Morfometryczna charakterystyka neuronów hipokampa w polach CA1-CA4 u norki amerykańskiej

IWONA ŁUSZCZEWSKA-SIERAKOWSKA, AGATA WAWRZYNIAK*, MARCIN R. TATARA**, ANNA CHARUTA***, JACEK BAJ, RYSZARD MACIEJEWSKI

Katedra Anatomii Człowieka, Zakład Anatomii Prawidłowej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin

*Katedra Anatomii i Histologii Zwierząt, **Katedra Fizjologii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-950 Lublin

***Instytut Nauk o Zdrowiu, Wydział Przyrodniczy, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, ul. Konarskiego 2, 08-110 Siedlce

Otrzymano 21.08.2016

Zaakceptowano 15.09.2016

Łuszczewska-Sierakowska I., Wawrzyniak A., Tatara M. R., Charuta A., Baj J., Maciejewski R.

Morphometric characteristics of neurons in the hippocampal CA1-CA4 fields of the American mink

Summary

The aim of the study was a quantitative and cytoarchitectonic examination of neurons of the ventral hippocampal CA1-CA4 fields in somatically mature female American mink (*Neovison vison*) (N = 6). Brains were removed and examined under a light microscope. The samples were stained by Nissl's standard method, and histological samples were used for morphometric analysis. All ventral hippocampal CA1-CA4 fields were analyzed cytoarchitectonically and morphometrically with a calibrated image analysis system that consisted of a computer equipped with the Cell[^]D software Soft Imaging System (SIS) with an integrated digital camera Colorview IIIu (Soft Imaging System). Morphometric investigations of the pyramidal layer showed that the cells of the hippocampal CA1-CA4 fields in adult female American mink differ in size, shape, cell area, nucleus area and the nucleus-to-cell ratio (in%). The cells of the CA2 field were densely arranged, pyramidal and contained a small amount of cytoplasm; their size was differentiated. They were the largest in size (15.06 μ m) and diameter (14.5 μ m). The cells of the CA1 field had the smallest size (8.5 μ m) and diameter (8.6 μ m). In the CA3 field, small, densely packed neurons dominated, whereas neurons in the CA4 field formed a thin strand of loosely arranged cells. Given the increasing interest in hippocampal areas, it is necessary to continue studies of their morphology and morphometry in healthy animals and in those suffering from neurodegenerative diseases.

Keywords: hippocampus, American mink, morphometric parameters

Układ limbiczny jest układem struktur korowych i podkorowych mózgowia, biorących udział w regulacji zachowań emocjonalnych oraz niektórych stanów, takich jak zadowolenie, przyjemność czy strach. Układ ten odgrywa istotną rolę w procesach zapamiętywania oraz motywacji. Zgodnie z teorią Greya, hipokamp jest częścią systemu biorącego udział w kontrolowaniu i hamowaniu odpowiedzi na bodziec negatywny lub pozbawiony działania nagradzającego (10, 29). Niektórzy autorzy uważają, że hipokamp związany jest z uczeniem, dzięki któremu dochodzi do wygaszenia wcześniej wytworzonej asocjacji pomiędzy bodźcem warunkowym a bezwarunkowym (25, 29). Odgrywa on również istotną rolę w kontrolowaniu procesów zawiadujących zachowaniem apetytywnym, nie wydaje się natomiast wpływać na zachowanie związane z fazą konsumpcyjną. Dzięki temu hipokamp może odgrywać rolę w regulacji sensytyzacji procesów

„chcenia” i w ten sposób wpływać na rozwój uzależnienia. Przypuszcza się, że hipokamp bierze udział w kontrolowaniu wielu procesów behawioralnych, których większość wydaje się uwikłana w patogenezę uzależnień (18, 19). Zwierzęta z uszkodzonymi hipokampami wykazują zwiększoną aktywność motoryczną, zwiększoną impulsywność i zaburzenia habituacji. W badaniach na szczurach stwierdzono powiązania pomiędzy zmianami morfologicznymi a pogorszeniem się funkcji poznawczych. Zmniejszenie liczby synaps zaobserwowano w regionach hipokampa u dorosłych szczurów, które miały trudności w wykonywaniu czynności związanych z pamięcią przestrzenną (8). Brak utraty liczby neuronów obserwowano również w innych obszarach związanych z procesami pamięci. Hipokamp, obok ciała migdałowatego, jest najważniejszą strukturą mózgowia, która zarządza procesami uczenia i pamięci, uczestniczy w reakcjach behawio-

ralnych organizmu, takich jak rozmnażanie, pobieranie pokarmu czy procesach endokrynych (13).

Hipokamp jest filogenetycznie jednym z najstarszych regionów mózgu. Twór hipokampa jest strukturą węchomózgowia, która rozciąga się od okapu ciała modzelowatego (*corpus callosum*) do brzuszno-przysrodkowego kąta półkuli mózgowej. Makroskopowo wygięta część hipokampa wykazuje pewne podobieństwo do rogów i stąd jego łacińska nazwa *cornu ammonis* – róg Ammona. Hipokamp tworzą: podpora (*subiculum*), hipokamp właściwy (*hippocampus proper*) zbudowany z czterech pól CA1-CA4 oraz zakręt zębaty (*gyrus dentatus*) (DG). Pola CA1-CA4, które po raz pierwszy opisał Lorente de No w 1934 r., składają się z czterech warstw: początkowej (*stratum oriens*) (SO), piramidalnej (*stratum pyramidale*) (SP), promienistej (*stratum radiatum*) (SR) oraz jamisto-drobinowej (*stratum lacunosum-moleculare*) (SLM) (7). Podział ten oparty był przede wszystkim na różnicach morfologicznych komórek piramidalnych, które stanowią główną populację neuronów hipokampa. Oprócz neuronów piramidalnych, owalnych i wielobiegunowych w hipokampie znajdują się również komórki glijowe, np. oligodendrocyty i astrocyty. Funkcja hipokampa zmienia się w czasie procesu starzenia. Wraz z wiekiem dochodzi do spadku plastyczności oraz zmniejszenia elastyczności neuronów i zmian neurofizjologicznych, co jest bezpośrednią przyczyną spadku funkcji poznawczych, które są ściśle skorelowane z procesami pamięci. Aktywność neuronalna związana z możliwością przetwarzania informacji jest bezpośrednio zależna od funkcji hipokampa u młodych i dorosłych osobników (23). Ponadto zaobserwowano, że wraz z wiekiem dochodzi do upośledzenia uczenia się przestrzennego oraz maleją zdolności funkcjonalne. Badania z użyciem ilościowych metod stereologicznych wykazały, że u szczurów (18, 27), małp (16) i ludzi (26) całkowita liczba komórek ziarnistych DG i neuronów piramidalnych w polach CA1 i CA3 pozostaje niezmienna przez całą długość życia (20). Według badań Rasmussena i wsp. (18), na modelach zwierzęcych wykazano, że utrata neuronów w tych obszarach nie jest związana ze zmniejszeniem zdolności uczenia się i osłabieniem pamięci wraz z wiekiem osobników. Na przykład u szczurów liczba neuronów hipokampa jest porównywalna w poszczególnych polach młodych i starszych osobników bez zmian ubytków pamięci przestrzennej (18). Badania behawioralne wykazują, że przebieg procesów nauki i zapamiętywania przetwarzane przez hipokamp zmieniają się znacznie z wiekiem osobników. Dotychczas żadne pomiary morfometryczne tworów hipokampa nie zostały przeprowadzone u norki amerykańskiej (*Neovison vison*), zarówno u samic, jak i u samców.

Celem badań była ilościowa ocena wybranych parametrów morfometrycznych neuronów w poszczególnych warstwach w polach CA1-CA4 hipokampa brzuszno-przysrodkowego samicy norki amerykańskiej.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 6 dojrzałych somatycznie samicach norki amerykańskiej (*Neovison vison*) pochodzących ze specjalistycznego gospodarstwa hodowlanego. Masa ciała samic wynosiła $1,25 \pm 0,65$ kg, natomiast masa mózgów wynosiła $18,5 \pm 0,76$ g. Mózgi wypreparowano i utrwalano w zbuforowanej formalinie, a następnie odwadniano w szeregu alkoholu etylowego o wzrastających stężeniach i zatapiano w bloczki parafinowe. Bloczki parafinowe cięto przy użyciu mikrotomu celem uzyskania skrawków o grubości około 20 μm i barwiono metodą Nissla (6, 7). Analizy morfometryczne zdjęć preparatów histologicznych dokonano przy użyciu komputerowego analizatora obrazu w programie Cell[^]D Soft Imaging System (SIS) z podłączoną kamerą digital camera Colorview IIIu (Soft Imaging System).

Parametry morfometryczne neuronów. Przy pomocy analizy morfometrycznej dokonano pomiarów neuronów poszczególnych warstw w polach CA1-CA4 w hipokampie brzuszno-przysrodkowym u norki amerykańskiej. Oceniano długość i szerokość neuronów w poszczególnych warstwach (SO, SP, SR i SLM) pól CA1-CA4, mierzeniu podlegały całe neurony o wyraźnie zaznaczonym zarysie jądra i jąderka. W każdym neuronie określano następujące parametry morfometryczne: średnią długość komórek/ μm (w długiej osi ciała), średnią szerokość komórek/ μm (w krótkiej osi ciała), średni rozmiar neuronów/ μm , pole powierzchni ciała komórkowego/ μm^2 , pole powierzchni jądra komórkowego/ μm^2 , średnicę komórek/ μm , obwód komórek/ μm oraz wskaźnik jądrowo-komórkowy.

Analiza statystyczna. Wyniki podano jako średnie arytmetyczne wraz z odchyleniem standardowym ($\pm$ SD). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej jednoczynnikową analizą wariancji (ANOVA). Istotność różnic oceniano testem post-hoc Duncana przy $p < 0,05$.

Wyniki i omówienie

Upośledzenie funkcji hipokampa związane jest z występowaniem wielu zaburzeń funkcjonalnych ośrodkowego układu nerwowego (OUN) oraz charakteryzuje się utratą liczby neuronów i zmianami ich morfologii, co przekłada się na zaburzenia procesów pamięci i uczenia. Ma to miejsce np. w chorobie Alzheimera (AD) (11), padaczce (30), demencji (11), schizofrenii (9), depresji (17) lub płasawicy Huntingтона (24). Hipokamp właściwy został przebadany u człowieka oraz licznych zwierząt doświadczalnych (2, 3, 6, 14, 21). Z przeprowadzonych wcześniejszych badań wynika, że najbardziej uzasadniony jest podział hipokampa właściwego dokonany przez Blackstada u szczura (2). W badaniach własnych analizę morfometryczną uzupełniono o dane cytoarchitektoniczne. Analiza topograficzna u norki amerykańskiej wykazała, że hipokamp brzuszno-przysrodkowy ma strukturę warstwową (ryc. 1a). Każda z tych warstw ma określone położenie, grubość oraz posiada niejednorodną populację neuronów. Badania własne koncentrowały się na pomiarach wartości parametrów morfometrycznych poszczególnych warstw w polach CA1-CA4 hipokampa brzuszno-przysrodkowego u doro-

Ryc. 1. a) Struktura hipokampa brzusznego (pola CA1-CA4) oraz DG u norki amerykańskiej, b) ramka liczenia neuronów. Barwienie metodą Nissla

Objaśnienia: N – neuron, OLG – oligodendrocyt

słych zwierząt (ryc. 1a, b). Analiza morfometryczna wykazała, że neurony w hipokampie we wszystkich polach CA1-CA4 różnią się w odniesieniu do wielkości, kształtu, powierzchni komórek i obszaru jądra komórkowego. Pomiary morfometryczne wykazały nieistotne różnice pomiędzy neuronami w polach CA1 i CA4 (ryc. 2, 3, 4).

Na podstawie badań własnych wykazano, że w hipokampie brzuszno u norki amerykańskiej występują trzy rodzaje neuronów: piramidalne, owalne i wielobiegunowe. Neurony piramidalne są obecne we wszystkich warstwach, ale dominującą populację tworzą w warstwie piramidalnej (SP), pola CA1-CA4 podobnie jak u krowy i szczura (3, 6). Neurony hipokampa posiadają spolaryzowany kształt, a ich dendryty odchodzące od ciała komórkowego tworzą struktury w wyglądzie przypominające stożki. Dendrytyczne rozgałęzienia neuronów piramidalnych hipokampa odgrywają ważną rolę w tworzeniu i regulacji łączności pomiędzy neuronami oraz plastycznością synaptyczną. W neuronach piramidalnych ich dendryty dają dużą liczbę telodendriów, natomiast dendryty drobnych neuronów ziarnistych posiadają tylko nieliczne zakończenia. Taka morfologia komórek może być spowodowana tendencją do rozprzestrzeniania się włókien nerwowych w kierunku warstw włókien wejściowych do utworzenia licznych połączeń synaptycznych.

Przemawia za tym fakt, że położenie większości włókien nerwowych skierowane jest w kierunku równoległym do głównej osi neuronu (8). Neurony warstwy piramidalnej charakteryzują się dużym ciałem komórkowym oraz intensywnie wybarwioną neuroplazmą w porównaniu z neuronami innych warstw. Należą one do grupy neuronów multipolarnych, z reguły są największe z dużą liczbą dendrytów odchodzących od ciała komórkowego, jednak nie zawsze widocznych na preparacie. Mimo tak licznych podo-

bieństw, neurony piramidalne w polach CA1-CA4 są zróżnicowane pod względem wielkości, kształtu, długości oraz szerokości. Neurony owalne, tak jak komórki piramidalne, stanowią liczną populację komórek hipokampa. Ich ciało komórkowe ma zaokrąglony kształt, oraz duże centralnie zlokalizowane jądro komórkowe. Neurony wielobiegunowe występują pomiędzy wspomnianymi wcześniej rodzajami neuronów. Jądro komórkowe tych neuronów zlokalizowane jest najczęściej centralnie, czasami położone ekscentrycznie.

W polu CA1 w warstwie SO neurony tworzyły szeroki pas, były średniej wielkości, luźno ułożone pomiędzy niewielką liczbą komórek glejowych. W warstwie SP neurony wielobiegunowe były największe (14,72 µm) spośród wszystkich warstw pola CA1, ale najmniejsze w porównaniu do neuronów warstwy SP w polach CA2-CA4. W warstwach SR i SLM neurony były najmniejsze, najluźniej upakowane w porównaniu do pozostałych warstw pola CA1 (tab. 1). Długość i szerokość neuronów wielobiegunowych w warstwach SR i SLM nie mogła być oceniana z powodu braku tego rodzaju neuronów. W polu CA2 neurony warstwy SO tworzyły wąskie pasmo w porównaniu do warstwy SO pola CA1. Małe neurony owalne miały wielkość 11,37 µm. Komórki warstwy SP były najgęściej upakowane, największe (15,16 µm),

Tab. 1. Długość i szerokość neuronów w poszczególnych warstwach (SO, SP, SR, SLM) pól CA1-CA4 hipokampa brzusznego u norki amerykańskiej ($\bar{x} \pm SD$)

Parametry	Rodzaj neuronów	Warstwa			
		SO	SP	SR	SLM
Długość	piramidalne	12,55 ± 0,29 ^a	15,16 ± 0,33 ^a	9,88 ± 0,60 ^b	8,99 ± 0,49 ^b
	owalne	11,37 ± 0,31 ^a	10,86 ± 0,43 ^a	7,98 ± 0,44 ^b	7,88 ± 0,65 ^b
	wielobiegunowe	12,40 ± 0,53 ^a	14,72 ± 0,56 ^a	–	–
Szerokość	piramidalne	9,62 ± 0,54 ^a	10,20 ± 0,50 ^a	7,45 ± 0,38 ^b	6,69 ± 0,44 ^b
	owalne	6,85 ± 0,93 ^a	8,99 ± 0,96 ^a	6,15 ± 0,74 ^b	5,26 ± 0,16 ^b
	wielobiegunowe	5,99 ± 0,20 ^a	7,92 ± 0,38 ^a	–	–

Objaśnienie: „–” brak neuronów wielobiegunowych w warstwach SR i SLM; a, b – średnie z różnymi oznaczeniami literowymi różnią się istotnie dla $p < 0,05$

Ryc. 2. Wiekłość (μm), średnica komórek (μm) i obwód komórek (μm) neuronów piramidalnych w polu CA1-CA4 hipokampa brzuszego

Objaśnienie: a, b – średnie z różnymi oznaczeniami literowymi różnią się istotnie dla $p < 0,05$

kształtu piramidального z intensywnie wybarwionym perikarionem. W tej warstwie widoczne były liczne dendryty odchodzące od ciała komórkowego. Neurony w warstwach SR i SLM były podobnie ułożone jak neurony w warstwach SR i SLM w polu CA1. Warstwy te posiadały małe, luźno ułożone neurony ziarniste, pomiędzy którymi występowały pojedyncze, średniej wielkości komórki. Warstwy SR oraz SLM składały się w przewadze z komórek glejowych (tab. 1, ryc. 2, 3, 4). W polu CA2 w porównaniu do pozostałych pól widocznych było więcej dendrytów odchodzących od perikarionów tych neuronów. Taka przestrzenna organizacja neuronów sugeruje możliwość subregionalnej cytoarchitektoniki, która znalazła potwierdzenie w badaniach fizjologicznych (4, 5). W polu CA3 w warstwach SO, SR i SLM neurony miały podobny wygląd i ułożenie, jak w warstwach SO, SR i SLM pola CA1-CA2. Znaczenie pola CA3 hipokampa jest dobrze udokumentowane w kodowaniu i odzyskiwaniu pamięci (12, 22). Struktura i łączność neuronów piramidalnych z pola CA3 różni się zasadniczo od neuronów piramidalnych pozostałych pól hipokampa (27). W warstwach SR i SLM pola CA3 hipokampa przeważały małe (7,88 μm), owalnego kształtu, o intensywnie wybarwionych perikarionach (tab. 1, ryc. 2, 3, 4). W polu CA4 w warstwach SO, SR i SLM neurony tworzyły wąskie pasmo luźno ułożone i posiadały

Ryc. 3. Pole komórki (μm²) i pole powierzchni jądra komórkowego (μm²) neuronów piramidalnych w polu CA1-CA4 hipokampa brzuszego

Objaśnienie: a, b – średnie z różnymi oznaczeniami literowymi różnią się istotnie dla $p < 0,05$

niewielkiego rozmiaru ciała komórkowe (10,86 μm), natomiast neurony w warstwie SP były bardziej wydłużone oraz słabiej wybarwione w porównaniu z neuronami warstwy SP w polach CA2 i CA3 (tab. 1, ryc. 2, 3, 4). Największa średnia wielkość pola powierzchni komórki w polu CA2 wynosiła 157,1 μm², natomiast największą średnią wielkość pola powierzchni jądra komórkowego (106,1 μm²) cechowały się neurony piramidalne w polu CA2 (ryc. 3). W polach CA1-CA4 wskaźnik jądrowo-komórkowy wahał się w granicach 56,62-67,53% (ryc. 4).

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że w poszczególnych polach CA1-CA4 hipokampa brzuszego u norki amerykańskiej nie występują istotne statystycznie różnice dotyczące badanych parametrów ($p > 0,05$). Diagramy wykonano na podstawie wyników w warstwie piramidальной pól CA1-CA4 hipokampa brzuszego norki amerykańskiej zamieszczonych na ryc. 2, 3, 4. Różnice wartości średnich długości i szerokości neuronów piramidalnych, owalnych i wielobiegunkowych warstw SO, SP SR i SLM w obszarach CA1, CA2, CA3 i CA4 nie były istotne statystycznie ($p > 0,05$) i wyniki badań zamieszczono w tab. 1.

Funkcja hipokampa związana jest z wieloma procesami, takimi jak: hamowanie aktywności, zwiększenie negatywnego nastawienia afektywnego, ocena ryzyka oraz różne aspekty uczenia się i pamięci (15). W rozwoju ewolucyjnym u małp doszło do zwiększonego powiązania pomiędzy hipokampem i korą mózgową, co wskazuje na rozwój i specjalizację półkul mózgowych (1). Sugeruje się, że morfologiczna asymetria może być funkcjonalnie związana z większą liczbą neuronów lewego hipokampa w stosunku do prawego, co jest odbiciem dodatkowej zdolności funkcjonalnej lewego hipokampa. Różnice obserwowane w mózgowiu człowieka w badaniach morfometrycznych, zwłaszcza w przypadku schorzeń neurodegeneracyjnych stanowią odniesienie do licznych badań prowadzonych u róż-

Ryc. 4. Wskaźnik jądrowo-komórkowy (%) w polach CA1-CA4 hipokampa brzuszego

nych gatunków zwierząt. W związku ze wzrostem zainteresowania obszarem hipokampa konieczne są dalsze badania dotyczące nie tylko morfologii tego obszaru u osobników zdrowych oraz cierpiących na schorzenia neurodegeneracyjne, ale również badania morfometryczne. W przyszłości analizy morfometryczne posłużą do porównania asymetrii pomiędzy hipokampem lewym i prawym oraz przyczynią się do lepszego zrozumienia morfologii zmian zachodzących w OUN.

Piśmiennictwo

1. Amaral D. B., Insausti R., Cowan W. M.: The commissural connections of the monkey hippocampal formation. *J. Comp. Neurol.* 1984, 224, 307-336.
2. Atallah H. E., Frank M. J., O'Reilly R. C.: Hippocampus, cortex, and basal ganglia: insights from computational models of complementary learning systems. *Neurobiol. Learn. Mem.* 2004, 82, 253-267.
3. Blackstad T. W.: Commissural connections of the hippocampal region in the rat, with special reference to their mode of termination. *J. Comp. Neurol.* 1956, 105, 417-537.
4. Csicsvari J., Hirase H., Mamiya A., Buzsaki G.: Ensemble patterns of hippocampal CA3-CA1 neurons during sharp wave-associated population events. *Neuron* 2000, 28, 585-594.
5. Csicsvari J., Jamieson B., Wise K. D., Buzsaki G.: Mechanisms of gamma oscillations in the hippocampus of the behaving rat. *Neuron* 2003, 37, 311-322.
6. Eustachiewicz R.: Topografia i cytoarchitektonika tworów hipokampa (formatio hippocampi) u krowy. *Ann. UMCS sec. DD* 1996, 51, 25-40.
7. Eustachiewicz R., Łuszczewska I.: Morfolofologia i topografia tworów hipokampa (formatio hippocampi) u lisa polarnego (*Alopex lagopus*). *Ann. UMCS sec. DD* 1999, 54, 33-45.
8. Flood D. G., Coleman P. D.: Dendritic regression dissociated from neuronal death but associated with partial deafferentiation in aging rat supraoptic nucleus. *Neurobiol. Aging* 1993, 14, 575-587.
9. Gattaz W. F., Valente K. D., Raposo N. R., Vincenti S., Talib L. L.: Increased PLA(2) activity in the hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy and psychosis. *J. Psychiatr. Res.* 2011, 45, 1617-1620.
10. Gray J. A.: Precise of the neuropsychology of anxiety: an enquiry in the functions of the septo-hippocampal system. *Behav. Brain Sci.* 1982, 5, 469-534.
11. Korbo L., Amrein L., Lipp H. P., Wolfer D., Regeur L., Oster S., Pakkenberg B.: No evidence for loss of hippocampal neurons in non-Alzheimer dementia patients. *Acta Neurol. Scand.* 2004, 109, 132-139.
12. Kunec S., Hasselmo M. E., Kopell N.: Encoding and retrieval in the CA3 region of the hippocampus: a model of theta-phase separation. *J. Neurophysiol.* 2005, 94, 70-82.
13. Lorente de Nó R.: Studies of the structure of the cerebral cortex. I. The area entorhinalis. *J. Psychol. Neurol.* 1933, 45, 381-438.
14. Malmkvist J., Brix B., Henningsen K., Wiborg O.: Hippocampal neurogenesis increase with stereotypic behavior in mink (*Neovison vison*). *Behav. Brain Res.* 2012, 229, 359-364.
15. Mc Naughton N.: The role of the subiculum within the behavioural inhibition system. *Behav. Brain Res.* 2006, 174, 232-250.
16. Peters A., Rosene D. L., Moss M. B., Kemper T. L., Abraham C. R., Tigges J., Albert M. S.: Neurobiological bases of age-related cognitive decline in the rhesus monkey. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1996, 55, 861-874.
17. Printha K., Hulathduwa S. R., Samarasinghe K., Suh Y. H., De Silva K. R.: Apoptosis in subicular neurons: A comparison between suicide and Addison's disease. *Indian J. Psychiatry* 2009, 51, 276-279.
18. Rasmussen T., Schliemann T., Sorensen J. C., Zimmer J., West M. J.: Memory impaired aged rats: no loss of principal hippocampal and subicular neurons. *Neurobiol. Aging* 1996, 17, 143-147.
19. Rubin R. D., Watson P. D., Duff M. C., Cohen N. J.: The role of the hippocampus in flexible cognition and social behavior. *Front. Hum. Neurosci.* 2014, 8, 1-15.
20. Simic G., Kostovic I., Winblad B., Bogdanovic N.: Volume and number of neurons of the human hippocampal formation in normal aging and Alzheimer's disease. *J. Comp. Neurol.* 1997, 379, 482-494.
21. Szilagyi T., Orban-Kis K., Horvath E., Metz J., Pap Z., Pavai Z.: Morphological identification of neuron types in the rat hippocampus. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 2011, 52, 15-20.
22. Treves A.: Computational constraints between retrieving the past and predicting the future, and the CA3-CA1 differentiation. *Hippocampus* 2004, 14, 539-556.
23. Vida I., Frotscher M.: A hippocampal interneuron associated with the mossy fiber system. *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 2000, 97, 1275-1280.
24. Walker T. L., Turnbull G. W., Mackay E. W., Hannan A. J., Bartlett P. F.: The latent stem cell population is retained in the hippocampus of transgenic Huntington's disease mice but not wild-type mice. *PLoS One* 2011, 6, 1-7.
25. Wang R. Q., Giovanni A., Kafka S. H., Corbett R.: Neonatal hippocampal lesions induced hyperresponsiveness to amphetamine: behavioral and in vivo microdialysis studies. *Behav. Brain Res.* 1996, 78, 211-223.
26. West M. J.: Regionally specific loss of neurons in the aging human hippocampus. *Neurobiol. Aging* 1993, 14, 287-293.
27. West M. J.: Stereological studies of the hippocampus: a comparison of the hippocampal subdivisions of diverse species including hedgehogs, laboratory rodents, wild mice and men. *Progr. Brain Res.* 1990, 83, 13-36.
28. Witter M. P.: Intrinsic and extrinsic wiring of CA3: indications for connectional heterogeneity. *Learn. Mem.* 2007, 14, 705-713.
29. Zeidman P., Lutti A., Maguire E. A.: Investigating the functions of subregions within anterior hippocampus. *Cortex* 2015, 73, 240-256.
30. Zhang S., Khanna S., Tang F. R.: Patterns of hippocampal neuronal loss and axon reorganization of the dentate gyrus in the mouse pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci. Res.* 2009, 87, 1135-1149.

Adres autora: dr Iwona Łuszczewska-Sierakowska, ul. Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin; e-mail: iwona.luszczewska-sierakowska@umlub.pl