

CARLOS ALEXANDRE DOS SANTOS HAEMMERLE

**CARACTERIZAÇÃO ULTRAESTRUTURAL DAS CÉLULAS
IMUNORREATIVAS A 5-BROMO-2-DEOXIURIDINA (BRDU)
NA ZONA VENTRICULAR E SUB-VENTRICULAR ADULTA E DE SUA
RELAÇÃO COM O PEPTÍDEO REGULADOR CART**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Ciências Morfofuncionais

Orientador: Prof. Dr. Ii-sei Watanabe

Versão Original

São Paulo
2015

RESUMO

HAEMMERLE, C. A. S. **Caracterização ultraestrutural das células imunorreativas a 5-bromo-2-deoxiuridina (BrdU) na zona ventricular e sub-ventricular adulta e de sua relação com o peptídeo regulador CART.** 2015. 100 f. Tese (Doutorado em Ciências Morfofuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

O maior nicho para a formação de novos neurônios no encéfalo adulto está ao redor dos ventrículos laterais. Neste local há um grupo de células com sua morfologia peculiar e derivadas de etapas específicas do processo de proliferação e diferenciação celular, que irão determinar a formação do neurônio. Porém, a descrição das células que iniciam a neurogênese nessa região ainda é controversa. Neste sentido, corroborar a caracterização ultraestrutural das células, principalmente as que tenham entrado em ciclo de divisão, pode contribuir nesse debate. Ademais, a compartimentalização da região periventricular reflete um padrão de distribuição de fibras axonais, como as carreadoras do peptídeo neuroativo CART, cuja descrição de seu padrão de inervação e de suas relações com as células do nicho neurogênico, pode abrir perspectivas para o entendimento de um provável papel deste fator modulador biológico no nicho periventricular. Assim, propomos: 1) estudar a citoarquitetura em nível ultraestrutural das células imunorreativas (ir) ao BrdU localizadas na região periventricular; 2) colaborar para a compreensão da organização tridimensional *in situ* dessa região e 3) descrever a inervação por fibras axonais imunorreativas ao CART e supostas posições estabelecidas com células próprias da região periventricular. Utilizamos ratos Long-Evans e camundongos C57Bl6 e GFAP:GFP, adultos. Os animais foram perfundidos com diferentes soluções fixadoras para posterior análise ultraestrutural da morfologia celular e neuroquímica na região periventricular do encéfalo, em microscópios eletrônicos de transmissão e varredura de alta-resolução, de luz e laser confocal. O estudo da proliferação na zona periventricular ocorreu a partir da administração de 2% arabinofuranosida (Ara-C) e do marcador de ciclo mitótico BrdU (50 mg/kg, i.p.). A investigação imunoistoquímica utilizou anticorpos primários anti-BrdU, anti-CART, anti-DCX, anti-GFAP e anti-GFP. As células da região periventricular foram ir-BrdU, em sua totalidade, embora com variação na densidade de marcação. Observamos que estas ocorridas no revestimento ventricular correspondem a células endimárias, tanicitos e astrócitos. Essas células são heterogêneas quanto a densidade de distribuição ciliar, apresentando-se uni, bi ou multi-ciliadas, além de serem inervadas em sua superfície apical por axônios varicosos. Encontramos que a maior densidade de inervação por axônios ir-CART ocorre ao longo do trajeto migratório dos neurônios em formação e que esses axônios estabelecem posições entre progenitores primários, neuroblastos e células que entraram em mitose. Portanto, 1) todas as células do nicho periventricular são ir-BrdU; 2) a organização tridimensional *in situ* do ventrículo lateral evidencia a heterogeneidade na densidade de implantação ciliar e uma densa inervação varicosa aposta aos diferentes cílios; 3) evidências anatômicas sugerem um papel do peptídeo regulador CART na neurogênese periventricular.

Palavras-chave: Neurogênese. Ventrículo lateral. Epêndima. Axônio.

ABSTRACT

HAEMMERLE C. A. S. **Ultrastructural characterization of 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) immunoreactive cells in adult ventricular and subventricular zone and its relationship with regulating peptide CART.** 2015. 100 p. Ph. D. Thesis (Morphofunctional Sciences) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

The major niche for generation of new neurons in adult brain surrounds the lateral ventricles. In this local there is a group of cells with unique morphology and derived from specific steps of proliferation process and cell differentiation, that will generate the neuron. However, the description of cell that initiates the proliferation in this region is still controversial. In this way, to corroborate the ultrastructural characterization of the cells, mainly that entered in cycle of division, can contribute to solve the debate. Furthermore, the compartmentalization of periventricular region leads to a pattern of distribution for axonal fibers, as that transmit the neuroactive peptide CART, which description of its innervation and its relationship with cells of this neurogenic niche may highlight perspectives for understand the putative role of this modulator factor in the periventricular neurogenic niche. So, we aim: 1) to study the cytoarchitecture in ultrastructural level of BrdU immunoreactive (ir) cells located in periventricular region; 2) to collaborate for comprehension of tridimensional *in situ* organization of this region and 3) to describe the innervation of CART-ir axonal fibers and putative apositions established with canonical cells of periventricular region. We used Long-Evans rats and C57Bl6 and GFAP:GFP mice, adults. The animals were perfused with different fixative solutions for further ultrastructural analysis of cell morphology and neurochemistry in the periventricular region of brain, by transmission and high-resolution scanning electron microscopes, light and laser confocal. The study of proliferation at periventricular region occurred after delivery of 2% arabinofuranoside (Ara-C) and the mitotic cell cycle marker BrdU (50 mg/kg, i.p.). The immunohistochemistry investigation used the primary antibodies anti-BrdU, anti-CART, anti-DCX, anti-GFAP and anti-GFP. The entire cells in periventricular region were BrdU-ir, but with variation in density of staining. We observed these occurring in ventricle lining corresponded to ependymal cells, tanycytes and astrocytes. These cells are heterogeneous in density of cilia distribution, presenting single, bi or multi-ciliated, besides be innervated in its apical surface by varicosal axons. We found the major density of CART-ir innervation in migratory path of neurons in formation and that these axons established apositions among neural primary progenitors, neuroblasts and cell that entered the S-phase of mitotic cycle. Therefore, 1) all cells of periventricular niche are BrdU-ir; 2) the tridimensional *in situ* organization of lateral ventricle highlights the heterogeneity in density of ciliary implantation and a dense varicosal innervation apposed to the different cilia; 3) anatomical evidences suggest a role for the regulator peptide CART in periventricular neurogenesis.

Key-words: Neurogenesis. Lateral ventricle. Ependyma. Axon.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente há uma discussão sobre a identidade das células proliferativas localizadas ao redor dos ventrículos laterais, no cérebro adulto. Os argumentos incidem na dificuldade de descrição da delimitação anatômica entre a camada endimária/ventricular e a camada subjacente de células - zona subventricular -, como também na identificação neuroquímica de células que possuem uma alta taxa de expressão de diferentes genes ao longo do tempo, assim como de sua renovação e derivação de células. Além disso, pode-se observar astrócitos ocasionalmente ocupando a camada endimária (CARLÉN et al., 2009; CHOJNACKI; MAK; WEISS, 2009; COSKUN et al., 2008; DOETSCH; GARCÍA-VERDUGO; ALVAREZ-BUYLLA, 1997; HAN et al., 2008; SPASSKY et al., 2005).

Embora diferentes padrões de expressão genética e neuroquímica ocorram durante o processo dinâmico da neurogênese, as células endimárias e as células da zona subventricular apresentam detalhes próprios quanto à sua citoarquitetura em nível ultraestrutural (MITRO; PALKOVITS, 1981). Complementar os estudos de identidade neuroquímica, por meio da metodologia de microscopia eletrônica de transmissão, pode ser útil para delinear os limites estruturais e a organização citoarquitetônica dos elementos neurais em questão. Além disso, a microscopia eletrônica de varredura de alta resolução pode corroborar e descrever de maneira singular a organização tridimensional *in situ* das regiões e dos elementos neurais em destaque.

O dinamismo do processo de transformação/derivação que caracteriza a neurogênese também é modulado por sinalizações neuromediadoras químicas, todos encontrados com uma assinatura peculiar do nicho neurogênico do ventrículo lateral (CHOJNACKI; MAK; WEISS, 2009; MIRZADEH et al., 2008; IHRIE; ALVAREZ-BUYLLA, 2011).

Dentre as sinalizações químicas que influenciam a neurogênese, recentes sugestões tem sido atribuídas à dopamina e serotonina, por exemplo (IHRIE; ALVAREZ-BUYLLA, 2011; KELLEY et al., 2005; KIM et al., 2010; LENNINGTON et al., 2011; SCHINDLER et al., 2012; TONG, et al., 2014a). Nosso grupo de pesquisa também encontrou axônios imunorreativos ao peptídeo CART (ir-CART, transcrito

regulado pela cocaína e anfetamina), cujo mRNA é altamente expresso diante a exposição do organismo a fatores como estímulos aditivos e de recompensa, psicoestimulantes, comportamento alimentar, ou mesmo durante o desenvolvimento pós-natal inicial de ratos (DOUGLASS; MCKINZIE; COUCEYRO, 1995; RODRIGUES; CAVALCANTE; ELIAS, 2011; YANG; SHIEH; LI, 2005).

Um estudo aponta que a administração do peptídeo CART via intranasal promove uma aceleração da migração de precursores neuronais e regeneração cortical, em um modelo de acidente vascular cerebral em camundongos (LUO et al., 2013). No entanto, ainda não há descrições de relações e de uma possível ação direta do peptídeo CART sobre as células características do nicho neurogênico periventricular.

Neste campo, metodologias de análise ultraestrutural – como a microscopia eletrônica de transmissão - podem ser úteis por determinar a ocorrência de sinapses envolvendo terminais com a assinatura neuroquímica para o peptídeo CART e as células proliferativas da região periventricular.

6 CONCLUSÃO

- Neuroblastos, precursores de divisão rápida, astrócitos B1, células endimárias e tanicitos possuem uma morfologia ultraestrutural peculiar e, sob diferentes densidades, apresentam imunorreatividade ao BrdU;
- Bases imunohistoquímicas e ultraestruturais apontam tanicitos como sugestivos precursores neurais, além dos astrócitos B1;
- A organização tridimensional *in situ* da superfície de revestimento do ventrículo lateral apresenta diferentes densidades de implantação ciliar e uma densa inervação axonal varicosa, aposta aos diferentes cílios de células endimárias ou astrócitos B1;
- A organização tridimensional *in situ* da região subventricular apresenta complexos elementos celulares organizados em nichos de características semelhantes, apostos a um denso plexo vasculo-nervoso;
- Axônios ir-CART sugerem-se, a partir de um embasamento anatômico, em posição para exercer um papel regulador do nicho neurogênico periventricular adulto.

REFERÊNCIAS*

- ALFARO-CERVELLO, C. et al. Biciliated ependymal cell proliferation contributes to spinal cord growth. **J. Comp. Neurol.**, v. 520, n. 15, p. 3528-3552, 2012.
- ALLEN, E. Cessation of mitosis in the central nervous system of the albino rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 22, p. 547-568, 1912.
- ALTMAN, J. Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. **Anat. Rec.**, v. 145, p. 573-591, 1963.
- BRAZEL, C. et al. Roles of the mammalian subventricular zone in brain development. **Prog. Neurobiol.**, v. 69, n. 1, p. 49-69, 2003.
- BREUNIG, J. J.; ARELLANO, J. I.; RAKIC, P. Cilia in the brain: going with the flow. **Nat. Neurosci.**, v. 13, n. 6, p. 654-655, 2010.
- CAMPBELL, N. R. et al. Nicotinic control of adult-born neuron fate. **Biochem. Pharmacol.**, v. 82, n. 8, p. 820-827, 2011.
- CARLÉN, M. et al. Forebrain ependymal cells are Notch-dependent and generate neuroblasts and astrocytes after stroke. **Nat. Neurosci.**, v. 12, n. 3, p. 259-267, 2009.
- CHIASSEON, B. et al. Adult mammalian forebrain ependymal and subependymal cells demonstrate proliferative potential, but only subependymal cells have neural stem cell characteristics. **J. Neurosci.**, v. 19, n. 11, p. 4462-4471, 1999.
- CHOJNACKI, A.; MAK, G.; WEISS, S. Identity crisis for adult periventricular neural stem cells: subventricular zone astrocytes, ependymal cells or both? **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 10, n. 2, p. 153-163, 2009.
- CHUNG, S. et al. The melanin-concentrating hormone system modulates cocaine reward. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 106, n. 16, p. 6772-6777, 2009.
- CORBIN, J.; NERY, S.; FISHELL, G. Telencephalic cells take a tangent: non-radial migration in the mammalian forebrain. **Nat. Neurosci.**, v. 4 Suppl, p. 1177-1182, 2001.
- COSKUN, V. et al. CD133+ neural stem cells in the ependyma of mammalian postnatal forebrain. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 105, n. 3, p. 1026-1031, 2008.

* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

DALLVECHIA-ADAMS, S.; KUCHAR, M. J.; SMITH, Y. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide projections in the ventral midbrain: colocalization with gamma-aminobutyric acid, melanin-concentrating hormone, dynorphin, and synaptic interactions with dopamine neurons. **J. Comp. Neurol.**, v. 448, n. 4, p. 360-372, 2002.

DEL BIGIO, M. Ependymal cells: biology and pathology. **Acta Neuropathol.**, v. 119, n. 1, p. 55-73, 2010.

DINOPOULOS, A.; DORI, I. The development of the serotonergic fiber network of the lateral ventricles of the rat brain: a light and electron microscopic immunocytochemical analysis. **Exp. Neurol.**, v. 133, n. 1, p. 73-84, 1995.

DOETSCH, F. et al. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. **Cell**, v. 97, n. 6, p. 703-716, 1999.

DOETSCH, F.; GARCÍA-VERDUGO, J.; ALVAREZ-BUYLLA, A. Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain. **J. Neurosci.**, v. 17, n. 13, p. 5046-5061, 1997.

DOETSCH, F.; GARCÍA-VERDUGO, J.; ALVAREZ-BUYLLA, A. Regeneration of a germinal layer in the adult mammalian brain. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 96, n. 20, p. 11619-11624, 1999.

DOUGLASS, J.; MCKINZIE, A. A.; COUCEYRO, P. PCR differential display identifies a rat brain mRNA that is transcriptionally regulated by cocaine and amphetamine. **J. Neurosci.**, v. 15, n. 3 Pt 2, p. 2471-2481, 1995.

ELIAS, C. F. et al. Characterization of CART neurons in the rat and human hypothalamus. **J. Comp. Neurol.**, v. 432, n. 1, p. 1-19, 2001.

FERRAZ DE CARVALHO, C.; WATANABE, I.; DE SOUZA, R. Correlative scanning and transmission electron microscopic study on the ependymal surface of Cebus apella. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v. 44, n. 4, p. 334-340, 1986.

FRANKLIN, K. B. J.; PAXINOS, G. **The mouse brain in stereotaxic coordinates**. 3rd edition. New York: Academic Press Elsevier, 2008. [1 v.]

FUENTEALBA, L. C.; OBERNIER, K.; ALVAREZ-BUYLLA, A. Adult neural stem cells bridge their niche. **Cell Stem Cell**, v. 10, n. 6, p. 698-708, 2012.

GARCÍA-VERDUGO, J. et al. Architecture and cell types of the adult subventricular zone: in search of the stem cells. **J. Neurobiol.**, v. 36, n. 2, p. 234-248, 1998.

GLEASON, D. et al. Ependymal stem cells divide asymmetrically and transfer progeny into the subventricular zone when activated by injury. **Neuroscience**, v. 156, n. 1, p. 81-88, 2008.

GOETZ, S. C.; ANDERSON, K. V. The primary cilium: a signalling centre during vertebrate development. **Nat. Rev. Genet.**, v. 11, n. 5, p. 331-344, 2010.

GROENEWEGEN, H. J. et al. Convergence and segregation of ventral striatal inputs and outputs. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 877, p. 49-63, 1999.

HAAN, N. et al. Fgf10-expressing tanycytes add new neurons to the appetite/energy-balance regulating centers of the postnatal and adult hypothalamus. **J. Neurosci.**, v. 33, n. 14, p. 6170-6180, 2013.

HAN, Y. et al. Hedgehog signaling and primary cilia are required for the formation of adult neural stem cells. **Nat. Neurosci.**, v. 11, n. 3, p. 277-284, 2008.

HUBERT, G. W. et al. CART peptides as modulators of dopamine and psychostimulants and interactions with the mesolimbic dopaminergic system. **Biochem. Pharmacol.**, v. 75, n. 1, p. 57-62, 2008.

HÖGLINGER, G. U. et al. Origin of the dopaminergic innervation of adult neurogenic areas. **J. Comp. Neurol.**, v. 522, n. 10, p. 2336-2348, 2014.

IHRIE, R. A.; ALVAREZ-BUYLLA, A. Lake-front property: a unique germinal niche by the lateral ventricles of the adult brain. **Neuron**, v. 70, n. 4, p. 674-686, 2011.

IMIG, C. et al. The morphological and molecular nature of synaptic vesicle priming at presynaptic active zones. **Neuron**, v. 84, n. 2, p. 416-431, 2014.

JAWORSKI, J. N. et al. Injection of CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript) peptide into the nucleus accumbens reduces cocaine self-administration in rats. **Behav. Brain Res.**, v. 191, n. 2, p. 266-271, 2008.

KAZANIS, I. The subependymal zone neurogenic niche: a beating heart in the centre of the brain: how plastic is adult neurogenesis? Opportunities for therapy and questions to be addressed. **Brain**, v. 132, n. Pt 11, p. 2909-2921, 2009.

KELLEY, A. E. et al. Corticostriatal-hypothalamic circuitry and food motivation: integration of energy, action and reward. **Physiol. Behav.**, v. 86, n. 5, p. 773-795, 2005.

KIM, Y. et al. Dopamine stimulation of postnatal murine subventricular zone neurogenesis via the D3 receptor. **J. Neurochem.**, v. 114, n. 3, p. 750-760, 2010.

KLEMPIN, F. et al. Serotonin is required for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. **J. Neurosci.**, v. 33, n. 19, p. 8270-8275, 2013.

KOKOEVA, M. V.; YIN, H.; FLIER, J. S. Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance. **Science**, v. 310, n. 5748, p. 679-683, 2005.

KRIEGSTEIN, A.; ALVAREZ-BUYLLA, A. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. **Annu. Rev. Neurosci.**, v. 32, p. 149-184, 2009.

LANDGREN, H.; CURTIS, M. Locating and labeling neural stem cells in the brain. **J. Cell Physiol.**, v. 226, n. 1, p. 1-7, 2010.

LAO, C. L.; LU, C. S.; CHEN, J. C. Dopamine D(3) receptor activation promotes neural stem/progenitor cell proliferation through AKT and ERK1/2 pathways and expands type-B and -C cells in adult subventricular zone. **Glia**, v. 61, n. 4, p. 475-489, 2013.

LENNINGTON, J. B. et al. Midbrain dopamine neurons associated with reward processing innervate the neurogenic subventricular zone. **J. Neurosci.**, v. 31, n. 37, p. 13078-13087, 2011.

LUO, Y. et al. CART peptide induces neuroregeneration in stroke rats. **J. Cereb. Blood. Flow Metab.**, v. 33, n. 2, p. 300-310, 2013.

MERKLE, F. et al. Radial glia give rise to adult neural stem cells in the subventricular zone. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 101, n. 50, p. 17528-17532, 2004.

MIKKELSEN, J. D.; HAY-SCHMIDT, A.; LARSEN, P. J. Central innervation of the rat ependyma and subcommissural organ with special reference to ascending serotonergic projections from the raphe nuclei. **J. Comp. Neurol.**, v. 384, n. 4, p. 556-568, 1997.

MIRZADEH, Z. et al. The subventricular zone en-face: wholemount staining and ependymal flow. **J. Vis. Exp.**, n. 39, 2010.

MIRZADEH, Z. et al. Cilia organize ependymal planar polarity. **J. Neurosci.**, v. 30, n. 7, p. 2600-2610, 2010.

MIRZADEH, Z. et al. Neural stem cells confer unique pinwheel architecture to the ventricular surface in neurogenic regions of the adult brain. **Cell Stem Cell**, v. 3, n. 3, p. 265-278, 2008.

MITRO, A.; PALKOVITS, M. Morphology of the rat brain ventricles, ependyma, and periventricular structures. **Bibl. Anat.**, n. 21, p. 1-110, 1981.

MOLLA-HERMAN, A. et al. The ciliary pocket: an endocytic membrane domain at the base of primary and motile cilia. **J. Cell Sci.**, v. 123, n. 10, p. 1785-1795, 2010.

MORSHEAD, C. et al. Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. **Neuron**, v. 13, n. 5, p. 1071-1082, 1994.

MORSHEAD, C.; VAN DER KOOY, D. Postmitotic death is the fate of constitutively proliferating cells in the subependymal layer of the adult mouse brain. **J. Neurosci.**, v. 12, n. 1, p. 249-256, 1992.

MULLIER, A. et al. Differential distribution of tight junction proteins suggests a role for tanycytes in blood-hypothalamus barrier regulation in the adult mouse brain. **J. Comp. Neurol.**, v. 518, n. 7, p. 943-962, 2010.

NOONAN, M. A. et al. Withdrawal from cocaine self-administration normalizes deficits in proliferation and enhances maturity of adult-generated hippocampal neurons. **J. Neurosci.**, v. 28, n. 10, p. 2516-2526, 2008.

PATEL, D. A.; BOOZE, R. M.; MACTUTUS, C. F. Prenatal cocaine exposure alters progenitor cell markers in the subventricular zone of the adult rat brain. **Int. J. Dev. Neurosci.**, v. 30, n. 1, p. 1-9, 2012.

PFENNINGER, C. et al. CD133 is not present on neurogenic astrocytes in the adult subventricular zone, but on embryonic neural stem cells, ependymal cells, and glioblastoma cells. **Cancer Res.**, v. 67, n. 12, p. 5727-5736, 2007.

PLOTNIKOVA, O. V.; PUGACHEVA, E. N.; GOLEMIS, E. A. Primary cilia and the cell cycle. **Methods Cell Biol.**, v. 94, p. 137-160, 2009.

PONTI, G. et al. Cell cycle and lineage progression of neural progenitors in the ventricular-subventricular zones of adult mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 110, n. 11, p. E1045-E1054, 2013.

REYNOLDS, E. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. **J. Cell Biol.**, v. 17, p. 208-212, 1963.

RICHARDS, J. G. et al. Demonstration of supra-ependymal 5-HT nerve fibres in human brain and their immunohistochemical identification in rat brain. **J. Physiol. (Paris)**, v. 77, n. 2-3, p. 219-224, 1981.

RODRIGUES, B. C.; CAVALCANTE, J. C.; ELIAS, C. F. Expression of cocaine- and amphetamine-regulated transcript in the rat forebrain during postnatal development. **Neuroscience**, v. 195, p. 201-214, Nov 2011.

ROGGE, G. et al. CART peptides: regulators of body weight, reward and other functions. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 9, n. 10, p. 747-758, 2008.

ROJCZYK-GOŁĘBIEWSKA, E.; PAŁASZ, A.; WIADERKIEWICZ, R. Hypothalamic subependymal niche: a novel site of the adult neurogenesis. **Cell Mol. Neurobiol.**, v. 34, n. 5, p. 631-642, 2014.

SCHINDLER, A. G. et al. Stress produces aversion and potentiates cocaine reward by releasing endogenous dynorphins in the ventral striatum to locally stimulate serotonin reuptake. **J. Neurosci.**, v. 32, n. 49, p. 17582-17596, 2012.

SCHWARTZ, J. H. Neurotransmitters. In: KANDEL, E. T.; SCHWARTZ, J. H., *et al* (Ed.). **Principles of Neural Science**. New York: McGraw-Hill, v.1, 2000. cap. 15, p. 280-297.

SCHWARTZ, M. W. *et al*. Central nervous system control of food intake. **Nature**, v. 404, n. 6778, p. 661-671, 2000.

SHEN, Q. *et al*. Adult SVZ stem cells lie in a vascular niche: a quantitative analysis of niche cell-cell interactions. **Cell Stem Cell**, v. 3, n. 3, p. 289-300, 2008.

SHEPARD, G. **The synaptic organization of the brain**. 4th. New York: Oxford University Press, 2004. 709 p.

SPASSKY, N. *et al*. Adult ependymal cells are postmitotic and are derived from radial glial cells during embryogenesis. **J. Neurosci.**, v. 25, n. 1, p. 10-18, 2005.

STANLEY, S. A. *et al*. Actions of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide on regulation of appetite and hypothalamo-pituitary axes in vitro and in vivo in male rats. **Brain Res.**, v. 893, n. 1-2, p. 186-194, 2001.

TAKAHASHI, T.; NOWAKOWSKI, R.; CAVINESS, V. J. BUdR as an S-phase marker for quantitative studies of cytokinetic behaviour in the murine cerebral ventricular zone. **J. Neurocytol.**, v. 21, n. 3, p. 185-197, 1992.

TAKAHASHI, T.; NOWAKOWSKI, R.; CAVINESS, V. J. The cell cycle of the pseudostratified ventricular epithelium of the embryonic murine cerebral wall. **J. Neurosci.**, v. 15, n. 9, p. 6046-6057, 1995.

TANAKA, K. Demonstration of intracellular structures by high resolution scanning electron microscopy. **Scan. Electron Microsc.**, n. 2, p. 1-8, 1981.

TAVAZOIE, M. *et al*. A specialized vascular niche for adult neural stem cells. **Cell Stem Cell**, v. 3, n. 3, p. 279-288, 2008.

TONG, C. K. *et al*. Axonal Control of the Adult Neural Stem Cell Niche. **Cell Stem Cell**, v. 14, n. 4, p. 500-511, 2014.

TONG, C.K. *et al*. Primary cilia are required in a unique subpopulation of neural progenitors. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 111, n. 34, p. 12438-12443, 2014.

TRAMONTIN, A. *et al*. Postnatal development of radial glia and the ventricular zone (VZ): a continuum of the neural stem cell compartment. **Cereb. Cortex**, v. 13, n. 6, p. 580-587, 2003.

TANAKA, K. High resolution scanning electron microscopy of the cell. **Biol. Cell.**, v. 65, n. 2, p. 89-98, 1989.

VOORN, P. et al. Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. **Trends Neurosci.**, v. 27, n. 8, p. 468-474, 2004.

WATANABE, I.; KORIYAMA, Y.; YAMADA, E. High-resolution scanning electron microscopic study of the mouse submandibular salivary gland. **Acta. Anat. (Basel)**, v. 143, n. 1, p. 59-66, 1992.

WATANABE, I.; YAMADA, E. The fine structure of lamellated nerve endings found in the rat gingiva. **Arch. Histol. Jpn.**, v. 46, n. 2, p. 173-182, 1983.

WATSON, M. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. **J. Biophys. Biochem. Cytol.**, v. 4, n. 4, p. 475-478, 1958.

WODARZ, A.; HUTTNER, W. Asymmetric cell division during neurogenesis in *Drosophila* and vertebrates. **Mech. Dev.**, v. 120, n. 11, p. 1297-1309, 2003.

XU, Y. et al. Neurogenesis in the ependymal layer of the adult rat 3rd ventricle. **Exp. Neurol.**, v. 192, n. 2, p. 251-264, Apr 2005.

YANG, S. C.; SHIEH, K. R.; LI, H. Y. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript in the nucleus accumbens participates in the regulation of feeding behavior in rats. **Neuroscience**, v. 133, n. 3, p. 841-851, 2005.