmeliet, P., Pellerin, L., Wolfrum, C., Fendt, S.-M., Banfi, A., Stockmann, C., Soro-Arnáiz, I., ... De Bock, K. (2020). Endothelial Lactate Controls Muscle Regeneration from Ischemia by Inducing M2-like Macrophage Polarization. *Cell Metabolism*, 31(6), 1136-1153.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.05.004>

Zhang, J., Rong, P., Zhang, L., He, H., Zhou, T., Fan, Y., Mo, L., Zhao, Q., Han, Y., Li, S., Wang, Y., Yan, W., Chen, H., & You, Z. (2021). IL4-driven microglia modulate stress resilience through BDNF-dependent neurogenesis. *Science Advances*, 7(12), 9888–9905. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb9888>

Zhao, C., Deng, W., & Gage, F. H. (2008). Mechanisms and Functional Implications of Adult Neurogenesis. *Cell*, 132(4), 645–660. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.033>

