



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE LICENCIATURA EN

BIOTECNOLOGÍA

El enriquecimiento ambiental como terapia de rehabilitación después de una lesión cerebral traumática en ratas pediátricas

Como requisito para obtener el grado de

Licenciado en Biotecnología

Presenta

Jonathan Josué Zamudio Flores

Directora de tesis:

D.C. Naima Lajud Avila

Co-director:

M.C. Roberto Ruiz González



Morelia, Michoacán, enero de 2022

CONTENIDO

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	3
3. INTRODUCCIÓN	4
4. ANTECEDENTES	6
4.1. Las lesiones cerebrales traumáticas pediátricas	6
4.2. Modelo animal	14
4.3. Evaluaciones funcionales después de una TBI en roedores	17
4.4. Modelo terapéutico de enriquecimiento ambiental (EE)	18
4.5 Antecedentes directos	19
5. JUSTIFICACIÓN	21
6. HIPÓTESIS	23
7. OBJETIVOS	23
8. MATERIALES Y MÉTODOS	24
8.1 Animales	24
8.2 Impacto cortical controlado	26
8.3 Evaluación neurológica aguda	27
8.4 Enriquecimiento ambiental	27
8.5 Desempeño cognoscitivo	28
8.6 Análisis estadístico	29
9. RESULTADOS	30
10. DISCUSIÓN	36
11. CONCLUSIÓN	41
12. REFERENCIAS	42
13. ANEXOS	52
13.1. Abreviaturas	52
13.2. Índice de tablas	53
13.3. Índice de figuras	53

1. RESUMEN

Las consecuencias de una TBI (Traumatic Brain Injury, TBI) durante la infancia son mayores que aquellas que se presentan en la adultez. Es por esto que se considera crucial encontrar estrategias que prevengan o disminuyan los efectos deletéreos causados por las TBI. El modelo de enriquecimiento ambiental (Environmental Enrichment, EE) es una estrategia terapéutica que ha demostrado proporcionar mejoras sustanciales en modelos murinos de enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, el efecto del EE ha sido poco estudiado en ratas pediátricas. Por lo anterior, consideramos pertinente evaluar el efecto del EE en ratas sometidas a una TBI pediátrica. Para ello, se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague-Dawley a las que se les realizó lesión por impacto cortical controlado (CCI, 2.5 mm a 4 m/s) al destete (PND 21) o sham (craneotomía, pero sin lesión). Los animales fueron posteriormente divididos aleatoriamente en grupos con condiciones de alojamiento estándar de bioterio (STD) o EE ($n= 10$ por grupo) en donde se les permitió su recuperación durante 14 días. Evaluamos el desempeño cognitivo en el laberinto acuático de Morris (MWM) desde el día 14 al 19 post-lesión. Nuestros resultados indicaron un déficit significativo en el desempeño cognitivo de los animales TBI+STD durante la fase de entrenamiento del MWM, en comparación con los animales del grupo sham+STD, este efecto no se observó en los animales TBI+EE y no se encontraron diferencias entre el grupo TBI+EE y los grupos sham. No observamos efecto de la lesión ni de la condición de alojamiento en la prueba de transferencia. En conclusión, nuestros datos indican que el EE mejora el desempeño cognitivo después de una TBI pediátrica, y debido a que este modelo

terapéutico simula lo que se observa en la rehabilitación en humanos, los resultados sugieren que es un tratamiento efectivo en niños con TBI.

Palabras clave: lesión cortical, pediátricos, aprendizaje, estrategia terapéutica, impacto cortical controlado.

2. ABSTRACT

Pediatric TBI cause more severe cognitive impairments than those that occur in adults. Therefore, it is crucial to find strategies that prevent or decrease the deleterious effects caused by TBI. Environmental enrichment (EE) is a clinically relevant rehabilitation animal model that has already shown to provide substantial improvements in murine models of neurodegenerative diseases. However, the effect of EE pediatric rats has been scarcely studied. Hence, we consider pertinent to evaluate the effect of EE in rats after a pediatric TBI. For this, male Sprague-Dawley rats underwent a controlled cortical impact (CCI, 2.5 mm at 4 m/s) or sham surgery at weaning (PND 21). Animals were randomly assigned to standard animal housing conditions (STD) or EE, where they were allowed to recover for 14 days. Cognitive performance was evaluated in the Morris water maze (MWM) test from post-injury days 14 to 19. Our results indicated a significant deficit in the cognitive performance of the TBI+STD animals during the training phase of the MWM when compared to sham+STD group. This effect was reversed in TBI+EE rats and no differences were observed between TBI+EE and sham groups. No effect of injury or housing condition was observed in the probe trial performed. In conclusion, our data indicate that EE improves cognitive performance after a pediatric TBI, and because this therapeutic model simulates what is observed in human rehabilitation, the results suggest that it is an effective treatment in children with TBI.

3. INTRODUCCIÓN

Las TBI son un problema de salud pública a nivel mundial que representan una de las principales causas de muerte y discapacidad en niños y adolescentes (Giza, et al., 2005). En Estados Unidos, causan anualmente cerca de 435,000 visitas al departamento de emergencias y 37,000 hospitalizaciones de niños de entre 0 y 14 años, de las cuales se reporta que 29,000 casos corresponden a niños que experimentan una discapacidad generada por la TBI (Sesma, et al., 2008).

Las discapacidades que surgen como consecuencia de una TBI en la vida temprana, son más severas que aquellas que se dan después de una TBI en la adolescencia o adultez (Semple, et al., 2016). Las alteraciones causadas por las TBI pediátricas se relacionan con un desarrollo y funcionalidad deficiente de diversas estructuras cerebrales a largo plazo. Se ha observado que tiempo después de sufrir una TBI aumenta la vulnerabilidad a padecer enfermedades conductuales y psicosociales, relacionadas a la interrupción de la maduración cerebral (Giza, et al., 2005; Penn, et al., 2009; Semple, et al., 2016).

Debido a la diversidad y heterogeneidad de las TBI en humanos, es necesario el uso de los modelos animales, donde se pueda contar con un control apropiado de las variables y que permitan una evaluación más precisa de los mecanismos que subyacen la recuperación cognitiva después de la lesión. El EE en ratas es un modelo de rehabilitación que ha demostrado simular eficientemente la recuperación observada en la práctica clínica (De La Tremblaye, et al., 2017). El EE consiste en una condición de alojamiento que en comparación con las condiciones STD,

proporciona mejores posibilidades de estimulación y/o interacción física y social (Bondi, et al., 2014). Adicionalmente, el EE confiere beneficios motores y restaura el desempeño cognoscitivo después de una lesión (De La Tremblaye, et al., 2017; Penn, et al., 2009). Por lo anterior, consideramos que el EE puede ser una estrategia útil para el estudio de la recuperación funcional después de una TBI pediátrica.

4. ANTECEDENTES

4.1. Las lesiones cerebrales traumáticas pediátricas

Una lesión cerebral traumática es definida como: *“Un insulto al cerebro, no de naturaleza degenerativa o congénita, sino causada por una fuerza física externa que puede producir la disminución o alteración de los estados de conciencia, resultando en un daño de las capacidades cognitivas y/o funcionamiento físico (Kreutzer, et al., 2011)”*. Las TBI son uno de los tipos de traumatismos más frecuentes en niños y adultos jóvenes, y la principal causa de mortalidad y morbilidad mundialmente, presentándose 1.4 millones de casos nuevos al año en USA (Kreutzer, et al., 2011; McKinlay, et al., 2009). Se ha reportado que el sector joven de la población es más vulnerable a las TBI en países de bajo y mediano ingreso, debido a factores como la infraestructura, además de que el costo por la atención de las secuelas que conllevan es menos accesible para los pacientes en estos países (Appenteng, et al., 2018).

Las TBI a menudo se clasifican de acuerdo con su severidad, la cual se define como el nivel de la lesión inicial en relación con la lesión neurológica causada en el cerebro; de este modo, una TBI puede ser leve, moderada o severa (Kreutzer, et al., 2011). El daño en el tejido cerebral y los síntomas observados, son algunos de los parámetros que se utilizan para clasificar a las TBI en una de estas tres categorías (Tabla 1). Se han propuesto varias escalas de clasificación para las TBI, como lo son la Escala de Coma de Glasgow (GCS), la duración de la pérdida de la conciencia (LOC), y la Amnesia Post-traumática (PTA). Estas evaluaciones se

realizan en conjunto con otros criterios como la presencia o ausencia de fractura craneal, las imágenes estructurales o síntomas presentados (Bigler, 2013; Fraunberger, 2020; Kreutzer, et al., 2011).

La puntuación de la GCS, es una escala estandarizada para medir el nivel de conciencia, que se determina sumando las calificaciones asignadas a las respuestas de los pacientes ante ciertos estímulos y resultando en una puntuación de entre 3 y 15. La GCS ha sido por casi cinco décadas la evaluación clínica primaria de clasificación de las TBI utilizada por los paramédicos y el personal de emergencias, ya que proporciona un índice del daño inicial de la TBI (Andriessen, et al., 2010; Kreutzer, et al., 2011; Xiong, et al., 2013). La GCS continúa siendo uno de los mejores predictores de daño motor. Sin embargo, no es definitivo, ya que se pueden presentar diferentes anormalidades en cuadros clínicos similares (Andriessen, et al., 2010).

Tabla 1. Resumen de la clasificación de la clínica Mayo de la severidad de las TBI y su clasificación en la Escala de Coma de Glasgow (GCS) (modificado de Fraunberger, 2020).

Severidad	Criterios clínicos	Puntuación de la GCS
Sintomática	-Visión borrosa -Confusión -Aturdimiento -Mareo -Síntomas neurológicos focales -Dolor de cabeza -Náusea	Leve: 13-15
Leve	-LOC<30 min -Amnesia antergrado post-traumática<24 hrs -Fractura de cráneo deprimida, basilar o linear (con dura intacta)	
Moderada-Severa	-LOC>30 min -PTA≥24 hrs -GCS<13 -Una o más ICH, hematoma subdural/epidural, contusión cerebral, contusión hemorrágica, TBI penetrante, SAH, lesión en el tallo cerebral	Moderada: 9-12 Severa: 3-8

Las consecuencias de las TBI dependen de muchos elementos como lo son la severidad de la lesión, el historial de neurotrauma, los factores premórbidos y los estresores psicosociales. Generalmente, los individuos que sufrieron una TBI leve suelen recuperarse durante los primeros tres meses y realizar sus actividades casi a niveles premórbidos, sin déficits persistentes a largo plazo. En cambio, las lesiones cerebrales moderadas a severas resultan típicamente en alteraciones cognitivas, físicas y emocionales/conductuales, muchas de las cuales pueden ser permanentes (Chiu, et al., 2016; Kreutzer, et al., 2011). Entre las discapacidades cognitivas, se encuentran el déficit de atención y déficits en la velocidad de

procesamiento, adquisición, consolidación y recuperación de la información (Farmer, et al., 2002; Kreutzer, et al., 2011). Las deficiencias físicas suelen ser evidenciadas por una coordinación y velocidad motora limitadas. La lesión localizada a menudo se relaciona con alteraciones focales sensoriales/motoras, visuales/espaciales, olfativas y del lenguaje. Las lesiones cerebrales moderadas a severas también pueden producir déficits tales como alteraciones en el balance, en la coordinación, en el tono muscular y en el modo de caminar, propios de una lesión subcortical. Además, se presentan déficits visuales tales como el nistagmo o desafíos de convergencia/divergencia (Kreutzer, et al., 2011).

Los individuos con TBIs moderadas a severas comúnmente presentan alteraciones emocionales y conductuales y pueden incluir cambios de humor, depresión, irritabilidad, ansiedad, labilidad emocional y desorden de estrés postraumático. Las alteraciones en la personalidad se pueden manifestar como excesos neuroconductuales tales como la impulsividad, la distracción, la agitación, la agresión, las tendencias perseverantes y la confabulación. En contraste, algunos individuos pueden presentar abulia del habla o movimiento, lentitud psicomotora y falta de iniciación. Otro daño neuroconductual común es el deterioro de la autoconciencia, que a menudo impide el proceso neurohabilitativo cuando no es tratado (Kreutzer, et al., 2011; Lozano, et al., 2015). Además, los pacientes de TBI poseen un mayor riesgo de desarrollar patologías como Alzheimer, Parkinson, demencia prematura y otras enfermedades neurodegenerativas a largo plazo (Chiu, et al., 2016; Kreutzer, et al., 2011; Lozano, et al., 2015). Cerca del 40% de las

lesiones severas y aproximadamente el 10% de las moderadas pueden conducir a la muerte (Kreutzer, et al., 2011).

Fisiopatología de las TBI pediátricas

El cerebro en desarrollo reacciona ante una lesión de manera diferente a uno adulto (Giza et al., 2007). Esto se debe a diferencias fisiológicas del cerebro en desarrollo, que incluyen la mielinización y sinaptogénesis, además de un mayor flujo sanguíneo cerebral y un requerimiento más elevado de oxígeno en comparación con la adultez (Fraunberger, 2020; Prins & Hovda, 2003; Takahashi, et al., 1999; Wu, et al., 2016). Los eventos fisiopatológicos de las TBI están dados en función del momento de inicio, distinguiéndose así en lesión primaria y lesión secundaria que, junto con la localización de la lesión, son características que determinarán la patología cerebral y los déficits neurológicos (Andriessen, et al., 2010).

La lesión primaria consiste en el daño inicial inmediato, resultado directamente de fuerzas mecánicas, que afecta a los tejidos cerebrales al dañar la estructura del citoesqueleto axonal y alterando la permeabilidad de las membranas celulares (Andriessen, et al., 2010; Ng & Lee, 2019; Sempere, et al., 2018). Se han descrito dos tipos de lesiones primarias: la lesión focal y la lesión difusa, cuya coexistencia se observa comúnmente en pacientes con TBI moderada a severa (Skandsen, et al., 2010).

La lesión focal se suele presentar en las TBI con cabeza cerrada y TBI penetrante, con evidencias de fractura de cráneo y contusión localizadas en el sitio del impacto. La lesión focal se produce mediante la colisión de fuerzas aplicadas

sobre el cráneo que resultan en la compresión, laceración y concusión del tejido ubicado debajo del sitio del golpe o del tejido opuesto a la zona del impacto (contragolpe; Andriessen, et al., 2010; Schmidt et al., 2004). La lesión focal presenta un área necrótica de neuronas y células gliales en el sitio del daño, con un suministro de sangre comprometido que da lugar a hematomas subdurales, epidurales e intraparenquimales y contusiones (hemorrágicas; Andriessen, et al., 2010; Schmidt et al., 2004). La hemorragia subaracnoidea traumática puede ser resultado de un daño focal pero también a menudo es visto en lesiones vasculares difusas (Andriessen, et al., 2010)

La lesión difusa se produce por fuerzas de aceleración-desaceleración sin contacto, como se observa en los accidentes vehiculares a alta velocidad, e implica un daño axonal ampliamente distribuido, daño a los oligodendrocitos y a la vasculatura sanguínea. Los axones tienen una naturaleza viscoelástica que naturalmente se deforman, pero de manera no-perjudicial. Sin embargo, las fuerzas de inercia pueden exceder el umbral de esta elasticidad causando las lesiones axonales que varían en magnitud, pero que tienden a asociarse con un pronóstico neurológico peor al de las lesiones focales debido a las disfunciones corticales que producen (Andriessen, et al., 2010; Prieto, et al., 2009). Estos daños conducen a una lesión hipóxico-isquémica, así como hinchazón del cerebro (edema; Andriessen, et al., 2010; Ng & Lee, 2019). Existen dos tipos de lesión difusa; la lesión axonal difusa (DAI, por sus siglas en inglés) y el edema cerebral difuso (Adams, et al., 1989; Prieto, et al., 2009).

Como consecuencia de un insulto primario moderado a severo, las células constituyentes y la vasculatura circundante a la lesión son sometidas a cambios estructurales y moleculares conocidos como lesión "secundaria". Este tipo de lesión aparece en cuestión de horas o días después del evento traumático primario (Andriessen, et al., 2010; Prieto, et al., 2009). Estos cambios corresponden a cascadas de procesos celulares y moleculares iniciados por la hipoglucemia, eventos hipotensivos e hipóxicos y por el incremento de la presión intracraneal resultante de la isquemia cerebral. Dentro de los procesos causantes, se encuentran la disfunción mitocondrial/metabólica, el estrés oxidativo, el debilitamiento de la integridad de la BBB, la ruptura del citoesqueleto y agregación de proteínas, la desregulación del flujo sanguíneo cerebral, la degeneración axonal y la neuroinflamación (Andriessen, et al., 2010; Fraunberger, 2020; Ng & Lee, 2019; Semple, et al., 2016).

Los mecanismos de la lesión secundaria son a menudo descritos de forma distinta en estudios clínicos y preclínicos. Sin embargo, muchos funcionan en conjunto con las células del sistema inmunológico en el cerebro y la periferia para inducir y propagar la respuesta inflamatoria después de la TBI, lo cual es importante ya que se cree que la inflamación crónica posterior a la lesión está relacionada biológicamente al aumento del riesgo a la neurodegeneración en la vida tardía (Fraunberger, 2020). La lesión primaria desencadena una cascada de respuestas bioquímicas que provocan cambios metabólicos y celulares que progresan con el tiempo, montando una respuesta inflamatoria crónica (Lozano, et al., 2015). El grado de respuesta inflamatoria ante una TBI está asociado con la severidad de la lesión (Fraunberger, 2020).

Dentro del sistema nervioso central, los principales mediadores de la inflamación inducida por la TBI son los astrocitos y la microglía (mediadores centrales). Otro mediador importante de la respuesta inflamatoria post-lesión son los leucocitos (mediadores periféricos) reclutados y la activación de la expresión y secreción de citocinas y quimiocinas (Chiu, et al., 2016; Fraunberger, 2020). Los mediadores centrales y periféricos suelen interactuar entre sí para montar la respuesta inflamatoria (Fraunberger, 2020). Por ejemplo, una neuroinflamación prolongada y retardada recluta macrófagos, activa las células microgliales circundantes y promueve la astrogliosis (Ng & Lee, 2019). En este proceso, los astrocitos y microglía alteran su estructura y función a lo largo de un continuo de activación (Fraunberger, 2020). La neuroinflamación aguda después de una TBI no sólo regula los eventos de daño y reparativos en el proceso de recuperación del cerebro, sino que también propicia los procesos neurodegenerativos a largo plazo (Tweedie et al., 2013).

Se ha reportado una susceptibilidad ante la respuesta inflamatoria dependiente de la edad reafirmada por Claus y cols., cuyos resultados muestran que, en su modelo de pTBI en ratones al PND 21, la magnitud y el transcurso del tiempo de la infiltración de leucocitos es mayor que después de una lesión equivalente en adultos (Claus, et al., 2010). Además, se ha reportado que el rompimiento de la BBB en modelos de TBI en roedores es mayor en un individuo de 3 semanas de edad que uno adulto, lo que propicia el reclutamiento de neutrófilos (Anthony, et al., 1997).

El estrés oxidativo es otro factor importante de muchas vías que contribuyen a la neuroinflamación después de una TBI (Abdul-Muneer, et al., 2014). El estrés oxidativo suele ocurrir a una edad en la que los antioxidantes, como por ejemplo la enzima hemo oxigenasa, aún no están bien establecidos (Chang, et al., 2005).

4.2. Modelo animal

Los modelos animales son esenciales para estudiar los aspectos biomecánicos celulares y moleculares de las TBI humanas que no pueden ser controlados en las pruebas clínicas, así como para desarrollar y caracterizar nuevas intervenciones terapéuticas (Xiong, et al., 2013). A pesar de que algunas especies de animales, como los cerdos, son más cercanas en tamaño y fisiología a los humanos, los roedores son mayormente usados en la investigación de las TBI. Esto es debido a sus bajos costos, tamaño y mediciones estandarizadas de resultados, entre otras razones (Fraunberger, 2020; Xiong, et al., 2013).

Para recrear las lesiones relacionadas con aquellas presentadas en los infantes humanos, se han adaptado modelos utilizados en roedores adultos a individuos con edades desde los 7-11 días para simular una lesión en recién nacidos y entre los 17-21 días para reproducir una lesión en niños de entre 3 y 5 años de edad (Fraunberger, 2020; Kochanek, 2017). Sin embargo, estos rangos de edad y correlaciones con humanos son aproximados, ya que equiparar el desarrollo de roedores y humanos depende del periodo de vida del animal, debido a que la velocidad de su desarrollo es significativamente más rápida que el de los humanos (Sengupta, 2013).

Algunos de los modelos de TBI que se han modificado para realizarse en roedores jóvenes, son la lesión por percusión por fluido (FPI), el impacto por aceleración de caída de peso (WD) ya sea con el cráneo abierto o cerrado y el impacto cortical controlado (CCI). Los parámetros de estos modelos pueden ser modificados para proporcionar un rango de daños variables provocados por la lesión. También se pueden realizar muchos impactos leves para simular las lesiones repetidas tipo-concusiones (Semple, et al., 2016). Se puede considerar que cada modelo representa un subconjunto de lesiones, por lo tanto, algunos modelos representan mejor una lesión axonal difusa, mientras que otros son más representativos de una lesión craneal cerrada con contusiones (Leker, et al., 2002).

El CCI es el modelo de TBI más utilizado para el estudio de la fisiopatología y el tratamiento de la TBI en animales (Kochanek, 1995; Semple, et al, 2016; Sempere, et al., 2018). Este, permite un control preciso de los parámetros mecánicos, incluida la velocidad y la profundidad, dando como resultado una neuropatología reproducible en la corteza y el hipocampo en roedores (Semple, et al, 2016). El CCI consiste en la fijación de la cabeza del animal a un marco estereotáxico, que garantiza una alta reproducibilidad entre los animales, además de limitar el mecanismo de la lesión a uno que no implica aceleración/desaceleración o fuerzas de rotación. Como consecuencia, la CCI produce predominantemente una cavidad de lesión focal con lesión axonal difusa limitada (Semple, et al., 2016). El CCI utiliza un dispositivo de impacto neumático (Figura 1) o electromagnético para impulsar un impactador rígido sobre la duramadre intacta expuesta a través de una craneotomía unilateral (con frecuencia

entre bregma y lambda). Esta lesión imita la pérdida de tejido cortical, hematoma subdural agudo, lesión axonal, conmoción cerebral, disfunción de la barrera hematoencefálica e incluso coma (Leker, et al., 2002; Xiong, et al., 2013). La lesión, correlacionada con los daños tisulares en materia gris y blanca resultantes del impacto, da como resultado discapacidades motoras y cognitivas, así como conducta tipo-ansiosa que pueden persistir hasta un año después de la lesión (Leker, et al., 2002). Estos déficits cognitivos pueden estar asociados con atrofia cerebral y una disminución progresiva del flujo sanguíneo cerebral (Xiong, et al., 2013) junto cambios en la conectividad de la materia blanca y la reorganización neuronal (Semple, et al., 2016).

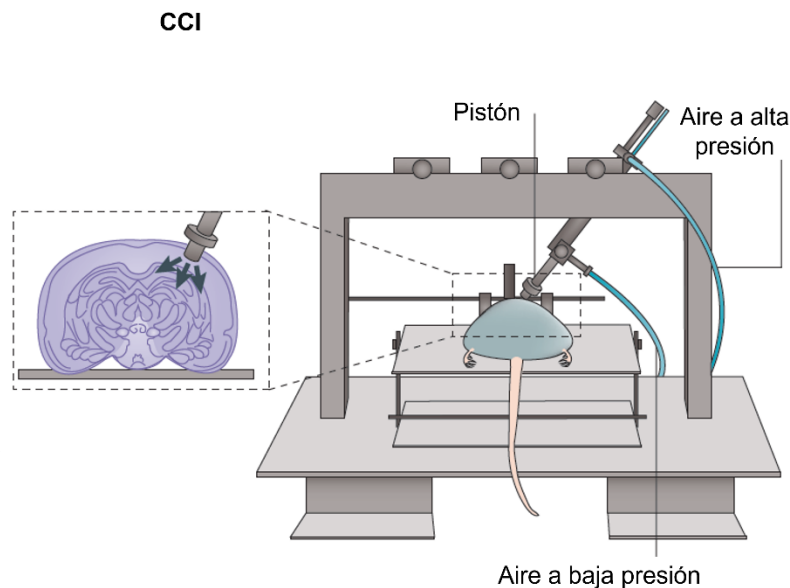


Figura 1. Diagrama esquematizado del CCI neumático (Modificado de Xiong, et al., 2013).

4.3. Evaluaciones funcionales después de una TBI en roedores

Las TBI pueden casuar una gran cantidad de déficits que incluyen alteraciones motoras, cognitivas y emocionales. Los déficits motores causados por una TBI son el resultado de la interrupción de las vías motoras complejas y la integración sensoriomotora (Xiong, et al., 2013). Por esto, mayoría de las pruebas descritas para evaluar el resultado de dicha lesión en modelos animales son de naturaleza sensoriomotora (Xiong, et al., 2013), aunque también se evalúan las respuestas cognitivas y psicosociales (Semple, et al., 2016). Dentro de las pruebas que evalúan la función sensoriomotora en roedores se encuentran la prueba del cilindro, la prueba de rotarod, pruebas de fuerza de agarre, la capacidad de alcance de las extremidades anteriores y pruebas en escaleras (Fujimoto, et al., 2014). El puntaje de gravedad neurológica (NSS), que tiene en cuenta las funciones motoras y el comportamiento, se usa ampliamente para evaluar los déficits funcionales neurológicos en roedores (Xiong, et al., 2013).

En humanos, el pronóstico de una TBI se relaciona con el nivel de amnesia anterógrada, que es la incapacidad de recordar eventos que ocurren después de la lesión, pero ya que los animales son no-verbales, esto se mide de manera indirecta (Povlishock, et al., 1994). La capacidad de navegar y completar una tarea espacial requiere de la habilidad de crear y almacenar un mapa cognitivo, y la TBI afecta los mecanismos mediante los cuales se forma y recuerda esta información (Fujimoto, et al., 2004). Es por esto que las pruebas cognitivas más comúnmente usadas son una variedad de “laberintos”, entre los que destacan el laberinto de Barnes, el de Lashley III y el laberinto acuático de Morris (Kochanek, 2017).

Tabla 2. Pruebas para evaluar efectos neurológicos comunes de las TBI (Información de Xiong, et al., 2013).

Tipo	Prueba	Parámetro que evalúa
Cognitivas	Laberinto acuático de Morris Tarea de memoria Reconocimiento de objetos	Aprendizaje y memoria espacial Aprendizaje y memoria Aprendizaje y memoria espacial
Conductuales	Laberinto elevado en cruz Actividad emocional y exploratoria Campo abierto Nado forzado	Conducta tipo-ansiosa Conducta tipo-ansiosa Conducta tipo-ansiosa Conducta tipo-depresiva
Ejecutivas	Tarea de la barrera de vidrio Tarea de cobertura de alimentos Beam balance	Resolución de problemas basada en la visión Resolución de problemas basada en el olfato Funciones motoras

4.4. Modelo terapéutico de enriquecimiento ambiental (EE)

La interacción directa con el medio ambiente es necesaria para determinar la progresión del estado de salud de los individuos, por lo que se ha reportado que existe un umbral en el número de estímulos adicionales al ambiente normal que promueve diferencias cognitivas, así como neuroprotección después de una TBI (de Witt, et al., 2011; Hoffman, et al., 2008; Matter, et al., 2011). El EE es una condición de alojamiento, que consiste en proporcionar a los individuos un entorno propicio para la estimulación sensorial (objetos de diversas formas y tamaños), social y motora (ejercicio físico). Se ha demostrado que dichos componentes aportan los mayores beneficios si se combinan, en comparación a si se presentan sólo uno o dos de ellos; por lo tanto, no es solo un aumento en la actividad física lo que media en la recuperación motora, sino más probablemente una interacción compleja de los tres componentes (Folweiler, et al., 2016; Sozda, et al., 2010). El EE se considera un modelo preclínico de neurorehabilitación para las TBI que puede realizarse solo o de manera complementaria a las farmacoterapias (De la Tremblaye, et al., 2016; Folweiler, et al., 2016; Kline et al., 2007; Sozda et al., 2010).

El EE produce numerosas mejoras asociadas a la plasticidad y/o conductuales significativas en roedores no lesionados, así como en modelos animales de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, SCI y lesión hipóxica crónica (Bondi et al., 2014). El EE promueve de manera similar una mejora motora, el aprendizaje espacial y la retención de la memoria después de una TBI experimental, independientemente del modelo de TBI, el sexo, la edad e incluso el periodo de exposición al paradigma, ya sea retardado, abreviado y de manera temprana o continua (Bondi, 2014; Bondi, 2015; Kline, 2007; Lajud, et al., 2019; Monaco, et al., 2013; Sozda, 2010). Específicamente se ha observado que en la prueba de MWM, la exposición continua al EE promovió significativamente la retención de la memoria después de sufrir una TBI (Kline, et al., 2012; Lyeth, et al., 1990). Además, se ha demostrado una protección histológica al reportarse una disminución en el tamaño de la lesión cortical y una disminución de la pérdida de neuronas hipocampales en CA 1 y CA 3 después de una TBI (de Witt, et al., 2011; Hoffman, et al., 2008; Kline, et al., 2007; Matter, et al., 2011; Sozda, et al., 2010). Es por esto que el EE es considerado una estrategia terapéutica relevante con potencial de traslación a la población clínica.

4.5 Antecedentes directos

Trabajos recientes de nuestro grupo de investigación han demostrado que los animales mantenidos en condiciones de EE, tienen un mejor desempeño en pruebas motoras de balance sobre una barra, en comparación con aquellos mantenidos en condiciones STD (De la Tremblaye, et al., 2017; Lajud, et al., 2019; Radabaugh, et al., 2017). Además, estos animales también han mostrado un mejor desempeño en pruebas de aprendizaje espacial y memoria, medido mediante el

laberinto acuático de Morris (Bondi, et al., 2014; Lajud, et al., 2019; Leary, et al., 2017; Matter, et al., 2011; Monaco, et al., 2014). En esta prueba, los animales mostraron que tardan un menor tiempo en alcanzar la plataforma de escape y un mayor tiempo explorando el cuadrante objetivo durante la fase de transferencia; lo que indica que, los animales en EE poseen una mayor adquisición de aprendizaje espacial y memoria (Lajud, et al., 2019). Estos descubrimientos en conjunto sostienen que el EE es un sólido correlato en roedores de la rehabilitación clínica en pacientes adultos con TBI (Bondi, 2014; Garcia, 2011). Es por esto que Monaco y colabs. (2014) propusieron al modelo de EE como estrategia terapéutica en animales con pTBI al PND 17, encontrando que conduce a una mejora significativa en el aprendizaje espacial y a una reducción del volumen de la lesión en comparación con animales en condiciones STD.

5. JUSTIFICACIÓN

Una TBI es un insulto de naturaleza muy variada, ya sea por un golpe, sacudida, choque a la cabeza o una lesión penetrante en esta que interrumpe la función normal del cerebro (Centers for Disease Control and Prevention, 2015). Las causas de estos traumas son muy variadas; pueden incluir desde impactos durante combates de guerra hasta accidentes automovilísticos, caídas, asaltos y concusiones durante la práctica de algunos deportes (Ji, et al., 2012).

Se ha reportado que los países latinoamericanos son los que presentan una mayor incidencia de TBI en todas las edades (150 por cada 100, 000), pero dentro de estas, en la población de niños mayores de 3 años es particularmente mayor, donde los niños muestran tasas más altas de TBI que las niñas y la TBI leve (mTBI) constituye >80% de las lesiones (Dewan, et al., 2016; Hyder, et al., 2007).

Debido a lo complejas y heterogéneas que son las TBI en humanos, se ha conducido al diseño de una gran variedad de modelos animales que reproduce un aspecto del daño observado en la clínica. Actualmente el modelo de TBI más utilizado es el CCI, ya que permite cuantificar el impacto de manera precisa (Kochanek, 1995; Sozda, 2010). El EE es una estrategia experimental en la cual varios sujetos de investigación, principalmente murinos, son expuestos a múltiples objetos de diversos tamaños y formas en un habitáculo amplio; este ambiente brinda la oportunidad de enriquecer mediante la integración de estímulos físicos, exploratorios y sociales (Bondi, 2014). Trabajos recientes de nuestro grupo de investigación han demostrado que el EE es un modelo de rehabilitación clínica que previene que animales sometidos a una TBI presenten déficits motores, además de

que acelera su recuperación funcional confiriéndoles un efecto benéfico en el aprendizaje espacial y los análisis histopatológicos (Bondi, et al., 2014; Lajud, et al., 2019). Por estas entre otras razones, el EE se ha logrado establecer como un modelo en roedores que se correlaciona con la rehabilitación en la práctica clínica en pacientes adultos con TBI (Bondi, 2014; Garcia, 2011).

Es por esto que se ha propuesto evaluar esta estrategia terapéutica en individuos pediátricos con TBI. El modelo de EE ha sido probado en ratas sometidas a una pTBI al PND 17, la cual simula lo observado en los bebés humanos de 0-3 años (Monaco, et al., 2014). No obstante, nunca se ha reportado el efecto del EE en ratas con pTBI al día del destete (PND 21), que se correlaciona con una pTBI humana presentada en niños de entre 3 y 5 años (Kochanek, 2017; Semple, et al., 2016).

6. HIPÓTESIS

El enriquecimiento ambiental promueve el desempeño cognoscitivo después de una lesión cerebral traumática en ratas pediátricas.

7. OBJETIVOS

General:

Evaluar el efecto del enriquecimiento ambiental sobre el desempeño cognoscitivo después de una lesión cerebral traumática en ratas pediátricas.

Particulares:

1. Evaluar el efecto del enriquecimiento ambiental sobre la adquisición del aprendizaje espacial en el MWM después de una lesión cerebral traumática en ratas pediátricas.
2. Evaluar el efecto del enriquecimiento ambiental sobre la memoria dependiente de hipocampo mediante la prueba de transferencia en el MWM después de una lesión cerebral traumática en ratas pediátricas.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Animales

Se utilizaron ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley gestantes sincronizadas, provenientes del Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM que se habituaron por una semana en el bioterio del Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI-IMSS) antes del parto. Los animales se mantuvieron en condiciones de temperatura controlada, con un ciclo de luz/oscuridad de 12 hrs y comida y agua *ad libitum*. El día del nacimiento fue considerado como el día postnatal (PND) 0. Al PND 1 se ajustaron las camadas a 8 crías por madre de manera aleatoria. Al PND 21 los animales fueron destetados y se asignaron aleatoriamente al grupo TBI o al grupo sham. Después de la cirugía, los animales se alojaron en condiciones de EE o STD durante su recuperación (PND 21-42). Se conformaron cuatro grupos de 10 animales cada uno (Figura 2). Los animales se dejaron recuperar por dos semanas y se evaluó el desempeño cognoscitivo en el MWM a partir del PND 35 (Figura 3).

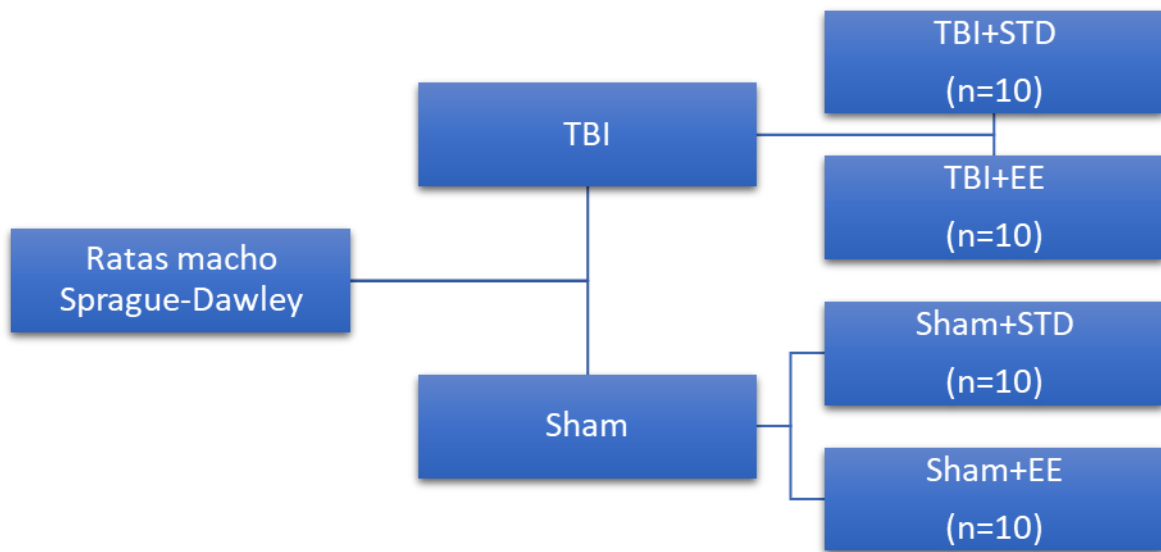


Figura 2. Grupos experimentales. TBI: lesión cerebral traumática; sham: animales con las mismas condiciones que los del grupo TBI pero sin lesión; STD: en condiciones estándar de bioterio; EE: enriquecimiento ambiental.

Se monitoreó el peso de los individuos durante todo el experimento para determinar la necesidad de establecer punto final humanitario. El cuidado y mantenimiento de los animales se llevó a cabo siguiendo la norma oficial de uso y cuidado de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999). Todos los procedimientos fueron aprobados por el comité de ética de la Comisión Nacional de Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social (R-2016-785-054).

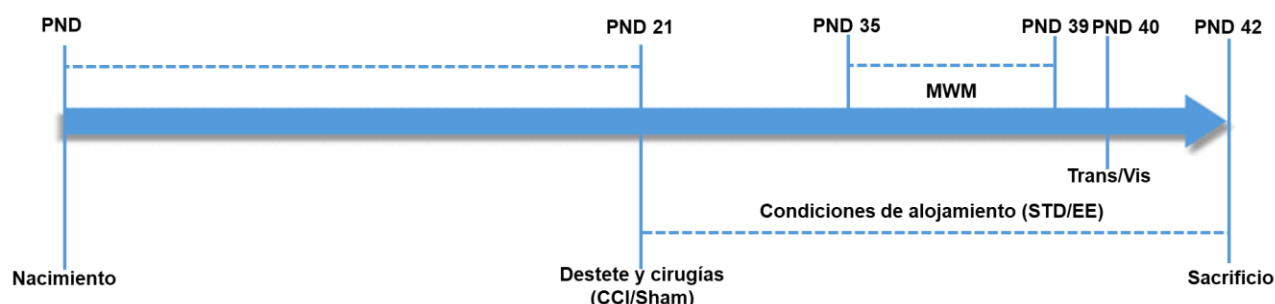


Figura 3. Esquema del diseño experimental. CCI: impacto cortical controlado; EE: enriquecimiento ambiental; MWM: laberinto acuático de Morris; PND: día post-natal; STD: condiciones estándar de bioterio; Trans: ensayo de transferencia; Vis: ensayo con plataforma visible.

8.2 Impacto cortical controlado

Para el CCI, se indujo y mantuvo la anestesia a las ratas con 4% y 2% de isoflurano respectivamente en oxígeno (O₂; por vaporización). Las ratas se aseguraron a un marco estereotáxico y se les realizó una incisión en la parte superior de la cabeza retrayendo la piel para exponer el cráneo. Posteriormente, se realizó una craneotomía a la altura del hemisferio derecho, entre bregma, lambda y las comisuras sagital y coronal. La pieza de hueso cortada fue removida dejando cabida a la inserción de la punta de un impactador electromagnético (5 mm de diámetro). Con el impactador se realizó una lesión moderada, con un impacto de 2.5 mm de profundidad a una velocidad de impacto de 4 m/s e inmediatamente se suturó la incisión. Para las ratas sham, se realizaron los mismos procedimientos a excepción del impacto como ha sido anteriormente descrito (Díaz-Chávez, et al., 2020; Lajud, et al., 2021).

8.3 Evaluación neurológica aguda

Inmediatamente después de la cirugía, las ratas se sometieron a la medición de parámetros neurológicos agudos. Esta evaluación consiste en registrar el tiempo que tardan los animales en presentar reflejo en cada una de las patas anteriores después de un pinchazo suave (izquierda y derecha) y el tiempo que tardan en enderezarse después de ser retirada la anestesia.

8.4 Enriquecimiento ambiental

Las ratas de ambos grupos experimentales (sham y TBI) fueron divididas y asignadas aleatoriamente a las dos condiciones de alojamiento. Para el EE las ratas fueron colocadas en una caja de (75 cm x 75 cm x 155 cm) que consta de dos pisos y posee una plataforma intermedia, una rampa y un túnel en cada piso, además contó con juguetes de distintas formas, tamaños y colores (pelotas, cadenas, llantas, figurillas, tubos; figura 4). Se suministró comida en base a la dieta estándar de bioterio (nutricubos Labdiet 5001) y agua *ad libitum*. Los juguetes fueron reordenados diariamente para mantener la novedad y se cambiaron por juguetes limpios dos veces por semana al igual que el material de cama.



Figura 4. Imágenes de nuestro modelo de EE en el Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI-IMSS). Se observa la combinación de elementos tanto sensoriales como de mayor interacción social y espacio exploratorio (A y B) en relación a las cajas de condiciones STD (C).

8.5 Desempeño cognoscitivo

El desempeño cognoscitivo se evaluó del PND 35 al 40 mediante el MWM, el cual consistió en una tina de plástico (180 cm de diámetro) dividida en cuatro cuadrantes con señales visuales extra-laberinto y se colocó una plataforma sumergida como ha sido descrito anteriormente (Morris, 1984). La fase de entrenamiento se realizó durante 5 días consecutivos (PND 35-39). Cada sesión

diaria de entrenamiento consistió en cuatro ensayos; un ensayo por cada uno de los cuadrantes, con un intervalo interensayo de 4 minutos. Para cada ensayo, si al término de los dos minutos de exploración la rata no encontraba la plataforma, se le llevaba manualmente hasta ella. En todos los casos, una vez que la rata se encontrara en la plataforma, se le dejó ahí durante 20 segundos para que se familiarizara con las señales visuales extra-laberinto (Morris, 1984). Al PND 40 se realizó una prueba de transferencia, que consistió en un solo ensayo de 30 segundos, pero con la plataforma removida. Posteriormente, se ejecutó una prueba con una plataforma visible, con el fin de determinar la contribución de factores no-espaciales en el desempeño cognoscitivo (De la Tremblaye, et al., 2017; Lajud, et al., 2019; Radabaugh, et al., 2016). Cuantificamos el tiempo que tardaron los animales en encontrar la plataforma (latencia de escape) y el tiempo que permanecieron explorando el cuadrante objetivo durante la prueba de transferencia.

8.6 Análisis estadístico

La ganancia de peso, y la latencia de escape en el MWM se analizaron utilizando un análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas utilizando el tiempo como factor repetido y la lesión y las condiciones de alojamiento como factores independientes. Los parámetros neurológicos agudos, la latencia de escape en la prueba visible, el tiempo de exploración en el cuadrante objetivo y la velocidad de nado en la prueba de transferencia, se analizaron mediante una ANOVA de dos vías utilizando. La significancia estadística se estableció como $p \leq 0.05$. En los casos que la ANOVA lo indicó apropiado se utilizó una prueba post-hoc de Newman-Keuls.

9. RESULTADOS

La TBI causó un retraso en el reflejo de enderezamiento después del cese de la anestesia

Comparamos los parámetros neurológicos de los animales sham y TBI antes de la aleatorización de los grupos mediante una prueba de Student y observamos un tiempo de enderezamiento significativamente mayor en los animales TBI ($p \leq 0.05$). Al dividir a los animales en las diferentes condiciones de alojamiento observamos que no existen diferencias significativas en neurológicos agudos evaluados (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros neurológicos agudos de los animales asignados a cada grupo.

Grupo	Reflejo de pata derecha (s)	Reflejo de pata izquierda (s)	Reflejo de enderezamiento (s)
Sham + STD	114.1 $\pm$ 14	107.0 $\pm$ 14.0	205.5 $\pm$ 6.720
Sham + EE	116.4 $\pm$ 15.8	116.0 $\pm$ 16.8	198.5 $\pm$ 3 2.4
TBI + STD	121.2 $\pm$ 17.4	133.1 $\pm$ 18.7	430.8 $\pm$ 143.2
TBI + EE	116.8 $\pm$ 12.6	124.3 $\pm$ 13.7	256.3 $\pm$ 39.4

*Promedio $\pm$ EST, ANOVA. Tiempo (s) que tardaron los de animales sham o sometidos a una lesión cerebral traumática (TBI) en condiciones de alojamiento estándar (STD) o de ambiente enriquecido (EE) en presentar una respuesta de reflejo en las patas anteriores derecha e izquierda (después de un breve pinchazo) o en el tiempo de enderezamiento después del cese de la anestesia. (*sham+STD*: $n=9$; *sham+EE* $n=10$, *TBI+STD*, *TBI+EE*, $n=10$).

El enriquecimiento ambiental disminuyó la ganancia de peso corporal de los animales sham.

El peso corporal de los animales fue monitoreado durante todo el experimento y se determinó la ganancia de peso (peso final-peso inicial). El análisis estadístico mostro un efecto significativo del EE sobre la ganancia de peso ($F_{1,35}:17.40$, $p \leq 0.01$), pero no de la TBI ($p > 0.05$). Las comparaciones múltiples indicaron que los animales del grupo sham+EE presentaron una ganancia significativamente menor de peso en comparación con los animales STD; no obstante, los animales del grupo TBI+EE no difirieron de los animales STD (Figura 5).

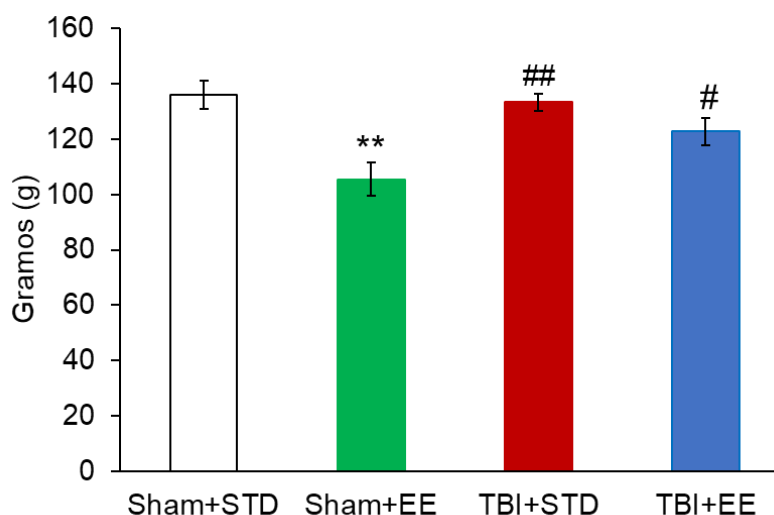


Figura 5. El EE disminuyó la ganancia de peso en los animales sham. Ganancia de peso corporal de los animales sham o sometidos a una lesión cerebral traumática (TBI) que se mantuvieron en condiciones de alojamiento estándar (STD) o de ambiente enriquecido (EE). (Promedio $\pm$ EST, ANOVA, $**p < 0.01$ vs. sham+STD, $\#p < 0.05$ y $##p < 0.01$ vs. sham+EE. $n = 9-10$).

A aquellos animales que mostraron una pérdida de peso por debajo del 80% de su peso previo a la cirugía, se les aplicó el punto final humanitario de acuerdo a lo especificado en la guía para el uso y cuidado de animales de laboratorio (Guide for

the Care and Use of Laboratory Animals, 1996) y la norma oficial de uso y cuidado de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).

El enriquecimiento ambiental promovió la adquisición de aprendizaje espacial después de una pTBI

La adquisición del aprendizaje espacial se evaluó durante la fase de entrenamiento del laberinto acuático de Morris. El análisis estadístico mostró un efecto significativo de la TBI ($F_{1,34}: 5.91, p \leq 0.05$), del EE ($F_{1,34}: 6.68, p \leq 0.05$) y del tiempo ($F_{4,34}: 32.57, p \leq 0.01$). Las comparaciones múltiples mostraron que el grupo TBI + STD obtuvo un menor desempeño comparado con ambos grupos sham ($p < 0.05$) y que el grupo TBI + EE mostró latencias de escape significativamente menores que los animales TBI + STD ($p < 0.05$). Adicionalmente, observamos que no existen diferencias significativas entre los grupos sham y el grupo TBI + EE ($p > 0.05$). Las comparaciones múltiples por día mostraron que el grupo TBI+STD mostró latencias de escape significativamente mayores los primeros tres días ($p \leq 0.05$) que el grupo sham+EE, y al día 3 ($p \leq 0.05$) y al 5 ($p \leq 0.05$) en comparación con el grupo sham+STD (Figura 6).

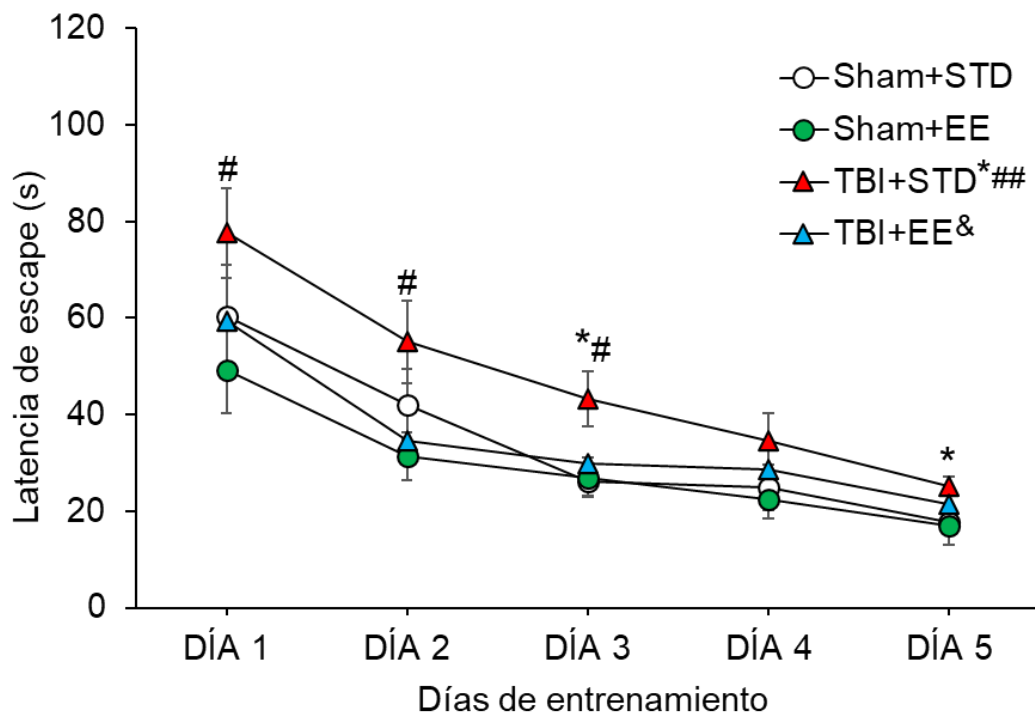


Figura 6. El EE promueve la adquisición del aprendizaje espacial después de una TBI pediátrica. Latencia de escape durante la fase de entrenamiento del laberinto acuático de Morris de animales sham o sometidos a una lesión cerebral traumática (TBI) que se mantuvieron en condiciones de alojamiento estándar (STD) o de ambiente enriquecido (EE). (Promedio $\pm$ EST, ANOVA, $*p < 0.05$ vs. Grupo sham+STD, $^{\#}p < 0.05$ vs. Grupo sham+EE y $^{\&}p < 0.05$ vs. TBI+STD. Sham+STD, TBI+EE, $n=9$; sham+EE, TBI+STD, $n=10$).

Por otro lado, el análisis estadístico para la prueba de transferencia no mostró efecto significativo de la TBI o el EE sobre el porcentaje de tiempo que los animales pasaron explorando el cuadrante objetivo (Figura 7). No obstante, al realizar una comparación simple (prueba t de Student) observamos que los animales TBI + EE exploraron más tiempo el cuadrante objetivo que los TBI + STD ($p \leq 0.05$).

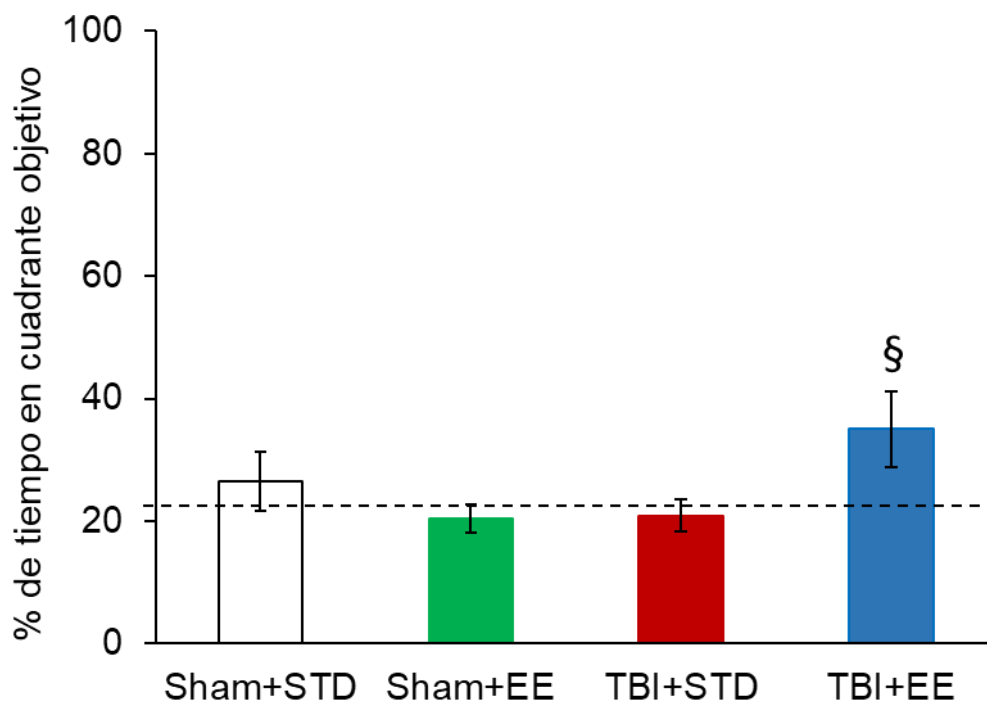


Figura 7. EL TBI y el EE no influyen sobre la memoria espacial. Porcentaje de tiempo de exploración en el cuadrante objetivo en la prueba de transferencia de animales sham o sometidos a una lesión cerebral traumática (TBI) que se mantuvieron en condiciones de alojamiento estándar (STD) o de ambiente enriquecido (EE). (*Promedio ± EST, t de Student: [§]p<0.05 vs. TBI+STD. Sham+STD, TBI+EE, n=9; sham+EE, TBI+STD, n= 10.*

Ni la TBI ni el EE afectaron la velocidad de nado ni la agudeza visual evaluadas en el laberinto acuático de Morris

Se evaluó la velocidad de nado como un control de las capacidades motoras, así como el tiempo que los animales tardan en encontrar la plataforma visible para descartar estrategias no-espaciales de búsqueda durante el MWM. El análisis estadístico no mostró efecto significativo de la TBI o del EE ($p > 0.05$) en ninguno de los dos parámetros evaluados (Figura 8).

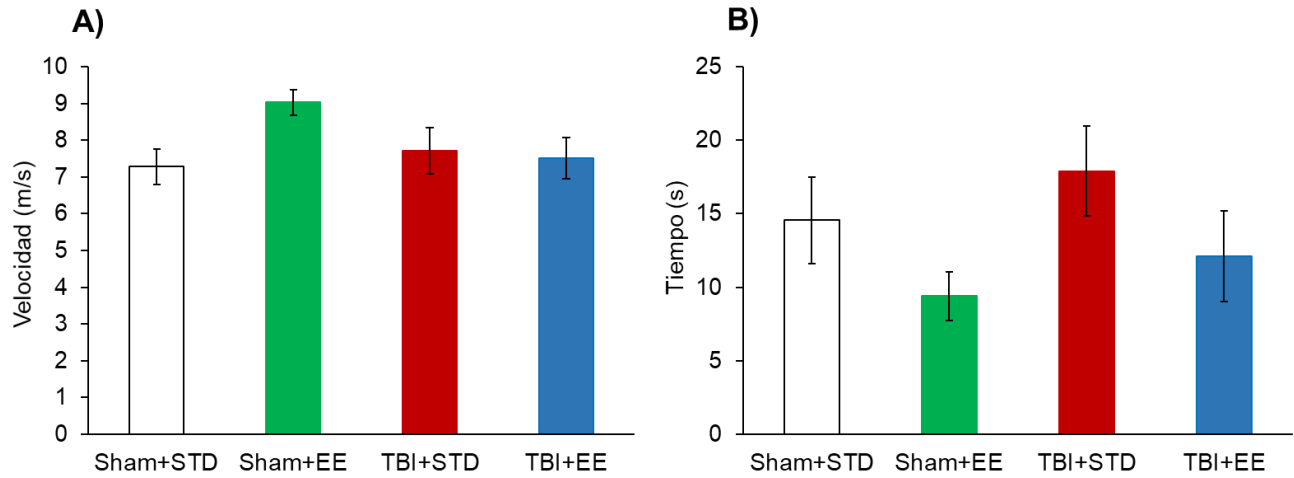


Figura 8. Capacidades motoras y visuales. A) velocidad de nado en la prueba de transferencia y B) tiempo en la plataforma visible de animales sham o sometidos a una lesión cerebral traumática (TBI) que se mantuvieron en condiciones de alojamiento estándar (STD) o de ambiente enriquecido (EE). (*Promedio $\pm$ EST, ANOVA. Sham+STD, TBI+EE, $n=9$; sham+EE, TBI+STD, $n=10$*).

10. DISCUSIÓN

En el presente trabajo, evaluamos por primera vez el efecto del enriquecimiento ambiental en ratas sometidas a una lesión cerebral traumática al destete (PND21). Los resultados mostraron que la TBI causó daño cognitivo en ratas adolescentes y este efecto fue revertido por el enriquecimiento ambiental.

En el presente trabajo realizamos una evaluación neurológica aguda como una medida de control para garantizar la homogeneidad de la lesión. Esta, es una medida aceptada de la intensidad de la lesión en modelos animales de TBI. El tiempo que tardan los animales en mostrar un reflejo en respuesta a un pinchazo en la pata y el tiempo de enderezamiento son parámetros que se consideran como correlatos del tiempo de inconciencia evaluado mediante la escala de coma de Glasgow en humanos (Fujimoto, et al., 2004). Como era de esperarse, observamos que los animales lesionados mostraron un incremento en el tiempo de enderezamiento con respecto a los sham. Adicionalmente, observamos que no hubo diferencias significativas entre el grupo TBI+STD y TBI+EE, indicando que ambos grupos recibieron lesiones de intensidades similares.

Observamos que los animales sham que se mantuvieron en condiciones de EE mostraron una menor ganancia de peso que los animales sham+STD. Estos datos se encuentran en congruencia con estudios previos que demostraron que el EE disminuye la ganancia de peso en animales adolescentes (Zaias, et al., 2008). Este efecto no se observó en los animales TBI+EE. Esta falta de efecto podría ser debida a que la lesión pudiera disminuir la locomoción y la actividad física; sin embargo, esto es poco probable debido a que no observamos diferencias en la

velocidad de nado al finalizar las pruebas de conducta. Por esto, consideramos que es importante realizar estudios de seguimiento que nos permitan determinar si esta falta de efecto es debida a variaciones intrínsecas de los animales (p.ej. efecto de camada) o a la interacción entre el EE y el TBI.

Nuestros datos indicaron que los animales TBI+STD mostraron latencias de escape significativamente mayores al compararlos con ambos grupos sham en la fase de entrenamiento del MWM. Lo cual, indica que existen deficiencias en la adquisición de la memoria espacial. Este efecto no se observó en los animales TBI+EE, quienes mostraron latencias de escape similares a las de los grupos sham y significativamente diferentes al grupo TBI+STD. Estos datos se encuentran en congruencia con resultados previos que mostraron que el EE promueve la recuperación cognitiva después de una TBI al PND17 (Matter, et al., 2011; Monaco, et al., 2014). Se ha sugerido que el EE promueve el desempeño cognitivo al compararse con animales en condiciones STD; no obstante, en el presente trabajo no observamos diferencias entre el grupo sham+EE y el grupo sham+STD. Esta falta de efecto ha sido previamente reportada por nuestro grupo (Lajud, et al., 2019), y proponemos que es debida a que los estudios que demuestran efecto del EE en animales normales comúnmente incluyen una rueda de ejercicio; la cual, no fue incluida en nuestro modelo. Se sabe, que el ejercicio voluntario y el EE que incluye una rueda de ejercicio mejoran el aprendizaje espacial y aumentan la neurogénesis en animales normales (Grégoire, et al., 2014), mientras que el EE sin rueda, promueve el aprendizaje, pero no la neurogénesis en animales TBI (Lajud, et al., 2019). Esto indica que existen efectos diferenciales del ejercicio, el enriquecimiento

social/sensorial, y la plasticidad en animales intactos con respecto a los lesionados (Lambert, et al., 2004; Will, et al., 2004).

Nuestros resultados no mostraron diferencias en el tiempo que los animales pasan explorando el cuadrante objetivo durante la prueba de transferencia. No obstante, al realizar una comparación sencilla (prueba T de Student), observamos que los animales TBI+EE pasan más tiempo explorando el cuadrante objetivo que los animales TBI+STD. Esta falta de efecto podría ser debido a que en nuestras condiciones los animales sham+STD y sham+EE no muestran una preferencia por el cuadrante objetivo con respecto a los otros, indicando una deficiencia en la retención de memoria espacial que ya se ha observado con anterioridad (Monaco, et al., 2014).

Como información adicional, se determinó la velocidad de nado durante la prueba de transferencia y las latencias de escape en la prueba visible. Estos datos se determinaron como controles de la función motora y la agudeza visual respectivamente y no se observaron diferencias significativas entre ninguno de los grupos. Esto, indica que todos los animales sometidos al MWM lo hicieron en igualdad de condiciones, por lo que los resultados del desempeño no se encuentran sesgados ni por déficits motores ni por factores extra- espaciales. Ningún individuo fue excluido del estudio por la misma razón.

Se cree que los mecanismos mediante los cuales la exposición al EE confiere las mejoras reportadas se dan a través de una serie de cambios neuroplásticos tales como un aumento en la neurogénesis hipocampal y la supervivencia celular, fortalecimiento sináptico, una mayor cantidad de vesículas sinápticas y el

incremento de factores neurotróficos que inician justo después de someter a los individuos al ambiente estimulante (Folweiler, et al., 2016; Nakamura, et al., 1999; Nilsson, et al., 1999; Mohammed, et al., 2002). Sin embargo, Lajud y colaboradores (2019) compararon dos modelos de EE de diferentes duraciones y reportaron que la recuperación funcional mediada por EE después de una TBI no depende de un aumento de la neurogénesis, ya que ambos grupos de EE mejoraron el rendimiento conductual por igual, pero solo el grupo que fue sometido a EE continuo aumentó la neurogénesis en relación con los controles STD. Otra interesante propuesta del mecanismo de efectividad del EE se basa en reportes que relacionan a la actividad inmunológica local con el aumento de la neurogénesis hipocampal promovida por el EE. Las células T involucradas en la neurogénesis reconocen proteínas del CNS; no atacan el cerebro, sino que reclutan a las propias células inmunitarias residentes para combatir cualquier salida de sustancias tóxicas de forma segura desde los tejidos nerviosos dañados. Por lo tanto, la función principal de las células T del sistema inmunológico en el cerebro es permitir que las regiones neurogénicas (como el hipocampo) se mantengan activas y conserven la capacidad cognitiva del individuo (Jain, 2011).

Un mecanismo menos estudiado se encuentra en el eje intestino-cerebro, entendiendo este como la principal comunicación bidireccional entre ambos sistemas (Zhu, et al., 2018). Se ha encontrado que los pacientes que sufrieron una TBI también exhiben trastornos metabólicos y anomalías en funciones intestinales como la motilidad, permeabilidad e inflamación (Urban, et al., 2019). Estas alteraciones provocan cambios en la composición de la microbiota, lo que ha

relacionado a la disbiosis intestinal con la aparición de neuropatologías (Matharu, et al., 2019; Rice, et al., 2019)

Durante una TBI, se puede producir la interrupción del eje intestino-cerebro, adicionalmente, se ha propuesto que la microbiota intestinal podría ser un blanco terapéutico en el tratamiento de las secuelas cognitivas de una TBI debido a que se ha reportado que algunas especies bacterianas juegan un papel en la recuperación después de una TBI (Treangen, et al., 2018). Estos antecedentes dan pie a futuras investigaciones sobre el efecto del EE sobre la microbiota intestinal después de una TBI, así como el efecto aditivo a esta que puede tener la disbiosis intestinal sobre el desempeño cognitivo, ya que podría ayudarnos en los esfuerzos de incrementar la efectividad del EE en la recuperación funcional de una TBI.

11. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos indican que el enriquecimiento ambiental promueve la recuperación funcional después de una TBI pediátrica en ratas. Este descubrimiento tiene una relevancia traslacional debido a que el modelo de TBI en ratas al PND 21 simula los mecanismos fisiopatológicos de las TBI suscitadas en niños de 3 a 5 años, además de que el EE es un correlato de la rehabilitación en humanos, lo que da pie a la investigación clínica de esta estrategia terapéutica en niños con TBI.

12. REFERENCIAS

- 1) Abdul-Muneer, P. M., Chandra, N., & Haorah, J. (2014). Interactions of Oxidative Stress and Neurovascular Inflammation in the Pathogenesis of Traumatic Brain Injury. *Molecular Neurobiology*, 51(3), 966–979. doi: 10.1007/s12035-014-8752-3.
- 2) Adams, J. H., Doyle, D., Ford, I., et al. Diffuse axonal injury in head injury: definition, diagnosis and grading. *Histopathology*. 1989; 15: 49–59. doi: 10.1111/j.1365-2559.1989.tb03040.x.
- 3) Anthony, D. C., Bolton, S. J., Fearn, S. & Perry, V. H. (1997). Age-related effects of interleukin-1 beta on polymorphonuclear neutrophil-dependent increases in blood-brain barrier permeability in rats. *Brain* 120:435–444. doi: 10.1093/brain/120.3.435.
- 4) Bigler, E., D. (2013). Neuroinflammation and the dynamic lesion in traumatic brain injury. *Brain*, 136(1), 9–11. doi:10.1093/brain/aws342.
- 5) Bondi, C. O., Klitsch, K. C., Leary, J. B. & Kline, A. E. (2014). Environmental Enrichment as a Viable Neurorehabilitation Strategy for Experimental Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*, 31(10), 873–888. doi: 10.1089/neu.2014.3328.
- 6) Centers for Disease Control and Prevention. (2015). Traumatic Brain Injury in the United States: Epidemiology and Rehabilitation. U.S.: Department of Health and Human Services. Recuperado de: www.cdc.gov/injury.
- 7) Chang, E. F., Claus, C. P., Vreman, H. J., Wong, R. J. & Noble-Haeusslein, L. J. (2005). Heme regulation in traumatic brain injury: relevance to the adult

- and developing brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 25:1401–1417. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600147.
- 8) Dhanushkodi, A., Bindu, B., Raju, T. R., & Kutty, B. M. (2007). Exposure to enriched environment improves spatial learning performances and enhances cell density but not choline acetyltransferase activity in the hippocampus of ventral subicular-lesioned rats. *Behavioral Neuroscience*, 121(3), 491–500. doi: 10.1037/0735-7044.121.3.491.
- 9) De la Tremblaye, P. B., Bondi, C. O., Lajud, N., Cheng, J. P., Radabaugh, H. L., & Kline, A. E. (2017). Galantamine and Environmental Enrichment Enhance Cognitive Recovery after Experimental Traumatic Brain Injury But Do Not Confer Additional Benefits When Combined. *Journal of Neurotrauma*, 34(8), 1610–1622. doi: 10.1089/neu.2016.4790.
- 10) de Witt, B.W., Ehrenberg, K.M., McAloon, R.L., Panos, A.H., Shaw, K.E., Raghavan, P.V., Skidmore, E.R., et al. (2011). Abbreviated environmental enrichment enhances neurobehavioral recovery comparably to continuous exposure after traumatic brain injury. *Neurorehabilitation and Neural Repair* 25, 343–350. doi: 10.1177/1545968310390520.
- 11) Dewan, M. C., Mummareddy, N., Wellons, J. C., & Bonfield, C. M. (2016). Epidemiology of Global Pediatric Traumatic Brain Injury: Qualitative Review. *World Neurosurgery*, 91, 497–509.e1. doi: 10.1016/j.wneu.2016.03.045.
- 12) Diaz-Chávez, A., Lajud, N., Roque, A., Cheng, J. P., Meléndez-Herrera, E., Valdéz-Alarcón, J. J., ... Kline, A. E. (2020). Early life stress increases vulnerability to the sequelae of pediatric mild traumatic brain injury. *Experimental Neurology*, 113318. doi: 10.1016/j.expneurol.2020.113318.

- 13)Fujimoto, S. T., Longhi, L., Saatman, K. E., & McIntosh, T. K. (2004). Motor and cognitive function evaluation following experimental traumatic brain injury. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 28(4), 365–378. doi: 10.1016/j.neubiorev.2004.06.002.
- 14)Garcia, A. N., Shah, M. A., Dixon, C. E., Wagner, A. K. & Kline, A. E. (2011). Biologic and Plastic Effects of Experimental Traumatic Brain Injury Treatment Paradigms and Their Relevance to Clinical Rehabilitation. *PM&R*, 3(6), S18–S27. doi: 10.1016/j.pmrj.2011.03.017.
- 15)Giza, C. C., Griesbach, G. S., & Hovda, D. A. (2005). Experience-dependent behavioral plasticity is disturbed following traumatic injury to the immature brain. *Behavioural Brain Research*, 157(1), 11–22. doi: 10.1016/j.bbr.2004.06.003.
- 16)Giza, C. C., Mink, R. B., & Madikians, A. (2007). Pediatric traumatic brain injury: not just little adults. *Current Opinion in Critical Care*, 13(2), 143–152. doi: 10.1097/mcc.0b013e32808255dc.
- 17)Grégoire, C.-A., Bonenfant, D., Le Nguyen, A., Aumont, A., & Fernandes, K. J. L. (2014). Untangling the Influences of Voluntary Running, Environmental Complexity, Social Housing and Stress on Adult Hippocampal Neurogenesis. *PLoS ONE*, 9(1), e86237. doi: 10.1371/journal.pone.0086237.
- 18)Held, J. M., Gordon, J., & Gentile, A. M. (1985). Environmental influences on locomotor recovery following cortical lesions in rats. *Behavioral Neuroscience*, 99(4), 678–690. doi: 10.1037//0735-7044.99.4.678.
- 19)Hoffman, A. N., Malena, R. R., Westergom, B. P., Luthra, P., Cheng, J. P., Aslam, H. A., Zafonte, R. D., et al. (2008). Environmental enrichment-

- mediated functional improvement after experimental traumatic brain injury is contingent on task-specific neurobehavioral experience. *Neurosci. Lett.* 431, 226–230. doi: 10.1016/j.neulet.2007.11.042.
- 20)Hyder, A. A., Wunderlich, C. A., Puvanachandra, P., Gururaj, G., & Kobusingye, O. C. (2007). The impact of traumatic brain injuries: a global perspective. *NeuroRehabilitation*, 22(5), 341–353. PMID: 18162698.
- 21)Ji, Jing, Kline, Anthony E., Amoscato, Andrew, Samhan-Arias, Alejandro K., Sparvero, Louis J., Tyurin, Vladimir A., Tyurina, Yulia Y., Fink, Bruno, Manole, Mioara D., Puccio, Ava M., Okonkwo, David O., Chengh, Jeffrey P., Alexander, Henry, Clark, Robert, S. B., Kochanek, Patrick M., Wipf, Peter, Kagan, Valerian E. & Bayir, Hülya. (2012). Lipidomics identifies cardiolipin oxidation as a mitochondrial target for redox therapy of brain injury. *Nature Neuroscience*, 15 (10), 1407-1413. doi: 10.1038/nn.3195.
- 22)Kochanek, P. M., Marion, D. W., Zhang, W., Schiding, J. K., White, M., Palmer, A. M., Robert, S. B., O'Malley, Mark E., Styren, Scot D., Ho, Chien & DeKosky, Steven T. (1995). Severe Controlled Cortical Impact in Rats: Assessment of Cerebral Edema, Blood Flow, and Contusion Volume. *Journal of Neurotrauma*, 12(6), 1015–1025. doi: 10.1089/neu.1995.12.1015.
- 23)Kline, A. E., Wagner, A. K., Westergom, B. P., Malena, R. R., Zafonte, R. D., Olsen, A. S., Sozda, C. N., et al. (2007). Acute treatment with the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH DPAT and chronic environmental enrichment confer neurobehavioral benefit after experimental brain trauma. *Behavioural Brain Research* 177, 186–194. doi: 10.1016/j.bbr.2006.11.036.

- 24)Kline, A.E., Olsen, A.S., Sozda, C.N., Hoffman, A.N., and Cheng, J.P. (2012). Evaluation of a combined treatment paradigm consisting of environmental enrichment and the 5-HT_{1A} receptor agonist buspirone after experimental traumatic brain injury. *J. Neurotrauma* 29, 1960-1969. doi: 10.1089/neu.2012.2385.
- 25)Lajud, N., Díaz-Chávez, A., Radabaugh, H., Cheng, J., P., Rojo-Soto, G., Valdéz-Alarcón, J., Bondi, C., O. & Kline, A., E. (2019). Delayed and abbreviated environmental enrichment after brain trauma promotes motor and cognitive recovery that is not contingent on increased neurogenesis. *Journal of Neurotrauma*. 1;36(5):756-767. doi: 10.1089/neu.2018.5866.
- 26)Lajud, N., Roque, A., Cheng, J. P., Bondi, C. O., & Kline, A. E. (2021). Early life stress preceding mild pediatric traumatic brain injury increases neuroinflammation but does not exacerbate impairment of cognitive flexibility during adolescence. *Journal of Neurotrauma*. doi:10.1089/neu.2020.7354.
- 27)Lambert, T. J., Fernandez, S. M., & Frick, K. M. (2005). Different types of environmental enrichment have discrepant effects on spatial memory and synaptophysin levels in female mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, 83(3), 206–216. doi: 10.1016/j.nlm.2004.12.001.
- 28)Leary, J. B., Bondi, C. O., LaPorte, M. J., Carlson, L. J., Radabaugh, H. L., Cheng, J. P., & Kline, A. E. (2017). The Therapeutic Efficacy of Environmental Enrichment and Methylphenidate Alone and in Combination after Controlled Cortical Impact Injury. *Journal of Neurotrauma*, 34(2), 444–450. doi:10.1089/neu.2016.4438.

- 29)Lozano, D., Gonzales-Portillo, G., Acosta, S., de la Pena, I., Tajiri, N., Kaneko, Y., Borlongan, C. (2015). Neuroinflammatory responses to traumatic brain injury: etiology, clinical consequences, and therapeutic opportunities. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 11:97-106. doi: 10.2147/NDT.S65815.
- 30)Lyeth, B.G., Jenkins, L.W., Hamm, R.J., Dixon, C.E., Phillips, L.L., Clifton, G.L., Young, H.F., and Hayes R.L. (1990). Prolonged memory impairment in the absence of hippocampal cell death following traumatic brain injury in the rat. *Brain Res.* 526, 249-258. doi: 10.1016/0006-8993(90)91229-a.
- 31)Matharu, D., Dhotre, D., Balasubramanian, N., Pawar, N., Sagarkar, S., & Sakharkar, A. (2019). Repeated mild traumatic brain injury affects microbial diversity in rat jejunum. *Journal of Biosciences*, 44(5). doi:10.1007/s12038-019-9940-0.
- 32)Matter, A. M., Folweiler, K. A., Curatolo, L. M., & Kline, A. E. (2011). Temporal Effects of Environmental Enrichment–Mediated Functional Improvement After Experimental Traumatic Brain Injury in Rats. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, 25(6), 558–564. doi:10.1177/1545968310397206.
- 33)Monaco, C. M., Gebhardt, K. M., Chlebowski, S. M., Shaw, K. E., Cheng, J. P., Hensch, J. J., Zupa, M. F. & Kline, A. E. (2014). A Combined Therapeutic Regimen of Buspirone and Environmental Enrichment Is More Efficacious than Either Alone in Enhancing Spatial Learning in Brain-Injured Pediatric Rats. *Journal of Neurotrauma*, 31(23), 1934–1941. doi:10.1089/neu.2014.3541.

- 34) Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of neuroscience methods*, 11(1), 47-60. doi: 10.1016/0165-0270(84)90007-4.
- 35) Nakamura, H., Kobayashi, S., Ohashi, Y., and Ando, S. (1999). Age changes of brain synapses and synaptic plasticity in response to an enriched environment. *J. Neurosci. Res.* 56, 307–315. doi: 10.1002/(SICI)1097-4547(19990501)56:3<307::AID-JNR10>3.0.CO;2-3.
- 36) Nilsson, M., Perfilieva, E., Johansson, U., Orwar, O., and Eriksson, P.S. (1999). Enriched environment increases neurogenesis in the adult rat dentate gyrus and improves spatial memory. *J. Neurobiol.* 39, 569–578. doi: 10.1002/(sici)1097-4695(19990615)39:4<569::aid-neu10>3.0.co;2-f.
- 37) Penn, P., R.; Rose, F., D., & Johnson, D., A. (2009). Virtual enriched environments in pediatric neuropsychological rehabilitation following traumatic brain injury: Feasibility, benefits and challenges. *Developmental Neurorehabilitation*, 12(1), 32–43. doi: 10.1080/17518420902739365.
- 38) Povlishock, J. T., Hayes, R. L., Michel, M. E., & McIntosh, T. K. (1994). Workshop on Animal Models of Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*, 11(6), 723–732. doi:10.1089/neu.1994.11.723.
- 39) Prins, M. L., Hovda, D. A. (2003). Developing experimental models to address traumatic brain injury in children. *J Neurotrauma* 20:123–137. doi: 10.1089/08977150360547053.
- 40) Radabaugh, Hannah, L.; Carlson, Lauren J.; O'Neil, Darik, A.; LaPorte, Megan, J.; Monaco, Christina, M.; Cheng, Jeffrey, P.; De La Tremblaye, Patricia, B.; Lajud, Naima; Bondi, Corina, O. & Kline, Anthony, E. (2016).

- Abbreviated environmental enrichment confers neurobehavioral, cognitive, and histological benefits in brain-injured female rats. *Experimental Neurology* 286 61–68. doi: 10.1016/j.expneurol.2016.09.015.
- 41)Radabaugh, H., L.; LaPorte, M., J.; Greene, A., M.; Bondi, C., O.; Lajud, N. & Kline, A. E. (2017). Refining environmental enrichment to advance rehabilitation based research after experimental traumatic brain injury. *Experimental Neurology*, 294, 12–18. doi: 10.1016/j.expneurol.2017.04.013.
- 42)Rice, M. W., Pandya, J. D., & Shear, D. A. (2019). Gut Microbiota as a Therapeutic Target to Ameliorate the Biochemical, Neuroanatomical, and Behavioral Effects of Traumatic Brain Injuries. *Frontiers in Neurology*, 10. doi:10.3389/fneur.2019.00875.
- 43)Schmidt, O. I., Infanger, M., Heyde, C. E., Ertel, W., and Stahel, P. F. (2004). The role of neuroinflammation in traumatic brain injury. *Eur. J. Trauma* 30, 135–149. doi: 10.1007/s00068-004-1394-9.
- 44)Semple, B., D.; Carlson, J. & Noble-Haeusslein, L., J. (2016). Pediatric Rodent Models of Traumatic Brain Injury. *Injury Models of the Central Nervous System*, 325–343. doi: 10.1007/978-1-4939-3816-2_18.
- 45)Sengupta, P. (2013). The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med.* 4(6):624-630. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3733029/>.
- 46)Sesma, H. W.; Slomine, B. S.; Ding, R., & McCarthy, M. L. (2008). Executive Functioning in the First Year After Pediatric Traumatic Brain Injury. *PEDIATRICS*, 121(6), e1686–e1695. doi: 10.1542/peds.2007-2461.

- 47)Skandsen, T., Kvistad, K. A., Solheim, O., Strand, I. H., Folvik, M. & Vik, A. (2010). Prevalence and impact of diffuse axonal injury in patients with moderate and severe head injury: a cohort study of early magnetic resonance imaging findings and 1-year outcome. *J. Neurosurg.* 113, 556–563. doi: 10.3171/2009.9.JNS09626
- 48)Smith, D. H., Chen, X. H., Pierce, J. E. S., Wolf, J. A., Trojanowski, J. Q., Graham, D. I. & McIntosh, T. K. (1997). Progressive Atrophy and Neuron Death for One Year Following Brain Trauma in the Rat. *Journal of Neurotrauma*, 14(10), 715–727. doi: 10.1089/neu.1997.14.715.
- 49)Sozda, Christopher, Hoffman, Ann, Olsen, Adam, Cheng, Jeffrey, Zafonte, Ross & Kline, Anthony. (2010). Empirical Comparison of Typical and Atypical Environmental Enrichment Paradigms on Functional and Histological Outcome after Experimental Traumatic Brain Injury. *Journal of neurotrauma*. 27. 1047-57. doi: 10.1089/neu.2010.1313.
- 50)Takahashi, T., Shirane, R., Sato, S., Yoshimoto, T. (1999). Developmental changes of cerebral blood flow and oxygen metabolism in children. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1999;20(5):917-922. Recuperado: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7056161/>.
- 51)Treangen, T. J., Wagner, J., Burns, M. P., & Villapol, S. (2018). Traumatic Brain Injury in Mice Induces Acute Bacterial Dysbiosis Within the Fecal Microbiome. *Frontiers in Immunology*, 9. doi: 10.3389/fimmu.2018.02757.
- 52)Tweedie, D., Rachmany, L., Rubovitch, V., Zhang, Y., Becker, K. G., Perez, E., Hoffer, B. J., Pick, C. G. & Greig, N. H. (2013). Changes in mouse cognition and hippocampal gene expression observed in a mild physical- and

- blast-traumatic brain injury. *Neurobiol. Dis.* 54, 1–11. doi: 10.1016/j.nbd.2013.02.006.
- 53) Urban, R. J., Pyles, R., Stewart, C., Ajami, N., Randolph, K., Durham, W. J., Danesi, P. C., Dillon, E. L., Summons, J. R., Singh, C. K., Morrison, M., Kreber, L. A., Masel, B., Miller, A. L., Wright, T. J. & Sheffield-Moore, M. (2019). Altered Fecal Microbiome Years After Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*. doi:10.1089/neu.2019.6688.
- 54) Will, B., Galani, R., Kelche, C., & Rosenzweig, M. R. (2004). Recovery from brain injury in animals: relative efficacy of environmental enrichment, physical exercise or formal training (1990–2002). *Progress in Neurobiology*, 72(3), 167–182. doi: 10.1016/j.pneurobio.2004.03.001.
- 55) Wu, C., Honarmand, A.R., Schnell, S., Kuhn, R., Schoeneman, S.E., Ansari, S.A., Carr, J., Markl, M. & Shaibani, A. (2016). Age-Related Changes of Normal Cerebral and Cardiac Blood Flow in Children and Adults Aged 7 Months to 61 Years. *J Am Heart Assoc.* 5(1):e002657. doi: 10.1161/JAHA.115.002657.
- 56) Zaias J, Queeney TJ, Kelley JB, Zakharova ES, Izenwasser S. Social and physical environmental enrichment differentially affect growth and activity of preadolescent and adolescent male rats. (2008). *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 47(2):30-4. PMID: 18351719; PMCID: PMC2653998.
- 57) Zhu, C., Grandhi, R., Patterson, T., & Nicholson, S. (2018). A Review of Traumatic Brain Injury and the Gut Microbiome: Insights into Novel Mechanisms of Secondary Brain Injury and Promising Targets for Neuroprotection. *Brain Sciences*, 8(6), 113. doi:10.3390/brainsci8060113.

13. ANEXOS

13.1. Abreviaturas

BBB: Barrera hematoneural

CCI: Impacto cortical controlado

EE: Enriquecimiento ambiental

FPI: Lesión por percusión por fluido

GCS: Escala de coma de Glasgow

LOC: Pérdida de la consciencia

MWM: Laberinto acuático de Morris

PND: Día post-natal

PTA: Amnesia post-traumática

pTBI: Lesión cerebral traumática pediátrica

STD: Estándar

TBI: Lesión cerebral traumática

WD: Modelo de lesión por caída de peso

13.2. Índice de tablas

Tabla 1. Resumen de la clasificación clínica de Mayo de la severidad de las TBI y su clasificación en la Escala de Coma de Glasgow (GCS) (Tomado y modificado de Fraunberger, 2020).

Tabla 2. Pruebas para evaluar efectos neurológicos comunes de las TBI (Información tomada de Xiong, et al., 2013).

Tabla 3. Parámetros neurológicos agudos.

13.3. Índice de figuras

Figura 1. Diagrama esquematizado del CCI neumático (tomado y modificado de Xiong, et al., 2013).

Figura 2. Grupos experimentales.

Figura 3. Esquema del diseño experimental.

Figura 4. Imágenes de nuestro modelo de EE en el Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI-IMSS).

Figura 5. El EE disminuyó la ganancia de peso en los animales sham.

Figura 6. El EE promueve la adquisición del aprendizaje espacial después de una TBI pediátrica.

Figura 7. EL TBI y el EE no influyen sobre la memoria espacial.

Figura 8. Capacidades motoras y visuales.