



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

**ESTUDIO DEL EFECTO DE LA NEUROINFLAMACIÓN INDUCIDA POR LIPOPOLISACÁRIDOS
(LPS) EN LA PROLIFERACIÓN DE PROGENITORES NEURALES DCX+
EN EL HIPOCAMPO ADULTO**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS**

PRESENTA:

M. en C. MARTHA PÉREZ DOMÍNGUEZ

**DIRECTORA DE TESIS
DRA. ANGÉLICA ZEPEDA RIVERA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS**

**COMITÉ TUTOR
DR. RUDOLF M. BUIJS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS
DR. JOSÉ SEGOVIA VILA**

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA BIOFÍSICA Y NEUROCIENCIAS, CINVESTAV

CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

Agradecimientos académicos.....	3
Lista de figuras.....	6
Abreviaturas.....	7
Resumen.....	9
Abstract.....	12
Introducción	
<i>I. Neurogénesis hipocampal en la etapa adulta.....</i>	15
<i>Las células troncales neurales adultas (CTNAs).....</i>	16
<i>Las células progenitoras neurales (CPNs).....</i>	21
<i>El nicho neurogénico.....</i>	23
<i>II. Neuroinflamación.....</i>	25
<i>III. LPS como estrategia experimental para inducir neuroinflamación.....</i>	27
<i>IV. Modulación de la neurogénesis hipocampal por la neuroinflamación inducida por LPS... 30</i>	
<i>V. La fase proliferativa y la progresión del ciclo celular.....</i>	36
Justificación.....	40
Hipótesis.....	41
Objetivos.....	42
Materiales y métodos	
<i>Modelo animal.....</i>	43
<i>Modelo de neuroinflamación.....</i>	43
<i>Tarea de exploración de campo abierto.....</i>	44
<i>Cuantificación de proteínas por Western blot</i>	44
<i>Administración de BrdU</i>	45
<i>Inmunofluorescencia</i>	46
<i>Microscopía confocal y estimación del número de células basada en estereología</i>	46
<i>Análisis estadístico</i>	47
Resultados	
<i>Caracterización de la progresión de la respuesta neuroinflamatoria una semana después de la administración única o intermitente de LPS</i>	48
<i>Evaluación de la tasa neurogénica asociada a la respuesta neuroinflamatoria establecida una semana después de la administración única o intermitente de LPS.....</i>	56
<i>Evaluación de los efectos de la progresión de la neuroinflamación sobre la capacidad proliferativa de los progenitores neurales.....</i>	60
Discusión.....	64
Conclusión.....	71
Referencias	72
Anexos.....	84

Agradecimientos académicos

El presente proyecto de investigación fue desarrollado bajo la tutoría de la Dra. Angélica Zepeda Rivera investigadora Titular B de tiempo completo del Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los miembros del comité tutor que asesoraron el desarrollo del proyecto fueron:

Dr. Rudolf M. Buijs

IIB, UNAM

Dr. José Segovia Vila

CINVESTAV, IPN

Los miembros del jurado de examen de grado designados por el Comité Académico del Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas:

Dra. Leonor Pérez Martínez (Presidenta)

Dr. José Segovia Vila (Secretario)

Dra. Aliesha Araceli González Arenas (Vocal)

Dra. Diana María Escalante Alcalde (Vocal)

Dra. Susana Castro Obregón (Vocal)

A la QFB Patricia Ferrera técnico académico del laboratorio C-210 del IIB, UNAM.

Al Dr. Miguel Tapia Rodríguez responsable de la Unidad de Microscopía del IIB, UNAM.

A la Unidad de Modelos Biológicos del IIB, UNAM.

La realización de este trabajo contó con los donativos otorgados a la Dra. Angélica Zepeda por parte del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la UNAM (DGAPA-PAPIIT, IN208518) y Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) 282470. Además, contó con una beca nacional para la formación a nivel de posgrado en la modalidad de doctorado por parte del CONACyT en el periodo 2014-2-2018-2 otorgada a Martha Pérez Domínguez Núm. Becario 384961 CVU 413016; así como las becas de terminación de estudios y titulación de DGAPA-PAPIIT (IN208518) y CONACyT (282470).

Agradecimientos personales

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Al Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas.

A la Dra. Angélica Zepeda por aceptarme en su grupo de investigación y por el constante apoyo para mi formación académica.

A la Dra. Clorinda Arias por su continuo interés y retroalimentación para mi formación académica.

A los Dres. Rudolf Buijs y José Segovia por su supervisión y retroalimentación durante el desarrollo del proyecto de investigación.

Al jurado de examen de obtención de grado por la revisión, sus comentarios y sugerencias para mejorar la tesis.

A la Dra. María Evangelina Ávila y al Psic. Eduardo Domínguez, colaboradores directos del proyecto de investigación.

A los miembros del laboratorio C-210 por ser un gran equipo de trabajo.

A la Biol. Sandra Hernández por su apoyo como técnico académico.

A Azucena Ayala Pichardo por su excelente trabajo como auxiliar de entidad del Posgrado en Ciencias Biomédicas en el IIB de la UNAM.

A Teresa Montiel por todo su apoyo académico y personal.

A mi familia por su apoyo incondicional.

A mis seres queridos,
familia y amigos,
por su apoyo y compañía,
en especial en los momentos difíciles.

Lista de figuras

Figura 1. Neurogénesis hipocampal en condiciones fisiológicas	20
Figura 2. Estructura de LPS y señalización.....	29
Figura 3. La neuroinflamación regula negativamente la neurogénesis hipocampal	35
Figura 4. Regulación de la progresión del ciclo celular durante la neurogénesis hipocampal.....	37
Figura 5. Línea de tiempo de la estrategia experimental.....	44
Figura 6. Caracterización de la respuesta de malestar asociada a la inflamación sistémica inducida por la administración única o intermitente de LPS	51
Figura 7. Caracterización de la progresión de la respuesta neuroinflamatoria 7 días después de la administración única o intermitente de LPS	55
Figura 8. Efecto de la respuesta neuroinflamatoria establecida 7 días después de la administración única o intermitente de LPS en la tasa neurogénica	59
Figura 9. Efecto de la respuesta neuroinflamatoria establecida 7 días después de la administración única de LPS en la capacidad proliferativa de CPNs	63

Abreviaturas

ASCL1	Factor de transcripción Achaete-Scute Homolog 1
ANOVA	Análisis de varianza (Analysis of variance)
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro (Brain Derived Neurotrophic Factor)
BHE	Barrera hematoencefálica
BLBP	Proteína cerebral de unión a lípidos (Brain Lipid Binding Protein)
BMP	Proteína morfogénica ósea (Bone Morphogenic Protein)
BrdU	5-bromo-2'-desoxiuridina
CA3	<i>Cornu Ammonis 3</i>
CD-14	Cluster of differentiation 14
CG	Capa granular del giro dentado
CM	Capa molecular del giro dentado
COX-1	Ciclooxigenasa 1
CPN	Célula progenitora neural
CR	Calretinina (Calretinin)
CTN	Célula troncal neural
DAMP	Patrón molecular asociado a daño (Damage associated molecular pattern)
DCX	Doblecortina (Doublecortin)
dpi	días post-inyección
FT	Factor de transcripción
GABA	Ácido gamma-aminobutírico (Gamma-aminobutyric acid)
GFAP	Proteína ácida fibrilar glial (Glial Fibrillary Acidic Protein)
hpi	horas post-inyección
HES1	Factor de transcripción Hairy and Enhancer of Split 1
IBA-1	Molécula adaptadora de unión a calcio ionizado (Ionized calcium-Binding Adaptor molecule 1)
IGF-1	Factor de crecimiento semejante a la insulina tipo 1 (Insulin-like Growth Factor-1)
iip	Inyección intraperitoneal
IL-1 β	Interleucina 1-beta
IL-6	Interleucina 6
JAK	Cinasa Janus (Janus Kinases)

LBP Proteína de unión a LPS (LPS binding protein)

LPS Lipopolisacárido (Lipopolysaccharide)

mTOR Mammalian Target of Rapamycin

MyD88 Myeloid Differentiation primary response protein 88

NeuroD1 Factor de diferenciación neurogénica tipo 1 (Neurogenic Differentiation factor-1)

NGN-2 Neurogenina 2 (Neurogenin 2)

Notch Neurogenic locus notch homolog protein

P21 Proteína inhibidora de cinasas dependientes de ciclinas

PAMP Patrón molecular asociado a patógeno (Pathogen associated molecular pattern)

POMC Proopiomelanocortina (Proopiomelanocortin)

PAX6 Factor de transcripción Paired Box Protein 6

PROX1 Factor de transcripción Prospero Homeobox Protein 1

PSA-NCAM Molécula de adhesión celular neural polisialilada (Polysialylated-Neural Cell Adhesion Molecule)

STAT Signal Transducer and Activator of Transcription proteins

SFPR3 Secreted Frizzled Related Protein 3

SNC Sistema nervioso central

SOX Factor de transcripción SRY (Sex determining region Y)-Box Protein

TBR2 Factor de transcripción T-box Brain Protein 2

TLR Receptor tipo Toll (Toll-Like Receptor)

TNF- α Factor de necrosis tumoral alfa (Tumor Necrosis Factor-Alpha)

U.A. Unidades arbitrarias

WNT Wingless-type MMTV Integration Site

ZSG Zona subgranular

Resumen

La generación de nuevas neuronas no se restringe al desarrollo embrionario, sino que, en la mayoría de los mamíferos, continua en la etapa adulta en la zona subventricular y en la zona subgranular del giro dentado del hipocampo. En esta última región, el proceso neurogénico ocurre a través de la activación de células troncales neurales quiescentes, la proliferación de diferentes progenitores neurales, la adquisición de un compromiso de linaje neuronal, la sobrevivencia de las nuevas células y la maduración e integración funcional de neuronas glutamatérgicas en los circuitos del hipocampo. Este proceso provee una modalidad única de plasticidad cerebral que participa en procesos de aprendizaje y memoria. La neurogénesis está constantemente modulada por diversos factores extrínsecos que remodelan el nicho neurogénico, promoviendo o inhibiendo la tasa de generación de nuevas neuronas. La neuroinflamación es una respuesta característica de diferentes condiciones patológicas que establece un microambiente no permisivo que subyace a la disregulación neurogénica, y altera la ejecución en tareas dependientes de hipocampo.

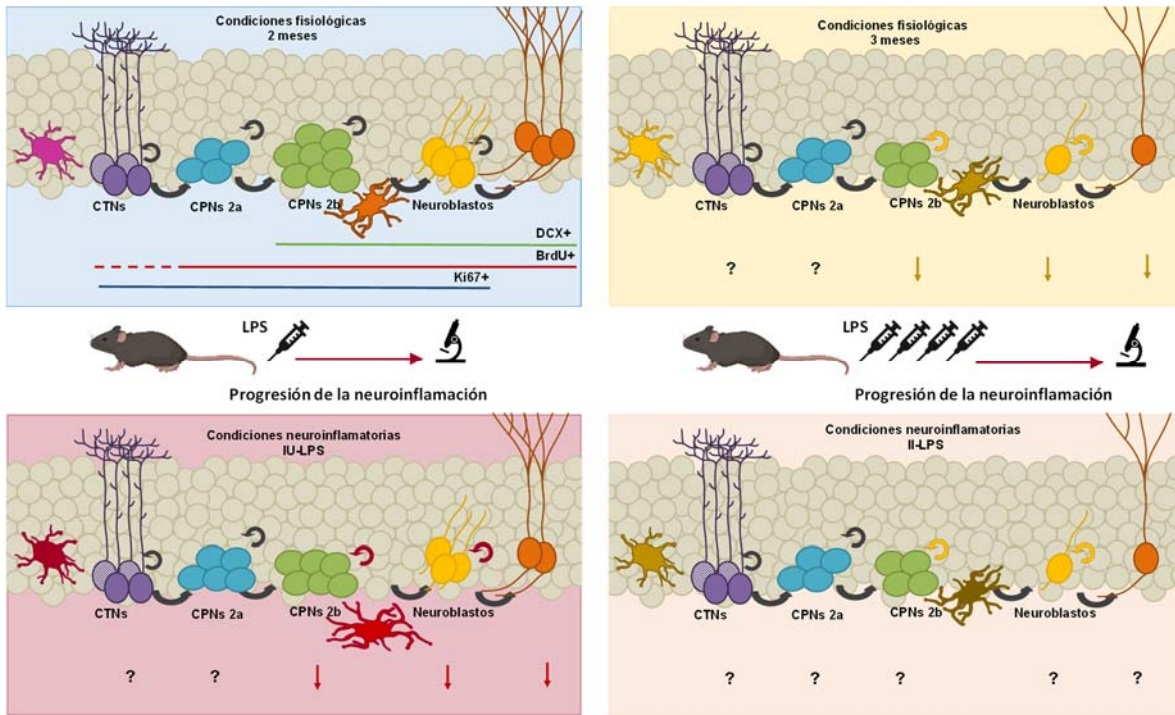
La evidencia actual indica que la neuroinflamación inducida por LPS, aguda o crónica, provoca una reducción de la neurogénesis. Sin embargo, la mayoría de los estudios han seguido cohortes de nuevas células generadas durante la respuesta temprana cuando se produce un pico de mediadores proinflamatorios, por lo que se desconoce 1) cómo se modula la tasa neurogénica en otros puntos durante la progresión de la respuesta inflamatoria; 2) si la inhibición del proceso neurogénico es un efecto transitorio dependiente de la respuesta proinflamatoria o es una respuesta persistente que ocurre independientemente de la progresión de la inflamación cerebral; 3) si la inflamación cerebral crónica induce una reducción mayor en la tasa neurogénica en comparación con la neuroinflamación aguda. Además, aunque la fase de expansión de la poza de células disponible para continuar con el desarrollo neuronal depende de diferentes tipos de progenitores neuronales, con distintos comportamientos proliferativos y capacidades de respuesta a factores extrínsecos; no se comprende bien cómo la neuroinflamación afecta específicamente la proliferación celular.

Para evaluar el efecto de la progresión de la neuroinflamación en la tasa neurogénica en este trabajo, se utilizaron dos paradigmas de neuroinflamación, aguda y crónica, que consistieron en una inyección única de LPS (IU-LPS) y 4 inyecciones intermitentes, 1 por semana (II-LPS), respectivamente. Primero, para evaluar el malestar asociado a cada exposición de LPS, utilizamos la tarea de exploración de campo abierto y registramos los cambios de peso corporal. Segundo, para caracterizar la respuesta inflamatoria establecida 7 días después del término de cada esquema de administración de LPS, realizamos un análisis cualitativo de la reacción microglial y astrocítica en función de los cambios morfológicos de cada tipo celular y también evaluamos los niveles de IL-6 y TNF- α de homogeneizados de hipocampo. Tercero, para analizar el efecto del

proceso inflamatorio presente en ese periodo sobre la tasa neurogénica, marcamos una cohorte de nuevas células con 3 pulsos de BrdU (1 inyección cada 24 h) generadas 4 días después de cada paradigma de LPS y evaluamos la doble detección de células BrdU+ con DCX mediante análisis de microscopía confocal y estimación celular basada en estereología. Finalmente, para analizar la capacidad proliferativa de los progenitores neurales marcamos una cohorte de nuevas células con 3 pulsos cortos de BrdU (1 inyección cada 2h) y 24h después estimamos la doble detección de células BrdU+ con Ki67.

Los resultados obtenidos indican que 1) después de una IU-LPS o de una II-LPS se produce una respuesta sistémica inflamatoria transitoria caracterizada por inmovilidad y disminución del peso corporal asociado a anhedonia. 2) La respuesta neuroinflamatoria establecida a los 7 d.p.i. en el modelo de inflamación aguda se caracteriza por la persistencia de un perfil proinflamatorio caracterizado por activación microglial, reacción astrocítica y aumento de los niveles de IL-6 y TNF- α , este perfil inflamatorio correlaciona con una reducción significativa del número de nuevas células con linaje neuronal BrdU+/DCX+ indicando que la tasa neurogénica continúa afectada en ese periodo. 3) La II-LPS no provoca un perfil proinflamatorio sostenido, aunque la microglía activada persiste. Esta respuesta neuroinflamatoria no se acompaña de una disminución neurogénica más allá de la reducción de la neurogénesis basal asociada a la edad, lo que sugiere que no hay efectos a largo plazo de la primera exposición a LPS o una reducción acumulativa en la tasa neurogénica inducida por este protocolo que continúe independientemente a la progresión de la respuesta neuroinflamatoria. 4) El protocolo corto de pulso y caza de BrdU indica que, en condiciones control, las células proliferativas BrdU+/Ki67+ son principalmente DCX+, lo que indica que estos progenitores experimentan la tasa proliferativa más alta. La IU-LPS provocó una disminución en el número de células DCX+ en proliferación, indicando un déficit en su capacidad para volver a entrar al ciclo celular. Lo anterior representa un mecanismo celular que mejora el entendimiento de la reducción de la tasa neurogénica inducida por neuroinflamación.

En conjunto, los datos derivados de este trabajo proporcionan evidencia que amplía las observaciones anteriores sobre el efecto anti-neurogénico de la neuroinflamación inducida por LPS. La respuesta neuroinflamatoria establecida 7 días después de la IU-LPS tiene un perfil proinflamatorio que provoca una reducción en la tasa neurogénica asociada a la salida prematura del ciclo celular de progenitores DCX+, mientras que la progresión de la neuroinflamación inducida por la II-LPS no induce una disminución sostenida de la tasa neurogénica más allá de la reducción de la neurogénesis basal asociada a la edad. Lo anterior indica que tanto la progresión de la neuroinflamación como sus efectos sobre la neurogénesis son procesos dinámicos que dependen del contexto celular y molecular.



Resumen gráfico

La neurogénesis es modulada por factores extrínsecos que remodelan el nicho neurogénico. La neuroinflamación establece un microambiente no permisivo que subyace a una desregulación neurogénica. Durante la respuesta neuroinflamatoria establecida 7 días después de la IU-LPS prevalece un perfil proinflamatorio que provoca una reducción en la tasa neurogénica asociada a la salida prematura del ciclo celular de progenitores DCX+, mientras que la progresión de la neuroinflamación inducida por la II-LPS no induce una disminución sostenida de la tasa neurogénica más allá de la reducción de la neurogénesis basal asociada a la edad. Lo anterior indica que tanto la progresión de la neuroinflamación como sus efectos sobre la neurogénesis son procesos dinámicos que dependen del contexto celular y molecular.

Palabras clave neurogénesis hipocámpal, inflamación cerebral, endotoxina, células precursoras neurales, perfil proliferativo, ciclo celular.

El presente proyecto de investigación se basa en su mayoría en los siguientes artículos:

Pérez-Domínguez, M., Tovar-y-Romo, L.B., Zepeda, A.*, 2017. Neuroinflammation and physical exercise as modulators of adult hippocampal neural precursor cell behavior. *Rev Neurosci* 29, 1–20. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2017-0024>

Pérez-Domínguez, M.*, Ávila-Muñoz, E., Domínguez-Rivas, E., Zepeda, A., 2019. The detrimental effects of lipopolysaccharide-induced neuroinflammation on adult hippocampal neurogenesis depend on the duration of the pro-inflammatory response. *Neural Regen. Res.* 14, 817. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.249229>

Pérez-Domínguez, M.*, Domínguez-Rivas, E., Ávila-Muñoz, E. A Commentary on the Detrimental Effects of Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation on Adult Hippocampal Neurogenesis Depend on the Duration of the Pro-inflammatory Response, *Int J Neurorehabilitation* 2019, 6:2 <https://doi.org/10.4172/2376-0281.1000349>.

Abstract

The generation of new neurons is not restricted to the embryonic development but continues throughout life in the majority of mammals in the subventricular zone and in the subgranular zone of the dentate gyrus. The neurogenic process in the subgranular zone occurs through the activation of quiescent adult neural stem cells and the neuronal fate choice, the proliferation of different progenitor cells, the survival of newly-born cells, and the neuronal maturation and functional integration of adult-born neurons into the hippocampal circuit. This process provides a unique modality of brain plasticity involved in learning and memory. Adult hippocampal neurogenesis is a finely tuned process constantly modulated by extrinsic factors that remodel the neurogenic niche, thus promoting or inhibiting the generation rate of new neurons. Neuroinflammation is a hallmark of several pathological conditions that establishes a non-permissive microenvironment underlying neurogenic dysregulation and deficits in hippocampal-dependent tasks.

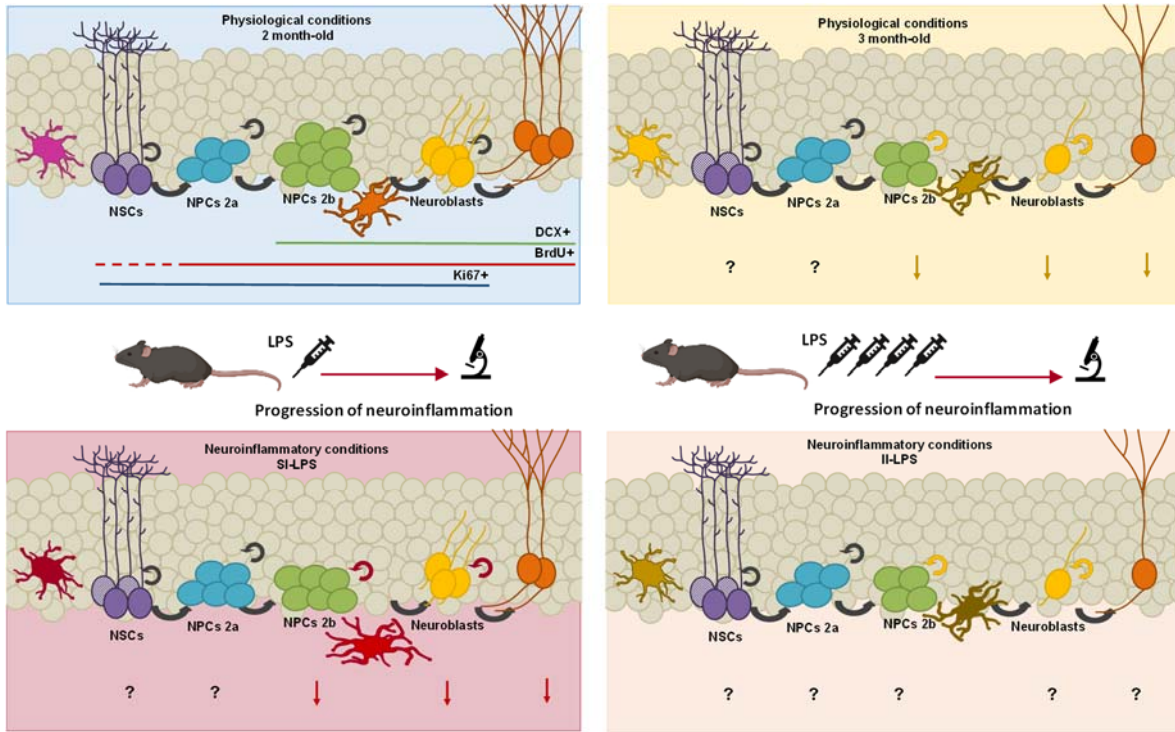
Current evidence indicates LPS-induced neuroinflammation, acute or chronic, leads to reduced neurogenesis. However, most studies have followed cohorts of new cells born during the early neuroinflammatory response, when a peak of proinflammatory mediators takes place, therefore it remains unknown 1) how the neurogenic rate is modulated at later time-points during the progression of inflammatory response; 2) if the inhibition of the neurogenic process is a transitory effect dependent on the pro-inflammatory response or if it is a persistent response occurring independently of the progression of brain inflammation and; 3) if chronic brain inflammation induces a higher reduction in the neurogenic rate compared with acute neuroinflammation. Moreover, although the expansion of the cell pool available for further neuronal development depends on different subsets of neural progenitors with different proliferative behaviour and a capacity to respond to extrinsic factors it is not well understood how neuroinflammation specifically restrains cell proliferation.

To gain insight into the effect of the progression of neuroinflammation on neurogenesis we used an acute and chronic neuroinflammation paradigms consisting of a single injection of LPS (SI-LPS) and 4 intermittent injections, 1 per week (II-LPS), respectively. First, to evaluate sickness behaviour associated with each LPS challenge, we used an open field exploratory task and registered body weight changes. Second, to characterize the inflammatory response established 7 days after the end of each LPS administration scheme we performed a qualitative analysis of microglia and

astrocytic reaction based on morphological changes and we evaluated the levels of IL-6 and TNF- α from hippocampal homogenate samples. Third, to analyse the effect of the inflammatory process present at such time-point in the neurogenic rate, we administered 3 BrdU pulses (1 injection each 24h) and labelled a cohort of new cells born 4 days after the end of each LPS scheme. Moreover, we assessed the co-labelling of BrdU with DCX through confocal microscopy analysis and stereological-based cell estimation. Finally, to analyse the proliferative capacity of neural progenitors we labelled a cohort of new cells with 3 short pulses of BrdU (1 injection each 2h), and 24h later we estimated BrdU+ cells co-labelling with Ki67+.

Our results indicate that 1) after SI-LPS or II-LPS, a transient systemic inflammatory response is produced. This response is characterized by immobility and decreased bodyweight associated with anhedonia 2) SI-LPS injection leads to a pro-inflammatory response at 7 dpi characterized by microglial and astrocytic reaction, and increased levels of IL-6 and TNF- α . This neuroinflammatory profile correlates in time with a significant reduction in the number of BrdU+/DCX+ cells suggesting that the neurogenic rate continues to be restricted at this time point. 3) II-LPS do not elicit a sustained pro-inflammatory profile although activated microglia persists at 7 dpi. This neuroinflammatory response is not accompanied by a neurogenic decrease suggesting there are no long-term effects derived from the first LPS exposure nor is there an accumulative reduction on the neurogenic rate induced by this protocol. 4) Results from short BrdU pulse-chase labelling, show that under control conditions, BrdU+/Ki67+ cycling cells are mostly DCX+ indicating that these progenitors undergo the highest proliferative rate. LPS-associated neuroinflammation induced by SI-LPS elicited a decrease in the number of proliferating DCX+ cells indicating a deficit in their ability to re-enter the cell cycle. The above represents a cellular mechanism that improves our understanding regarding the reduction of the neurogenic rate induced by neuroinflammation.

Taken together, our data provide evidence that expands on previous observations regarding the anti-neurogenic effect of LPS-induced neuroinflammation. The neuroinflammatory response established 7 days after IU-LPS has a proinflammatory profile that induces a reduction in the neurogenic rate associated with premature exit from the cell cycle of DCX+ progenitors, whereas the progression of neuroinflammation induced by II-LPS does not lead to a sustained impairment of the neurogenic rate beyond the age-associated reduction in neurogenesis. This indicates that both the progression of neuroinflammation and its effects on neurogenesis are dynamic processes that depend on the cellular and molecular context.



Graphic abstract

Neurogenesis is modulated by extrinsic factors that remodel the neurogenic niche. Neuroinflammation establishes a nonpermissive microenvironment that underlies neurogenic dysregulation. The neuroinflammatory response established 7 days after IU-LPS has a proinflammatory profile that induces a reduction in the neurogenic rate associated with premature exit from the cell cycle of DCX+ progenitors, whereas the progression of neuroinflammation induced by II-LPS does not lead to a sustained impairment of the neurogenic rate beyond the age-associated reduction in neurogenesis. This indicates that both the progression of neuroinflammation and its effects on neurogenesis are dynamic processes that depend on the cellular and molecular context.

Keywords hippocampal neurogenesis, brain inflammation, endotoxin, neural precursor cells, proliferative profile, cell cycle.

Introducción

1. Neurogénesis hipocampal en la etapa adulta

La neurogénesis es el proceso de generación de nuevas neuronas que se insertan en un circuito neuronal. Este proceso no se restringe al desarrollo embrionario, sino que continúa durante la etapa adulta en al menos dos regiones discretas del cerebro de los mamíferos, la zona subventricular de las paredes de los ventrículos laterales (Altman, 1969; Lois and Alvarez-Buylla, 1993) y la zona subgranular (ZSG) del giro dentado del hipocampo (Altman and Das, 1965; Cameron et al., 1993; Kaplan and Hinds, 1977).

La ZSG es una región anatómica estrecha que se encuentra entre la capa granular (CP) y el hilus del giro dentado donde las células troncales neurales persisten en la etapa adulta y cuyo microambiente particular permite la generación de nuevas neuronas. El modelo de la neurogénesis hipocampal establecido describe una secuencia orquestada de procesos que comprenden, 1) la activación asincrónica de las células troncales neurales adultas (CTNAs); 2) la proliferación de distintos tipos de células progenitoras neurales (CPNs) que progresan en la adquisición del compromiso de linaje neuronal y migran localmente; 3) la sobrevivencia de las nuevas células que salen de ciclo celular antes de diferenciarse terminalmente en neuronas glutamatérgicas y; 4) la maduración e integración funcional de las nuevas neuronas granulares a los circuitos hipocampales preexistentes (Denoth-Lippuner and Jessberger, 2021; Kempermann, 2015; Toda and Gage, 2018) (Fig. 1a).

El hipocampo participa en funciones cognitivas específicas como la navegación espacial, así como la formación, consolidación y evocación de diferentes tipos de memoria, particularmente de tipo episódica. El giro dentado del hipocampo está asociado con la capacidad de codificar y evocar información contextual específica mientras que la neurogénesis hipocampal es un componente clave en la separación de patrones. Tanto la presencia de las CTNAs, las CPNs, las neuronas inmaduras, así como la integración funcional de nuevas neuronas maduras le confieren al giro dentado una modalidad única de plasticidad estructural y funcional dependiente de la demanda cognitiva. Por consiguiente, la tasa específica a la que ocurre el proceso neurogénico tiene un impacto funcional relevante y cualquier factor que modifique la neurogénesis incidirá en tareas específicas dependientes del hipocampo (Denoth-Lippuner and Jessberger, 2021; Domínguez-Rivas et al., 2021; Kempermann, 2015; Toda and Gage, 2018).

En el cerebro adulto, la neurogénesis está controlada por la combinación de las propiedades intrínsecas de las CTNAs y de la regulación del nicho neurogénico constituido por diferentes componentes celulares y las moléculas que producen. Entre los tipos celulares de la ZSG se encuentran, 1) las CTNAs, su progenie inmediata y las neuronas granulares (Denoth-Lippuner and Jessberger, 2021; Kempermann et al., 2015); 2) otros tipos de neuronas como interneuronas inhibitoras y células musgosas (Ge et al., 2007; Song et al., 2016; Yeh et al., 2018); 3) astrocitos y oligodendrocitos (Falk and Götz, 2017); 4) células del sistema inmune como microglía y células periféricas (Diaz-Aparicio et al., 2020; Leiter et al., 2016) y; 5) componentes de la barrera hematoencefálica (BHE) como células endoteliales y pericitos (Pozhilenkova et al., 2017). En conjunto, estas células proveen al microambiente local de múltiples señales como morfógenos, neurotrofinas, factores de crecimiento, citocinas, quimiocinas, hormonas y neurotransmisores estableciendo un *milieu* neurogénico que permite que la neurogénesis hipocampal ocurra a una tasa y temporalidad específicas altamente reguladas (Bonafina et al., 2020; Vicidomini et al., 2020) (Fig. 1b).

- *Las células troncales neurales adultas (CTNAs)*

Una célula troncal se define por los atributos fisiológicos de autorenovación ilimitada y potencialidad; es decir, la habilidad de dar origen a un linaje celular completo. Las células progenitoras, las siguientes en la jerarquía de progresión de linaje, tienen una autorenovación limitada. Por otro lado, el término células precursoras hace referencia al conjunto de células tanto troncales como progenitoras (Götz, 2018; Overall et al., 2016).

Las CTNAs persisten en la ZSG, hay evidencia que indica que provienen de una población particular de glía radial que en etapas tempranas del desarrollo embrionario, y tras dividirse de una manera determinada, entran a un estado de quiescencia celular y después pueden ser activadas por señales específicas durante la etapa adulta (Berg et al., 2019). Las CTNAs, también referidas como células tipo glía radial o células tipo 1, tienen una morfología radial con el cuerpo celular en la ZSG, un único proceso apical largo que se extiende a través de la CG hasta la parte interna de la capa molecular (CM) donde se ramifica estableciendo sinapsis, y con procesos pequeños que se extienden paralelamente a la ZSG (Fig. 1a). Estas células comparten algunas características con los astrocitos como la presencia de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP, por sus siglas en inglés) y la proteína Vimentina, así como el establecimiento de contactos directos con vasos sanguíneos locales y propiedades membranales pasivas. Con respecto a su identidad de célula troncal neural,

estas células expresan proteínas como Nestina, la proteína de unión a lípidos cerebrales (BLBP, por sus siglas en inglés), y los factores de transcripción (FT) SOX-2 y PAX-6 (Filippov et al., 2003; Fukuda et al., 2003; Garcia et al., 2004; Gebara et al., 2016; Moss et al., 2016; Palmer et al., 2000; Seri et al., 2001; Suh et al., 2007).

Las CTNAs se caracterizan por su baja tasa de proliferación. Estas células se mantienen fuera del ciclo celular en un estado quiescente por periodos largos y al ser activadas por señales específicas pueden reentrar al ciclo celular. La evidencia actual, obtenida a partir de diferentes estrategias experimentales, tanto *ex vivo* con seguimiento de linaje e *in vivo* con microscopía *intra vital*, indica que hay diferentes subpoblaciones de CTNAs coexistiendo, que pueden distinguirse a nivel morfológico, molecular y funcional, tanto por su activación diferencial ante estímulos específicos como por su perfil proliferativo. Dicha heterogeneidad se ha observado como diferentes estados de activación y quiescencia, en el que algunas CTNAs son más propensas a activarse y dividirse rápidamente hasta su pérdida de la poza celular y otras CTNAs cuya activación es menos frecuente con la habilidad de regresar a un estado quiescente reversible. Al comparar con la neurogénesis en la zona subventricular no se puede descartar que los distintos tipos de CTNAs identificadas correspondan a diferentes estados de activación de una misma población de CTNAs. Lo anterior indica que hay una diversidad funcional de las CTNAs que mantiene la neurogénesis hipocampal (Bonaguidi et al., 2016; DeCarolis et al., 2013; Dranovsky et al., 2011; Harris et al., 2021; Ibrayeva et al., 2021; Llorens-Bobadilla and Martin-Villalba, 2017; Martín-Suárez et al., 2019; Pilz et al., 2018).

El mantenimiento de la poza de CTNAs es esencial para asegurar que el proceso neurogénico hipocampal continúe a lo largo del ciclo de la vida de los individuos. La memoria celular de las CTNAs y las señales del nicho neurogénico tienen un papel fundamental al promover la quiescencia celular que previene su excesiva activación y la pérdida de dicha población celular (Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011; Harris et al., 2021). Las CTNAs con sus procesos finos establecen contactos con los vasos sanguíneos locales y astrocitos adyacentes, además, tienen receptores a múltiples señales provenientes del nicho, que le permiten sentir el microambiente local y, en consecuencia, modificar su comportamiento proliferativo (Filippov et al., 2003; Gebara et al., 2016; Moss et al., 2016; Palmer et al., 2000). Dentro de las señales del nicho, la vía de Notch participa en el establecimiento del balance entre la quiescencia y la activación, así como en el mantenimiento de un estado indiferenciado (Ables et al., 2010; Ehm et al., 2010; Lugert et al.,

2010). La vía de las proteínas morfogénicas óseas (BMPs, por sus siglas en inglés) también es necesaria para el mantenimiento de la quiescencia de las CTNAs, así como en la progresión de la diferenciación y maduración de las neuronas granulares (Bonaguidi et al., 2005, 2008; Mira et al., 2010). La vía de WNT se encuentra inhibida por la secreción constitutiva de la proteína inhibidora SFRP3, lo que contribuye en el mantenimiento del estado quiescente, la regulación de la proliferación, diferenciación y maduración neuronal (Jang et al., 2013; Lie et al., 2005; Varela-Nallar and Inestrosa, 2013). Por otro lado, las neuronas maduras presentes en el giro dentado proveen de otro tipo de regulación al proceso neurogénico a través de la acción de neurotransmisores que pueden vincular la actividad de una población neuronal en particular con el comportamiento proliferativo de las CTNAs (Berg et al., 2013). Por ejemplo, las interneuronas Parvoalbúmina+ liberan de manera tónica ácido gamma-aminobutírico (GABA, por sus siglas en inglés) que participa en el mantenimiento del estado quiescente de las CTNAs (Ge et al., 2007; Song et al., 2012) (Fig. 1b).

En condiciones fisiológicas, una disminución en la señalización de la vía de Notch (Breunig et al., 2007) y GABA (Song et al., 2012) acompañado de un aumento en la señalización de WNT (Jang et al., 2013) induce la activación de las CTNAs. La integración de las diferentes vías de señalización converge en algunos reguladores maestros como el FT ASCL1 o mTOR. Los estímulos proneurogénicos inducen un aumento en la expresión del gen *Ascl1* y su delección desregula la respuesta a señales proneurogénicas de las CTNAs lo que indica que participan en la progresión del estado quiescente a la activación. ASCL1 promueve la proliferación de las CTNAs por la regulación directa de genes del ciclo celular (Andersen et al., 2014). Por otro lado, el FT FOXO3 modula las vías de Notch y WNT, regula inhibidores de ciclo celular y comparte genes blanco con ASCL1, lo que regula el programa transcripcional que mantiene la quiescencia celular inhibiendo el proceso neurogénico (Renault et al., 2009; Webb et al., 2013). La falta de FOXO3 resulta en la exhaustividad de la poza de CTNAs lo que lleva a la pérdida de esta población celular y por lo tanto, del mantenimiento del proceso neurogénico a largo plazo (Renault et al., 2009) (Fig. 1c).

La troncalidad y multipotencia de las CTNAs fueron inicialmente descritas *in vitro* a partir de su capacidad de autorenovación a largo plazo y de la habilidad de dar origen a neuronas, astrocitos y oligodendrocitos en cultivo (Palmer et al., 1997). Sin embargo, en el cerebro adulto y, en particular en la ZSG, las CTNAs sólo dan origen a neuronas glutamatérgicas y astrocitos, sin generar oligodendrocitos (Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011; Lugert et al., 2012; Rolando et al.,

2016; Suh et al., 2007). En condiciones fisiológicas, las CTNAs proveen a la CG de neuronas granulares excitadoras en mayor proporción que astrocitos (Bonaguidi et al., 2011; Denoth-Lippuner and Jessberger, 2021; Encinas et al., 2011; Suh et al., 2007). Con respecto a la generación de oligodendrocitos a partir de las CTNAs, se ha identificado *in vivo* un mecanismo intrínseco de regulación mediado por la ribonucleasa Drosha y el FT Factor Nuclear IB (NFIB) que restringe la adquisición de ese linaje. Drosha, a través de una vía independiente de Dicer y microRNAs, corta y desestabiliza al mRNA de NFIB lo que reprime su expresión y la adquisición del linaje glial del tipo oligodendrocítico, un modificación postranscripcional que forma parte de la compleja red de interacciones de expresión génica asociada a la regulación de la potencialidad de las CTNAs (Rolando et al., 2016).

La integración de las señales del nicho además de conducir a la activación de las CTNAs también determina la tasa y el tipo de división que llevarán a cabo y por lo tanto los tipos celulares a los que darán origen, 1) una división celular simétrica que da origen a dos CTNAs expandiendo dicha población (Dranovsky et al., 2011); 2) una división celular asimétrica y astrogénica que genera a un célula astrocítica no proliferativa y una CTNA que regresa a un estado quiescente manteniendo la poza, aunque también se pueden generar astrocitos a través de la diferenciación terminal agotando la población de CTNAs (Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011) y; 3) una división celular asimétrica neurogénica que da origen a otra CTNA quiescente y a una CPN de amplificación transitoria o célula tipo 2 (Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011).

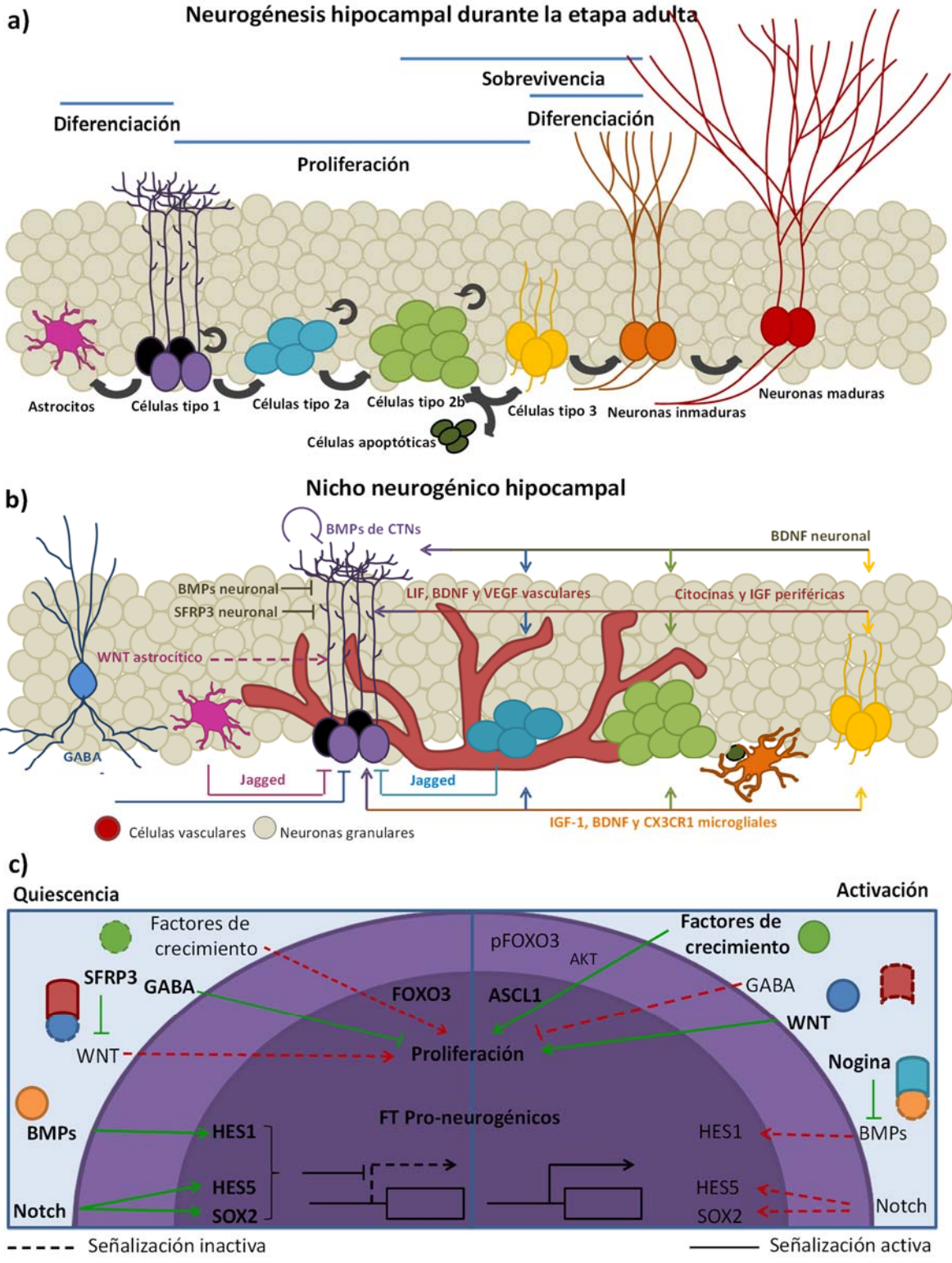


Figura 1. Neurogénesis hipocámpica en condiciones fisiológicas. a) Esquema que representa la progresión desde la célula neural troncal adulta hasta neuronas completamente maduras a través de varias etapas de desarrollo. **b)** Diagrama de los componentes celulares y moleculares presentes en el nicho neurogénico de la zona subgranular. Las flechas indican las células blanco de diferentes biomoléculas que ejercen un efecto

inhibidor o activador. **c)** Representación gráfica de algunas de las señales moleculares y factores de transcripción que participan tanto en el mantenimiento de la quiescencia como en la activación de las CTNs. Tomado de Pérez-Domínguez M *et al* 2017.

- *Las células progenitoras neurales (CPNs)*

En la neurogénesis hipocampal adulta, las células progenitoras neurales (CPNs) incluyen a las células progenitoras de amplificación transitoria y a los neuroblastos (Götz, 2018; Overall et al., 2016). Las CPNs de amplificación transitoria o células tipo 2 se encuentran en la ZSG, cuentan con un proceso corto y se distribuyen frecuentemente en cúmulos (Palmer et al., 2000; Seki et al., 2007; Seri et al., 2004; Suh et al., 2007). Estas células tienen una capacidad de autorenovación limitada, llevan a cabo varias rondas de división simétrica contribuyendo a la expansión clonal de la poza celular disponible a continuar con el proceso neurogénico antes de avanzar en el compromiso de linaje y dar origen a los neuroblastos (Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011, 2006; Filippov et al., 2003; Steiner et al., 2006) (Fig. 1a). Evidencia reciente indica que estas células pueden llevar a cabo divisiones simétricas o asimétricas sin un orden aparente (Pilz et al., 2018) sugiriendo que el comportamiento proliferativo es más complejo de lo anteriormente descrito, más aun tomando en cuenta que no se han determinado los mecanismos de regulación que determinan el número y tipo de divisiones celulares que llevan a cabo.

Las células tipo 2 se han clasificado en dos subtipos según su perfil molecular. Las células tipo 2a dejan de expresar GFAP mientras continúan expresando Nestina, BLBP, PAX-6, SOX-2 y ASCL1, un perfil que se ha interpretado como una etapa temprana de la progresión en el compromiso de linaje neuronal que involucra la regulación a la baja del programa transcripcional que mantiene la identidad de célula troncal, multipotencia y capacidades proliferativas acompañada de la activación del perfil transcripcional asociado a la diferenciación neuronal (Beckervordersandforth et al., 2016; Kempermann et al., 2015). La regulación al alta de los FT NGN-2 y TBR2 comienza en estas células, permitiendo la transición de las CPN 2a a 2b. (Hodge et al., 2008; Ozen et al., 2007). El FT TBR2 contrarresta la inhibición de la diferenciación neuronal mediada por SOX-2 al reprimir directamente su expresión (Hodge et al., 2012b, 2012a).

La señalización de la vía WNT puede inducir directamente genes neurogénicos como *Neurog2*, *NeuroD1* y *Prox1* en las células tipo 2 que son esenciales para la diferenciación neuronal (Gao et al., 2009; Karalay et al., 2011; Kuwabara et al., 2009). La señalización de WNT remueve la

represión de *Sox2* sobre el promotor de *NeuroD1* (Kuwabara et al., 2009). Por otro lado, el promotor de *Dcx* tiene un sitio de unión para NEUROD1, lo que sugiere este FT induce la expresión de DCX identificando el inicio de las células Tipo 2b (Steiner et al., 2008). La secuencia de los factores de transcripción PAX6 > NGN-2 > TBR2 > NEUROD1 > PROX1 conducen la diferenciación de las CPNs en neuronas granulares; esta red transcripcional recapitula algunos de los aspectos de la neurogénesis durante el desarrollo embrionario, lo que sugiere un programa genético conservado en la diferenciación neuronal glutamatérgica (Beckervordersandforth et al., 2016; Dulken et al., 2018; Hochgerner et al., 2018).

Las proteínas asociadas a la adquisición del linaje neuronal PROX-1, NEUROD1, DCX (Doblecortina), PSA-NCAM, entre otros, aparecen una etapa posterior de desarrollo presente en los progenitores neurales tipo 2b y participan en la regulación de la sobrevivencia y diferenciación de las nuevas células (Filippov et al., 2003; Gao et al., 2009; Hodge et al., 2008; Karalay et al., 2011; Kempermann et al., 2004; Kuwabara et al., 2004; Lavado et al., 2010; Rao and Shetty, 2004; Seri et al., 2004; Steiner et al., 2004).

Durante esta etapa de proliferación neurogénica ocurre un periodo crítico de sobrevivencia celular. Se ha descrito que durante la transición de progenitores de amplificación transitoria a neuroblastos un gran número de células nuevas mueren por apoptosis. Las células apoptóticas con núcleos fragmentados, ADN condensado y niveles elevados de CASPASA-3 activa+ son fagocitadas rápidamente por la microglía residente del nicho neurogénico (Beccari et al., 2018; Diaz-Aparicio et al., 2020; Sierra et al., 2010). Aunque el proceso participa en el mantenimiento de la homeostasis de la neurogénesis hipocampal, se desconoce el mecanismo intrínseco que determina la sobrevivencia de las nuevas células en esta etapa de desarrollo.

Las células tipo 2b dan origen a otro tipo de CPNs, los neuroblastos o células tipo 3. Los neuroblastos tienen una baja actividad proliferativa, migran tangencialmente en la ZSG y se caracterizan por la presencia de los marcadores DCX, PSA-NCAM y SOX-3 (Kempermann et al., 2015) (Fig. 1b). Una vez que dejan de migrar, estas células salen de ciclo celular y comienzan propiamente con el proceso de diferenciación a neuronas glutamatérgicas. Las neuronas post-mitóticas continúan expresando DCX, PSA-NCAM y SOX-3. Entonces, la proteína DCX es un marcador fenotípico cuya expresión se extiende desde la fase proliferativa, cuando se adquiere un linaje neuronal, hasta un periodo post-mitótico de maduración que dura de 2 a 3 semanas. Además las nuevas neuronas glutamatérgicas comienzan a presentar las proteínas POMC y

Calretinina (Brandt et al., 2003; Kempermann et al., 2015; Liu et al., 2010) y migran radialmente distancias cortas internalizándose en la CG interna. Al mismo tiempo, como parte del proceso de diferenciación y maduración neuronal, extienden sus dendritas hacia la CM del giro dentado y su axón hacia la zona CA3 del hipocampo, lo que permite su integración sináptica a circuitos preexistentes del hipocampo conforme a la demanda cognitiva (Goncalves et al., 2016; Sultan et al., 2015; Toni and Schinder, 2015) (Fig. 1a).

Debido a que el presente trabajo se centra en la regulación de la proliferación como la primer fase de la neurogénesis hipocampal, no se profundizará en las fases de maduración e integración funcional de las nuevas neuronas y su impacto en la fisiología hipocampal por lo que se remite al lector(a) a los siguientes trabajos de revisión (Domínguez-Rivas et al., 2021; Goncalves et al., 2016; Toda and Gage, 2018; Toni and Schinder, 2015).

- *El nicho neurogénico*

El nicho neurogénico es el microambiente en el que residen tanto las CTNAs. La ZSG está constituida por diferentes tipos celulares que establecen una comunicación bidireccional, ya sea por interacciones célula-célula o por mediadores solubles, con las CTNAs y su progenie (Fig. 1b). La arquitectura del nicho neurogénico está en constante remodelación por efecto de factores extrínsecos (Fig. 1b).

La microglía son las células del sistema inmune innato que residen en el sistema nervioso, se distribuyen de manera diferencial en el parénquima cerebral siendo el hipocampo una de las regiones más densamente poblada. En condiciones fisiológicas, estas células se encuentran en un estado de reposo con una morfología caracterizada por cuerpos celulares pequeños y prolongaciones altamente ramificadas que están en movimiento continuo monitoreando el microambiente local (Davalos et al., 2005; Nimmerjahn et al., 2005). La microglía participa en la plasticidad sináptica, sinaptogénesis y poda sináptica así como en la regulación funcional de astrocitos (Kettenmann et al., 2013). Con respecto a la neurogénesis hipocampal, como se mencionó anteriormente la microglía fagocita eficientemente a las CPNs apoptóticas manteniendo la homeostasis en las primeras etapas del proceso neurogénico (Sierra et al., 2010). Además, estas células establecen contactos con las células precursoras neurales regulando el proceso neurogénico al promover la proliferación y sobrevivencia de las CPNs a través de contactos célula-célula entre el receptor microglial CX3CR1 y la quimiocina neuronal Fractalquina (Bachstetter et al., 2011) (Fig. 1b).

Otro componente celular del nicho neurogénico son los astrocitos, el tipo de célula glial más abundante en el SNC, que tienen una serie de atributos funcionales esenciales para el desarrollo y el funcionamiento normal del mismo. Los astrocitos son células con múltiples procesos cuya morfología se puede distinguir como protoplásmicos, fibrosos y radiales. Estas células tienen una gran diversidad funcional al participar en el mantenimiento de la homeostasis iónica, sinaptogénesis y la poda sináptica así como proveer de factores neurotróficos (Liddel and Barres, 2015; Sofroniew, 2020).

Los astrocitos de la ZSG participan en la regulación de la neurogénesis hipocampal a través de contactos directos célula-célula que promueven la diferenciación neuronal (Ashton et al., 2012). Además, los astrocitos hipocampales también regulan el proceso neurogénico por la secreción de factores solubles que promueven una mayor proliferación y diferenciación neuronal cuando son sembrados en cocultivos con las CTNAs, mientras que los astrocitos de la médula espinal inhiben la diferenciación neuronal. Lo anterior indica que los astrocitos en el SNC tienen una diversidad regional y funcional, siendo los astrocitos hipocampales proneurogénicos en condiciones fisiológicas (Barkho et al., 2006; Ehret et al., 2015; Song et al., 2002) (Fig. 1b).

La neurogénesis está constantemente modulada por diversos factores extrínsecos que modifican los componentes celulares y moleculares del nicho neurogénico y por lo tanto inciden en diferentes etapas del proceso neurogénico (Goncalves et al., 2016). La integración de las distintas señales en un momento determinado conduce a diferentes respuestas celulares, ya sea que las CTNAs permanezcan quiescentes; lleven a cabo una división celular simétrica, o una asimétrica neurogénica o astrogénica; así como que las CPNs proliferen o salgan de ciclo, mueran por apoptosis o sobrevivan y que las neuronas se diferencien o maduren a una temporalidad diferente (Kronenberg et al., 2003).

Algunos de los factores extrínsecos que promueven el proceso neurogénico son el enriquecimiento ambiental (Kempermann et al., 1997; Leal-Galicia et al., 2007), el ejercicio voluntario (van Praag et al., 1999) y algunas condiciones patológicas como el daño cerebral (Aguilar-Arredondo and Zepeda, 2018; Zepeda et al., 2013). El efecto proneurogénico puede ocurrir a diferentes niveles (Overall et al., 2016), por ejemplo, el ejercicio promueve la proliferación celular mientras que el enriquecimiento ambiental provoca una mayor sobrevivencia celular, por lo que en ambos casos se observa un incremento en la tasa neurogénica, aunque a través de diferentes mecanismos celulares. Para una revisión sobre la regulación de la

neurogénesis por el ejercicio, se remite al lector(a) al trabajo de revisión del anexo 1 (Pérez-Domínguez et al., 2017). Por otro lado, algunos factores extrínsecos que disminuyen la neurogénesis son el estrés intenso (Gould and Tanapat, 1999), el envejecimiento (Kuhn et al., 1996) y la neuroinflamación (Ekdahl et al., 2003; Monje et al., 2003).

II. Neuroinflamación

La inflamación es la respuesta celular, molecular y funcional del sistema inmune ante un patógeno o daño tisular que perturba la homeostasis. De manera general, la respuesta inflamatoria permite aislar y destruir la causa de la alteración, así como remover las células dañadas y restaurar la homeostasis. El establecimiento y resolución de la respuesta inmune depende del contexto, tipo, intensidad y duración del estímulo (Fan and Pang, 2017; Kohman and Rhodes, 2013). El sistema inmune se divide en el innato, que establece una respuesta inmediata e inespecífica, y el adaptativo, que responde de manera específica y genera memoria celular a largo plazo (Iwasaki and Medzhitov, 2015; Kumar et al., 2011).

La inflamación inicia tras el reconocimiento de distintos patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, por sus siglas en inglés) o patrones moleculares asociados a daño (DAMPs). Dichas señales moleculares se unen a receptores de reconocimiento a patrones, principalmente receptores tipo Toll (TLRs), lo que activa varias vías de señalización que convergen en la producción y liberación de mediadores inflamatorios solubles, como citocinas, quimiocinas, compuestos lipídicos y especies reactivas de oxígeno.

El SNC se consideraba inmunoprivilegiado por estar separado del sistema inmune periférico, por tener la capacidad de tolerar la exposición a antígenos sin establecer una respuesta inflamatoria local como consecuencia de la presencia de la BHE y la ausencia de drenaje linfático (Kipnis and Filiano, 2018; Louveau et al., 2015a). Sin embargo, el dogma ha cambiado tras la caracterización de; 1) la permeabilidad altamente selectiva de la BHE (Daneman and Prat, 2015); 2) la capacidad de infiltración de células del sistema inmune periférico al parénquima cerebral (Marin and Kipnis, 2016; Rustenhoven and Kipnis, 2019) y; 3) la presencia de un sistema linfático en el SNC (Da Mesquita et al., 2018; Louveau et al., 2015b). La evidencia actual indica que de manera fisiológica el sistema inmune y el sistema nervioso establecen una comunicación bidireccional que participa en la regulación del funcionamiento cerebral al incidir en el neurodesarrollo, la plasticidad celular,

la neurogénesis y algunos tipos de memoria y aprendizaje (Diaz-Aparicio et al., 2020; Yirmiya and Goshen, 2011).

El proceso inflamatorio en el cerebro depende de la acción coordinada de diferentes células, incluyendo la microglía, los astrocitos, los oligodendrocitos, las neuronas, componentes de la BHE, células inmunes periféricas infiltradas, macrófagos perivasculares y linfocitos (Chen et al., 2014; Matsumoto et al., 2014; Olson and Miller, 2004; Sofroniew, 2014). Estas células responden a través de cambios funcionales dependientes de contexto produciendo una plétora de mediadores solubles inflamatorios y neurotransmisores que en conjunto determinan el establecimiento, la progresión y la resolución de la inflamación cerebral (Goncalves et al., 2016; Hanisch and Kettenmann, 2007; Khakh and Sofroniew, 2015).

La microglía al ser activada por el reconocimiento de PAMPs o DAMPs orquesta el establecimiento de la respuesta inmunológica en el SNC. La respuesta de la microglía implica cambios funcionales y pueden presentar diferente morfología con respecto a su etapa de activación: 1) la etapa I, corresponde al estado fisiológico o de centinela; en la cual la microglía tiene somas pequeños y prolongaciones altamente extendidas y ramificadas que están en movimiento continuo monitoreando el microambiente local; 2) en la etapa II, las células microgliales se caracterizan por tener procesos largos, engrosados y poco ramificados; 3) en la etapa III, estas células inmunes tienen procesos cortos y engrosados, así como una morfología redondeada y 4) en la etapa IV la microglía tiene una forma ameboide con los filipodios completamente retraídos (Mathieu et al., 2010). Con respecto a su perfil funcional, de manera general, la microglía puede adquirir un fenotipo proinflamatorio o M1 caracterizado por la liberación de citocinas como IL-6, TNF- α y IL-1 β , así como por la liberación de los productos de las enzimas ciclooxigenasa 1 (COX-1), óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) y NADPH oxidasa. Además, según el contexto de activación, puede adquirir un fenotipo antiinflamatorio o M2 caracterizado por la liberación de las citocinas IL-4, IL-10 e IL-13 y; los factores de crecimiento TGF- β , BDNF e IGF-1, así como por la liberación de los productos de la enzima Arginasa-1 (Belarbi and Rosi, 2013; Borsini et al., 2015; Butovsky et al., 2006; Carpentier and Palmer, 2009; Russo et al., 2011a; Ryan and Nolan, 2016; Whitney et al., 2009). Sin embargo, la activación microglial no es una respuesta binaria, sino que es heterogénea porque coexisten subpoblaciones celulares con distintos perfiles moleculares como consecuencia de, 1) la memoria celular que regula la respuesta, al ser células longevas han sido expuestas a

diferentes estímulos inmunológicos; 2) la localización y densidad celular; 3) el contexto de la respuesta (Scheffel et al., 2012).

Los astrocitos también son células inmunocompetentes que participan en la neuroinflamación y pueden activarse también tras el reconocimiento de PAMPs y DAMPs respondiendo ante lesiones y enfermedades del SNC. Los astrocitos reactivos exhiben al menos dos subtipos generales, 1) astrocitos reactivos proliferativos formadores de bordes que rodean áreas de daño tisular, y; 2) astrocitos reactivos no proliferativos que retienen su estructura básica e interacciones celulares en el tejido nervioso intacto, pero con cambios variables en su perfil molecular y diferentes grados de hipertrofia celular (Sofroniew, 2020).

Los procesos inflamatorios en el cerebro adulto se han asociado con la progresión de distintas patologías vinculadas con un declive cognitivo. Aunque con diferente etiología, el daño neuronal, así como la activación crónica de microglía y astrocitos, son marcadores clásicos de enfermedades neurodegenerativas (Ransohoff, 2016). Para el estudio de la neuroinflamación se han utilizado diferentes modelos de inducción como la exposición a mediadores proinflamatorios (Vallieres et al., 2002) o la administración de endotoxinas, como los lipopolisacáridos (LPS, siglas del inglés Lipopolysaccharides) (Monje et al., 2003; Zhao et al., 2019), que generan algunas respuestas celulares y moleculares presentes en condiciones patológicas y que permiten estudiar los efectos asociados a la inflamación cerebral (Buttini et al., 1996; Qin et al., 2007; Turrin et al., 2001).

III. LPS como estrategia experimental para inducir neuroinflamación

Una de las estrategias experimentales más utilizadas para inducir una respuesta inflamatoria es el uso de LPS. El LPS es un glicolípido grande compuesto por tres dominios estructurales, 1) el lípido A, un disacárido (glucosamina fosforilada) esterificado con ácidos grasos (ácidos caproico, láurico, mirístico, palmítico o esteárico) que funciona propiamente como endotoxina; 2) el núcleo, una cadena de polisacáridos y; 3) el antígeno O, cadenas de oligosacáridos, que es específico para el serotipo de las bacterias. El LPS es un componente de la membrana celular externa de las bacterias Gram negativas y por su estructura es un potente activador del sistema inmune innato (Buttini et al., 1996; Qin et al., 2007; Turrin et al., 2001) (Fig. 2).

El LPS activa al sistema inmune innato tras su reconocimiento por la LBP, CD-14 y el TLR-4. La unión del LPS induce la dimerización y el reclutamiento de la proteína adaptadora MyD88. LA vía de señalización dependiente de MyD88 lleva a la activación de IKK que fosforila al FT NF- κ B que induce la expresión de los genes de citocinas proinflamatorias (Fig. 2). En el cerebro el TLR-4 se expresa principalmente por la microglía y los astrocitos; así como por macrófagos perivasculares, neuronas y CTNAs (Carpentier et al., 2005; Okun et al., 2011; Olson and Miller, 2004). La administración de LPS, tanto periférica como central, induce inflamación cerebral (Buttini et al., 1996; Qin et al., 2007; Skelly et al., 2013; Turrin et al., 2001). Algunos mediadores proinflamatorios periféricos alteran el funcionamiento de las uniones estrechas de la BHE que puede promover la infiltración al SNC de células del sistema inmune periférico, como linfocitos y macrófagos perivasculares. Las moléculas inflamatorias circulantes también pueden difundirse directamente al parénquima cerebral a través de los órganos circunventriculares, que carecen de BHE, o transportarse por receptores solubles (Ciesielska et al., 2021; Wright et al., 1990). Además, el incremento en las citocinas proinflamatorias periféricas puede activar las fibras aferentes del nervio vago (Goehler et al., 2000; Tracey, 2002) (Fig.2).

En condiciones fisiológicas, el microbioma es la principal fuente del LPS que se puede encontrar en circulación por un aumento en la permeabilidad intestinal que puede ocurrir por diferentes factores sin que comprometa el estado de salud del organismo, incluso se ha postulado que esa “fuga” de LPS tiene una función de entrenamiento del sistema inmune. Cuando hay un proceso infeccioso bacteriano, este representará la principal fuente de LPS circulante ya sea como componente de bacterias vivas o de fragmentos de membrana de bacterias muertas. Además un proceso de disbiosis también se ha asociado a un incremento de LPS circulante (Ransohoff, 2016).

Por lo anterior, utilizar el LPS ha permitido estudiar los efectos de la neuroinflamación sobre el sistema nervioso a nivel conductual, celular y molecular; y, por lo tanto, sus efectos en la neurogénesis hipocampal.

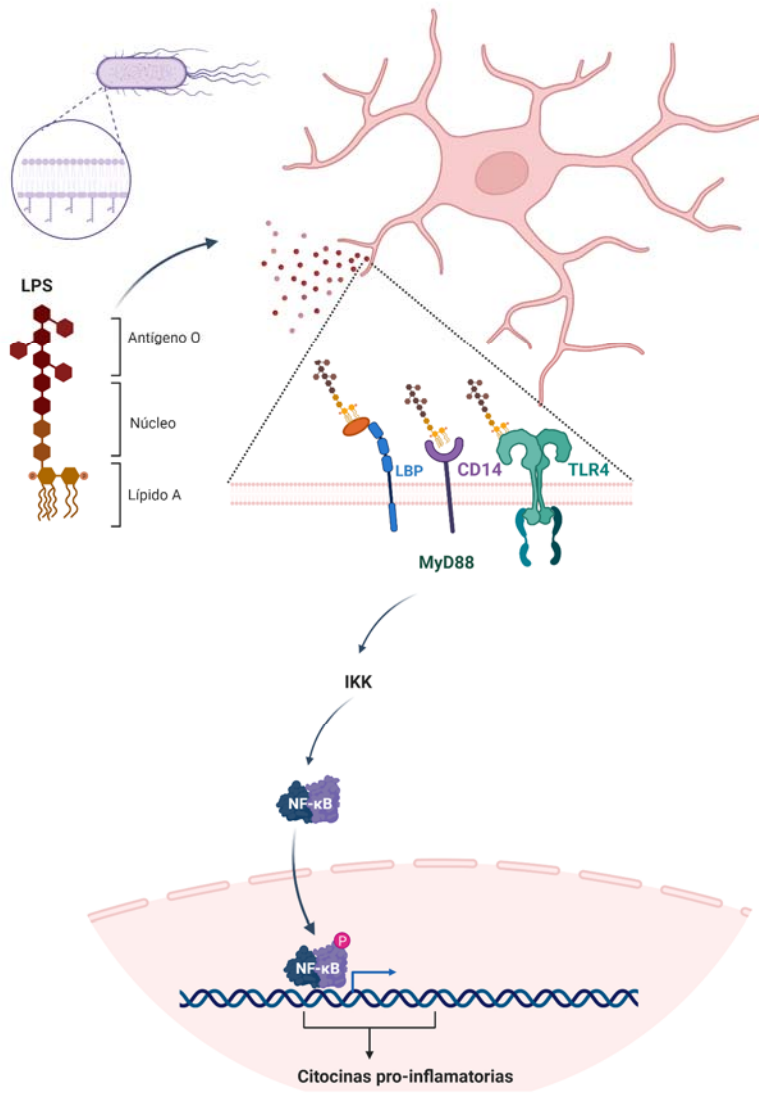


Figura 2. Estructura de LPS y señalización. Esquema representativo de la estructura del LPS, un componente de la membrana celular externa de las bacterias Gram negativas que indica el lípido A que funciona propiamente como endotoxina, el núcleo y el antígeno O. Una vez que el LPS es reconocido por la LBP, el CD-14 y el TLR-4 se activa una vía de señalización que culmina con la expresión de los genes de citocinas proinflamatorias mediadas por NF-κB.

IV. Modulación de la neurogénesis hipocampal por la neuroinflamación inducida por LPS

La respuesta neuroinflamatoria modifica la comunicación celular, de manera local y temporal, entre las CTNAs y los componentes celulares del nicho neurogénico que adquieren un fenotipo secretor anti-neurogénico afectando cada etapa de la neurogénesis hipocampal. Diferentes aproximaciones experimentales, tanto *in vitro* como *in vivo*, han demostrado que la respuesta neuroinflamatoria inducida por la administración de LPS tiene un efecto negativo en todas las etapas de la neurogénesis hipocampal ya que reducen la proliferación, la diferenciación y la sobrevivencia de las nuevas células, así como altera la maduración de las nuevas células (Ekdahl et al., 2003; Fujioka and Akema, 2010; Jakubs et al., 2008; Kim et al., 2013; Llorens-Martín et al., 2014; Monje et al., 2003; Tang et al., 2016; Valero et al., 2014; Wu et al., 2007; Zonis et al., 2013). Además, la inflamación cerebral inducida por LPS puede alterar la plasticidad sináptica del hipocampo causando un impacto negativo en la ejecución de tareas cognitivas asociadas con dicha estructura (Kohman and Rhodes, 2013; Lin and Iacovitti, 2015; Valero et al., 2014; Zhao et al., 2019) (Fig. 3a).

El trabajo pionero que estudió el efecto de la neuroinflamación inducida por LPS sobre la neurogénesis hipocampal mostró que una única inyección intraperitoneal de esta endotoxina provoca una reducción de la tasa neurogénica evaluada como el número de nuevas células con linaje neuronal identificadas con BrdU, un marcador exógeno de proliferación y DCX una proteína asociada a microtúbulos que identifica identidad neuronal. Además reportó que el efecto se previene con el tratamiento con indometacina, un fármaco antiinflamatorio (Monje et al., 2003). Un estudio posterior mostró que la administración sistémica de LPS promueve, 1) una disminución de la proliferación de las CPNs evaluada como el número de células que expresaban la histona H3 fosforilada en la serina 10, un marcador endógeno de proliferación, 5 h después del reto inmunológico y; 2) una reducción en el número de células BrdU+ 24 h después del tratamiento con la endotoxina (Fujioka and Akema, 2010). Estos resultados indican que las células precursoras neurales responden rápidamente ante un contexto proinflamatorio disminuyendo la proliferación y, por lo tanto, la generación de nuevas neuronas (Fig. 3a).

Con respecto a la diferenciación celular se ha observado que la activación microglial tiene una correlación negativa con la neurogénesis hipocampal (Ekdahl et al., 2003; Jakubs et al., 2008; Llorens-Martín et al., 2014; Monje et al., 2003). Así, estudios *in vivo* muestran que tras la

administración intracerebroventricular de LPS, el número de células microgliales activadas que se encuentran en la ZSG aumenta, mientras que el número de nuevas neuronas disminuye (Ekdahl et al., 2003). Por otro lado, estudios *in vitro* muestran que el cocultivo de CTNAs con microglía activada con LPS o con medio condicionado disminuye la diferenciación neuronal mientras que promueve un incremento en la diferenciación astrogial (Cacci et al., 2005; Monje et al., 2003).

Por otro lado, cuando se hace un seguimiento a largo plazo de las nuevas neuronas nacidas después de la administración sistémica de LPS se observa una disminución sostenida en la proliferación, así como una reducción en la supervivencia y maduración neuronal (Bastos et al., 2008; Ormerod et al., 2013; Valero et al., 2014). Asimismo, el contexto neuroinflamatorio altera la maduración e integración funcional de las nuevas neuronas al inducir una disminución en el volumen, longitud y complejidad del árbol dendrítico (Jakubs et al., 2008; Llorens-Martín et al., 2014; Valero et al., 2014) y al promover una pérdida sináptica por la reducción de espinas dendríticas (Chugh et al., 2013) sugiriendo un déficit en la conectividad de las nuevas neuronas.

Las citocinas proinflamatorias IL-6, IL-1 β y TNF α producidas por la microglía, astrocitos y otras células durante la respuesta neuroinflamatoria aguda inducida por LPS funcionan como los principales mediadores de los efectos negativos sobre la neurogénesis (Fig. 3b). La sobreproducción de la IL-6 en astrocitos en un modelo de ratones transgénicos mostró que ésta reduce sustancialmente la proliferación, supervivencia y diferenciación de células precursoras neurales (Vallieres et al., 2002). Por otro lado, aproximaciones *in vitro* han mostrado que el uso de medio condicionado de microglía estimulada con LPS disminuye la diferenciación neuronal y el tratamiento con anticuerpos bloqueadores de la citocina IL-6 previenen dicho efecto (Monje et al., 2003; Nakanishi et al., 2007). Con respecto al mecanismo molecular, se reportó que la IL-6 incrementa el número de precursores neurales que expresan p21, una proteína inhibidora de cinasas dependientes de ciclinas, promoviendo un arresto del ciclo celular con la consecuente disminución neurogénica asociada a la inflamación cerebral (Zonis et al., 2013). Además, esta interleucina disminuye directamente la neurogénesis hipocámpal por la activación directa del receptor soluble IL-6Ra y no por la unión al receptor membranal IL-R α (Campbell et al., 2014). También, la supresión de la citocina IL-6 en ratones que no expresan los receptores con actividad de cinasas de tirosina de la familia TAM (Tyro-3, Axl y Mer) impide la inhibición neurogénica asociada a neuroinflamación, indicando que estos receptores son reguladores del control neurogénico que ejerce la IL-6 (Ji et al., 2013). Por otro lado, esta interleucina también promueve la diferenciación

astrocítica, y se ha reportado que este efecto está mediado por el miR-155 en cocultivos de CTNAs con microglía activada por LPS (Woodbury et al., 2015).

A nivel celular se ha demostrado en estudios *in vitro* que el tratamiento con el TNF- α disminuye la proliferación y la diferenciación de los precursores neurales (Monje et al., 2003). El TNF- α ejerce su efecto a través de dos receptores con señalización antagónica, el TNF-R1 que media daño neuronal y el TNF-R2 con efecto neuroprotector. Ambos receptores se encuentran en los precursores neurales y se ha demostrado que la señalización del TNF-R1 inhibe su proliferación (Iosif et al., 2006). Uno de los posibles mecanismos a través del cual el TNF- α inhibe la neurogénesis es a través de un incremento en la actividad del FT HES1 (Keohane et al., 2010) (Fig. 3b).

Otro componente molecular de la cascada neuroinflamatoria que disminuye significativamente la neurogénesis, es la citocina IL-1 β . Esta interleucina inhibe la proliferación celular de las CPNs por la activación del receptor IL-1R (Koo and Duman, 2008). La elevación de los niveles de IL-1 β , ya sea por inflamación cerebral, por su administración directa o por su sobreexpresión, disminuye significativamente la proliferación celular (Goshen et al., 2008; Koo and Duman, 2008; Spulber et al., 2008; Wu et al., 2012). El efecto inhibitorio sobre la neurogénesis hipocampal se previene por la delección del receptor a IL-1 β tipo 1, así como por la sobreexpresión cerebral o por el tratamiento *in vitro* con el antagonista del receptor IL-1R (Goshen et al., 2008; Koo and Duman, 2008; Spulber et al., 2008; Wu et al., 2012). Además, la sobreexpresión de la citocina IL-1 β promueve astrogénesis en lugar de neurogénesis en la ZSG (Wu et al., 2012). Con respecto al mecanismo molecular por el cual esta interleucina altera el proceso neurogénico, se ha identificado que ésta promueve un arresto del ciclo celular inducido por estrés oxidante, efecto que está mediado por la proteína supresora de tumores p53 que a su vez activa a la proteína p21 lo que previene la progresión del ciclo celular de precursores neurales de origen embrionario (Guadagno et al., 2015). Con respecto a las CTNAs se reportó que la delección condicional de MyD88m, una proteína adaptadora que participa en la señalización de la IL-1 β , promueve un incremento en la astrogénesis a expensas de la neurogénesis, lo que sugiere que es un mecanismo que participa en limitar la astrogénesis durante la inflamación (Wu et al., 2013). La proteína GSK-3 β también es un componente clave en dicha señalización reguladora, su inhibición previene la disminución en la proliferación y diferenciación de los progenitores neurales (Green and Nolan, 2012). Además, el tratamiento neonatal con la citocina IL-1 β induce inflamación sistémica en la etapa postnatal y

neuroinflamación que reduce la proliferación de células progenitoras neurales Tbr2+ en el giro dentado del hipocampo, a través de un arresto del ciclo celular evaluado en neuroesferas sin provocar un efecto aparente en las CTNAs. El efecto anterior induce ansiedad en la etapa juvenil y deficiencias en la ejecución de tareas de memoria espacial en la etapa adulta (Veerasammy et al., 2020).

Los mediadores solubles proinflamatorios secretados en el nicho neurogénico afectan significativamente la fisiología de las células precursoras neurales. Las células tipo 1 son capaces de responder a moléculas asociadas a la respuesta inmune mediante receptores a citocinas, quimiocinas y tipo Toll (Chen and Palmer, 2013; Iosif et al., 2006; Koo and Duman, 2008; Monje et al., 2003; Rolls et al., 2007; Wu et al., 2013) (Fig. 3b).

Además de las citocinas proinflamatorias hay otros componentes de la respuesta inmune que participan en la desregulación neurogénica. La COX-1 participa en la respuesta neuroinflamatoria y su delección o inhibición farmacológica reduce significativamente la activación microglial, la liberación de factores solubles como citocinas proinflamatorias y mediadores de estrés oxidante, así como la desregulación de la BHE y el reclutamiento de células periféricas del sistema inmune (Choi et al., 2008). La deficiencia de COX-1 previene la inhibición neurogénica inducida por LPS indicando que participa tanto en el establecimiento de la respuesta neuroinflamatoria como en la modulación del nicho neurogénico (Russo et al., 2011b). La prostaglandina E2 producida por la COX-1 tras la inflamación cerebral inducida por LPS, promueve una disminución de las CPNs, células que expresan el receptor a prostaglandinas EP1 y la delección de dicho receptor protege a las CPNs del efecto mediado por la E2 (Keene et al., 2009). Por otro lado, los mediadores de estrés oxidante también participan en el efecto anti-neurogénico, por ejemplo se observó que el uso de antagonistas o la delección de la NOS promueve un incremento en las nuevas neuronas generadas en un contexto proinflamatorio (Packer et al., 2003; Zhu et al., 2006) (Fig. 3b).

Como se mencionó anteriormente, en la ZSG del cerebro adulto, las CTNAs pueden dar origen a neuronas glutamatérgicas y astrocitos en condiciones fisiológicas. Sin embargo, las nuevas neuronas se generan en mayor número que los nuevos astrocitos (Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011; Suh et al., 2007). Varios procesos participan en la decisión del linaje y diferenciación celular y estos pueden ser modulados durante los procesos inflamatorios. Los niveles altos de IL-6, TNF- α , IL-1 β promueven diferenciación astrocítica por la activación de la vía de señalización JAK/STAT3. La Glicoproteína 130 (GP130), el correceptor de IL-6R, activa la vía de señalización de

Notch en los precursores neurales lo que incrementa la expresión del FT *Hes1* (Chojnacki et al., 2003). Aproximaciones *in vitro* han demostrado que el cultivo de CTNAs con medio condicionado de microglía activada o IL-6 tienen un incremento en los niveles de HES1 con la consecuente disminución en la diferenciación neuronal (Monje et al., 2003). Además, el tratamiento con TNF- α induce astrogénesis e inhibe neurogénesis indirectamente a través de la vía de JAK/STAT3 que disminuye el FT ASCL1 mientras promueve la expresión de *Hes1* (Keohane et al., 2010; Peng et al., 2008). HES1 regula negativamente la diferenciación neuronal por funcionar como un represor transcripcional al unirse a la caja N de los promotores de genes proneurogénicos o por reprimir pasivamente al formar heterodímeros transcripcionalmente inactivos (Nakamura et al., 2000). Entonces, IL-6 y TNF- α ejercen un efecto anti-neurogénico en parte al incrementar la expresión de *Hes1* que promueve la generación de astrocitos (Fig. 3c).

Además, el hecho de que un contexto proinflamatorio desregule la generación de nuevas neuronas puede constituir un mecanismo adaptativo que preserve el funcionamiento neuronal al restringir algún tipo de neurogénesis aberrante que altere aún más la homeostasis cerebral. Por ejemplo, durante episodios epilépticos el ADN liberado por las neuronas dañadas es reconocido como DAMP por el receptor TLR9 expresado en la microglía promoviendo la secreción de TNF- α que a su vez contribuye en la inhibición de la neurogénesis aberrante (Matsuda et al., 2015).

Entonces, la neuroinflamación modifica el nicho neurogénico con la consecuente desregulación de la generación de nuevas neuronas. La combinación de la magnitud del estímulo, los factores secretados en el microambiente, el balance entre las señales pro y antiinflamatorias y la temporalidad son elementos críticos para determinar el efecto neto sobre la neurogénesis hipocampal (Belarbi and Rosi, 2013; Liberto et al., 2004; Liddelow et al., 2017; Sofroniew, 2014, 2005).

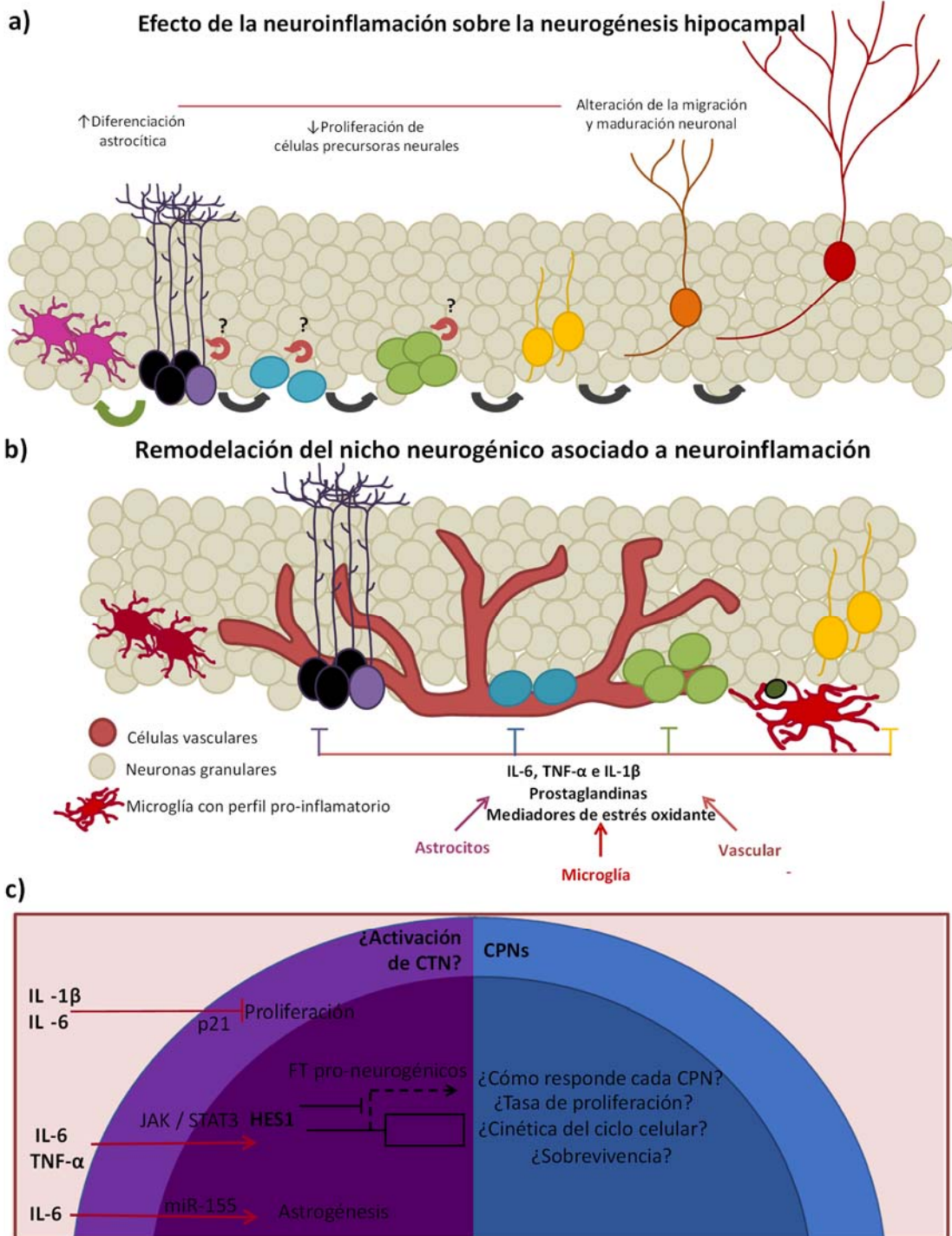


Figura 3. La neuroinflamación regula negativamente la neurogénesis hipocampal. a) Diagrama que representa los cambios en el comportamiento proliferativo de las células precursoras neurales en un microambiente proinflamatorio. b) Esquema que ilustra cómo la neuroinflamación cambia la interacción entre las células precursoras hipocampales y los componentes celulares y moleculares del nicho neurogénico. c) Representación gráfica de algunas señales moleculares y factores de transcripción que participan en la desregulación de la proliferación y diferenciación de las células precursoras neurales. Tomado de Pérez-Domínguez et al 2017.

V. La fase proliferativa y la progresión del ciclo celular

Como se indicó anteriormente, el presente trabajo se centra en la regulación de la proliferación por la neuroinflamación por lo que en esta sección se revisará las generalidades de esta fase y la progresión del ciclo celular y la evidencia referente a las células precursoras neurales de las ZSG.

La fase proliferativa de la neurogénesis hipocampal depende de las CTNAs, de las CPNs de amplificación transitoria y de los neuroblastos. Cada subpoblación tiene atributos fisiológicos específicos, para cada tipo de célula precursora neural es distinta la duración del ciclo celular, el número de divisiones celulares que llevan a cabo y el tipo de respuesta ante un mismo estímulo (Brandt et al., 2012; Farioli-Vecchioli et al., 2014; Fischer et al., 2014; Kronenberg et al., 2003; Lugert et al., 2010; Steiner et al., 2008). La generación de nuevas neuronas requiere que la fase de proliferación esté coordinada estrechamente con la adquisición del linaje y la subsecuente diferenciación terminal porque el balance entre dichos procesos es fundamental para mantener la homeostasis del sistema. De tal modo que una excesiva proliferación de las CTNAs puede inducir una pérdida de dicha población celular a largo plazo, así como la proliferación excesiva de un tipo particular o una salida prematura del ciclo celular con la consecuente diferenciación, comprometen el balance en la temporalidad del proceso y por tanto en el número de nuevas neuronas (Brandt et al., 2012; Farioli-Vecchioli et al., 2014; Fischer et al., 2014; Kronenberg et al., 2003; Lugert et al., 2010; Steiner et al., 2008).

Con respecto al ciclo celular de las células eucariontes se ha dividido en dos periodos, el primero es la interfase, que incluye las fases G1, S y G2 y el segundo es la mitosis. La fase G1 es una fase larga que prepara a la célula para duplicar su genoma y dividirse antes de que progrese a la fase S o de síntesis de ADN. Durante la fase G2 la célula continúa creciendo y se prepara para entrar a la fase M o mitosis en la que se generan dos células hijas. Las nuevas células pueden entrar inmediatamente a una nueva ronda de división celular, como ocurre en las CPNs de amplificación transitoria o pueden salir de ciclo celular para entrar a una fase G0 reversible asociada al estado quiescente de las CTNAs así como a una fase G0 permanente o post-mitótico como lo experimentan las neuronas terminalmente diferenciadas (Beukelaers et al., 2012; Farioli-Vecchioli and Tirone, 2015; Urbach and Witte, 2019) (Fig. 4).

El ciclo celular progresa de manera unidireccional por la acción coordinada de dos tipos de proteínas, las ciclinas y las cinasas dependientes de ciclinas (CDKs). Cada fase del ciclo celular, así como la transición entre fases, se caracterizan por ciclinas y CDKs específicas. Las ciclinas deben su

nombre a su regulación cíclica de síntesis o degradación en cada fase del ciclo celular. La función de las CDKs está regulada por 1) su tasa de activación o inactivación mediada por fosforilaciones y; 2) por las proteínas inhibidoras de CDKs (CKIs) que están agrupadas en dos familias: las proteínas INK4 y las proteínas CIP/KIP, que a su vez están reguladas por señales extracelulares mitogénicas y antimitogénicas. Dichos mecanismos regulan la tasa de formación de los complejos CDKs-ciclinas específicos a lo largo de la progresión del ciclo celular. Las CDKs activadas fosforilan múltiples blancos que aseguran que las células progresen en el ciclo celular en un orden secuencial (Beukelaers et al., 2012; Farioli-vecchioli and Tirone, 2015; Urbach and Witte, 2019) (Fig. 4).

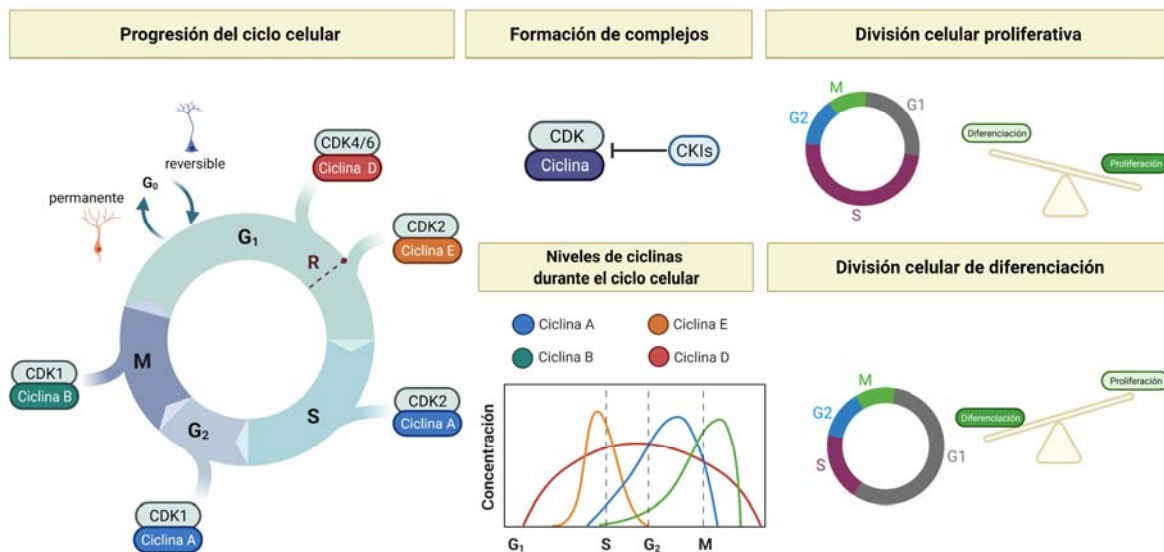


Figura 4. Regulación de la progresión del ciclo celular durante la neurogénesis hipocampal. El ciclo celular progresa de manera unidireccional por la formación de complejos específicos de ciclinas y CDKs en cada fase. La decisión del destino celular de las células precursoras se relaciona con la duración de la fase G₁ que permite que respondan a señales proliferativas o de especificación. En una fase G₁ corta prevalece la señalización de mitógenos que promueve una división celular proliferativa mientras que una fase G₁ larga permite que las células respondan a las señales de diferenciación.

La proliferación inicia por la integración de la señalización de mitógenos y factores de crecimiento que promueven el incremento en los niveles de ciclinas D que forman complejos con la CDK4/6 en la fase G₁. Los complejos CDK-ciclina D fosforilan a la proteína de retinoblastoma (Rb) que libera al FT E2F, que a su vez activa la expresión de genes, como la DNA polimerasa α y las ciclinas E y A, que se requieren para la transición G₁/S. Otro complejo, CDK2-ciclina E incrementa la fosforilación de Rb, que activa otros genes esenciales para la duplicación del genoma y el comienzo de la fase S. Además, la activación del complejo CDK2-ciclina E indica el punto de restricción que divide a la

fase G1 en una fase temprana dependiente de mitógenos y en una fase tardía independiente de mitógenos que compromete a la célula a completar una ronda de división celular. Después, se forma el complejo CDK2-ciclina A que inhibe la transcripción dependiente de E2F y conduce a la célula a través de la fase S. Durante la fase S tardía la ciclina A se asocia con la CDK1 que regula la transición a la fase G2. Finalmente, la ciclina B forma un complejo con la CDK1, también conocido como factor promotor de la mitosis, que coordina el comienzo de la mitosis y regula la reorganización estructural requeridas durante la división celular. Tan pronto las células hijas salen de la fase M, la ciclina B se degrada y según las señales pueden entrar a ciclo celular nuevamente (Beukelaers et al., 2012; Farioli-vecchioli and Tirone, 2015; Urbach and Witte, 2019) (Fig. 4).

La decisión del destino celular de las células precursoras se relaciona con la regulación del ciclo celular que determina el cambio entre una división celular proliferativa o de diferenciación celular. La duración de la fase G1 permite que las células respondan a señales proliferativas o de especificación que determinará si las células proliferan, adquieren un compromiso de linaje o salen del ciclo celular para iniciar el proceso de diferenciación. Una fase G1 larga incrementa la probabilidad de que señales de diferenciación se acumulen dirigiendo el proceso de diferenciación. Por ejemplo, si prevalecen las señales anti-proliferativas, disminuyen los niveles de las ciclinas D mientras que una acumulación de CKIs promueve que las células entren a una fase G0 reversible. Si, por el contrario, predomina la exposición a señales de diferenciación se observa un incremento en proteínas Cip/Kip pero que promueven la salida de ciclo celular y la diferenciación terminal (Arai et al., 2011; Beukelaers et al., 2012; Brandt et al., 2012; Farioli-vecchioli and Tirone, 2015; Urbach and Witte, 2019) (Fig. 4).

El control del destino celular puede ocurrir en diferentes puntos del ciclo celular. El uso de modelos genéticos ha permitido identificar qué ciclinas y CDKs en específico, pueden promover la proliferación o diferenciación. La sobreexpresión de las ciclinas D y E o la formación del complejo CDK4-ciclina D1 se acompaña de un aumento en la fase de expansión a expensas del proceso de diferenciación. Hay evidencia que indica que la ciclina D2 promueve la adquisición de un linaje neuronal mientras que la ciclina D1 participa en la diferenciación astrocítica. Mientras que la desregulación de la CDK6 promueve un alargamiento de la fase G1 y una salida prematura del ciclo celular disminuyendo el número de células mitóticamente activas con la consecuente disminución de la generación de nuevas neuronas. Por el contrario, la sobreexpresión de la CDK4-ciclinaD1

promueve la expansión de la células precursoras neurales a expensas de la neurogénesis (Beukelaers et al., 2012; Farioli-vecchioli and Tirone, 2015; Urbach and Witte, 2019).

Con respecto a la regulación de la fase proliferativa se sabe que el ejercicio físico, principalmente correr, es uno de los factores extrínsecos reconocidos como proneurogénico que induce un incremento significativo en la proliferación de las células precursoras neurales (Hodge et al., 2008; Kempermann et al., 2015; Kronenberg et al., 2003; Lugert et al., 2010; Steiner et al., 2004). Como se mencionó al principio de esta sección la fase proliferativa de la neurogénesis hipocampal involucra diferentes poblaciones de células precursoras neurales con atributos fisiológicos distintos (Brandt et al., 2012; Farioli-Vecchioli et al., 2014; Fischer et al., 2014; Kronenberg et al., 2003; Lugert et al., 2010; Steiner et al., 2008). Se han considerado varios mecanismos para explicar el incremento neurogénico, tales como son el reclutamiento de las CTNAs, el aumento en el número de rondas de división celular, el acortamiento de la duración del ciclo celular de las CPNs y, un incremento en la sobrevivencia de las nuevas células (Overall et al., 2016). La fase de expansión depende en gran medida de la proliferación de las CPNs que son sensibles al efecto del ejercicio físico (Hodge et al., 2008; Kronenberg et al., 2003) que promueve un incremento en el número y agrupamiento de CPNs sugiriendo que el desarrollo de cúmulos celulares facilitan los contactos intercelulares y señales que promueven la proliferación celular (Hodge et al., 2008; Seki et al., 2007; Seri et al., 2004). Con respecto al efecto en el ciclo celular la evidencia indica que hay diferentes respuestas dependientes del paradigma de ejercicio físico utilizado, de corto o largo plazo. Mientras que en un protocolo de 5 días de ejercicio no se observa un acortamiento del ciclo celular (Fischer et al., 2014) en protocolos de 12 días se observa una disminución en la duración del ciclo celular de las células tipo 2 y 3 que se atribuye a un acortamiento de la fase S (Farioli-Vecchioli et al., 2014). Entonces, además del efecto de la fase G1 sobre el destino celular también hay evidencia que indica que la duración de la fase S puede ser variable y tener un impacto en el destino celular, fenómeno que también se ha observado durante el desarrollo cerebral embrionario y en adultos (Arai et al., 2011; Brandt et al., 2012).

Por el contrario, aunque de manera consistente se ha identificado que la neuroinflamación induce una disminución en la proliferación, se desconocen los mecanismos que participan en dicho efecto, si hay una menor activación de las CTNAs y como las diferentes poblaciones de células progenitoras modifican su capacidad proliferativa con respecto al número de divisiones celulares

que llevan a cabo y la duración de su ciclo celular, que en conjunto impacta en la temporalidad del proceso neurogénico y en qué contexto se generaron las nuevas neuronas.

Justificación

La generación de nuevas neuronas está finamente regulada por factores extrínsecos que pueden promover o disminuir la tasa a la que ocurre el proceso neurogénico. La neuroinflamación es una respuesta que se establece en diferentes condiciones patológicas y que promueve un microambiente anti-neurogénico impactando en las funciones dependientes de hipocampo. Por lo mismo, avanzar en el entendimiento sobre cómo la neuroinflamación modifica el proceso neurogénico adquiere relevancia. La administración periférica de LPS es una de las estrategias experimentales más utilizadas para inducir una respuesta neuroinflamatoria. La evidencia actual indica que la fase temprana de la inflamación cerebral, que se establece un día después de la inyección intraperitoneal de LPS, produce una disminución en la tasa neurogénica evaluada como el número de nuevas células con linaje neuronal (BrdU+/DCX+). Lo anterior se ha reportado tanto para esquemas de una única administración como de inyecciones repetidas, tanto consecutivas como intermitentes, como modelos para inducir un proceso inflamatorio agudo y crónico, respectivamente.

Los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a la desregulación de la neurogénesis concomitante a la neuroinflamación se han estudiado principalmente durante la respuesta temprana al reto inmunológico. Por lo tanto, se desconoce 1) cómo se modula la tasa neurogénica conforme progresa la respuesta neuroinflamatoria, 2) si la disminución neurogénica es un efecto transitorio dependiente de la respuesta proinflamatoria o es una respuesta persistente independiente de la progresión del proceso inflamatorio, 3) si la inflamación cerebral crónica induce una reducción mayor en la tasa neurogénica en comparación con la neuroinflamación aguda. Además, aunque la fase proliferativa depende de distintos tipos de CPNs con diferente comportamiento proliferativo y diferente sensibilidad a factores extrínsecos 4) se desconoce cómo la neuroinflamación modula específicamente la capacidad proliferativa de las CPNs y cómo ellos contribuye a la disminución de la tasa neurogénica.

Este proyecto de investigación buscó así, avanzar en el entendimiento de los efectos de la inflamación cerebral, tanto aguda como crónica, en la neurogénesis hipocampal al evaluar si la reducción en la tasa neurogénica es un efecto transitorio asociado al perfil molecular y celular

proinflamatorio o si es un efecto persistente que continua de manera independiente a la progresión de la respuesta neuroinflamatoria. A su vez, buscó estudiar los cambios en la proliferación celular al evaluar de manera específica la capacidad proliferativa de algunos progenitores neurales durante la progresión de la respuesta neuroinflamatoria. Lo anterior adquiere relevancia para conocer mejor algunos de los mecanismos celulares que regulan la neurogénesis en condiciones patológicas, así como en la comprensión de la biología básica de las células progenitoras neurales.

Hipótesis

1. La progresión de la respuesta neuroinflamatoria inducida por la administración única e intermitente de LPS continuará disminuyendo la tasa neurogénica si corresponde a un perfil proinflamatorio.
2. La inflamación cerebral crónica inducirá una reducción mayor en la tasa neurogénica en comparación con la neuroinflamación aguda.
3. La neuroinflamación inhibe la tasa neurogénica a través de modular la capacidad proliferativa de los progenitores neurales

Objetivo general

Evaluar la tasa neurogénica hipocampal en respuesta a la progresión de la respuesta neuroinflamatoria.

Objetivos particulares

1. Caracterizar la respuesta neuroinflamatoria establecida 7 días después de la administración única (IU-LPS, 1 iip) e intermitente (II-LPS; 4 iip, 1 c/semana) de LPS.
2. Evaluar la tasa neurogénica durante la respuesta neuroinflamatoria establecida a los 7 días después de la administración única e intermitente de LPS.
3. Evaluar la capacidad proliferativa de progenitores neuronales durante la progresión de la respuesta neuroinflamatoria.

Materiales y métodos

Modelo animal

Todos los animales utilizados durante la realización del proyecto de investigación se manejaron conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y al código ético aprobado por la Comisión Institucional para el Cuidado y Uso de Animales del Laboratorio (CICUAL) del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, misma que aprobó el protocolo de experimentación utilizado ID 77 "Plasticidad del sistema nervioso: neurogénesis y vías de señalización.

Se utilizaron ratones C57BL/6 macho adultos jóvenes de 2 meses de edad (n=60). Los animales estuvieron alojados en grupo en una caja estándar para ratón en una sala con ciclo invertido de luz/oscuridad artificial de 12 h con acceso a comida y agua *ad libitum*.

Modelo de neuroinflamación

Para inducir una respuesta neuroinflamatoria se administró vía intraperitoneal (iip) lipopolisacárido (LPS, *Escherichia coli* serotipo O127:B8, Sigma-Aldrich, # L3129) a una dosis de 1mg/Kg de peso corporal. El LPS se preparó en solución salina al 0,9% estéril justo antes de ser administrado.

Los grupos experimentales recibieron dos tipos de tratamiento 1) único, 1 iip de LPS y 2) intermitente, 4 iip de LPS una cada semana. Los grupos control fueron inyectados con el vehículo, solución salina al 0,9% estéril; 1ml/kg, según su correspondiente grupo experimental. Dos grupos de ratones Naive fueron utilizados como control de manejo y edad, se sometieron a pruebas de comportamiento y registro de peso de acuerdo con su grupo correspondiente, sin que recibieran alguna inyección de solución salina, LPS o BrdU.

Todos los tratamientos se administraron en la primera mitad de la fase oscura del ciclo de luz/oscuridad. Los animales se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico (210mg/kg) una semana después del tratamiento y se extrajeron los cerebros para el posterior análisis del tejido.

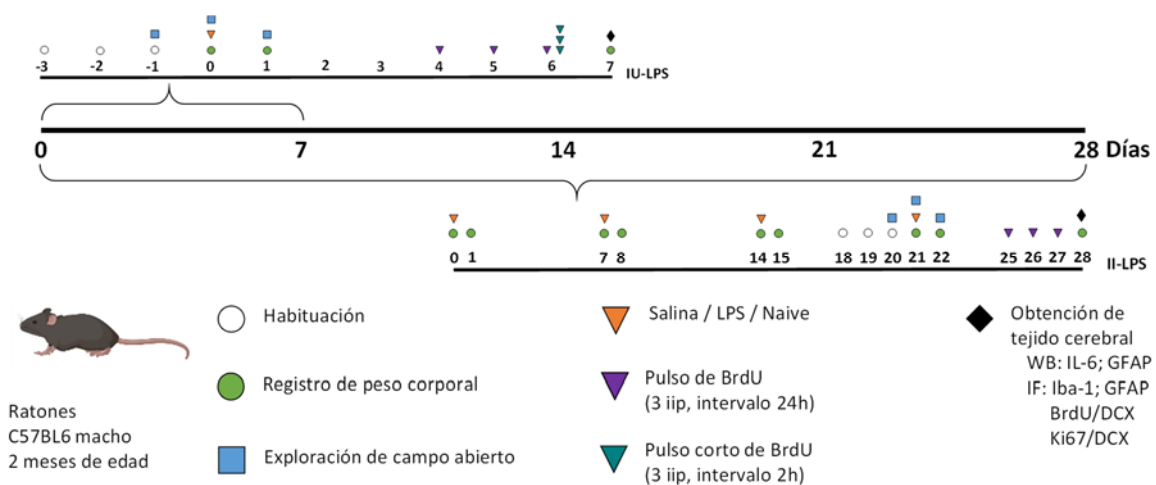


Figura 5. Línea de tiempo de la estrategia experimental.

Tarea de exploración de campo abierto

Para evaluar la exploración espontánea y la actividad locomotora asociada se utilizó como campo abierto una arena cuadrada de acrílico de 40 cm de largo x 40 cm de ancho x 25 cm de alto. La arena está dividida en 16 cuadrantes de 10 x 10 cm para facilitar el registro de los cruces. Todas las pruebas se realizaron en la fase oscura del ciclo de luz/oscuridad. Todos los ratones se habituaron al experimentador y al área de conducta durante 5 min por 3 días consecutivos y un día antes de la evaluación de la conducta los animales se expusieron a la arena de campo abierto para evitar que el ambiente novedoso enmascarara el posible malestar inducido por la administración de LPS. La tarea de exploración se llevó a cabo a las 2 y 24 h después de la administración de los tratamientos. Para la evaluación, cada ratón se colocó en una esquina de la arena y se le permitió explorar libremente. La conducta se videograbó durante 5 min y se contabilizó el número de cruces totales, centrales y periféricos que realizó cada ratón. Durante la prueba, la arena se iluminó de un lado con una luz roja y antes de cada prueba se limpió con una solución con 10% de etanol, 10% de etanol y 80% de agua.

Cuantificación de proteínas por Western blot

El cerebro se extrajo, se lavó con PBS frío (NaCl 137 mM; KCl 2.7 mM; Na₂HPO₄ 10 mM; KH₂PO₄ 2 mM) y se mantuvo en una caja de Petri sobre hielo. El hipocampo se disecó inmediatamente y se colocó en un tubo para microcentrífuga previamente enfriado con hielo que contenía 600 µl de amortiguador de lisis RIPA (agua MilliQ; Tris base 50 mM; NaCl 60 mM; SDS al 1%; desoxicolato de sodio al 0,5%; NP-40 al 1%; cóctel de inhibidores de proteasas (cOmplete, Roche 11697498001).

Primero, el tejido se disgregó mecánicamente con tijeras, después se sonicó (pulsos de 10 s de 40 A) y la muestra se incubó (30 min en hielo con resuspensiones cada 10 min), finalmente se centrifugó (13000 rpm, 10 min a 4°C). Los sobrenadantes se transfirieron a nuevos tubos para centrifuga previamente enfriados.

Para el análisis por western blot, se cuantificó la cantidad de proteína en los homogenados celulares utilizando el kit de Bio-Rad DCTM (BIO-RAD, # 5000111). Las proteínas, 30 µg para GFAP y 60 µg para IL-6 y TNF-α, se separaron en geles al 15 o 10% de SDS-PAGE respectivamente y después se transfirieron a una membrana de PVDF (Immuno-Blot LF PVDF Membrane Roll, Bio - Rad 162-026). Las membranas se bloquearon con 5% de leche baja grasa en TBS-T (Tris al 0,1% de Tween 20; pH 8,0) durante 1 hora a temperatura ambiente (TA) y luego se incubaron con uno de los siguientes anticuerpos primarios a 4 °C durante 48 h: conejo anti-GFAP (1: 1000; Dako Z 0334), ratón anti-IL-6 (1: 200; Abcam ab7737), anti-TNF-α (1:200; AB1837P) o anti-β-actina (1: 1000; Sigma-Aldrich A5316). Después de lavar tres veces con TBS-T, las membranas se incubaron con anticuerpos secundarios acoplados con peroxidasa de rábano (HRP) anti-conejo de cabra HRP (1: 5000; Santa Cruz Biotechnology sc-2030) o anti-ratón de conejo HRP (1: 10000; Invitrogen 616520) durante 2 h a TA. La señal se detectó utilizando el sustrato para HRP Chemiluminescent Western Immobilon™ (Millipore WBKLS0500) y BioMax Ligth Films (Kodak 8689358). Para la cuantificación relativa de las señales inmunológicas, se analizaron las intensidades de las bandas de interés utilizando el software Image J (National Institutes of Health, Bethesda, MD, Estados Unidos).

Administración de BrdU

El BrdU (Sigma-Aldrich 19-160) se administró vía intraperitoneal a una dosis de 50 mg/kg de peso corporal disuelto en una solución salina al 0,9 % estéril previamente calentada a 60°C y resuspendido con vórtex. Para la investigación se utilizaron dos diferentes esquemas de marcaje de cohortes de nuevas células con BrdU con finalidades diferentes: 1) Para evaluar la tasa neurogénica, los ratones recibieron 1 iip diaria durante tres días y se perfundieron 24 h después de la última inyección; este protocolo permite identificar el número de células nuevas; 2) Para evaluar el perfil proliferativo de los progenitores, los ratones recibieron un día antes del sacrificio, 3 iip espaciadas por 2 h y se perfundieron 24 h después de la última inyección; este protocolo permite determinar la actividad proliferativa de las células.

Inmunofluorescencias

Los ratones se perfundieron transcárdialmente con solución salina al 0,9% fría, seguida de paraformaldehído (PFA) al 4% disuelto en amortiguador de fosfatos (PB) al 0.1 M, pH de 7.4. Los cerebros se extrajeron y se mantuvieron en post-fijación en PB con PFA al 4% a 2-8°C. Posteriormente se deshidrataron con soluciones de PB 0.1 M con sacarosa al 15 y 30%. Se obtuvieron secciones coronales de 30 µm de grosor por medio de un criostato (Microm HM550, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, Estados Unidos); se mantuvieron en una solución de criopreservación (25% de glicerol, 50% 0.2 M PB, pH 7.4) y se almacenaron a 2-8°C hasta el procesamiento para inmunofluorescencia.

Las secciones coronales en flotación se lavaron 3 veces con PBS y luego se permeabilizaron con PBS con Tritón al 0.3% (PBST) durante 30 min en agitación a TA. Las secciones se transfirieron a HCl 2N a 37 ° C durante 30 minutos y se lavaron tres veces con PBS para la detección de BrdU. Las secciones se bloquearon con suero de caballo al 5% (Vector Laboratories, Burlingame, CA) diluido con PBST a TA en agitación durante 1 h a TA. Las secciones se incubaron con anticuerpos primarios durante 48 horas a 4°C: anti-BrdU (1: 500, ratón, Roche 11170376001), anti-DCX para la identificación de células progenitoras neurales con linaje neuronal y neuronas inmaduras (1: 250, cabra, Santa Cruz Biotechnology sc-8066), anti-Ki67 para detectar a células en proliferación. (1: 200 conejo, GeneTex GTX16667), anti-IBA-1 para la inmunodetección de la microglía (1: 250 conejo, Wako 019-19741) y anti-GFAP (1: 1000 conejo, Dako Z0334) para la inmunodetección de astrocitos en solución de bloqueo. Después de 3 lavados con PBST las secciones se incubaron con los anticuerpos secundarios correspondientes durante 2 h a TA en agitación y en oscuridad: burro anti-conejo Alexa Fluor 488 (1:250, Invitrogen A21206), burro anti-cabra Alexa Fluor 488 (1: 250, Invitrogen A11055), burro anti-ratón Alexa Fluor 555 (1: 500, Invitrogen A31570) o burro anti-conejo Alexa Fluor 647 (1: 500, Invitrogen A31573) disueltos en solución de bloqueo. Después de lavar 3 veces con PBS, las secciones se montaron en portaobjetos pretratados con poli-L-lisina (Sigma-Aldrich) con medio de montaje fluorescente DAKO (Dako S3023) y se cubrieron con un cubreobjetos.

Microscopía confocal y estimación del número de células basada en estereología

El análisis de las células IBA-1+ y GFAP+ en el giro dentado se realizó con un microscopio confocal Nikon A1R + (Nikon Instruments Inc., Tokio, Japón) con un objetivo de 40x y se tomaron imágenes

digitales con el software de imágenes NIS-Elements C (Nikon). Se obtuvieron dos campos por sección correspondientes a la lámina suprapiramidal de la capa de células granulares. Para la evaluación cualitativa de la morfología celular de células de la microglía y astrocitos, se adquirieron "z stacks" por campo que contenían información de 63 y 52 cortes ópticos separados por un intervalo de 0.4 μm respectivamente. Se obtuvieron las proyecciones en "z" que contenían la suma de píxeles para cada corte óptico con el software Image J (National Institutes of Health, Bethesda, MD, Estados Unidos).

La cuantificación de las células Ki67+, BrdU+ y DCX+ en la SGZ se realizó usando un microscopio confocal Zeiss LSM5 (Zeiss, Oberkochen, Alemania) con un objetivo 40x de aceite. Se obtuvieron imágenes digitales utilizando el software Zeiss LSM Image Browser. Se adquirieron "z stacks" que contenían información de 10 cortes ópticos separados por un intervalo de 2.0 μm . Para el muestreo tipo estereológico se utilizaron 6 secciones seriales espaciadas por 420 μm entre sí del hipocampo dorsal, analizando cinco campos de cada sección: uno en la cresta, dos en la lámina suprapiramidal y dos en la lámina infrapiramidal de la capa de células granulares. Las células se contaron con marcaje doble si los marcadores analizados aparecían simultáneamente en al menos dos planos focales adyacentes con ayuda de proyecciones ortogonales. Las estimaciones de células se obtuvieron después de multiplicar el número total de células en cada categoría por 6.

Análisis estadístico

Todas las gráficas representan la media + el error estándar (EE). Los datos se analizaron con ANOVA mixto para el peso, ANOVA de dos vías para la prueba de campo abierto, ANOVA de una vía para los datos de tasa neurogénica y con t de Student para los datos restantes. Todos los ANOVA fueron seguidos por la prueba post-hoc de Tukey. Todas las pruebas se consideraron significativas cuando $p < 0.05$. Los análisis y gráficas se realizaron con GraphPad Prisma para Windows (versión 7) (La Jolla, CA, Estados Unidos).

Resultados

Caracterización de la progresión de la respuesta neuroinflamatoria una semana después de la administración única o intermitente de LPS

Para evaluar el efecto de la progresión de la respuesta neuroinflamatoria sobre la tasa neurogénica hipocampal se utilizó como estrategia experimental la administración intraperitoneal de LPS a ratones jóvenes. El modelo de inflamación aguda consistió en 1 iip de LPS (IU-LPS) mientras que el modelo de inflamación crónica consistió en la administración de 4 iip, 1 por semana (II-LPS). Todos los análisis del tejido cerebral corresponden a la respuesta tanto neuroinflamatoria como neurogénica establecida a los 7 días después del término de los protocolos de exposición a LPS (Fig. 6a).

Primero se evaluó la conducta exploratoria con la prueba de campo abierto como indicador de movilidad y se registraron los cambios en el peso corporal consecuente a la anhedonia inducida por LPS, ambos como signos de malestar asociados a la inflamación sistémica. Se realizó una prueba piloto de exploración de campo abierto 1, 2, 4 y 24 h después de la iip de LPS (h.p.i). La mayor inmovilidad y la presencia de pelo hirsuto se observaron a las 2 h.p.i (datos no mostrados), mientras que a las 24 h.p.i ninguno de estos indicadores continuó presente. Por lo anterior, la evaluación de exploración de campo abierto en los demás grupos se realizó a las 2 h.p.i, como tiempo control de presencia de malestar y 24 h.p.i, para analizar si el malestar había cedido. La administración periférica de LPS, tanto en el esquema de inyección única como de inyecciones intermitentes, provocaron una disminución significativa en la conducta exploratoria, observada como un menor número de cruces totales en la prueba de exploración de campo abierto ($F(5,48) = 6.7214, P < 0.001, ANOVA$). Además, se observó una interacción significativa entre el grupo y el tiempo de evaluación ($F(5,48) = 3.3871, P < 0.05$). Durante la primera evaluación, a las 2 h.p.i. de LPS, tanto los grupos IU-LPS como II-LPS mostraron una reducción en la exploración en comparación con su correspondiente grupo control ($P < 0.05$, prueba post hoc de Tukey). Además, el número de cruces totales fue significativamente menor en el grupo IU-LPS comparado con el grupo IU-Naive ($P=0.005$, prueba post hoc de Tukey). Durante la segunda evaluación, 24 h después del tratamiento, no hubo diferencias significativas en el número de cruces totales entre los grupos. También se evaluó el porcentaje de cruces centrales como un indicador de la ansiedad asociada al manejo experimental. Los resultados no mostraron algún efecto o interacción significativa en el porcentaje de cruces centrales, sugiriendo que ninguna de las estrategias experimentales

utilizadas indujo cambios en los niveles de ansiedad (datos no mostrados). Estos resultados muestran que el malestar asociado a la respuesta inflamatoria sistémica ocurre poco después del reto inmunológico con LPS, tanto en el modelo de inflamación aguda como crónica y se resuelve durante las siguientes 24 h.p.i (Fig. 6b).

Con respecto a la pérdida de peso asociada a la inflamación sistémica inducida LPS, el ANOVA mixto mostró un efecto significativo para el tiempo de evaluación ($F(2,100) = 23,295$, $P < 0.001$). Además, se observó una interacción significativa entre el grupo y los diferentes días post inyección (d.p.i) ($F(10,100) = 6.32$, $P < 0.001$). Tanto IU-LPS como II-LPS, independientemente del número de inyección, indujeron una disminución significativa en el peso corporal 1 d.p.i de LPS ($P < 0.001$ y $P < 0.01$, respectivamente, prueba post hoc de Tukey). A los 7 d.p.i de LPS el peso corporal mostró recuperación ($P = 1,0$ para ambos grupos, prueba post hoc de Tukey). Ninguno de los grupos restantes mostró diferencias significativas en el peso corporal en los días de evaluación (Fig. 6c). Estos resultados muestran que después de una administración única o intermitente de LPS, se produce una respuesta sistémica inflamatoria transitoria caracterizada por inmovilidad y disminución del peso corporal.

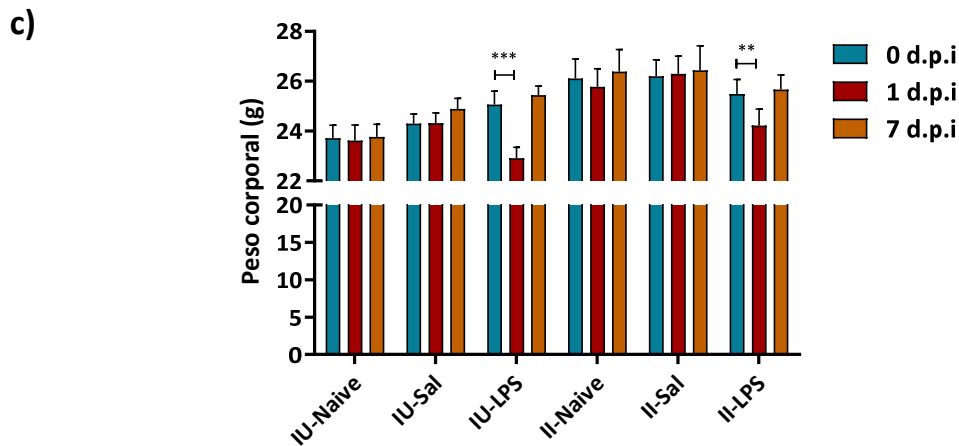
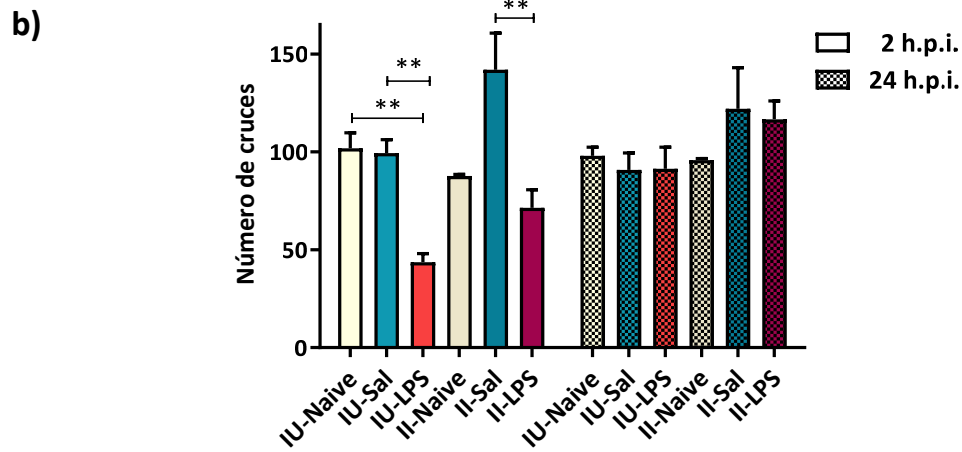
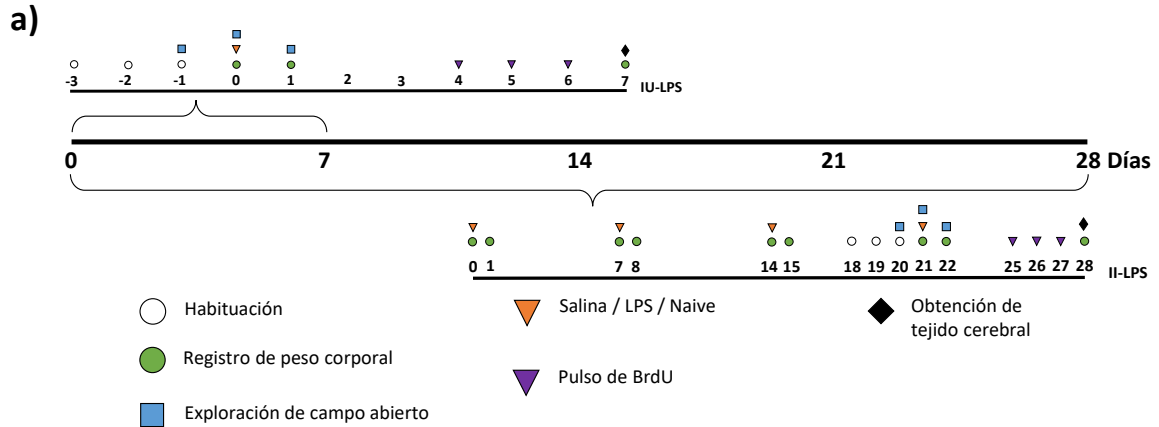


Figura 6. Caracterización de la respuesta de malestar asociada a la inflamación sistémica inducida por la administración única o intermitente de LPS. a) Línea de tiempo experimental indica los días en los que se realizaron las diferentes evaluaciones para el modelo de inflamación aguda y para el modelo de inflamación crónica. Todos los animales tenían dos meses de edad al comienzo del experimento. **b)** Evaluación de la conducta de exploración con la prueba de campo abierto como indicador de movilidad. Los cruces totales se contaron en un intervalo de 5 min a las 2 y 24 h. p. i. de solución salina o LPS. **c)** Registro de los cambios en

el peso corporal como indicador de anhedonia. El peso se midió a los 0, 1 y 7 d.p.i. Las gráficas de barras representan la media + EE (n≥6) * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001.

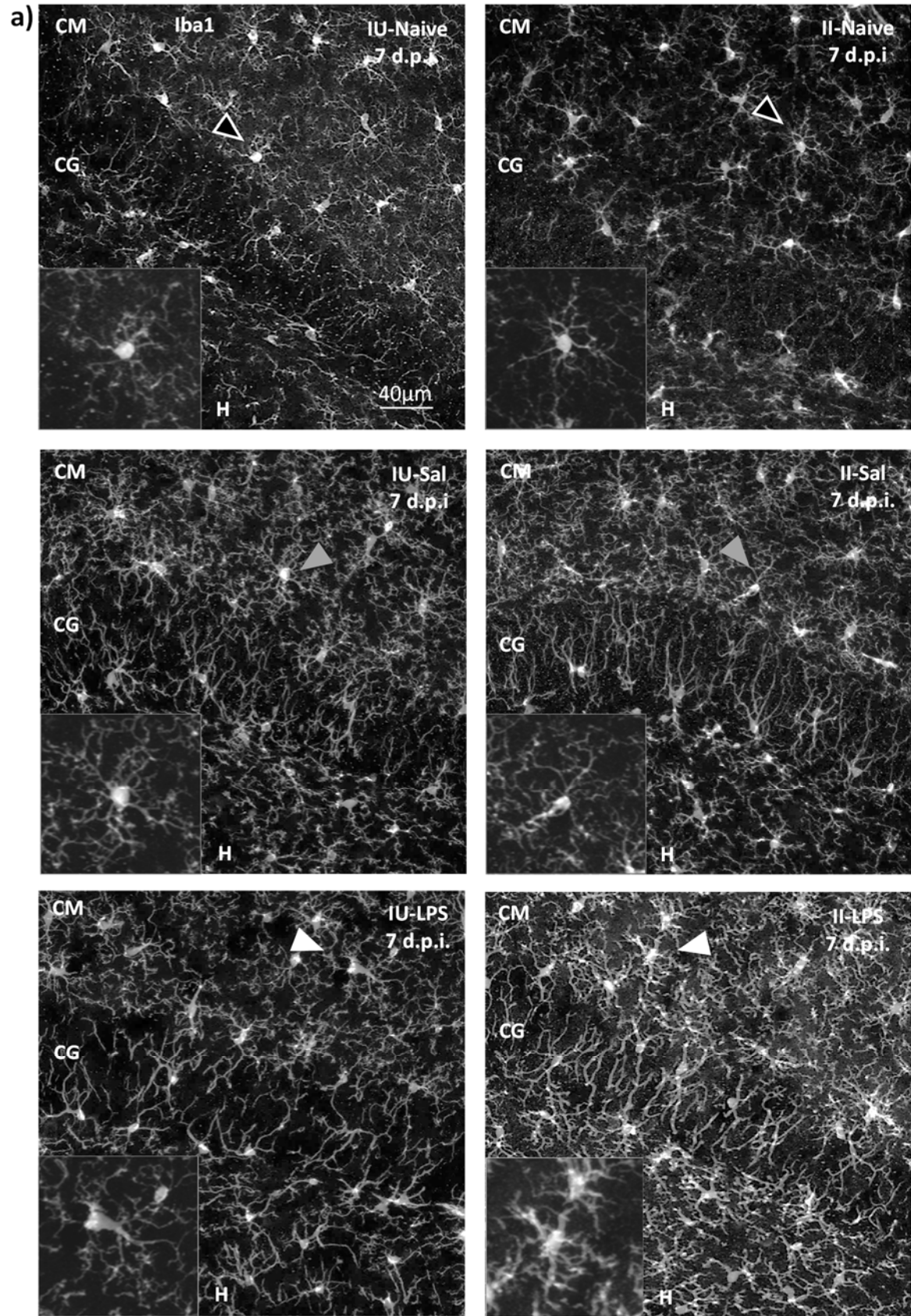
Para caracterizar la respuesta neuroinflamatoria establecida 7 días después del tratamiento de IU-LPS y de II-LPS primero se evaluaron cambios morfológicos cualitativos asociados a la reacción de la microglía y de los astrocitos, los principales tipos celulares responsables de establecer la respuesta inmune innata en el cerebro. La evaluación se realizó mediante la inmunodetección de microglía, células IBA-1+ (Ito et al., 1998) y astrocitos, células GFAP+ (Bignami et al., 1972) empleando para ello microscopía confocal. En condiciones control, tanto en el grupo Naive como Salina, la microglía que reside en el giro dentado del hipocampo tuvo una morfología caracterizada por procesos extendidos, altamente ramificados y finos. Una semana después de la IU-LPS, la microglía presentó retracción de filipodios, que corresponde a una etapa II de microglía reactiva (Mathieu et al., 2010). Tras las II-LPS, también se observó una morfología asociada a la microglía reactiva con procesos pequeños y delgados correspondiente a la etapa III, lo que sugiere una prevalencia de microglía reactiva sostenida 7 días después de la última inyección de LPS (Mathieu et al., 2010) (Fig. 7a).

Con respecto a la reacción astrocítica, en condiciones control, tanto Salina como Naive, los astrocitos en el giro dentado del hipocampo mostraron una morfología con procesos finos propios de los astrocitos no reactivos. Una semana después de la inducción de la inflamación cerebral con IU-LPS, los astrocitos mostraron una leve hipertrofia del soma, procesos celulares engrosados y un aumento de la inmunorreactividad contra GFAP sugiriendo que sigue presente una reacción astrocítica moderada. Con respecto a la progresión de la respuesta neuroinflamatoria después de la administración del protocolo de II-LPS no se observaron astrocitos reactivos sugiriendo que no persiste ni se exagera la reacción astrocítica (Figura 7b).

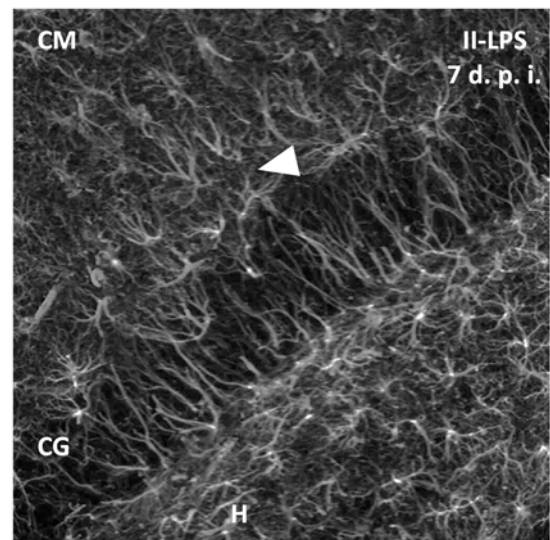
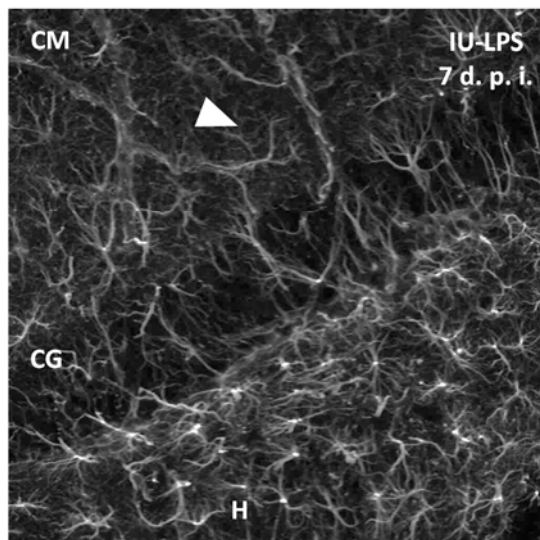
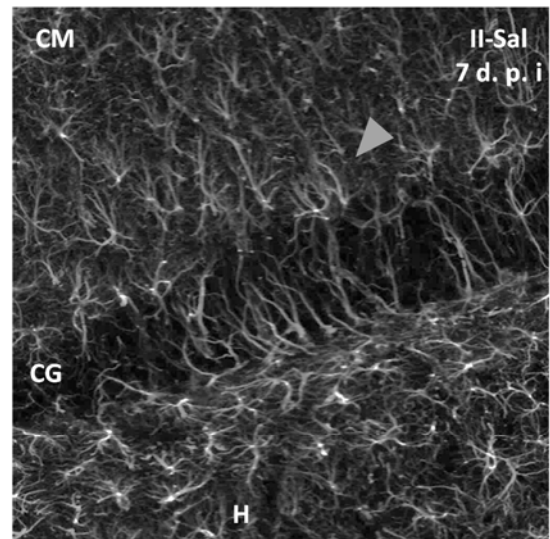
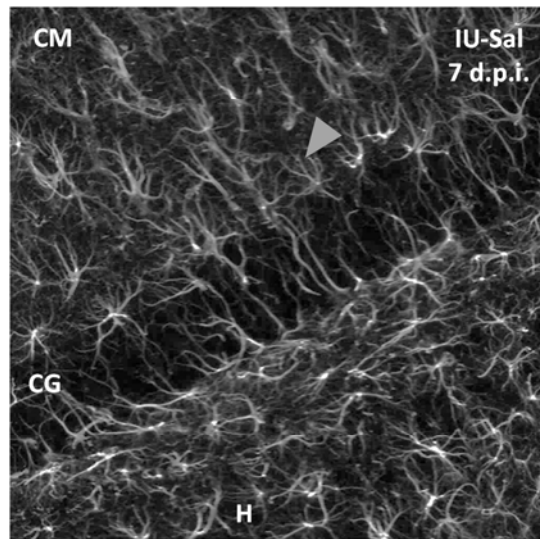
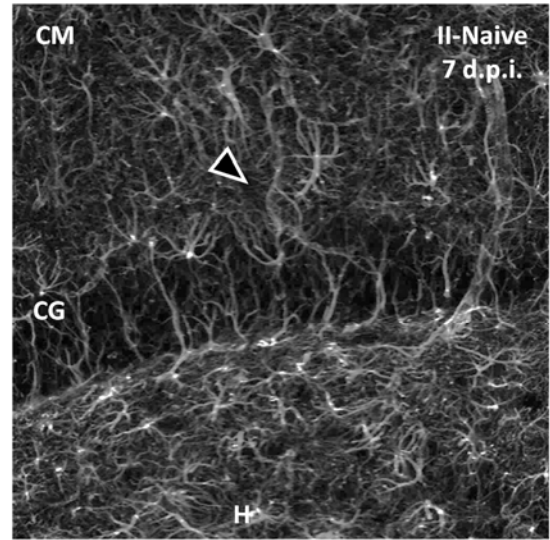
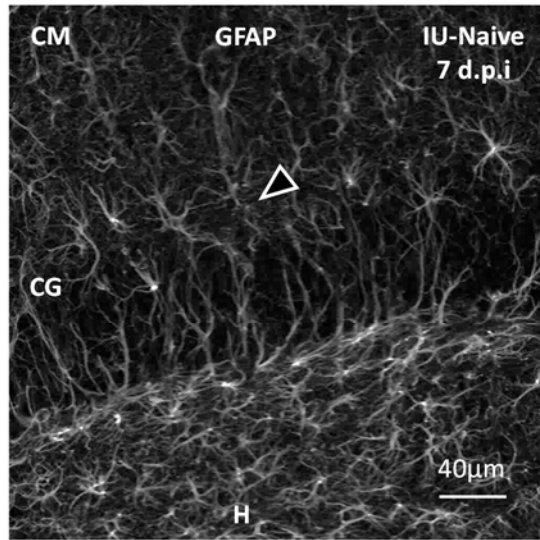
La caracterización de la neuroinflamación continuó con un análisis del contenido proteico de GFAP y de la citocina proinflamatoria IL-6 por western blot a partir de homogenados totales de hipocampo. En condiciones control, el ANOVA de una vía mostró un efecto principal significativo para la variable "grupo" ($F(5,14) = 4.2849$, $P < 0.05$). Sólo el protocolo de IU-LPS indujo un aumento en los niveles de GFAP al compararse con sus respectivos grupos control, Salina y Naive ($P < 0.05$, respectivamente, prueba post hoc de Tukey) sin que se observara un aumento significativo sostenido de GFAP tras el protocolo de II-LPS. En conjunto, los datos morfológicos y de contenido proteico indican que en el modelo de neuroinflamación aguda, la presencia de

astrocitos reactivos continúa a los 7 d.p.i. Por el contrario, parece ser que en el modelo de inflamación crónica no induce una reacción astrocítica persistente (Fig. 7c).

Posteriormente se analizaron los niveles de IL-6, una de las principales citocinas involucradas en la respuesta proinflamatoria y que afecta directamente al proceso neurogénico. El ANOVA de una vía mostró un efecto principal significativo para la variable "grupo" ($F(5,17) = 4.1999$, $P < 0.05$). Sólo el grupo IU-LPS mostró un aumento en los niveles de IL-6 al compararse con su respectivo grupo control Salina ($P < 0.05$, prueba post hoc de Tukey). No se encontraron diferencias entre los grupos Naive y Salina. Además, los contenidos de IL-6 no fueron diferentes entre II-LPS e II-Sal, lo que sugiere que las inyecciones repetidas de LPS no inducen niveles elevados sostenidos de este mediador soluble proinflamatorio que pudieran detectarse al momento de la evaluación (Fig. 7d).



b)



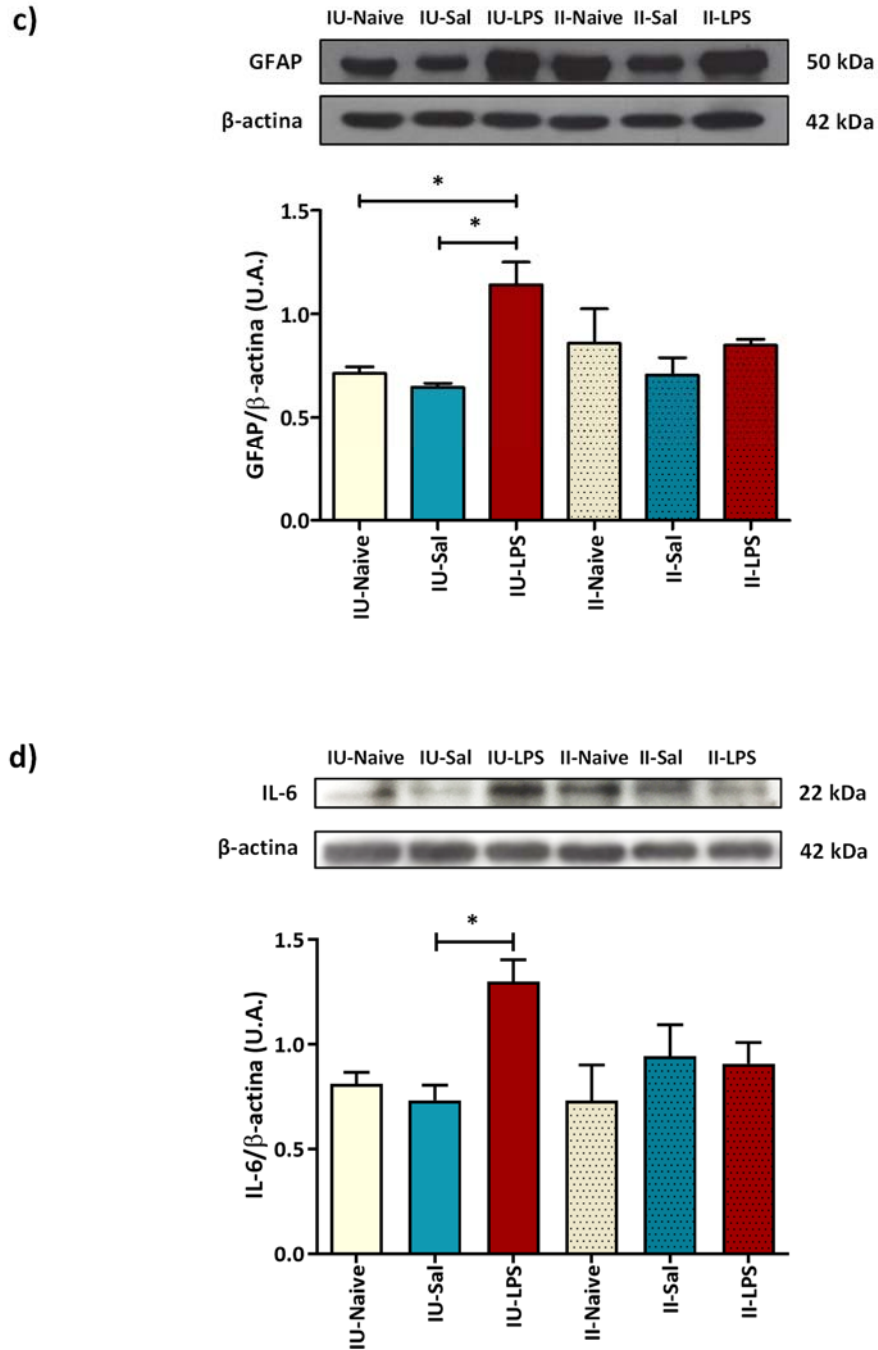


Figura 7. Caracterización de la respuesta neuroinflamatoria establecida 7 días después de la administración única o intermitente de LPS. **a)** Las imágenes de microscopía confocal muestran células IBA1+ en escala de grises. **b)** Las imágenes de microscopía confocal muestran la inmunodetección de astrocitos con GFAP en escala de grises. Las cabezas de flecha indican la morfología característica de la microglía y astrocitos para cada condición **c)** Inmunoblot representativo y cuantificación por densitometría de los niveles proteicos de GFAP e **d)** IL-6 a partir de homogeneizados totales de hipocampo. Los contenidos proteicos se normalizaron con β-actina. Los resultados son expresados como la media + EE en unidades arbitrarias (U.A.) (n≤3) * p <0.05. CM: capa molecular; CG: capa granular; H: hilus.

Evaluación de la tasa neurogénica asociada a la respuesta neuroinflamatoria establecida una semana después de la administración única o intermitente de LPS

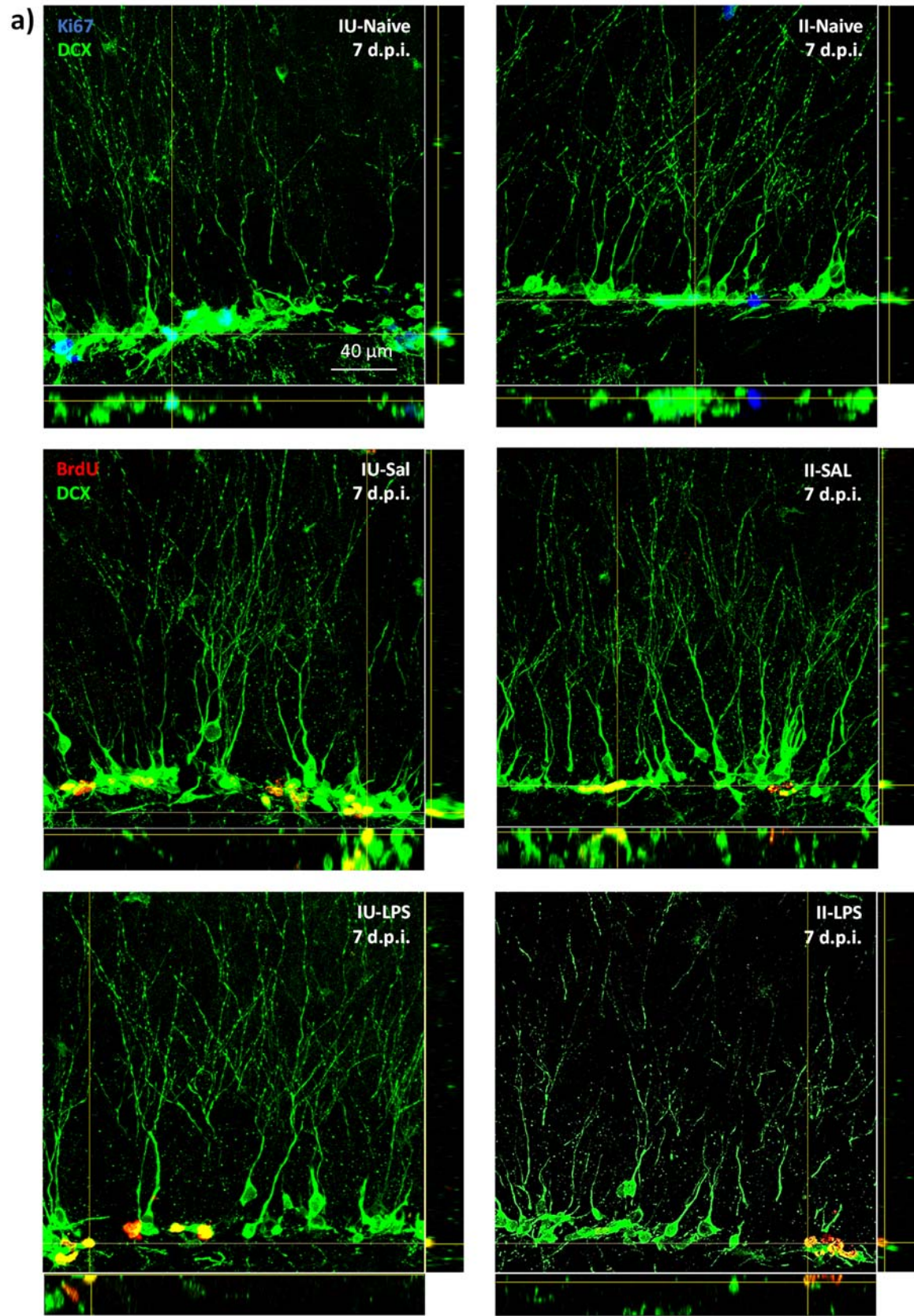
Para evaluar posibles efectos asociados al estrés por manejo o al declive natural de la tasa neurogénica asociado a la edad estimamos el número de nuevas células identificadas con Ki67+, un marcador endógeno de proliferación celular y DCX una proteína asociada a microtúbulos cuya expresión se extiende desde una etapa de proliferación de los progenitores neurales como indicativo de un compromiso de linaje neuronal hasta un período de maduración post-mitótica. En condiciones control se observó que las células Ki67+ se distribuyen en la ZSG en cúmulos y las células DCX+ delimitan de manera continua la ZSG del giro dentado del hipocampo, con diferentes morfologías desde células sin procesos evidentes hasta células que extienden un proceso apical que atraviesa la CP y se ramifica en la CM. Al analizar los resultados, observamos una disminución significativa en el número total de células Ki67+ en el grupo II-Naive en comparación con el grupo IU-Naive ($P < 0.005$, prueba de t de Student) (Fig. 8a y b). También observamos que tanto el número de células Ki67+/DCX- como Ki67+/DCX+ disminuyó significativamente en el grupo II-Naive ($P < 0.05$, prueba de t de Student), lo que indicó que la neurogénesis basal es diferente entre los grupos Naive de diferentes edades (Fig. 8a y c).

Para conocer cómo se modula la respuesta neurogénica hipocampal por la progresión de la respuesta neuroinflamatoria se evaluó la tasa neurogénica 7 días después de la administración única e intermitente de LPS. La tasa neurogénica se evaluó por estimación del número de nuevas células marcadas con BrdU y con un linaje neuronal identificado con la proteína DCX+. El BrdU al ser un análogo de timidina que se incorpora al DNA durante la fase de síntesis sirve como un marcador exógeno que identifica una población de células generadas en una ventana de tiempo determinada.

El ANOVA de una vía reveló un efecto significativo del tratamiento con LPS ($F(3,12) = 26,59$, $P < 0.001$) sobre el número de nuevas células BrdU+, con una disminución significativa en el grupo IU-LPS en comparación con su grupo control ($P < 0.05$, prueba post hoc de Tukey). Asimismo, se observó una disminución significativa en el número total de células BrdU+ en el grupo de II-Salina (3 meses de edad) en comparación con el grupo de IU-salina (2 meses de edad) ($P < 0.001$, prueba post hoc de Tukey), lo que también indica que la generación de nuevas células basal es diferente entre grupos acorde a la edad. Mas aún, al comparar el número de nuevas células BrdU+ no se encontraron diferencias significativas entre II-Salina y II-LPS, lo que indica que la exposición

continúa a LPS no afecta la tasa neurogénica más allá de la que se observa de manera basal (Fig. 8a y d).

Al analizar posteriormente el linaje de las células BrdU+, la mayoría fueron DCX+ en cada condición experimental, lo que indica que esta población de células es la que presenta una mayor expansión durante el proceso neurogénico. El ANOVA de una vía reveló un efecto significativo del tratamiento con LPS ($F(3,12) = 25.66$, $P < 0.001$) en las células BrdU+/DCX+. Se encontró una disminución en esta población celular en ratones tratados con una IU-LPS en comparación con su grupo control IU-Sal ($P < 0.05$, prueba post hoc de Tukey). Al comparar el efecto de los esquemas de inyección (IU vs II) se observó una reducción significativa en el número de células BrdU+/DCX+ en el grupo II-Salina en comparación con el grupo IU-Salina ($P < 0.001$, prueba post hoc de Tukey). En contraste, no hubo diferencias significativas en el número de BrdU+/DCX+ entre los grupos II-Salina e II-LPS. Posteriormente al comparar el número de nuevas células BrdU+/DCX- no hubo efectos asociados a algún tratamiento con LPS (Fig. 8a y e). Los datos anteriormente descritos indican que la respuesta neuroinflamatoria presente 7 días después de única inyección de LPS promueve que continúe la disminución en la tasa neurogénica hasta este mismo día, mientras que la progresión de la respuesta neuroinflamatoria inducida por el modelo crónico no induce una reducción neurogénica persistente en la generación de células BrdU+/DCX+.



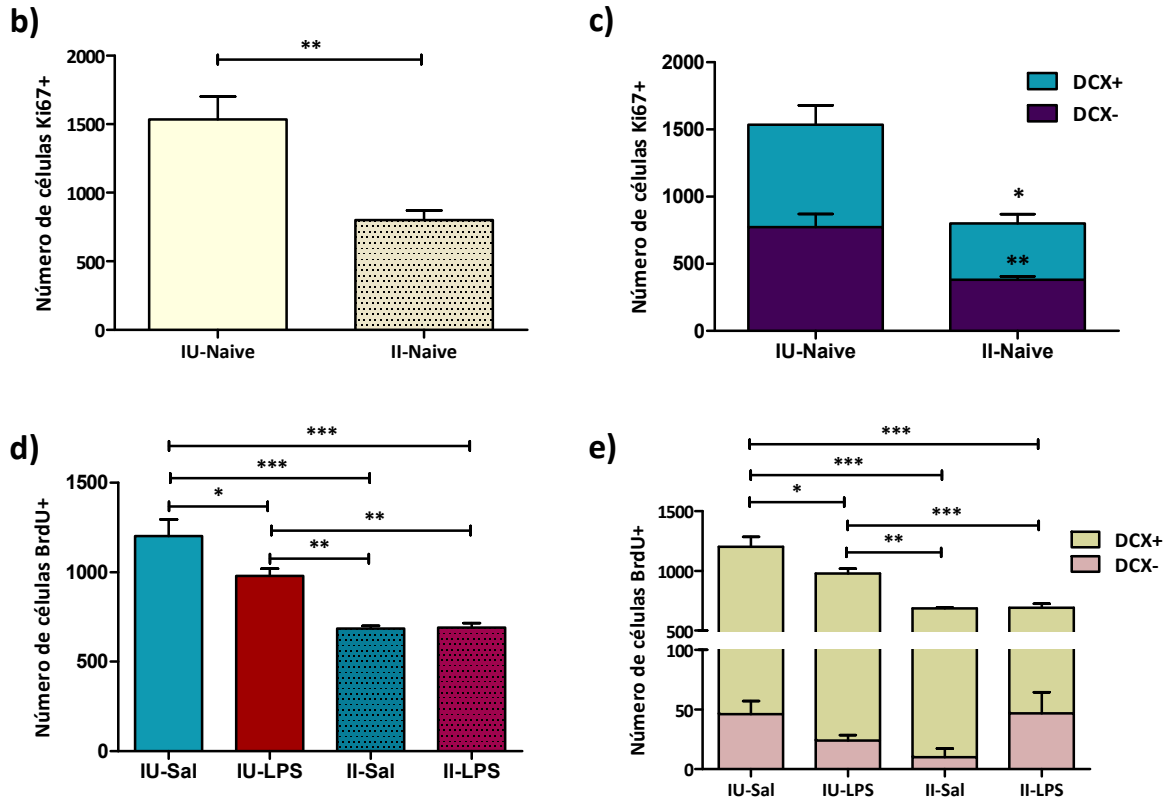


Figura 8. Efecto de la respuesta neuroinflamatoria establecida 7 días después de la administración única o intermitente de LPS en la tasa neurogénica. a) Imágenes de microscopía confocal que muestran células BrdU+ (rojo), células Ki67+ (azul) y células DCX+ (verde). La colocalización aparece en amarillo para las células BrdU+/DCX+, cian para las células Ki67+/DCX+. **b)** Estimación del número de células Ki67+ en las diferentes condiciones experimentales. **c)** Identificación del linaje celular para células Ki67+. **d)** Estimación del número de células BrdU+ en las diferentes condiciones experimentales. **e)** Identificación del linaje celular para células marcadas con BrdU+. Las barras representan la media + EE, n \leq 3 * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001.

Evaluación de los efectos de la progresión de la neuroinflamación sobre la capacidad proliferativa de los progenitores neurales.

La disminución en la tasa neurogénica observada por el modelo de inflamación aguda puede ser consecuencia de una disminución en la capacidad proliferativa de los progenitores neurales y/o de una reducción en la sobrevivencia de las nuevas células, tanto de progenitores como células post-mitóticas. Por lo anterior, se continuó con el análisis de la capacidad proliferativa de los progenitores neurales sólo en la condición de IU-LPS. Para completar la caracterización del perfil proinflamatorio una semana después de la IU-LPS se evaluó el contenido proteico de TNF- α . Al analizar los datos se encontró un aumento significativo ($P < 0.05$, prueba de t de Student) en este factor secretado por la administración periférica de LPS (Fig. 9a y c) lo que aporta más evidencia sobre un microambiente local proinflamatorio persistente.

Para la evaluación de la capacidad proliferativa se utilizó un pulso corto de BrdU que permitió evaluar de una manera más específica el perfil proliferativo de los progenitores neurales. La reentrada a ciclo celular se evaluó con el marcaje de una cohorte de células en proliferación con BrdU (3 iip, espaciadas 2h) y 24 h después se evaluó el número de células BrdU+ que también fueran Ki67+, es decir que hubieran reentrado a ciclo celular y que se encontraran en la ZSG del giro dentado del hipocampo. El linaje neuronal también se identificó con la inmunodetección de DCX. Las células BrdU+/DCX+ incluyen a los progenitores neurales tipo 2b, los neuroblastos y las neuronas jóvenes post-mitóticas mientras que las células Ki67+/DCX+ sólo constituyen una población de progenitores neurales tipo 2b y neuroblastos. Por otro lado, las células BrdU+/DCX- o Ki67+/DCX- ubicadas en la ZSG incluyen principalmente a las CTNAs, a progenitores neurales tipo 2a o incluso nuevos astrocitos, aunque no se descarta algún otro tipo de célula proliferativa al ser Ki67+ (Fig. 9a y b).

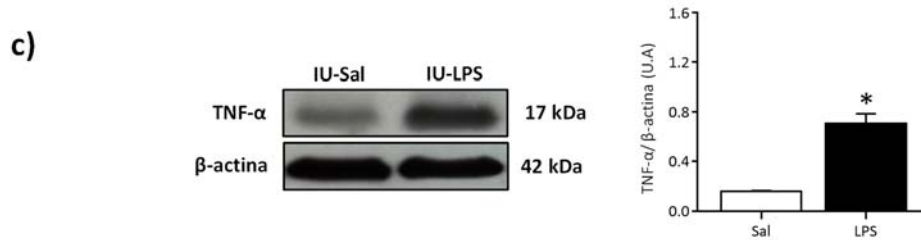
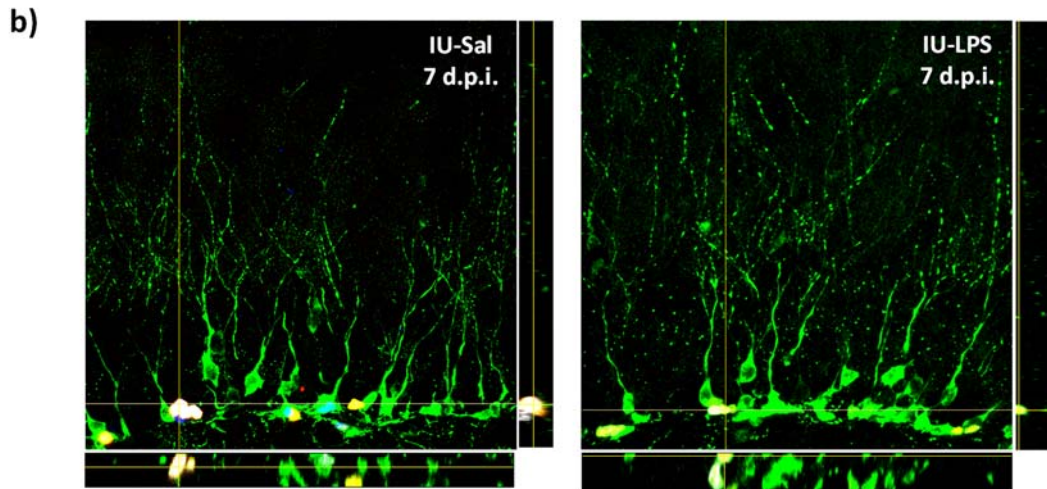
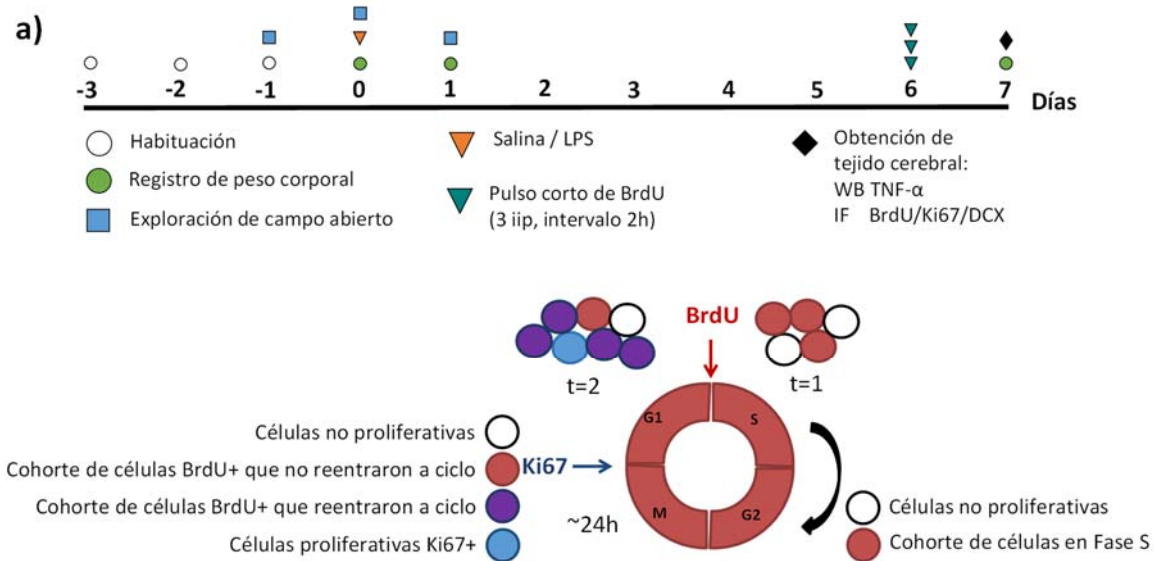
El análisis de la estimación del número de células totales marcadas con BrdU tras un pulso corto mostró que no hubo cambios significativos consecuentes a la respuesta neuroinflamatoria. Al comparar el número total de células Ki67+ tampoco se encontró una disminución significativa en las células proliferantes tras una semana de la iip de LPS en comparación con su grupo control (Fig. 9 a, d y e). Después se continuó con la identificación del linaje de las nuevas células. En condiciones control la mayoría de las células totales marcadas con el pulso corto de BrdU fueron BrdU+/DCX+ mientras que más de la mitad de las células Ki67+ fueron DCX+. Por el tiempo de evaluación tan restringido los resultados indican que las células progenitoras neurales que más

prolifera son las DCX+. No se observaron diferencias significativas al comparar el número total de células BrdU+/DCX+ en el grupo IU-LPS con su grupo control (Fig. 9f). Al caracterizar el fenotipo de las células Ki67+ se encontró una disminución significativa en el número total de células Ki67+/DCX+ una semana después de la administración de LPS ($P < 0.01$, prueba de t de Student) lo que indica una reducción en la población de progenitores neurales DCX+. Con respecto al número total de células Ki67+/DCX- se observó un mayor número en el grupo IU-LPS al compararse con su control IU-Salina ($P < 0.01$, prueba de t de Student) lo que sugiere que en respuesta a la neuroinflamación hay un incremento de células proliferativas Ki67+ en la ZSG que no pueden asociarse a un linaje neural identificado con DCX (Fig. 9g). Lo anterior sugiere 1) un posible aumento en la tasa de activación de las CTNAs 2) un aumento en la proliferación de progenitores neurales tipo 2a; 3) una acumulación de estos progenitores sin que progresen al estadio 2b o; 3) un incremento en el número de nuevos astrocitos.

Los resultados anteriormente descritos corresponden a un efecto general de la neuroinflamación establecida sobre el número de nuevas células que puede enmascarar la dinámica en la capacidad proliferativa de los progenitores neurales, por lo que se continuó con la evaluación de su habilidad de reentrar a ciclo celular. En condiciones control, la estimación del número de células BrdU+/Ki67+/DCX+ indicó que en condiciones control la mayoría de los progenitores neurales llevan a cabo una segunda división celular mientras que el resto sale de ciclo, lo que apoya la idea sobre los progenitores DCX+ como las células que presentan la mayor tasa de proliferación. Una semana posterior a la inducción de la inflamación cerebral por la IU-LPS se observó un aumento significativo en el número de células BrdU+/Ki67-/DCX+ indicando que los progenitores DCX+ están fuera de ciclo celular ($P < 0.05$, prueba de t de Student) mientras que de manera complementaria hubo una disminución significativa de la población de progenitores neurales BrdU+/Ki67+/DCX+, es decir que permanecieron en ciclo celular ($P < 0.01$, prueba de t de Student) (Figura 9h). Al calcular el índice de reentrada a ciclo celular se encontró que hay una disminución significativa en la capacidad proliferativa de los progenitores neurales DCX+ ($P < 0.01$, prueba de t de Student) lo que indica que el proceso inflamatorio inducido por LPS promueve una salida prematura del ciclo celular (Fig. 9g).

Los resultados anteriormente descritos, en conjunto, proporcionan evidencia que indica que la fase de expansión durante la neurogénesis hipocampal depende en gran medida de la proliferación de los progenitores neurales DCX+ y la neuroinflamación establece un

microambiente no permisivo que subyace a una salida prematura del ciclo celular de las células DCX + dando origen a neuronas post-mitóticas antes de tiempo lo que contribuye a la reducción en la generación de nuevas neuronas en el giro dentado del hipocampo.



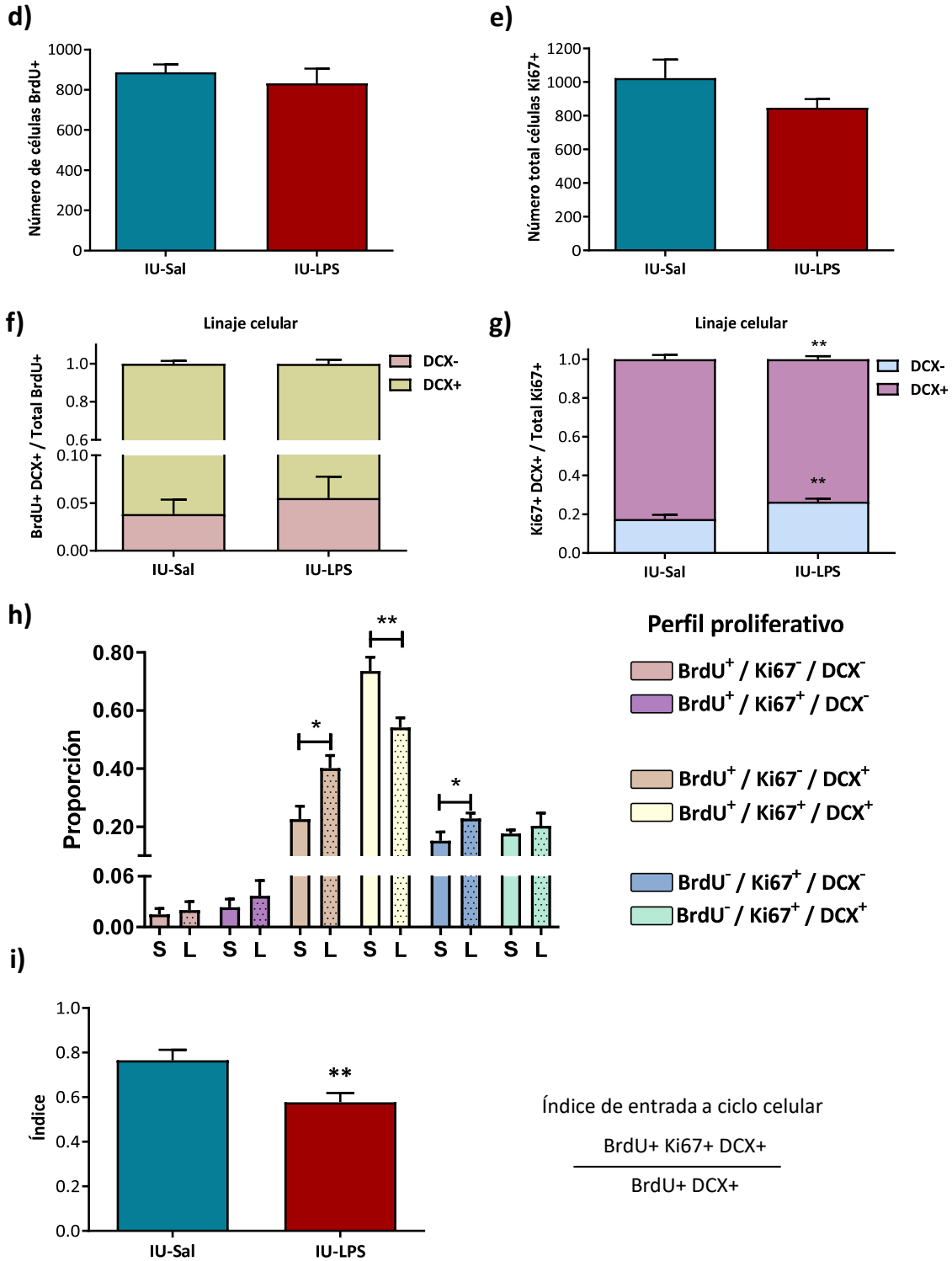


Figura 9. Efecto de la respuesta neuroinflamatoria establecida 7 días después de la administración única de LPS en la capacidad proliferativa de CPNs. a) Línea de tiempo experimental indica los días en los que se realizaron las diferentes evaluaciones. **b)** Imágenes de microscopía confocal que muestran células BrdU+

(rojo), células Ki67+ (azul) y células DCX+ (verde). La colocalización aparece en amarillo para las células BrdU+ /DCX +, cian para las células BrdU+ / Ki67+ y blanco para las células BrdU+/Ki67+/DCX+. Las proyecciones ortogonales de los planos “xz” y “yz” se aprecian en la parte derecha y superior de la imagen, respectivamente. c) Inmunoblot representativo y cuantificación por densitometría de los niveles de TNF- α a partir de homogenados totales de hipocampo. **d y e)** Estimación basada en estereología del número de células BrdU+ y Ki67+ en condiciones control y tras la inducción de la respuesta neuroinflamatoria **f y g)** Linaje celular para células marcadas con BrdU y células Ki67+ en proliferación en ambas condiciones. **h y i)** Análisis del perfil proliferativo de diferentes progenitores neurales y cálculo del índice de reentrada a ciclo celular de progenitores DCX+. Las barras representan la media + EE, n=5 * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001.

Discusión

La neurogénesis está constantemente modulada por diversos factores extrínsecos que remodelan el nicho neurogénico. La neuroinflamación es una respuesta común a diferentes condiciones tanto infecciosas como patológicas que conlleva una desregulación de la neurogénesis y un impacto negativo en tareas dependientes de hipocampo. Si bien se han identificado múltiples elementos a nivel celular, de vías de señalización y transcripcional que regulan la neurogénesis hipocampal en condiciones fisiológicas, aún se desconoce cómo esos mismos elementos se modifican en un contexto neuroinflamatorio y su impacto en el proceso neurogénico. Por lo tanto, tener un mejor entendimiento sobre los mecanismos celulares y moleculares a través de los cuales la neuroinflamación modifica el proceso neurogénico y sus implicaciones cognitivas adquiere relevancia.

Como se mencionó anteriormente, la administración periférica de LPS es una de las estrategias experimentales más utilizadas para inducir inflamación cerebral (Buttini et al., 1996; Qin et al., 2007; Turrin et al., 2001), ya sea con el objetivo de inducir una respuesta neuroinflamatoria aguda o crónica, que ha permitido estudiar sus efectos sobre la neurogénesis hipocampal (Monje et al., 2003; Wu et al., 2007; Zonis et al., 2013). La evidencia actual indica que la inflamación cerebral establece un microambiente no permisivo que inhibe el proceso neurogénico principalmente observado como una disminución significativa en el nacimiento de nuevas neuronas en el cerebro de roedores adultos. Dicha respuesta es consistente, independientemente de la vía de administración, periférico o central, y del esquema de administración, único o repetido consecutivo o intermitente. Sin embargo, en la mayoría de las investigaciones, la evaluación del efecto de la neuroinflamación sobre la neurogénesis hipocampal se ha realizado durante la fase temprana de la respuesta, es decir dentro de las primeras 24 h después de la administración de LPS cuando se establece un pico de mediadores proinflamatorio que inhiben el proceso

neurogénico. A partir de dicha evidencia algunas de las preguntas que surgen son cómo es modulada la tasa neurogénica en otros momentos durante la progresión de la respuesta inflamatoria y si el efecto anti-neurogénico es transitorio asociado al perfil proinflamatorio o es una respuesta persistente independiente de la progresión de la respuesta neuroinflamatoria tanto aguda como crónica. Por lo anterior, el proyecto de investigación utilizó dos tipos de tratamiento, para el modelo de neuroinflamación aguda se utilizó una única inyección intraperitoneal de LPS (Fujioka and Akema, 2010; Monje et al., 2003) y para el modelo de inflamación crónica se administraron inyecciones intermitentes de LPS, una dosis por semana (Wu et al., 2007).

Primero se caracterizó la respuesta asociada a la inflamación sistémica. Los datos obtenidos muestran que independientemente del esquema de administración, tanto una única dosis como inyecciones intermitentes de LPS, se induce una respuesta transitoria de malestar asociada a anhedonia observada como una disminución en la conducta exploratoria y una pérdida de peso corporal. Ambos parámetros se restablecieron una semana después del reto inmunológico en concordancia con reportes previos (Biesmans et al., 2013; Dantzer et al., 2008). Lo anterior indica que ambos modelos inducen inflamación sistémica sin que se observe algún tipo de tolerancia o respuesta exacerbada a la exposición recurrente a LPS.

La microglía y los astrocitos son componentes del nicho neurogénico que regulan directamente la neurogénesis hipocampal. Además, al ser células inmunocompetentes también participan en el establecimiento de la respuesta neuroinflamatoria, en fases tempranas estas células liberan diversos factores solubles que inciden negativamente en el proceso neurogénico. Para conocer cómo progresa la inflamación cerebral en ambos paradigmas de administración de LPS se continuó con la caracterización del perfil celular y molecular establecido una semana del reto inmunológico. Los resultados indican que una única inyección de LPS establece una respuesta proinflamatoria en el hipocampo 7 d.p.i. caracterizada por la reacción de la microglía y astrocitos asociada a una respuesta inflamatoria difusa (Sofroniew, 2015; Wilhelmsson et al., 2006) y un incremento en los niveles proteicos de las citocinas proinflamatorias IL-6 y TNF- α . Por el contrario, el modelo de inflamación crónica inducida por la exposición repetida a LPS no induce una respuesta proinflamatoria sostenida o exacerbada, a nivel celular sólo se observaron cambios morfológicos de la microglía sin que se observara una reacción astrocítica evidente, mientras que a nivel molecular tampoco indujo un incremento en los niveles proteicos de la citocina IL-6.

Los resultados anteriormente descritos indican que la respuesta a nivel sistémico y cerebral progresan de manera diferente. Mientras que los parámetros asociados a la inflamación sistémica se presentan tras cada administración de LPS, en el cerebro ocurre una respuesta dependiente del tipo de esquema de estimulación. Durante la administración intermitente de LPS, al menos tras la primera inyección, los ratones experimentaron una respuesta proinflamatoria que se no se mantuvo a largo plazo ni se exacerbó tras las inyecciones subsecuentes de LPS. Sin embargo, es necesario evaluar otros marcadores para completar la caracterización de la progresión de la respuesta neuroinflamatoria tras la exposición múltiple a LPS para determinar si, por las condiciones de estimulación, la inflamación cerebral progresa hacia un proceso de tolerancia que disminuye su capacidad de respuesta ante estímulos proinflamatorios, como se ha observado en trabajos previos (Neher and Cunningham, 2019; Seeley and Ghosh, 2017; Wendeln et al., 2018), hacia un contexto antiinflamatorio más que al establecimiento de una respuesta de inflamación crónica como se ha reportado anteriormente (Bian et al., 2013; Buffo et al., 2010; Heneka et al., 2010; Jurgens and Johnson, 2012; Kuno et al., 2006), la respuesta microglial es heterogénea porque coexisten subpoblaciones celulares con distintos perfiles moleculares como consecuencia de su longevidad y la memoria celular (Scheffel et al., 2012), además se ha demostrado que después de la exposición a LPS la respuesta de los astrocitos puede modular la reacción microglial a través de un mecanismo de retroalimentación negativa indicando que la comunicación celular entre ambos tipos también contribuye al establecimiento y progresión de la respuesta inmune (Lynch, 2009; Min et al., 2006).

Con respecto a la modulación de la tasa neurogénica asociada a la progresión de la respuesta neuroinflamatoria en el modelo de inflamación aguda se observó que el contexto proinflamatorio inducido por la IU-LPS persiste 7 días después de la inducción de la respuesta inmune y correlaciona con una reducción significativa del número de células con linaje neuronal BrdU+/DCX+ de una cohorte que nació en los días 4-6 d.p.i indicando que la tasa neurogénica continúa afectada en ese periodo. Por otro lado, el contexto neuroinflamatorio que se establece 7 d.p.i. tras las II-LPS no promueve una disminución en la neurogénesis hipocampal independiente a la progresión de la respuesta neuroinflamatoria, lo que sugiere que el efecto anti-neurogénico de la neuroinflamación es transitorio y depende de un perfil molecular y celular proinflamatorio. La idea propuesta se apoya de la observación de una disminución neurogénica tras la administración intermitente de LPS cuando la evaluación se hace durante la respuesta neuroinflamatoria temprana caracterizada como proinflamatoria (Wu et al., 2007), pero dicho efecto no perdura

cuando se evalúa la tasa neurogénica a los 7 d.p.i. Durante la administración intermitente de LPS, al menos durante la primera inyección, los ratones experimentaron una reducción neurogénica, efecto inhibitorio que no se mantuvo o acumuló tras las inyecciones subsecuentes de LPS. Considerando la participación de la neurogénesis hipocampal en procesos de memoria y aprendizaje es necesario analizar si el esquema de II-LPS afecta otras etapas del proceso neurogénico como la maduración y la integración funcional de las neuronas nacidas durante la respuesta inflamatoria promoviendo un déficit cognitivo persistente como el observado tras una única inyección de LPS (Valero et al., 2014).

La inflamación cerebral no es una respuesta binaria de todo o nada ni estática, sino que depende de manera dependiente de contexto, es decir, del tipo e intensidad de la señal, del balance y la combinación de los mediadores solubles secretados en el microambiente local, de la temporalidad, así como de la memoria celular por la exposición a estímulos previos, que en conjunto determinan la duración y progresión del proceso neuroinflamatorio y, por lo tanto, su efecto sobre la neurogénesis hipocampal. Otros estudios con modelos más complejos de inflamación cerebral mostraron que la meningitis bacteriana promueve efectos distintos al evaluar la progresión de la respuesta neuroinflamatoria, en la respuesta temprana se observa una disminución en la proliferación mientras que a las 3 semanas se observa un incremento sin que represente un aumento neto de la neurogénesis, asimismo al hacer seguimiento de otras cohortes de nuevas células se observa un aumento en la muerte apoptótica de las nuevas neuronas (Hofer et al., 2007; Grandgirard et al., 2007). Además, el efecto de la neuroinflamación sobre el proceso neurogénico también depende de la etapa de desarrollo, se ha reportado que la administración de LPS en la etapa prenatal tiene efecto a largo plazo sobre la neurogénesis hipocampal (Graciarena et al., 2010; Lin et al., 2014). Por otro lado, el efecto del sistema inmune sobre la neurogénesis no depende exclusivamente del sistema inmune innato, ya que se ha descrito que componentes del sistema inmune adaptativo también influyen en el proceso, por ejemplo, en condiciones basales o fisiológicas el reclutamiento de células T participa en procesos de memoria y aprendizaje, la activación de células T en un modelo de enfermedad autoinmune promueve un incremento en la proliferación de células precursoras neuronales hipocampales vía corticosteroides (Wolf et al., 2009) mientras que la expansión de células T dentro del nicho neurogénico y un incremento en los niveles de IFN- γ durante el envejecimiento altera el proceso neurogénico (Dulken et al., 2019). Lo anterior indica que la naturaleza de la estimulación del sistema inmune es fundamental para determinar el efecto sobre la neurogénesis hipocampal.

La neurogénesis hipocampal es un proceso dinámico que se modula también por factores intrínsecos como la edad. La tasa neurogénica basal es diferente en ambas condiciones, mientras las evaluaciones para el modelo de inflamación aguda se realizaron a las 9 semanas de edad como punto final para el modelo de inflamación crónica las evaluaciones se realizaron a las 13 semanas de edad por el tiempo que toma la administración intermitente de LPS. Los resultados indican que la neurogénesis basal disminuye a la mitad al comparar ambos grupos sugiriendo que hay una disminución neurogénica asociada a la edad como se ha reportado anteriormente (Ben Abdallah et al., 2010; Encinas et al., 2011; Harris et al., 2021; Wu et al., 2008). Entonces, aunque el tratamiento de IU-LPS inhibe la tasa neurogénica, dichos niveles son mayores a los observados en condiciones control para el tratamiento de II-LPS. Con respecto a la disminución de la neurogénesis asociado al estrés por el manejo no se observaron diferencias conductuales que indicaran ansiedad por lo que las diferencias en la neurogénesis basal se pueden asociar principalmente a la edad.

La disminución en la tasa neurogénica observada en el modelo de IU-LPS puede asociarse a la inhibición de la proliferación de los precursores neurales, a la disminución de la sobrevivencia de las nuevas células o a la desregulación de la diferenciación celular. La proliferación depende de diferentes tipos de precursores neurales que tiene atributos fisiológicos específicos, para cada tipo de célula precursora neural es distinta la duración del ciclo celular, el número de divisiones celulares que llevan a cabo y el tipo de respuesta ante un mismo estímulo (Brandt et al., 2012; Farioli-Vecchioli et al., 2014; Fischer et al., 2014; Kronenberg et al., 2003; Lugert et al., 2010; Steiner et al., 2008). Además de la diversidad fisiológica es necesario considerar las restricciones de las estrategias experimentales para evaluar la proliferación, al evaluar la tasa neurogénica con un protocolo de pulso y caza con BrdU durante 3 días consecutivos la cohorte de células marcadas incluye a los progenitores que siguen en ciclo e incorporaron una o varias veces al BrdU dependiendo si llevaron a cabo 1, 2 o 3 rondas de división y que sobrevivieron, así como a los neuroblastos que salieron de ciclo para generar neuronas post-mitóticas, la posibilidad de identificar diferente tipos celulares y diferentes momentos se debe a que el proceso neurogénico es asincrónico (Brandt et al., 2012) y por lo tanto, refleja un efecto acumulado de diferentes poblaciones que puede enmascarar el perfil proliferativo. Entonces, para saber cómo se modifica el comportamiento proliferativo de las células precursoras neurales en un contexto neuroinflamatorio es necesario hacer evaluaciones más específicas restringidas en el tiempo.

Por lo anterior, para la evaluación de la capacidad proliferativa se utilizó una estrategia diferente de marcaje con BrdU mediante pulsos cortos con un intervalo de sólo 2 h entre iip en un mismo día lo que permitió evaluar de una manera más específica el perfil proliferativo de una cohorte de progenitores neurales. La reentrada a ciclo celular se evaluó con la doble inmunodetección BrdU+Ki67+ 24 h después de la última iip y el linaje neuronal se identificó con la inmunodetección de DCX. Las diferentes combinaciones de los marcadores empleados permiten identificar poblaciones distintas, 1) Las células BrdU+/DCX+ incluyen a los progenitores neurales tipo 2b, los neuroblastos y las neuronas jóvenes post-mitótica; 2) las células Ki67+/DCX+ sólo constituyen una población de progenitores neurales tipo 2b y neuroblastos; 3) las células BrdU+/DCX- pueden incluir CTNAs, CPNs 2a o nuevos astrocitos y; 4) las células Ki67+/DCX- incluyen cualquier tipo de células proliferativas en la ZSG.

Los datos obtenidos indican que los progenitores neurales que más proliferan son DCX+, identificados tanto por ser la población celular que más incorpora BrdU tras el pulso corto como por ser la población celular mayormente identificada con Ki67. Las células DCX+ pueden corresponder a progenitores neurales tipo 2b y neuroblastos. Lo anterior concuerda con reportes previos que indican que las células progenitoras neurales tipo 2a no amplifican la poza de células (Lugert et al., 2012). Los progenitores neurales DCX+ disminuyen su capacidad proliferativa durante la respuesta neuroinflamatoria establecida a los 7 d.p.i de LPS por una salida prematura de ciclo celular. Lo anterior también se ha observado con otras estrategias experimentales, nuestro grupo de trabajo reportó que células precursoras neurales obtenidas de ratones a los 7 d.p.i de LPS, expandidas *in vitro* y evaluadas por citometría de flujo muestran una restricción proliferativa de los progenitores neurales Tbr2+ (Melo-Salas et al., 2018). Además, nuestro grupo de trabajo está llevando a cabo evaluaciones de la cinética de la progresión del ciclo celular de los progenitores DCX+, resultados preliminares indican que ocurre un alargamiento de la duración del ciclo celular, lo que puede promover una salida prematura del mismo. Con respecto a un mecanismo molecular hay evidencia que indica que la inflamación cerebral promueve un incremento en P21, una proteína inhibidora de la progresión del ciclo celular (Zonis et al., 2013). También, se observó que hay un incremento de células Ki67 que no tienen un linaje neuronal y que se encuentran en la ZSG, lo que sugiere que podría ser progenitores tipo 2a o CTNAs. Se ha reportado que la disminución en el tamaño de la población de progenitores neurales Tbr2+ promueve un incremento en la activación de las CTNAs sugiriendo que hay un mecanismo

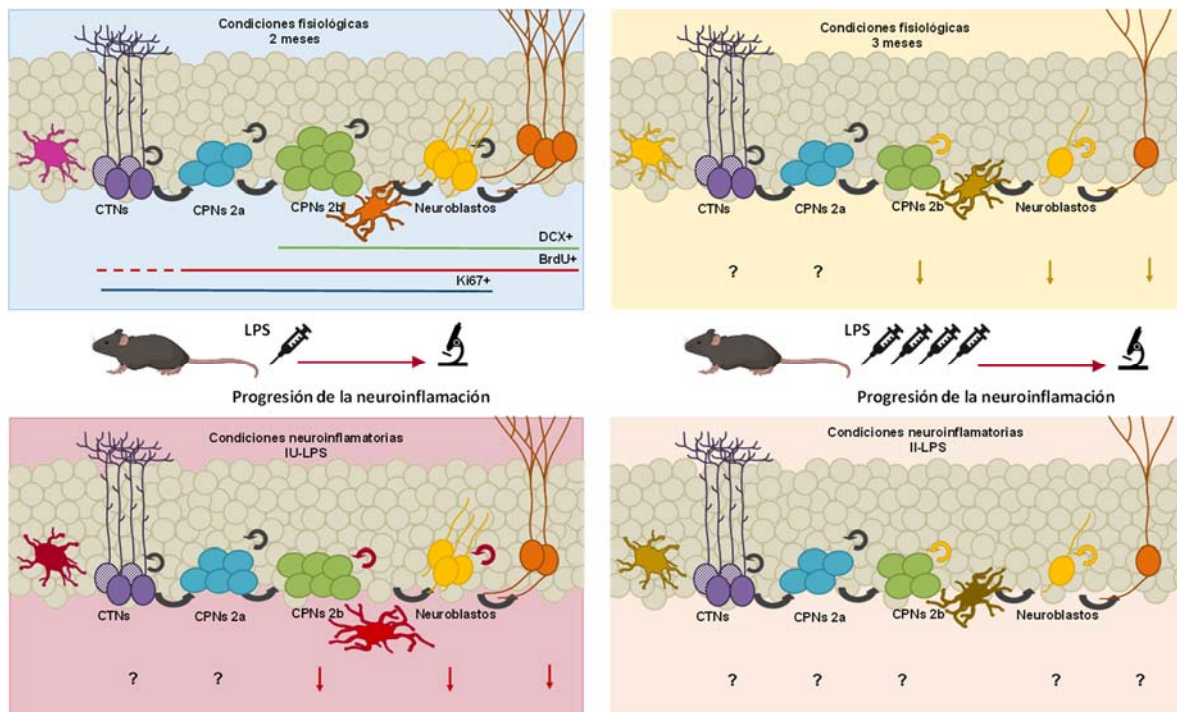
intrínseco de regulación directa del tamaño poblacional de cada tipo de progenitor (Hodge et al., 2012b).

Aún hace falta conducir investigaciones que evalúen 1) la capacidad proliferativa de las CPNs durante la fase temprana de la respuesta neuroinflamatoria para identificar la dinámica en la respuesta neurogénica, 2) cómo se modifica la tasa de activación y proliferación de las diferentes subpoblaciones de CTNAs que coexisten en la ZSG y si generan algún tipo de memoria celular, 3) si hay una mayor generación de astrocitos, 4) si los progenitores DCX+ identificados en este trabajo corresponden a CPN de amplificación transitoria o a neuroblastos, 5) la duración de su ciclo celular y el número de divisiones celulares que realizan, ya que estas células pueden llevar a cabo divisiones simétricas o asimétricas sin un orden aparente sugiriendo que su comportamiento proliferativo es más complejo de lo anteriormente descrito (Pilz et al., 2018)

La neuroinflamación es una respuesta fisiológica ante una infección o daño tisular, un perfil proinflamatorio promueve una disminución en la capacidad proliferativa, un mecanismo celular que subyace a la reducción de la tasa neurogénica y a cambios en la temporalidad en la que se generan nuevas neuronas que puedan integrarse a los circuitos preexistentes del hipocampo. Los efectos a largo plazo en la plasticidad hipocámpal no sólo dependen del número sino también del contexto en el que ocurre la neurogénesis por lo que dicha disminución puede representar una respuesta adaptativa que previene la inserción de neuronas disfuncionales. Los principales objetivos terapéuticos y de investigación deberán centrarse en estrategias de intervención que modulen la respuesta proinflamatoria que permitan a su vez, rescatar la neurogénesis inhibida en un momento adecuado. Por ejemplo, el ejercicio físico promueve un aumento en la neurogénesis al incrementar los niveles de circulantes y locales de varios factores de crecimiento como el BDNF, VEGF, IGF-1 y se ha demostrado que incide específicamente en la proliferación de las células precursoras neurales (Aimone et al., 2014). Diferentes aproximaciones experimentales han demostrado que el ejercicio físico rescata la neurogénesis tras la irradiación (Naylor et al., 2008) recupera la neurogénesis disminuida por la administración de LPS (Wu et al., 2007). Además, se ha reportado que el ejercicio puede modular el estado de activación de la microglía de ratones envejecidos (Kohman et al., 2013) y que atenúa la disminución en la neurogénesis inducida por LPS e incrementa a la microglía con fenotipo neuroprotector en ratones envejecidos (Littlefield et al., 2015).

Conclusión

Los resultados obtenidos en este trabajo aportan evidencia que expande observaciones previas sobre el efecto anti-neurogénico de la inflamación cerebral y que permite avanzar en el entendimiento de los mecanismos celulares que subyacen a dicha regulación negativa. La respuesta neuroinflamatoria establecida 7 días después de la IU-LPS tiene un perfil proinflamatorio que provoca una reducción en la tasa neurogénica al promover una salida prematura del ciclo celular de los progenitores DCX+, la población celular que tiene la tasa proliferativa más alta durante el proceso neurogénico, lo que da origen a neuronas post-mitóticas antes de tiempo contribuyendo así a la reducción en la generación de nuevas neuronas granulares en el hipocampo adulto. Mientras que la progresión de la neuroinflamación inducida por la II-LPS no induce una disminución sostenida de la tasa neurogénica más allá de la reducción de la neurogénesis basal dependiente de la edad. Lo anterior indica que tanto la progresión de la neuroinflamación como sus efectos sobre la neurogénesis son procesos dinámicos que dependen del contexto celular y molecular.



Referencias

- Ables, J.L., DeCarolis, N.A., Johnson, M.A., Rivera, P.D., Gao, Z., Cooper, D.C., Radtke, F., Hsieh, J., Eisch, A.J., 2010. Notch1 Is Required for Maintenance of the Reservoir of Adult Hippocampal Stem Cells. *J. Neurosci.* 30, 10484–10492. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4721-09.2010>
- Aguilar-Arredondo, A., Zepeda, A., 2018. Memory retrieval-induced activation of adult-born neurons generated in response to damage to the dentate gyrus. *Brain Struct. Funct.* 223, 2859–2877. <https://doi.org/10.1007/s00429-018-1664-7>
- 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. *J. Comp. Neurol.* 137, 433–457. <https://doi.org/10.1002/cne.901370404>
- Altman, J., Das, G.D., 1965. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J. Comp. Neurol.* 124, 319–335. <https://doi.org/10.1002/cne.901240303>
- Aimone, J.B., Li, Y., Lee, S.W., Clemenson, G.D., Deng, W., Gage, F.H., 2014. Regulation and function of adult neurogenesis: from genes to cognition. *Physiol Rev* 94, 991–1026.
- Andersen, J., Urbán, N., Achimastou, A., Ito, A., Simic, M., Ullom, K., Martynoga, B., Lebel, M., Göritz, C., Frisén, J., Nakafuku, M., Guillemot, F., 2014. A Transcriptional Mechanism Integrating Inputs from Extracellular Signals to Activate Hippocampal Stem Cells. *Neuron* 83, 1085–1097. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.08.004>
- Arai, Y., Pulvers, J.N., Haffner, C., Schilling, B., Nüsslein, I., Calegari, F., Huttner, W.B., 2011. Neural stem and progenitor cells shorten S-phase on commitment to neuron production. *Nat. Commun.* 2, 154. <https://doi.org/10.1038/ncomms1155>
- Ashton, R.S., Conway, A., Pangarkar, C., Bergen, J., Lim, K.-I., Shah, P., Bissell, M., Schaffer, D. V., 2012. Astrocytes regulate adult hippocampal neurogenesis through ephrin-B signaling. *Nat. Neurosci.* 15, 1399–1406. <https://doi.org/10.1038/nn.3212>
- Bachstetter, A.D., Morganti, J.M., Jernberg, J., Schlunk, A., Mitchell, S.H., Brewster, K.W., Hudson, C.E., Cole, M.J., Harrison, J.K., Bickford, P.C., Gemma, C., 2011. Fractalkine and CX(3)CR1 regulate hippocampal neurogenesis in adult and aged rats. *Neurobiol. Aging* 32, 2030–2044. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.11.022>
- Barkho, B.Z., Song, H., Aimone, J.B., Smrt, R.D., Kuwabara, T., Nakashima, K., Gage, F.H., Zhao, X., 2006. Identification of astrocyte-expressed factors that modulate neural stem/progenitor cell differentiation. *Stem Cells Dev.* 15, 407–21. <https://doi.org/10.1089/scd.2006.15.407>
- Bastos, G.N., Moriya, T., Inui, F., Katura, T., Nakahata, N., 2008. Involvement of cyclooxygenase-2 in lipopolysaccharide-induced impairment of the newborn cell survival in the adult mouse dentate gyrus. *Neuroscience* 155, 454–462. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.06.020>
- Beccari, S., Diaz-Aparicio, I., Sierra, A., 2018. Quantifying Microglial Phagocytosis of Apoptotic Cells in the Brain in Health and Disease. *Curr. Protoc. Immunol.* e49. <https://doi.org/10.1002/cpim.49>
- Beckervordersandforth, R., Zhang, C., Lie, D.C., 2016. Transcription-Factor-Dependent Control. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 7. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018879>.
- Belarbi, K., Rosi, S., 2013. Modulation of adult-born neurons in the inflamed hippocampus. *Front. Cell. Neurosci.* 7, 145. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00145>
- Ben Abdallah, N.M.-B.M.B., Slomianka, L., Vyssotski, A.L., Lipp, H.-P.P., 2010. Early age-related changes in adult hippocampal neurogenesis in C57 mice. *Neurobiol. Aging* 31, 151–161. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.03.002>
- Berg, D.A., Su, Y., Jimenez-Cyrus, D., Patel, A., Huang, N., Morizet, D., Lee, S., Shah, R., Ringeling, F.R., Jain, R., Epstein, J.A., Wu, Q.F., Canzar, S., Ming, G.L., Song, H., Bond, A.M., 2019. A Common Embryonic Origin of Stem Cells Drives Developmental and Adult Neurogenesis. *Cell* 177, 654–668.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.010>
- Berg, D.A.D.A., Belnoue, L., Song, H., Simon, A., 2013. Neurotransmitter-mediated control of neurogenesis in the adult vertebrate brain. *Development* 140, 2548–61. <https://doi.org/10.1242/dev.088005>
- Beukelaers, P., Vandenbosch, R., Caron, N., Nguyen, L., Moonen, G., Malgrange, B., 2012. Cycling or not cycling: Cell cycle regulatory molecules and adult neurogenesis. *Cell. Mol. Life Sci.* <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0880-6>

- Bian, Y., Zhao, X., Li, M., Zeng, S., Zhao, B., 2013. Various roles of astrocytes during recovery from repeated exposure to different doses of lipopolysaccharide. *Behav. Brain Res.* 253, 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.07.028>
- Biesmans, S., Meert, T.F., Bouwknecht, J.A., Acton, P.D., Davoodi, N., De Haes, P., Kuijlaars, J., Langlois, X., Matthews, L.J.R., Ver Donck, L., Hellings, N., Nuydens, R., 2013. Systemic immune activation leads to neuroinflammation and sickness behavior in mice. *Mediators Inflamm.* 2013, 271359. <https://doi.org/10.1155/2013/271359>
- Bignami, A., Eng, L.F., Dahl, D., Uyeda, C.T., 1972. Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence. *Brain Res.* 43, 429–435. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(72\)90398-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(72)90398-8)
- Bonafina, A., Paratcha, G., Ledda, F., 2020. Deciphering New Players in the Neurogenic Adult Hippocampal Niche. *Front. Cell Dev. Biol.* <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00548>
- Bonaguidi, M. a, McGuire, T., Hu, M., Kan, L., Samanta, J., Kessler, J. a, 2005. LIF and BMP signaling generate separate and discrete types of GFAP-expressing cells. *Development* 132, 5503–14. <https://doi.org/10.1242/dev.02166>
- Bonaguidi, M.A., Peng, C.-Y., McGuire, T., Falciglia, G., Gobeske, K.T., Czeisler, C., Kessler, J.A., 2008. Noggin expands neural stem cells in the adult hippocampus. *J. Neurosci.* 28, 9194–204. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3314-07.2008>
- Bonaguidi, M.A., Stadel, R.P., Berg, D.A., Sun, J., Ming, G., Song, H., 2016. Diversity of Neural Precursors in the Adult Mammalian Brain.
- Bonaguidi, M.A.A., Wheeler, M.A.A., Shapiro, J.S.S., Stadel, R.P.P., Sun, G.J.J., Ming, G.L., Song, H., 2011. In Vivo Clonal Analysis Reveals Self-Renewing and Multipotent Adult Neural Stem Cell Characteristics. *Cell* 145, 1142–1155. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.05.024>
- Bonzano, S., Crisci, I., Podlesny-Drabiniok, A., Rolando, C., Krezel, W., Studer, M., De Marchis, S., 2018. Neuron-Astroglia Cell Fate Decision in the Adult Mouse Hippocampal Neurogenic Niche Is Cell-Intrinsically Controlled by COUP-TFI In Vivo. *Cell Rep.* 24, 329–341. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.06.044>
- Borsini, A., Zunszain, P.A., Thuret, S., Pariante, C.M., 2015. The role of inflammatory cytokines as key modulators of neurogenesis. *Trends Neurosci.* 38, 145–157. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.12.006>
- Brandt, M., Hübner, M., Storch, A., 2012. Brief report: Adult hippocampal precursor cells shorten S-phase and total cell cycle length during neuronal differentiation. *Stem Cells* 30, 2843–7. <https://doi.org/10.1002/stem.2012>
- Brandt, M.D., Jessberger, S., Steiner, B., Kronenberg, G., Reuter, K., Bick-Sander, A., Von Der Behrens, W., Kempermann, G., 2003. Transient calretinin expression defines early postmitotic step of neuronal differentiation in adult hippocampal neurogenesis of mice. *Mol. Cell. Neurosci.* 24, 603–613. [https://doi.org/10.1016/S1044-7431\(03\)00207-0](https://doi.org/10.1016/S1044-7431(03)00207-0)
- Breunig, J.J., Silbereis, J., Vaccarino, F.M., Sestan, N., Rakic, P., 2007. Notch regulates cell fate and dendrite morphology of newborn neurons in the postnatal dentate gyrus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 20558–63. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710156104>
- Buffo, A., Rolando, C., Ceruti, S., 2010. Astrocytes in the damaged brain: Molecular and cellular insights into their reactive response and healing potential. *Biochem. Pharmacol.* <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2009.09.014>
- Butovsky, O., Ziv, Y., Schwartz, A., Landa, G., Talpalar, A.E., Pluchino, S., Martino, G., Schwartz, M., 2006. Microglia activated by IL-4 or IFN- γ differentially induce neurogenesis and oligodendrogenesis from adult stem/progenitor cells. *Mol. Cell. Neurosci.* 31, 149–160. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2005.10.006>
- Buttini, M., Limonta, S., Boddeke, H.W.G.M., 1996. Peripheral administration of lipopolysaccharide induces activation of microglial cells in rat brain. *Neurochem. Int.* 29, 25–35. [https://doi.org/10.1016/0197-0186\(95\)00141-7](https://doi.org/10.1016/0197-0186(95)00141-7)
- Cacci, E., Claasen, J.-H., Kokaia, Z., 2005. Microglia-derived tumor necrosis factor-alpha exaggerates death of newborn hippocampal progenitor cells in vitro. *J. Neurosci. Res.* 80, 789–97. <https://doi.org/10.1002/jnr.20531>
- Cameron, H.A., Woolley, C.S., McEwen, B.S., Gould, E., 1993. Differentiation of newly born neurons and glia

- in the dentate gyrus of the adult rat. *Neuroscience* 56, 337–344. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(93\)90335-D](https://doi.org/10.1016/0306-4522(93)90335-D)
- Campbell, I.L., Erta, M., Lim, S.L., Frausto, R., May, U., Rose-John, S., Scheller, J., Hidalgo, J., 2014. Trans-Signaling Is a Dominant Mechanism for the Pathogenic Actions of Interleukin-6 in the Brain. *J. Neurosci.* 34.
- Carpentier, P.A., Begolka, W.S., Olson, J.K., Elhofy, A., Karpus, W.J., Miller, S.D., 2005. Differential activation of astrocytes by innate and adaptive immune stimuli. *Glia* 49, 360–374. <https://doi.org/10.1002/glia.20117>
- Carpentier, P.A., Palmer, T.D., 2009. Immune Influence on Adult Neural Stem Cell Regulation and Function. *Neuron* 64, 79–92. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.08.038>
- Chen, Y.J., Hill, S., Huang, H., Taraboletti, A., Cho, K., Gallo, R., Manchester, M., Shriver, L.P., Patti, G.J., 2014. Inflammation triggers production of dimethylsphingosine from oligodendrocytes. *Neuroscience* 279, 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.08.011>
- Chen, Z., Palmer, T.D., 2013. Differential roles of TNFR1 and TNFR2 signaling in adult hippocampal neurogenesis. *Brain. Behav. Immun.* 30, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.01.083>
- Choi, S.-H., Langenbach, R., Bosetti, F., 2008. Genetic deletion or pharmacological inhibition of cyclooxygenase-1 attenuate lipopolysaccharide-induced inflammatory response and brain injury. *FASEB J.* 22, 1491–501. <https://doi.org/10.1096/fj.07-9411com>
- Chojnacki, A., Shimazaki, T., Gregg, C., Weinmaster, G., Weiss, S., 2003. Glycoprotein 130 signaling regulates Notch1 expression and activation in the self-renewal of mammalian forebrain neural stem cells. *J. Neurosci.* 23, 1730–1741. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-1730.2003> [pii]
- Chugh, D., Nilsson, P., Afjei, S.-A., Bakochi, A., Ekdahl, C.T., 2013. Brain inflammation induces post-synaptic changes during early synapse formation in adult-born hippocampal neurons. *Exp. Neurol.* 250, 176–188. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2013.09.005>
- Ciesielska, A., Matyjek, M., Kwiatkowska, K., 2021. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cell. Mol. Life Sci.* <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03656-y>
- Da Mesquita, S., Fu, Z., Kipnis, J., 2018. The Meningeal Lymphatic System: A New Player in Neurophysiology. *Neuron*. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.09.022>
- Daneman, R., Prat, A., 2015. The blood–brain barrier. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020412>
- Dantzer, R., O'Connor, J.C., Freund, G.G., Johnson, R.W., Kelley, K.W., 2008. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 46–56. <https://doi.org/10.1038/nrn2297>
- Davalos, D., Grutzendler, J., Yang, G., Kim, J. V., Zuo, Y., Jung, S., Littman, D.R., Dustin, M.L., Gan, W.B., 2005. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nat. Neurosci.* 8, 752–758. <https://doi.org/10.1038/nn1472>
- DeCarolis, N.A., Mechanic, M., Petrik, D., Carlton, A., Ables, J.L., Malhotra, S., Bachoo, R., Götz, M., Lagace, D.C., Eisch, A.J., 2013. In vivo contribution of nestin- and GLAST-lineage cells to adult hippocampal neurogenesis. *Hippocampus* 23, 708–19. <https://doi.org/10.1002/hipo.22130>
- Denoth-Lippuner, A., Jessberger, S., 2021. Formation and integration of new neurons in the adult hippocampus. *Nat. Rev. Neurosci.* <https://doi.org/10.1038/s41583-021-00433-z>
- Diaz-Aparicio, I., Paris, I., Sierra-Torre, V., Plaza-Zabala, A., Rodríguez-Iglesias, N., Márquez-Roper, M., Beccari, S., Huguet, P., Abiega, O., Alberdi, E., Matute, C., Bernales, I., Schulz, A., Otrókocsi, L., Sperlagh, B., Happonen, K.E., Lemke, G., Maletic-Savatic, M., Valero, J., Sierra, A., 2020. Microglia Actively Remodel Adult Hippocampal Neurogenesis through the Phagocytosis Secretome. *J. Neurosci.* 40, 1453–1482. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0993-19.2019>
- Domínguez-Rivas, E., Ávila-Muñoz, E., Schwarzacher, S.W., Zepeda, A., 2021. Adult hippocampal neurogenesis in the context of lipopolysaccharide-induced neuroinflammation: A molecular, cellular and behavioral review. *Brain. Behav. Immun.* <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.06.014>
- Dranovsky, A., Picchini, A.M., Moadel, T., Sisti, A.C., Yamada, A., Kimura, S., Leonardo, E.D., Hen, R., 2011. Experience Dictates Stem Cell Fate in the Adult Hippocampus. *Neuron* 70, 908–923. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.022>
- Dulken, B.W., Buckley, M.T., Navarro Negredo, P., Saligrama, N., Cayrol, R., Leeman, D.S., George, B.M.,

- Boutet, S.C., Hebestreit, K., Pluvinage, J. V., Wyss-Coray, T., Weissman, I.L., Vogel, H., Davis, M.M., Brunet, A., 2019. Single-cell analysis reveals T cell infiltration in old neurogenic niches. *Nature* 571, 205–210. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1362-5>
- Dulken, B.W., Brunet, A. 2018. Same path, different beginnings. *Nat Neurosci* 21, 159–160. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0063-3>
- Ehm, O., Goritz, C., Covic, M., Schaffner, I., Schwarz, T.J., Karaca, E., Kempkes, B., Kremmer, E., Pfrieder, F.W., Espinosa, L., Bigas, A., Giachino, C., Taylor, V., Frisen, J., Lie, D.C., 2010. RBPJkappa-dependent signaling is essential for long-term maintenance of neural stem cells in the adult hippocampus. *J Neurosci* 30, 13794–13807. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1567-10.2010>
- Ehret, F., Vogler, S., Kempermann, G., 2015. A co-culture model of the hippocampal neurogenic niche reveals differential effects of astrocytes, endothelial cells and pericytes on proliferation and differentiation of adult murine precursor cells. *Stem Cell Res.* 15, 514–521. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2015.09.010>
- Ekdahl, C.T., Claasen, J.-H., Bonde, S., Kokaia, Z., Lindvall, O., 2003. Inflammation is detrimental for neurogenesis in adult brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 13632–13637. <https://doi.org/10.1073/pnas.2234031100>
- Encinas, J.M., Michurina, T. V., Peunova, N., Park, J.H., Tordo, J., Peterson, D.A., Fishell, G., Koulakov, A., Enikolopov, G., 2011. Division-coupled astrocytic differentiation and age-related depletion of neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 8, 566–579. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2011.03.010>
- Encinas, J.M., Vaahtokari, A., Enikolopov, G., 2006. Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 8233–8238. <https://doi.org/10.1073/pnas.0601992103>
- Falk, S., Götz, M., 2017. Glial control of neurogenesis. *Curr. Opin. Neurobiol.* <https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.10.025>
- Fan, L.-W., Pang, Y., 2017. Dysregulation of neurogenesis by neuroinflammation: key differences in neurodevelopmental and neurological disorders. *Neural Regen. Res.* 12, 366–371. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.202926>
- Farioli-Vecchioli, S., Mattera, A., Micheli, L., Ceccarelli, M., Leonardi, L., Saraulli, D., Costanzi, M., Cestari, V., Rouault, J.P., Tirone, F., 2014. Running rescues defective adult neurogenesis by shortening the length of the cell cycle of neural stem and progenitor cells. *Stem Cells* 32, 1968–1982. <https://doi.org/10.1002/stem.1679>
- Farioli-vecchioli, S., Tirone, F., 2015. Control of the Cell Cycle in Adult Neurogenesis and its Relation with Physical Exercise 1, 41–54. <https://doi.org/10.3233/BPL-150013>
- Filippov, V., Kronenberg, G., Pivneva, T., Reuter, K., Steiner, B., Wang, L.P., Yamaguchi, M., Kettenmann, H., Kempermann, G., 2003. Subpopulation of nestin-expressing progenitor cells in the adult murine hippocampus shows electrophysiological and morphological characteristics of astrocytes. *Mol. Cell. Neurosci.* 23, 373–382. [https://doi.org/10.1016/S1044-7431\(03\)00060-5](https://doi.org/10.1016/S1044-7431(03)00060-5)
- Fischer, T.J., Walker, T.L., Overall, R.W., Brandt, M.D., Kempermann, G., 2014. Acute effects of wheel running on adult hippocampal precursor cells in mice are not caused by changes in cell cycle length or S phase length. *Front. Neurosci.* 8, 314. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00314>
- Fujioka, H., Akema, T., 2010. Lipopolysaccharide acutely inhibits proliferation of neural precursor cells in the dentate gyrus in adult rats. *Brain Res.* 1352, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.07.032>
- Fukuda, S., Kato, F., Tozuka, Y., Yamaguchi, M., Miyamoto, Y., Hisatsune, T., 2003. Two distinct subpopulations of nestin-positive cells in adult mouse dentate gyrus. *J. Neurosci.* 23, 9357–9366. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23/28/9357> [pii]
- Gao, Z., Ure, K., Ables, J.L., Lagace, D.C., Nave, K.-A., Goebbels, S., Eisch, A.J., Hsieh, J., 2009. Neurod1 is essential for the survival and maturation of adult-born neurons. *Nat. Neurosci.* 12, 1090–1092. <https://doi.org/10.1038/nn.2385>
- Garcia, A.D.R., Doan, N.B., Imura, T., Bush, T.G., Sofroniew, M. V., 2004. GFAP-expressing progenitors are the principal source of constitutive neurogenesis in adult mouse forebrain. *Nat. Neurosci.* 7, 1233–1241. <https://doi.org/10.1038/nn1340>
- Ge, S., Pradhan, D.A., Ming, G. li, Song, H., 2007. GABA sets the tempo for activity-dependent adult neurogenesis. *Trends Neurosci.* 30, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2006.11.001>

- Gebara, E., Bonaguidi, M.A., Beckervordersandforth, R., Sultan, S., Udry, F., Gijis, P.-J., Lie, D.C., Ming, G.-L., Song, H., Toni, N., 2016. Heterogeneity of Radial Glia-Like Cells in the Adult Hippocampus. *Stem Cells* 34, 997–1010. <https://doi.org/10.1002/stem.2266>
- Goehler, L.E., Gaykema, R.P.A., Hansen, M.K., Anderson, K., Maier, S.F., Watkins, L.R., 2000. Vagal immune-to-brain communication: A visceral chemosensory pathway, in: *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*. Elsevier, pp. 49–59. [https://doi.org/10.1016/S1566-0702\(00\)00219-8](https://doi.org/10.1016/S1566-0702(00)00219-8)
- Goncalves, J.T., Schafer, S.T., Gage, F.H., 2016. Adult Neurogenesis in the Hippocampus: From Stem Cells to Behavior. *Cell* 167, 897–914. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.021>
- Goshen, I., Kreisel, T., Ben-Menachem-Zidon, O., Licht, T., Weidenfeld, J., Ben-Hur, T., Yirmiya, R., 2008. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. *Mol. Psychiatry* 13, 717–728. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002055>
- Götz, M., 2018. Revising concepts about adult stem cells: Imaging adult neurogenesis reveals surprising behavior of progenitor cells. *Science (80-.)*. <https://doi.org/10.1126/science.aar7732>
- Gould, E., Tanapat, P., 1999. Stress and hippocampal neurogenesis, in: *Biological Psychiatry*. Elsevier, pp. 1472–1479. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(99\)00247-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(99)00247-4)
- Graciarena M., Depino AM., Pitossi F.J., 2010. Prenatal inflammation impairs adult neurogenesis and memory related behavior through persistent hippocampal TGFβ1 downregulation. *Brain Behav Immun.* 24(8):1301-9. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.06.005>
- Grandgirard D., Bifare Y-D., Pleasure S J, Kummer J, Leib S L, Tauber M G. 2007. Pneumococcal meningitis induces apoptosis in recently postmitotic immature neurons in the dentate gyrus of neonatal rats *Dev Neurosci* 29:134-42. <https://doi.org/10.1159/000096218>
- Green, H.F., Nolan, Y.M., 2012. Unlocking mechanisms in interleukin-1β-induced changes in hippocampal neurogenesis--a role for GSK-3β and TLX. *Transl. Psychiatry* 2, e194. <https://doi.org/10.1038/tp.2012.117>
- Guadagno, J., Swan, P., Shaikh, R., Cregan, S.P., 2015. Microglia-derived IL-1β triggers p53-mediated cell cycle arrest and apoptosis in neural precursor cells. *Cell Death Dis.* 6, e1779. <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.151>
- Hanisch, U.-K.K., Kettenmann, H., 2007. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat. Neurosci.* 10, 1387–1394. <https://doi.org/10.1038/nn1997>
- Harris, L., Rigo, P., Stiehl, T., Gaber, Z.B., Austin, S.H.L., Masdeu, M. del M., Edwards, A., Urbán, N., Marciniak-Czochra, A., Guillemot, F., 2021. Coordinated changes in cellular behavior ensure the lifelong maintenance of the hippocampal stem cell population. *Cell Stem Cell* 28, 863-876.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.01.003>
- Heneka, M.T., Rodríguez, J.J., Verkhratsky, A., 2010. Neuroglia in neurodegeneration. *Brain Res. Rev.* <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2009.11.004>
- Hochgerner, H., Zeisel, A., Lönnerberg, P. et al. Conserved properties of dentate gyrus neurogenesis across postnatal development revealed by single-cell RNA sequencing. *Nat Neurosci* 21, 290–299 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0056-2>
- Hodge, R.D., Kahoud, R.J., Hevner, R.F., 2012a. Transcriptional control of glutamatergic differentiation during adult neurogenesis. *Cell. Mol. Life Sci.* 69, 2125–34. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0916-y>
- Hodge, R.D., Kowalczyk, T.D., Wolf, S. a, Encinas, J.M., Rippey, C., Enikolopov, G., Kempermann, G., Hevner, R.F., 2008. Intermediate progenitors in adult hippocampal neurogenesis: Tbr2 expression and coordinate regulation of neuronal output. *J. Neurosci.* 28, 3707–3717. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4280-07.2008>
- Hodge, R.D., Nelson, B.R., Kahoud, R.J., Yang, R., Mussar, K.E., Reiner, S.L., Hevner, R.F., 2012b. Tbr2 Is Essential for Hippocampal Lineage Progression from Neural Stem Cells to Intermediate Progenitors and Neurons. *J. Neurosci.* 32, 6275–6287. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0532-12.2012>
- Hoffmann, O., Mahrhofer, C., Rueter, N., Freyer, D., Bert, B., Fink, H., & Weber, J. R. (2007). Pneumococcal cell wall-induced meningitis impairs adult hippocampal neurogenesis. *Infection and immunity*, 75(9), 4289–4297. <https://doi.org/10.1128/IAI.01679-06>
- Ibrayeva, A., Bay, M., Pu, E., Jörg, D.J., Peng, L., Jun, H., Zhang, N., Aaron, D., Lin, C., Resler, G., Hidalgo, A., Jang, M.H., Simons, B.D., Bonaguidi, M.A., 2021. Early stem cell aging in the mature brain. *Cell Stem*

- Cell 28, 955-966.e7. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2021.03.018>
- Iosif, R.E., Ekdahl, C.T., Ahlenius, H., Pronk, C.J.H., Bonde, S., Kokaia, Z., Jacobsen, S.-E.W., Lindvall, O., 2006. Tumor Necrosis Factor Receptor 1 Is a Negative Regulator of Progenitor Proliferation in Adult Hippocampal Neurogenesis. *J. Neurosci.* 26, 9703–9712. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2723-06.2006>
- Ito, D., Imai, Y., Ohsawa, K., Nakajima, K., Fukuuchi, Y., Kohsaka, S., 1998. Microglia-specific localisation of a novel calcium binding protein, Iba1. *Mol. Brain Res.* 57, 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(98\)00040-0](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(98)00040-0)
- Iwasaki, A., Medzhitov, R., 2015. Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nat. Immunol.* <https://doi.org/10.1038/ni.3123>
- Jakubs, K., Bonde, S., Iosif, R.E., Ekdahl, C.T., Kokaia, Z., Kokaia, M., Lindvall, O., 2008. Inflammation Regulates Functional Integration of Neurons Born in Adult Brain. *J. Neurosci.* 28, 12477–12488. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3240-08.2008>
- Jang, M.H., Bonaguidi, M.A., Kitabatake, Y., Sun, J., Song, J., Kang, E., Jun, H., Zhong, C., Su, Y., Guo, J.U., Wang, M.X., Sailor, K.A., Kim, J.Y., Gao, Y., Christian, K.M., Ming, G.L., Song, H., 2013. Secreted frizzled-related protein 3 regulates activity-dependent adult hippocampal neurogenesis. *Cell Stem Cell* 12, 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.11.021>
- Ji, R., Tian, S., Lu, H.J., Lu, Q., Zheng, Y., Wang, X., Ding, J., Li, Q., Lu, Q., 2013. TAM Receptors Affect Adult Brain Neurogenesis by Negative Regulation of Microglial Cell Activation. *J. Immunol.* 191, 6165–6177. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1302229>
- Jurgens, H.A., Johnson, R.W., 2012. Dysregulated neuronal-microglial cross-talk during aging, stress and inflammation. *Exp. Neurol.* <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2010.11.014>
- Kaplan, M.S., Hinds, J.W., 1977. Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science* 197, 1092–4.
- Karalay, O., Doberauer, K., Vadodaria, K.C., Knobloch, M., Berti, L., Miquelajauregui, A., Schwark, M., Jagasia, R., Taketo, M.M., Tarabykin, V., Lie, D.C., Jessberger, S., 2011. 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.* 108, 5807–5812. <https://doi.org/10.1073/pnas.1013456108>
- Keene, C.D., Chang, R., Stephen, C., Nivison, M., Nutt, S.E., Look, A., Breyer, R.M., Horner, P.J., Hevner, R., Montine, T.J., 2009. Protection of hippocampal neurogenesis from toll-like receptor 4-dependent innate immune activation by ablation of prostaglandin E2 receptor subtype EP1 or EP2. *Am. J. Pathol.* 174, 2300–9. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.081153>
- Kempermann, G., 2015. Astrocytes , Makers of New Neurons. *Neuron* 88, 850–851. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.11.017>
- Kempermann, G., Kuhn, H.G., Gage, F.H., 1997. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386, 493–495. <https://doi.org/10.1038/386493a0>
- Kempermann, G., Song, H., Gage, F., 2015. Neurogenesis in the Adult Hippocampus. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7, a018812.
- Kempermann, G., Wiskott, L., Gage, F.H., 2004. Functional significance of adult neurogenesis. *Curr Opin Neurobiol* 14, 186–191. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2004.03.001> \rS0959438804000339 [pii]
- Keohane, A., Ryan, S., Maloney, E., Sullivan, A.M., Nolan, Y.M., 2010. Tumour necrosis factor- α impairs neuronal differentiation but not proliferation of hippocampal neural precursor cells: Role of Hes1. *Mol. Cell. Neurosci.* 43, 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2009.10.003>
- Kettenmann, H., Kirchhoff, F., Verkhratsky, A., 2013. Microglia: New Roles for the Synaptic Stripper. *Neuron.* <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.023>
- Khakh, B.S., Sofroniew, M. V., 2015. Diversity of astrocyte functions and phenotypes in neural circuits. *Nat. Neurosci.* 18, 942–952. <https://doi.org/10.1038/nn.4043>
- Kim, S.E., Ko, I.G., Park, C.Y., Shin, M.S., Kim, C.J., Jee, Y.S., 2013. Treadmill and wheel exercise alleviate lipopolysaccharide-induced short-term memory impairment by enhancing neuronal maturation in rats. *Mol Med Rep* 7, 31–36. <https://doi.org/10.3892/mmr.2012.1160>
- Kipnis, J., Filiano, A.J., 2018. Neuroimmunology in 2017: The central nervous system: Privileged by immune connections. *Nat. Rev. Immunol.* <https://doi.org/10.1038/nri.2017.152>
- Kohman, R.A., Rhodes, J.S., 2013. Neurogenesis, inflammation and behavior. *Brain. Behav. Immun.* 27, 22–

32. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2012.09.003>
- Kohman RA, Bhattacharya TK, Wojcik E, Rhodes JS. (2013). Exercise reduces activation of microglia isolated from hippocampus and brain of aged mice. *J Neuroinflammation*. 10:114.
- Koo, J.W., Duman, R.S., 2008. IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 751–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708092105>
- Kronenberg, G., Reuter, K., Steiner, B., Brandt, M.D., Jessberger, S., Yamaguchi, M., Kempermann, G., 2003. Subpopulations of proliferating cells of the adult hippocampus respond differently to physiologic neurogenic stimuli. *J. Comp. Neurol.* 467, 455–463. <https://doi.org/10.1002/cne.10945>
- Kuhn, H.G., Dickinson-Anson, H., Gage, F.H., 1996. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: Age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J. Neurosci.* 16, 2027–2033. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.16-06-02027.1996>
- Kumar, H., Kawai, T., Akira, S., 2011. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int. Rev. Immunol.* 30, 16–34. <https://doi.org/10.3109/08830185.2010.529976>
- Kuno, R., Yoshida, Y., Nitta, A., Nabeshima, T., Wang, J., Sonobe, Y., Kawanokuchi, J., Takeuchi, H., Mizuno, T., Suzumura, A., 2006. The role of TNF-alpha and its receptors in the production of NGF and GDNF by astrocytes. *Brain Res.* 1116, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.07.120>
- Kuwabara, T., Hsieh, J., Muotri, A., Yeo, G., Warashina, M., Lie, D.C., Moore, L., Nakashima, K., Asashima, M., Gage, F.H., 2009. Wnt-mediated activation of NeuroD1 and retro-elements during adult neurogenesis. *Nat. Neurosci.* 12, 1097–1105. <https://doi.org/10.1038/nn.2360>
- Kuwabara, T., Hsieh, J., Nakashima, K., Taira, K., Gage, F.H., 2004. A small modulatory dsRNA specifies the fate of adult neural stem cells. *Cell* 116, 779–793. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00248-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00248-X)
- Lavado, A., Lagutin, O. V., Chow, L.M.L., Baker, S.J., Oliver, G., 2010. Prox1 Is required for granule cell maturation and intermediate progenitor maintenance during brain neurogenesis. *PLoS Biol.* 8, 43–44. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000460>
- Leal-Galicia, P., Saldívar-González, A., Morimoto, S., Arias, C., 2007. Exposure to environmental enrichment elicits differential hippocampal cell proliferation: Role of individual responsiveness to anxiety. *Dev. Neurobiol.* 67, 395–405. <https://doi.org/10.1002/dneu.20322>
- Leiter, O., Kempermann, G., Walker, T.L., 2016. A Common Language: How neuroimmunological cross talk regulates adult hippocampal neurogenesis. *Stem Cells Int.* <https://doi.org/10.1155/2016/1681590>
- Li, Y.-Q., Cheng, Z., Wong, S., 2016. Differential Apoptosis Radiosensitivity of Neural Progenitors in Adult Mouse Hippocampus. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, Vol. 17, Page 970 17, 970. <https://doi.org/10.3390/IJMS17060970>
- Liberto, C.M., Albrecht, P.J., Herx, L.M., Yong, V.W., Levison, S.W., 2004. Pro-regenerative properties of cytokine-activated astrocytes. *J. Neurochem.* 89, 1092–1100. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02420.x>
- Liddel, S., Barres, B., 2015. SnapShot: Astrocytes in Health and Disease. *Cell.* <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.08.029>
- Liddel, S.A., Guttenplan, K.A., Clarke, L.E., Bennett, F.C., Bohlen, C.J., Schirmer, L., Bennett, M.L., Münch, A.E., Chung, W.S., Peterson, T.C., Wilton, D.K., Frouin, A., Napier, B.A., Panicker, N., Kumar, M., Buckwalter, M.S., Rowitch, D.H., Dawson, V.L., Dawson, T.M., Stevens, B., Barres, B.A., 2017. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature* 541, 481–487. <https://doi.org/10.1038/nature21029>
- Lie, D., Colamarino, S.A., Song, H., Désiré, L., Mira, H., Consiglio, A., Lein, E.S., Jessberger, S., Lansford, H., Dearie, A.R., Gage, F.H., Zhang, L., Yang, X., Yang, S., Zhang, J., 2005. The Wnt/b-catenin signaling pathway in the adult neurogenesis. *Eur. J. Neurosci.* 33, 1370–5. <https://doi.org/10.1038/nature04108>
- Lin, R., Iacovitti, L., 2015. Classic and novel stem cell niches in brain homeostasis and repair. *Brain Res.* 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.04.029>
- Lin YL., Wang S., 2014. Prenatal lipopolysaccharide exposure increases depression-like behaviors and reduces hippocampal neurogenesis in adult rats. *Behav Brain Res.* 259:24-34. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.10.034>.
- Littlefield AM, Setti SE, Priester C, Kohman RA. (2015). Voluntary exercise attenuates LPS-induced reductions in neurogenesis and increases microglia expression of a proneurogenic phenotype in aged mice. *J*

- Neuroinflammation. 12:138.
- Liu, Y., Namba, T., Liu, J., Suzuki, R., Shioda, S., Seki, A.T., 2010. Glial Fibrillary Acidic Protein-Expressing Neural Progenitors Give Rise To Immature Neurons Via Early Intermediate Progenitors Expressing Both Glial Fibrillary Acidic Protein and Neuronal Markers in the Adult Hippocampus. *Nsc* 166, 241–251. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.12.026>
- Llorens-Bobadilla, E., Martin-Villalba, A., 2017. Adult NSC diversity and plasticity: the role of the niche. *Curr. Opin. Neurobiol.* <https://doi.org/10.1016/j.conb.2016.11.008>
- Llorens-Martín, M., Jurado-Arjona, J., Fuster-Matanzo, a, Hernández, F., Rábano, a, Ávila, J., 2014. Peripherally triggered and GSK-3 β -driven brain inflammation differentially skew adult hippocampal neurogenesis, behavioral pattern separation and microglial activation in response to ibuprofen. *Transl. Psychiatry* 4, e463. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.92>
- Lois, C., Alvarez-Buylla, A., 1993. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 2074–2077. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.5.2074>
- Lopes, P.C., 2016. LPS and neuroinflammation: a matter of timing. *Inflammopharmacology* 24, 291–293. <https://doi.org/10.1007/s10787-016-0283-2>
- Louveau, A., Harris, T.H., Kipnis, J., 2015a. Revisiting the Mechanisms of CNS Immune Privilege. *Trends Immunol.* <https://doi.org/10.1016/j.it.2015.08.006>
- Louveau, A., Smirnov, I., Keyes, T.J., Eccles, J.D., Rouhani, S.J., Peske, J.D., Derecki, N.C., Castle, D., Mandell, J.W., Lee, K.S., Harris, T.H., Kipnis, J., 2015b. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature* 523, 337–341. <https://doi.org/10.1038/nature14432>
- Lugert, S., Basak, O., Knuckles, P., Haussler, U., Fabel, K., Götz, M., Haas, C. a., Kempermann, G., Taylor, V., Giachino, C., 2010. Quiescent and active hippocampal neural stem cells with distinct morphologies respond selectively to physiological and pathological stimuli and aging. *Cell Stem Cell* 6, 445–456. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.03.017>
- Lugert, S., Vogt, M., Tchorz, J.S., Müller, M., Giachino, C., Taylor, V., 2012. Homeostatic neurogenesis in the adult hippocampus does not involve amplification of *Ascl1*^{high} intermediate progenitors. *Nat. Commun.* 3, 670. <https://doi.org/10.1038/ncomms1670>
- Lynch, M.A., 2009. The multifaceted profile of activated microglia. *Mol. Neurobiol.* <https://doi.org/10.1007/s12035-009-8077-9>
- Maekawa, M., Takashima, N., Arai, Y., Nomura, T., Inokuchi, K., Yuasi, S., Osumi, N., 2005. Pax6 is required for production and maintenance of progenitor cells in postnatal hippocampal neurogenesis. *Genes to Cells* 10, 1001–1014. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2005.00893.x>
- Marin, I.A., Kipnis, J., 2016. Central Nervous System: (Immunological) Ivory Tower or Not? *Neuropsychopharmacol.* 2017 421 42, 28–35. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.122>
- Martín-Suárez, S., Valero, J., Muro-García, T., Encinas, J.M., 2019. Phenotypical and functional heterogeneity of neural stem cells in the aged hippocampus. *Aging Cell* 18, e12958. <https://doi.org/10.1111/acer.12958>
- Mathieu, P., Battista, D., Depino, A., Roca, V., Graciarena, M., Pitossi, F., 2010. The more you have, the less you get: The functional role of inflammation on neuronal differentiation of endogenous and transplanted neural stem cells in the adult brain. *J. Neurochem.* <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06548.x>
- Matsuda, T., Muraio, N., Katano, Y., Juliandi, B., Kohyama, J., Akira, S., Kawai, T., Nakashima, K., 2015. TLR9 signalling in microglia attenuates seizure-induced aberrant neurogenesis in the adult hippocampus. *Nat. Commun.* 6, 6514. <https://doi.org/10.1038/ncomms7514>
- Matsumoto, J., Takata, F., Machida, T., Takahashi, H., Soejima, Y., Funakoshi, M., Futagami, K., Yamauchi, A., Dohgu, S., Kataoka, Y., 2014. Tumor necrosis factor- α -stimulated brain pericytes possess a unique cytokine and chemokine release profile and enhance microglial activation. *Neurosci. Lett.* 578, 133–138. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.06.052>
- Melo-Salas, M.S., Pérez-Domínguez, M., Zepeda, A., 2018. Systemic Inflammation Impairs Proliferation of Hippocampal Type 2 Intermediate Precursor Cells. *Cell. Mol. Neurobiol.* 38, 1517–1528. <https://doi.org/10.1007/s10571-018-0624-3>
- Min, K.J., Yang, M.S., Kim, S.U., Jou, I., Joe, E.H., 2006. Astrocytes induce hemeoxygenase-1 expression in

- microglia: A feasible mechanism for preventing excessive brain inflammation. *J. Neurosci.* 26, 1880–1887. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3696-05.2006>
- Mira, H., Andreu, Z., Suh, H., Lie, D.C., Jessberger, S., Consiglio, A., San Emeterio, J., Hortigüela, R., Marqués-Torrejón, M.A., Nakashima, K., Colak, D., Götz, M., Fariñas, I., Gage, F.H., 2010. Signaling through BMPR-IA regulates quiescence and long-term activity of neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 7, 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.04.016>
- Monje, M.L., Toda, H., Palmer, T.D., 2003. Inflammatory Blockade Restores Adult Hippocampal Neurogenesis. *Science* (80-.). 302, 1760–1765. <https://doi.org/10.1126/science.1088417>
- Moss, J., Gebara, E., Bushong, E.A., Sánchez-Pascual, I., O’Laoi, R., El M’Ghari, I., Kocher-Braissant, J., Ellisman, M.H., Toni, N., 2016. Fine processes of Nestin-GFP-positive radial glia-like stem cells in the adult dentate gyrus ensheath local synapses and vasculature. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, E2536–E2545. <https://doi.org/10.1073/pnas.1514652113>
- Nacher, J., Varea, E., Blasco-Ibañez, J.M., Castillo-Gomez, E., Crespo, C., Martinez-Guijarro, F.J., McEwen, B.S., 2005. Expression of the transcription factor Pax6 in the adult rat dentate gyrus. *J. Neurosci. Res.* 81, 753–761. <https://doi.org/10.1002/jnr.20596>
- Nakamura, Y., Sakakibara, S.I., Miyata, T., Ogawa, M., Shimazaki, T., Weiss, S., Kageyama, R., Okano, H., Shakakibara, S., Miyata, T., Masaharu, O., Shimazaki, T., Weiss, S., Kageyama, R., Okano, H., 2000. The bHLH gene Hes1 as a repressor of the neuronal commitment of CNS stem cell. *J. Neurosci.* 20, 283–293.
- Nakanishi, M., Niidome, T., Matsuda, S., Akaike, A., Kihara, T., Sugimoto, H., 2007. Microglia-derived interleukin-6 and leukaemia inhibitory factor promote astrocytic differentiation of neural stem/progenitor cells. *Eur. J. Neurosci.* 25, 649–658. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05309>
- Naylor AS, Bull C, Nilsson MK, Zhu C, Björk-Eriksson T, Eriksson PS, Blomgren K, Kuhn HG. (2008). Voluntary running rescues adult hippocampal neurogenesis after irradiation of the young mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105:14632-7.
- Neher, J.J., Cunningham, C., 2019. Priming Microglia for Innate Immune Memory in the Brain. *Trends Immunol.* <https://doi.org/10.1016/j.it.2019.02.001>
- Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F., Helmchen, F., 2005. Resting Microglial Cells Are Highly Dynamic Surveillants of Brain Parenchyma in Vivo — Resting Microglial Cells Are Highly Dynamic Surveillants of Brain Parenchyma in Vivo — Supporting Online Material 308, 1314–1319. <https://doi.org/10.1126/science.1110647>
- Okun, E., Griffioen, K.J., Mattson, M.P., 2011. Toll-like receptor signaling in neural plasticity and disease. *Trends Neurosci.* <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.02.005>
- Olson, J.K., Miller, S.D., 2004. Microglia Initiate Central Nervous System Innate and Adaptive Immune Responses through Multiple TLRs. *J. Immunol.* 173, 3916–3924. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.6.3916>
- Ormerod, B.K., Hanft, S.J., Asokan, A., Haditsch, U., Lee, S.W., Palmer, T.D., 2013. PPAR γ activation prevents impairments in spatial memory and neurogenesis following transient illness. *Brain. Behav. Immun.* <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.10.017>
- Overall, R.W., Walker, T.L., Fischer, T.J., Brandt, M.D., Kempermann, G., 2016. Different Mechanisms Must Be Considered to Explain the Increase in Hippocampal Neural Precursor Cell Proliferation by Physical Activity. *Front. Neurosci.* 10, 362. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00362>
- Ozen, I., Galichet, C., Watts, C., Parras, C., Guillemot, F., Raineteau, O., 2007. Proliferating neuronal progenitors in the postnatal hippocampus transiently express the proneural gene Ngn2. *Eur. J. Neurosci.* 25, 2591–2603. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05541.x>
- Packer, M.A., Stasiv, Y., Benraiss, A., Chmielnicki, E., Grinberg, A., Westphal, H., Goldman, S.A., Enikolopov, G., 2003. Nitric oxide negatively regulates mammalian adult neurogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 9566–9571. <https://doi.org/10.1073/pnas.1633579100>
- Palmer, T.D., Takahashi, J., Gage, F.H., 1997. The adult rat hippocampus contains primordial neural stem cells. *Mol. Cell. Neurosci.* 8, 389–404. <https://doi.org/10.1006/mcne.1996.0595>
- Palmer, T.D., Willhoite, A.R., Gage, F.H., 2000. Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis. *J. Comp. Neurol.* 425, 479–494. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20001002\)425:4<479::AID-](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20001002)425:4<479::AID-)

CNE2>3.0.CO;2-3

- Pardon, M.C., 2015. Lipopolysaccharide hyporesponsiveness: Protective or damaging response to the brain? *Rom. J. Morphol. Embryol.*
- Peng, H., Whitney, N., Wu, Y., Tian, C., Dou, H., Zhou, Y., Zheng, J., 2008. HIV-1-infected and/or immune-activated macrophage-secreted TNF- α affects human fetal cortical neural progenitor cell proliferation and differentiation. *Glia* 56, 903–916. <https://doi.org/10.1002/glia.20665>
- Pérez-Domínguez, M., Tovar-y-Romo, L.B., Zepeda, A., Perez-Dominguez, M., Tovar, Y.R.L.B., Zepeda, A., 2017. Neuroinflammation and physical exercise as modulators of adult hippocampal neural precursor cell behavior. *Rev Neurosci* 29, 1–20. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2017-0024>
- Perry, V.H., Cunningham, C., Holmes, C., 2007. Systemic infections and inflammation affect chronic neurodegeneration. *Nat. Rev. Immunol.* <https://doi.org/10.1038/nri2015>
- Pilz, G.-A., Bottes, S., Betizeau, M., Jörg, D.J., Carta, S., Simons, B.D., Helmchen, F., Jessberger, S., 2018. Live imaging of neurogenesis in the adult mouse hippocampus. *Science* (80-.). 359, 658–662. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAO5056>
- Pozhilenkova, E.A., Lopatina, O.L., Komleva, Y.K., Salmin, V. V., Salmina, A.B., 2017. Blood-brain barrier-supported neurogenesis in healthy and diseased brain. *Rev. Neurosci.* 28, 397–415. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2016-0071>
- Qin, L., Wu, X., Block, M.L., Liu, Y., Breese, G.R., Hong, J.-S., Knapp, D.J., Crews, F.T., 2007. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia* 55, 453–462. <https://doi.org/10.1002/glia.20467>
- Ransohoff, R.M., 2016. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science* (80-.). <https://doi.org/10.1126/science.aag2590>
- Rao, M.S., Shetty, A.K., 2004. 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.* 19, 234–246. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2003.03123.x>
- Renault, V.M., Rafalski, V.A., Morgan, A.A., Salih, D.A.M., Brett, J.O., Webb, A.E., Villeda, S.A., Thekkat, P.U., Guillerey, C., Denko, N.C., Palmer, T.D., Butte, A.J., Brunet, A., 2009. FoxO3 Regulates Neural Stem Cell Homeostasis. *Cell Stem Cell* 5, 527–539. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.09.014>
- Rolando, C., Erni, A., Grison, A., Beattie, R., Engler, A., Gokhale, P.J., Milo, M., Wegleiter, T., Jessberger, S., Taylor, V., 2016. Multipotency of Adult Hippocampal NSCs In Vivo Is Restricted by Drosha/NFIB. *Cell Stem Cell* 19, 653–662. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2016.07.003>
- Rolls, A., Shechter, R., London, A., Ziv, Y., Ronen, A., Levy, R., Schwartz, M., 2007. Toll-like receptors modulate adult hippocampal neurogenesis. *Nat. Cell Biol.* 9, 1081–1088. <https://doi.org/10.1038/ncb1629>
- Russo, I., Amornphimoltham, P., Weigert, R., Barlati, S., Bosetti, F., 2011a. Cyclooxygenase-1 is involved in the inhibition of hippocampal neurogenesis after lipopolysaccharide-induced neuroinflammation. *Cell Cycle* 10, 2568–2573. <https://doi.org/10.4161/cc.10.15.15946>
- Russo, I., Amornphimoltham, P., Weigert, R., Bosetti, F., Russo, I., Amornphimoltham, P., Weigert, R., Barlati, S., Bosetti, F., 2011b. Cyclooxygenase-1 is involved in the inhibition of hippocampal neurogenesis after lipopolysaccharide-induced neuroinflammation. *Cell Cycle* 4101. <https://doi.org/10.4161/cc.10.15.15946>
- Rustenhoven, J., Kipnis, J., 2019. Bypassing the blood-brain barrier. *Science* (80-.). <https://doi.org/10.1126/science.aay0479>
- Ryan, S.M., Nolan, Y.M., 2016. Neuroinflammation negatively affects adult hippocampal neurogenesis and cognition: can exercise compensate? *Neurosci. Biobehav. Rev.* 61, 121–131. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.12.004>
- Scheffel, J., Regen, T., Van Rossum, D., Seifert, S., Ribes, S., Nau, R., Parsa, R., Harris, R.A., Boddeke, H.W.G.M., Chuang, H.-N., Pukrop, T., Wessels, J.T., Jürgens, T., Merkler, D., Brück, W., Schnaars, M., Simons, M., Kettenmann, H., Hanisch, U.-K., 2012. Toll-like receptor activation reveals developmental reorganization and unmasks responder subsets of microglia. *Glia* 60, 1930–1943. <https://doi.org/10.1002/glia.22409>
- Seeley, J.J., Ghosh, S., 2017. Molecular mechanisms of innate memory and tolerance to LPS. *J. Leukoc. Biol.*

- 101, 107–119. <https://doi.org/10.1189/jlb.3mr0316-118rr>
- Seki, T., Namba, T., Mochizuki, H., Onodera, M., 2007. Clustering, Migration, and Neurite Formation of Neural Precursor Cells in the Adult Rat Hippocampus. *J. Comp. Neurol.* 502, 275–290. <https://doi.org/10.1002/cne>
- Seri, B., Garcia-Verdugo, J.M., Collado-Morente, L., McEwen, B.S., Alvarez-Buylla, A., 2004. Cell types, lineage, and architecture of the germinal zone in the adult dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* 478, 359–378. <https://doi.org/10.1002/cne.20288>
- Seri, B., García-Verdugo, J.M., McEwen, B.S., Alvarez-Buylla, a, 2001. Astrocytes give rise to new neurons in the adult mammalian hippocampus. *J. Neurosci.* 21, 7153–7160. <https://doi.org/10.1210/jc.80.10.2954>
- Sierra, A., Encinas, J.M., Deudero, J.J.P., Chancey, J.H., Enikolopov, G., Overstreet-Wadiche, L.S., Tsirka, S.E., Maletic-Savatic, M., 2010. Microglia Shape Adult Hippocampal Neurogenesis through Apoptosis-Coupled Phagocytosis. *Cell Stem Cell* 7, 483–495. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.08.014>
- Skelly, D.T., Hennessy, E., Dansereau, M.-A., Cunningham, C., 2013. A Systematic Analysis of the Peripheral and CNS Effects of Systemic LPS, IL-1B, TNF- α and IL-6 Challenges in C57BL/6 Mice. *PLoS One* 8, e69123. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069123>
- Sofroniew, M. V., 2020. Astrocyte Reactivity: Subtypes, States, and Functions in CNS Innate Immunity. *Trends Immunol.* <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.07.004>
- Sofroniew, M. V., 2015. Astrogliosis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7, a020420. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020420>
- Sofroniew, M. V., 2014. Multiple roles for astrocytes as effectors of cytokines and inflammatory mediators. *Neuroscientist* 20, 160–172. <https://doi.org/10.1177/1073858413504466>
- Sofroniew, M. V., 2005. Reactive astrocytes in neural repair and protection. *Neurosci.* 11, 400–407. <https://doi.org/10.1177/1073858405278321>
- Song, H., Stevens, C.F., Gage, F.H., 2002. Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. *Nature* 417, 39–44. <https://doi.org/10.1038/417039a>
- Song, J., Olsen, R.H.J., Sun, J., Ming, G.L., Song, H., 2016. Neuronal circuitry mechanisms regulating adult mammalian neurogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 8, a018937. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018937>
- Song, J., Zhong, C., Bonaguidi, M.A., Sun, G.J., Hsu, D., Gu, Y., Meletis, K., Huang, Z.J., Ge, S., Enikolopov, G., Deisseroth, K., Luscher, B., Christian, K.M., Ming, G., Song, H., 2012. Neuronal circuitry mechanism regulating adult quiescent neural stem-cell fate decision. *Nature* 489, 150–154. <https://doi.org/10.1038/nature11306>
- Spulber, S., Oprica, M., Bartfai, T., Winblad, B., Schultzberg, M., 2008. Blunted neurogenesis and gliosis due to transgenic overexpression of human soluble IL-1ra in the mouse. *Eur. J. Neurosci.* 27, 549–558. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06050.x>
- Steiner, B., Kronenberg, G., Jessberger, S., Brandt, M.D., Reuter, K., Kempermann, G., 2004. Differential Regulation of Gliogenesis in the Context of Adult Hippocampal Neurogenesis in Mice. *Glia* 46, 41–52. <https://doi.org/10.1002/glia.10337>
- Steiner, B., Zurborg, S., Hörster, H., Fabel, K., Kempermann, G., 2008. Differential 24 h responsiveness of Prox1-expressing precursor cells in adult hippocampal neurogenesis to physical activity, environmental enrichment, and kainic acid-induced seizures. *Neuroscience* 154, 521–529. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.04.023>
- Steiner, F, K., L, W., M, K., H, K., G., K., 2006. Type-2 Cells as Link Between Glial and Neuronal Lineage in Adult Hippocampal Neurogenesis. *Glia* 54, 805–814.
- Suh, H., Consiglio, A., Ray, J., Sawai, T., D'Amour, K. a, Gage, F.H., 2007. In vivo fate analysis reveals the multipotent and self-renewal capacities of Sox2+ neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 1, 515–28. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2007.09.002>
- Sultan, S., Li, L., Moss, J., Petrelli, F., Cass??, F., Gebara, E., Lopatar, J., Pfrieger, F.W., Bezzi, P., Bischofberger, J., Toni, N., 2015. Synaptic Integration of Adult-Born Hippocampal Neurons Is Locally Controlled by Astrocytes. *Neuron* 88. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.10.037>
- Tang, M., Lin, W., Pan, Y., Guan, X., Li, Y., 2016. Hippocampal neurogenesis dysfunction linked to depressive-like behaviors in a neuroinflammation induced model of depression. *Physiol. Behav.* 161, 166–173.

- <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.04.034>
- Toda, T., Gage, F.H., 2018. Review: adult neurogenesis contributes to hippocampal plasticity. *Cell Tissue Res.* <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2735-4>
- Toni, N., Schinder, A.F., 2015. Maturation and Functional Integration of New Granule Cells into the Adult Hippocampus. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 8, a018903. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018903>
- Tracey, K.J., 2002. The inflammatory reflex. *Nature.* <https://doi.org/10.1038/nature01321>
- Turrin, N.P., Gayle, D., Ilyin, S.E., Flynn, M.C., Langhans, W., Schwartz, G.J., Plata-Salamán, C.R., 2001. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine mRNA induction in the periphery and brain following intraperitoneal administration of bacterial lipopolysaccharide. *Brain Res. Bull.* 54, 443–453. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00445-2](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00445-2)
- Urbach, A., Witte, O.W., 2019. Divide or Commit – Revisiting the Role of Cell Cycle Regulators in Adult Hippocampal Neurogenesis. *Front. Cell Dev. Biol.* 7, 55. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00055>
- Valero, J., Mastrella, G., Neiva, I., Sánchez, S., Malva, J.O., 2014. Long-term effects of an acute and systemic administration of LPS on adult neurogenesis and spatial memory. *Front. Neurosci.* 8, 83. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00083>
- Vallieres, Res, ` , Campbell, I.L., Gage, F.H., Sawchenko, and P.E., 2002. Reduced Hippocampal Neurogenesis in Adult Transgenic Mice with Chronic Astrocytic Production of Interleukin-6 22, 486–492.
- van Praag, H., Kempermann, G., Gage, F.H., 1999. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat. Neurosci.* 2, 266–270. <https://doi.org/10.1038/6368>
- Varela-Nallar, L., Inestrosa, N.C., 2013. Wnt signaling in the regulation of adult hippocampal neurogenesis. *Front. Cell. Neurosci.* 7, 100. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00100>
- Veerasammy, S., Van Steenwinckel, J., Le Charpentier, T., Seo, J.H., Fleiss, B., Gressens, P., Levison, S.W., 2020. Perinatal IL-1 β -induced inflammation suppresses Tbr2+ intermediate progenitor cell proliferation in the developing hippocampus accompanied by long-term behavioral deficits. *Brain, Behav. Immun. - Heal.* 7, 100106. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2020.100106>
- Vicidomini, C., Guo, N., Sahay, A., 2020. Communication, Cross Talk, and Signal Integration in the Adult Hippocampal Neurogenic Niche. *Neuron.* <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.11.029>
- Webb, A.E., Pollina, E.A., Vierbuchen, T., Urbán, N., Ucar, D., Leeman, D.S., Martynoga, B., Sewak, M., Rando, T.A., Guillemot, F., Wernig, M., Brunet, A., 2013. FOXO3 Shares Common Targets with ASCL1 Genome-wide and Inhibits ASCL1-Dependent Neurogenesis. *Cell Rep.* 4, 477–491. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.06.035>
- Wendeln, A.C., Degenhardt, K., Kaurani, L., Gertig, M., Ulas, T., Jain, G., Wagner, J., Häslér, L.M., Wild, K., Skodras, A., Blank, T., Staszewski, O., Datta, M., Centeno, T.P., Capece, V., Islam, M.R., Kerimoglu, C., Staufienbiel, M., Schultze, J.L., Beyer, M., Prinz, M., Jucker, M., Fischer, A., Neher, J.J., 2018. Innate immune memory in the brain shapes neurological disease hallmarks. *Nature* 556, 332–338. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0023-4>
- Whitney, N.P., Eidem, T.M., Peng, H., Huang, Y., Zheng, J.C., 2009. Inflammation mediates varying effects in neurogenesis: relevance to the pathogenesis of brain injury and neurodegenerative disorders. *J. Neurochem.* 108, 1343–59. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.05886.x>
- Wilhelmsson, U., Bushong, E.A., Price, D.L., Smarr, B.L., Phung, V., Terada, M., Ellisman, M.H., Pekny, M., 2006. Redefining the concept of reactive astrocytes as cells that remain within their unique domains upon reaction to injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 17513–17518. <https://doi.org/10.1073/pnas.0602841103>
- Wolf, S.A., Steiner, B., Akpınarlı, A., Kammertoens, T., Nassenstein, C., Braun, A., Blankenstein, T., Kempermann, G., 2009. CD4-Positive T Lymphocytes Provide a Neuroimmunological Link in the Control of Adult Hippocampal Neurogenesis. *J. Immunol.* 182, 3979–3984. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0801218>
- Woodbury, M.E., Freilich, R.W., Cheng, C.J., Asai, H., Ikezu, S., Boucher, J.D., Slack, F., Ikezu, T., 2015. miR-155 Is Essential for Inflammation-Induced Hippocampal Neurogenic Dysfunction. *J. Neurosci.* 35, 9764–81. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4790-14.2015>
- Wright, S.D., Ramos, R.A., Tobias, P.S., Ulevitch, R.J., Mathison, J.C., 1990. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* (80-.). 249, 1431–1433.

- <https://doi.org/10.1126/science.1698311>
- Wu, C.-W., Chang, Y.-T., Yu, L., Chen, H., Jen, C.J., Wu, S.-Y., Lo, C.-P., Kuo, Y.-M., 2008. Exercise enhances the proliferation of neural stem cells and neurite growth and survival of neuronal progenitor cells in dentate gyrus of middle-aged mice. *J. Appl. Physiol.* 105, 1585–1594. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.90775.2008>
- Wu, C.W., Chen, Y.C., Yu, L., Chen, H.I., Jen, C.J., Huang, A.M., Tsai, H.J., Chang, Y.T., Kuo, Y.M., 2007. Treadmill exercise counteracts the suppressive effects of peripheral lipopolysaccharide on hippocampal neurogenesis and learning and memory. *J. Neurochem.* 103, 2471–2481. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04987.x>
- Wu, M.D., Hein, A.M., Moravan, M.J., Shaftel, S.S., Olschowka, J.A., O'Banion, M.K., O'Banion, M.K., 2012. Adult murine hippocampal neurogenesis is inhibited by sustained IL-1 β and not rescued by voluntary running. *Brain. Behav. Immun.* 26, 292–300. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.09.012>
- Wu, M.D., Montgomery, S.L., Rivera-Escalera, F., Olschowka, J. a., O'Banion, M.K., 2013. Sustained IL-1 β expression impairs adult hippocampal neurogenesis independent of IL-1 signaling in nestin+ neural precursor cells. *Brain. Behav. Immun.* 32, 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.03.003>
- Yeh, C.-Y., Asrican, B., Moss, J., Quintanilla, L.J., He, T., Mao, X., Cassé, F., Gebara, E., Bao, H., Lu, W., Toni, N., Song, J., 2018. Mossy Cells Control Adult Neural Stem Cell Quiescence and Maintenance through a Dynamic Balance between Direct and Indirect Pathways. *Neuron* 0. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.010>
- Yirmiya, R., Goshen, I., 2011. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain. Behav. Immun.* 25, 181–213. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.10.015>
- Zepeda, A., Aguilar-Arredondo, A., Michel, G., Ramos-Languren, L.E., Escobar, M.L., Arias, C., 2013. Functional recovery of the dentate gyrus after a focal lesion is accompanied by structural reorganization in the adult rat. *Brain Struct. Funct.* 218, 437–453. <https://doi.org/10.1007/s00429-012-0407-4>
- Zhao, J., Bi, W., Xiao, S. 2019. Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment in mice. *Sci Rep* 9, 5790 . <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42286-8>
- Zhu, X.J., Hua, Y., Jiang, J., Zhou, Q.G., Luo, C.X., Han, X., Lu, Y.M., Zhu, D.Y., 2006. Neuronal nitric oxide synthase-derived nitric oxide inhibits neurogenesis in the adult dentate gyrus by down-regulating cyclic AMP response element binding protein phosphorylation. *Neuroscience* 141, 827–836. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.04.032>
- Zonis, S., Ljubimov, V.A., Mahgerefteh, M., Pechnick, R.N., Wawrowsky, K., Chesnokova, V., 2013. p21Cip restrains hippocampal neurogenesis and protects neuronal progenitors from apoptosis during acute systemic inflammation. *Hippocampus* 23, 1383–94. <https://doi.org/10.1002/hipo.22192>

Martha Pérez-Domínguez, Luis B. Tovar-y-Romo and Angélica Zepeda*

Neuroinflammation and physical exercise as modulators of adult hippocampal neural precursor cell behavior

<https://doi.org/10.1515/revneuro-2017-0024>

Received March 27, 2017; accepted June 29, 2017; previously published online September 5, 2017

Abstract: The dentate gyrus of the hippocampus is a plastic structure where adult neurogenesis constitutively occurs. Cell components of the neurogenic niche are source of paracrine as well as membrane-bound factors such as Notch, Bone Morphogenetic Proteins, Wnts, Sonic Hedgehog, cytokines, and growth factors that regulate adult hippocampal neurogenesis and cell fate decision. The integration and coordinated action of multiple extrinsic and intrinsic cues drive a continuous decision process: if adult neural stem cells remain quiescent or proliferate, if they take a neuronal or a glial lineage, and if new cells proliferate, undergo apoptotic death, or survive. The proper balance in the molecular milieu of this neurogenic niche leads to the production of neurons in a higher rate as that of astrocytes. But this rate changes in face of microenvironment modifications as those driven by physical exercise or with neuroinflammation. In this work, we first review the cellular and molecular components of the subgranular zone, focusing on the molecules, active signaling pathways and genetic programs that maintain quiescence, induce proliferation, or promote differentiation. We then summarize the evidence regarding the role of neuroinflammation and physical exercise in the modulation of adult hippocampal neurogenesis with emphasis on the activation of progression from adult neural stem cells to lineage-committed progenitors to their progeny mainly in murine models.

***Corresponding author: Angélica Zepeda,** Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Circuito Exterior s/n, 04510 Coyoacán, Ciudad de México, México, e-mail: azepeda@biomedicas.unam.mx

Martha Pérez-Domínguez: Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), 04510 Coyoacán, Ciudad de México, México

Luis B. Tovar-y-Romo: División de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), 04510 Coyoacán, Ciudad de México, México

Keywords: adult neurogenesis; dentate gyrus; differentiation; hippocampus; microglia; proliferation.

Introduction

Adult neural stem cells (ANSCs) and their progeny confer a unique mode of hippocampal plasticity that is important to maintain normal functions, such as hippocampus-dependent learning and memory and regulation of mood, and presumably enhances adaptation to continuously changing environments (Aimone et al., 2014; Bond et al., 2015; Kempermann et al., 2015). ANSCs in the subgranular zone (SGZ) are multipotent cells that are either at a quiescent or at an active state and they do not possess predetermined programs for the generation of a particular neural lineage cell type. Instead, they are in close contact with blood vessels and have receptors for multiple membrane-bound factors as well as soluble factors arising from their niche, which allow them to sense the microenvironment and change their proliferative behavior accordingly (Palmer et al., 2000; Filippov et al., 2003; Gebara et al., 2016; Moss et al., 2016). When active, these cells are capable of self-renewal but they can also yield a transient amplifying progenitor cell (TAPC) that in turn gives rise to neuroblasts and which can further develop into mature granular neurons. Alternatively and under physiological conditions, ANSCs can also give rise to astrocytes (Suh et al., 2007; Bonaguidi et al., 2011, 2016; Encinas et al., 2011).

In physiological conditions, ANSCs supply the granule cell layer (GCL) with glutamatergic neurons in a higher proportion than astrocytes throughout life (Suh et al., 2007; Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011). In proneurogenic conditions such as physical exercise, growth factors, and Wnt signaling molecules are up-regulated while bone morphogenetic protein (BMP) pathways are down-regulated, thus modulating ANSC activity in such a way that neurogenesis prevails (Bonaguidi et al., 2005, 2008; Jang et al., 2013). In pathological conditions such as neuroinflammation, microglial activation occurs and the release of proinflammatory cytokines increases,

which in turn guides to ANSC-derived astrogenesis and promote a neural precursor cell proliferation decrease (Monje et al., 2003; Cacci et al., 2005).

Adult hippocampal neurogenesis

The adult mammalian SGZ of the hippocampal dentate gyrus (DG) is one of the regions where neurogenesis constitutively occurs throughout life (Altman and Das, 1965; Kaplan and Hinds, 1977; Cameron and McKay, 2001). The generation of new glutamatergic granule neurons from ANSCs occurs through a developmental complex sequence of events that includes the activation of quiescent ANSCs into a proliferating state, neuronal fate-choice of the proliferating progenitor cells, survival of new born cells, neuronal maturation, and functional integration into the hippocampal circuit (Zhao et al., 2008; Ming and Song, 2011; Kempermann et al., 2015) (Figure 1A).

Molecular mediators of ANSC maintenance and activation

ANSCs, also known as glia-like radial stem cells or type 1 cells, are multipotent cells whose main functional characteristic is their low rate of division; these cells remain for long periods out of the cell cycle in a quiescent state. ANSC activation may lead to the expansion of the stem cell pool through symmetric self-renewal, although at a low frequency; maintenance of the pool through asymmetric self-renewal over long time; or depletion through a direct astrocytic differentiation (Bonaguidi et al., 2011; Dranovsky et al., 2011; Encinas et al., 2011; Song et al., 2012).

ANSCs have a radial morphology with their cell body in the SGZ and a single long radial process that extends through the GCL reaching the inner third of the molecular layer, where it ramifies. These cells have astrocytic characteristics, such as the expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP), Vimentin, and brain lipid binding protein (BLBP), and have a vascular end-feet and passive membrane properties. In addition, ANSCs express neural stem cell markers such as Nestin and Sox2 (Palmer et al., 2000; Seri et al., 2001; Filippov et al., 2003; Fukuda et al., 2003; Garcia et al., 2004; Gebara et al., 2016; Moss et al., 2016).

Maintenance of type 1 cells is essential to ensure adult hippocampal neurogenesis throughout life. The niche maintains ANSC's quiescence, which prevents

an excessive activation followed by the depletion of the neural stem cell pool. The quiescent state of these cells depends on the integration of received molecular signals. Thus, in physiological conditions, Notch (Ables et al., 2010; Ehm et al., 2010) and BMP (Bonaguidi et al., 2005, 2008; Mira et al., 2010) signaling pathways are active as well as GABA release (Ge et al., 2007; Song et al., 2012), while Wnt signaling pathway is down-regulated by the chronically secreted frizzled related protein 3 (sFRP3) inhibitor, which maintains a quiescent state (Jang et al., 2013) (Figure 1B).

Notch signaling pathway is involved in the balance of quiescence and proliferation of type 1 cells and is required to maintain an undifferentiated state (Ehm et al., 2010; Lugert et al., 2010). Genetic manipulation of Notch1 via its conditional ablation decreases maintenance and promotes proliferation of type 1 cells (Ables et al., 2010). Jagged1 is expressed both by the niche astrocytes and by TAPCs (Stump et al., 2002; Lavado and Oliver, 2014), and the interaction between Jagged1 on TAPCs and Notch receptors on ANSCs has been proposed to function as a feedback mechanism maintaining ANSC quiescence. Depletion of the TAPC population leads to an initial increase in ANSCs proliferation (Gao et al., 2009; Lavado et al., 2010; Hodge et al., 2012b), suggesting an induction of type 1 cell quiescence by TAPCs. Accordingly, the same sequence of events also takes place when Notch1 receptor or RBPJk is deleted with the consequent depletion of the ANSCs pool (Ables et al., 2010; Ehm et al., 2010; Lavado and Oliver, 2014). One direct target of Notch signaling is the transcription factor hairy-enhancer-of split 5 (Hes5) (Lugert et al., 2010), which inhibits neural differentiation by preventing the function of proneurogenic bHLH transcription factors. In addition, Notch/RBPJk signaling controls maintenance and proliferation in adult hippocampal neurogenesis through the transcriptional regulation of SRY-related high-mobility group box family member 2 (Sox2) expression. In agreement with the above, Sox2 overexpression has been shown to be sufficient to rescue self-renewal deficits of *RBPJk*-deficient ANSCs (Ehm et al., 2010). These results suggest that the actions of Notch signaling are, at least in part, mediated by control of Sox2 expression. Sox2 is required for the maintenance, proliferation capacity, and multipotency of type 1 cells. Conditional deletion of Sox2 results in a drastic reduction of the number of type 1 cells and decreases proliferation of ANSCs and TAPCs. Furthermore, Sox2 represses proneurogenic transcription factor *NeuroD1*, preventing neuronal differentiation and maintaining ANSCs in a multipotent state (Kuwabara et al., 2009). Additionally, Sox2 also controls the expression of *Sonic Hedgehog* (Shh), which

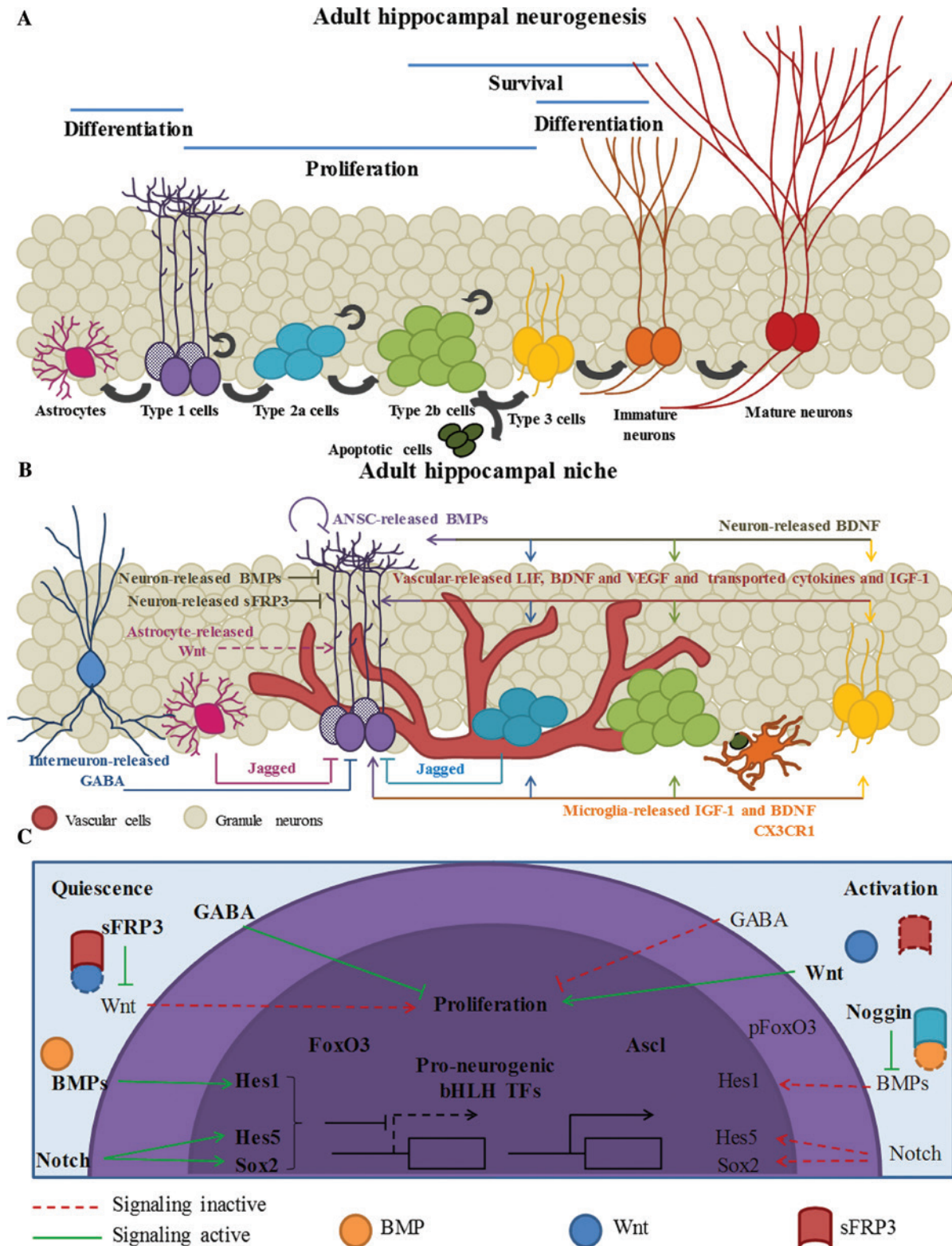


Figure 1: Adult hippocampal neurogenesis under physiological conditions. (A) A schematic diagram depicting how newborn cells undergo several consecutive developmental stages from adult neural stem cells to fully mature neurons. (B) The adult hippocampal niche. Schematic illustration of cellular and molecular components present in the SGZ. Arrows indicate the cellular type upon which different molecules impact, as well as their inhibitory or activating effect. (C) Signals and transcription factors involved in the maintenance of quiescence and activation of ANSC (see text for details).

promotes cell proliferation (Favaro et al., 2009). Quiescent ANSCs and TAPCs respond to Shh (Ahn and Joyner, 2005), which is expressed in both the adult hippocampus and neural precursor cells in culture. Shh-signaling induction increases cell proliferation both *in vivo* and *in vitro*, while its inhibition reduces cell proliferation *in vivo* (Lai et al., 2003). In addition, conditional disruption of primary cilia leads to abrogated Shh activity impairing the production of TAPCs derived from ANSCs (Breunig et al., 2008).

BMP/Smad signaling pathway is also active in the adult SGZ. BMPs are chronically secreted by granule neurons and by ANSCs themselves, and BMP inhibitors, including Noggin and Chordin, are also present in the hippocampal niche (Bonaguidi et al., 2005, 2008). BMPs are necessary for the maintenance of the quiescent state of ANSCs and are also essential for the differentiation and maturation of granule neurons. Type 1 cells in the adult SGZ express BMPR-Ia, which is down-regulated in type 2 cells, while neuroblasts and neurons express BMPR-Ib. Activation of the BMP pathway reduces proliferation *in vitro*, whereas *in vivo*, the inhibition of BMP2/4 signaling and the ablation of Smad4 from type 1 cells increase cell proliferation (Mira et al., 2010). BMP2/4 signaling activates transcription factor Smad1, which forms a heterotrimeric complex with Smad4 to transcriptionally regulate target gene expression such as the bHLH transcription factor *Hes1*, which is known to block the action of proneurogenic bHLH factors. The active form of Smad1 is found in quiescent type 1 cells under physiological conditions (Mira et al., 2010).

Wnt signaling pathway regulates cell proliferation and promotes neuronal differentiation and maturation during adult hippocampal neurogenesis (Lie et al., 2005; Varela-Nallar and Inestrosa, 2013). Receptors on ANSCs respond to Wnt signaling components, which in turn are secreted by astrocytes (Lie et al., 2005). Wnt3 is produced by local astrocytes in the hippocampal neurogenic niche and its overexpression or the blockade of Wnt signaling is sufficient to increase and impair neurogenesis respectively, both *in vitro* and *in vivo* (Lie et al., 2005). Neuronal activity decreases the expression of Wnt antagonist sFRP3, which is tonically secreted by dentate granule neurons. sFRP3 deletion activates quiescent ANSCs with the consequent excessive cell proliferation and loss of the neural stem cell pool while it also promotes new born neuron maturation (Jang et al., 2013).

Several neurotransmitters have been shown to impact on neural stem cell behavior in the adult SGZ, providing a link between the activity of particular neuronal populations and the regulation of adult neurogenesis (Berg et al., 2013). For instance, tonic (extrasynaptic) GABA that

comes from parvalbumin-positive basket interneurons signals through chloride channel-linked GABA_A receptors to maintain the quiescent state of ANSCs, and the loss of this receptor increases cell proliferation in the SGZ (Ge et al., 2007; Song et al., 2012). Thus, in physiological conditions, enhancement of γ 2-mediated GABA signaling promotes the quiescence of type 1 cells while decreasing GABA released from parvalbumin-expressing interneurons or deleting γ 2-subunit-containing GABA_A receptors from radial-glia-like quiescent cells induces their symmetrical self-renewal (Song et al., 2012) (Table 1).

In physiological conditions, decreasing Notch signaling (Breunig et al., 2007), Wnt inhibitors release (Jang et al., 2013), and GABA (Song et al., 2012) induces ANSC activation. A subset of proliferating type 1 cells expresses the proneural bHLH transcription factor achaete-scute homolog 1 (*Ascl1*) (Kim et al., 2007; Ables et al., 2010). ANSCs respond to proneurogenic stimuli by up-regulating the transcription factor *Ascl1* and subsequently exiting quiescence. Interestingly, deletion of *Ascl1* impairs the response to proneurogenic stimuli, suggesting that *Ascl1* is involved in the switch from quiescence to activation. *Ascl1* promotes the proliferation of ANSCs by directly regulating the expression of cell-cycle regulatory genes (Andersen et al., 2014). Other transcription factors like Forkhead O-box 3 (*FoxO3*), which belongs to the Hes family, is expressed in type 1 cells and its ablation results in a failure of ANSCs balance to the quiescent state, with the consequent depletion of the ANSC pool (Renault et al., 2009). *FoxO3* maintains the program of genes that preserves quiescence, cell maintenance, and proliferation and shares common targets with *Ascl1* inhibiting neurogenesis (Renault et al., 2009; Webb et al., 2013) (Figure 1C).

ANSC progeny

The multipotency of ANSCs was initially suggested by their long-term expansion and differentiation into the three neural lineages, neurons, astrocytes, and oligodendrocytes in cell cultures (Palmer et al., 1997). However, in the adult SGZ, only the neuronal and astroglial lineages are generated under physiological conditions (Suh et al., 2007; Lugert et al., 2010; Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011; Rolando et al., 2016). ANSC astrogenic asymmetric cell division gives rise to a nonproliferative astrocyte and the ANSC returns to quiescence. Also, ANSCs generate astrocytes through terminal differentiation (Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011). Neuronal-lineage programming derived from ANSCs begins when

Table 1: Multiple signals regulate adult hippocampal neurogenesis.

Regulatory factor/ signaling pathway	Condition	State	Event	References
Notch	Physiological	Active	Maintains quiescence	Ables et al., 2010; Ehm et al., 2010; Lugert et al., 2010
Shh	Physiological	Down-regulated	Maintains quiescence	Lai et al., 2003; Breunig et al., 2008; Favaro et al., 2009
BMP	Physiological	Active	Maintains quiescence	Bonaguidi et al., 2005, 2008; Mira et al., 2010
Wnt	Physiological	Down-regulated	Maintains quiescence	Lie et al., 2005; Jang et al., 2013; Varela-Nallar and Inestrosa, 2013
GABA	Physiological	Active	Maintains quiescence	Ge et al., 2007; Song et al., 2012
Ephrin-B2	Physiological	Active	Promotes neuronal differentiation	Ashton et al., 2012
Fractalkine	Physiological	Active	Promotes proliferation and survival	Bachstetter et al., 2011
TLRs	Physiological	Active	Regulate proliferation and differentiation	Rolls et al., 2007
IL-6	Neuroinflammation	Up-regulated	Decreases proliferation, survival, and neuronal differentiation while inducing astroglialogenesis	Vallieres et al., 2002; Monje et al., 2003; Nakanishi et al., 2007; Zonis et al., 2013; Woodbury et al., 2015
TNF- α	Neuroinflammation	Up-regulated	Promotes cell death and induces astroglialogenesis	Cacci et al., 2005; Peng et al., 2008; Keohane et al., 2010
IL-1 β	Neuroinflammation	Up-regulated	Decreases proliferation and induces astroglialogenesis	Goshen et al., 2008; Koo and Duman, 2008; Spulber et al., 2008; Wu et al., 2012; Lee et al., 2014
Prostaglandin E2	Neuroinflammation	Up-regulated	Decreases number of TAPCs	Keene et al., 2009
NO	Neuroinflammation	Up-regulated	Decreases proliferation	Packer et al., 2003; Zhu et al., 2006
VEGF	Running	Up-regulated	Induces proliferation	Jin et al., 2002; Fabel et al., 2003
IGF-1	Running	Up-regulated	Induces proliferation	Carro et al., 2000; Trejo et al., 2001; Butovsky et al., 2006; Kohman et al., 2012
BDNF	Running	Up-regulated	Induces proliferation	Johnson and Mitchell, 2003; Adlard et al., 2005; Littlefield et al., 2015
BMP	Running	Down-regulated	Promotes proliferation	Gobeske et al., 2009
Wnt	Running	Up-regulated	Promotes proliferation and neuronal differentiation	Jang et al., 2013
Serotonin	Running	Up-regulated	Induces proliferation	Klempin et al., 2013

The table includes results from *in vivo* and *in vitro* essays.

they undergo a neurogenic asymmetric cell division that gives rise to another ANSC that returns to a quiescent state and a highly proliferative TAPC (Bonaguidi et al., 2011). Newly generated neurons are only glutamatergic (Zhao et al., 2008; Ming and Song, 2011), while newly born astrocytes tend to extend horizontally in the direction of the SGZ, exhibit a bushy morphology, and express GFAP, a specific calcium binding protein S100 β and aldehyde dehydrogenase 1 family member L1 (ALDH1L1) (Steiner et al., 2004; Suh et al., 2007; Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011).

In the adult SGZ, ANSC fate-choice to a neuronal or astroglial lineage is controversial. While the results of fate mapping analysis of proliferative cells using BrdU or retroviruses reveal that neurogenesis is 10 times more frequent than gliogenesis (van Praag et al., 2002; Steiner et al., 2004; Suh et al., 2007), the results of clonal assays suggest similar frequencies to neuronal and astroglial fate-choice (Bonaguidi et al., 2011). A possible explanation for this disparity is that even though both processes start from the same ANSC, they diverge early: during the neurogenic process, TAPCs exhibit several rounds of cell division, whereas during the astrogenic process, the new astrocyte becomes quiescent (Bonaguidi et al., 2011). How this cell fate decision is controlled remains unclear; however, the interaction between the ANSC and their niche is determining.

TAPC proliferation and neuronal lineage commitment

As mentioned above, a neurogenic asymmetric cell division yields TAPCs, also known as type 2 cells. These cells are small, with their cell body in the SGZ, with a short tangential process, and are often found in clusters (Palmer et al., 2000; Seri et al., 2004; Seki et al., 2007; Suh et al., 2007). Type 2 cells exhibit limited self-renewal with multiple rounds of symmetric divisions before giving rise to neuroblasts (Kronenberg et al., 2003; Encinas et al., 2006, 2011; Steiner et al., 2006; Bonaguidi et al., 2011). The selective apoptotic death of a large proportion of TAPCs within their first days of life has been proposed as a regulatory mechanism of adult hippocampal neurogenesis (Sierra et al., 2010). Type 2 cells express *Ascl1*, which promotes their proliferation and differentiation into neurons (Kim et al., 2007; Ables et al., 2010).

Type 2 cells still express Nestin, Sox2, and BLBP but lack the characteristic radial morphology, which may represent an earlier state of TAPCs (type 2a). Neuronal fate

determination involves a down-regulation of transcriptional programs that maintain ANSC identity, multipotency, and proliferation capacities as well as the initiation of a neuron-specific transcriptional profile (Beckervordersandforth et al., 2016).

In the adult SGZ, Pax 6 is expressed in type 1 cells and persists transiently into type 2a cells (Maekawa et al., 2005; Nacher et al., 2005). The up-regulation of the bHLH transcription factor Neurogenin2 (Neurog2) and T-box brain gene 2 transcription factor (Tbr2) begins in type 2a cells (Ozen et al., 2007; Hodge et al., 2008). Tbr2 is primarily restricted to type 2 progenitor cells with a weak expression in type 1 and a progressively down-regulation in type 3 cells (Hodge et al., 2008). Tbr2 is a key factor for progression toward a neuronal fate. Conditional ablation of *Tbr2* inhibits the transition from 2a progenitor cells to type 2b cells (Hodge et al., 2012b), resulting in decreased adult hippocampal neurogenesis. Tbr2 was suggested to counteract Sox2-mediated inhibition of differentiation by directly repressing Sox2 expression (Hodge et al., 2012a,b).

Lineage commitment markers, such as transcription factors NeuroD1 and Prospero Homeobox 1 (Prox1), microtubule associated-protein doublecortin (DCX), and polysialyl neural cell adhesion molecule (PSA-NCAM), among others, appear in a later stage of maturation indicating a neuronal phenotype (type 2b) (Filippov et al., 2003; Kempermann et al., 2004; Rao and Shetty, 2004; Seri et al., 2004). Simultaneous expression of NeuroD1, DCX, and Prox1 is initiated in type 2b cells (Steiner et al., 2006; Hodge et al., 2008; Gao et al., 2009; Kuwabara et al., 2009; Lavado et al., 2010). Conditional deletion of *NeuroD1* in ANSCs results in a decrease in granule neuron numbers, indicating an essential role of NeuroD1 in the differentiation, survival, and maturation of new born neurons (Gao et al., 2009). Conditional ablation of *Prox1* reduces granule cell generation. Thus, Prox1 is necessary for both survival of type 2b cells and neuronal differentiation (Lavado et al., 2010; Karalay et al., 2011).

Wnt signaling can directly induce neurogenic genes such as Neurog2, NeuroD1, and Prox1 in type 2 cells, which are also essential transcription factors to neuronal differentiation (Gao et al., 2009; Kuwabara et al., 2009; Karalay et al., 2011). Wnt signaling removes Sox2 repression from the *NeuroD1* promoter (Kuwabara et al., 2009). Given that the *DCX* promoter has a NeuroD1 binding site, it is suggested that NeuroD1 induces DCX expression, thus defining the beginning of 2b type cells (Steiner et al., 2008). The sequence of Pax6 > Neurog2 > Tbr2 > NeuroD1 > Prox1 transcription factors drives the differentiation of TAPCs into glutamatergic granule neurons in the adult SGZ. Interestingly, this cascade closely resembles some aspects

of neurogenesis in the developing brain, thus suggesting a conserved genetic program in glutamatergic neurogenesis (Nacher et al., 2005; Hevner et al., 2006; Hodge et al., 2008, 2012a).

Type 2b cells give rise to migratory neuroblasts or type 3 cells. Neuroblasts have low proliferative activity, migrate tangentially along the SGZ, exit the cell cycle, and differentiate into immature neurons. New neurons have a transient expression of Calretinin (Brandt et al., 2003) and migrate radially short distances into the GCL to enter a maturation phase through the growth of axons and dendrites that establish functional connections and integrate into the existing circuitry of the hippocampus (Figure 1A) (Aimone et al., 2014; Bond et al., 2015). It is well accepted that adult-born integrated neurons play a role in some types of learning and memory. This topic is beyond the scope of this work; therefore, the reader is referred to recent comprehensive reviews on the latest neurogenic stages and the role of new neurons on behavior (Toni and Schinder, 2015; Gonçalves et al., 2016).

Although neuroinflammation and running influence several stages of adult hippocampal neurogenesis in this review, we will only focus on the activation of quiescent ANSC, their fate-choice, and the behavior of the proliferating progenitor cells. It is worth mentioning that both inflammation and running have opposite effects in proliferation as well as in behavior, the first being detrimental for memory and the latter promoting it (van Praag et al., 1999; Sahay et al., 2011; Belarbi et al., 2012; Valero et al., 2014; Ryan and Nolan, 2016; Saraulli et al., 2017).

The DG milieu in the neurogenic process

A multicellular neurogenic niche regulates the complex sequence of activation, proliferation, and differentiation steps of ANSCs. The SGZ niche includes the ANSCs themselves, their immediate progeny, granule neurons, local interneurons, endothelial cells, astrocytes, and microglia. These multiple cell types contribute to the signaling milieu, which permit and support that the neurogenic process occurs in a controlled way constitutively but also during physical exercise and neuroinflammation.

In the SGZ, local astrocytes play a key role in neurogenesis through both cell-to-cell contacts and through the release of soluble factors. Astrocytic cell surface ligands, ephrins, have been identified to play a role in regulating neurogenesis through cell-to-cell contact. Specifically, ephrin-B2 promotes neuronal differentiation of ANSCs by

activating β -catenin signaling (Ashton et al., 2012). Hippocampal astrocytes induce an increase in cell proliferation and also promote neuronal differentiation in coculture experiments through both soluble and membrane-bound factors (Song et al., 2002; Barkho et al., 2006).

Microglia are the resident immune cells of the brain. Under normal conditions, resting microglia display small cell bodies and a ramified morphology with dynamic processes that are constantly in motion, surveying their local microenvironment for signals of homeostasis disruption and communicating with cells such as astrocytes, neurons, and endothelial cells (Nimmerjahn et al., 2005). Unchallenged microglia rapidly phagocytose apoptotic bodies of TAPCs in the SGZ, and these scavenging properties regulate early stages of neurogenesis (Sierra et al., 2010). Moreover, the neuronal transmembrane chemokine fractalkine and its microglia-expressed receptor, CX3CR1, regulate adult hippocampal neurogenesis. CX3CR1-deficient mice, which have disrupted fractalkine signaling, exhibit both cell proliferation and survival decrease of neural precursor cells (Bachstetter et al., 2011) (Figure 1B).

Extrinsic factors remodel cellular and molecular niche components, which in turn modify the proliferative behavior of neural precursor cells. It is now clear that molecular signals are key factors in cell fate given that they trigger gene expression. The molecular profile may vary within the same niche, and different types of extrinsic factors dynamically modulate adult hippocampal neurogenesis either with detrimental or beneficial effects, such as neuroinflammation and physical exercise, respectively.

Neuroinflammation decreases proliferation and neuronal differentiation capacities

Neuroinflammation is a complex cellular and molecular response to brain pathology, injury, or exposure to pathogens in attempt to defend it against insults, clear dead and damaged cells, and return brain into a normal state. The inflammatory response is primarily driven by the activation of resident microglia and local invasion of circulating immune cells, endothelial cells and astrocytes, which produce a plethora of immune mediators, proinflammatory and anti-inflammatory cytokines, chemokines, prostaglandins, oxidative stress mediators, and neurotransmitters. These soluble mediators build up, maintain, or resolve the inflammatory state. The inflammatory

environment may influence the temporal and spatial relationship between ANSCs and their niche and thus alter self-renewal, proliferation, differentiation, survival, and migration of neural precursor cells as well as functional properties and synaptic connectivity of the new neurons (Monje et al., 2003; Carpentier and Palmer, 2009; Whitney et al., 2010; Russo et al., 2011b; Borsini et al., 2015; Ryan and Nolan, 2016) (Figure 2A).

A mechanistic pathway for sustained neuroinflammation involves the activation and priming of microglial cells. It is well accepted as a general concept that inflammation, triggered by either acute infection or chronic disease, amplifies microglial responses that exacerbate neurodegenerative processes, so an important underlying mechanism for impaired neurogenesis relies on such local brain inflammatory reaction. Microglia respond to pathogen-associated or damage-associated molecules and acquire a reactive profile with morphological and functional changes. These activated microglia display enlarged cell somas with fewer and shorter processes with less arborization and release cardinal pro-inflammatory cytokines such as IL-6, TNF- α , and IL-1 β , as well as products of COX-1, iNOS, and NADPH oxidase, or release anti-inflammatory cytokines such as IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β , CD200, arginase-1, and growth factors such as IGF-1 and BDNF (Butovsky et al., 2006; Carpentier and Palmer, 2009; Whitney et al., 2010; Russo et al., 2011b; Belarbi and Rosi, 2013; Borsini et al., 2015; Ryan and Nolan, 2016). Nonetheless, activation of microglia triggers a heterogeneous response of individual subpopulations in the brain. For instance, synthesis of TNF- α is restricted to a subset of microglial cells, whereas a different subpopulation might respond with an INF γ -enforced up-regulation of MHCII surface proteins (Scheffel et al., 2012). This is important because the concerted response does not occur all at once, but rather as the collection of individually acting cell subpopulations, which might have different profiles for the production of soluble mediators of inflammation, similar to what happens with clonal macrophages (Ravasi et al., 2002), that ultimately affect adult hippocampal neurogenesis (Figure 2B).

It is worth mentioning that under physiological circumstances, microglia-dependent production of cytokines is under balance and that the constant production of these mediators is indispensable to maintain proper development, physiology, and homeostatic function of the CNS (Williams et al., 2014). In this regard, there is a fundamental difference between adult and developmental neurogenesis, in which activated microglia seems to regulate normal embryonic neurogenesis by phagocytosis and by the secretion of regulating molecules like NO

and inflammatory cytokines, mechanisms that otherwise would be detrimental for adult neurogenesis (Fan and Pang, 2017). Furthermore, microglia-driven apoptosis during hippocampal development is important to shape up neuronal circuits and regulate neuronal numbers in a process that resembles the elimination of pathogenic cells by the innate immune system (Wakselman et al., 2008). Similar processes occur during cortical development (Cunningham et al., 2013).

Soluble factors released by classically activated microglia, astrocytes and other immune cells, significantly affect ANSCs behavior. Type 1 cells express functional immune-like molecules, such as cell adhesion molecules, cytokines, and chemokines receptors and Toll-like receptors (TLRs) that allow them to respond to the inflamed brain (Monje et al., 2003; Iosif et al., 2006; Rolls et al., 2007; Koo and Duman, 2008; Wu et al., 2012; Chen and Palmer, 2013). *In vitro*, LPS decreases the proliferation of ANSCs via NF κ b mechanisms, and the absence of TLR4 results in enhanced neurogenesis by modulation of self-renewal and cell fate decision of ANSCs (Rolls et al., 2007).

A long-used model for inducing neuroinflammation *in vivo* has been the administration, either systemic or local, of bacterial endotoxin lipopolysaccharide (LPS) in rodents. The acute detrimental effect of inflammation in neurogenesis has been tested by peripheral (Monje et al., 2003) or central (Ek Dahl et al., 2003) LPS administration. LPS-activated microglia is localized in close proximity to the newly formed cells with a negative correlation between the number of activated microglia in the SGZ and the number of surviving new hippocampal neurons (Ek Dahl et al., 2003). Proinflammatory cytokines like IL-6, TNF- α , and IL-1 β , acutely released by LPS-activated microglia, have been suggested as important mediators of the detrimental effects of inflammation in neurogenesis. *In vitro* studies demonstrate that coculture of ANSCs with acutely activated microglia, with LPS treatment, or with conditioned media, decreases neuronal differentiation while increasing glial differentiation (Monje et al., 2003; Cacci et al., 2005). Studies with more complex models than LPS injections have also shown that bacterial infection to the central nervous system causing meningitis also impairs neurogenesis to the extent of affecting the self-propagation of neural precursor cells (Hofer et al., 2011).

To date, the molecular mechanistic ways in which neurogenesis is disrupted by inflammatory processes are not fully understood, but multiple players have been shown to interfere in different steps such as proliferation, differentiation, migration, and maturation of new cells in the adult brain. As previously mentioned, IL-1 β , IL-6, and TNF- α , the main proinflammatory cytokines produced

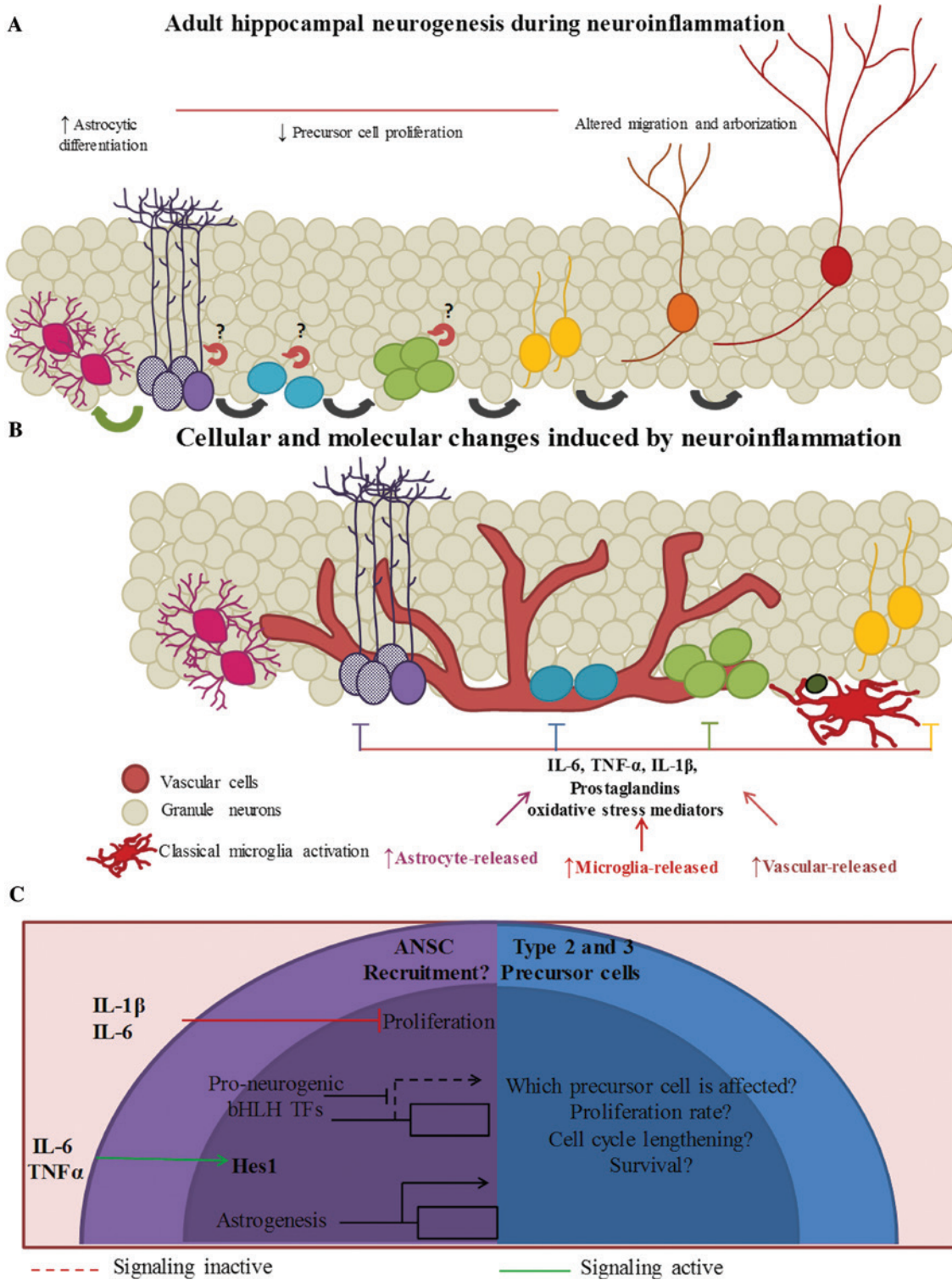


Figure 2: Regulation of adult hippocampal neurogenesis by neuroinflammation.

(A) Schematic diagram depicting how the proliferative behavior of neural precursor cells changes in a proinflammatory microenvironment. Red curved arrows depict the decrease in proliferation. It is unknown which type of cell is particularly affected and if the apoptotic rate changes. Green curved arrow shows an increased differentiation towards an astrocytic lineage. (B) Schematic illustration depicting how neuroinflammation remodels the relationship between neural precursor cells and the cellular and molecular components of the niche. Arrows indicate the cellular type upon which different molecules impact. (C) Signals and transcription factors that underlie proliferation cell decrease and the increase toward an astrogenic fate (purple shade); possible scenarios for explaining the neurogenic decrease (blue shade). See text for details.

by activated microglia down-regulate these processes, whereas $\text{INF}\gamma$ and anti-inflammatory cytokines have been found to promote it. LPS induces the synthesis of IL-1 β , IL-6, and TNF- α but no $\text{INF}\gamma$ (Hashimoto et al., 2003). In an inflammatory loop, IL-1 β and TNF- α can promote the expression of inflammatory mediators such as IL-8 and CXCL10 in neural precursor cells even when they become differentiated (Pugazhenthii et al., 2013). Indirect indications that these cytokines suppress neurogenesis come from modulators that reduce their expression and promote hippocampal neurogenesis in a setting of LPS-induced inflammation (Clarke et al., 2017). So, in the end, the collective profile of inflammatory mediators and the source of inflammation would dictate the effect that neuroinflammation has on adult hippocampal neurogenesis.

Since the original descriptions on the effect of LPS on neurogenesis by Monje and collaborators, TNF- α , a pleiotropic proinflammatory cytokine, was identified as a mediator of the inhibition of the proliferation of these cells. TNF- α was shown to play a detrimental role in neural differentiation and to decrease neurogenesis when added to ANSC cultures (Monje et al., 2003). This cytokine, however, has been reported to have both proneurogenic and antineurogenic properties. TNF- α -dependent activation of TNFR1, a receptor expressed in hippocampal precursors, has a limitative effect on the baseline proliferation of neuronal precursor cells in the adult brain, as well as of the increased proliferation of ANSCs that occurs following disturbances of brain homeostasis such as status epilepticus (Iosif et al., 2006).

The mechanism for TNF- α -altered neurogenesis might involve as well an impaired neuronal differentiation, without affecting the proliferation of neural precursors, through an increased activity of the transcription factor Hes1 (Keohane et al., 2010). TNF- α -induced suppression of neurogenesis might constitute a mechanism that preserves brain integrity through the restraint of aberrant neurogenesis, for instance, the one that occurs following epileptic seizures with the consequent degeneration of brain cells. This has been reported to occur through the activation of TLR9 in microglia recognizing self-DNA as damage-associated molecules and the consequent synthesis and release of TNF- α (Matsuda et al., 2015).

The elevation in brain of IL-1 β levels through inflammatory stimuli, exogenous administration or over expression, significantly decreases cell proliferation both *in vivo* and *in vitro* (Goshen et al., 2008; Koo and Duman, 2008; Spulber et al., 2008; Wu et al., 2012). This negative effect is prevented by deletion of the IL-1 β receptor type I (Goshen et al., 2008; Wu et al., 2012), by brain-directed overexpression of IL-1 receptor antagonist (Spulber et al., 2008) or

IL-1 receptor antagonist coincubation (Koo and Duman, 2008). Furthermore, under sustained IL-1 β overexpression, newborn cells in the SGZ fail to develop into neurons and instead become astroglia (Wu et al., 2012).

IL-1 β suppresses neurogenesis through the inhibition of neural precursor cell proliferation via activation of IL-1R, rather than promoting precursor cell death (Koo and Duman, 2008). The IL-1 β -induced cell cycle arrest is mediated by the tumor suppressor p53 through an oxidative-stress dependent mechanism that triggers the activation of p21, a cyclin-dependent kinase inhibitor (Guadagno et al., 2015), but this might not be the only mechanism. Experiments in ANSCs with a conditional depletion of MyD88, an adapter protein essential for IL-1 β signaling, have shown that IL-1 β -induced reduction of neuroblasts still occurs, although there is an increase in the number of differentiated astrocytes upon IL-1 β stimulation, suggesting that this signaling mechanism participates in limiting the astroglial proliferation during inflammation (Wu et al., 2013). GSK-3 β is also a key component of this regulatory signaling, since its inhibition is able to restore the IL-1 β -induced decrease in precursor cell proliferation and neuronal differentiation (Green and Nolan, 2012). The effects of this cytokine on reducing neurogenesis can occur at any time point during the lifespan. Interestingly, the activity of IL-1 β is prone to be modulated by external stimuli. Global transcriptome profiling has revealed that IL-1 β as well as other proinflammatory cytokines such as TNF- α are down-regulated during intense exercise, thus promoting neurogenesis (Lee et al., 2014), although this stimulus might be limited in its ability to do so when chronic IL-1 β stimulation exists (Wu et al., 2012).

Neurogenesis is significantly reduced by IL-6. In an adult transgenic mouse model with chronic astroglial production of IL-6, it was shown that a substantial reduction occurs (Vallieres et al., 2002) in the proliferation, survival, and differentiation rate of neural precursor cells, while conditioned media from LPS-activated microglia decreases neuronal differentiation, which is prevented by an IL-6-blocking antibody (Monje et al., 2003; Nakanishi et al., 2007). Mechanistically, IL-6 increases the number of neural precursor cells expressing p21, leading to a proliferation halt; thus, IL-6 is a key regulator of the p21-mediated control over hippocampal neuronal differentiation under neuroinflammation (Zonis et al., 2013). Also, IL-6 impairs hippocampal neurogenesis by directly activating the soluble IL-6Ra receptor, rather than the classical membrane bound IL-6R α (Campbell et al., 2014). On the other hand, suppression of IL-6 in mice that lack the expression of Axl and MERTK TAM receptors, involved in homeostatic regulation of cytokine receptors and TLRs, abolishes the

inflammatory inhibition of neurogenesis, pointing out to this type of receptors as important regulators of the neurogenic control that IL-6 exerts (Ji et al., 2013). IL-6 also shifts differentiation toward astrogliogenesis, as evidenced by the regulatory activity of miR-155, a robust inducer of IL-6 production in LPS-activated microglia, when cocultured with ANSCs (Woodbury et al., 2015).

COX-1 is involved in the neuroinflammatory response to LPS injection. Ablation or pharmacological inhibition of COX-1 significantly reduces microglial activation, release of proinflammatory and oxidative stress mediators, as well as blood-brain barrier disruption and recruitment of peripheral immune cells (Choi et al., 2008). COX-1 impairs adult hippocampal neurogenesis following LPS-induced inflammation. LPS reduces proliferation, differentiation, and survival of ANSCs, and this effect is prevented by COX-1 deficiency, indicating an important role for COX-1 in propagating the inflammatory response and modulating the neurogenic niche (Russo et al., 2011a). COX-1-derived prostaglandin E2 after LPS-induced inflammation leads to the decrease in TAPCs, and these cells express prostaglandin E1 (EP1) receptor. Interestingly, deletion of *EPI* protects type 2 cells from prostaglandin E2-mediated toxicity (Keene et al., 2009).

Finally, reactive oxygen species produced after inflammation also have an impact on neurogenesis. NOS-derived nitric oxide acts as an important negative regulator of cell proliferation suppressing neurogenesis in the adult SGZ. The number of new cells generated increases when NO production is suppressed by both a NO synthase inhibitor or deletion of neuronal NO synthase (Packer et al., 2003; Zhu et al., 2006) (Table 1).

Is glial fate-choice favored in adult hippocampal SGZ during LPS-induced neuroinflammation?

In the adult SGZ, neuronal and astroglial lineages are generated under physiological conditions. Interestingly, new neurons are generated at a higher rate as that of new astrocytes (Suh et al., 2007; Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011). The origin of new astrocytes has been explained as being a separate differentiation path from neurogenesis (Bonaguidi et al., 2011) and as an end product of neuronal differentiation (Encinas et al., 2011).

Several processes directing cell fate decision can be modulated during neuroinflammatory conditions. High levels of IL-6, TNF- α , and IL-1 β promote astrocytic

differentiation by activating the JAK/STAT3 signaling. Signaling via glycoprotein 130 (gp130), the coreceptor of the IL-6 receptor on neural precursor cells stimulates Notch1 signaling, which increases the expression of the transcription factor Hes1 (Chojnacki et al., 2003). ANSCs cultured with LPS-activated microglia conditioned medium or IL-6 lead to an increase in Hes1, consistent with the reduction in neuronal cell fate (Monje et al., 2003). Besides, treatment of neural precursor cells with TNF- α induces astrogliogenesis and inhibits neurogenesis indirectly via the JAK-STAT3 pathway through the induction of members of the IL-6 cytokine family that decrease the proneural bHLH transcription factor *Ascl1* while increasing Hes1 (Peng et al., 2008; Keohane et al., 2010). Hes1 negatively regulates proneural bHLH transcription factors and represses the commitment of precursor cells to a neuronal fate (Nakamura et al., 2000). Thus, IL-6 and TNF- α may exert antineurogenic effects by increasing the expression of Hes1, which may direct astrogenesis (Figure 2C).

Taken together, these results indicate that neuroinflammation alters cellular and molecular niche components with the consequent modulation of adult hippocampal neurogenesis. Importantly, the combination of factors secreted into the local microenvironment, the balance of proinflammatory and anti-inflammatory signaling, and the timing are critical to the net effect on adult hippocampal neurogenesis.

Running increases the proliferation of precursor cells through different mechanisms

Physical exercise, such as wheel running, has been long known to promote adult hippocampal neurogenesis. Wheel running strongly increases precursor cell proliferation by expanding the neural precursor cell pool that is available for further neuronal maturation in the DG of rodents (van Praag et al., 1999; Fabel et al., 2003; Kronenberg et al., 2003; Steiner et al., 2008). However, the mechanisms directly linking physical exercise with the strong increase in the proliferative phase of adult hippocampal neurogenesis are still unknown (Figure 3A).

Circulating factors can be involved in exercise-induced neurogenesis. But running is also accompanied by a specific increase in cerebral blood flow (Pereira et al., 2007), as well as in the area covered by blood vessels (van Praag, 2005) and density of blood vessels (Clark et al., 2009) in the DG. Endothelial cells secrete soluble factors such as

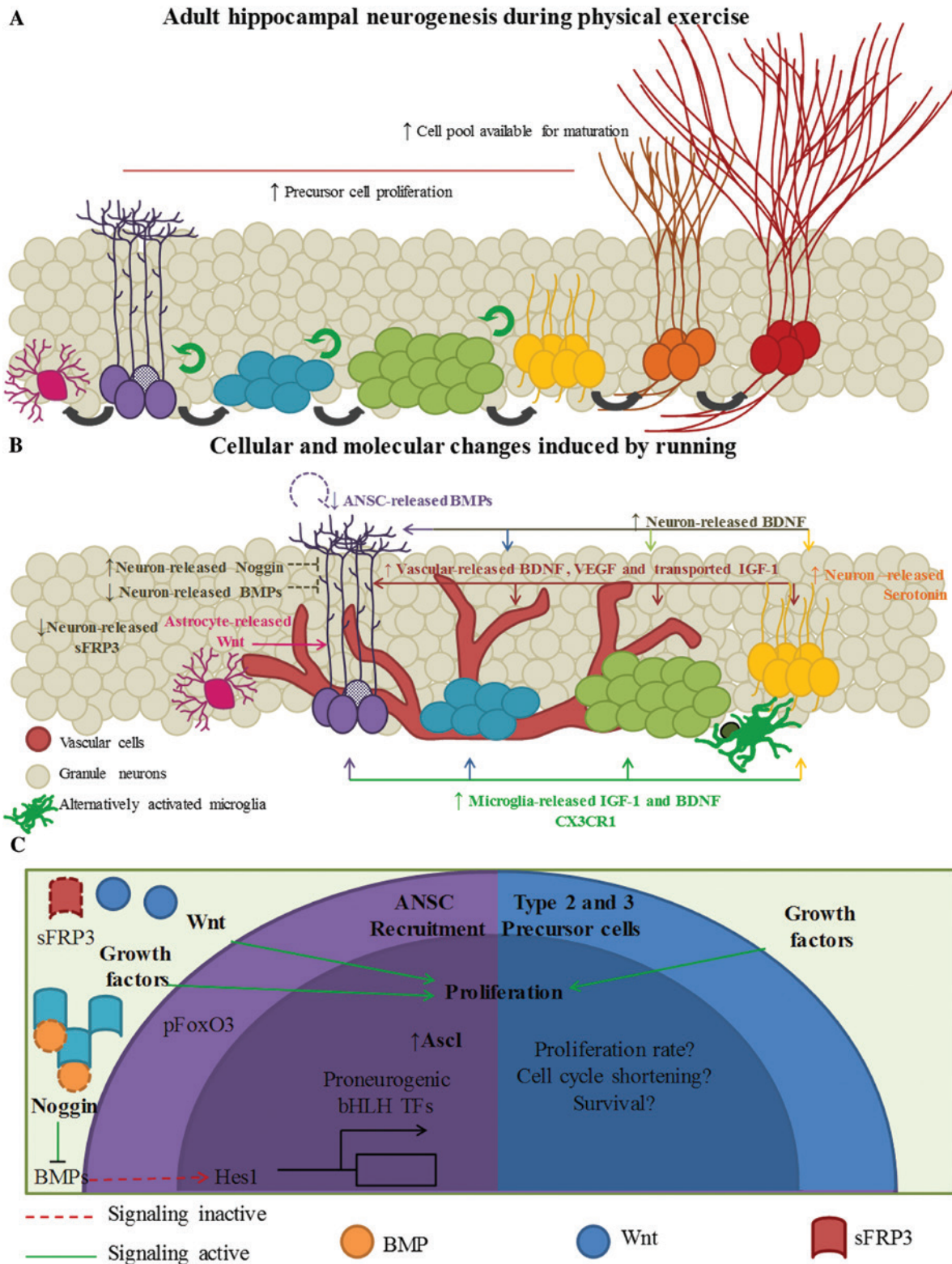


Figure 3: Running-regulated neurogenesis in the adult hippocampus. (A) A schematic diagram depicting how neural precursor cells proliferative-behavior changes in a proneurogenic microenvironment. Green curved arrows depict the increase in proliferation. (B) Schematic illustration depicting how running remodels the relationship between neural precursor cells and the cellular and molecular components of the niche. Arrows indicate the cellular type upon which different molecules impact. (C) Signals and transcription factors that promote activation and proliferation of neural precursor cells (purple shade); possible scenarios for explaining the neurogenic increase (blue shade). See text for details.

leukemia inhibitory factor, BDNF, and VEGF that promote neurogenesis. Additionally, blood vessels transport paracrine factors, such as sex hormones, glucocorticoids, cytokines, and IGF-1, from distant sources (Riquelme et al., 2008; Goldman and Chen, 2011). These cells provide instructive cues to ANSC proliferation, differentiation, and survival (Palmer et al., 2000). Type 1 cells have vascular end-feet, type 2 cells can be found in clusters closely associated with blood vessels, and also, astrocytes are tightly linked physically with endothelial cells, covering their end-feet around blood vessels (Palmer et al., 2000; Filippov et al., 2003; Gebara et al., 2016; Moss et al., 2016) (Figure 3B).

VEGF, which is derived from blood vessels, is a potent regulator of adult hippocampal neurogenesis (Jin et al., 2002; Schanzer et al., 2004) and has been shown to be up-regulated after running (Jin et al., 2002; Fabel et al., 2003). VEGF and its receptors are expressed in ANSCs, neurons, as well as in glial cells (Cao et al., 2004), and its effects may be primarily mediated through Flk-1 (VEGFR2), which is robustly expressed in the SGZ, and colocalizes with new cells (Jin et al., 2002; Cao et al., 2004).

Other growth factors such as IGF-1 (Carro et al., 2000; Trejo et al., 2001) and BDNF (Johnson and Mitchell, 2003; Adlard et al., 2005) are also up-regulated following running and their increase in the periphery are necessary for enhancing precursor cell proliferation and for physical exercise-dependent neurogenesis to occur (Carro et al., 2000; Trejo et al., 2001). IGF-1 signaling-mediated neurogenesis in the SGZ occurs via an AKT-dependent mechanism (Trejo et al., 2001; Bracko et al., 2012), while BDNF regulates hippocampal neurogenesis (Palmer et al., 1997) through its high-affinity receptor TrkB that is expressed in ANSCs and TAPCs (Li et al., 2008). BDNF is highly localized in the granule neurons of the DG (Kato-Semba et al., 1997), while hippocampal astrocytes produce low BDNF levels (Rudge et al., 1992). BDNF administration to the DG leads to increased neurogenesis (Scharfman et al., 2005; Griffin et al., 2009), while TrkB deletion prevents it (Bergami et al., 2008; Li et al., 2008).

In addition, neurotransmitters and brain-derived growth factors are also positively regulated by physical exercise. Serotonin is up-regulated following running and is involved in the exercise-induced increase neurogenesis as shown by tryptophan-hydroxylase-2-deficient mice that lack brain serotonin and fail to exhibit the proneurogenic effect of running (Klempin et al., 2013).

Microglia has a direct regulatory effect on voluntary exercise-induced cell proliferation: running increases the amount of microglia expressing IGF-1, which suggests that exercise induces a neuroprotective microglia phenotype

(Kohman et al., 2012). In agreement, depletion of microglia from hippocampal neurosphere cultures prevents the positive effects of voluntary exercise (Vukovic et al., 2012). Furthermore, microglia activated by low levels of IFN- γ or by IL-4 have also been reported to increase neurogenesis through the proliferation of neural precursor cells (Baron et al., 2008), an event mediated by IGF-1 release (Butovsky et al., 2006).

Interestingly, physical exercise exhibits beneficial effects on neurogenesis during inflammation. Treadmill exercise has been shown to counteract the suppressive effects of peripheral LPS on hippocampal neurogenesis and improve learning and memory processes (Wu et al., 2007). Besides, wheel running attenuates LPS-induced reductions in neurogenesis and increases the proportion of microglia that express BDNF, a proneurogenic phenotype, in aged mice (Littlefield et al., 2015). Physical exercise rescues neurogenesis by reducing proinflammatory conditions (Lee et al., 2014) and by increasing growth factor levels (Cotman et al., 2007). Taken together, these findings suggest that physical exercise promotes neurogenesis through growth factor signaling in the brain. For instance, alternatively activated microglia have been shown to be involved in the beneficial running effect through the release of growth factors such as IGF-1 and BDNF. This in turn emphasizes the fact that the microglial profile is constantly modulated and may exert detrimental or beneficial roles in the adult hippocampal neurogenic process (Table 1).

Does physical exercise promote cell proliferation or neuronal fate decision?

Cellular components and molecular factors induced by running converge and lead to precursor cell proliferation enhancement (Kronenberg et al., 2003; Steiner et al., 2004; Hodge et al., 2008; Lugert et al., 2010; Kempermann et al., 2015). Different populations of precursor cells are involved in the proliferative phase of adult hippocampal neurogenesis, including type 1, type 2, and type 3 cells all of which may have different responsiveness to running, different cell cycle dynamics and different physiological attributes (Kronenberg et al., 2003; Steiner et al., 2008; Lugert et al., 2010; Brandt et al., 2012; Farioli-Vecchioli et al., 2014; Fischer et al., 2014). Several mechanisms have been proposed for neurogenic increase rise, including ANSC recruitment, increase of proliferation by cell cycle

shortening, and increase in the survival rate of proliferating cells (Overall et al., 2016).

The short-term and long-term effects of running in adult hippocampal neurogenesis could be different. Acute wheel running paradigms promote an increase of activated type 1 cells rather than an increase in number of cells, thus suggesting that running recruits quiescent ANSCs rather than expanding the pool through symmetric division (Lugert et al., 2010; Gebara et al., 2016). However, long-term running fails to induce an increase of activated ANSCs (Kronenberg et al., 2003; Steiner et al., 2008). Physical exercise could promote ANSC activation through down-regulation of cell signaling pathways that keep type 1 cells in a quiescent state. BMP signaling negatively regulates adult hippocampal neurogenesis by promoting quiescence. Running increases Noggin expression and decreases Bmp4 expression in hippocampal tissue, while overexpression of BMP4 prevents the running-dependent increase cell proliferation. Consequently, the resulting blockade of BMP signaling is crucial for the effects of exercise on neurogenesis (Gobeske et al., 2009). Another candidate for the voluntary running-induced increase of neurogenesis is the Wnt signaling inhibitor sFRP3. Running activates dentate granule neurons and decreases sFRP3 levels. This effect may be involved in the increase of cell proliferation (Jang et al., 2013). In addition, IGF-1/Akt signaling inactivates the transcription factor FoxO3 through phosphorylation and nuclear exclusion. FoxO3 is expressed by ANSCs and is required to maintain their quiescence. Thus, IGF/Akt signaling might stimulate ANSC proliferation by inactivating the quiescence factor FoxO3 (Renault et al., 2009).

On the other hand, the expansion phase during adult hippocampal neurogenesis largely depends on type 2 cells that are highly responsive to wheel running (Kronenberg et al., 2003; Hodge et al., 2008). Running increases the size (the number of type 2 cells) and number of cell clusters in the SGZ (Hodge et al., 2008), suggesting that clustering facilitates intercellular contacts and signals that promote proliferation (Seri et al., 2004; Seki et al., 2007). Cell cycle shortening is another mechanism proposed to explain running-dependent proliferation. Seemingly conflicting results regarding short-term running have been reported. Short-term running has not been shown to induce a decrease in the cell cycle duration of precursor cells (Fischer et al., 2014). However, it has been shown that at the end of short-term running, there is a decrease in the cell cycle length of type 2 and 3 cells (Farioli-Vecchioli et al., 2014). These two works analyzed different time windows (5 vs. 12 days after exercise), possibly accounting for the difference in the observations. Other interesting

hypotheses are that running also increases the number of cell divisions, which could be different for each precursor cell type (Brandt et al., 2010; Overall et al., 2016), and that the increase in the number of proliferating precursor cells could be the result of survival enhancement (Overall et al., 2016).

Taken together, proliferation boost could be a summary effect of the recruitment of ANSCs, the cell cycle shortening of proliferating type 2 and 3 cells, and an increase in new cell survival, emphasizing that different precursor cells are regulated differentially (Figure 3C).

Summary

DG ANSC proliferative behavior greatly depends on the surrounding milieu; molecular signals promote their maintenance in a quiescent state or their activation. As depicted in Figures 1–3, there are important differences between physiological conditions and running or neuroinflammation. It is important to mention that not all signaling pathways known to regulate adult hippocampal neurogenesis in physiological conditions have been characterized for the compared conditions.

The molecular milieu impacts all stages of adult hippocampal neurogenesis: from the differentiation of ANSCs to a neuronal or astroglial lineage, to the proliferation of type 1, 2a, and 2b cells, the differentiation from type 3 to immature neurons, and the proper migration and arborization of mature neurons (Figures 1A, 2A, and 3A).

In physiological conditions, the proliferation rate is mainly maintained via GABA, Jagged, BMPs, Wnt, and growth factors' signaling pathways (Figure 1B). During neuroinflammation, there is a considerable increase in proinflammatory cytokine levels released by microglia, astrocytes, and blood vessels. This in turn dictates a reduction in the proliferation rate as well as modifications in the lineage fate of ANSC-derived cells (Figure 2B). In contrast, during physical exercise, levels of molecules released by neurons, which maintain quiescence of ANSCs, tend to decrease while there is a considerable increase of growth factors released by neurons, microglia, and blood vessels that promote proliferation (Figure 3B).

It is not thoroughly known how the molecular profile and signaling pathways that have been documented to regulate neurogenesis in physiological conditions change during neuroinflammation (Figures 1C, 2C). Even when some transcription factors have been shown to play key roles in proliferation and fate decision (Figures 1C, 2C, 3C,

purple shade) it has not been exhaustively described which are the affected neural precursor cells and underlying events leading to adult hippocampal neurogenesis decrease or increase rates in neuroinflammation and running conditions, respectively (Figures 2C and 3C, blue shade).

Concluding remarks and future directions

New glutamatergic granule neurons are continuously generated from adult hippocampal neural stem cells. Adult hippocampal neurogenesis is a dynamic process regulated by niche-derived signals, which permits and supports that the neurogenic process occurs in a controlled rate and timing. The role of the cellular and molecular components within the niche changes depending of extrinsic factors and appear to affect cells at different stages of adult hippocampal neurogenesis. Neuroinflammation decreases cell proliferation and neuronal differentiation capacities, while physical exercise increases cell proliferation potential, which ultimately impact on behavior. Exacerbated proliferation after running depends on neural progenitor cells, but the type of neural precursor cell affected during neuroinflammation remains to be unveiled. Other possible scenarios for neurogenic decrease in neuroinflammation include a prevalence for astrogenic asymmetric division over a neurogenic one or a reduced ANSC activation or cell cycle lengthening with the consequent precocious cell cycle exit among other mechanisms. Neural precursor cell behavior in response to running has been studied in detail, but further work will be needed to gain insights into the proliferative behavior of neural precursor cells in neuroinflammatory conditions.

Acknowledgments: M.P.D. is supported by a Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACyT scholarship; A.Z. is supported by Dirección General del Personal Académico-Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, DGAPA PAPIIT IN203015; L.B.T. is supported by DGAPA PAPIIT IA201315.

References

Ables, J.L., DeCarolis, N.A., Johnson, M.A., Rivera, P.D., Gao, Z., Cooper, D.C., Radtke, F., Hsieh, J., and Eisch, A.J. (2010). Notch1 is required for maintenance of the reservoir of adult hippocampal stem cells. *J. Neurosci.* *30*, 10484–10492.

Adlard, P.A., Perreau, V.M., and Cotman, C.W. (2005). The exercise-induced expression of BDNF within the hippocampus varies across life-span. *Neurobiol. Aging* *26*, 511–520.

Ahn, S. and Joyner, A.L. (2005). In vivo analysis of quiescent adult neural stem cells responding to sonic hedgehog. *Nature* *437*, 894–897.

Aimone, J.B., Li, Y., Lee, S.W., Clemenson, G.D., Deng, W., and Gage, F.H. (2014). Regulation and function of adult neurogenesis: from genes to cognition. *Physiol. Rev.* *94*, 991–1026.

Altman, J. and Das, G.D. (1965). Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J. Comp. Neurol.* *124*, 319–335.

Andersen, J., Urbán, N., Achimastou, A., Ito, A., Simic, M., Ullom, K., Martynoga, B., Lebel, M., Göritz, C., Frisén, J., et al. (2014). A transcriptional mechanism integrating inputs from extracellular signals to activate hippocampal stem cells. *Neuron* *83*, 1085–1097.

Ashton, R.S., Conway, A., Pangarkar, C., Bergen, J., Lim, K.-I., Shah, P., Bissell, M., and Schaffer, D.V. (2012). Astrocytes regulate adult hippocampal neurogenesis through ephrin-B signaling. *Nat. Neurosci.* *15*, 1399–1406.

Bachstetter, A.D., Morganti, J.M., Jernberg, J., Schlunk, A., Mitchell, S.H., Brewster, K.W., Hudson, C.E., Cole, M.J., Harrison, J.K., Bickford, P.C., et al. (2011). Fractalkine and CX(3)CR1 regulate hippocampal neurogenesis in adult and aged rats. *Neurobiol. Aging* *32*, 2030–2044.

Barkho, B.Z., Song, H., Aimone, J.B., Smrt, R.D., Kuwabara, T., Nakashima, K., Gage, F.H., and Zhao, X. (2006). Identification of astrocyte-expressed factors that modulate neural stem/progenitor cell differentiation. *Stem Cells Dev.* *15*, 407–421.

Baron, R., Nemirovsky, A., Harpaz, I., Cohen, H., Owens, T., and Monsonego, A. (2008). IFN-gamma enhances neurogenesis in wild-type mice and in a mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J.* *22*, 2843–2852.

Beckervordersandforth, R., Zhang, C., and Lie, D.C. (2016). Transcription-factor-dependent control of adult hippocampal neurogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* *7*, a018879.

Belarbi, K. and Rosi, S. (2013). Modulation of adult-born neurons in the inflamed hippocampus. *Front. Cell. Neurosci.* *7*, 145.

Belarbi, K., Arellano, C., Ferguson, R., Jopson, T., and Rosi, S. (2012). Chronic neuroinflammation impacts the recruitment of adult-born neurons into behaviorally relevant hippocampal networks. *Brain. Behav. Immun.* *26*, 18–23.

Berg, D.A., Belnoue, L., Song, H., and Simon, A. (2013). Neurotransmitter-mediated control of neurogenesis in the adult vertebrate brain. *Development* *140*, 2548–2561.

Bergami, M., Rimondini, R., Santi, S., Blum, R., Götz, M., and Canossa, M. (2008). Deletion of TrkB in adult progenitors alters newborn neuron integration into hippocampal circuits and increases anxiety-like behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* *105*, 15570–15575.

Bonaguidi, M., McGuire, T., Hu, M., Kan, L., Samanta, J., and Kessler, J. (2005). LIF and BMP signaling generate separate and discrete types of GFAP-expressing cells. *Development* *132*, 5503–5514.

Bonaguidi, M.A., Peng, C.-Y., McGuire, T., Falciglia, G., Gobeske, K.T., Czeisler, C., and Kessler, J.A. (2008). Noggin expands neural stem cells in the adult hippocampus. *J. Neurosci.* *28*, 9194–9204.

Bonaguidi, M.A., Wheeler, M.A., Shapiro, J.S., Stadel, R.P., Sun, G.J., Ming, G., and Song, H. (2011). *In vivo* clonal analysis reveals

- self-renewing and multipotent adult neural stem cell characteristics. *Cell* 145, 1142–1155.
- Bonaguidi, M.A., Stadel, R.P., Berg, D.A., Sun, J., Ming, G., and Song, H. (2016). Diversity of neural precursors in the adult mammalian brain. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 8, a018838.
- Bond, A.M., Ming, G., and Song, H. (2015). Adult mammalian neural stem cells and neurogenesis: five decades later. *Cell Stem Cell* 17, 385–395.
- Borsini, A., Zunszain, P.A., Thuret, S., and Pariante, C.M. (2015). The role of inflammatory cytokines as key modulators of neurogenesis. *Trends Neurosci.* 38, 145–157.
- Bracko, O., Singer, T., Aigner, S., Knobloch, M., Winner, B., Ray, J., Clemenson, G.D., Suh, H., Couillard-Despres, S., Aigner, L., et al. (2012). Gene expression profiling of neural stem cells and their neuronal progeny reveals IGF2 as a regulator of adult hippocampal neurogenesis. *J. Neurosci.* 32, 3376–3387.
- Brandt, M.D., Jessberger, S., Steiner, B., Kronenberg, G., Reuter, K., Bick-Sander, A., Von Der Behrens, W., and Kempermann, G. (2003). Transient calretinin expression defines early postmitotic step of neuronal differentiation in adult hippocampal neurogenesis of mice. *Mol. Cell. Neurosci.* 24, 603–613.
- Brandt, M.D., Maass, A., Kempermann, G., and Storch, A. (2010). Physical exercise increases Notch activity, proliferation and cell cycle exit of type-3 progenitor cells in adult hippocampal neurogenesis. *Eur. J. Neurosci.* 32, 1256–1264.
- Brandt, M., Hübner, M., and Storch, A. (2012). Brief report: adult hippocampal precursor cells shorten S-phase and total cell cycle length during neuronal differentiation. *Stem Cells* 30, 2843–2847.
- Breunig, J.J., Silbereis, J., Vaccarino, F.M., Sestan, N., and Rakic, P. (2007). Notch regulates cell fate and dendrite morphology of newborn neurons in the postnatal dentate gyrus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 20558–20563.
- Breunig, J.J., Sarkisian, M.R., Arellano, J.I., Morozov, Y.M., Ayoub, A.E., Sojitra, S., Wang, B., Flavell, R.A., Rakic, P., and Town, T. (2008). Primary cilia regulate hippocampal neurogenesis by mediating sonic hedgehog signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 13127–13132.
- Butovsky, O., Ziv, Y., Schwartz, A., Landa, G., Talpalar, A.E., Pluchino, S., Martino, G., and Schwartz, M. (2006). Microglia activated by IL-4 or IFN- γ differentially induce neurogenesis and oligodendrogenesis from adult stem/progenitor cells. *Mol. Cell. Neurosci.* 31, 149–160.
- Cacci, E., Claassen, J.-H., and Kokaia, Z. (2005). Microglia-derived tumor necrosis factor- α exaggerates death of newborn hippocampal progenitor cells *in vitro*. *J. Neurosci. Res.* 80, 789–797.
- Cameron, H.A. and McKay, R.D.G. (2001). Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* 435, 406–417.
- Campbell, I.L., Erta, M., Lim, S.L., Frausto, R., May, U., Rose-John, S., Scheller, J., and Hidalgo, J. (2014). Trans-signaling is a dominant mechanism for the pathogenic actions of interleukin-6 in the brain. *J. Neurosci.* 34, 2503–2513.
- Cao, L., Jiao, X., Zuzga, D.S., Liu, Y., Fong, D.M., Young, D., and During, M.J. (2004). VEGF links hippocampal activity with neurogenesis, learning and memory. *Nat. Genet.* 36, 827–835.
- Carpentier, P.A. and Palmer, T.D. (2009). Immune influence on adult neural stem cell regulation and function. *Neuron* 64, 79–92.
- Carro, E., Nuñez, A., Busiguina, S., and Torres-Aleman, I. (2000). Circulating insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain. *J. Neurosci.* 20, 2926–2933.
- Chen, Z. and Palmer, T.D. (2013). Differential roles of TNFR1 and TNFR2 signaling in adult hippocampal neurogenesis. *Brain. Behav. Immun.* 30, 45–53.
- Choi, S.-H., Langenbach, R., and Bosetti, F. (2008). Genetic deletion or pharmacological inhibition of cyclooxygenase-1 attenuate lipopolysaccharide-induced inflammatory response and brain injury. *FASEB J.* 22, 1491–1501.
- Chojnacki, A., Shimazaki, T., Gregg, C., Weinmaster, G., and Weiss, S. (2003). Glycoprotein 130 signaling regulates Notch1 expression and activation in the self-renewal of mammalian forebrain neural stem cells. *J. Neurosci.* 23, 1730–1741.
- Clark, P.J., Brzezinska, W.J., Puchalski, E.K., Krone, D.A., and Rhodes, J.S. (2009). Functional analysis of neurovascular adaptations to exercise in the dentate gyrus of young adult mice associated with cognitive gain. *Hippocampus* 19, 937–950.
- Clarke, M., Razmjou, S., Prowse, N., Dwyer, Z., Litteljohn, D., Pentz, R., Anisman, H., and Hayley, S. (2017). Ketamine modulates hippocampal neurogenesis and pro-inflammatory cytokines but not stressor induced neurochemical changes. *Neuropharmacology* 112, 210–220.
- Cotman, C.W., Berchtold, N.C., and Christie, L.A. (2007). Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci.* 30, 464–472.
- Cunningham, C.L., Martinez-Cerdeno, V., and Noctor, S.C. (2013). Microglia regulate the number of neural precursor cells in the developing cerebral cortex. *J. Neurosci.* 33, 4216–4233.
- Dranovsky, A., Picchini, A.M., Moadel, T., Sisti, A.C., Yamada, A., Kimura, S., Leonardo, E.D., and Hen, R. (2011). Experience dictates stem cell fate in the adult hippocampus. *Neuron* 70, 908–923.
- Ehm, O., Goritz, C., Covic, M., Schaffner, I., Schwarz, T.J., Karaca, E., Kempkes, B., Kremmer, E., Pfrieger, F.W., Espinosa, L., et al. (2010). RBPJkappa-dependent signaling is essential for long-term maintenance of neural stem cells in the adult hippocampus. *J. Neurosci.* 30, 13794–13807.
- Ekdahl, C.T., Claassen, J.-H., Bonde, S., Kokaia, Z., and Lindvall, O. (2003). Inflammation is detrimental for neurogenesis in adult brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 13632–13637.
- Encinas, J.M., Vahtokari, A., and Enikolopov, G. (2006). Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 8233–8238.
- Encinas, J.M., Michurina, T.V., Peunova, N., Park, J.H., Tordo, J., Peterson, D.A., Fishell, G., Koulakov, A., and Enikolopov, G. (2011). Division-coupled astrocytic differentiation and age-related depletion of neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 8, 566–579.
- Fabel, K., Fabel, K., Tam, B., Kaufer, D., Baiker, A., Simmons, N., Kuo, C.J., and Palmer, T.D. (2003). VEGF is necessary for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *Eur. J. Neurosci.* 18, 2803–2812.
- Fan, L.-W. and Pang, Y. (2017). Dysregulation of neurogenesis by neuroinflammation: key differences in neurodevelopmental and neurological disorders. *Neural Regen. Res.* 12, 366–371.
- Farioli-Vecchioli, S., Mattera, A., Micheli, L., Ceccarelli, M., Leonardi, L., Saraulli, D., Costanzi, M., Cestari, V., Rouault, J.P., and Tirone, F. (2014). Running rescues defective adult neurogenesis

- by shortening the length of the cell cycle of neural stem and progenitor cells. *Stem Cells* 32, 1968–1982.
- Favaro, R., Valotta, M., Ferri, A.L.M., Latorre, E., Mariani, J., Giachino, C., Lancini, C., Tosetti, V., Ottolenghi, S., Taylor, V., et al. (2009). Hippocampal development and neural stem cell maintenance require Sox2-dependent regulation of Shh. *Nat. Neurosci.* 12, 1248–1256.
- Filippov, V., Kronenberg, G., Pivneva, T., Reuter, K., Steiner, B., Wang, L.P., Yamaguchi, M., Kettenmann, H., and Kempermann, G. (2003). Subpopulation of nestin-expressing progenitor cells in the adult murine hippocampus shows electrophysiological and morphological characteristics of astrocytes. *Mol. Cell. Neurosci.* 23, 373–382.
- Fischer, T.J., Walker, T.L., Overall, R.W., Brandt, M.D., and Kempermann, G. (2014). Acute effects of wheel running on adult hippocampal precursor cells in mice are not caused by changes in cell cycle length or S phase length. *Front. Neurosci.* 8, 314.
- Fukuda, S., Kato, F., Tozuka, Y., Yamaguchi, M., Miyamoto, Y., and Hisatsune, T. (2003). Two distinct subpopulations of nestin-positive cells in adult mouse dentate gyrus. *J. Neurosci.* 23, 9357–9366.
- Gao, Z., Ure, K., Ables, J.L., Lagace, D.C., Nave, K.-A., Goebbels, S., Eisch, A.J., and Hsieh, J. (2009). Neurod1 is essential for the survival and maturation of adult-born neurons. *Nat. Neurosci.* 12, 1090–1092.
- García, A.D.R., Doan, N.B., Imura, T., Bush, T.G., and Sofroniew, M.V. (2004). GFAP-expressing progenitors are the principal source of constitutive neurogenesis in adult mouse forebrain. *Nat. Neurosci.* 7, 1233–1241.
- Ge, S., Pradhan, D.A., Ming, G.L., and Song, H. (2007). GABA sets the tempo for activity-dependent adult neurogenesis. *Trends Neurosci.* 30, 1–8.
- Gebara, E., Bonaguidi, M.A., Beckervordersandforth, R., Sultan, S., Udry, F., Gijls, P.-J., Lie, D.C., Ming, G.-L., Song, H., and Toni, N. (2016). Heterogeneity of radial glia-like cells in the adult hippocampus. *Stem Cells* 34, 997–1010.
- Gobeske, K.T., Das, S., Bonaguidi, M.A., Weiss, C., Radulovic, J., Distenhof, J.F., and Kessler, J.A. (2009). BMP signaling mediates effects of exercise on hippocampal neurogenesis and cognition in mice. *PLoS One* 4, e7506.
- Goldman, S.A. and Chen, Z. (2011). Perivascular instruction of cell genesis and fate in the adult brain. *Nat. Neurosci.* 14, 1382–1389.
- Gonçalves, J.T., Schafer, S.T., and Gage, F.H. (2016). Adult neurogenesis in the hippocampus: from stem cells to behavior. *Cell* 167, 897–914.
- Goshen, I., Kreisel, T., Ben-Menachem-Zidon, O., Licht, T., Weidenfeld, J., Ben-Hur, T., and Yirmiya, R. (2008). Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. *Mol. Psychiatry* 13, 717–728.
- Green, H.F. and Nolan, Y.M. (2012). Unlocking mechanisms in interleukin-1 β -induced changes in hippocampal neurogenesis—a role for GSK-3 β and TLX. *Transl. Psychiatry* 2, e194.
- Griffin, E.W., Bechara, R.G., Birch, A.M., and Kelly, A.M. (2009). Exercise enhances hippocampal-dependent learning in the rat: evidence for a BDNF-related mechanism. *Hippocampus* 19, 973–980.
- Guadagno, J., Swan, P., Shaikh, R., and Cregan, S.P. (2015). Microglia-derived IL-1 β triggers p53-mediated cell cycle arrest and apoptosis in neural precursor cells. *Cell Death Dis.* 6, e1779.
- Hashimoto, S.-I., Morohoshi, K., Suzuki, T., and Matsushima, K. (2003). Lipopolysaccharide-inducible gene expression profile in human monocytes. *Scand. J. Infect. Dis.* 35, 619–627.
- Hevner, R.F., Hodge, R.D., Daza, R.A.M., and Englund, C. (2006). Transcription factors in glutamatergic neurogenesis: conserved programs in neocortex, cerebellum, and adult hippocampus. *Neurosci. Res.* 55, 223–233.
- Hodge, R.D., Kowalczyk, T.D., Wolf, S.A., Encinas, J.M., Rippey, C., Enikolopov, G., Kempermann, G., and Hevner, R.F. (2008). Intermediate progenitors in adult hippocampal neurogenesis: Tbr2 expression and coordinate regulation of neuronal output. *J. Neurosci.* 28, 3707–3717.
- Hodge, R.D., Kahoud, R.J., and Hevner, R.F. (2012a). Transcriptional control of glutamatergic differentiation during adult neurogenesis. *Cell. Mol. Life Sci.* 69, 2125–2134.
- Hodge, R.D., Nelson, B.R., Kahoud, R.J., Yang, R., Mussar, K.E., Reiner, S.L., and Hevner, R.F. (2012b). Tbr2 is essential for hippocampal lineage progression from neural stem cells to intermediate progenitors and neurons. *J. Neurosci.* 32, 6275–6287.
- Hofer, S., Grandgirard, D., Burri, D., Fröhlich, T.K., and Leib, S.L. (2011). Bacterial meningitis impairs hippocampal neurogenesis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 70, 890–899.
- Iosif, R.E., Ekdahl, C.T., Ahlenius, H., Pronk, C.J.H., Bonde, S., Kokaia, Z., Jacobsen, S.-E.W., and Lindvall, O. (2006). Tumor necrosis factor receptor 1 is a negative regulator of progenitor proliferation in adult hippocampal neurogenesis. *J. Neurosci.* 26, 9703–9712.
- Jang, M.H., Bonaguidi, M.A., Kitabatake, Y., Sun, J., Song, J., Kang, E., Jun, H., Zhong, C., Su, Y., Guo, J.U., et al. (2013). Secreted frizzled-related protein 3 regulates activity-dependent adult hippocampal neurogenesis. *Cell Stem Cell* 12, 215–223.
- Ji, R., Tian, S., Lu, H.J., Lu, Q., Zheng, Y., Wang, X., Ding, J., Li, Q., and Lu, Q. (2013). TAM receptors affect adult brain neurogenesis by negative regulation of microglial cell activation. *J. Immunol.* 191, 6165–6177.
- Jin, K., Zhu, Y., Sun, Y., Mao, X.O., Xie, L., and Greenberg, D.A. (2002). Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 11946–11950.
- Johnson, R.A. and Mitchell, G.S. (2003). Exercise-induced changes in hippocampal brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: effects of rat strain. *Brain Res.* 983, 108–114.
- Kaplan, M.S. and Hinds, J.W. (1977). Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science* 197, 1092–1094.
- Karalay, O., Doberauer, K., Vadodaria, K.C., Knobloch, M., Berti, L., Miquelajauregui, A., Schwark, M., Jagasia, R., Taketo, M.M., Tarabykin, V., et al. (2011). 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.
- Katoh-Semba, R., Takeuchi, I.K., Semba, R., and Kato, K. (1997). Distribution of brain-derived neurotrophic factor in rats and its changes with development in the brain. *J. Neurochem.* 69, 34–42.
- Keene, C.D., Chang, R., Stephen, C., Nivison, M., Nutt, S.E., Look, A., Breyer, R.M., Horner, P.J., Hevner, R., and Montine, T.J. (2009). Protection of hippocampal neurogenesis from toll-like receptor 4-dependent innate immune activation by ablation of prostaglandin E2 receptor subtype EP1 or EP2. *Am. J. Pathol.* 174, 2300–2309.

- Kempermann, G., Jessberger, S., Steiner, B., and Kronenberg, G. (2004). Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci.* 27, 447–452.
- Kempermann, G., Song, H., and Gage, F. (2015). Neurogenesis in the adult hippocampus. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7, a018812.
- Keohane, A., Ryan, S., Maloney, E., Sullivan, A.M., and Nolan, Y.M. (2010). Tumour necrosis factor- α impairs neuronal differentiation but not proliferation of hippocampal neural precursor cells: role of Hes1. *Mol. Cell. Neurosci.* 43, 127–135.
- Kim, E.J., Leung, C.T., Reed, R.R., and Johnson, J.E. (2007). *In vivo* analysis of Ascl1 defined progenitors reveals distinct developmental dynamics during adult neurogenesis and gliogenesis. *J. Neurosci.* 27, 12764–12774.
- Klempin, F., Beis, D., Mosienko, V., Kempermann, G., Bader, M., and Alenina, N. (2013). Serotonin is required for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *J. Neurosci.* 33, 8270–8275.
- Kohman, R.A., DeYoung, E.K., Bhattacharya, T.K., Peterson, L.N., and Rhodes, J.S. (2012). Wheel running attenuates microglia proliferation and increases expression of a proneurogenic phenotype in the hippocampus of aged mice. *Brain. Behav. Immun.* 26, 803–810.
- Koo, J.W. and Duman, R.S. (2008). IL-1 β is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 751–756.
- Kronenberg, G., Reuter, K., Steiner, B., Brandt, M.D., Jessberger, S., Yamaguchi, M., and Kempermann, G. (2003). Subpopulations of proliferating cells of the adult hippocampus respond differently to physiologic neurogenic stimuli. *J. Comp. Neurol.* 467, 455–463.
- Kuwabara, T., Hsieh, J., Muotri, A., Yeo, G., Warashina, M., Lie, D.C., Moore, L., Nakashima, K., Asashima, M., and Gage, F.H. (2009). Wnt-mediated activation of NeuroD1 and retro-elements during adult neurogenesis. *Nat. Neurosci.* 12, 1097–1105.
- Lai, K., Kaspar, B.K., Gage, F.H., and Schaffer, D.V. (2003). Sonic hedgehog regulates adult neural progenitor proliferation *in vitro* and *in vivo*. *Nat. Neurosci.* 6, 21–27.
- Lavado, A. and Oliver, G. (2014). Jagged1 is necessary for postnatal and adult neurogenesis in the dentate gyrus. *Dev. Biol.* 388, 11–21.
- Lavado, A., Lagutin, O.V., Chow, L.M.L., Baker, S.J., and Oliver, G. (2010). Prox1 is required for granule cell maturation and intermediate progenitor maintenance during brain neurogenesis. *PLoS Biol.* 8, 43–44.
- Lee, M.C., Rakwal, R., Shibato, J., Inoue, K., Chang, H., and Soya, H. (2014). DNA microarray-based analysis of voluntary resistance wheel running reveals novel transcriptome leading robust hippocampal plasticity. *Physiol. Rep.* 2, e12206.
- Li, Y., Luikart, B.W., Birnbaum, S., Chen, J., Kwon, C.H., Kernie, S.G., Bassel-Duby, R., and Parada, L.F. (2008). TrkB regulates hippocampal neurogenesis and governs sensitivity to antidepressant treatment. *Neuron* 59, 399–412.
- Lie, D., Colamarino, S.A., Song, H., Désiré, L., Mira, H., Consiglio, A., Lein, E.S., Jessberger, S., Lansford, H., Dearie, A.R., et al. (2005). The Wnt/*b*-catenin signaling pathway in the adult neurogenesis. *Eur. J. Neurosci.* 33, 1370–1375.
- Littlefield, A.M., Setti, S.E., Priester, C., and Kohman, R.A. (2015). Voluntary exercise attenuates LPS-induced reductions in neurogenesis and increases microglia expression of a proneurogenic phenotype in aged mice. *J. Neuroinflamm.* 12, 138.
- Lugert, S., Basak, O., Knuckles, P., Haussler, U., Fabel, K., Götz, M., Haas, C., Kempermann, G., Taylor, V., and Giachino, C. (2010). Quiescent and active hippocampal neural stem cells with distinct morphologies respond selectively to physiological and pathological stimuli and aging. *Cell Stem Cell* 6, 445–456.
- Maekawa, M., Takashima, N., Arai, Y., Nomura, T., Inokuchi, K., Yuasi, S., and Osumi, N. (2005). Pax6 is required for production and maintenance of progenitor cells in postnatal hippocampal neurogenesis. *Genes Cells* 10, 1001–1014.
- Matsuda, T., Mura, N., Katano, Y., Juliandi, B., Kohyama, J., Akira, S., Kawai, T., and Nakashima, K. (2015). TLR9 signalling in microglia attenuates seizure-induced aberrant neurogenesis in the adult hippocampus. *Nat. Commun.* 6, 6514.
- Ming, G.L. and Song, H. (2011). Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron* 70, 687–702.
- Mira, H., Andreu, Z., Suh, H., Lie, D.C., Jessberger, S., Consiglio, A., San Emeterio, J., Hortigüela, R., Marqués-Torrejón, M.A., Nakashima, K., et al. (2010). Signaling through BMPR-IA regulates quiescence and long-term activity of neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 7, 78–89.
- Monje, M., Toda, H., and Palmer, T. (2003). Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. *Science* 302, 1760–1765.
- Moss, J., Gebara, E., Bushong, E.A., Sánchez-Pascual, I., O’Laoi, R., El M’Ghari, I., Kocher-Braissant, J., Ellisman, M.H., and Toni, N. (2016). Fine processes of Nestin-GFP-positive radial glia-like stem cells in the adult dentate gyrus ensheath local synapses and vasculature. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, E2536–E2545.
- Nacher, J., Varea, E., Blasco-Ibañez, J.M., Castillo-Gomez, E., Crespo, C., Martínez-Guijarro, F.J., and McEwen, B.S. (2005). Expression of the transcription factor Pax6 in the adult rat dentate gyrus. *J. Neurosci. Res.* 81, 753–761.
- Nakamura, Y., Sakakibara, S.I., Miyata, T., Ogawa, M., Shimazaki, T., Weiss, S., Kageyama, R., Okano, H., Shakakibara, S., Miyata, T., et al. (2000). The bHLH gene Hes1 as a repressor of the neuronal commitment of CNS stem cell. *J. Neurosci.* 20, 283–293.
- Nakanishi, M., Niidome, T., Matsuda, S., Akaike, A., Kihara, T., and Sugimoto, H. (2007). Microglia-derived interleukin-6 and leukemia inhibitory factor promote astrocytic differentiation of neural stem/progenitor cells. *Eur. J. Neurosci.* 25, 649–658.
- Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F., and Helmchen, F. (2005). Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma *in vivo*. *Science* 308, 1314–1318.
- Overall, R.W., Walker, T.L., Fischer, T.J., Brandt, M.D., and Kempermann, G. (2016). Different mechanisms must be considered to explain the increase in hippocampal neural precursor cell proliferation by physical activity. *Front. Neurosci.* 10, 362.
- Ozen, I., Galichet, C., Watts, C., Parras, C., Guillemot, F., and Raineteau, O. (2007). Proliferating neuronal progenitors in the postnatal hippocampus transiently express the proneural gene Ngn2. *Eur. J. Neurosci.* 25, 2591–2603.
- Packer, M.A., Stasiv, Y., Benraiss, A., Chmielnicki, E., Grinberg, A., Westphal, H., Goldman, S.A., and Enikolopov, G. (2003). Nitric oxide negatively regulates mammalian adult neurogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 9566–9571.
- Palmer, T.D., Takahashi, J., and Gage, F.H. (1997). The adult rat hippocampus contains primordial neural stem cells. *Mol. Cell. Neurosci.* 8, 389–404.

- Palmer, T.D., Willhoite, A.R., and Gage, F.H. (2000). Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis. *J. Comp. Neurol.* *425*, 479–494.
- Peng, H., Whitney, N., Wu, Y., Tian, C., Dou, H., Zhou, Y., and Zheng, J. (2008). HIV-1-infected and/or immune-activated macrophage-secreted TNF- α affects human fetal cortical neural progenitor cell proliferation and differentiation. *Glia* *56*, 903–916.
- Pereira, A.C., Huddleston, D.E., Brickman, A.M., Sosunov, A.A., Hen, R., McKhann, G.M., Sloan, R., Gage, F.H., Small, S.A., and Brown, T.R. (2007). An *in vivo* correlate of exercise-induced neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* *104*, 5638–5643.
- Pugazhenth, S., Zhang, Y., Bouchard, R., and Mahaffey, G. (2013). Induction of an inflammatory loop by interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α involves NF- κ B and STAT-1 in differentiated human neuroprogenitor cells. *PLoS One* *8*, e69585.
- Rao, M.S. and Shetty, A.K. (2004). 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.* *19*, 234–246.
- Ravasi, T., Wells, C., Forest, A., Underhill, D.M., Wainwright, B.J., Aderem, A., Grimmond, S., and Hume, D.A. (2002). Generation of diversity in the innate immune system: macrophage heterogeneity arises from gene-autonomous transcriptional probability of individual inducible genes. *J. Immunol.* *168*, 44–50.
- Renault, V.M., Rafalski, V.A., Morgan, A.A., Salih, D.A.M., Brett, J.O., Webb, A.E., Villeda, S.A., Thekkat, P.U., Guillerrey, C., Denko, N.C., et al. (2009). FoxO3 regulates neural stem cell homeostasis. *Cell Stem Cell* *5*, 527–539.
- Riquelme, P.A., Drapeau, E., and Doetsch, F. (2008). Brain microecologies: neural stem cell niches in the adult mammalian brain. *Philos. Trans. Biol. Sci.* *363*, 123–137.
- Rolando, C., Erni, A., Grison, A., Beattie, R., Engler, A., Gokhale, P.J., Milo, M., Wegleiter, T., Jessberger, S., and Taylor, V. (2016). Multipotency of adult hippocampal NSCs *in vivo* is restricted by Drosha/NFIB. *Cell Stem Cell* *19*, 653–662.
- Rolls, A., Shechter, R., London, A., Ziv, Y., Ronen, A., Levy, R., and Schwartz, M. (2007). Toll-like receptors modulate adult hippocampal neurogenesis. *Nat. Cell Biol.* *9*, 1081–1088.
- Rudge, J.S., Alderson, R.F., Pasnikowski, E., McClain, J., Ip, N.Y., and Lindsay, R.M. (1992). Expression of ciliary neurotrophic factor and the neurotrophins – nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin 3-in cultured rat hippocampal astrocytes. *Eur. J. Neurosci.* *4*, 459–471.
- Russo, I., Amornphimoltham, P., Weigert, R., Bosetti, F., Russo, I., Amornphimoltham, P., Weigert, R., Barlati, S., and Bosetti, F. (2011a). Cyclooxygenase-1 is involved in the inhibition of hippocampal neurogenesis after lipopolysaccharide-induced neuroinflammation. *Cell Cycle* *10*, 2568–2573.
- Russo, I., Barlati, S., and Bosetti, F. (2011b). Effects of neuroinflammation on the regenerative capacity of brain stem cells. *J. Neurochem.* *116*, 947–956.
- Ryan, S.M. and Nolan, Y.M. (2016). Neuroinflammation negatively affects adult hippocampal neurogenesis and cognition: can exercise compensate? *Neurosci. Biobehav. Rev.* *61*, 121–131.
- Sahay, A., Scobie, K.N., Hill, A.S., O’Carroll, C.M., Kheirbek, M.A., Burghardt, N.S., Fenton, A.A., Dranovsky, A., and Hen, R. (2011). Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. *Nature* *472*, 466–470.
- Sarauli, D., Costanzi, M., Mastrorilli, V., and Farioli-Vecchioli, S. (2017). The long run: neuroprotective effects of physical exercise on adult neurogenesis from youth to old age. *Curr. Neuropharmacol.* *15*, 519–533.
- Schanzer, A., Wachs, F.P., Wilhelm, D., Acker, T., Cooper-Kuhn, C., Beck, H., Winkler, J., Aigner, L., Plate, K.H., and Kuhn, H.G. (2004). Direct stimulation of adult neural stem cells *in vitro* and neurogenesis *in vivo* by vascular endothelial growth factor. *Brain Pathol* *14*, 237–248.
- Scharfman, H., Goodman, J., Macleod, A., Phani, S., Antonelli, C., and Croll, S. (2005). Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. *Exp. Neurol.* *192*, 348–356.
- Scheffel, J., Regen, T., Van Rossum, D., Seifert, S., Ribes, S., Nau, R., Parsa, R., Harris, R.A., Boddeke, H.W.G.M., Chuang, H.-N., et al. (2012). Toll-like receptor activation reveals developmental reorganization and unmasks responder subsets of microglia. *Glia* *60*, 1930–1943.
- Seki, T., Namba, T., Mochizuki, H., and Onodera, M. (2007). Clustering, migration, and neurite formation of neural precursor cells in the adult rat hippocampus. *J. Comp. Neurol.* *502*, 275–290.
- Seri, B., García-Verdugo, J.M., McEwen, B.S., and Alvarez-Buylla, A. (2001). Astrocytes give rise to new neurons in the adult mammalian hippocampus. *J. Neurosci.* *21*, 7153–7160.
- Seri, B., García-Verdugo, J.M., Collado-Morente, L., McEwen, B.S., and Alvarez-Buylla, A. (2004). Cell types, lineage, and architecture of the germinal zone in the adult dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* *478*, 359–378.
- Sierra, A., Encinas, J.M., Deudero, J.J.P., Chancey, J.H., Enikolopov, G., Overstreet-Wadiche, L.S., Tsirka, S.E., and Maletic-Savatic, M. (2010). Microglia shape adult hippocampal neurogenesis through apoptosis-coupled phagocytosis. *Cell Stem Cell* *7*, 483–495.
- Song, H., Stevens, C.F., and Gage, F.H. (2002). Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. *Nature* *417*, 39–44.
- Song, J., Zhong, C., Bonaguidi, M.A., Sun, G.J., Hsu, D., Gu, Y., Meletis, K., Huang, Z.J., Ge, S., Enikolopov, G., et al. (2012). Neuronal circuitry mechanism regulating adult quiescent neural stem-cell fate decision. *Nature* *489*, 150–154.
- Spulber, S., Oprica, M., Bartfai, T., Winblad, B., and Schultzberg, M. (2008). Blunted neurogenesis and gliosis due to transgenic overexpression of human soluble IL-1ra in the mouse. *Eur. J. Neurosci.* *27*, 549–558.
- Steiner, B., Kronenberg, G., Jessberger, S., Brandt, M.D., Reuter, K., and Kempermann, G. (2004). Differential regulation of gliogenesis in the context of adult hippocampal neurogenesis in mice. *Glia* *46*, 41–52.
- Steiner, B., Klempin, F., Wang, L., Kott, M., Kettenmann, H., and Kempermann, G. (2006). Type-2 cells as link between glial and neuronal lineage in adult hippocampal neurogenesis. *Glia* *54*, 805–814.
- Steiner, B., Zurborg, S., Hörster, H., Fabel, K., and Kempermann, G. (2008). Differential 24 h responsiveness of Prox1 – expressing precursor cells in adult hippocampal neurogenesis to physical activity, environmental enrichment, and kainic acid-induced seizures. *Neuroscience* *154*, 521–529.
- Stump, G., Durrer, A., Klein, A.L., Lütolf, S., Suter, U., and Taylor, V. (2002). Notch1 and its ligands Delta-like and Jagged are expressed and active in distinct cell populations in the postnatal mouse brain. *Mech. Dev.* *114*, 153–159.

- Suh, H., Consiglio, A., Ray, J., Sawai, T., D'Amour, K., and Gage, F.H. (2007). *In vivo* fate analysis reveals the multipotent and self-renewal capacities of Sox2+ neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 1, 515–28.
- Toni, N. and Schinder, A.F. (2015). Maturation and functional integration of new granule cells into the adult hippocampus. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 8, a018903.
- Trejo, J.L., Carro, E., and Torres-Aleman, I. (2001). Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J. Neurosci.* 21, 1628–1634.
- Valero, J., Mastrella, G., Neiva, I., Sánchez, S., and Malva, J.O. (2014). Long-term effects of an acute and systemic administration of LPS on adult neurogenesis and spatial memory. *Front. Neurosci.* 8, 83.
- Vallières, L., Campbell, I.L., Gage, F.H., and Sawchenko, P.E. (2002). Reduced hippocampal neurogenesis in adult transgenic mice with chronic astrocytic production of interleukin-6. *J. Neurosci.* 22, 486–492.
- van Praag, H. (2005). Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J. Neurosci.* 25, 8680–8685.
- van Praag, H., Kempermann, G., and Gage, F.H. (1999). Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat. Neurosci.* 2, 266–270.
- van Praag, H., Schinder, A.F., Christie, B.R., Toni, N., Palmer, T.D., and Gage, F.H. (2002). Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 415, 1030–1034.
- Varela-Nallar, L. and Inestrosa, N.C. (2013). Wnt signaling in the regulation of adult hippocampal neurogenesis. *Front. Cell. Neurosci.* 7, 100.
- Vukovic, J., Colditz, M.J., Blackmore, D.G., Ruitenber, M.J., and Bartlett, P.F. (2012). Microglia modulate hippocampal neural precursor activity in response to exercise and aging. *J. Neurosci.* 32, 6435–6443.
- Wakselman, S., Bechade, C., Roumier, A., Bernard, D., Triller, A., and Bessis, A. (2008). Developmental neuronal death in hippocampus requires the microglial CD11b integrin and DAP12 immunoreceptor. *J. Neurosci.* 28, 8138–8143.
- Webb, A.E., Pollina, E.A., Vierbuchen, T., Urbán, N., Ucar, D., Lee-man, D.S., Martynoga, B., Sewak, M., Rando, T.A., Guillemot, F., et al. (2013). FOXO3 shares common targets with ASCL1 genome-wide and inhibits ASCL1-dependent neurogenesis. *Cell Rep.* 4, 477–491.
- Whitney, N.P., Eidem, T.M., Peng, H., Huang, Y., and Zheng, C. (2010). Inflammation mediates varying effects in neurogenesis: relevance to the pathogenesis of brain injury and neurodegenerative disorders. *J. Neurochem.* 108, 1343–1359.
- Williams, J.L., Holman, D.W., and Klein, R.S. (2014). Chemokines in the balance: maintenance of homeostasis and protection at CNS barriers. *Front. Cell. Neurosci.* 8, 154.
- Woodbury, M.E., Freilich, R.W., Cheng, C.J., Asai, H., Ikezu, S., Boucher, J.D., Slack, F., and Ikezu, T. (2015). miR-155 is essential for inflammation-induced hippocampal neurogenic dysfunction. *J. Neurosci.* 35, 9764–9781.
- Wu, C.W., Chen, Y.C., Yu, L., Chen, H.I., Jen, C.J., Huang, A.M., Tsai, H.J., Chang, Y.T., and Kuo, Y.M. (2007). Treadmill exercise counteracts the suppressive effects of peripheral lipopolysaccharide on hippocampal neurogenesis and learning and memory. *J. Neurochem.* 103, 2471–2481.
- Wu, M.D., Hein, A.M., Moravan, M.J., Shaftel, S.S., Olschowka, J.A., and O'Banion, M.K. (2012). Adult murine hippocampal neurogenesis is inhibited by sustained IL-1 β and not rescued by voluntary running. *Brain. Behav. Immun.* 26, 292–300.
- Wu, M.D., Montgomery, S.L., Rivera-Escalera, F., Olschowka, J., and O'Banion, M.K. (2013). Sustained IL-1 β expression impairs adult hippocampal neurogenesis independent of IL-1 signaling in nestin+ neural precursor cells. *Brain. Behav. Immun.* 32, 9–18.
- Zhao, C., Deng, W., and Gage, F.H. (2008). Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell* 132, 645–660.
- Zhu, X.J., Hua, Y., Jiang, J., Zhou, Q.G., Luo, C.X., Han, X., Lu, Y.M., and Zhu, D.Y. (2006). Neuronal nitric oxide synthase-derived nitric oxide inhibits neurogenesis in the adult dentate gyrus by down-regulating cyclic AMP response element binding protein phosphorylation. *Neuroscience* 141, 827–836.
- Zonis, S., Ljubimov, V.A., Mahgerefteh, M., Pechnick, R.N., Wawrowsky, K., and Chesnokova, V. (2013). p21Cip restrains hippocampal neurogenesis and protects neuronal progenitors from apoptosis during acute systemic inflammation. *Hippocampus* 23, 1383–1394.

A Commentary on the Detrimental Effects of Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation on Adult Hippocampal Neurogenesis Depend on the Duration of the Pro-inflammatory Response

Martha Pérez-Domínguez*, Eduardo Domínguez-Rivas, and Evangelina Ávila-Muñoz

Departamento de Medicina, Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, México

*Corresponding author: Martha Pérez-Domínguez, Departamento de Medicina, Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, México, Tel: +52 1 5622 9215; E-mail: marthaperezd@comunidad.unam.mx

Received date: April 15, 2019; Accepted date: April 24, 2019; Published date: April 30, 2019

Copyright: © 2019 Pérez-Domínguez M, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Commentary

The generation of new neurons is not restricted to embryonic development but continues throughout life in the subgranular zone of the dentate gyrus. The functional integration of adult-born neurons into the hippocampal circuitry confers a unique form of plasticity that contributes to learning and memory processes as well as mood regulation. This neurogenic process is finely modulated by extrinsic factors promoting or inhibiting its progression rate and timing [1].

Neuroinflammation is a hallmark of several pathological conditions underlying neurogenesis dysregulation and deficits on hippocampal-dependent tasks [2]. Therefore, one of the main interests in the neurogenesis field is to understand how neuroinflammation modifies the neurogenic process. Since a pioneering report that used a single systemic LPS administration as a model for inducing brain inflammation [3], it has been well accepted that the inflammatory response sets a non-permissive neurogenic microenvironment in the brain that leads to a reduced number of adult-born neurons. Further studies showed that not only the single exposure of LPS led to a decreased neurogenesis, but expanding previous observations, it has been described a long-term neurogenic decrease associated with chronic neuroinflammation induced by LPS repeated intermittent injections [4]. To what extent is this related to a sustained neuroinflammation response over time? In these and other posterior studies, independently of the LPS administration scheme (single or repeated -consecutive or intermittent), the evaluation of neuroinflammatory-associated neurogenic response has been made shortly after LPS treatment [3-6], when a peak in the brain proinflammatory mediators takes place [7-9]. Thus, the impaired neurogenesis can be associated mainly to the acute proinflammatory response.

New questions arise from the attempts to link neuroinflammation with the decrease in neurogenesis. Does the neuroinflammatory-induced decrease on neurogenesis persist at later time points? Does an LPS repeated intermittent injection induce a greater reduction on neurogenesis if we compare it with a single LPS injection? We addressed these questions in our recent report using previously described LPS protocols (single or four repeated intraperitoneal injections- one per week) but evaluating neuroinflammation-associated parameters seven days after the last LPS challenge and then analyzing the effects of this late neuroinflammatory response on neurogenesis.

Our results showed that both a single and repeated LPS injection induce a systemic inflammatory -associated sickness behavior that is resolved within a week. In contrast, the brain inflammatory response persists 7 days after a single LPS injection, whereas it is not present

when the protocol of LPS repeated injections is used. This indicates: 1) that peripheral and central inflammatory responses elapse with different timing accordingly with the type of LPS challenge and 2) LPS intermittent repeated injections induce only an acute neuroinflammatory response [4] pointing out that it may not necessarily induce chronic neuroinflammation since we did not detect a sustained proinflammatory profile at later time points after LPS treatment [10].

Regarding neurogenesis, single LPS administration-induced effects were mainly associated to a decrease in BrdU+/DCX+ cells, suggesting cell proliferation and/or survival dysregulation in this particular cell population. This also shows that the sustained proinflammatory response induced by a single LPS challenge continues impairing neurogenesis. However, after repeated LPS injections this effect is not observed. Considering that we do not observe a proinflammatory profile with the repeated LPS scheme, the detrimental effect of LPS-induced neuroinflammation on neurogenesis seems to be dependent of the presence of a proinflammatory state [10]. Our study is not the first to report that an induced neuroinflammatory response does not necessarily lead to an impaired neurogenesis. For instance, neuroinflammation derived from an adaptive immune response can promote an increase in the neurogenic rate [11]. These findings emphasize the relevance in the combination and timing of the pro- and anti-inflammatory soluble mediators secreted into the neurogenic niche that shape the neuroinflammation-associated neurogenic response.

In relation with the neurogenic process, to the best of our knowledge, we are the first reporting that in physiological conditions almost all proliferating cells are DCX+. Although, this marker is widely used as a post-mitotic immature neuron marker, it is present in committed neuronal progenitors. Thus, our Ki67+/DCX+ data indicate that these type of progenitors (2b and 3) have the highest mitotic activity. This evidence also suggests that type 2a neural progenitors are not as involved in the expansion of the progenitor cell pool as previously thought.

In addition, our work and almost all previous reports, mainly assess the proliferation and/or survival phases of the neurogenic process. Only few studies approach the analysis of the effects of systemic LPS-induced neuroinflammation on other processes associated to neurogenesis, such as the shift in the astrocytic-neuronal differentiation [12] and the maturation of adult-born neurons [13]. Nonetheless, this evidence is also restricted to an acute neuroinflammatory response. What happens as the cells mature under sustained neuroinflammatory conditions? Are these cells able to reach a fully mature phenotype? Which are their functional properties?

Further work must address these questions not just during the acute neuroinflammatory response.

The current evidence establishes that neural precursor cells respond differently to certain stimuli [14-17]. Thus, it also remains to be determined if there are differences in the response of the particular subpopulations of neural progenitors after an inflammatory challenge and what is their contribution to the reduction in the overall number of adult-born neurons. Moreover, it has been shown that LPS administration leads to a proliferative restraint [6]. In line with this observation, our group has reported an impaired cell cycle progression of type 2 progenitors in response to LPS-induced neuroinflammation [18]. Addressing questions regarding proliferative capacity of particular progenitor populations is fundamental to improve our understanding of basic biology of neural precursor cells.

We must keep in mind that neuroinflammation is a physiological response that occurs along impaired neurogenesis and this could prevent the insertion of dysfunctional new neurons born in a non-permissive neurogenic microenvironment. The main research and therapeutic goals should focus on the modulation of the neuroinflammatory response which in turn, would rescue the defective neurogenesis in an appropriate time point.

References

1. Toda T, Parylak SL, Linker SB, Gage FH (2019) The role of adult hippocampal neurogenesis in brain health and disease. *Mol Psychiatry* 24: 67-87.
2. Kohman RA, Rhodes JS (2013) Neurogenesis, inflammation and behavior. *Brain Behav Immun* 27:22-32.
3. Monje ML, Toda H, Palmer TD (2003) Inflammatory Blockade Restores Adult Hippocampal Neurogenesis. *Science* 302: 1760-1765.
4. Wu CW, Chen YC, Yu L, Chen HI, Jen CJ, et al. (2007) Treadmill exercise counteracts the suppressive effects of peripheral lipopolysaccharide on hippocampal neurogenesis and learning and memory. *J Neurochem* 103: 2471-2481.
5. Fujioka H, Akema T (2010) Lipopolysaccharide acutely inhibits proliferation of neural precursor cells in the dentate gyrus in adult rats. *Brain Res* 1352: 35-42.
6. Zonis S, Ljubimov VA, Mahgerefteh M, Pechnick RN, Wawrowsky K, et al. (2013) p21Cip restrains hippocampal neurogenesis and protects neuronal progenitors from apoptosis during acute systemic inflammation. *Hippocampus* 23: 1383-1394.
7. Pardon MC (2015) Lipopolysaccharide hyporesponsiveness: Protective or damaging response to the brain? *Rom J Morphol Embryol* 56: 903-913.
8. Skelly DT, Hennessy E, Dansereau MA, Cunningham C (2013) A systematic analysis of the peripheral and CNS effects of systemic LPS, IL-1B, TNF- α and IL-6 challenges in C57BL/6 mice. *PLoS One* 8: 1-20.
9. Lopes PC (2016) LPS and neuroinflammation: A matter of timing. *Inflammopharmacology* 24: 291-293.
10. Perez-Dominguez M, Ávila-Muñoz E, Domínguez-Rivas E, Zepeda A (2019) The detrimental effects of lipopolysaccharide-induced neuroinflammation on adult hippocampal neurogenesis depend on the duration of the pro-inflammatory response. *Neural Regen Res* 14: 817.
11. Wolf SA1, Steiner B, Wengner A, Lipp M, Kammertoens T, et al. (2009) Adaptive peripheral immune response increases proliferation of neural precursor cells in the adult hippocampus. *FASEB J* 23: 3121-3128.
12. Bonzano S, Crisci I, Podlesny-Drabiniok A, Rolando C, Krezel W, et al. (2018) Neuron-astroglia cell fate decision in the adult mouse hippocampal neurogenic niche is cell-intrinsically controlled by COUP-TFI *In vivo*. *Cell Rep* 24: 329-341.
13. Valero J, Mastrella G, Neiva I, Sánchez S, Malva JO (2014) Long-term effects of an acute and systemic administration of LPS on adult neurogenesis and spatial memory. *Front Neurosci* 8: 83.
14. Kronenberg G, Reuter K, Steiner B, Brandt MD, Jessberger S, et al. (2003) Subpopulations of proliferating cells of the adult hippocampus respond differently to physiologic neurogenic stimuli. *J Comp Neurol* 467: 455-463.
15. Li YQ, Cheng Z, Wong S (2016) Differential apoptosis radiosensitivity of neural progenitors in adult mouse hippocampus. *Int J Mol Sci* 17.
16. Dranovsky A, Picchini AM, Moadel T, Sisti AC, Yamada A, et al. (2011) Experience dictates stem cell fate in the adult hippocampus. *Neuron* 70: 908-923.
17. DeCarolis NA, Mechanic M, Petrik D, Carlton A, Ables JL, et al. (2013) In vivo contribution of nestin- and GLAST-lineage cells to adult hippocampal neurogenesis. *Hippocampus* 23: 708-719.
18. Melo-Salas MS, Pérez-Domínguez M, Zepeda A (2018) Systemic inflammation impairs proliferation of hippocampal type 2 intermediate precursor cells. *Cell Mol Neurobiol* 38: 1517-1528.