

NEUROGÊNESE NO SISTEMA NERVOSO ADULTO DE MAMÍFEROS

Ilton Santos da Silva

Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, USP
Recebido 27jul09 / Aceito 15dez09 / Publicação inicial 17dez09
silvais@ib.usp.br

Resumo. O cientista espanhol Ramón y Cajal e seus contemporâneos defendiam a idéia de que o sistema nervoso de indivíduos adultos fosse imutável, sem a possibilidade de que novos neurônios surgissem. No entanto, com o desenvolvimento recente de novas técnicas, foi possível confirmar a existência da neurogênese na fase adulta. Como a maior parte dos novos neurônios surge em uma estrutura crítica nas funções de memória, acredita-se que eles contribuam para o aprimoramento destas funções e não sejam apenas vestígios ontogenéticos. Essa breve revisão busca discutir algumas teorias e evidências experimentais a respeito da neurogênese e seu papel no sistema nervoso de indivíduos adultos.

Palavras-chave. Aprendizagem e memória, neurogênese adulta, giro denteado, hipocampo.

NEUROGENESIS IN THE ADULT MAMMALIAN NERVOUS SYSTEM

Abstract. The Spanish scientist Ramón y Cajal and his contemporaries advocated the idea that the adult mammalian nervous systems were immutable and new neurons could not arise. However, with the recent development of new techniques, it was possible to confirm the existence of neurogenesis in adulthood. Like most of the new neurons arise in a critical structure for memory functions, it is believed that they contribute to improve these functions and not only constitute ontogenetic traces. This brief review discusses some theories and experimental evidences regarding to the neurogenesis and its role in the adult mammalian nervous system.

Keywords. Learning and memory, adult neurogenesis, dentate gyrus, hippocampus.

Breve histórico

As primeiras descrições detalhadas de células nervosas foram realizadas no final do século XIX por Camilo Golgi e Ramón y Cajal, contribuindo imensamente para a compreensão dos aspectos estruturais do sistema nervoso. Golgi desenvolveu técnicas de coloração utilizando sais de prata para corar neurônios, revelando detalhes da estrutura neuronal sob o microscópio, tais como o corpo celular, dendritos e axônio. Utilizando a técnica de coloração empregada por Golgi, o histologista espanhol Santiago Ramón y Cajal observou que o tecido nervoso é formado por uma rede de células distintas e que estas seriam os elementos fundamentais do sistema nervoso (Fig.1). Ramón y Cajal estudou as diferentes fases de desenvolvimento dos neurônios em mamíferos, observando que não havia a presença de qualquer sinal do surgimento de novas células no encéfalo adulto, além daquelas já estabelecidas ao nascimento. Outros pesquisadores da época também concluíram que a elaborada arquitetura do encéfalo de mamíferos permanece fixa e defenderam a idéia de que a adição de novas células era completamente inconcebível. Dessa forma, postulou-se que o sistema nervoso central possui conexões fixas e imutáveis, sem qualquer possibilidade de que novos neurônios surgissem.

Já na primeira metade do século XX, alguns estudos mostraram que havia o nascimento de novas células em encéfalos adultos (Hamilton, 1901; Allen, 1912; Sugita, 1918). Entretanto, a grande dificuldade era afirmar se essas novas células eram realmente

neurônios ou glia, tendo em vista a limitação dos métodos empregados na época.

Na década de 1960, Joseph Altman publicou uma série de estudos relatando a ocorrência de neurogênese em ratos jovens e adultos (Altman, 1962; Altman, 1963; Altman e Das, 1965; Altman e Das, 1966; Altman, 1966; Altman, 1969). Utilizando a técnica de autoradiografia com [³H]-Timidina, uma substância que é incorporada ao DNA das células em divisão, Altman observou o surgimento de novas células em diversas áreas, incluindo neocórtex, giro denteado e bulbo olfatório. Esse autor sugeriu ainda que estas células, que ele chamava de "microneurônios", possuíam axônios curtos e apresentavam forma granular ou estelar.

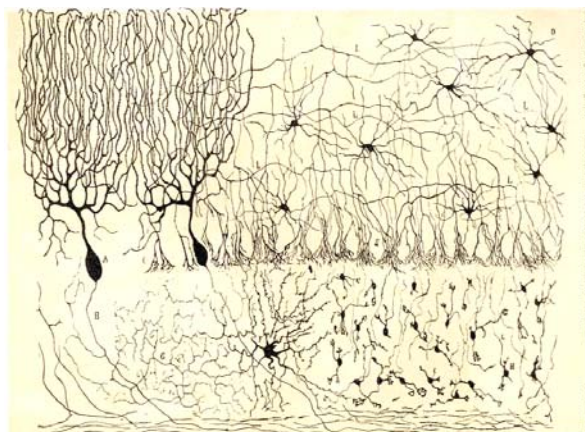


Figura 1 - Neurônios no cerebelo de ave. Desenho realizado por Ramón y Cajal, mostrando os cinco tipos celulares existentes no cerebelo: células de Purkinje; células esteladas; células em forma de cesto;

células granulares e células de Golgi (extraído de Sotelo, 2003).

Novamente as críticas surgiram em relação ao método empregado, que de fato não era o mais adequado para diferenciar células gliais de neurônios propriamente ditos. Outro motivo da não aceitação das observações de Altman foi a pouca credibilidade direcionada ao pesquisador, que na ocasião era pós-doutorando e trabalhava por conta própria. Dessa forma foi julgado incapaz de alterar um fato amplamente aceito pela comunidade científica contemporânea.

Com a ajuda da microscopia eletrônica, Michael Kaplan e seus colaboradores realizaram vários estudos, publicados a partir de 1977, mostrando que as células incorporadas com [³H]-Timidina no giro denteado e bulbo olfatório de ratos possuíam características ultra-estruturais de neurônios, tais como dendritos e sinapses, o que não é observado em astrócitos e oligodendrócitos (Kaplan e Hinds, 1977; Kaplan, 1984). O mesmo autor observou ainda novos neurônios no córtex cerebral de ratos adultos (Kaplan, 1981; Kaplan, 1985), confirmando assim as afirmações feitas por Altman. Os trabalhos de Kaplan receberam pouca atenção e também não foram suficientes para quebrar o “dogma” que parecia fortemente estabelecido.

O grande avanço no estudo da neurogênese ocorreu no final da década de 1980 com o emprego da 5-bromo-3'-deoxiuridina (BrdU) que é captada pelas células durante a fase S da mitose, sendo desta forma, um marcador de células em proliferação. As células marcadas com BrdU podem ser visualizadas por técnicas de imunocitoquímica, sem a necessidade de empregar auto-radiografia (Nowakowski e col., 1989). Desde então, vários estudos mostraram que a neurogênese é um processo que ocorre continuamente em certas regiões encefálicas de diversas espécies, incluindo aves (Goldman e Nottebohm, 1983), roedores (van Praag e col., 1999), macacos (Kornack e Rakic, 1999), e humanos (Eriksson e col., 1998). Portanto, depois de mais de um século de estudos e muita resistência quanto à existência do fenômeno, hoje a neurogênese em cérebros adultos é um fato amplamente aceito pelos neurocientistas.

Como ocorre maior parte da neurogênese no hipocampo, uma estrutura nervosa reconhecidamente envolvida em processos de aprendizagem e memória (O'Keefe e Nadel, 1978), as pesquisas recentes na área tentam apontar qual seria o papel desses novos neurônios nestas funções.

O surgimento de novos neurônios pode ainda ser regulado por fatores psico-fisiológicos como estresse e complexidade ambiental a que o animal é exposto. Estas questões serão discutidas com mais detalhes nos tópicos a seguir.

Regulação da Neurogênese

Diversos fatores podem interferir nos processos de neurogênese (e.g., neurais, endócrinos e ambientais), aumentando ou diminuindo a produção de novos neurônios no indivíduo adulto. Por exemplo, a elevação nos níveis de glicocorticóides, hormônios que têm seus níveis alterados em virtude de experiências estressantes como a exposição ao odor de um predador natural, pode diminuir a taxa de proliferação de células granulares do giro denteado do hipocampo de ratos (Heale e col., 1994), possivelmente por meio de um mecanismo que envolve a liberação e o acúmulo de glutamato no hipocampo (Moghddam e col., 1994; Gould e col., 2000). Eisch e col. (2000) mostraram também que o tratamento crônico com morfina ou heroína reduz significativamente a taxa de neurogênese na camada de células granulares do giro denteado de ratos. E esse resultado parece não estar relacionado com alterações dos níveis circulantes de glicocorticóides, pois os mesmos autores observaram efeitos similares em animais que foram submetidos à adrenalectomia e posterior reposição de corticosterona.

Por outro lado, certas condições propiciam a produção de novas células no hipocampo. Tanapat e col. (1999) mostraram que ratas submetidas ao procedimento de ovariectomia, visando eliminar a produção de estrógenos, apresentam menor número de células em proliferação marcadas com BrdU. No mesmo estudo, os autores observaram que durante o proestro (fase do ciclo estral de ratas em que os níveis de estrógenos estão altos) ocorre maior produção de novas células, sendo que a maioria delas adquire características neuronais.

Ambientes que fornecem uma combinação variada de estímulos também podem aumentar a neurogênese. Roedores adultos que são mantidos em gaiolas que contém objetos diferentes, tais como pequenos brinquedos, túneis, rodas de atividade física e obstáculos, exibem significativo aumento no número de células no giro denteado do hipocampo (Fig.2), (Kempermann e col., 1997). Ou seja, parece que o aumento da atividade exploratória e novas experiências sensoriais proporcionadas por estímulos diversos do ambiente enriquecido estimulam a aprendizagem, fazendo com que esses animais aumentem a sua capacidade de desempenhar tarefas cognitivas, diferentemente daqueles que vivem em gaiolas comuns de laboratório.

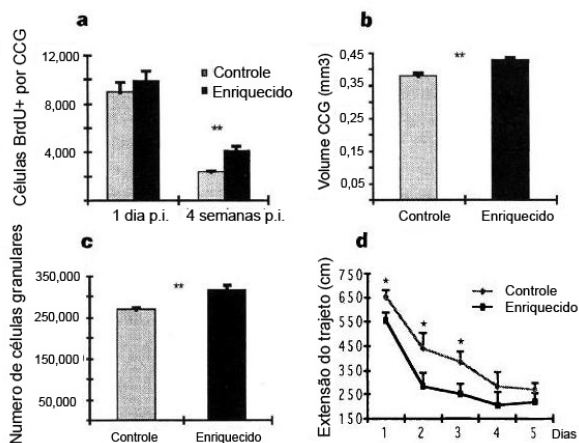


Figura 2 - Parâmetros em que camundongos mantidos em ambiente enriquecido diferem de animais controle. (a) Número de células marcadas com BrdU na camada granular do giro denteado (CCG) um dia ou 4 semanas após injeção intraperitoneal de BrdU, (b) o volume total do giro denteado 4 semanas após a injeção, (c) número absoluto de células granulares do giro denteado 4 semanas após a injeção, e (d) extensão do trajeto até encontrar a plataforma no labirinto aquático de Morris (modificado de Kempermann e col., 1997).

Esses animais mostram ainda melhor desempenho quando submetidos a uma tarefa de aprendizagem e memória espacial no labirinto aquático de Morris (Fig. 2-d) (Kempermann e col., 1997), que consiste na busca por uma plataforma submersa ao longo de vários dias de treino (Morris, 1981). Porém, os autores deixam claro que não se pode concluir que esse desempenho melhor seja devido ao aumento do número de células no hipocampo, embora seja plausível pensar que a combinação do maior número de neurônios, sinapses e dendritos, contribua para um melhor desempenho induzido pelo ambiente enriquecido. Entretanto, tal ambiente é formado por diversos componentes, incluindo a oportunidade de interação social, atividade física e aprendizagem. Cabe questionar, então, se o aumento de células no hipocampo e o melhor desempenho na tarefa espacial (Kempermann e col., 1997) seriam decorrentes das experiências sensoriais no ambiente enriquecido ou da constante atividade física proporcionada pelas rodas de atividade, túneis e obstáculos presentes nas gaiolas.

van Praag e col. (1999) tentaram identificar quais destes fatores (atividade física voluntária ou forçada e uma tarefa que envolve aprendizagem) contribuem para o aumento da neurogênese hipocampal em camundongos adultos.

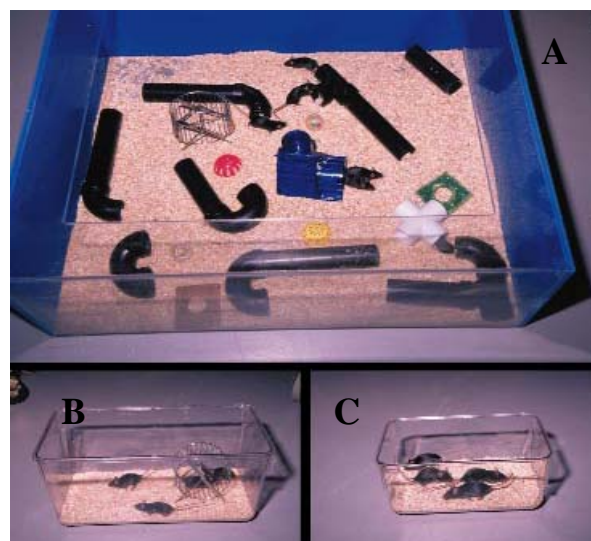


Figura 3 - Condições experimentais utilizadas por van Praag e col. (1999). (A) animais mantidos em ambiente enriquecido; (B) em gaiola contendo a roda de exercício físico voluntário; ou (C) em gaiolas-padrão de laboratório (extraído de van Praag e col., 1999).

Grupos independentes de camundongos foram submetidos às seguintes condições: acondicionamento em ambiente enriquecido; treino de busca pela plataforma no labirinto aquático; natação forçada; exercício voluntário em roda de atividade física, e acondicionamento em gaiolas-padrão (grupo controle) (Fig.3). A proliferação de células no giro denteado foi investigada por meio da marcação com BrdU e posterior análise imunohistoquímica. Os resultados (Fig.4-a) mostraram que o grupo submetido à roda de atividade física exibiu maior proliferação do que qualquer outro grupo avaliado. Já a avaliação da sobrevivência da progênie das células em divisão foi feita quatro semanas após a última injeção de BrdU. A análise estatística mostrou que os animais submetidos ao ambiente enriquecido e roda de atividade física apresentaram taxas maiores de sobrevivência das novas células (Fig.4-b) (85% e 56%, respectivamente), quando comparados aos grupos que passaram pelo treinamento no labirinto aquático (42%) e natação forçada (46%). Além disso, em ambos os grupos (ambiente enriquecido e roda de atividade física) a maioria das células marcadas com BrdU apresentou características neuronais, reveladas por meio do uso de marcadores específicos.

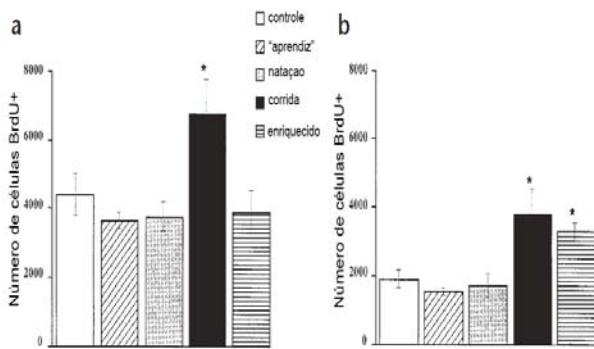


Figura 4 – Número estimado de células marcadas com BrdU no giro denteado de camundongos adultos. (a) número total de células em proliferação marcadas um dia após a última injeção de BrdU, (b) número estimado de células sobreviventes quatro semanas após a última injeção de BrdU (modificado de van Praag e col., 1999).

Portanto, este estudo mostra que somente o exercício físico voluntário é suficiente para estimular a proliferação de células hipocampais em camundongos adultos. Porém, quanto à taxa de sobrevivência dessas células, as duas condições (ambiente enriquecido e exercício físico) mostraram efeito significativo, sugerindo que diferentes protocolos de manipulações comportamentais podem aumentar consideravelmente a neurogênese e manutenção dos novos neurônios formados. Embora ambos os grupos apresentem números comparáveis de células marcadas com BrdU após quatro semanas, a sobrevivência dessas células foi relativamente menor no grupo submetido ao exercício físico voluntário (56%) quando comparado ao grupo mantido em ambiente enriquecido (85%), sugerindo que estas condições apresentam efeitos diferentes a longo prazo. Os autores discutem ainda se o tempo de treino empregado no labirinto aquático teria sido suficiente para revelar eventuais efeitos sobre a neurogênese. E também considerando possíveis efeitos prejudiciais induzidos pelo estresse, a natacao forçada pode ter sido um fator que prejudicou a proliferação e sobrevivência das novas células devido à elevação nos níveis de glicocorticóides.

Dessa forma, a neurogênese no hipocampo, regulada por diferentes variáveis ambientais, reforça a idéia de que a produção de novos neurônios não faz parte de vestígios dos estágios iniciais de desenvolvimento do sistema nervoso, mas constituem um recurso neural notadamente flexível e adaptativo também na idade adulta.

Possíveis funções dos novos neurônios: aprendizagem e memória?

Estudos relatando neurogênese no sistema nervoso permitem afirmar que milhares de neurônios novos são formados todos os dias no encéfalo adulto, principalmente no giro denteado

da formação hipocampal. No entanto, diversas questões relativas à possível função (ou funções) da neurogênese em adultos têm gerado debates e muitas especulações entre os pesquisadores.

Kempermann (2002) propôs que os novos neurônios do giro denteado atuam como “comportas” na “entrada de informações” para a memória (Fig.5). Segundo o autor, os novos neurônios são adicionados em um local do circuito hipocampal determinante no processamento de informações. Como não há evidências de que o hipocampo possa armazenar memórias por um longo período de tempo, a neurogênese hipocampal adulta não estaria envolvida nesse tipo de memória “*per se*”, mas no processamento de informações mantidas transitoriamente. Nesse caso, se os novos neurônios forem estrategicamente introduzidos na circuitaria existente, podem aumentar significativamente a capacidade de processamento de informações e também sua complexidade.

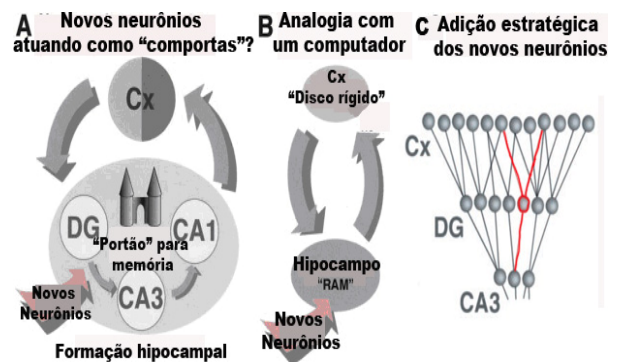


Figura 5 – Teoria proposta por Kempermann (2002). (A) Segundo o autor, os novos neurônios atuam como “comportas”, reforçando circuitarias pré-existent conforme a demanda do ambiente; (B) uma analogia com um computador, mostrando que os novos neurônios podem aumentar a capacidade de processamento de informações na memória “RAM”, função atribuída ao hipocampo; e (C) localização estratégica dos novos neurônios (em vermelho) na circuitaria pré-existente (Cx=áreas corticais; DG=giro denteado; e sub-campos CA1 e CA3 da formação hipocampal) (modificado de Kempermann, 2002).

Uma vez que as novas células granulares do giro denteado apresentam propriedades funcionais similares aos neurônios maduros, incluindo potenciais de ação, sinapses e recebem aferências de outras regiões do circuito (van Praag e col., 2002), aparentemente, elas são integradas funcionalmente à circuitaria hipocampal. Portanto, considerando que poucos dos novos neurônios sobrevivem e um número menor ainda é funcionalmente integrado ao sistema, parece que a neurogênese hipocampal adulta representa um “ajuste a longo prazo” da circuitaria para processar conteúdos em um alto nível de complexidade (Kempermann, 2002).

No entanto, a real contribuição dos novos neurônios sobre o desempenho de animais experimentais em tarefas dependentes do hipocampo permanece desconhecida, pois os resultados obtidos são divergentes. Por exemplo, alguns estudos sugerem que o aumento da neurogênese pode melhorar o desempenho em alguns tipos de tarefa espacial, como no labirinto aquático de Morris (Kempermann e col., 1997; van Praag e col., 1999); paralelamente, prejuízos são observados na ausência de novos neurônios (Kempermann & Gage, 2002). Entretanto, existe ainda relação inversa entre os fatores regulatórios da neurogênese e a aprendizagem; fatores que diminuem a produção de novos neurônios, como a elevação nos níveis de glicocorticóides, decorrentes de estresse moderado não necessariamente alteram o desempenho, mas podem até mesmo facilitar a aquisição de uma tarefa espacial (Akirav e col., 2004). Outro estudo mostra que a diminuição da neurogênese decorrente da idade também não interfere no desempenho de uma tarefa espacial no labirinto aquático (Bizon e Gallagher, 2003). Essa discrepância de resultados pode ser devido a diversos fatores. O agente antimitótico acetato de metilazoximetanol (MAM) e a radiação ionizante geralmente são utilizados para cessar a produção de precursores de células granulares (Cameron & Christie, 2007); assim, a neurogênese e seus efeitos no giro denteado podem ser estudados. Porém, estes métodos podem causar efeitos secundários e levar a interpretações viesadas sobre o comportamento dos animais. Além disso, ambiente enriquecido e a atividade física podem causar outros efeitos, como angiogênese (Isaacs e col., 1992) e alterações estruturais nos neurônios pré-existentes (Leggio e col., 2005), induzindo dessa forma a obtenção de resultados falsos positivos em relação a contribuição da neurogênese sobre o comportamento.

Embora existam fortes evidências de correlação entre neurogênese e função hipocampal, seria de grande valia o desenvolvimento de abordagens experimentais que contemplassem o papel da neurogênese hipocampal adulta por si só.

Considerações finais

As pressões cotidianas exigem que mecanismos neurais diferenciados sejam desenvolvidos, permitindo a sobrevivência dos animais, pois os mesmos não nascem com um repertório comportamental completo. Neste sentido, a plasticidade do sistema nervoso tem papel fundamental na adaptação às contingências ambientais. A neurogênese, hoje um fenômeno indiscutivelmente bem estabelecido e amplamente aceito, oferece a oportunidade de entender como o sistema nervoso desenvolveu mecanismos para suprir as demandas do ambiente. Embora pouco ainda se saiba sobre a

função da neurogênese adulta, parece que o surgimento de novas células nervosas faz parte de uma gama de recursos neurais que podem contribuir para a flexibilidade comportamental dos animais. Considerando que um número substancial de neurônios é gerado em uma região crítica para as funções de memória, é pouco provável que essas novas células não tenham qualquer função e apenas façam parte de vestígios do desenvolvimento neural.

Agradecimentos. Agradeço ao Professor Gilberto F. Xavier pelas sugestões e comentários sobre o texto e pelas discussões acerca do tema.

Bibliografia

- Akirav I., et al. (2004) A facilitative role for corticosterone in the acquisition of a spatial task under moderate stress. *Learning and Memory* 11:188–195.
- Allen E. (1912) The cessation of mitosis in the central nervous system of the albino rat. *Journal of Comparative Neurology*. 19:547-68.
- Altman, J. (1962) Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science* 135, 1127–1128.
- Altman, J. (1963) Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. Postnatal growth and differentiation of the mammalian brain, with implications for a morphological theory of memory. *Anatomical Record*. 145, 573–591.
- Altman, J. & Das, G. D. (1965) Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *Journal of Comparative Neurology*. 124, 319–335.
- Altman, J. & Das, G. D. (1966) Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. I. A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in neonate rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain regions. *Journal of Comparative Neurology*. 126, 337–390.
- Altman, J. (1966) Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis II. A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in infant rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain regions. *Journal of Comparative Neurology*. 128, 431–474.
- Altman, J. (1969) 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. *Journal of Comparative Neurology*. 137, 433–458.
- Cameron, H.A. & Christie, B.R. (2007) Do new neurons have a functional role in the adult hippocampus? *Debates in Neuroscience* 1:26–32.
- Eisch, A. J., Barrot, M., Schad, C. A., Self, D. W. & Nestler, E. J. (2000). Opiates inhibit neurogenesis in the adult rat hippocampus. *Proceedings of the National Academy of sciences of the USA*. 97, 7579–7584.
- Eriksson, P. S. et al. (1998) Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine*. 4, 1313–1317.
- Goldman, S. A. & Nottebohm, F. (1983) Neuronal production, migration, and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 80, 2390–2394.
- Gould, E. et al. (2000) Regulation of hippocampal neurogenesis in adulthood. *Biological psychiatry* 48(8):715-20.
- Hamilton A. (1901) The division of differentiated cells in the central nervous system of the white rat. *Journal of Comparative Neurology*. 11:297-320.
- Heale VR, Vanderwolf CH, Kavaliers M (1994): Components of weasel and fox odors elicit fast wave bursts in the

- dentate gyrus of rats. *Behavior Brain Research*. 63:159–165.
- Isaacs, K. R. et al. (1992) Exercise and the brain: angiogenesis in the adult rat cerebellum after vigorous physical activity and motor skill learning. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 12, 110–119.
- Kandel, E.R.; Schwartz, J.H.; Jessell, T.M. (2000) *Principles of Neural Science*. 4th ed. New York: McGraw-Hill.
- Kaplan, M. S. & Hinds, J. W. (1977) Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science* 197, 1092–1094.
- Kaplan, M. S. (1981) Neurogenesis in the 3-month-old rat visual cortex. *Journal of Comparative Neurology*. 195, 323–338.
- Kaplan, M. S. (1984) Mitotic neuroblasts in the 9-day-old and 11-month-old rodent hippocampus. *Journal of Neuroscience*. 4,1429–1441.
- Kaplan, M. S. (1985) Formation and turnover of neurons in young and senescent animals: an electron microscopic and morphometric analysis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 457, 173–192.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. (1997) More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 3;386(6624):493-5.
- Kempermann G, Gage FH. (2002) Genetic determinants of adult hippocampal neurogenesis correlate with acquisition, but not probe trial performance, in the water maze task. *European Journal of Neuroscience* 16:129–136.
- Kempermann, G. (2002) Why new neurons? Possible functions for adult hippocampal neurogenesis. *The Journal of Neuroscience*. 22(3):635-8.
- Kornack, D. R. & Rakic, P. (1999) Continuation of neurogenesis in the hippocampus of the adult macaque monkey. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 96 5768–5773.
- Leggio, M.G. (2005) Environmental enrichment promotes improved spatial abilities and enhanced dendritic growth in the rat. *Behavioural Brain Research* 163(1):78-90.
- Moghaddam B, Bolinao ML, Stein-Behrens B, Sapolsky R (1994): Glucocorticoids mediate the stress-induced extracellular accumulation of glutamate. *Brain Research*. 655:251–254.
- Morris, R.G.M. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues, *Learning and Motivation* 12: 239-260.
- Nowakowski RS, Lewin SB, Miller MW. (1989) Bromodeoxyuridine immunohistochemical determination of the lengths of the cell cycle and the DNA-synthetic phase for an anatomically defined population. *Journal of Neurocytology*. 18(3):311-8.
- O'Keefe J, Nadel L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford: Clarendon Press. 570 p.
- Sotelo, C. (2003) Viewing the brain through the master hand of Ramón y Cajal. *Nature Reviews Neuroscience*. 4(1):71-7.
- Sugita N. (1918) Comparative studies on the growth of the cerebral cortex. *Journal of Comparative Neurology*. 29:61-117.
- Tanapat P, Hastings N, Reeves AJ, Gould E (1999): Estrogen stimulates a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat. *Journal of Neuroscience*. 19:5792–5801.
- van Praag H, Kempermann G, Gage FH. (1999) Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience* 2(3):266-70.
- van Praag et al. (2002) Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 415(6875):1030-4.