

Avaliação de células DCX positivas no cérebro do primata *Sapajus apella*

*DCX positive cells evaluation in the primate brain
Sapajus apella*

*Evaluación de células DCX positivas en el cerebro del
primado Sapajus apella*

Edna Cristina Santos Franco¹, Antonio Vitor da Silva Freitas²

1. Bióloga e Bacharel em Educação Física, Doutora em Neurociências e Biologia Celular pela Universidade Federal do Pará, Pesquisadora Associada em Saúde Pública, Seção de Patologia, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua-Pará, Brasil.

2. Acadêmico de Medicina da Universidade do Estado do Pará, Aluno de Iniciação Científica, Seção de Patologia, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua-Pará, Brasil.

Resumo

Introdução. A neurogênese no neocórtex de primatas é um campo de estudo a ser desvendado. Autores sugerem que novos neurônios provenientes da zona subventricular (SVZ) são adicionados em áreas corticais com funções cognitivas e associativas, mas não em áreas sensoriais primárias. **Objetivos.** Investigar a neurogênese em amostras de cérebro de primatas da espécie macaco-prego (*Sapajus apella*) imunomarcadas com o anticorpo anti-DCX. Analisar qualitativa e quantitativamente a imunomarcagem encontrada em diferentes regiões do encéfalo deste primata. Descrever as áreas com o maior número de células DCX positivas e relacionar esses achados com suas respectivas funções. **Método.** O estudo utilizou lâminas contendo seções coronais de cérebros de *S. apella* imunomarcadas com anticorpo anti-DCX. As lâminas foram analisadas utilizando microscópio óptico binocular. Locais onde a imunomarcagem para anti-DCX foi positiva foram fotografadas e as células foram contadas. Realizou-se estatística descritiva dos dados obtidos. **Resultados.** Analisou-se 22 lâminas em microscopia ótica, das quais somente 5 possuíam células DCX positivas. Verificou-se 153 células DCX positivas. Foram identificados neuroblastos com morfologias distintas em diferentes regiões do encéfalo desse primata. A região subventricular foi a região onde foram encontradas a maior quantidade de neuroblastos. Foram encontrados neuroblastos também na região cortical, subcortical, no Estriado e no terceiro ventrículo. **Conclusão.** Células DCX positivas foram encontradas na região periventricular do ventrículo lateral e do terceiro ventrículo, como também na região cortical, subcortical e no estriado. A presença de tais células reforça a existência já descrita de uma corrente migratória rostral, como também da capacidade de interconexão entre áreas corticais presentes em primatas.

Unitermos: Double-cortina; Primatas; Neurogênese; *Sapajus apella*

Abstract

Introduction. Neurogenesis in the primate neocortex is a field of study to be unveiled. Authors suggest that new neurons from subventricular zone (SVZ) are added in cortical areas with cognitive and associative functions, but not in primary sensory areas. **Objectives.** To investigate neurogenesis in brain samples from primates of the capuchin monkey (*Sapajus apella*) species immunostained with the anti-DCX antibody. To analyze qualitative and quantitatively the immunostaining using anti-DCX antibody in the different regions of the brain of this primate. To describe the areas with the highest number of DCX positive cells and relate these findings to their respective functions. **Method.** The study used slides containing coronal sections of *S. apella* brains, which were immunostained with anti-DCX antibody. The slides were analyzed using a binocular optical microscope. Sites where DCX immunostaining was positive were photographed and cells were counted. **Results.** 22 slides were analyzed under optical microscopy, of which only 5 had DCX positive cells. 153 DCX positive cells were found.

Neuroblasts with different morphologies were identified in the different regions of the primate's brain. The subventricular region was the location where the greatest number of neuroblasts were found. Neuroblasts were found in the cortical, subcortical region, in the striatum and in the third ventricle. **Conclusions.** DCX positive cells were found in the periventricular region of the lateral ventricle and the third ventricle, as well as in the cortical, subcortical region and striatum. The presence of such cells reinforces the already described existence of a rostral migratory current, as well as the capacity for interconnection between cortical areas present in primates.

Keywords: Doublecortin; Primates; Neurogenesis; *Sapajus apella*

Resumen

Introducción. La neurogénesis en la neocorteza de primates es un campo de estudio por desvelar. Los autores sugieren que se agregan nuevas neuronas de zona subventricular (SVZ) en áreas corticales con funciones cognitivas y asociativas, pero no en áreas sensoriales primarias. **Objetivo.** Investigar la neurogénesis en muestras de cerebro de primates de la especie mono capuchino (*Sapajus apella*) inmunoteñidas con el anticuerpo anti-DCX. Analizar cualitativa y cuantitativamente la inmunotinción encontrada usando el anticuerpo anti-DCX en diferentes regiones del cerebro de este primate. Describa las áreas con el mayor número de células positivas a DCX y relacione estos hallazgos con sus respectivas funciones. **Método.** el estudio utilizó portaobjetos que contenían cortes coronales de cerebros de *S. apella*, que fueron inmunoteñidos con anticuerpo anti-DCX. Los portaobjetos se analizaron utilizando un microscopio óptico binocular. Se fotografiaron los sitios en los que la inmunotinción con DCX fue positiva y se contaron las células. **Resultados.** Se analizaron 22 portaobjetos bajo microscopía óptica, de los cuales solo 5 tenían células DCX positivas. Se encontraron 153 células positivas a DCX. Se identificaron neuroblastos con diferentes morfologías en las diferentes regiones del cerebro de los primates. La región subventricular fue el lugar donde se encontró la mayor cantidad de neuroblastos. Se encontraron neuroblastos en la región cortical, subcortical, en el estriado y en el tercer ventrículo. **Conclusiones.** se encontraron células DCX positivas en la región periventricular del ventrículo lateral y el tercer ventrículo, así como en las regiones cortical, subcortical y estriatal. La presencia de tales células refuerza la existencia ya descrita de una corriente migratoria rostral, así como la capacidad de interconexión entre áreas corticales presentes en primates.

Palabras clave: Cortina doble; Primates; Neurogénesis; *Sapajus apella*

Trabalho realizado na Seção de Patologia do Instituto Evandro Chagas, Ananindeua-PA, Brasil.

Conflicto de interesse: não

Recebido em: 13/03/2021

Aceito em: 22/03/2022

Endereço para correspondência: Edna Cristina Santos Franco. Rodovia BR316, 7km, s/n. Levilândia. Ananindeua-PA, Brasil. CEP 67.030-000. E-mail: ednacristinafranco@gmail.com

INTRODUÇÃO

Em década anteriores, a ideia de geração de novos neurônios no cérebro de mamíferos era inconcebível¹. Ainda, artigos publicados na década de 1960 por Joseph Altman romperam com esse dogma a partir da obtenção de evidências experimentais de neurogênese no cérebro de mamíferos utilizando timidina tritiada como marcador mitótico²⁻⁴. Os

estudos de Altman não foram facilmente aceitos pela comunidade científica devido a inexistência de marcadores específicos que permitissem a diferenciação precisa entre neurônios e células gliais. Assim, apenas na década de 1990 esses achados foram confirmados de maneira inquestionável⁵.

Atualmente, é estabelecido que existam dois principais centros de neurogênese no encéfalo de mamíferos adultos: (i) a zona subventricular (SVZ); (ii) a zona subgranular do giro denteado do hipocampo (SGZ)⁶. Experimentos realizados em roedores têm demonstrado que após lesão no sistema nervoso central (SNC) ocorre um aumento da neurogênese nas zonas neurogênicas, migração de neuroblastos para as áreas afetadas e diferenciação de neurônios imaturos em neurônios maduros a fim de substituir parcialmente neurônios perdidos⁷⁻⁹.

Não obstante, em primatas a ideia que ainda perdura é a de um neocórtex estruturalmente imutável onde a formação de novas sinapses ocorreria apenas durante o desenvolvimento^{10,11}. Outros autores sugerem que novos neurônios provenientes da SVZ são adicionados em áreas corticais com funções cognitivas e associativas, tais como os córtices pré-frontal, temporal inferior e parietal posterior, mas não em áreas sensoriais primárias^{6,12,13}. Apesar disso, a questão da neurogênese no neocórtex de primatas e o papel que estes novos neurônios desempenham tanto em situação fisiológica normal quanto em eventos patológicos ainda não está totalmente esclarecida sendo, portanto, um campo de estudo a ser desvendado^{9,14,15}.

A proteína de migração neuronal duplecortina (DCX), também conhecida como doublina ou lissencefalina-X, é uma proteína expressa por células precursoras neuronais e neurônios imaturos tanto no estágio embrionário quanto na fase adulta. Esta proteína começa a ser expressa por células precursoras neuronais durante a divisão mitótica e suas células-filhas continuam a expressar DCX por 2 a 3 semanas após a divisão. À medida que as células precursoras se tornam neurônios maduros, a expressão de DCX é inibida e as células passam a expressar NeuN – um marcador de neurônios maduros^{16,17}. A proteína DCX encontra-se associada a microtúbulos e exerce um papel na motilidade celular, sendo necessária para migração dos neuroblastos durante o desenvolvimento do córtex cerebral^{18,19}.

Apesar do “padrão-ouro” na medição da neurogênese ser a marcação com BrdU – um análogo da timidina, a marcação da proteína DCX também tem sido utilizada como um marcador em estudos de neurogênese que buscam identificar neurônios que apresentam morfologia imatura¹⁹⁻²¹.

A marcação da proteína DCX se mostrou eficaz e confiável tanto para avaliar o número absoluto quanto o crescimento dendrítico de novos neurônios²², sendo útil na diferenciação entre neurônios maduros e imaturos, assim como, na avaliação do potencial proliferativo dos neuroblastos, quando analisado em conjunto com marcadores de proteínas NeuN e BrdU, respectivamente^{23,24}.

Por fim, é importante destacar que diferente das técnicas convencionais, a análise da neurogênese através da

detecção de DCX não requer marcação *in vivo* de células em proliferação, facilitando novos estudos acerca da neurogênese em condições normais e patológicas²⁵.

A presença de características fisiologicamente semelhantes entre humanos e outros mamíferos, principalmente em primatas corrobora à realização de novas abordagens celulares e/ou moleculares que possam levar a resultados significativos e que sejam trasladados para humanos a partir de estudos realizados em primatas. Um mecanismo molecular que ainda não está totalmente esclarecido é a neurogênese no neocórtex de primatas e o papel que os novos neurônios resultantes desse processo desempenham. Deste modo, o presente estudo teve como objetivo evidenciar a neurogênese no neocórtex do primata macaco-prego (*Sapajus apella*) a partir da quantificação de células que expressam DCX, à medida que tal marcador se manifesta em células progenitoras em proliferação e em neuroblastos recém-gerados contribuindo, assim, para um maior entendimento desse processo, não sendo avaliados outras características estruturais, ou outros marcadores de neurogênese.

MÉTODOS

Amostras e aspectos éticos

Para o presente estudo utilizou-se 32 lâminas contendo secções coronais de 30 µm de cérebros de *Sapajus apella* (lobos frontal, parietal e occipital). Esse material foi proveniente do estudo de doutoramento intitulado "Efeito terapêutico

do transplante de células tronco humanas sobre parkinsonismo induzido por MPTP em primatas *Sapajus apella* (APROVAÇÃO CEUA/IEC nº 029/2011), gentilmente doado para ser utilizado no presente estudo. Utilizou-se as amostras provenientes dos animais do Grupo Controle - animais saudáveis submetidos apenas a injeções de solução salina estéril (n=5). Para tanto, obteve-se aprovação junto ao CEUA/IEC (Certificado nº 24/2019). Após o processamento do material para imunohistoquímica, as secções foram imunomarcadas com anticorpo anti-DCX (1:400; Abcam – ab18723), secas a temperatura ambiente por 24 horas e desidratadas em soluções de álcool etílico em diferentes concentrações: 1x70%, 1x80%, 1x95%, 2x100% por dois minutos em cada frasco. Em seguida, foram diafanizadas em xilol absoluto (xilol 1 e xilol 2) por 3 minutos em cada frasco e, posteriormente, montadas em lâminas sobrepostas por lamínulas aderidas com ENTELLAN®.

Análise qualitativa e quantitativa

Todas as lâminas foram observadas com auxílio de um microscópio óptico binocular Zeiss (modelo Imager.Z1 acoplado ao sistema de captura de imagem AxioCam 512 color). Os campos com células DCX positivas (DCX⁺) foram capturadas pelo sistema de fotomicrografia em objetiva de 40x para quantificação dessas células utilizando o programa público ImageJ®. Neuroblastos foram identificados como neurônios imaturos com base na morfologia apresentada pelas células.

Análise estatística

A estatística foi realizada com o uso do programa BioEstat 5.0 aplicando-se análise estatística descritiva para avaliar os achados quantitativos de células DCX⁺ nas diferentes regiões encefálicas estudadas, apresentando-os na forma de média e desvio padrão.

RESULTADOS

Células DCX⁺ foram encontradas no cérebro do primata *Sapajus apella*. O número total de células DCX⁺ foi de 153 ($36,6 \pm 9,97$ **células**). Foram identificados neuroblastos marcados com o anticorpo anti-DCX com morfologias distintas, evidenciando a diferença entre os processos migratórios nas diferentes regiões investigadas do encéfalo desse primata (Figura 1).

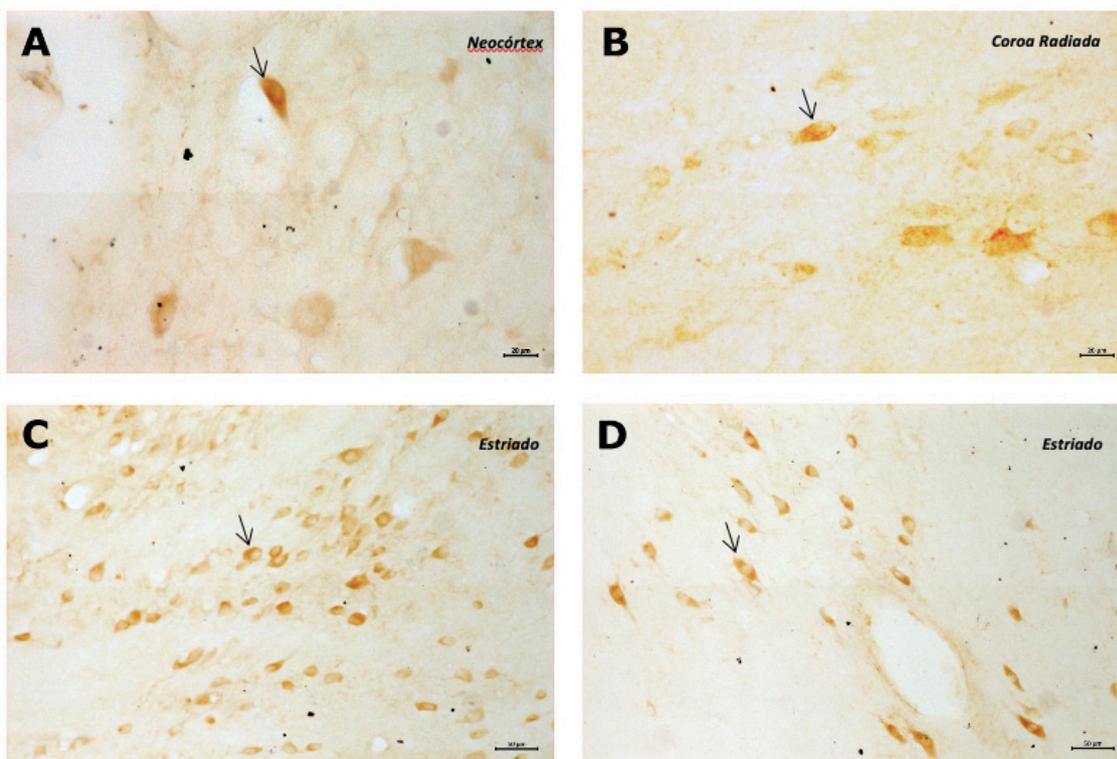


Figura 1. Morfologias distintas de células DCX positivas. (A) Neocórtex; (B) Coroa radiada; (C) e (D) Estriado. Notar que em todas as regiões exigem células tanto com formato alongado como com ramificações (duas ou mais). Escala = 20 μ m (A e B) e 50 μ m (C e D).

A região subventricular foi o local onde a maior quantidade de neuroblastos foi evidenciada ($52,66 \pm 5,03$ células). Além disso, foram observadas células DCX positivas com morfologia de neuroblastos em distintas regiões do cérebro do *Sapajus apella* - região cortical, subcortical, no estriado e próximo ao terceiro ventrículo (Figura 2).

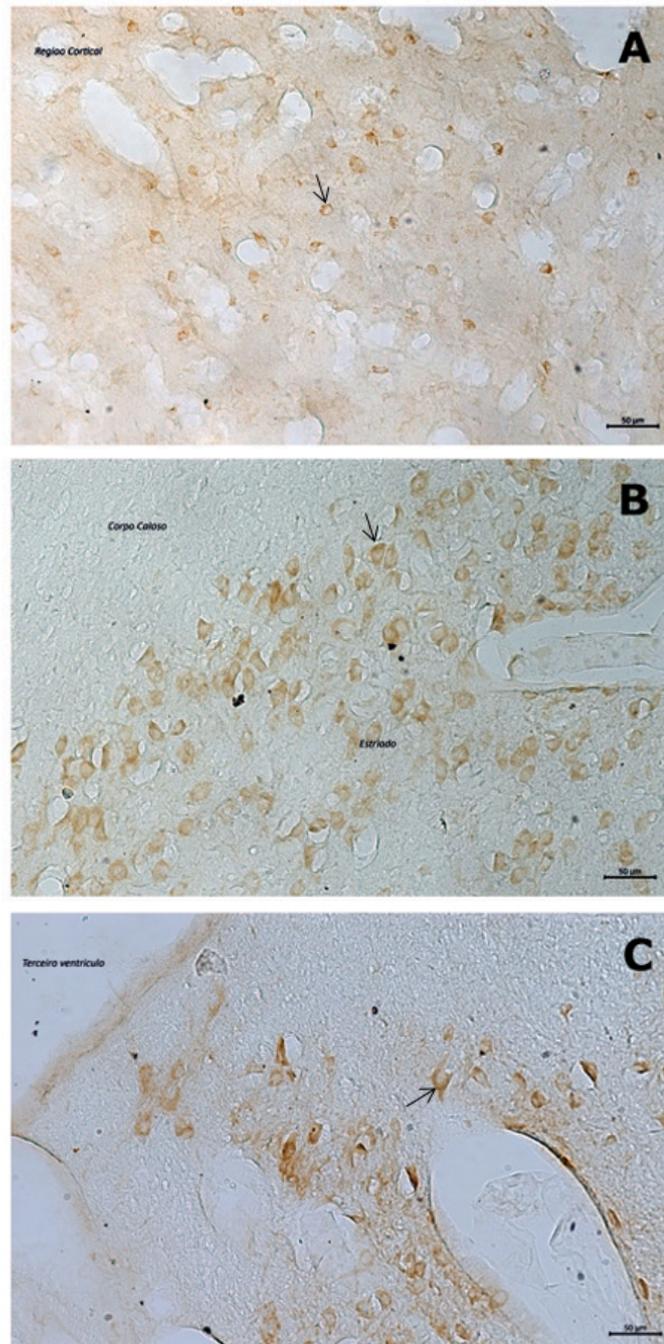


Figura 2. Imunomarcção de células DCX positivas em distintas regiões do cérebro do *Sapajus apella*. (A) Região cortical, (B) Estriado e (C) Terceiro ventrículo. Escala = 50 μm.

DISCUSSÃO

No presente estudo foram identificados tipos morfológicos distintos de células marcadas com o anticorpo anti-DCX. A expressão de doublecortina está associada à plasticidade estrutural e as alterações morfológicas relacionadas à migração, orientação axonal e brotamento de dendritos¹⁹. Estudos explicam as mudanças na morfologia dos neuroblastos durante sua trajetória migratória à medida que esses saem do seu ciclo celular como células bipolares simples, tornando-se células multipolares quando saem da zona ventricular e, novamente, células bipolares assim que progridem para a região cortical^{26,27}.

Outrossim, a zona subventricular do ventrículo lateral é considerada um dos principais centros de neurogênese no cérebro de mamíferos adultos, pois essa região faz parte da corrente migratória rostral, referente ao fluxo migratório das células neurais em direção ao bulbo olfativo^{6,11,20,27}. No presente estudo, uma grande quantidade de neuroblastos migratórios foram identificados nessa região (Figura 1B).

Além disso, os resultados evidenciaram a presença de neuroblastos tanto em regiões corticais como em regiões subcorticais (Figura 2). Tal evidência sugere que essa distribuição celular está relacionada com a maior capacidade que os primatas e humanos têm em elaborar interconectividades entre estruturas corticais^{15,27}, tendo tal fato uma estreita relação com o aumento gradual do cérebro dos mamíferos, em particular, do córtex cerebral nessas espécies^{28,29}.

Como já descrito em outros estudos, a presença de células DCX na região entre o estriado e o corpo caloso (Figura 2) decorre do fato dessa área fazer parte da corrente migratória rostral no prosencéfalo de primatas, como exposto por Wang (2011) que detalhou a trajetória da corrente migratória rostral no cérebro de macacos Rhesus adultos - no qual as células migratórias sob o núcleo caudado atravessam o rostro do corpo caloso, seguindo para entrar no núcleo olfativo anterior e, por fim, migrando para o bulbo olfatório^{30,31}. Nesse sentido, o presente estudo demonstrou a presença dessas células também no **cérebro** de macacos-prego (*Sapajus apella*).

O estudo observou ainda a presença de células próximas ao terceiro ventrículo, região encefálica na qual estão presentes o tálamo e o hipotálamo. Em ratos, já foram demonstradas uma terceira área neurogênica nesse segmento⁸, no entanto, a integração funcional e o destino final desses neuroblastos nascidos nessa região ainda não está clara como nos dois sítios neurogênicos canônicos^{11,29,32-34}, logo, a funcionalidade de tais células no encéfalo do primata analisado nesse estudo ainda é obscura.

CONCLUSÕES

Células DCX⁺ foram encontradas tanto na região periventricular do ventrículo lateral e terceiro ventrículo, como também na região cortical, subcortical e estriado. A presença de tais células ratifica a existência, **já descrita**, de uma corrente migratória rostral no cérebro do primata *Sapajus apella*, como da capacidade de interconexão entre áreas corticais

em primatas. Neste contexto, novos estudos são necessários para elucidar as funções dos neuroblastos evidenciados nas regiões próximas ao terceiro ventrículo.

AGRADECIMENTOS

À direção de Ensino e Pesquisa do Instituto Evandro Chagas pelo suporte e apoio necessários para o desenvolvimento dessa pesquisa oriunda do Programa de Iniciação Científica. À Profa. Dra. Klena Sarges Marruaz da Silva pela doação do material utilizado nesta pesquisa. Ao Prof. MSc. Ijair Costa dos Santos pela revisão do manuscrito.

REFERÊNCIAS

1. Ramon y Cajal S. Degeneration and regeneration of the nervous system. London: Oxford University Press. Facsimile of the 1928 edition, 1928; 236-45.
2. Altman J. Are New Neurons Formed in the Brains of Adult Mammals? *Science* 1962; 135: 1127-8. <https://doi.org/10.1126/science.135.3509.1127>
3. Altman J. Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. *Anat Rec* 1963; 145: 573-91. <https://doi.org/10.1002/ar.1091450409>
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* 1969; 137: 433-57. <https://doi.org/10.1002/cne.901370404>
5. Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 1992; 255: 1707-10. <https://doi.org/10.1126/science.1553558>

6. Lima SMA, Gomes-Leal W. Neurogenesis in the hippocampus of adult humans: controversy “fixed” at last. *Neural Regen Res* 2019; 14: 1917-8. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.259616>
7. Kaneko N, Sawamoto K. Adult neurogenesis and its alteration under pathological conditions. *Neurosci Res* 2009; 63: 155-64. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2008.12.001>
8. Pierce AA, Xu AW. De novo neurogenesis in adult hypothalamus as a compensatory mechanism to regulate energy balance. *J Neurosci* 2010; 30: 723-30. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2479-09.2010>
9. [Cardoso](#) GTM, [Gomes-Leal](#) W, [Franco](#) ECS, [Pereira Jr](#) A, [Gomes](#) FL, [Brino](#) ALF, [Lima](#) SMA. Compensatory hippocampal neurogenesis in the absence of cognitive impairment following experimental hippocampectomy in adult rats. *Front Cell Neurosci* 2021; 15: 709291. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.709291>
10. Rakic P, Bourgeois JP, Goldman R, Patricia S. Synaptic development of the cerebral cortex: implications for learning, memory, and mental illness. *Prog Brain Res* 1994; 102: 227-43. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)60543-9](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)60543-9)
11. La Rosa C, Ghibaudi M, Bonfanti L. Newly Generated and Non-Newly Generated “Immature” Neurons in the Mammalian Brain: A Possible Reservoir of Young Cells to Prevent Brain Aging and Disease? *J Clin Med* 2019; 8: 685. <https://doi.org/10.3390/jcm8050685>
12. Gould E, Reeves AJ, Graziano MS, Gross CG. Neurogenesis in the neocortex of adult primates. *Science* 1999; 286: 548-52. <https://doi.org/10.1126/science.286.5439.548>
13. Liu RX, Ma J, Wang B, Tian T, Guo N, Liu SJ. No DCX-positive neurogenesis in the cerebral cortex of the adult primate. *Neural Regen Res* 2020; 15: 1290-9. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.272610>
14. Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain. *J Neurosci* 1997; 17: 5046-61. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-13-05046.1997>
15. Ribeiro FF, Xapelli S. An Overview of Adult Neurogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2021; 1331: 77-94. https://doi.org/10.1007/978-3-030-74046-7_7

16. Gleeson JG, Lin PT, Flanagan LA, Walsh CA. Doublecortin is a microtubule-associated protein and is expressed widely by migrating neurons. *Neuron* 1999; 23: 257-71. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80778-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80778-3)
17. Brown JP, Couillard-Després S, Cooper-Kuhn CM, Winkler J, Aigner L, Kuhn HG. Transient expression of doublecortin during adult neurogenesis. *J Comp Neurol* 2003; 467: 1-10. <https://doi.org/10.1002/cne.10874>
18. Filipovic R, Santhosh Kumar S, Fiondella C, Loturco J. Increasing doublecortin expression promotes migration of human embryonic stem cell-derived neurons. *Stem Cells* 2012; 30: 1852-62. <https://doi.org/10.1002/stem.1162>
19. Francis F, Koulakoff A, Boucher D, Chafey P, Schaar B, Vinet M-C, *et al.* Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. *Neuron* 1999; 23: 247-56. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80777-1](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80777-1)
20. Kempermann G, Gage FH, Aigner L, Song H, Curtis MA, Thuret S, *et al.* Human adult neurogenesis: evidence and remaining questions. *Cell Stem Cell* 2018; 23: 25-30. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.04.004>
21. Lucassen PJ, Toni N, Kempermann G, Frisen J, Gage FH, Swaab DF. Limits to human neurogenesis—really? *Mol Psychiatr* 2020; 25: 2207-9. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0337-5>
22. Rao MS, Shetty AK. Efficacy of doublecortin as a marker to analyse the absolute number and dendritic growth of newly generated neurons in the adult dentate gyrus. *Eur J Neurosci* 2004; 19: 234-46. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2003.03123.x>
23. Ansorg A, Bornkessel K, Witte OW, Urbach A. Immunohistochemistry and multiple labeling with antibodies from the same host species to study adult hippocampal neurogenesis. *JoVE* 2015; 98: e52551. <https://doi.org/10.3791/52551>
24. Kuipers SD, Schroeder JE, Trentani A. Changes in hippocampal neurogenesis throughout early development. *Neurobiol Aging* 2015; 36: 365-79. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.07.033>

25. Couillard-Despres S, Winner B, Schaubeck S, Aigner R, Vroemen M, Weidner N, *et al.* Doublecortin expression levels in adult brain reflect neurogenesis. *Eur J Neurosci* 2005; 21: 1-14. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03813.x>
26. LoTurco J. Doublecortin and a tale of two serines. *Neuron* 2004; 41: 175-7. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(04\)00006-6](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(04)00006-6)
27. Levy F, Keller M, Brus M. Temporal features of adult neurogenesis: differences and similarities across mammalian species. *Front Neurosci* 2013; 7: 135. <https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00135>
28. Bradbury J. Molecular insights into human brain evolution. *PLoS Biol* 2005; 3: e50. <https://doi.org/10.1002/cne.22547>
29. Gomes-Leal W. Adult Hippocampal Neurogenesis and Affective Disorders: New Neurons for Psychic Well-Being. *Front Neurosci* 2021; 15: 594448. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.594448>
30. Bloch J, Kaeser M, Sadeghi Y, Rouiller EM, Redmond Jr DE, Brunet J-F. Doublecortin-positive cells in the adult primate cerebral cortex and possible role in brain plasticity and development. *J Comp Neurol* 2011; 519: 775-89. <https://doi.org/10.1002/cne.22547>
31. Wang C, Liu F, Liu Y-Y, Zhao C-H, You Y, Wang L, *et al.* Identification and characterization of neuroblasts in the subventricular zone and rostral migratory stream of the adult human brain. *Cell Res* 2011; 21: 1534-50. <https://doi.org/10.1038/cr.2011.83>
32. Snyder JS, Drew MR. Functional neurogenesis over the years. *Behav Brain Res* 2020; 382: 112470. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112470>
33. Ernst A, Frisén J. Adult Neurogenesis in Humans - Common and Unique Traits in Mammals. *PLoS Biol* 2015; 13: e1002045. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002045>
34. Sorrells SF, Paredes MF, Zhang Z, Kang G, Pastor-Alonso O, Biagiotti S, *et al.* Positive Controls in Adults and Children Support That Very Few, If Any, New Neurons Are Born in the Adult Human Hippocampus. *J Neurosci* 2021; 41: 2554-65. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0676-20.2020>