

ARTÍCULO - Tesis Premiadas Convocatoria de Premios RADE 2024

Proceso de neurogénesis hipocampal adulta en la especie humana. Retos metodológicos y evidencias experimentales en condiciones fisiológicas y patológicas Human adult hippocampal neurogenesis: challenges and evidence in health and disease

Elena P. Moreno-Jiménez*¹, María Llorens-Martín^{2,3}
e.moreno@nin.knaw.nl

RESUMEN

La neurogénesis hipocampal adulta constituye un proceso de plasticidad neural único en el sistema nervioso central. No obstante, su ocurrencia en seres humanos ha sido objeto de reciente debate. El presente artículo aborda una revisión bibliográfica del proceso de neurogénesis hipocampal adulta en condiciones fisiológicas y patológicas incluyendo los estudios desarrollados por nuestro grupo que, junto con otros, han contribuido a evidenciar dicho proceso en la especie humana. Además, se analizan los requisitos metodológicos requeridos para la identificación inequívoca de marcadores de neurogénesis mediante la técnica de inmunohistoquímica. Nuestros resultados demuestran la presencia de células madre neurales, células proliferativas, neuroblastos y neuronas inmaduras en diferentes etapas de diferenciación en nicho neurogénico del giro dentado hipocampal humano. Asimismo, el envejecimiento y diversas enfermedades neurodegenerativas como enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, α -sinucleinopatías (demencia con cuerpos de Lewy, enfermedad de Parkinson) y demencia frontotemporal, alteran la densidad y morfología de poblaciones neurogénicas y perturban la homeostasis del nicho. Estas alteraciones podrían contribuir a las manifestaciones clínicas observadas en dichos pacientes. En conjunto, estos hallazgos subrayan la relevancia crítica de la metodología empleada en el estudio de la neurogénesis adulta y demuestran su ocurrencia y naturaleza dinámica en el cerebro humano.

PALABRAS CLAVE: Neurogénesis hipocampal adulta; Inmunohistoquímica; Metodología; Humanos; Neuronas inmaduras; Enfermedades neurodegenerativas.

ABSTRACT

Adult hippocampal neurogenesis represents a unique form of neural plasticity within the central nervous system. However, its occurrence in humans has been the subject of debate. This paper presents a comprehensive review of the adult hippocampal neurogenesis process under both physiological and pathological conditions, including studies conducted by our group, alongside others, that have contributed to demonstrating the existence of this process in human. We analyze the methodological requirements necessary for the unequivocal identification of neurogenesis markers using immunohistochemistry in human postmortem tissue, emphasizing the importance of controlled fixation times and appropriate histological pretreatments. Our findings reveal the presence of neural stem cells, proliferative cells, neuroblasts, and immature neurons at various stages of differentiation within the neurogenic niche of the human dentate gyrus. Furthermore, aging and several neurodegenerative diseases—such as Alzheimer's disease, amyotrophic lateral sclerosis, Huntington's disease, α -synucleinopathies (including dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease), and frontotemporal dementia—alter the density and morphology of neurogenic populations and disrupt niche homeostasis. These alterations may contribute to the clinical manifestations observed in aforementioned patients. Collectively, these findings underscore the critical importance of the methodology applied in the study of adult neurogenesis and support its occurrence and dynamic nature in the human brain.

KEYWORDS: Adult hippocampal neurogenesis; Immunohistochemistry; Methodology; Humans; Immature neurons; Neurodegenerative diseases.

* La autora fue galardonada con el Premio Real Academia de Doctores de España-Ciencias de la Vida y de la Salud en la Convocatoria de Premios a la Investigación RADE 2024 a la mejor tesis doctoral por su tesis *Proceso de neurogénesis hipocampal adulta en la especie humana. Alteración de la integración de las nuevas neuronas granulares en condiciones patológicas*.

¹ Laboratory of Neurogenesis and Neurodegeneration, Netherlands Institute for Neuroscience (NIN), Amsterdam, Países Bajos.

² Departamento de Neuropatología Molecular, Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa» (CBMSO), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)-Universidad Autónoma de Madrid (UAM), Madrid, España.

³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Madrid, España.

1. NEUROGÉNESIS ADULTA

El aprendizaje y la memoria son funciones que capacitan al organismo para su desarrollo y adaptación al entorno. Estas funciones están coordinadas por varias regiones cerebrales, entre ellas, el hipocampo. El hipocampo es una estructura bilateral del lóbulo temporal que forma parte del sistema límbico, y que alberga, además, uno de los procesos que confieren una mayor plasticidad neural en la etapa postnatal, la neurogénesis hipocampal adulta. Dicho proceso contempla múltiples etapas que convergen en la integración de nuevas neuronas granulares funcionales en el circuito trisináptico pre-existente. El proceso de neurogénesis adulta ha sido descrito en, al menos, dos nichos neurogénicos restringidos del cerebro adulto. El primero, ya mencionado, es la zona subgranular del giro dentado del hipocampo, y el segundo, la zona ventricular-subventricular de los ventrículos laterales que genera precursores neuronales¹ capaces de migrar al bulbo olfatorio y diferenciarse principalmente en interneuronas olfatorias^{2,3} que se integran en circuitos relacionados con la olfacción^{4,5} y reconocimiento social⁶.

1.1. Citoarquitectura hipocampal

La formación hipocampal incluye el giro dentado y las regiones CA1 – CA4 del *Cornu Ammonis*^{7,8}. El hipocampo contiene dos circuitos principales: el monosináptico, que conecta directamente la corteza entorrinal con CA1, y el trisináptico, donde la información fluye desde la corteza entorrinal al giro dentado, después a CA3 (o CA2) y finalmente a CA1. Desde CA1, las proyecciones alcanzan el subículo y regresan a la corteza entorrinal, completando un bucle crucial para el procesamiento de la memoria^{9,10}.

1.1.1. Giro dentado y nicho neurogénico

El giro dentado muestra una anatomía en forma de punta de flecha o “V”, y se divide en dos segmentos unidos por la cresta o ápex: la hoja suprapiramidal (que, en un corte coronal, deja por debajo la región de CA3/CA4) y la porción opuesta a ésta, la hoja infrapiramidal (que deja por encima la capa de células piramidales anteriormente mencionada). El giro dentado presenta una estructura trilaminar, distinguiéndose la capa molecular, la capa granular y el hilus.

La capa molecular es la región más externa, y en ella se extiende el árbol dendrítico de las neuronas granulares, así como multitud de fibras, entre ellas, la vía perforante. Sólo un escaso número de interneuronas residen en esta zona: las células MOPP (*Molecular layer perforant path-associated*), que expresan VIP (*Vasoactive intestinal peptide*); las células axo-axónicas, en la región cercana a la capa granular, que expresan PV (*Parvalbumin*); y las células semilunares^{11,12}.

Las células principales del giro dentado, o neuronas granulares, disponen su cuerpo celular de forma sumamente compacta, originando la capa granular. La parte basal, denominada zona subgranular, corresponde a la matriz germinativa o nicho neurogénico hipocampal, y reúne una serie de condiciones permisivas requeridas para la preservación de las células

madre neurales, así como para permitir el desarrollo e incorporación de nuevas neuronas en el giro dentado. Debido a su significativa implicación en la regulación del proceso de neurogénesis adulta, el nicho neurogénico hipocampal será abordado en el apartado 5. A lo largo del proceso de neurogénesis hipocampal adulta, las nuevas neuronas expresan diversos marcadores como reflejo de su estadio madurativo ¹³, extienden su árbol dendrítico en la capa molecular, y proyectan sus axones a las áreas CA3 y CA2 ¹⁴, al tiempo que migran moderadamente a lo largo de la capa granular, hasta adquirir una morfología, posición, y propiedades electrofisiológicas similares a las de las neuronas granulares maduras generadas durante desarrollo embrionario y etapa perinatal ^{15,16}. Este proceso madurativo será detallado en el apartado 4. A su vez, en la zona subgranular se encuentran interneuronas tipo cesta (*basket cells*), gran parte de las cuales expresan PV ^{17,18}.

El hilus, o capa polimórfica, alberga dos subpoblaciones de interneuronas GABA (γ -Aminobutyric acid)-érgicas: HIPP (*Hilar perforant path-associated*), que sintetizan Somatostatin y Neuropeptide Y; e interneuronas HICAP (*Hilar commissural-associational pathway-related*), que sintetizan Cholecystokinin ^{11,19}. Las denominadas células musgosas del hilus ¹⁹ representan la población principal de neuronas excitatorias que residen en esta capa ^{12,20}.

2. NEUROGÉNESIS ADULTA: UN RECORRIDO DESDE LOS ENFOQUES CLÁSICOS A LAS METODOLOGÍAS ACTUALES

Santiago Ramón y Cajal escribió: «En los cerebros adultos las vías nerviosas son algo fijo, terminado, inmutable. Todo puede morir, nada puede regenerarse [...]», lo cual contribuyó a sostener el dogma de la invariabilidad estructural del cerebro adulto.

A pesar de la observación de células mitóticas en la pared del ventrículo lateral de roedores que cuestionaban el dogma prestablecido ²², el inicio del conocimiento de neurogénesis adulta se alcanzó gracias a la introducción de la técnica de autoradiografía con timidina tritiada ^{23,24}. Esta técnica permitió la visualización de células que habían incorporado dicha molécula en su ADN (Ácido desoxirribonucleico) durante la fase de división ²⁵. Así, Joseph Altman describió detalladamente la presencia de células generadas durante la vida adulta en el neocortex, el giro dentado del hipocampo, el bulbo olfatorio y la corteza del cerebelo ^{26,27}. En años sucesivos, la ocurrencia de neurogénesis y la presencia de sinapsis en estas células fue demostrada mediante microscopía electrónica en roedores ²⁸ y en otras especies como el macaco adulto ²⁹. Posteriormente, Fernando Nottebohm demostró en aves la presencia de células generadas en zona ventricular-subventricular que migraban hasta el núcleo de control vocal HVC (Hiperestriado-ventral, *pars caudalis*), diferenciándose a neuronas y células de glía ³⁰⁻³². No obstante, la controversia presente en el campo ^{33,34}, no fue paliada hasta los años noventa, cuando se comenzó a emplear análogos sintéticos de timidina, entre ellos, la BrdU (5 Bromo-2'-deoxyuridine), que fueron combinados con inmunotinciones ³⁵⁻³⁷ de varios marcadores característicos de las distintas subpoblaciones celulares. Estos avances contribuyeron a demostrar la ocurrencia del proceso de neurogénesis adulta en roedores tanto *in vitro* ³⁸ como

in vivo^{39,40} y en primates no humanos^{41,42}. La posterior introducción de herramientas virales como retrovirus, que integran su material genético exclusivamente en células en división⁴³, se convirtió en una de las herramientas más empleadas para el estudio de la neurogénesis adulta. Dicho abordaje experimental permitió ampliar la comprensión del proceso madurativo de las nuevas neuronas hasta su completa integración en el circuito hipocampal, así como la contribución de las moléculas implicadas en el proceso⁴⁴⁻⁴⁶. Otras herramientas basadas en el trazado monosináptico retrógrado de conexiones con el virus pseudotipado de la rabia, han permitido identificar a las células que inervan, en primer orden, neuronas granulares^{47,48}.

En 1998, el estudio de Peter S. Eriksson y colaboradores, demostró la incorporación de BrdU en una población discreta de células proliferativas del giro dentado humano mediante la administración periférica de este análogo⁴⁹. Adicionalmente, dichas células mostraron expresión del marcador neuronal NeuN (*Neuronal-nuclei*), apoyando así la ocurrencia del proceso de neurogénesis adulta en nuestra especie. Del mismo modo, se demostró la incorporación de otros análogos de timidina similares, como IdU (5-Iodo-2'-deoxyuridine)⁵⁰, o del ¹⁴C emitido a la atmósfera entre 1955-1963 durante los ensayos de bombas nucleares de la Guerra Fría⁵¹ en estas células durante la fase de proliferación. Este último estudio determinó la tasa de incorporación (~700 neuronas diarias) y de remplazo neuronal del giro dentado humano mediante datación retrospectiva del nacimiento de estas células⁵¹. Otros grupos focalizaron su investigación en la identificación de marcadores de células madre y progenitores *in vivo*. En este sentido, Louis Manganas y colaboradores describieron una señal específica de células madre y progenitores en roedores y seres humanos por espectroscopía magnética funcional⁵². Los metabolitos posiblemente responsables de dicha señal fueron descritos en posteriores trabajos del grupo⁵³. De forma complementaria, la detección de *Glypican-2* en líquido cefalorraquídeo o *Stem cell factor* y *Granulocyte-colony stimulating factor* en sangre, se han propuesto como biomarcadores para la detección del proceso de neurogénesis adulta humana *in vivo*⁵⁴⁻⁵⁶. Con todo, la ocurrencia del proceso de neurogénesis hipocampal adulta en la especie humana ha sido recientemente debatida de nuevo. En 2016, se reportó un declive acusado en el proceso de neurogénesis de ambos nichos neurogénicos humanos empleando los marcadores Ki-67 y DCX (*Doublecortin*) mediante inmunohistoquímica⁵⁷. Seguidamente, Shawn Sorrells y colaboradores, reportaron que la densidad de células proliferativas (Ki-67, Sox1 (*Sex determining region Y-box transcription factor-1*) y Sox2) y de neuronas inmaduras (DCX y PSA-NCAM) disminuían hasta tasas indetectables en seres humanos adultos⁵⁸. En el extremo opuesto, estudios coetáneos que emplearon inmunohistoquímica combinada con métodos de determinación celular estereológica, demostraron la persistencia del proceso de neurogénesis adulta, si bien señalaron una reducción en el número de células *Nestin*⁺⁵⁹ a lo largo del envejecimiento. Consecutivamente, estudios de nuestro grupo, demostraron la presencia de células de tipo RGL (del inglés *Radial glia-like*) o células de tipo glía radial, células proliferativas⁶⁰ y neuronas inmaduras (DCX⁺) en diverso grado de diferenciación^{61,62} en el giro dentado de seres humanos hasta la novena década de edad. Para ello, empleamos una batería de marcadores característicos de cada tipo celular comprendido en el proceso de neurogénesis adulta, así

como un sofisticado método de preservación del tejido humano *post mortem*. No obstante, la densidad de neuronas inmaduras sufrió un declive asociado al envejecimiento fisiológico⁶².

Los estudios anteriormente mencionados comparten el uso de técnicas de inmunohistoquímica para la detección de la expresión de proteínas y la clasificación fenotípica de los distintos tipos celulares del proceso de neurogénesis adulta. De forma significativa, el reconocimiento y unión de los anticuerpos a sus antígenos específicos es sensible al método de procesamiento de la muestra, tipo y tiempo de fijación e intervalo *post mortem*, entre otros factores⁶¹⁻⁶³. Adicionalmente, técnicas como la detección de proteínas de interés por *Western-blot*^{64,65}, la cuantificación de expresión de ARNm (Ácido ribonucleico mensajero) por qPCR (*quantitative polymerase chain reaction*)⁶⁶, y una mejora de la técnica qFISH (*quantitative fluorescence in situ hybridization*) con mayor resolución de detección de ARNm, a nivel de célula única, denominada RNAscope⁶⁷, han reforzado los estudios previos que apoyan la ocurrencia de neurogénesis hipocampal adulta en seres humanos. Recientemente, se ha implementado, además, el análisis de expresión génica a nivel de célula individual (*single cell/nucleus RNA sequencing*) para la reconstrucción de trayectorias en células humanas. Esta técnica, con alguna excepción⁶⁸, ha permitido la detección del clúster de células de tipo RGL en el giro dentado humano adulto, reconstruyendo la trayectoria celular completa del proceso de neurogénesis adulta⁶⁹⁻⁷². Adicionalmente, este tipo de análisis ha subrayado la heterogeneidad de las neuronas granulares inmaduras⁷³.

2.1. Neurogénesis adulta a lo largo de la escala filogenética

El proceso de neurogénesis adulta ha sido evaluado a lo largo de la escala filogenética. Así, este evento se ha descrito en vertebrados como peces^{74,75}, anfibios^{76,77}, reptiles^{78,79} o aves³⁰. No obstante, este evento ha sido investigado en mayor medida en mamíferos, observándose células involucradas en las etapas del proceso de neurogénesis adulta, en más de 120 especies. Algunos ejemplos encuadrados por órdenes son, dentro de marsupiales: dasiuromorfos⁸⁰, dentro de mamíferos placentarios: roedores (ratón, rata, ardilla...)^{26,39,81}, lagomorfos (conejo)⁸², carnívoros (perro, león, foca...)^{80,83}, artiodáctilos (cabra, búfalo, camello...)^{80,84}, quirópteros (murciélagos)⁸⁵, proboscídeos (elefante)⁸⁶, primates (macaco, tití...)^{41,42,87,88} o sirénidos (manatí)⁸⁹, (revisado en⁹⁰).

3. CONTRIBUCIONES DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL A LA FUNCIÓN DEL CEREBRO ADULTO

El crecimiento volumétrico del giro dentado se prolonga en el periodo postnatal hasta los 14- 20 días en ratones, ~3 meses en primates y ~2 años en humanos⁹¹⁻⁹⁴. La posterior generación e integración de nuevas neuronas al circuito hipocampal durante la etapa adulta supone un evento de plasticidad sináptica y estructural único en el sistema nervioso central. La conservación evolutiva de este singular proceso en mamíferos⁹⁵, incluyendo en seres humanos⁴⁹, podría sugerir el desempeño de funciones primordiales

que las neuronas granulares generadas en la etapa perinatal no son enteramente capaces de desarrollar por sí mismas.

El hipocampo es una zona cerebral determinante para las funciones de aprendizaje y memoria episódica y espacial ^{96,97}, que, junto con otras áreas como el hipotálamo o la amígdala, forma parte del sistema límbico ^{98,99}. En este sentido, estudios en roedores han sido relacionadas las nuevas neuronas que se desarrollan en dicha región, con la memoria y navegación espacial, conductas exploratorias, tareas de reconocimiento de objetos, condicionamiento al miedo ¹⁰⁰⁻¹⁰³ o conductas sociales (reconocimiento social o evitación social inducida por el estrés ^{62,104,105}). De hecho, se ha demostrado el papel de dichas células no solo en la formación de nuevas memorias ¹⁰³, sino también en la consolidación de éstas ¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ a través de la optimización de los sistemas de consolidación ¹⁰⁹. No obstante, se ha reportado que niveles altos de neurogénesis adulta pueden dificultar la generación de nuevas memorias dependientes de hipocampo a través de la recomposición del circuito giro dentado-CA3. Las neuronas inmaduras establecen nuevas conexiones sinápticas en el circuito que pueden coexistir con conexiones más antiguas, o incluso sustituirlas, impidiendo así el mantenimiento de dicha memoria ¹¹⁰. De esta forma, se ha establecido una relación inversa entre los niveles de neurogénesis adulta y la persistencia de la memoria ¹¹⁰. Paralelamente, el nivel de neurogénesis hipocampal adulta se ha relacionado con las capacidades y flexibilidad cognitiva ¹¹¹, e incluso recientemente con la individualidad comportamental ¹¹². En referencia a la flexibilidad cognitiva, la neurogénesis adulta permite la integración de nueva información en contextos previamente aprendidos ¹¹¹.

El giro dentado participa en la tarea de separación de patrones (*pattern separation*), que consiste en la discriminación efectiva de eventos o ambientes muy similares con anterioridad a su almacenaje, con el objetivo de reducir la probabilidad de interferencia en el recuerdo de la memoria ¹¹³. Subsecuentemente, se confirmó la implicación de las nuevas neuronas ^{114,115} y, más recientemente, de las células musgosas ¹¹⁶, en este cometido. Así, ratones con mayores tasas de neurogénesis son más eficientes en la discriminación de contextos muy similares ¹¹⁷. Por otro lado, la tarea de compleción de patrones (*pattern completion*) refleja la capacidad para recuperar la información almacenada completa cuando el contexto proporciona información parcial. En esta tarea participan las neuronas granulares maduras y algunas neuronas piramidales de CA3 ^{118,119}. Por consiguiente, ambos procesos de separación y compleción de patrones son complementarios y decisivos para el almacenamiento y recuerdo exitoso de la memoria.

A su vez, a pesar de que la ablación de neurogénesis no afecta a los niveles basales de ansiedad ¹²⁰, una menor tasa de neurogénesis adulta se ha correlacionado con un incremento en los comportamientos de tipo ansioso ¹²¹. De tal forma que este proceso se ha propuesto como un regulador del estado de ánimo que confiere resiliencia a la ansiedad inducida bajo condiciones de estrés ¹²²⁻¹²⁴ a través de la regulación de las conexiones excitatorias desde el giro dentado a CA3 ¹²⁵.

Finalmente, algunos estudios han sugerido una posible distinción espacial de las funciones del giro dentado, encontrando tareas relacionadas con la regulación emocional asociadas la porción ventral de esta estructura, mientras que la porción dorsal ha sido asociada clásicamente con funciones cognitivas como aprendizaje y memoria ¹²⁶⁻¹²⁸. Estas variaciones funcionales podrían ser el reflejo del patrón de conectividad diferencial a lo largo del eje dorso-ventral del hipocampo ¹²⁹.

4. DINÁMICA DEL PROCESO DE NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL ADULTA

El giro dentado se origina a partir de precursores del neuroepitelio embrionario primario, ubicados en la pared medial del ventrículo lateral. Estas células migran a través de la corriente migratoria dentada a la fisura hipocampal. Una vez allí, forman la matriz proliferativa secundaria que da lugar a neuronas granulares y, finalmente, durante los últimos estadios embrionarios, a la matriz terciaria, que genera la zona subgranular e hilus en el adulto ^{130,131}. A pesar de que podrían existir varios tipos celulares como origen embrionario de células de tipo RGL en el cerebro adulto ¹³², los principales precursores de las células madre neurales presentes en la zona subgranular se originan a partir de precursores Hopx⁺ (*Homeodomain-only protein*) del neuroepitelio. Estas células generan nuevos precursores neurales Hopx⁺ con capacidad migratoria durante las etapas embrionarias (E11.5) a lo largo de la corriente migratoria dentada. Tras alcanzar el giro dentado primitivo, los progenitores adoptan propiedades de tipo RGL quiescentes Hopx⁺ durante estadios postnatales tempranos ¹³³. Hopx es un marcador de células de tipo RGL adultas en el giro dentado ¹³⁴ que distingue con eficacia dichas células de los progenitores neurales de la zona subventricular ¹³⁵. Adicionalmente, durante la etapa de gestación tardía, una subpoblación de células del hipocampo ventral que responden a señales Shh (*Sonic hedgehog*) expande la población de células de tipo RGL hipocampales ¹³⁶.

4.1. Células de tipo glía radial, células de tipo RGL

Si bien existe heterogeneidad en la población de células madre neurales del giro dentado en el cerebro adulto ¹³², la subpoblación mayoritaria exhibe un soma con forma triangular localizado en la zona subgranular y varios procesos cortos de forma radial, junto con un proceso apical largo que se extiende perpendicularmente a través de la capa granular y se ramifica en la capa molecular ¹³⁷⁻¹³⁹. Por medio de dichos procesos, estas células interaccionan con vasos sanguíneos, neuronas y células gliales ¹⁴⁰. Esta población celular ha sido denominada de diversos modos: astrocito radial ¹³⁹, célula madre neural o célula tipo 1 ¹³⁸, célula de tipo RGL ¹⁴¹ e incluso, célula RGL tipo α ¹⁴². El presente artículo emplea el sistema de clasificación de subpoblaciones celulares implicadas en el proceso de neurogénesis hipocampal adulta descrito por Gerd Kempermann ¹³ y, en consecuencia, denomina a esta subpoblación “células de tipo RGL”. Las células de tipo RGL expresan el marcador de filamentos intermedios presente en células madre neurales *Nestin* ¹⁴³, además del marcador de precursores proliferativos *Sox2* ^{144,145}, y las proteínas *GFAP* ^{139,146} y *BLBP* (*Brain lipid-binding protein*) ¹⁴⁷.

binding protein)¹⁴⁷, pero no expresan el marcador S100 β (S100 *Calcium-binding protein β*), característico de astrocitos maduros^{137,138}. Las células de tipo RGL del hipocampo poseen el potencial para generar neuronas, astrocitos y oligodendrocitos *in vitro*¹⁴⁸. No obstante, *in vivo*, dichas células generan mayoritariamente neuronas, y, de forma más reducida, astrocitos^{145,149}. De hecho, recientemente se ha sugerido que la mayor parte de la astroglionétesis del giro dentado adulto se produce a través de la proliferación de astrocitos locales¹⁵⁰. En condiciones fisiológicas, no se generan nuevos oligodendrocitos *in vivo*^{137,141,151} debido a la actuación reguladora de la proteína *Drosha*¹⁵². Las células de tipo RGL poseen propiedades electrofisiológicas de membrana pasiva y corrientes de potasio¹⁴⁶, así como uniones estrechas de tipo gap¹⁵³ y reciben múltiples señales del ambiente. Las células de tipo RGL raramente proliferan^{138,154}, pero, cuando se activan, pueden efectuar un patrón de división simétrica (dando lugar a dos células de tipo RGL, con la consiguiente renovación del conjunto de células madre) o asimétrica (originando una célula de tipo RGL y, o bien una célula que empezará a proliferar generando una célula tipo 2^{137,139,141}, o un astrocito¹³⁷). Tras la división, las células de tipo RGL pueden retornar al estado de quiescencia¹⁴¹ a través de la degradación del factor pro-activador *Ascl1/Mash1*¹⁵⁵, conformando una subpoblación de células de tipo RGL que difiere de aquellas que no han proliferado precedentemente¹⁵⁶.

4.2. Progenitores intermedios

Los progenitores intermedios o células de tipo 2 permanecen en la zona subgranular, exhiben una morfología ovalada con procesos cortos y proliferan rápidamente originando agrupaciones alrededor de vasos sanguíneos¹⁵⁷. En este estadio podemos observar la expresión de proteínas relacionadas con el ciclo celular como PH3 (*Phospho-histone 3*), PCNA (*Proliferating cell nuclear antigen*), Ki-67 o MCM2 (*Minichromosome Maintenance Complex Component-2*)¹⁵⁸⁻¹⁶⁰. Dentro de la subpoblación de progenitores intermedios, se incluyen las células de tipo 2a, que mantienen su expresión de *Nestin* y *Sox2*, empiezan a expresar *Pax6* (*Paired box protein-6*) y, de forma tardía, *Ngn2* (*Neurogenin-2*)¹⁶¹, y las células de tipo 2b, que inician la expresión del factor de transcripción *NeuroD1* (*Neurogenic differentiation-1*) y de proteínas del linaje neuronal como *Tbr2* (*T-box brain protein-2*), y *DCX*^{13,138,146,147}. Cabe mencionar que *Tbr2* suprime a *Sox2*, y por ello su actuación es crítica en el periodo de transición de progenitores intermedios¹⁶². La sobreproducción de progenitores intermedios se regula a través de procesos de apoptosis y fagocitosis microglial¹⁶³. En la etapa final de este periodo, las células tipo 2b comienzan a expresar *Prox1* (*Prospero homeobox-1*), marcador de identidad de neurona granular¹⁶⁴ y *PSA-NCAM*¹³. Entre los marcadores mencionados, la proteína asociada a microtúbulos, *DCX* y la glicoproteína *PSA-NCAM*, se establecen como los dos principales marcadores de neuronas inmaduras^{165,166}.

4.3. Maduración post-mitótica temprana

Seguidamente, los progenitores intermedios dan lugar a neuroblastos o células tipo 3, comprometidas con el linaje neuronal, que inicialmente exhiben una morfología polarizada, con neuritas bipolares que empiezan a extenderse paralelamente a la capa

granular, y expresan marcadores neuronales inmaduros como DCX, PSA-NCAM, *Calretinin* y NeuN¹³. Durante esta fase de desarrollo, las nuevas neuronas migran desde zona subgranular hacia la capa granular, estabilizándose en su posición final¹⁶⁷. Las neuronas jóvenes muestran una resistencia de input muy alta debido a la baja densidad de canales de K⁺ en la membrana plasmática^{168,169}. Un número elevado de neuronas inmaduras sufrirá procesos de apoptosis o muerte programada¹⁷⁰. Las nuevas neuronas granulares que sobreviven modifican su morfología a una forma neuronal polarizada con un proceso dendrítico vertical que se ramifica en la capa molecular y un axón que alcanza el hilus a los 7 días, y las zonas hipocampales CA2¹⁴ y CA3^{46,171} a los 10-11 días tras la mitosis. Las nuevas neuronas incrementan la densidad de los canales de Na⁺ y K⁺ dependientes de voltaje¹⁶⁸, e intercambian la expresión de *Calretinin* por *Calbindin*, ambas proteínas de unión a calcio, en torno a las 2-3 semanas tras la mitosis, como reflejo de una identidad neuronal más madura^{172,173}. Paralelamente a la maduración morfológica, alrededor de la segunda semana post-mitosis, la acción despolarizante de GABA es necesaria para el establecimiento de la sinaptogénesis glutamatérgica, y, por tanto, para la adecuada maduración e integración sináptica de las nuevas neuronas granulares¹⁷⁴. Brevemente, la acción combinada de la despolarización dependiente de GABA y la activación del receptor NMDA (*N-methyl-D aspartate*) convierte la sinapsis inicial silenciosa (que contiene sólo NMDAR y carece de receptores AMPA (*α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid*) y, por lo tanto, no puede participar en la comunicación sináptica rápida) en sinapsis activas NMDA / AMPA a través de la incorporación del receptor AMPA a la membrana¹⁷⁵. Una vez establecidas las conexiones glutamatérgicas, las nuevas neuronas comienzan la fase de mayor plasticidad sináptica, debido a que su umbral para producir la LTP (del inglés *Long-term potentiation*) o potenciación sináptica a largo plazo, es más bajo que en las neuronas granulares maduras¹⁶⁹. Curiosamente, GABA causa un efecto bimodal en las neuronas inmaduras, siendo despolarizante en las etapas iniciales¹⁷⁴, e hiperpolarizante en último término. Esta importante transición ocurre antes de la cuarta semana post-mitosis y concuerda con el intercambio de expresión preferente de NKCC1 (Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter-1) a KCC2 (K⁺-Cl⁻ cotransporter-2). El cotransportador KCC2, ocasiona una disminución de la concentración de Cl⁻ intracelular y, por tanto, la acción de GABA produce inhibición neuronal por entrada de este ion¹⁷⁶. Igualmente, las neuronas inmaduras intercambian la expresión de la subunidad NR2B (NMDA Receptor2B), que muestra una alta afinidad por CaMKII (*Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase II*) y es responsable del aumento de eventos LTP¹⁷⁷, por la subunidad NR1 (NMDA Receptor1) en el receptor NMDA^{178,179}.

4.4. Maduración post-mitótica tardía

Durante esta etapa, las nuevas neuronas continúan expresando algunos marcadores de etapas anteriores como Prox1, *Calbindin* y NeuN, entre otros¹³, debido a que su expresión es persistente en neuronas granulares maduras¹⁸⁰⁻¹⁸². Las primeras espinas dendríticas contactan terminales sinápticos preexistentes, generando botones múltiples alrededor de la tercera semana post-mitosis. Despues, tiene lugar un periodo de refinamiento sináptico,

con una reducción de estas estructuras múltiples ⁴⁵ y la formación de espinas de tipo fungiforme ⁴⁶. Adicionalmente, existe un control homeostático de la morfología dendrítica, que compensa, mediante mecanismos de poda, los cambios dendríticos dependientes de actividad ¹⁸³. En cuanto al axón, los botones musgosos de CA3, requieren más de ocho semanas para alcanzar su tamaño final, como reflejo de la competencia sináptica ¹⁸⁴. Asimismo, la plasticidad sináptica está aumentada en neuronas inmaduras entre las 4-6 semanas ¹⁷⁶. Finalmente, tras esta maduración morfológica y funcional dependiente de actividad ^{168,174,185}, las nuevas neuronas granulares maduras exhiben propiedades funcionales equiparables a las de sus homólogas generadas durante la etapa embrionaria ^{15,16,176}, y se encuentran integradas en circuitos funcionales ^{186,187}.

5. NICHO NEUROGÉNICO HIPOCAMPAL

El nicho neurogénico es una estructura compleja que alberga las características necesarias para propiciar y regular el proceso de neurogénesis adulta mediante interacciones intrincadas entre sus componentes ¹⁸⁸⁻¹⁹⁰.

La matriz extracelular es una profusa red tridimensional que proporciona un andamiaje funcional, regula la difusión/condensación de moléculas, mantiene los gradientes de señalización y la firmeza entre las células. Los componentes principales son glicoproteínas, proteoglicanos y moléculas de adhesión celular ¹⁹¹. El papel de la matriz extracelular en el proceso de neurogénesis adulta aún no se conoce en profundidad. Sin embargo, algunos estudios apuntan al papel de ciertos de sus componentes como reguladores de la homeostasis de las células madre y progenitores ¹⁹² o en la determinación del linaje neuronal y el desarrollo dendrítico de las nuevas neuronas granulares ¹⁹³. Cabe destacar las redes perineuronales, que son estructuras de matriz extracelular ricas en glicosaminoglicanos que rodean la región perisomática de ciertas neuronas. Dichas estructuras desempeñan un papel relevante en la regulación de la plasticidad neuronal, neuroprotección y homeostasis ¹⁹¹. Estas estructuras se visualizan mediante el marcador WFA (*Wisteria floribunda agglutinin*) ¹⁹⁴ y, en el hipocampo, su presencia está restringida a interneuronas PV⁺, teniendo una gran implicación en la regulación del circuito. De hecho, las nuevas neuronas granulares contactan preferencialmente interneuronas PV⁺ que están rodeadas por redes perineuronales ¹⁹⁵.

El nicho neurogénico alberga distintas poblaciones celulares que interactúan estrechamente entre sí y regulan el proceso de neurogénesis adulta y el circuito. Entre ellas, la población de astrocitos hipocampales maduros expresa GFAP, S100 β ¹⁹⁶ y EAAT1/GLAST, y exhibe divergencias tanto morfológicas como fisiológicas según la capa que ocupe ^{197,198}. Dichas células gliales promueven la proliferación y especificación del destino neural de progenitores neurales ¹⁹⁹. En estadios más avanzados del proceso de neurogénesis, los astrocitos regulan la arborización dendrítica y la formación de espinas en neuronas inmaduras ²⁰⁰, e incluso en la eliminación de las sinapsis ²⁰¹. Asimismo,

liberan tanto factores pro-neurogénicos, como factores inhibidores del proceso de neurogénesis²⁰², y factores reguladores de sinapsis, debido a su significativo papel en la sinapsis tripartita^{203,204}.

Las células de microglía²⁰⁵ son los macrófagos residentes en el cerebro y expresan Iba1 (*Ionized calcium-binding adapter molecule-1*). Estas células tienen su origen en precursores del saco vitelino que invaden el cerebro a mediados del proceso gestacional²⁰⁶. Su función principal es el mantenimiento de la homeostasis mediante la vigilancia, secreción de moléculas y fagocitosis de células apoptóticas y desechos. En ausencia de inflamación, la microglía ramificada participa en el soporte trófico y poda sináptica de las nuevas neuronas y en la eliminación de células que no logran integrarse en el circuito¹⁶³ a través de eventos de muerte celular programada²⁰⁷. De hecho, se localizan alrededor de progenitores neurales y en estrecho contacto con las neuronas granulares^{163,208,209}. Las células de la microglía pueden secretar factores pro-inflamatorios que afectan negativamente al proceso de neurogénesis adulta²¹⁰, y que, además, regulan la actividad astrocítica²¹¹. Adicionalmente, la actuación de la microglía es requerida para mediar los efectos positivos de moléculas secretadas por otras células sobre la neurogénesis²¹²⁻²¹⁴. De forma opuesta, la ausencia de microglía²¹⁵ o la secreción de moléculas como IL (*Interleukin*)-6²¹⁶, IL-1 β ²¹⁷ y la citoquina TNF (*Tumor necrosis factor*)²¹⁸ afectan desfavorablemente al proceso de neurogénesis.

Finalmente, el nicho neurogénico hipocampal está altamente vascularizado¹⁸⁹. La visualización de células de tipo RGL en contacto con capilares¹⁴⁰ y grupos de células BrdU⁺¹⁸⁹ cercanos, sugirió el papel regulador de la microvasculatura en el proceso de neurogénesis adulta. De hecho, se ha comprobado que los factores solubles secretados por las células endoteliales tienen la capacidad de estimular la autorrenovación y la producción de neuronas^{219,220}. Estos factores, además, promueven la supervivencia de las nuevas neuronas en etapas posteriores del desarrollo a través de la señalización del factor VEGF-A (*Vascular endothelial growth factor A*)²²¹. Paralelamente, otros factores de crecimiento y neurotróficos con origen local o que alcanzan el nicho hipocampal a través de la vasculatura, como BDNF (*Brain-derived neurotrophic factor*), IGF-I (*Insulin-like growth factor-1*), FGF-2 (*Fibroblast growth factor-2*) favorecen la proliferación, la supervivencia neuronal^{222,223} y el crecimiento dendrítico²²⁴ de las neuronas inmaduras.

6. MODULADORES DEL PROCESO DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL ADULTA

La neurogénesis hipocampal adulta es un proceso estrictamente regulado tanto por factores positivos como negativos. Entre los primeros, uno de los mejor caracterizados es el enriquecimiento ambiental^{225,226}. Significativamente, el enriquecimiento ambiental promueve la supervivencia e integración sináptica de las nuevas neuronas^{227,228}. Este paradigma incluye tres componentes: ejercicio físico, estimulación cognitiva y estimulación social. Dichos constituyentes han sido abordados, además, de forma individual,

encontrándose efectos beneficiosos sobre el proceso de neurogénesis a distintos niveles. El ejercicio físico voluntario aumenta de forma específica la proliferación de progenitores^{229,230} a través de cambios vasculares²²⁷, que favorecen el acceso a factores tróficos como IGF-I²³¹. Por su parte, el enriquecimiento social, aumenta tanto la densidad como la maduración morfológica de las nuevas neuronas (DCX⁺)²³². Finalmente, la estimulación cognitiva o aprendizaje que requiere la intervención hipocampal incrementa la densidad de neuronas inmaduras²³³ y favorece su supervivencia^{102,234}. Si bien los efectos beneficiosos del enriquecimiento ambiental y el ejercicio físico se observan incluso durante el envejecimiento^{235,236}, evidencias recientes señalan la existencia de un periodo crítico, durante el cual las nuevas neuronas granulares exhiben la mayor sensibilidad a los efectos de ambos paradigmas^{237,238}. De forma similar al enriquecimiento ambiental, la restricción calórica favorece la supervivencia de neuroblastos mediante la señalización mediada por BDNF²³⁹. Asimismo, algunos fármacos, como ciertos antidepresivos, favorecen el proceso de neurogénesis adulta a través del aumento de proliferación de los progenitores^{84,240,241}. De hecho, la ocurrencia de dicho evento es necesaria para que los antidepresivos produzcan efectos terapéuticos^{242,243}.

Por el contrario, el estrés agudo altera el perfil proteico del hipocampo afectando así, entre otros procesos, a vías implicadas en neurogénesis adulta e inflamación²⁴⁴. En este sentido, el efecto adverso del estrés sobre el proceso de neurogénesis ha sido demostrado desde etapas perinatales hasta la edad adulta^{41,245}, incluyendo entre otros, el estrés generado por aislamiento social²⁴⁶. Adicionalmente, las dietas ricas en grasas afectan negativamente a la etapa proliferativa del proceso de neurogénesis^{247,248}. De forma similar, la privación del sueño en fase REM (*Rapid eye movement*) de forma prolongada²⁴⁹ reduce la proliferación celular^{250,251}, mientras que la supervivencia y la diferenciación neuronal disminuyen²⁵² cuando se impiden las otras fases del sueño²⁴⁹. Adicionalmente, los eventos convulsivos producen un aumento transitorio del proceso de neurogénesis. Sin embargo, ésta genera células con morfología, migración y conectividad aberrantes^{253,254}, que, además, contribuyen al agravamiento de las crisis epilépticas y al declive cognitivo²⁵⁵. Seguidamente, la hiperactivación del giro dentado genera astrocitos reactivos, depleción del conjunto de células de tipo RGL²⁵⁶ y disfunción microglial²⁵⁷. En este sentido, la neuroinflamación reduce la supervivencia y la densidad de neuronas inmaduras mientras que aumenta el de células microgliales. Este efecto adverso sobre la neurogénesis puede ser revocado empleando fármacos antinflamatorios^{258,259}. Por otra parte, el envejecimiento fisiológico y patológico son dos de los moduladores negativos más potentes del proceso de neurogénesis hipocampal adulta. En el caso del primero, se ha observado un decremento de este proceso de forma paralela a la edad en modelos animales y en la especie humana^{62,173,260}, al tiempo que prospera la gliogénesis^{51,235}. Asociado a la vejez, se observan problemas de aprendizaje y memoria dependiente de hipocampo¹⁰¹ y una reducción de la densidad sináptica en neuronas granulares²⁶¹.

7. EL PARTICULAR CASO DEL ESTUDIO DEL PROCESO DE NEUROGENESIS EN LA ESPECIE HUMANA

La neurogénesis hipocampal adulta en la especie humana fue demostrada por primera vez mediante inmunohistoquímica, a través de la observación de células que habían incluido la molécula sintética BrdU y que además expresaban NeuN en el hipocampo⁴⁹. Posteriormente, una amplia variedad de abordajes experimentales ha contribuido a la confirmación de la ocurrencia de dicho proceso en nuestra especie. Entre ellos, incorporación de IdU⁵⁰ o 14C⁵¹ en células proliferativas hipocampales, cultivos de progenitores *in vitro*²⁶², *Wester-blot*^{64,65}, qPCR⁶⁶ o *RNAscope*⁶⁷. A pesar de la sólida evidencia que apoyó su ocurrencia en seres humanos, en 2018 se generó un debate en el campo tras la publicación de un artículo que describió la ausencia de marcadores de neurogénesis en el hipocampo humano adulto. No obstante, algunos grupos^{57,58} mostraron una aparente ausencia de marcadores de neurogénesis en el hipocampo humano adulto empleando la técnica de inmunohistoquímica, lo que cuestionó la existencia de este proceso en nuestra especie. En este sentido, distintos aspectos técnicos han sido sugeridos como responsables de dichas discrepancias^{63,263,264}. Estudios posteriores de nuestro grupo han investigado el impacto de las variaciones en la metodología empleada en el estudio del proceso de neurogénesis hipocampal adulta en la especie humana, y han contribuido sustancialmente a la demostración de la existencia de dicho proceso en nuestra especie⁶⁰⁻⁶².

7.1. Una mirada crítica a la metodología

El uso de muestras humanas *post mortem* conlleva la aparición de un lapso temporal entre el fallecimiento del sujeto hasta la inmersión de la muestra en fijador. Dicho parámetro se denomina intervalo *post mortem* y ha sido propuesto como una de las variables responsables de la discrepancia en la visualización de marcadores de neurogénesis entre estudios²⁶³. Si bien se recomienda reducir al máximo este intervalo^{265,266} con el fin de evitar la degradación proteica, distintos aspectos éticos y legales inevitablemente prolongan dicho lapso temporal. En este sentido, la repercusión del intervalo *post mortem* sobre la detección de diferentes proteínas es variable²⁶⁶⁻²⁶⁸. En particular, la expresión de DCX, y otras proteínas asociadas a microtúbulos²⁶⁹, muestra una especial sensibilidad de degradación asociada al intervalo *post mortem* en áreas dendríticas²⁶⁵. No obstante, el número de células DCX+ y otros marcadores de neurogénesis adulta no muestra una correlación estadísticamente significativa con el intervalo *post mortem* hasta las 38h en muestras de la especie humana^{60,62,95,270}. La preservación del pH y de la calidad del ARN (ácido ribonucleico) de forma independiente al intervalo *post mortem* generado de forma natural hasta ~59.4 horas²⁷¹, o artificial hasta 48h²⁷², está en consonancia con la visualización de marcadores en nuestros estudios. Cabe mencionar que el pH y la calidad del ARN pueden modificarse de una manera más relevante por factores previos al fallecimiento del sujeto²⁷² como el estrés o la inflamación^{63,273}.

Una vez sumergida la muestra en el fijador, la fijación con formaldehído incluye una fase de penetración rápida que detiene los procesos de autolisis, seguida de la formación de enlaces covalentes y enlaces cruzados²⁷⁴ entre proteínas, glicoproteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos²⁷⁵. La formación incremental de estos enlaces debido a una exposición progresiva al fijador²⁷⁶ podría comprometer la capacidad de visualización de ciertas proteínas de interés. En este sentido, tiempos de fijación prolongados (24-48h) en PFA al 4%, impiden la visualización de neuronas inmaduras DCX⁺ y PSA-NCAM⁺, observables con tiempos de fijación menores^{49,62}. No obstante, otros marcadores neuronales como NeuN no se ven negativamente influidos por una fijación de 24h con el mismo fijador⁴⁹, sugiriendo la sensibilidad desigual de los marcadores empleados en la técnica de inmunohistoquímica al lapso temporal de exposición al fijador. En línea con estos resultados, el método de preservación empleado por la mayoría de los bancos de cerebros del mundo, es decir, la inmersión del tejido cerebral en formalina durante largos períodos de tiempo impide la detección de marcadores de neurogénesis adulta mediante inmunohistoquímica en muestras *post mortem* de tejido humano adulto^{61,62} en tejido de neonatos⁹⁵. La modificación de los sitios de reconocimiento de las proteínas de interés por efecto del fijador^{276,277} provoca la incapacidad de unión específica de los anticuerpos. La aplicación de un protocolo de desenmascaramiento antigénico en tampón citrato y microondas revierte esta alteración en muestras fijadas en PFA al 4% durante 24-48h⁶¹, posiblemente a través de la modificación de los enlaces cruzados generados por el fijador²⁷⁸. Debido a que la formación de estos enlaces es incremental a lo largo del tiempo²⁷⁶, el tiempo de aplicación de microondas y la temperatura podrían ser asimismo dependientes del intervalo de fijación de la muestra^{278,279}. La aplicación de parámetros inadecuados durante la recuperación de antígenos podría provocar la unión inespecífica de los anticuerpos^{61,280}, e incluso ocasionar la visualización de tinciones artefactuales en regiones no neurogénicas²⁸¹. Por su parte, el tejido cerebral humano está enriquecido en pigmentos lipídicos de lipofuscina autofluorescentes²⁸², especialmente abundante en el cerebro envejecido²⁸³, que obstaculizan la visualización de señal específica mediante inmunohistoquímica. Además, la fijación con aldehídos incrementa la autofluorescencia del tejido²⁸⁴. En este sentido, las estructuras con capacidad fluorescente denominadas bases de *Schiff*, se establecen como resultado de la interacción entre los aldehídos de las sustancias fijadoras y las aminas liberadas en los eventos de muerte celular²⁸⁵. Debido a su capacidad para neutralizar las bases de *Schiff* a través de la reducción de los compuestos amino-aldehídos a sus sales no fluorescentes^{285,286}, la incubación con NaBH₄ se ha aplicado exitosamente en el estudio de la neurogénesis adulta humana^{59,61,62}. Adicionalmente, el empleo de agentes eliminadores de autofluorescencia reducen la intensidad del fondo y de los gránulos de lipofuscina, permitiendo la observación de señal específica de marcadores de neurogénesis adulta en el giro dentado humano⁶¹. No obstante, la aplicación del pre-tratamiento histológico (desenmascaramiento antigénico, agente eliminador de autofluorescencia e incubación con NaBH₄) no consigue revertir el efecto de la fijación muy prolongada⁶². Esta irreversibilidad podría ser debida al gran acúmulo de enlaces covalentes más estables, el estado

fisicoquímico del tejido ²⁸⁷ o la acidificación de la muestra ²⁸⁸ como efecto de la exposición progresiva a los aldehídos presentes en las sustancias fijadoras.

Si bien durante el protocolo de inmunohistoquímica es necesario el empleo de detergentes, nuestros resultados sugieren que el uso de detergentes como Triton X-100 no es compatible con la observación de la señal de epítopos lábiles como *Nestin*, por inmunohistoquímica ⁶⁰. Debido a su carácter no selectivo, este detergente interactúa tanto con lípidos como con proteínas, generando poros y/o eliminando dichas moléculas de la membrana, pudiendo generar falsos negativos en concentraciones elevadas ²⁸⁹. En oposición, la Saponina, más suave, interactúa selectivamente con el colesterol de membrana, formando poros ²⁹⁰ y permitiendo el paso de los anticuerpos a través de las membranas fijadas. Este mecanismo de acción salvaguarda la morfología celular y facilita la observación de células de tipo RGL *Nestin*⁺*S100*^β- en el giro dentado humano ⁶⁰.

Una vez obtenida la señal obtenida mediante inmunohistoquímica, es crucial realizar una validación técnica y biológica de la misma ⁶². La visualización de células cuya localización, morfología y/o patrón de expresión no es similar a las descritas en roedores ¹³, podría sugerir un inadecuado funcionamiento del anticuerpo en tejido humano, y requiere particular atención y validación exhaustiva. En este sentido, se ha sugerido que la señal DCX⁺ observada en la corteza de primates no humanos podría corresponder a un falso positivo debido a la reactividad cruzada de anticuerpos y a la autofluorescencia ²⁸¹. Por ello, es pertinente la realización de controles como la pre-adsorción de los anticuerpos con péptidos sintéticos específicos, para confirmar la especificidad del anticuerpo empleado ⁶².

Una vez completado el proceso de la tinción inmunohistoquímica, la determinación de la densidad celular de cada marcador puede obtenerse mediante distintas aproximaciones técnicas ²⁹¹. En primer lugar, la homogeneidad de la región anatómica muestreada es necesaria para permitir comparaciones entre estudios, especialmente en el caso de poblaciones heterogéneamente distribuidas. En este sentido, es posible reportar la densidad de cada subpoblación celular en una región concreta del hipocampo ^{60-62,95,270}, o en la totalidad del giro dentado humano ^{59,292}. Por otra parte, los contajes celulares estereológicos ²⁹³ pueden realizarse de forma manual ^{61,62} o mediante un software de detección celular especializado ^{59,292}. Así, las variaciones en la zona evaluada, determinación del volumen de referencia y/o la técnica de microscopía o recuentos celulares empleada, podrían ser responsables de la obtención de resultados a priori desiguales.

Finalmente, con el fin de obtener la mayor cantidad de información posible acerca de los sujetos objeto de estudio, es importante reportar los parámetros epidemiológicos de los mismos, entre ellos, edad, sexo, causa de fallecimiento, diagnóstico clínico, intervalo *post mortem* y evaluación neuropatológica (Braak-Tau, CERAD (*Consortium to establish a registry for Alzheimer's disease*), TDP- 43, α-sinucleína, patología vascular...). Datos adicionales como el estilo de vida, nivel de actividad física, dieta, patrones de sueño, consumo de drogas, entre otros, han demostrado influir en la tasa de neurogénesis adulta en roedores ^{230,294}, si bien esta información no se encuentra siempre disponible para todas

las muestras de origen humano. En este sentido, algunos autores han empleado muestras de biopsias o resecciones del lóbulo temporal para investigar el proceso de neurogénesis adulta^{58,295}. No obstante, los pacientes sometidos a este tipo de cirugías suelen padecer tumores cerebrales o crisis epilépticas cuyos efectos negativos sobre dicho proceso han sido demostrados en seres humanos²⁹⁶.

Así como la metodología aplicada en la técnica de inmunohistoquímica para el estudio de la neurogénesis hipocampal adulta en humanos ha sido validada en nuestros estudios⁶⁰⁻⁶² otras técnicas utilizadas para evaluar este proceso también pueden verse influenciadas por la metodología empleada. En este sentido, ha sido demostrado que el uso de disociación enzimática del tejido cerebral humano para análisis de expresión de célula única puede inducir a un patrón de expresión génico aberrante²⁹⁷. Además, parámetros como la calidad de la muestra, el tamaño de muestreo o la metodología durante el procesamiento y análisis^{95,298}, se han señalado como posibles factores responsables de las discrepancias obtenidas en los resultados a nivel de expresión de célula/núcleo único en células hipocampales humanas^{68,71,73,298}.

7.2. Desarrollo del proceso de neurogénesis hipocampal adulta en sujetos neurológica y neuropatológicamente controles

Durante la etapa adulta, la población principal de células madre del giro dentado humano está constituida por células de tipo RGL que expresan *Nestin*²⁹⁹, *GFAP*⁵⁹, *Vimentin*^{60,300,301}, y *Sox2*³⁰² de forma similar a lo descrito en roedores^{137,138,146}. Las células de tipo RGL fueron descritas por primera vez como astrocitos con capacidad para generar neuronas en el hipocampo de roedores¹³⁹, debido a que ambas poblaciones comparten ciertos rasgos morfológicos y electrofisiológicos¹³⁸. No obstante, posteriores estudios describieron las características diferenciales de las células de tipo RGL en base a morfología, posición y expresión de marcadores. Uno de los marcadores diferencialmente expresado es la proteína de astrocitos post-mitóticos *S100β*¹⁹⁶, ausente en las células de tipo RGL en roedores^{137,138}. De esta forma, nuestros resultados demuestran que las células tipo RGL humanas expresan *Nestin* y *Vimentin* pero son negativas para *S100β*^{60,300,301}. Estas células además exhiben procesos apicales largos y una localización preferencial en la zona subgrangular⁶⁰, en línea con los rasgos descritos en roedores^{137,139,140,147,303}, y que difiere de la subpoblación de astrocitos *Nestin*⁺ *S100β*⁺⁶⁰. La capacidad proliferativa de estas células ha sido respaldada por la observación de células proliferativas *PH3*⁺⁶⁰ y *Ki-67*⁺³⁰⁴ en el giro dentado humano *in vivo* e *in vitro*²⁶², y más recientemente mediante la demostración *ex vivo* de incorporación del análogo sintético de la timidina, *EdU* (*5-ethynyl-2'-deoxyuridine*) en células del giro dentado de cultivos organotípicos obtenido de resecciones quirúrgicas hipocampales⁷³. Dichas células *EdU*⁺ expresaban además *Prox1* o *DCX*, entre otros marcadores, poniendo de manifiesto la capacidad de generación de nuevas neuronas en dicha región cerebral de la especie humana. Estos datos están en consonancia con la observación de neuroblastos proliferativos *HuC/HuD*⁺ (*Human neuronal proteins C and D*) localizados en la capa subgrangular⁶⁰, lo cual sugiere que su

identidad podría ser comparable a la de progenitores intermedios descritos en roedores¹³ así como de una subpoblación de neuronas inmaduras DCX⁺ PH3⁺⁶² en muestras *post mortem* de giro dentado humano. HuC/HuD⁺ es un marcador transitoriamente expresado por progenitores intermedios y neuroblastos proliferativos inmediatamente tras la división celular³⁰⁵.

Entre los marcadores mencionados, DCX, junto con PSA-NCAM, se establecen como los dos principales marcadores distintivos de neuronas inmaduras en el cerebro adulto^{165,166,306}. Si bien la expresión de ambas proteínas se ha considerado equiparable temporalmente en roedores^{165,307,308}, no es el caso en la especie humana⁶⁰. No obstante, ambos marcadores son detectables hasta los 100 años en el giro dentado humano^{62,165}. Además de DCX, recientemente se han propuesto otros candidatos como la proteína Stathmin-1, en base a su colocalización con los marcadores anteriores^{71,73}. Las células DCX⁺ observadas en el giro dentado humano exhiben un patrón morfológico y de expresión de marcadores^{60-62,73} característico de las distintas fases del proceso madurativo de forma análoga a lo descrito en roedores^{13,46,172,306}, apoyando la naturaleza dinámica del proceso de neurogénesis hipocampal adulta en nuestra especie. En oposición a la descripción de algunas células DCX⁺ corticales que expresan marcadores de astrocitos³⁰⁹, las neuronas inmaduras DCX⁺ descritas en el giro dentado humano no muestran expresión de marcadores de glía, endotelio o interneuronas⁶⁰. Por el contrario, ~90% expresan Prox1^{60,62}, reflejando su identidad de neurona granular^{164,310}.

El proceso de neurogénesis adulta concluye con la completa y adecuada incorporación de las nuevas neuronas granulares al circuito del giro dentado, aunque el lapso temporal de la maduración de dichas células es variable y puede verse modificado por diversos factores^{311,312}. En este sentido, se han descrito variaciones temporales y funcionales intrínsecas del proceso de neurogénesis hipocampal adulta entre las especies de ratón y rata³¹³. En primates no humanos, se ha reportado un alargamiento del periodo madurativo de las nuevas neuronas comparado con el descrito en roedores, y, por consiguiente, se ha sugerido que la duración de este proceso podría ser incluso mayor en la especie humana³¹⁴. Debido a las propiedades electrofisiológicas únicas de las neuronas inmaduras^{169,176,315} y a las funciones en las que están implicadas, entre ellas, la flexibilidad cognitiva o resiliencia a procesos de estrés^{111,123}, la prolongación del estadio inmaduro del proceso de neurogénesis adulta podría otorgar una ventaja evolutiva sustancial a las especies con mayor esperanza de vida^{314,316}.

7.2.1. El nicho neurogénico hipocampal en condiciones fisiológicas

El proceso de neurogénesis hipocampal adulta se enmarca en un entorno único con capacidad para instruir y especificar el destino de los progenitores neurales^{188,190} que integra principalmente astrocitos, células de microglía y vasos sanguíneos. Los astrocitos proporcionan apoyo metabólico, contribuyen a la función neuronal y favorecen el proceso de neurogénesis^{199,317,318}. En muestras humanas, estas células expresan S100 β , GFAP, exhiben procesos radiales cortos y se localizan de forma homogénea en la capa granular,

a diferencia de la subpoblación de células de tipo RGL *Nestin*⁺ S100 β -^{60,66}. Las células de la microglía (Iba1⁺) participan activamente en la regulación de la neurogénesis adulta²¹²⁻²¹⁴ y en la homeostasis del nicho neurogénico eliminando desechos y células que no han logrado integrarse en el circuito^{163,208}. En línea con estos resultados, se observa una correlación entre el número de células de microglía con el de neuronas granulares totales e inmaduras en el giro dentado en controles⁶⁰. Además, estas células Iba1⁺ exhiben bolsillos fagocíticos⁶⁰, unas formaciones membranosas especializadas de los procesos microgliales cuya presencia se relaciona con su actividad fagocítica^{60,163}. Por otro lado, la vasculatura ocupa ~7% de la superficie de la capa granular humana⁶⁰ y proporciona el soporte trófico a las células implicadas en el proceso de neurogénesis adulta¹⁸⁹, encontrándose además en estrecho contacto con ellas⁶⁰. De hecho, nuestros resultados sugieren una correlación entre el área ocupada por la vasculatura con células de tipo RGL *Nestin*⁺ y células proliferativas PH3⁺⁶⁰ que podría estar en consonancia con la capacidad descrita de las células endoteliales para impulsar la autorrenovación de progenitores neurales²¹⁹.

7.3. Proceso de neurogénesis hipocampal adulta y homeostasis del nicho neurogénico durante el envejecimiento fisiológico humano

La neurogénesis hipocampal adulta recapitula ciertos aspectos del desarrollo embrionario^{168,319} aunque con una duración más prolongada³²⁰. Este patrón de elongación temporal se acentúa con el avance de la edad en roedores^{312,321,322}, si bien el patrón de expresión de marcadores inmaduros se mantiene³²³. De esta forma, la edad es un factor regulador crítico de la neurogénesis adulta. De hecho, la tasa de neurogénesis hipocampal adulta disminuye durante el envejecimiento^{62,137,173,322}, lo cual parece estar estrechamente relacionado con el deterioro cognitivo y la pérdida de la capacidad de separación de patrones a lo largo de la edad en roedores^{101,236}. A este respecto, factores que favorecen la neurogénesis adulta, mejoran la ejecución cognitiva en ratones envejecidos^{235,236}. No obstante, aunque en número reducido, las neuronas inmaduras del hipocampo envejecido suponen un gran potencial de plasticidad estructural, ya que pueden ser reclutadas rápidamente al circuito cuando son requeridas^{312,321}. Tanto el declive en neurogénesis adulta y su asociación cognitiva, como el retraso en el desarrollo del fenotipo neuronal maduro dependiente de la edad, son apreciables de forma análoga en primates³²⁴⁻³²⁷. En seres humanos, la capacidad de proliferación y diferenciación *in vitro* de células madre neurales y su declive con la edad se han vinculado al rendimiento cognitivo²⁶².

En muestras procedentes de seres humanos de avanzada edad, se ha descrito una reducción del número de células *Nestin*⁺²⁹⁹, *Sox2*⁺⁵⁹ y *Ki-67*⁺^{57,295}. No obstante, nuestro laboratorio y de otros grupos sugieren la preservación de la densidad de células de tipo RGL^{60,66}, células proliferativas o neuroblastos proliferativos^{60,328}. Por otra parte, la mayoría de los autores coinciden en un declive del número de nuevas neuronas a lo largo del envejecimiento en la especie humana⁵¹, reflejado por una disminución de la densidad de neuronas inmaduras *DCX*⁺^{60,62,66,165} y *PSA-NCAM*⁺⁵⁹. Una de las hipótesis que podría subyacer a la disminución del

número de nuevas neuronas granulares en el cerebro envejecido es un declive en la capacidad proliferativa de las células de tipo RGL ⁶⁶. Los estudios en roedores han investigado en profundidad esta hipótesis, obteniendo tres posibles modelos. El modelo de autorrenovación a largo plazo propone que la totalidad de las células de tipo RGL retornan al estado de quiescencia una vez se activan ¹⁴¹. Por otro lado, el modelo de células madre desechables propone que las células de tipo RGL no regresan al estadio quiescente y, tras varias divisiones sucesivas, adquieren rasgos de células astrocíticas, provocando finalmente la depleción progresiva de la población de progenitores neurales ¹³⁷. Finalmente, se ha propuesto un modelo mixto, en el que ciertas células de tipo RGL vuelven al estado de quiescencia a través de la degradación del factor pro-activador Ascl1/Mash1 ¹⁵⁵. La proporción de células de tipo RGL que tornan al estado de reposo se incrementa con la edad, como un posible mecanismo de preservación de progenitores neurales ¹⁵⁶. Paralelamente, las alteraciones del nicho neurogénico hipocampal envejecido, especialmente en células de la microglía ⁶⁰ podrían estar vinculadas al descenso de la tasa de neurogénesis adulta a lo largo del envejecimiento fisiológico humano. Así mismo, recientes análisis de expresión génica a nivel de núcleo individual han descrito una heterogeneidad transcripcional de las células de la microglía presentes en macacos envejecidos en comparación con aquellas obtenidas de sujetos jóvenes. Estos resultados sugieren que dichas células podrían desempeñar funciones variadas a lo largo de la vida del individuo ⁷¹. En este sentido, en roedores ha sido ampliamente descrita la función de remodelación sináptica ¹⁶³ por parte de la microglía, lo cual podría estar vinculado al deterioro cognitivo asociado al envejecimiento ³²⁹. Asimismo, es sabido que, en ratones, el envejecimiento induce eventos neuroinflamatorios causantes de la subsiguiente afección del proceso de neurogénesis ^{210,258,259}. Así, se ha relacionado la acción de astrocitos activados en la regulación de la respuesta neuroinflamatoria ^{330,331}. El incremento de activación de células astrocíticas en seres humanos envejecidos ⁶⁶, podría, además, contribuir al declive de neurogénesis adulta descrito en nuestra especie a través del descenso de la proliferación de células de tipo RGL ³³². Por otra parte, el envejecimiento se asocia a la hipoperfusión cerebral crónica, con una implicación crítica en función cognitiva ³³³. En este sentido, la reducción de la angiogénesis observada en el hipocampo humano durante el envejecimiento ⁵⁹ podría provocar la pérdida de contacto de células de tipo RGL con células endoteliales ¹⁴⁰, así como una disminución en el acceso a factores sanguíneos pro-neurogénicos ^{219,221,334}, contribuyendo posiblemente a su declive.

7.4. Neurogénesis hipocampal adulta durante el envejecimiento patológico humano

7.4.1. Enfermedad de Alzheimer

Las enfermedades neurodegenerativas engloban un amplio espectro de patologías con diversas manifestaciones neuropatológicas y clínicas que afectan al paciente de forma progresiva. Entre ellas, la enfermedad de Alzheimer, descrita por Alois Alzheimer como *Dementia Praecox* ³³⁵, es una enfermedad neurodegenerativa que cursa con pérdida de memoria progresiva y deterioro cognitivo y representa la forma más frecuente de demencia a partir de los 65 años en los países industrializados ³³⁶. Este psiquiatra describió las dos

principales marcas histopatológicas de la enfermedad: las placas extracelulares y ovillos neurofibrilares intracelulares. Posteriormente se identificaron la proteína β -amiloide, obtenida como resultado del procesamiento amiloidogénico de la proteína transmembrana APP (*Amyloid- β precursor protein*)^{337,338}, como el componente central de las placas³³⁹, y la proteína de unión a microtúbulos, Tau, en su estado hiperfosforilado, como uno de los principales constituyentes de los ovillos neurofibrilares^{340,341}. Más tarde, la secuencia espaciotemporal de depósito de estas proteínas fue caracterizada al detalle, definiéndose los estadios de Braak-Tau^{342,343} como un modelo aceptado de progresión de las alteraciones neuropatológicas. La enfermedad de Alzheimer afecta gravemente a la formación hipocampal³⁴². Los pacientes con enfermedad de Alzheimer cursan con alteraciones en memoria episódica^{335,344}, capacidad de separación de patrones³⁴⁵, así como episodios de depresión³⁴⁶. Algunas de estas alteraciones podrían ser compatibles con el deterioro del proceso de neurogénesis hipocampal adulta. Si bien algunos estudios iniciales reportaron un incremento de los marcadores de neuronas inmaduras como NeuroD1, PSA-NCAM, DCX³⁴⁷⁻³⁴⁹ y *Calretinin*³⁰², en contraposición, la mayor parte de los estudios posteriores, incluyendo los trabajos de nuestro grupo, demostraron que el proceso de neurogénesis hipocampal adulta se encuentra gravemente dañado en estos pacientes^{62,292,328,350,351}. Concretamente se ha descrito una reducción en el número de células Sox2⁺³²⁸, células MAP-2 (*Microtubule-associated protein-2*)-a⁺ y MAP-2b⁺³⁵⁰, neuronas inmaduras DCX⁺⁶², neuronas DCX⁺ Prox1⁺ *Calbindin*⁻⁷³, y neuroblastos DCX⁺ PCNA⁺ en pacientes con enfermedad de Alzheimer sin afectar a la densidad de neuronas granulares maduras (NeuN⁺)^{62,347}. Además, el descenso en el número neuronas inmaduras se correlaciona con los resultados en test cognitivos²⁹² pero no con la edad, lo que sugiere la presencia de mecanismos neuropatológicos independientes que podrían influir negativamente en el proceso de neurogénesis adulta⁶², tal y como ha sido descrito en el modelo animal 3xTg³⁵². El origen distal de la vulnerabilidad selectiva de las nuevas neuronas puede tener diferentes orígenes, por ejemplo, perturbaciones relacionadas con cambios en el circuito, o mediante la acción de moléculas que llegan al nicho hipocampal a través de la vasculatura, entre otros mecanismos. En este sentido, en pacientes con enfermedad Alzheimer se ha descrito un aumento de neuroinflamación y astroglisis³⁵³, y una pérdida de contacto entre las células de tipo RGL y la vasculatura²⁹⁹ en el nicho neurogénico hipocampal. Por otro lado, el hipocampo recibe proyecciones colinérgicas desde el cerebro basal anterior (septum medial, banda diagonal de Broca y núcleo basal de Meynert), una de las zonas mayormente afectada en la enfermedad de Alzheimer³⁵⁴. De hecho, se ha vinculado la disminución de la actividad de progenitores neurales medido en base a la proteína *Mushashi-1* a la menor expresión de la enzima presináptica *choline-acetyltransferase* en el giro dentado hipocampal de pacientes con esta patología³⁴⁹, pudiendo influir en la autorrenovación y supervivencia de las células madre neurales^{349,355}. Asimismo, perturbaciones en la conectividad distal pueden repercutir en el adecuado desarrollo las nuevas neuronas. A este respecto, se ha descrito una atrofia característica de la corteza entorrinal³⁵⁶ específicamente de neuronas de capa II^{357,358} desde los primeros estadios de la enfermedad de Alzheimer. La ausencia de aferencias desde la corteza entorrinal podría impedir la correcta maduración del árbol

dendrítico de las neuronas inmaduras como ha sido demostrado en cultivos organotípicos hipocampales³⁵⁹. De hecho, las nuevas neuronas detectadas en muestras procedentes de pacientes con enfermedad de Alzheimer exhiben alteraciones en los patrones de expresión de otros marcadores como PSA-NCAM, Prox1, β -III Tubulin, Calbindin, y NeuN⁶², sugiriendo un bloqueo madurativo de las nuevas neuronas³⁵⁰. En línea con estos resultados, se ha descrito una morfología aberrante en neuronas granulares en pacientes con enfermedad de Alzheimer^{360,361}, sugiriendo alteraciones en su conectividad.

En conjunto, las alteraciones en el proceso de neurogénesis adulta podrían impedir el correcto funcionamiento del circuito del giro dentado provocando las disfunciones en el estado del ánimo o la tarea de separación de patrones que pueden acontecer en pacientes durante la progresión de la enfermedad de Alzheimer^{345,346,362}. De hecho, se ha propuesto que la tarea de separación de patrones podría emplearse como un biomarcador para discriminar entre pacientes con enfermedad de Alzheimer frente a aquellos con demencia³⁶³.

7.4.2. Neurogénesis hipocampal adulta en el contexto de otras enfermedades neurodegenerativas

El estudio de la integridad del proceso de neurogénesis hipocampal adulta ha sido abordado especialmente en aquellas condiciones patológicas que afectan de una manera directa a la región hipocampal, como la enfermedad de Alzheimer. No obstante, otras enfermedades neurodegenerativas entre ellas, la esclerosis lateral amiotrófica³⁶⁴, enfermedad de Huntington³⁶⁵, α -sinucleinopatías^{366,367} y demencia frontotemporal³⁶⁸, se caracterizan por cursar con ciertas disfunciones de memoria, las cuales podrían asociarse a la pérdida de volumen hipocampal.

Esclerosis lateral amiotrófica

La esclerosis lateral amiotrófica³⁶⁹ tiene como característica principal la degeneración de las neuronas motoras superiores o inferiores en el cerebro y la médula espinal, resultando en una disfunción de los músculos somáticos. Esta patología fue descrita a partir de observaciones de músculos atróficos y la presencia de esclerosis en la región lateral de la médula espinal de tejidos *post mortem*³⁶⁹. Si bien el 15-20% de los casos de variante familiar de la patología se asocia a mutaciones en SOD1 (*Superoxide dismutase type 1*)³⁷⁰, la presencia de depósitos de TDP-43 (*Transactive response DNA-binding protein 43 kDa*) *ubiquitin* positivos se han propuesto como la principal marca histopatológica de la enfermedad³⁷¹, debido a su aparición en la variante esporádica³⁷² y en algunos casos en la variante familiar³⁷³. En modelos animales, se ha reportado una disminución de células de tipo RGL (*Nestin*⁺, *GFAP*⁺, y *Vimentin*⁺) en zona ventricular-subventricular³⁷⁴. Por su parte, en pacientes con esta patología, se han descrito cambios en la subpoblación de progenitores neurales en ambos nichos neurogénicos^{60,375}, implicando posiblemente la señalización de la vía de Notch³⁷⁶. Específicamente en el giro dentado se ha descrito un aumento de neuronas inmaduras con morfología aberrante y de células picnóticas⁶⁰ junto con alteraciones específicas en el nicho neurogénico hipocampal como astrogliosis^{60,375}.

Enfermedad de Huntington

La enfermedad de Huntington es una patología neurodegenerativa autosómica dominante causada por la expansión del triplete C-A-G (citosina-adenina-guanina) en el gen de Huntingtina³⁷⁷, que ocasiona el depósito intracelular de la proteína y la consiguiente muerte neuronal, esencialmente en el estriado y la corteza cerebral. Por este motivo, los pacientes pueden experimentar problemas motores, pérdida cognitiva y manifestaciones psiquiátricas³⁷⁸. Estos pacientes también pueden mostrar déficits cognitivos relacionados con funciones hipocampales como memoria espacial³⁷⁹. Las investigaciones en pacientes con enfermedad de Huntington señalan un incremento de células PCNA⁺ / β-III Tubulin⁺ en zona ventricular-subventricular³⁸⁰. En la zona granular, se observa un incremento de células de tipo RGL y neuronas inmaduras⁶⁰, pero no una modificación de la subpoblación de células proliferativas³⁸¹. Tanto en pacientes como en modelos animales de esta enfermedad se observan alteraciones morfológicas en las neuronas inmaduras y cambios en el nicho neurogénico hipocampal^{60,382}. De hecho, en algunos modelos animales como R6/2, caracterizado por la expresión del exón 1 del gen de la Huntingtina humana con 115-150 repeticiones C-A-G³⁸³, se exhibe una reducción en el proceso de neurogénesis adulta³⁸⁴ y un deterioro en la tarea del laberinto acuático de Morris de forma precedente a la aparición de un fenotipo motor³⁸⁵.

Alfa-sinucleinopatías

Las α-sinucleinopatías son un conjunto de enfermedades neurodegenerativas que comparten la acumulación aberrante de la proteína presináptica α-sinucleína^{386,387}, si bien difieren en la secuencia temporal de inicio de síntomas³⁸⁸.

Entre ellas, la demencia con cuerpos de Lewy se caracterizada por la presencia de inclusiones celulares del mismo nombre, constituidas por la proteína α-sinucleína³⁸⁹. Su sintomatología incluye disfunción motora, deterioro cognitivo e, incluso, alucinaciones visuales. La mutación A53T de α-sinucleína³⁹⁰ induce la reducción de la tasa de neurogénesis en ambos nichos neurogénicos. Asimismo, causa alteraciones morfológicas en las nuevas neuronas granulares en modelos animales, lo que correlacionó con un declive del aprendizaje dependiente del hipocampo³⁹¹. En pacientes que padecen dicha patología, los estudios en la zona ventricular-subventricular mostraron un aumento de células proliferativas (PCNA⁺) y neuronas inmaduras (DCX⁺)³⁹². En la zona hipocampal, se observa disfunción del nicho y alteraciones morfológicas de las neuronas inmaduras⁶⁰.

Por su parte, los síntomas motores de la enfermedad de Parkinson³⁹³ incluyen lentitud de movimiento (bradicinesia), rigidez, temblor e inestabilidad postural consecuencia de la degeneración de neuronas dopaminérgicas de la *Substantia nigra* (ganglios basales), que proyectan al estriado por acumulación de la proteína α-sinucleína³⁹⁴. En modelos animales de la enfermedad de Parkinson, el depósito de α-sinucleína reduce el proceso de neurogénesis, afectando específicamente a la generación de interneuronas dopaminérgicas glomerulares³⁹⁵, junto con astrogliosis e inflamación en el bulbo olfatorio³⁹⁶. Asimismo, la

sobreexpresión de la proteína α -sinucleína humana, reduce la tasa de neurogénesis, impide la supervivencia, la maduración morfológica y la integración de las nuevas neuronas en el hipocampo ³⁹⁷. En pacientes con dicha enfermedad, se ha descrito una disminución del número de células *Nestin*⁺ en ambos nichos neurogénicos ³⁹⁸, y, concretamente en el nicho neurogénico hipocampal, además, un incremento del número de células proliferativas junto con alteraciones morfológicas y de expresión de marcadores en neuronas inmaduras ⁶⁰. Adicionalmente, se han reportado astrocitosis y disfunción microglial en el nicho hipocampal en pacientes con enfermedad de Parkinson ⁶⁰.

Demencia frontotemporal

La demencia frontotemporal ³⁹⁹ agrupa un amplio espectro de demencias de aparición temprana que comparten un déficit progresivo del comportamiento, de la función ejecutiva o del lenguaje, determinando las tres variantes clínicas y, en último término, problemas cognitivos y déficits motores. Esta patología es conocida también como enfermedad de Pick, en honor a Arnold Pick, el psiquiatra que lo describió por primera vez ³⁹⁹. Se caracteriza por muerte neuronal, gliosis, cambios en la vasculatura y acumulación de las proteínas Tau, TDP-43, o FUS (*Fused-in-sarcoma*), estableciendo los subtipos neuropatológicos. Estas alteraciones se presentan especialmente en los lóbulos frontal y temporal ⁴⁰⁰. En el modelo animal knock-in TDP-43 se ha descrito una reducción del volumen del giro dentado junto con un descenso de la densidad de neuronas inmaduras DCX⁺ e interneuronas PV⁺ ⁴⁰¹. No obstante, los modelos animales de demencia frontotemporal variante Tau, muestran afectación de las nuevas neuronas en lo que concierne a sus componentes de morfología y conectividad ⁴⁰². Por otro lado, en pacientes con demencia frontotemporal variante TDP-43, se ha observado un aumento de células proliferativas (Ki-67⁺) y neuroblastos (PSA-NCAM⁺) en la zona ventricular-subventricular ⁴⁰³, mientras que una reducción en el número de células proliferativas y neuroblastos HuC/HuD⁺ ⁶⁰ junto con alteraciones en la morfología ha sido detectado en pacientes con demencia frontotemporal ⁶⁰.

Las alteraciones descritas del proceso de neurogénesis hipocampal adulta podrían contribuir a los mecanismos responsables de las alteraciones en la función de separación de patrones ⁴⁰⁴ y de regulación del estado del ánimo ^{346,405,406} observadas en dichos pacientes. No obstante, a pesar de las alteraciones en dicho proceso, el giro dentado humano exhibe células de tipo RGL, células y neuroblastos proliferativos en pacientes con todas las enfermedades neurodegenerativas anteriormente mencionadas^{60,62}. Debido al papel fundamental de la neurogénesis en el aprendizaje, memoria y regulación del estado del ánimo, la demostración de su existencia en la especie humana tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, representa un potencial reservorio de plasticidad neural y permite una ventana de oportunidad a la búsqueda de biomarcadores tempranos y/o a intervenciones terapéuticas encaminadas a mejorar los déficits cognitivos y variaciones en el estado de ánimo que manifiestan algunas personas a lo largo de su vida.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lois, C., García-Verdugo, J. M. & Álvarez-Buylla, A. Chain migration of neuronal precursors. *Science* (1979) **271**, 978–981 (1996).
2. Imamura, F., Ito, A. & LaFever, B. J. Subpopulations of Projection Neurons in the Olfactory Bulb. *Front Neural Circuits* **14**, 1–19 (2020).
3. Winner, B., Cooper-Kuhn, C. M., Aigner, R., Winkler, J. & Kuhn, H. G. Long-term survival and cell death of newly generated neurons in the adult rat olfactory bulb. *European Journal of Neuroscience* **16**, 1681–1689 (2002).
4. Altman, J. Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. *J Comp Neurol* **137**, 433–457. (1969).
5. Lois, C. & Álvarez-Buylla, A. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science* (1979) **264**, 1145–1148 (1994).
6. Feierstein, C. E. et al. Disruption adult neurogenesis in the olfactory bulb affects social interaction but not maternal behavior. *Front Behav Neurosci* **4**, 1–17 (2010).
7. Amaral, D. G. & Witter, M. P. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data. *Neuroscience* **31**, 571–591 (1989).
8. Amaral, D. G., Scharfman, H. E. & Lavenex, P. The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *Prog Brain Res* **163**, (2007).
9. Ramón y Cajal, S. Estructura del asta de Ammon y fascia dentata. *Anales de la Sociedad Española de Historia Natural* **22**, (1893).
10. Kohara, K. et al. Cell type-specific genetic and optogenetic tools reveal hippocampal CA2 circuits. *Nat Neurosci* **17**, 269–279 (2014).
11. Han, Z.-S., Buhl, E. H., Lörinczi, Z. & Somogyi, P. A high degree of spatial selectivity in the axonal and dendritic domains of physiologically identified local-circuit neurons in the dentate gyrus of the rat hippocampus. *European Journal of Neuroscience* **5**, 395–410 (1993).
12. Soriano, E. & Frotscher, M. Mossy cells of the rat fascia dentata are glutamate-immunoreactive. *Hippocampus* **4**, 65–69 (1994).
13. Kempermann, G., Jessberger, S., Steiner, B. & Kronenberg, G. Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci* **27**, 447–452 (2004).
14. Llorens-Martín, M., Jurado-Arjona, J., Ávila, J. & Hernández, F. Novel connection between newborn granule neurons and the hippocampal CA2 field. *Exp Neurol* **263**, 285–292 (2015).
15. Laplagne, D. A. et al. Functional convergence of neurons generated in the developing and adult hippocampus. *PLoS Biol* **4**, e409 (2006).

16. Laplagne, D. A. *et al.* Similar GABAergic inputs in dentate granule cells born during embryonic and adult neurogenesis. *European Journal of Neuroscience* **25**, 2973–2981 (2007).
17. Freund, T. F. & Buzsáki, G. Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* **6**, 347–470 (1998).
18. Soriano, E. & Frotscher, M. A GABAergic axo-axonic cell in the fascia dentata controls the main excitatory hippocampal pathway. *Brain Res* **503**, 170–174 (1989).
19. Amaral, D. G. A golgi study of cell types in the hilar region of the hippocampus in the rat. *Journal of Comparative Neurology* **182**, 851–914 (1978).
20. Scharfman, H. E. Electrophysiological evidence that dentate hilar mossy cells are excitatory and innervate both granule cells and interneurons. *J Neurophysiol* **74**, 179–194 (1995).
21. Ramón y Cajal, S. Degeneration & regeneration of the nervous system. *Oxford University Press* (1928).
22. Allen, E. *The Cessation of Mitosis in the Central Nervous System of the Albino Rat. The journal of comparative neurology* vol. 22 (1912).
23. Hughes, W. L. *et al.* Cellular proliferation in the mouse as revealed by autoradiography with tritiated Thymidine. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **44**, 476–483 (1958).
24. Messier, B., Leblond, C. P. & Smart, I. Presence of DNA synthesis and mitosis in the brain of young adult mice. *Exp Cell Res* **14**, 224–226 (1958).
25. Altman, J. Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science* (1979) **135**, 1127–1128 (1962).
26. Altman, J. Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. *Anat Rec* **145**, 573–591 (1963).
27. Altman, J. & Das, G. D. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol* **124**, 319–335 (1965).
28. Kaplan, M. S. & Hinds, J. W. Neurogenesis in the adult rat: Electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science* (1979) **197**, 1092–1094 (1977).
29. Kaplan, M. S. Proliferation of subependymal cells in the adult primate CNS: differential uptake of DNA labelled precursors. *J Hirnforsch* **24**, 23–33 (1983).
30. Goldman, S. A. & Nottebohm, F. N. Neuronal production, migration, and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **80**, 2390–2394 (1983).
31. Nottebohm, F. N. Neuronal Replacement in Adulthood. *Ann N Y Acad Sci* **457**, 143–161 (1985).
32. Paton, J. A. & Nottebohm, F. N. Neurons generated in the adult brain are recruited into functional circuits. *Science* (1979) **225**, 1046–1048 (1984).

33. Eckenhoff, M. F. & Rakic, P. Nature and fate of proliferative cells in the hippocampal dentate gyrus during the life span of the rhesus monkey. *Journal of Neuroscience* **8**, 2729–2747 (1988).
34. Rakic, P. Limits of neurogenesis in primates. *Science* (1979) **227**, 1054–1056 (1985).
35. Gratzner, H. G. Monoclonal Antibody to 5-Bromo- and 5-Iododeoxyuridine: A new reagent for detection of DNA replication. *Science* (1979) **218**, 474–475 (1982).
36. Gratzner, H. G., Leif, R. C., Ingram, D. J. & Castro, A. The use of antibody specific for bromodeoxyuridine for the immunofluorescent determination of DNA replication in single cells and chromosomes. *Exp Cell Res* **95**, 88–94 (1975).
37. Miller, M. W. & Nowakowski, R. S. Use of bromodeoxyuridine-immunohistochemistry to examine the proliferation, migration and time of origin of cells in the central nervous system. *Brain Res* **457**, 44–52 (1988).
38. Reynolds, B. A. & Weiss, S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* (1979) **255**, 1707–1710 (1992).
39. Cameron, H. A., Woolley, C. S., McEwen, B. S. & Gould, E. Differentiation of newly born neurons and glia in the dentate gyrus of the adult rat. *Neuroscience* **56**, 337–344 (1993).
40. Nowakowski, R. S., Lewin, S. B. & Miller, M. W. Bromodeoxyuridine immunohistochemical determination of the lengths of the cell cycle and the DNA-synthetic phase for an anatomically defined population. *J Neurocytol* **18**, 311–318 (1989).
41. Gould, E., Tanapat, P., McEwen, B. S., Flügge, G. & Fuchs, E. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, 3168–3171 (1998).
42. Gould, E. et al. Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **96**, 5263–5267 (1999).
43. Luskin, M. B. Restricted proliferation and migration of postnatally generated neurons derived from the forebrain subventricular zone. *Neuron* **11**, 173–189 (1993).
44. van Praag, H. et al. Functional neurogenesis in the adult midbrain? *Nature* **415**, 1030–1034 (2002).
45. Toni, N. et al. Synapse formation on neurons born in the adult hippocampus. *Nat Neurosci* **10**, 727–734 (2007).
46. Zhao, C., Teng, E. M., Summers, R. G., Ming, G. & Gage, F. H. Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *Journal of Neuroscience* **26**, 3–11 (2006).
47. Li, Y. et al. Molecular layer perforant path-associated cells contribute to feed-forward inhibition in the adult dentate gyrus. *PNAS* **110**, 9106–9111 (2013).
48. Vivar, C. et al. Monosynaptic inputs to new neurons in the dentate gyrus. *Nat Commun* **3**, 1107 (2012).

49. Eriksson, P. S. *et al.* Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* **4**, 1313–1317 (1998).
50. Ernst, A. *et al.* Neurogenesis in the striatum of the adult human brain. *Cell* **156**, 1072–1083 (2014).
51. Spalding, K. L. *et al.* Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* **153**, 1219 (2013).
52. Manganas, L. N. *et al.* Magnetic resonance spectroscopy identifies neural progenitor cells in the live human brain. *Science* (1979) **321**, 980–985 (2008).
53. Kandel, P. *et al.* Oleic acid is an endogenous ligand of TLX/NR2E1 that triggers hippocampal neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **119**, 1–11 (2022).
54. Laske, C., Stellos, K., Stransky, E., Leyhe, T. & Gawaz, M. Decreased plasma levels of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) in patients with early alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* **17**, 115–123 (2009).
55. Laske, C. *et al.* Stem cell factor plasma levels are decreased in alzheimer's disease patients with fast cognitive decline after one-year follow-up period: The pythia-study. *Journal of Alzheimer's Disease* **26**, 39–45 (2011).
56. Lugert, S. *et al.* Glypican-2 levels in cerebrospinal fluid predict the status of adult hippocampal neurogenesis. *Sci Rep* **7**, 46543 (2017).
57. Dennis, C. V., Suh, L. S., Rodriguez, M. L., Kril, J. J. & Sutherland, G. T. Human adult neurogenesis across the ages: An immunohistochemical study. *Neuropathol Appl Neurobiol* **42**, 621–638 (2016).
58. Sorrells, S. F. *et al.* Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults. *Nature* **555**, 377–381 (2018).
59. Boldrini, M. *et al.* Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging. *Cell Stem Cell* **22**, 589–599 (2018).
60. Terreros-Roncal, J. *et al.* Impact of neurodegenerative diseases on human adult hippocampal neurogenesis. *Science* (1979) **374**, 1106–1113 (2021).
61. Flor-García, M. *et al.* Unraveling human adult hippocampal neurogenesis. *Nat Protoc* **15**, 668–693 (2020).
62. Moreno-Jiménez, E. P. *et al.* Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with Alzheimer's disease. *Nat Med* **25**, 554–560 (2019).
63. Lucassen, P. J. *et al.* Limits to human neurogenesis — really? *Mol Psychiatry* **25**, 2207–2209 (2019).
64. Jin, K. *et al.* Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease. *PNAS* **101**, 343–347 (2003).

65. Liu, Y. W. J. *et al.* Doublecortin expression in the normal and epileptic adult human brain. *European Journal of Neuroscience* **28**, 2254–2265 (2008).
66. Mathews, K. J. *et al.* Evidence for reduced neurogenesis in the aging human hippocampus despite stable stem cell markers. *Aging Cell* **16**, 1195–1199 (2017).
67. Trott, A. N. *et al.* Considerations for assessing the extent of hippocampal neurogenesis in the adult and aging human brain. *Cell Stem Cell* **23**, 782–783 (2018).
68. Franjic, D. *et al.* Transcriptomic taxonomy and neurogenic trajectories of adult human, macaque, and pig hippocampal and entorhinal cells. *Neuron* **110**, 452-469.e14 (2022).
69. Ayhan, F. *et al.* Resolving cellular and molecular diversity along the hippocampal anterior-to-posterior axis in humans. *Neuron* **109**, 2091-2105.e6 (2021).
70. Habib, N. *et al.* Massively parallel single-nucleus RNA-seq with DroNc-seq. *Nat Methods* **14**, 955–958 (2017).
71. Wang, W. *et al.* Transcriptome dynamics of hippocampal neurogenesis in macaques across the lifespan and aged humans. *Cell Res* **32**, 729–743 (2022).
72. Tosoni G, Ayyildiz D, Penning A, Snoeck S, Santiago-Mujika E, Ruiz Ormaechea O, Lee H, Poovathingal SM, Davie K, Bryois J, Macnair W, Anink J, De Vries LE, Verhaagen J, Aronica E, Thuret S, Basak O, Roybon L, Fitzsimons CP, Lucassen PJ, S. E. Unique transcriptional profiles of adult human immature neurons in healthy Alzheimer's disease, and cognitive resilience. *bioRxiv* (2025).
73. Zhou, Y. *et al.* Molecular landscapes of human hippocampal immature neurons across lifespan. *Nature* **607**, 527–533 (2022).
74. Grandel, H., Kaslin, J., Ganz, J., Wenzel, I. & Brand, M. Neural stem cells and neurogenesis in the adult zebrafish brain: Origin, proliferation dynamics, migration and cell fate. *Dev Biol* **295**, 263–277 (2006).
75. Zupanc, G. K. H., Hinsch, K. & Gage, F. H. Proliferation, migration, neuronal differentiation, and long-term survival of new cells in the adult zebrafish brain. *J Comp Neurol* **488**, 290–319 (2005).
76. Bernocchi, G., Scherini, E., Giacometti, S. & Mares, V. Premitotic DNA synthesis in the brain of the adult frog (*Rana esculenta* L.): An autoradiographic ³H-thymidine study. *Anat Rec* **228**, 461–470 (1990).
77. Megela, A., Horowitz, S. & Brown, A. Cell proliferation in the forebrain and midbrain of the adult bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Brain Behav Evol* **71**, 41–53 (2008).
78. Lopez-García, C., Molowny, A., García-Verdugo, J. M. & Ferrer, I. Delayed postnatal neurogenesis in the cerebral cortex of lizards. *Developmental Brain Research* **43**, 167–174 (1988).
79. Pérez-Cañellas, M. M., Font, E. & García-Verdugo, J. M. Postnatal neurogenesis in the telencephalon of turtles: evidence for nonradial migration of new neurons from distant

- proliferative ventricular zones to the olfactory bulbs. *Developmental Brain Research* **101**, 125–137 (1997).
80. Patzke, N. et al. In contrast to many other mammals, cetaceans have relatively small hippocampi that appear to lack adult neurogenesis. *Brain Struct Funct* **220**, 361–383 (2015).
 81. Wan, L. et al. Extracranial 125I Seed Implantation Allows Non-invasive Stereotactic Radioablation of Hippocampal Adult Neurogenesis in Guinea Pigs. *Front Neurosci* **15**, (2021).
 82. Zhu, H., Wang, Z. & Hansson, H. Visualization of proliferating cells in the adult mammalian brain with the aid of ribonucleotide reductase. *Brain Res* **977**, 180–189 (2003).
 83. Hwang, I. K. et al. Differences in doublecortin immunoreactivity and protein levels in the hippocampal dentate gyrus between adult and aged dogs. *Neurochem Res* **32**, 1604–1609 (2007).
 84. Gould, E., McEwen, B. S., Tanapat, P., Galea, L. A. M. & Fuchs, E. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *The Journal of Neuroscience* **17**, 2492–2498 (1997).
 85. Chawana, R. et al. Microbats appear to have adult hippocampal neurogenesis, but post-capture stress causes a rapid decline in the number of neurons expressing doublecortin. *Neuroscience* **277**, 724–733 (2014).
 86. Patzke, N. et al. Organization and chemical neuroanatomy of the African elephant (*Loxodonta africana*) hippocampus. *Brain Struct Funct* **219**, 1587–1601 (2014).
 87. Tonchev, A. B., Yamashima, T., Zhao, L., Okano, H. J. & Okano, H. Proliferation of neural and neuronal progenitors after global brain ischemia in young adult macaque monkeys. *Molecular and Cellular Neuroscience* **23**, 292–301 (2003).
 88. Wang, W. et al. Transcriptome dynamics of hippocampal neurogenesis in macaques across the lifespan and aged humans. *Cell Res* **32**, 729–743 (2022).
 89. Patzke, N. et al. In contrast to many other mammals, cetaceans have relatively small hippocampi that appear to lack adult neurogenesis. *Brain Struct Funct* **220**, 361–383 (2015).
 90. Terreros-Roncal, J. et al. *Methods to Study Adult Hippocampal Neurogenesis in Humans and across the Phylogeny*. *Hippocampus* (2022). doi:10.1002/hipo.23474.
 91. Ainge, J. A. & Langston, R. F. Ontogeny of neural circuits underlying spatial memory in the rat. *Front Neural Circuits* **6**, 1–10 (2012).
 92. Bond, A. M. et al. Differential timing and coordination of neurogenesis and astrogenesis in developing mouse hippocampal subregions. *Brain Sci* **10**, 1–14 (2020).
 93. Hevner, R. F. Evolution of the mammalian dentate gyrus. *Journal of Comparative Neurology* **524**, 578–594 (2016).

94. Lavenex, P., Banta Lavenex, P. & Amaral, D. G. Postnatal development of the primate hippocampal formation. *Dev Neurosci* **29**, 179–192 (2007).
95. Terreros-Roncal, J. et al. Methods to study adult hippocampal neurogenesis in humans and across the phylogeny. *Hippocampus* **33**, 271–306 (2022).
96. Scoville, W. B. & Milner, B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **20**, 11–21 (1957).
97. Squire, L. R. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev* **99**, 195–231 (1992).
98. Broca, P. Anatomie comparée des circonvolutions cérébrales: le grande lobe limbique et la scissure limbique dans la série des mammifères. *Rev D'Anthropol* 385–498 (1878).
99. Pessoa, L. & Hof, P. R. From Paul Broca's great limbic lobe to the limbic system. *Journal of Comparative Neurology* **523**, 2495–2500 (2015).
100. Cameron, H. A. & Glover, L. R. Adult neurogenesis: beyond learning and memory. *Annu Rev Psychol* **66**, 53–81 (2015).
101. Drapeau, E. et al. Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. *PNAS* **100**, 14385–14390 (2003).
102. Kee, N., Teixeira, C. M., Wang, A. H. & Frankland, P. W. Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus. *Nat Neurosci* **10**, 355–362 (2007).
103. Shors, T. J. et al. Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature* **414**, 938–938 (2001).
104. Garrett, L. et al. Conditional reduction of adult born Doublecortin-positive neurons reversibly impairs selective behaviors. *Front Behav Neurosci* **9**, 1–15 (2015).
105. Lagace, D. C. et al. Adult hippocampal neurogenesis is functionally important for stress-induced social avoidance. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**, 4436–4441 (2010).
106. Kitamura, T. et al. Adult neurogenesis modulates the hippocampus-dependent period of associative fear memory. *Cell* **139**, 814–827 (2009).
107. Kumar, D. et al. Sparse activity of hippocampal adult-born neurons during REM sleep is necessary for memory consolidation. *Neuron* **107**, 552–565.e10 (2020).
108. Snyder, J. S., Hong, N. S., McDonald, R. J. & Wojtowicz, J. M. A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory. *Neuroscience* **130**, 843–852 (2005).
109. Terranova, J. I., Ogawa, S. K. & Kitamura, T. Adult hippocampal neurogenesis for systems consolidation of memory. *Behavioural Brain Research* **372**, 112035 (2019).
110. Akers, K. G. et al. Hippocampal neurogenesis regulates forgetting during adulthood and infancy. *Science* (1979) **344**, 598–602 (2014).
111. Garthe, A., Roeder, I. & Kempermann, G. Mice in an enriched environment learn more flexibly because of adult hippocampal neurogenesis. *Hippocampus* **26**, 261–271 (2016).

112. Lopes, J. B., Małz, M., Senko, A. N., Zocher, S. & Kempermann, G. Loss of individualized behavioral trajectories in adult neurogenesis-deficient cyclin D2 knockout mice. *Hippocampus* **33**, 360–372 (2023).
113. Leutgeb, J. K., Leutgeb, S., Moser, M. B. & Moser, E. I. Pattern separation in the dentate gyrus and CA3 of the hippocampus. *Science* (1979) **315**, 961–966 (2007).
114. Clelland, C. D. et al. A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation. *Science* (1979) **325**, 210–213 (2009).
115. Creer, D. J., Romberg, C., Saksida, L. M., van Praag, H. & Bussey, T. J. Running enhances spatial pattern separation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 2367–2372 (2010).
116. GoodSmith, D., Lee, H., Neunuebel, J. P., Song, H. & Knierim, J. J. Dentate gyrus mossy cells share a role in pattern separation with dentate granule cells and proximal CA3 pyramidal cells. *Journal of Neuroscience* **39**, 9570–9584 (2019).
117. Sahay, A. et al. Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. *Nature* **472**, 466–470 (2011).
118. Nakashiba, T. et al. Young dentate granule cells mediate pattern separation, whereas old granule cells facilitate pattern completion. *Cell* **149**, 188–201 (2012).
119. Neunuebel, J. P. & Knierim, J. J. CA3 retrieves coherent representations from degraded input: Direct evidence for CA3 pattern completion and dentate gyrus pattern separation. *Neuron* **81**, 416–427 (2014).
120. Saxe, M. D. et al. Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 17501–17506 (2006).
121. Revest, J.-M. et al. Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Mol Psychiatry* **14**, 959–967 (2009).
122. Anacker, C. et al. Hippocampal neurogenesis confers stress resilience by inhibiting the ventral dentate gyrus. *Nature* **559**, 98–102 (2018).
123. Hill, A. S., Sahay, A. & Hen, R. Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to reduce anxiety and depression-like behaviors. *Neuropsychopharmacology* **40**, 2368–2378 (2015).
124. Snyder, J. S., Soumier, A., Brewer, M., Pickel, J. & Cameron, H. A. Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour. *Nature* **476**, 458–462 (2011).
125. Schloesser, R. J. et al. Atrophy of pyramidal neurons and increased stress-induced glutamate levels in CA3 following chronic suppression of adult neurogenesis. *Brain Struct Funct* **219**, 1139–1148 (2014).
126. Kheirbek, M. A. et al. Differential control of learning and anxiety along the dorsoventral axis of the dentate gyrus. *Neuron* **77**, 955–968 (2013).

127. Lee, S. L., Lew, D., Wickenheisser, V. & Markus, E. J. Interdependence between dorsal and ventral hippocampus during spatial navigation. *Brain Behav* **9**, 1–14 (2019).
128. Snyder, J. S., Radik, R., Wojtowicz, J. M. & Cameron, H. A. Anatomical gradients of adult neurogenesis and activity: Young neurons in the ventral dentate gyrus are activated by water maze training. *Hippocampus* **19**, 360–370 (2009).
129. Fanselow, M. S. & Dong, H. W. Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? *Neuron* **65**, 7–19 (2010).
130. Altman, J. & Bayer, S. A. Mosaic organization of the hippocampal neuroepithelium and the multiple germinal sources of dentate granule cells. *J Comp Neurol* **301**, 325–342 (1990).
131. Rickmann, M., Amaral, D. G. & Cowan, W. M. Organization of radial glial cells during the development of the rat dentate gyrus. *Journal of Comparative Neurology* **264**, 449–479 (1987).
132. Bonaguidi, M. A. et al. Diversity of neural precursors in the adult mammalian brain. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **8**, (2016).
133. Berg, D. A. et al. A common embryonic origin of stem cells drives developmental and adult neurogenesis. *Cell* **177**, 654–668.e15 (2019).
134. Shin, J. et al. Single-Cell RNA-Seq with Waterfall Reveals Molecular Cascades underlying Adult Neurogenesis. *Cell Stem Cell* **17**, 360–372 (2015).
135. Li, D. et al. Hopx distinguishes hippocampal from lateral ventricle neural stem cells. *Stem Cell Res* **15**, 522–529 (2015).
136. Li, G., Fang, L., Fernández, G. & Pleasure, S. J. The ventral hippocampus is the embryonic origin for adult neural stem cells in the dentate gyrus. *Neuron* **78**, 658–672 (2013).
137. Encinas, J. M. et al. Division-coupled astrocytic differentiation and age-related depletion of neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* **8**, 566–579 (2011).
138. Filippov, V. et al. Subpopulation of nestin-expressing progenitor cells in the adult murine hippocampus shows electrophysiological and morphological characteristics of astrocytes. *Molecular and Cellular Neuroscience* **23**, 373–382 (2003).
139. Seri, B., García-Verdugo, J. M., McEwen, B. S. & Álvarez-Buylla, A. Astrocytes give rise to new neurons in the adult mammalian hippocampus. *Journal of Neuroscience* **21**, 7153–7160 (2001).
140. Moss, J. et al. Fine processes of Nestin-GFP-positive radial glia-like stem cells in the adult dentate gyrus ensheathe local synapses and vasculature. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**, E2536–E2545 (2016).
141. Bonaguidi, M. A. et al. In vivo clonal analysis reveals self-renewing and multipotent adult neural stem cell characteristics. *Cell* **145**, 1142–1155 (2011).
142. Gebara, E. et al. Heterogeneity of Radial Glia-Like Cells in the adult hippocampus. *Stem Cells* **34**, 997–1010 (2016).

143. Lendahl, U., Zimmerman, L. B. & McKay, R. D. G. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. *Cell* **60**, 585–595 (1990).
144. Ferri, A. L. M. et al. Sox2 deficiency causes neurodegeneration and impaired neurogenesis in the adult mouse brain. *Development* **131**, 3805–3819 (2004).
145. Suh, H. et al. In vivo fate analysis reveals the multipotent and self-renewal capacities of Sox2+ neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* **1**, 515–528 (2007).
146. Fukuda, S. et al. Two distinct subpopulations of Nestin-positive cells in adult mouse dentate gyrus. *The Journal of Neuroscience* **23**, 9357–9366 (2003).
147. Steiner, B. et al. Type-2 cells as link between glial and neuronal lineage in adult hippocampal neurogenesis. *Glia* **54**, 805–814 (2006).
148. Palmer, T. D., Takahashi, J. & Gage, F. H. The adult rat hippocampus contains primordial neural stem cells. *Mol Cell Neurosci* **8**, 389–404 (1997).
149. Steiner, B. et al. Differential regulation of gliogenesis in the context of adult hippocampal neurogenesis in mice. *Glia* **46**, 41–52 (2004).
150. Schneider, J. et al. Astrogenesis in the murine dentate gyrus is a life-long and dynamic process. *EMBO J* **41**, 1–27 (2022).
151. Pilz, G.-A. et al. Live imaging of neurogenesis in the adult mouse hippocampus. *Science* (1979) **359**, 658–662 (2018).
152. Rolando, C. et al. Multipotency of adult hippocampal NSCs in vivo is restricted by Drosha/NFIB. *Cell Stem Cell* **19**, 653–662 (2016).
153. Kunze, A. et al. Connexin expression by radial glia-like cells is required for neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**, 11336–11341 (2009).
154. Bottes, S. et al. Long-term self-renewing stem cells in the adult mouse hippocampus identified by intravital imaging. *Nat Neurosci* **24**, 225–233 (2021).
155. Urbán, N. et al. Return to Quiescence of mouse neural stem cells by degradation of a proactivation protein. *Science* (1979) **353**, 292–295 (2016).
156. Harris, L. et al. Coordinated changes in cellular behavior ensure the lifelong maintenance of the hippocampal stem cell population. *Cell Stem Cell* **28**, 863–876.e6 (2021).
157. Kempermann, G. *Adult Neurogenesis* 2. vol. 1 (Oxford University Press, 2011).
158. Jin, K. et al. Neurogenesis in dentate subgranular zone and rostral subventricular zone after focal cerebral ischemia in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 4710–4715 (2001).
159. Jinno, S. Topographic differences in adult neurogenesis in the mouse hippocampus: A stereology-based study using endogenous markers. *Hippocampus* **21**, 467–480 (2011).
160. Lucassen, P. J., Stumpel, M. W., Wang, Q. & Aronica, E. Decreased numbers of progenitor cells but no response to antidepressant drugs in the hippocampus of elderly depressed patients. *Neuropharmacology* **58**, 940–949 (2010).

161. Hodge, R. D. *et al.* Intermediate progenitors in adult hippocampal neurogenesis: Tbr2 expression and coordinate regulation of neuronal output. *Journal of Neuroscience* **28**, 3707–3717 (2008).
162. Hodge, R. D. *et al.* Tbr2 is essential for hippocampal lineage progression from neural stem cells to intermediate progenitors and neurons. *Journal of Neuroscience* **32**, 6275–6287 (2012).
163. Sierra, A. *et al.* Microglia shape adult hippocampal neurogenesis through apoptosis-coupled phagocytosis. *Cell Stem Cell* **7**, 483–495 (2010).
164. Pleasure, S. J., Collins, A. E. & Lowenstein, D. H. Unique expression patterns of cell fate molecules delineate sequential stages of dentate gyrus development. *Journal of Neuroscience* **20**, 6095–6105 (2000).
165. Knoth, R. *et al.* Murine features of neurogenesis in the human hippocampus across the lifespan from 0 to 100 years. *PLoS One* **5**, e8809 (2010).
166. Seki, T. & Arai, Y. Highly polysialylated neural cell adhesion molecule (NCAM-H) is expressed by newly generated granule cells in the dentate gyrus of the adult rat. *The Journal of Neuroscience* **13**, 2351–2358 (1993).
167. Kempermann, G., Gast, D., Kronenberg, G., Yamaguchi, M. & Gage, F. H. Early determination and long-term persistence of adult-generated new neurons in the hippocampus of mice. *Development* **130**, 391–399 (2003).
168. Espósito, M. S. *et al.* Neuronal differentiation in the adult hippocampus recapitulates embryonic development. *Journal of Neuroscience* **25**, 10074–10086 (2005).
169. Schmidt-Hieber, C., Jonas, P. & Bischofberger, J. Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature* **429**, 184–187 (2004).
170. Biebl, M., Cooper, C. M., Winkler, J. & Kuhn, H. G. Analysis of neurogenesis and programmed cell death reveals a self-renewing capacity in the adult rat brain. *Neurosci Lett* **291**, 17–20 (2000).
171. Hastings, N. B. & Gould, E. Rapid extension of axons into the CA3 region by adult-generated granule cells. *Journal of Comparative Neurology* **413**, 146–154 (1999).
172. Brandt, M. D. *et al.* Transient calretinin expression defines early postmitotic step of neuronal differentiation in adult hippocampal neurogenesis of mice. *Molecular and Cellular Neuroscience* **24**, 603–613 (2003).
173. Kuhn, H. G., Dickinson-Anson, H. & Gage, F. H. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: Age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *Journal of Neuroscience* **16**, 2027–2033 (1996).
174. Ge, S. *et al.* GABA regulates synaptic integration of newly generated neurons in the adult brain. *Nature* **439**, 589–593 (2006).
175. Chancey, J. H. *et al.* GABA depolarization is required for experience-dependent synapse unsilencing in adult-born neurons. *The Journal of Neuroscience* **33**, 6614–6622 (2013).

176. Ge, S., Yang, C. hao, Hsu, K. sen, Ming, G. & Song, H. A critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. *Neuron* **54**, 559–566 (2007).
177. Snyder, J. S., Kee, N. & Wojtowicz, J. M. Effects of adult neurogenesis on synaptic plasticity in the rat dentate gyrus. *J Neurophysiol* **85**, 2423–2431 (2001).
178. Nácher, J. et al. N-methyl-d-aspartate receptor expression during adult neurogenesis in the rat dentate gyrus. *Neuroscience* **144**, 855–864 (2007).
179. Tashiro, A., Sandler, V. M., Toni, N., Zhao, C. & Gage, F. H. NMDA-receptor-mediated, cell-specific integration of new neurons in adult dentate gyrus. *Nature* **442**, 929–933 (2006).
180. Baimbridge, K. G. & Miller, J. J. Immunohistochemical localization of calcium-binding protein in the cerebellum, hippocampal formation and olfactory bulb of the rat. *Brain Res* **245**, 223–229 (1982).
181. Karalay, Ö. et al. Prospero-related homeobox 1 gene (Prox1) is regulated by canonical Wnt signaling and has a stage-specific role in adult hippocampal neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **108**, 5807–5812 (2011).
182. Mullen, R. J., Buck, C. R. & Smith, A. M. NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates. *Development* **211**, 201–211 (1992).
183. Gonçalves, J. T., Schafer, S. T. & Gage, F. H. Adult neurogenesis in the hippocampus: from stem cells to behavior. *Cell* **167**, 897–914 (2016).
184. Toni, N. et al. Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells. *Nat Neurosci* **11**, 901–907 (2008).
185. Piatti, V. C. et al. The timing for neuronal maturation in the adult hippocampus is modulated by local network activity. *Journal of Neuroscience* **31**, 7715–7728 (2011).
186. Ramirez-Amaya, V., Marrone, D. F., Gage, F. H., Worley, P. F. & Barnes, C. A. Integration of new neurons into functional neural networks. *Journal of Neuroscience* **26**, 12237–12241 (2006).
187. Stone, S. S. D. et al. Functional convergence of developmentally and adult-generated granule cells in dentate gyrus circuits supporting hippocampus-dependent memory. *Hippocampus* **21**, 1348–1362 (2011).
188. Gage, F. H. et al. Survival and differentiation of adult neuronal progenitor cells transplanted to the adult brain. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**, 11879–11883 (1995).
189. Palmer, T. D., Willhoite, A. R. & Gage, F. H. Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis. *J Comp Neurol* **425**, 479–494 (2000).
190. Seidenfaden, R., Desoeuvre, A., Bosio, A., Virard, I. & Cremer, H. Glial conversion of SVZ-derived committed neuronal precursors after ectopic grafting into the adult brain. *Molecular and Cellular Neuroscience* **32**, 187–198 (2006).

191. Testa, D., Prochiantz, A. & Di Nardo, A. A. Perineuronal nets in brain physiology and disease. *Semin Cell Dev Biol* **89**, 125–135 (2019).
192. Porcheri, C., Suter, U. & Jessberger, S. Dissecting integrin-dependent regulation of neural stem cell proliferation in the adult brain. *Journal of Neuroscience* **34**, 5222–5232 (2014).
193. Teixeira, C. M. et al. Cell-autonomous inactivation of the reelin pathway impairs adult neurogenesis in the hippocampus. *Journal of Neuroscience* **32**, 12051–12065 (2012).
194. Härtig, W., Brauer, K. & Brückner, G. Wisteria floribunda agglutinin-labelled nets surround parvalbumin-containing neurons. *Neuroreport* **3**, 869–872 (1992).
195. Briones, B. A. et al. Adult-born granule cell mossy fibers preferentially target parvalbumin-positive interneurons surrounded by perineuronal nets. *Hippocampus* **31**, 375–388 (2021).
196. Savchenko, V. L., McKenna, J. A., Nikonenko, I. R. & Skibo, G. G. Microglia and astrocytes in the adult rat brain: Comparative immunocytochemical analysis demonstrates the efficacy of lipocortin 1 immunoreactivity. *Neuroscience* **96**, 195–203 (2000).
197. Karpf, J. et al. Dentate gyrus astrocytes exhibit layer-specific molecular, morphological and physiological features. *Nat Neurosci* **25**, 1626–1638 (2022).
198. Viana, J. F. et al. Astrocyte structural heterogeneity in the mouse hippocampus. *Glia* **71**, 1667–1682 (2023).
199. Song, H., Stevens, C. F. & Gage, F. H. Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. *Nature* **417**, 39–44 (2002).
200. Sultan, S. et al. Synaptic integration of adult-born hippocampal neurons is locally controlled by astrocytes. *Neuron* **88**, 957–972 (2015).
201. Clarke, L. E. & Barres, B. A. Emerging roles of astrocytes in neural circuit development. *Nat Rev Neurosci* **14**, 311–321 (2013).
202. Barkho, B. Z. et al. Identification of astrocyte-expressed factors that modulate neural stem/progenitor cell differentiation. *Stem Cells Dev* **15**, 407–421 (2006).
203. Allen, N. J. et al. Astrocyte glypicans 4 and 6 promote formation of excitatory synapses via GluA1 AMPA receptors. *Nature* **486**, 410–414 (2012).
204. Henneberger, C. et al. LTP induction boosts glutamate spillover by driving withdrawal of perisynaptic astroglia. *Neuron* **108**, 919–936.e11 (2020).
205. del Rio Hortega, P. Microglia in cytology and cellular pathology of the nervous system. in *Cytology and cellular pathology of the nervous system* (ed. Hoeber, P. B.) 480–534 (New York, 1932).
206. Ginhoux, F. et al. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science* (1979) **330**, 841–845 (2010).

207. Kuhn, H. G. *et al.* Increased generation of granule cells in adult Bcl-2-overexpressing mice: a role for cell death during continued hippocampal neurogenesis. *European Journal of Neuroscience* **22**, 1907–1915 (2005).
208. Ribak, C. E., Shapiro, L. A., Perez, Z. D. & Spigelman, I. Microglia-associated granule cell death in the normal adult dentate gyrus. *Brain Struct Funct* **214**, 25–35 (2009).
209. Shapiro, L. A., Perez, Z. D., Foresti, M. L., Arisi, G. M. & Ribak, C. E. Morphological and ultrastructural features of Iba1-immunolabeled microglial cells in the hippocampal dentate gyrus. *Brain Res* **1266**, 29–36 (2009).
210. Jin, W. N. *et al.* Neuroblast senescence in the aged brain augments natural killer cell cytotoxicity leading to impaired neurogenesis and cognition. *Nat Neurosci* **24**, 61–73 (2021).
211. Araki, T., Ikegaya, Y. & Koyama, R. The effects of microglia- and astrocyte-derived factors on neurogenesis in health and disease. *European Journal of Neuroscience* **54**, 5880–5901 (2021).
212. Bolós, M. *et al.* Absence of microglial CX3CR1 impairs the synaptic integration of adult-born hippocampal granule neurons. *Brain Behav Immun* **68**, 76–89 (2018).
213. Kreisel, T., Wolf, B., Keshet, E. & Licht, T. Unique role for dentate gyrus microglia in neuroblast survival and in VEGF-induced activation. *Glia* **67**, 594–618 (2019).
214. Vukovic, J., Colditz, M. J., Blackmore, D. G., Ruitenberg, M. J. & Bartlett, P. F. Microglia modulate hippocampal neural precursor activity in response to exercise and aging. *Journal of Neuroscience* **32**, 6435–6443 (2012).
215. Ziv, Y. *et al.* Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood. *Nat Neurosci* **9**, 268–275 (2006).
216. Vallières, L., Campbell, I. L., Gage, F. H. & Sawchenko, P. E. Reduced hippocampal neurogenesis in adult transgenic mice with chronic astrocytic production of interleukin-6. *Journal of Neuroscience* **22**, 486–492 (2002).
217. Ja, W. K. & Duman, R. S. IL-1 β is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**, 751–756 (2008).
218. Iosif, R. E. *et al.* Tumor necrosis factor receptor 1 is a negative regulator of progenitor proliferation in adult hippocampal neurogenesis. *Journal of Neuroscience* **26**, 9703–9712 (2006).
219. Shen, Q. *et al.* Endothelial cells stimulate self-renewal and expand neurogenesis of neural stem cells. *Science* (1979) **304**, 1338–1340 (2004).
220. Shen, Q. *et al.* Adult svz stem cells lie in a vascular niche: a quantitative analysis of niche cell-cell interactions. *Cell Stem Cell* **3**, 289–300 (2008).
221. Jin, K. *et al.* Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**, 11946–11950 (2002).

222. Recio-Pinto, E., Rechler, M. M. & Ishii, D. N. Effects of insulin, insulin-like growth factor-II, and nerve growth factor on neurite formation and survival cultured sympathetic and sensory neurons. *Journal of Neuroscience* **6**, 1211–1219 (1986).
223. Shetty, A. K., Hattiangady, B. & Shetty, G. A. Stem/progenitor cell proliferation factors FGF-2, IGF-1, and VEGF exhibit early decline during the course of aging in the hippocampus: Role of astrocytes. *Glia* **51**, 173–186 (2005).
224. Rai, K. S., Hattiangady, B. & Shetty, A. K. Enhanced production and dendritic growth of new dentate granule cells in the middle-aged hippocampus following intracerebroventricular FGF-2 infusions. *European Journal of Neuroscience* **26**, 1765–1779 (2007).
225. Hebb, D. O. *The Organization of Behaviour*. (Wiley, New York, 1949).
226. Kempermann, G., Kuhn, H. G. & Gage, F. H. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* **386**, 493–495 (1997).
227. Olson, A. K., Eadie, B. D., Ernst, C. & Christie, B. R. Environmental enrichment and voluntary exercise massively increase neurogenesis in the adult hippocampus via dissociable pathways. *Hippocampus* **16**, 250–260 (2006).
228. van Praag, H., Kempermann, G. & Gage, F. H. Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci* **1**, 191–198 (2000).
229. Plümpe, T. et al. Variability of doublecortin-associated dendrite maturation in adult hippocampal neurogenesis is independent of the regulation of precursor cell proliferation. *BMC Neurosci* **7**, 77 (2006).
230. van Praag, H., Kempermann, G. & Gage, F. H. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci* **2**, 266–270 (1999).
231. Carro, E., Trejo, J. L., Busiguina, S. & Torres-Aleman, I. Circulating insulin-like growth factor I mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy. *The Journal of Neuroscience* **21**, 5678–5684 (2001).
232. Moreno-Jiménez, E. P., Jurado-Arjona, J., Ávila, J. & Llorens-Martín, M. The Social Component of Environmental Enrichment Is a Pro-neurogenic Stimulus in Adult c57BL6 Female Mice. *Front Cell Dev Biol* **7**, 1–12 (2019).
233. Gould, E., Beylin, A., Tanapat, P., Reeves, A. & Shors, T. J. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci* **2**, 260–265 (1999).
234. Ambrogini, P. et al. Spatial learning affects immature granule cell survival in adult rat dentate gyrus. *Neurosci Lett* **286**, 21–24 (2000).
235. Kempermann, G., Kuhn, H. G. & Gage, F. H. Experience-Induced Neurogenesis in the Senescent Dentate Gyrus. *The Journal of Neuroscience* **18**, 3206–3212 (1998).
236. van Praag, H., Shubert, T., Zhao, C. & Gage, F. H. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *Journal of Neuroscience* **25**, 8680–8685 (2005).

237. Bergami, M. et al. A critical period for experience-dependent remodeling of adult-born neuron connectivity. *Neuron* **85**, 710–717 (2015).
238. Temprana, S. G. et al. Delayed Coupling to Feedback Inhibition during a Critical Period for the Integration of Adult-Born Granule Cells. *Neuron* **85**, 116–130 (2015).
239. Lee, J., Duan, W. & Mattson, M. P. Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. *J Neurochem* **82**, 1367–1375 (2002).
240. Malberg, J. E., Eisch, A. J., Nestler, E. J. & Duman, R. S. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *Journal of Neuroscience* **20**, 9104–9110 (2000).
241. Perera, T. D. et al. Antidepressant-induced neurogenesis in the hippocampus of adult nonhuman primates. *Journal of Neuroscience* **27**, 4894–4901 (2007).
242. Perera, T. D. et al. Necessity of hippocampal neurogenesis for the therapeutic action of antidepressants in adult nonhuman primates. *PLoS One* **6**, e17600 (2011).
243. Santarelli, L. et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* (1979) **301**, 805–809 (2003).
244. Nieto-Quero, A. et al. Unveiling the Secrets of the Stressed Hippocampus: Exploring Proteomic Changes and Neurobiology of Posttraumatic Stress Disorder. *Cells* **12**, 2290 (2023).
245. Lemaire, V., Koehl, M., Le Moal, M. & Abrous, D. N. Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 11032–11037 (2000).
246. Ibi, D. et al. Social isolation rearing-induced impairment of the hippocampal neurogenesis is associated with deficits in spatial memory and emotion-related behaviors in juvenile mice. *J Neurochem* **105**, 921–932 (2008).
247. Lindqvist, A. et al. High-fat diet impairs hippocampal neurogenesis in male rats. *Eur J Neurol* **13**, 1385–1388 (2006).
248. Robison, L. S. et al. High-fat diet-induced obesity causes sex-specific deficits in adult hippocampal neurogenesis in mice. *eNeuro* **7**, (2020).
249. Guzmán-Marín, R. et al. Rapid eye movement sleep deprivation contributes to reduction of neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of the adult rat. *Sleep* **31**, 167–175 (2008).
250. Guzmán-Marín, R. et al. Sleep deprivation reduces proliferation of cells in the dentate gyrus of the hippocampus in rats. *Journal of Physiology* **549**, 563–571 (2003).
251. Mirescu, C., Peters, J. D., Noiman, L. & Gould, E. Sleep deprivation inhibits adult neurogenesis in the hippocampus by elevating glucocorticoids. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 19170–19175 (2006).

252. Guzmán-Marín, R., Bashir, T., Suntsova, N., Szymusiak, R. & McGinty, D. Hippocampal neurogenesis is reduced by sleep fragmentation in the adult rat. *Neuroscience* **148**, 325–333 (2007).
253. Parent, J. M. et al. Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *Journal of Neuroscience* **17**, 3727–3738 (1997).
254. Walter, C., Murphy, B. L., Pun, R. Y. K., Spieles-Engemann, A. L. & Danzer, S. C. Pilocarpine-induced seizures cause selective time-dependent changes to adult-generated hippocampal dentate granule cells. *Journal of Neuroscience* **27**, 7541–7552 (2007).
255. Cho, K.-O. et al. Aberrant hippocampal neurogenesis contributes to epilepsy and associated cognitive decline. *Nat Commun* **6**, 6606 (2015).
256. Sierra, A. et al. Neuronal hyperactivity accelerates depletion of neural stem cells and impairs hippocampal neurogenesis. *Cell Stem Cell* **16**, 488–503 (2015).
257. Abiega, O. et al. Neuronal hyperactivity disturbs ATP microgradients, impairs microglial motility, and reduces phagocytic receptor expression triggering apoptosis/microglial phagocytosis uncoupling. *PLoS Biol* **14**, e1002466 (2016).
258. Ekdahl, C. T., Claasen, J. H., Bonde, S., Kokaia, Z. & Lindvall, O. Inflammation is detrimental for neurogenesis in adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 13632–13637 (2003).
259. Monje, M. L., Toda, H. & Palmer, T. D. Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. *Science* (1979) **302**, 1760–1765 (2003).
260. Seki, T. & Arai, Y. Age-related production of new granule cells in the adult dentate gyrus. *Neuroreport* **6**, 2479–2482 (1995).
261. Geinisman, Y., de Toledo-Morrell, L., Morrell, F., Persina, I. S. & Rossi, M. Age-related loss of axospinous synapses formed by two afferent systems in the rat dentate gyrus as revealed by the unbiased stereological disector technique. *Hippocampus* **2**, 437–444 (1992).
262. Coras, R. et al. Low proliferation and differentiation capacities of adult hippocampal stem cells correlate with memory dysfunction in humans. *Brain* **133**, 3359–3372 (2010).
263. Kempermann, G. et al. Human adult neurogenesis: evidence and remaining questions. *Cell Stem Cell* **23**, 25–30 (2018).
264. Lucassen, P. J., Fitzsimons, C. P., Salta, E. & Maletić-Savatić, M. Adult neurogenesis, human after all (again): Classic, optimized, and future approaches. *Behavioural Brain Research* **381**, 112458 (2020).
265. Boekhoorn, K., Joels, M. & Lucassen, P. J. Increased proliferation reflects glial and vascular-associated changes, but not neurogenesis in the presenile Alzheimer hippocampus. *Neurobiol Dis* **24**, 1–14 (2006).

- 266.Terstege, D. J., Addo-Osafo, K., Campbell Teskey, G. & Epp, J. R. New neurons in old brains: implications of age in the analysis of neurogenesis in post-mortem tissue. *Mol Brain* **15**, 10-13 (2022).
- 267.Ritchie, T., Scully, S. A., de Vellis, J. & Noble, E. P. Stability of neuronal and glial marker enzymes in post-mortem rat brain. *Neurochem Res* **11**, 383-392 (1986).
- 268.Wang, Y. *et al.* Effects of post-mortem delay on subunits of ionotropic glutamate receptors in human brain. *Molecular Brain Research* **80**, 123-131 (2000).
- 269.Swaab, D. F. & Uylings, H. B. M. Potentialities and pitfalls in the use of human brain material in molecular neuroanatomy. in *Molecular Neuroanatomy* (ed. Van Leeuwen, Buijs, P. and P.) 403-416 (Elsevier Science Publishers (Biomedical Division), 1988).
- 270.Moreno-Jiménez, E. P., Terreros-Roncal, J., Flor-García, M., Rábano, A. & Llorens-Martín, M. Evidences for Adult Hippocampal Neurogenesis in Humans. *The Journal of Neuroscience* **41**, 2541-2553 (2021).
- 271.Robinson, A. C. *et al.* Extended post-mortem delay times should not be viewed as a deterrent to the scientific investigation of human brain tissue: a study from the Brains for Dementia Research Network Neuropathology Study Group, UK. *Acta Neuropathol* **132**, 753-755 (2016).
- 272.Blair, J. A. *et al.* Individual case analysis of postmortem interval time on brain tissue preservation. *PLoS One* **11**, 1-14 (2016).
- 273.Erkut, Z. A., Klooker, T., Endert, E., Huitinga, I. & Swaab, D. F. Stress of dying is not suppressed by high-dose morphine or by dementia. *Neuropsychopharmacology* **29**, 152-157 (2004).
- 274.Buesa, R. J. Histology without formalin? *Ann Diagn Pathol* **12**, 387-396 (2008).
- 275.Hopwood, D., Slidders, W. & Yeaman, G. R. Tissue fixation with phenol-formaldehyde for routine histopathology. *Histochem J* **21**, 228-234 (1989).
- 276.Pikkarainen, M., Martikainen, P. & Alafuzoff, I. The effect of prolonged fixation time on immunohistochemical staining of common neurodegenerative disease markers. *J Neuropathol Exp Neurol* **69**, 40-52 (2010).
- 277.Mason, J. T. & O'Leary, T. J. Effects of formaldehyde fixation on protein secondary structure: A calorimetric and infrared spectroscopic investigation. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* **39**, 225-229 (1991).
- 278.Shi, S.-R., Key, M. E. & Kalra, K. L. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: An enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* **39**, 741-748 (1991).
- 279.Munakata, S. & Hendricks, J. B. Effect of fixation time and microwave oven heating time on retrieval of the Ki-67 antigen from paraffin-embedded tissue. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* **41**, 1241-1246 (1993).

280. Taylor, C. R. *et al.* Strategies for improving the immunohistochemical staining of various intranuclear prognostic markers in formalin-paraffin sections: Androgen receptor, estrogen receptor, progesterone receptor, p53 protein, proliferating cell nuclear antigen, and Ki-67 ant. *Hum Pathol* **25**, 263–270 (1994).
281. Liu, R. X. *et al.* No DCX-positive neurogenesis in the cerebral cortex of the adult primate. *Neural Regen Res* **15**, 1290–1299 (2020).
282. Nishioka, N., Takahata, N. & Iizuka, R. Histochemical studies on the lipo-pigments in the nerve cells. A comparison with lipofuscin and ceroid pigment. *Acta Neuropathol* **11**, 174–181 (1968).
283. Goyal, V. K. Lipofuscin pigment accumulation in human brain during aging. *Exp Gerontol* **17**, 481–487 (1982).
284. Del Castillo, P., Llorente, A. R. & Stockert, J. C. Influence of fixation, exciting light and section thickness on the primary fluorescence of samples for microfluorometric analysis. *Basic Appl Histochem* **33**, 251–257 (1989).
285. Willingham, M. C. An alternative fixation-processing method for preembedding ultrastructural immunocytochemistry of cytoplasmic antigens: the GBS (glutaraldehyde-borohydride-saponin) procedure. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* **31**, 791–798 (1983).
286. Clancy, B. & Cauller, L. J. Reduction of background autofluorescence in brain sections following immersion in sodium borohydride. *J Neurosci Methods* **83**, 97–102 (1998).
287. Thavarajah, R., Mudimbaimannar, V. K., Elizabeth, J., Rao, U. K. & Ranganathan, K. Chemical and physical basics of routine formaldehyde fixation. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* **16**, 400–405 (2012).
288. Ploeger, S., Guldemond, J. M., Feirabend, H. K. & Marani, E. Acidification of human brains stored in fixatives. *Eur J Morphol* **31**, 286–90 (1993).
289. Willingham, M. C. Fluorescence labeling of intracellular antigens of attached or suspended tissue-culture cells. in *Methods in Molecular Biology* vol. 11 153–164 (2010).
290. Lacaille-Dubois, M. A. & Wagner, H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine* **2**, 363–386 (1996).
291. Zhao, X. & van Praag, H. Steps towards standardized quantification of adult neurogenesis. *Nat Commun* **11**, 1–10 (2020).
292. Tobin, M. K. *et al.* Human Hippocampal Neurogenesis Persists in Aged Adults and Alzheimer's Disease Patients. *Cell Stem Cell* **24**, 974–982 (2019).
293. Llorens-Martín, M., Torres-Alemán, I. & Trejo, J. L. Pronounced individual variation in the response to the stimulatory action of exercise on immature hippocampal neurons. *Hippocampus* **16**, 480–490 (2006).

294. Mueller, A. D. *et al.* Sleep deprivation can inhibit adult hippocampal neurogenesis independent of adrenal stress hormones. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **294**, 1693–1703 (2008).
295. Seki, T., Hori, T., Miyata, H., Maehara, M. & Namba, T. Analysis of proliferating neuronal progenitors and immature neurons in the human hippocampus surgically removed from control and epileptic patients. *Sci Rep* **9**, 1–14 (2019).
296. Ammorthumkandy, A. *et al.* Altered adult neurogenesis and gliogenesis in patients with mesial temporal lobe epilepsy. *Nat Neurosci* **25**, 493–503 (2022).
297. Marsh, S. E. *et al.* Dissection of artifactual and confounding glial signatures by single-cell sequencing of mouse and human brain. *Nat Neurosci* **25**, 306–316 (2022).
298. Tosoni, G. *et al.* Mapping human adult hippocampal neurogenesis with single-cell transcriptomics: Reconciling controversy or fueling the debate? *Neuron* 1–18 (2023) doi:10.1016/j.neuron.2023.03.010.
299. Cipriani, S. *et al.* Hippocampal radial glial subtypes and their neurogenic potential in human fetuses and healthy and Alzheimer's disease adults. *Cerebral Cortex* **28**, 2458–2478 (2018).
300. Terreros-Roncal, J. *et al.* Response to Comment on "Impact of neurodegenerative diseases on human adult hippocampal neurogenesis". *Science* (1979) **376**, (2022).
301. Terreros-Roncal, J. *et al.* Response to Comment on "Impact of neurodegenerative diseases on human adult hippocampal neurogenesis". *Science* (1979) **376**, 1–10 (2022).
302. Gómez-Nicola, D. *et al.* Temporal dynamics of hippocampal neurogenesis in chronic neurodegeneration. *Brain* **137**, 2312–2328 (2014).
303. Martín-Suárez, S., Valero, J., Muro-García, T. & Encinas, J. M. Phenotypical and functional heterogeneity of neural stem cells in the aged hippocampus. *Aging Cell* **18**, 1–14 (2019).
304. Blümcke, I. *et al.* Increase of nestin-immunoreactive neural precursor cells in the dentate gyrus of pediatric patients with early-onset temporal lobe epilepsy. *Hippocampus* **11**, 311–321 (2001).
305. Marichal, N., García, G., Radmilovich, M., Trujillo-Cenóz, O. & Russo, R. E. Enigmatic central canal contacting cells: Immature neurons in 'standby mode'? *Journal of Neuroscience* **29**, 10010–10024 (2009).
306. Brown, J. P. *et al.* Transient expression of doublecortin during adult neurogenesis. *Journal of Comparative Neurology* **467**, 1–10 (2003).
307. Nacher, J., Crespo, C. & McEwen, B. S. Doublecortin expression in the adult rat telencephalon. *European Journal of Neuroscience* **14**, 629–644 (2001).
308. Seki, T. Hippocampal adult neurogenesis occurs in a microenvironment provided by PSA-NCAM-expressing immature neurons. *J Neurosci Res* **69**, 772–783 (2002).

309. Bloch, J. *et al.* Doublecortin-positive cells in the adult primate cerebral cortex and possible role in brain plasticity and development. *Journal of Comparative Neurology* **519**, 775–789 (2011).
310. Jessberger, S., Toni, N., Clemenson, G. D., Ray, J. & Gage, F. H. Directed differentiation of hippocampal stem/progenitor cells in the adult brain. *Nat Neurosci* **11**, 888–893 (2008).
311. Wang, J. W., David, D. J., Monckton, J. E., Battaglia, F. & Hen, R. Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adult-born hippocampal granule cells. *Journal of Neuroscience* **28**, 1374–1384 (2008).
312. Trinchero, M. F. *et al.* High plasticity of new granule cells in the aging hippocampus. *Cell Rep* **21**, 1129–1139 (2017).
313. Snyder, J. S. *et al.* Adult-born hippocampal neurons are more numerous, faster maturing, and more involved in behavior in rats than in mice. *Journal of Neuroscience* **29**, 14484–14495 (2009).
314. Kohler, S. J., Williams, N. I., Stanton, G. B., Cameron, J. L. & Greenough, W. T. Maturation time of new granule cells in the dentate gyrus of adult macaque monkeys exceeds six months. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**, 10326–10331 (2011).
315. Marín-Burgin, A., Mongiat, L. A., Pardi, M. B. & Schinder, A. F. Unique processing during a period of high excitation/inhibition balance in adult-born neurons. *Science* (1979) **335**, 1238–1242 (2012).
316. Yuan, T. F., Li, J., Ding, F. & Arias Carrión, O. Evidence of adult neurogenesis in non-human primates and human. *Cell Tissue Res* **358**, 17–23 (2014).
317. Araque, A. *et al.* Gliotransmitters travel in time and space. *Neuron* **81**, 728–739 (2014).
318. Suzuki, A. *et al.* Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation. *Cell* **144**, 810–823 (2011).
319. Hochgerner, H., Zeisel, A., Lönnberg, P. & Linnarsson, S. Conserved properties of dentate gyrus neurogenesis across postnatal development revealed by single-cell RNA sequencing. *Nat Neurosci* **21**, 290–299 (2018).
320. Overstreet-Wadiche, L. S., Bensen, A. S. L. & Westbrook, G. L. Delayed development of adult-generated granule cells in dentate gyrus. *Journal of Neuroscience* **26**, 2326–2334 (2006).
321. Trinchero, M. F., Herrero, M., Monzón-Salinas, M. C. & Schinder, A. F. Experience-Dependent Structural Plasticity of Adult-Born Neurons in the Aging Hippocampus. *Front Neurosci* **13**, 1–10 (2019).
322. Rao, M. S., Hattiangady, B. & Shetty, A. K. The window and mechanisms of major age-related decline in the production of new neurons within the dentate gyrus of the hippocampus. *Aging Cell* **5**, 545–558 (2006).

323. Seki, T. Expression patterns of immature neuronal markers PSA-NCAM, CRMP-4 and NeuroD in the hippocampus of young adult and aged rodents. *J Neurosci Res* **70**, 327–334 (2002).
324. Aizawa, K., Ageyama, N., Yokoyama, C. & Hisatsune, T. Age-dependent alteration in hippocampal neurogenesis correlates with learning performance of Macaque Monkeys. *Exp Anim* **58**, 403–407 (2009).
325. Leuner, B., Kozorovitskiy, Y., Gross, C. G. & Gould, E. Diminished adult neurogenesis in the marmoset brain precedes old age. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**, 17169–17173 (2007).
326. Ngwenya, L. B., Peters, A. & Rosene, D. L. Maturational sequence of newly generated neurons in the dentate gyrus of the young adult rhesus monkey. *Journal of Comparative Neurology* **498**, 204–216 (2006).
327. Ngwenya, L. B., Heyworth, N. C., Shwe, Y., Moore, T. L. & Rosene, D. L. Age-related changes in dentate gyrus cell numbers, neurogenesis, and associations with cognitive impairments in the rhesus monkey. *Front Syst Neurosci* **9**, 1–16 (2015).
328. Briley, D. et al. Preserved neurogenesis in non-demented individuals with AD neuropathology. *Sci Rep* **6**, 27812 (2016).
329. Stephan, A. H., Barres, B. A. & Stevens, B. The complement system: an unexpected role in synaptic pruning during development and disease. *Annu Rev Neurosci* **35**, 369–389 (2012).
330. Clarke, L. E. et al. Normal aging induces A1-like astrocyte reactivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**, E1896–E1905 (2018).
331. Jang, E. et al. Phenotypic polarization of activated astrocytes: the critical role of Lipocalin-2 in the classical inflammatory activation of astrocytes. *The Journal of Immunology* **191**, 5204–5219 (2013).
332. Asrican, B. et al. Neuropeptides modulate local astrocytes to regulate adult hippocampal neural stem cells. *Neuron* **108**, 349–366.e6 (2020).
333. De la Torre, J. C. Impaired Cerebromicrovascular Perfusion: Summary of Evidence in Support of Its Causality in Alzheimer's Disease. *Ann N Y Acad Sci* **924**, 136–152 (2000).
334. Goldman, S. A. & Chen, Z. Perivascular instruction of cell genesis and fate in the adult brain. *Nat Neurosci* **14**, 1382–1389 (2011).
335. Alzheimer, A. A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-gerichtliche Medizin* **64**, 146–8 (1907).
336. Winblad, B. et al. Defeating Alzheimer's disease and other dementias: A priority for European science and society. *Lancet Neurol* **15**, 455–532 (2016).
337. Hampel, H. et al. The Amyloid-β pathway in Alzheimer's Disease. *Mol Psychiatry* **26**, 5481–5503 (2021).

338. Kang, J. et al. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* **325**, 733–736 (1987).
339. Glenner, G. G. & Wong, C. W. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* **120**, 885–890 (1984).
340. Kosik, K. S., Joachim, C. L. & Selkoe, D. J. Microtubule-associated protein tau (τ) is a major antigenic component of paired helical filaments in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* **83**, 4044–4048 (1986).
341. Wood, J. G., Mirra, S. S., Pollock, N. J. & Binder, L. I. Neurofibrillary tangles of Alzheimer disease share antigenic determinants with the axonal microtubule-associated protein tau (τ). *Proc Natl Acad Sci U S A* **83**, 4040–4043 (1986).
342. Braak, H. & Braak, E. Morphology of Alzheimer disease. *Fortschr Med* **108**, 621–4 (1990).
343. Braak, H. & Braak, E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* **82**, 239–259 (1991).
344. Stelzmann, R. A., Norman Schnitzlein, H. & Reed Murtagh, F. An english translation of alzheimer's 1907 paper, "über eine eigenartige erkankung der hirnrinde". *Clinical Anatomy* **8**, 429–431 (1995).
345. Ally, B. A., Hussey, E. P., Ko, P. C. & Molitor, R. J. Pattern separation and pattern completion in Alzheimer's disease: Evidence of rapid forgetting in amnestic mild cognitive impairment. *Hippocampus* **23**, 1246–1258 (2013).
346. Collins, J. D., Henley, S. M. D. & Suárez-González, A. A systematic review of the prevalence of depression, anxiety, and apathy in frontotemporal dementia, atypical and young-onset Alzheimer's disease, and inherited dementia. *Int Psychogeriatr* **35**, 457–476 (2020).
347. Jin, K. et al. Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**, 343–347 (2004).
348. Mikkonen, M., Soininen, H., Tapiola, T., Alafuzoff, I. & Miettinen, R. Hippocampal plasticity in Alzheimer's disease: Changes in highly polysialylated NCAM immunoreactivity in the hippocampal formation. *European Journal of Neuroscience* **11**, 1754–1764 (1999).
349. Perry, E. K. et al. Neurogenic abnormalities in Alzheimer's disease differ between stages of neurogenesis and are partly related to cholinergic pathology. *Neurobiol Dis* **47**, 155–162 (2012).
350. Li, B. et al. Failure of neuronal maturation in Alzheimer disease dentate gyrus. *J Neuropathol Exp Neurol* **67**, 78–84 (2008).
351. Cao, Y. et al. Reduced neurogenesis in human hippocampus with Alzheimer's disease. *Brain Pathology* **34**, 1–14 (2024).

352. Hamilton, L. K. *et al.* Widespread deficits in adult neurogenesis precede plaque and tangle formation in the 3xTg mouse model of Alzheimer's disease. *European Journal of Neuroscience* **32**, 905-920 (2010).
353. Ekonomou, A. *et al.* Stage-specific changes in neurogenic and glial markers in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* **77**, 711-719 (2015).
354. Schliebs, R. & Arendt, T. The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease. *J Neural Transm* **113**, 1625-1644 (2006).
355. Imai, T. *et al.* The neural RNA-binding protein Musashi1 translationally regulates mammalian numb gene expression by interacting with its mRNA. *Mol Cell Biol* **21**, 3888-3900 (2001).
356. Du, A. T. *et al.* Higher atrophy rate of entorhinal cortex than hippocampus in AD. *Neurology* **62**, 422-427 (2004).
357. Gómez-Isla, T. *et al.* Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience* **16**, 4491-4500 (1996).
358. Kordower, J. H. *et al.* Loss and atrophy of layer II entorhinal cortex neurons in elderly people with mild cognitive impairment. *Ann Neurol* **49**, 202-213 (2001).
359. Frotscher, M., Drakew, A. & Heimrich, B. Role of afferent innervation and neuronal activity in dendritic development and spine maturation of fascia dentata granule cells. *Cerebral Cortex* **10**, 946-951 (2000).
360. Llorens-Martín, M. *et al.* GSK-3 β overexpression causes reversible alterations on postsynaptic densities and dendritic morphology of hippocampal granule neurons in vivo. *Mol Psychiatry* **18**, 451-460 (2013).
361. Márquez-Valadez, B., Rábano, A. & Llorens-Martín, M. Progression of Alzheimer's disease parallels unusual structural plasticity of human dentate granule cells. *Acta Neuropathol Commun* **10**, 125 (2022).
362. Berron, D. *et al.* Strong evidence for pattern separation in human dentate gyrus. *Journal of Neuroscience* **36**, 7569-7579 (2016).
363. Laczó, M. *et al.* Spatial pattern separation testing differentiates Alzheimer's disease biomarker-positive and biomarker-negative older adults with amnestic mild cognitive impairment. *Cognitive Impairment. Front Aging Neurosci* **13**, (2021).
364. Abdulla, S. *et al.* Hippocampal degeneration in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging* **35**, 2639-2645 (2014).
365. Tang, X. *et al.* Regional subcortical shape analysis in premanifest Huntington's disease. *Hum Brain Mapp* **40**, 1419-1433 (2019).
366. Adamowicz, D. H. *et al.* Hippocampal β -synuclein in dementia with Lewy bodies contributes to memory impairment and is consistent with spread of pathology. *Journal of Neuroscience* **37**, 1675-1684 (2017).

367. Brück, A., Kurki, T., Kaasinen, V., Vahlberg, T. & Rinne, J. O. Hippocampal and prefrontal atrophy in patients with early non-demented Parkinson's disease is related to cognitive impairment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **75**, 1467–1469 (2004).
368. Bocchetta, M. et al. Hippocampal subfield volumetry: differential pattern of atrophy in different forms of genetic frontotemporal dementia. *Journal of Alzheimer's Disease* **64**, 497–504 (2018).
369. Charcot, J.-M. & Joffroy, A. Deux cas d'atrophie musculaire progressive avec lesions de la substance grise et des faisceaux antero-latéraux de la moelle epiniere. *Arch. Physiol. Neurol. Pathol.* **2**, 744–754 (1869).
370. Rosen, D. R. et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* **362**, 59–62 (1993).
371. Neumann, M. et al. Ubiquitinated TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Science* (1979) **314**, 130–133 (2006).
372. Mackenzie, I. R. A. et al. Pathological TDP-43 distinguishes sporadic amyotrophic lateral sclerosis from amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations. *Ann Neurol* **61**, 427–434 (2007).
373. Tan, C. F. et al. TDP-43 immunoreactivity in neuronal inclusions in familial amyotrophic lateral sclerosis with or without SOD1 gene mutation. *Acta Neuropathol* **113**, 535–542 (2007).
374. Liu, Z. & Martin, L. J. The adult neural stem and progenitor cell niche is altered in amyotrophic lateral sclerosis mouse brain. *J Comp Neurol* **497**, 468–488 (2006).
375. Galán, L., Gómez-Pinedo, U., Guerrero, A., García-Verdugo, J. M. & Matías-Guiu, J. Amyotrophic lateral sclerosis modifies progenitor neural proliferation in adult classic neurogenic brain niches. *BMC Neurol* **17**, 1–10 (2017).
376. Gómez-Pinedo, U. et al. Notch signalling in the hippocampus of patients with motor neuron disease. *Front Neurosci* **13**, 1–13 (2019).
377. MacDonald, M. E. et al. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* **72**, 971–983 (1993).
378. Martin, J. B. & Gusella, J. F. Huntington's Disease. Pathogenesis and management. *New England Journal of Medicine* **315**, 1267–1276 (1986).
379. Harris, K. L. et al. Huntington's disease patients display progressive deficits in hippocampal-dependent cognition during a task of spatial memory. *Cortex* **119**, 417–427 (2019).
380. Curtis, M. A. et al. Increased cell proliferation and neurogenesis in the adult human Huntington's disease brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **100**, 9023–9027 (2003).

381. Low, V. F., Dragunow, M., Tippett, L. J., Faull, R. L. M. & Curtis, M. A. No change in progenitor cell proliferation in the hippocampus in Huntington's disease. *Neuroscience* **199**, 577–588 (2011).
382. Phillips, W., Morton, A. J. & Barker, R. A. Abnormalities of neurogenesis in the R6/2 mouse model of Huntington's disease are attributable to the in vivo microenvironment. *Journal of Neuroscience* **25**, 11564–11576 (2005).
383. Mangiarini, L. et al. Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell* **87**, 493–506 (1996).
384. Gil, J. M. A. C. et al. Reduced hippocampal neurogenesis in R6/2 transgenic Huntington's disease mice. *Neurobiol Dis* **20**, 744–751 (2005).
385. Murphy, K. P. S. J. et al. Abnormal synaptic plasticity and impaired spatial cognition in mice transgenic for exon 1 of the human Huntington's disease mutation. *Journal of Neuroscience* **20**, 5115–5123 (2000).
386. Maroteaux, L., Campanelli, J. T. & Scheller, R. H. Synuclein: A neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. *Journal of Neuroscience* **8**, 2804–2815 (1988).
387. Spillantini, M. G., Crowther, R. A., Jakes, R., Hasegawa, M. & Goedert, M. α -Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, 6469–6473 (1998).
388. Walker, L., Stefanis, L. & Attems, J. Clinical and neuropathological differences between Parkinson's disease, Parkinson's disease dementia and dementia with Lewy bodies – current issues and future directions. *J Neurochem* **150**, 467–474 (2019).
389. Spillantini, M. G. et al. α -Synuclein in Lewy bodies. *Nature* **388**, 839–840 (1997).
390. Polymeropoulos, M. H. et al. Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* (1979) **276**, 2045–2047 (1997).
391. Zhang, Y., Wu, Q., Ren, Y., Zhang, Y. & Feng, L. A53T α -synuclein induces neurogenesis impairment and cognitive dysfunction in line M83 transgenic mice and reduces the proliferation of embryonic neural stem cells. *Brain Res Bull* **182**, 118–129 (2022).
392. Johnson, M. et al. Neurogenic marker abnormalities in the hippocampus in dementia with Lewy bodies. *Hippocampus* **21**, 1126–1136 (2011).
393. Parkinson, J. *An Essay on the Shaking Palsy*. (London, 1817).
394. Braak, H. et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* **24**, 197–211 (2003).
395. Marxreiter, F. et al. Changes in adult olfactory bulb neurogenesis in mice expressing the A30P mutant form of alpha-synuclein. *European Journal of Neuroscience* **29**, 879–890 (2009).

396. Nuber, S. *et al.* Olfactory neuron-specific expression of A30P alpha-synuclein exacerbates dopamine deficiency and hyperactivity in a novel conditional model of early Parkinson's disease stages. *Neurobiol Dis* **44**, 192–204 (2011).
397. Winner, B. *et al.* Role of α -synuclein in adult neurogenesis and neuronal maturation in the dentate gyrus. *Journal of Neuroscience* **32**, 16906–16916 (2012).
398. Höglinder, G. U. *et al.* Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. *Nat Neurosci* **7**, 726–735 (2004).
399. Pick, A. Über die Beziehungen der senilen Hirnatrophie zur Aphasie. *Prager Med Wochenschr* **17**, 165–167 (1892).
400. MacKenzie, I. R. A. *et al.* Nomenclature and nosology for neuropathologic subtypes of frontotemporal lobar degeneration: an update. *Acta Neuropathol* **119**, 1–4 (2010).
401. Lin, Z. *et al.* MRI-guided histology of TDP-43 knock-in mice implicates parvalbumin interneuron loss, impaired neurogenesis and aberrant neurodevelopment in amyotrophic lateral sclerosis-frontotemporal dementia. *Brain Commun* **3**, 1–20 (2021).
402. Terreros-Roncal, J. *et al.* Activity-dependent reconnection of adult-born dentate granule cells in a mouse model of frontotemporal dementia. *Journal of Neuroscience* **39**, 5794–5815 (2019).
403. Galán, L. *et al.* Subventricular zone in motor neuron disease with frontotemporal dementia. *Neurosci Lett* **499**, 9–13 (2011).
404. Wesnes, K. A. & Burn, D. J. Compromised object pattern separation performance in Parkinson's disease suggests dentate gyrus neurogenesis may be compromised in the condition. *J Alzheimers Dis Parkinsonism* **04**, 5–8 (2014).
405. O'Sullivan, S. S. *et al.* Nonmotor symptoms as presenting complaints in Parkinson's disease: A clinicopathological study. *Movement Disorders* **23**, 101–106 (2008).
406. Roos, R. A. Huntington's disease: a clinical review. *Orphanet J Rare Dis* **5**, 40 (2010).