

## ANALIZA FRAKTALNA W BADANIU MORFOLOGII KOMÓREK TKANKI NERWOWEJ: ZASTOSOWANIA

### FRACTAL ANALYSIS OF NEURAL AND GLIAL CELL MORPHOLOGY: APPLICATIONS

**Abstract.** In the last 20 years fractal analysis has become an effective tool for the quantitative description of cell morphology. It is particularly useful for studying neurons and glial cells, due to its very complex shapes. The method is often used in research on the cellular development and evolution. Moreover, the analysis is useful to study the differences between normal and pathologically changed tissue.

**Key words:** fractal dimension, neurons, astrocytes, oligodendrocytes, microglia, brain evolution

## 1. Wstęp

Analiza fraktalna daje możliwość ilościowego opisu morfologii komórek. Aby jednak przekonać biologów o celowości jej stosowania nie wystarczy wykazać, że komórkom tkanki nerwowej można przypisać określoną wartość wymiaru fraktalnego. Dowolne kształty można analizować

<sup>1</sup> Zakład Informatyki Przemysłowej, Wydział Inżynierii Metali i Informatyki Przemysłowej, Akademia Górniczo-Hutnicza, Kraków

<sup>2</sup> Katedra Automatyki i Robotyki, Wydział Elektrotechniki, Automatyki, Informatyki i Elektroniki, Akademia Górniczo-Hutnicza, Kraków

<sup>3</sup> Zakład Neurofarmakologii Molekularnej, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków

<sup>4</sup> Zakład Neuroanatomii, Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

przy pomocy geometrii fraktalnej, i wcale nie musi to prowadzić do jakichkolwiek wartościowych odkryć. Szczególnie dotyczy to obiektów biologicznych, które są samopodobne, czyli spełniają podstawowy warunek fraktalności, jedynie w bardzo ograniczonym zakresie. Konieczne jest znalezienie takich problemów, które bez pomocy analizy fraktalnej byłyby niemożliwe, albo przynajmniej trudniejsze do badania.

System nerwowy zbudowany jest nie tylko z komórek nerwowych, ale zawiera także szereg typów komórek glejowych (Kettenmann i Ransom, 2004; Wolff i Chao, 2004). Pod względem stopnia komplikacji morfologicznej nie ustępują one komórkom nerwowym, a pod względem różnorodności pełnionych funkcji nawet je przewyższają. Podobnie jak w przypadku komórek nerwowych, ich funkcja ma ścisły związek z ich kształtem, toteż ilościowe badania morfometryczne w odniesieniu do tych komórek są równie istotne, jak badania neuronów. Można nawet zaryzykować twierdzenie, że komórki glejowe, podlegające bardziej dynamicznym przemianom morfologicznym niż neurony, stanowią wdzięczniejszy temat badań.

## **2. Komórki nerwowe**

System nerwowy zawiera co najmniej kilkadziesiąt typów komórek nerwowych, różniących się wielkością, pełnionymi funkcjami i oczywiście kształtem. Przynajmniej kilka aspektów związanych z ich morfologią może być badanych przy pomocy analizy fraktalnej.

Pierwszym z nich jest dynamika rozwoju. Jest to najłatwiejszy temat, z tego względu, że w czasie rozwoju zmiany morfologiczne komórek są największe. Na najwcześniejszym etapie neurogenezy, prekursorzy komórek nerwowych to typowe komórki nabłonkowe, o euklidesowych kształtach. Czyli o wymiarze fraktalnym niewiele większym niż 1. Neuroblasty, które zakończyły fazę podziałową i migrują w miejsce przeznaczenia mają kształt ameboidalny, i wymiar fraktalny na poziomie niższym niż 1,2. Gdy komórki znajdują się w odpowiednim dla siebie miejscu zaczynają wytwarzać dendryty i aksony – ich kształt robi się coraz bardziej skomplikowany, a wymiar fraktalny osiąga wartości w zakresie od 1,3 do 1,7. Ten wzrost wydaje się dość oczywisty, i pewnie dlatego stosunkowo niewiele publikacji poświęcono wykorzystaniu analizy fraktalnej do prostego opisu rozwoju (Montague i Friedlander, 1989; Neale i wsp., 1993). W obu wspomnianych pracach obserwowano rozwój neuronów w hodowli tkankowej – prawie nie ma jak dotychczas systematycznych badań

wykorzystujących analizę fraktalną do analizy rozwoju neuronów *in vivo*. Wyjątkiem jest tu praca Takedy i wsp. (1992), w której wykorzystano taką metodę do badania rozwoju ontogenetycznego komórek Purkiniego w mózdku myszy i człowieka.

Znacznie bardziej interesująca jest sytuacja, gdy możemy wykorzystać analizę fraktalną do wykazania wpływu różnych sytuacji na proces rozwoju. Przykładem takich badań jest praca De Simoni i wsp. (2003), w której oszacowanie wymiaru fraktalnego pozwoliło na określenie różnic w morfologii neuronów w organotypowych hodowlach i świeżo izolowanych skrawkach z mózgu. Obie formy badań *in vitro* wykorzystywane są powszechnie w elektrofizjologii czy neurochemii, w doświadczeniach których z powodów technicznych nie da się przeprowadzić na żywych zwierzętach. W tym przypadku analiza fraktalna pozwoliła na wykazanie większej złożoności komórek nerwowych w organotypowych hodowlach, co może mieć znaczenie dla prawidłowej interpretacji uzyskiwanych wyników.

Analiza fraktalna była często wykorzystywana do klasyfikacji komórek. Wiele badań dotyczyło siatkówki, gdzie znajduje się wiele wyraźnie odrębnych morfologicznie typów komórek nerwowych (Amthor, 1988; Morigiwa i wsp., 1989; Wingate i wsp., 1992; Kolb i wsp., 1994; Jelinek i Spence, 1997). Dość łatwo badać ich właściwości elektrofizjologiczne, co daje dogodną możliwość do korelowania morfologii z funkcjami tych komórek (Djamgoz i wsp., 2001).

Szczególnie obiecujące wydają się badania, jak dotąd bardzo nieliczne, które wykorzystują analizę fraktalną do badania zmian ewolucyjnych w mózgu. Przykładem jest praca Portera i wsp. (1991), w której porównywano wymiar fraktalny neuronów piramidowych w różnych warstwach kory motorycznej kota i małpy. Autorzy zaobserwowali między innymi, że u kota w warstwie V neurony mają bardziej złożony kształt niż analogiczne neurony małpy, natomiast w odniesieniu do warstwy III zależność jest odwrotna. Słabą stroną tych badań, podobnie jak wielu innych wczesnych publikacji dotyczących wymiaru fraktalnego neuronów, jest bardzo niewielka grupa analizowanych komórek (31 komórek z mózgu kota i 13 z małpiego). To powoduje, że do wniosków z takich badań należy odnosić się z dużą ostrożnością.

Ta sama grupa badaczy (Smith i wsp., 1993) przeprowadziła analizę komórek Purkiniego w mózdku u 9 gatunków ptaków i ssaków. W tym przypadku stwierdzono stały poziom złożoności tych komórek u badanych gatunków – średni wymiar fraktalny (D) zmieniał się w zakresie od 1,534 (gawron) do 1,589 (człowiek). Ta obserwacja jest zgodna z opinią, że

mózdzek jest strukturą filogenetycznie starą, podlegającą niewielkim przemianom ewolucyjnym u wyższych kręgowców. Jednak we wspomnianej wcześniej pracy Takedy i wsp. (1992), w której oprócz rozwoju ontogenetycznego porównano też wymiar fraktalny u 8 gatunków kręgowców – od minoga do człowieka, stwierdzono znacznie większe zróżnicowania wymiaru fraktalnego. Wartość  $D$  u myszy i człowieka wynosiła odpowiednio 1,76 i 1,86. Biorąc pod uwagę, że różnica w części ułamkowej  $D$  wynosząca 0,1 odpowiada podwojeniu stopnia złożoności, można powiedzieć, że komórki Purkinjego u człowieka mają dwukrotnie bardziej skomplikowane drzewka dendrytyczne niż ich mysie odpowiedniki. Jeszcze większe zróżnicowanie  $D$  między myszą a człowiekiem zaobserwowano w pracy Kraussa i wsp. (1994), tu wartość  $D$  dla tych gatunków wynosiła odpowiednio 1,57 i 1,87. Przyczyny takich różnic mogą być rozmaite. Mogą mieć związek ze sposobem oszacowania wymiaru fraktalnego, jak również z przygotowaniem histochemicznym tkanki. Naszym zdaniem podstawowym powodem jest statystyczna niereprezentatywność badanej populacji komórek. Krauss i wsp. (1994) analizowali tylko 3 komórki na gatunek, natomiast Takeda i wsp. (1992) dla większości badanych gatunków szacowali wymiar fraktalny na podstawie dwóch a niekiedy nawet tylko jednej komórki!

### 3. Oligodendrocyty

Ze względu na mniejsze rozmiary, komórki glejowe są znacznie dogodniejszym materiałem do badań morfometrycznych, zwłaszcza prowadzonych *in vivo*. Jednak jak dotąd możliwość ta została wykorzystana w bardzo ograniczonym zakresie. Oligodendrocyty to komórki glejowe, których podstawową funkcją jest tworzenie osłonek mielinowych wokół aksonów, co ma podstawowe znaczenie dla efektywności i szybkości przekazywania impulsów w szlakach nerwowych.

Wszystkie badania oligodendrocytów, wykorzystujące analizę fraktalną, zostały wykonane w hodowli komórkowej. Przykładem mogą być prace Kreider i wsp. (1996) oraz Bernarda i wsp. (2001). W badaniach tych nie tylko obserwowano wzrost wymiaru fraktalnego komórek, ale także udało się wykazać zależność między zwiększaniem stopnia komplikacji morfologicznej, a ekspresją białek charakterystycznych dla kolejnych etapów rozwoju tych komórek, takich jak A2B5, O4, MAG i GAL-C. Badania te dowiodły, że pomiar wymiaru fraktalnego może być

komplementarnym w stosunku do barwień immunocytochemicznych narzędziem służącym do określenia stopnia dojrzałości komórek.

Wiele cennych informacji neurobiolodzy uzyskują z mieszanych hodowli komórkowych. W takich warunkach można obserwować oddziaływania międzykomórkowe, odpowiadające tym, które występują w normalnym mózgu. Morley i wsp. (1997) wykorzystali analizę fraktalną do oceny wpływu astrocytów na rozwój oligodendrocytów w hodowli. Okazało się, że w mieszanych hodowlach oligodendrocyty osiągały mniejszy stopień komplikacji morfologicznej niż takie same komórki w czystej hodowli (wartości D odpowiednio 1,48 i 1,54). Wyniki te dowodzą, że jakieś czynniki wydzielane przez astrocyty mogą kontrolować rozwój morfologiczny oligodendrocytów. Różnice między komórkami hodowanymi w dwóch różnych warunkach były bardzo duże – oligodendrocyty w czystej hodowli miały prawie dwukrotnie większą powierzchnię i zasięg wypustek. Pozostaje więc sprawą otwartą, czy pomiar wymiaru fraktalnego dostarczyłby przydatnych informacji w sytuacji, gdy różnice między komórkami są mniej widoczne.

#### **4. Astrocyty**

Astrocyty to najbardziej różnorodna pod względem kształtów i wszechstronna pod względem pełnionych funkcji kategoria. Od dawna wiadomo, że komórki te odpowiedzialne są między innymi za odżywianie neuronów, za utrzymywanie odpowiedniego stężenia jonów w środowisku pozakomórkowym, i za usuwanie nadmiaru glutaminianu uwalnianego podczas komunikacji synaptycznej (Kettenmann i Ransom, 2004). W większości synaps właśnie ten aminokwas wykorzystywany jest do komunikacji między neuronami. Wiadomo jednak, że nadmiar tej substancji jest dla komórek nerwowych bardzo niebezpieczny, powoduje zbyt silne pobudzenie neuronów, które w konsekwencji może prowadzić do ich zniszczenia. Ale astrocyty nie tylko wspomagają neurony w ich pracy, ale same tworzą sieć komórkową z własnym systemem komunikacji. Informacje między astrocytami przekazywana jest w postaci tak zwanych fal wapniowych. Astrocyty odgrywają istotną rolę w procesach, które tradycyjnie uważane były za domenę neuronów, takich jak na przykład tworzenie śladów pamięciowych. Wiadomo, że podczas uczenia się dochodzi do zmian w strukturze sieci nerwowej. Powstają nowe połączenia synaptyczne, zmieniają się właściwości już istniejących, wydłużają się dendryty. Astrocyty są źródłem czynników wzrostowych, które stymulują te

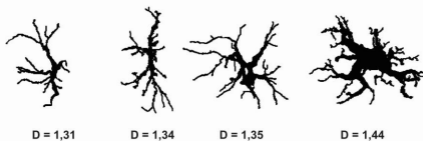
procesy. Ale nie tylko, same również ulegają zmianom podczas uczenia się. W tym także zmianom morfologicznym (Słęczak i wsp., 2006). Możliwość precyzyjnego opisu kierunku i dynamiki takich zmian może być cennym narzędziem pozwalającym na lepsze poznanie zachodzących w mózgu procesów poznawczych.

Podobnie jak w przypadku innych komórek nerwowych i glejowych szereg badań nad astrocytami wykonano w hodowli komórkowej. Smith i Behar (1994) wykazali nie tylko różnice w dynamice rozwoju między astrocytami pobranymi z mózgu i nerwu wzrokowego, ale nawet udało im się stworzyć prosty model matematyczny, opisujący dynamikę zmian wymiaru fraktalnego podczas rozwoju.

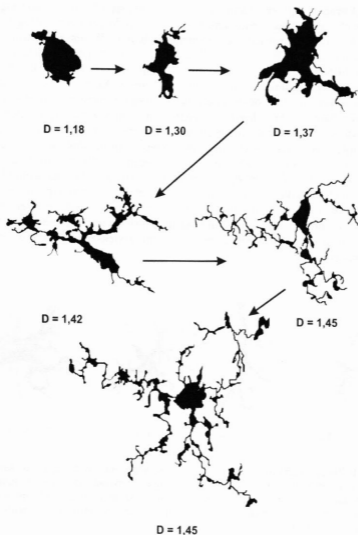
Analiza fraktalna wykorzystywana była do badania astrocytów w mózgu. Wspomnieć tu należy o pracy Senitz i wsp. (1995). Przedmiotem badań były astrocyty pochodzące z ludzkiej kory mózgowej. Autorzy nie tylko starali się opisać zmiany zachodzące w czasie rozwoju, ale także zmiany zachodzące w czasie starzenia się, zarówno normalnego, jak i takiego, któremu towarzyszyła otępienie starcze. Stwierdzono, że starzenie się mózgu powoduje spadek wymiaru fraktalnego astrocytów. Zmniejszenie to było większe w mózgach pochodzących od pacjentów z demencją.

Warto też wspomnieć o pracy Reichenbacha i wsp. (1992). Badali oni wymiar fraktalny różnych typów astrocytów pochodzących z mózgu kilku gatunków ssaków. Szczególnie dokładne badania dotyczyły komórek gleju Müllera – specjalnego rodzaju astrocytów występującego w siatkówce. W przeciwieństwie do typowych astrocytów komórki te mają wydłużony kształt i przebiegają przez całą grubość siatkówki. Z ich analizy wynika, że wymiar fraktalny jest dobrze skorelowany z stosunkiem powierzchni do objętości tych komórek, co z kolei determinuje ich właściwości elektryczne. Konkluzja z omawianej pracy jest taka, że geometria komórek jest dopasowana do efektywnego buforowania prądów potasowych. A jest to jedna z podstawowych funkcji pełnionych przez astrocyty różnych typów. Podobne wyniki ta sama grupa uzyskała w odniesieniu do komórek gleju Bergmanna w mózdzku (Siegel i wsp., 1991). Są to komórki glejowe mające długie wypustki, przechodzące przez całą grubość kory mózdzku i pełniące podobne funkcje jak glej Müllera w siatkówce. W pracy tej przeprowadzono również porównania międzygatunkowe. Interesujące jest obserwacja, że komórki gleju Bergmanna u człowieka miały mniejszy wymiar fraktalny (1,35) niż u makaka (1,44) czy szczura (1,51). Byłaby to odwrotna tendencja ewolucyjna niż ta, którą niektórzy badacze obserwowali w odniesieniu do sąsiadujących z glejem Bergmanna komórek Purkiniego.

Astrocyty są komórkami, które odznaczają się silną reaktywnością we wszelkich sytuacjach patologicznych: po uszkodzeniach mózgu, po udarach, przy chorobach neurodegeneracyjnych. W naszych własnych badaniach zajmowaliśmy się reakcją astrocytów na udar niedokrwienny (Oderfeld-Nowak i wsp., 2003; Sołtys i wsp., 2003). Tego typu sytuacja powoduje szczególnie silne zmiany w części mózgu zwanej rogiem Ammona (pole CA1). Komórki nerwowe ulegają degeneracji, a równocześnie zachodzi bardzo silna glejoza, polegająca na namnażaniu się i hipertrofii astrocytów i komórek mikrogleju. Barwienia immunocytochemiczne pozwoliły nam na wykrycie subpopulacji astrocytów wykazujących ekspresję receptorów TrkA i p75. Są to receptory dla czynnika wzrostu nerwów (NGF). W zdrowych mózgach występują one na komórkach nerwowych i na komórkach, które pod względem kształtu przypominają niedojrzałe astrocyty. Udar niedokrwienny powoduje zwiększenie ekspresji tych receptorów, i szybkie dojrzewanie morfologiczne posiadających je astrocytów, co wyraża się między innymi zwiększeniem ich wymiaru fraktalnego (rys. 1).

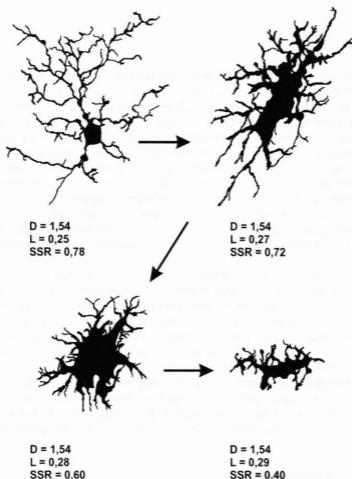


**Rys. 1.** Zmiany kształtu i wymiaru fraktalnego astrocytów wykazujących ekspresję receptora TrkA w polu CA1 mózgu szczura. Pierwsza od lewej to komórka pochodząca ze zdrowego, dorosłego osobnika. Kolejne to komórki po udarze niedokrwiennym, po trzech, siedmiu i czternastu dniach od udaru (na podstawie: Sołtys i wsp., 2003)



**Rys. 2.** Zmiany kształtu i wymiaru fraktalnego komórek mikrogleju w rozwijającej się korze mózgowej szczura. Pierwsza na górze to komórka z mózgu noworodka, kolejne pochodzą od zwierząt 4-, 8-, 14-, 22- i 30-dniowych. Warto zwrócić uwagę, że maksymalny wymiar fraktalny osiągają komórki już w 22 dniu życia. Dalszy rozwój polega na zwiększaniu zasięgu wypustek bez zmiany ich stopnia złożoności (na podstawie: Orłowski i wsp. 2003)





**Rys. 3.** Zmiany kształtu komórek mikrogleju pod udarze niedokrwiennym mózgu. Przedstawione na rysunku komórki mają identyczny wymiar fraktalny, mimo bardzo wyraźnych różnic morfologicznych. Do ich różnicowania mogą być wykorzystane inne parametry wywodzące się z analizy fraktalnej, takie jak lakunarność (L) czy zakres samopodobieństwa (SSR). Komórka w prawym górnym rogu reprezentuje typowy przykład tak zwanego mikrogleju spoczynkowego, wszystkie pozostałe mogą być obserwowane w różnych sytuacjach patologicznych i reprezentują kolejne fazy transformacji między mikroglejem spoczynkowym a ameboidalnym mikroglejem fagocytującym (na podstawie: Sołtys i wsp., 2005).

## **5. Mikroglej**

Komórki mikrogleju tworzą podstawowy system odpornościowy w centralnym systemie nerwowym. W zdrowym mózgu wydają się mało aktywne, czego wyrazem jest określenie "mikroglej spoczynkowy", choć termin ten w dużym stopniu odwzorowuje naszą niewielką wiedzę na temat działania tych komórek w prawidłowej tkance. W jakiegokolwiek sytuacji patologicznej, przy urazie mózgu, infekcji, zatruciu, udarze, dochodzi do bardzo szybkiej i intensywnej aktywacji tych komórek, co przejawia się zarówno zmianami w ich kształcie, jak i namnażaniu się, zwiększeniu aktywności wydzielniczej i uzyskaniu zdolności do fagocytozy.

Komórki mikrogleju wydają się bardzo atrakcyjnym obiektem badań, ze względu na dynamikę i różnorodności zmian morfologicznych, a także rozmiary znacznie mniejsze od innych komórek tkanki nerwowej. Zaskakujące wydaje się więc to, że dotychczas prawie wcale nie wykorzystywano analizy fraktalnej w odniesieniu do tych komórek. Do wyjątków należą nasze badania nad rozwojem mikrogleju (Orłowski i wsp., 2003, rys. 2), oraz nad reakcją tych komórek na uszkodzenie (Sołtys i wsp., 2001) i udar niedokrwienny mózgu (Sołtys i wsp., 2005, rys. 3). Być może jest to spowodowane tym, że reakcja komórek mikrogleju jest tak intensywna i wyraźna, że ilościowe badania morfologiczne wydają się niepotrzebne do obserwowania zmian. Tak jest w istocie w rejonie uszkodzenia czy degeneracji. Nasze badania pokazały jednak, że subtelne zmiany morfologiczne mikrogleju mogą być obserwowane także w rejonach mózgu odległych od miejsca patologii (Sołtys i wsp., 2005). Bez ilościowej analizy morfologicznej zmiany te byłyby niemożliwe do zaobserwowania.

## **6. Podsumowanie**

Analiza fraktalna jest obiecującym, ale ciągle rzadko wykorzystywanym narzędziem w badaniach neurobiologicznych. To samo można zresztą powiedzieć o innych metodach neuromorfometrycznych: o analizie Sholla, analizie topologicznej etc. Niewątpliwie przyczyną tego stanu rzeczy jest duża czasochłonność tego typu badań, a także ciągle jeszcze obserwowany wśród biologów pewien opór wobec wprowadzania metod pochodzących z matematyki. Można jednak spodziewać się, że stopniowo ta sytuacja będzie ulegała zmianom. Między innymi dlatego, że pewnych problemów

biologicznych nie da się rozwiązać w efektywny sposób bez pomocy takich właśnie metod.

Normalne funkcjonowanie mózgu wymaga precyzyjnego współdziałania neuronów, astrocytów, komórek mikrogleju i wielu innych typów komórek. Jakikolwiek zaburzenia w tych interakcjach mogą być przyczyną rozregulowania się systemu nerwowego, których konsekwencją może być na przykład schizofrenia, choroba Alzheimera, lub jakiegokolwiek inne zaburzenie neurologiczne czy psychiczne. Potrafimy bez uciekania się do finezyjnych metod pochodzących z matematyki zdiagnozować zaawansowane symptomy takich schorzeń. Ale po to, żeby skutecznie im przeciwdziałać, musimy mieć metody pozwalające na wykrywanie niewielkich zmian, także morfologicznych, które mogą być objawem początków choroby. Bez precyzyjnych metod ilościowych rozpoznawanie takich wczesnych symptomów może być trudne lub niemożliwe.

Praca finansowana z grantu BW/IZ/57/2006

## **7. Literatura**

- 1) Amthor F.R. 1988. Quantitative fractal analysis of dendritic trees of identified rabbit retinal ganglion cells. In: Soc. Neurosci. Abstr. p 602.
- 2) Bernard F., Bossu J.L., Gaillard S. 2001. Identification of living oligodendrocyte developmental stages by fractal analysis of cell morphology. *J. Neurosci. Res.* 65:439-445.
- 3) De Simoni A., Griesinger C.B., Edwards F.A. 2003. Development of rat CA1 neurones in acute versus organotypic slices: role of experience in synaptic morphology and activity. *J. Physiol.* 550:135-147.
- 4) Djamgoz M.B., Krasowska M., Martinoli O., Sericano M., Vallerga S., Grzywna Z.J. 2001. Structure-function correlation in transient amacrine cells of goldfish retina: basic and multifractal analyses of dendritic trees in distinct synaptic layers. *J. Neurosci. Res.* 66:1208-1216.
- 5) Jelinek H.F., Spence I. 1997. Categorization of physiologically and morphologically characterized non-alpha/non-beta cat retinal ganglion cells using fractal geometry. *Fractals* 5:673-684.
- 6) Kettenmann H., Ransom B.R. 2004. Neuroglia. New York: Oxford University Press.
- 7) Kolb H., Fernandez E., Schouten J., Ahnelt P., Linberg K.A., Fisher SK. 1994. Are there three types of horizontal cell in the human retina? *J. Comp. Neurol.* 343:370-386.
- 8) Krauss B.R., Serog B.J., Chialvo D.R., Apkarian A.V. 1994. Dendritic complexity and the evolution of cerebellar Purkinje cells. *Fractals* 2:95-102.
- 9) Kreider B.Q., Morley M., Burns M.M., Lavy L.A., Pleasure D. 1996. Complexity analysis of oligodendroglial processes expressing myelin-associated glycoprotein. *J. Neurosci. Res.* 44:459-470.
- 10) Montague P.R., Friedlander M.J. 1989. Expression of an intrinsic growth strategy by mammalian retinal neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 86:7223-7227.

- 11) Morigiwa K., Tsuchi M., Fukuda Y. 1989. Fractal analysis of ganglion cell dendritic branching patterns of the rat and cat retinae. *Neurosci. Res. Suppl.* 10:S131-139.
- 12) Morley M., Pleasure D., Kreider B. 1997. Quantification of the effects of astrocytes on oligodendroglial morphology. *J. Neurosci. Res.* 49:219-228.
- 13) Neale E.A., Bowers L.M., Smith T.G., Jr. 1993. Early dendrite development in spinal cord cell cultures: a quantitative study. *J. Neurosci. Res.* 34:54-66.
- 14) Oderfeld-Nowak B., Orzyłowska-Śliwiska O., Sołtys Z., Zaremba M., Januszewski S., Janeczko K., Mossakowski M. 2003. Concomitant up-regulation of astroglial high and low affinity nerve growth factor receptors in the CA1 hippocampal area following global transient cerebral ischemia in rat. *Neuroscience* 120:31-40.
- 15) Orłowski D., Sołtys Z., Janeczko K. 2003. Morphological development of microglia in the postnatal rat brain. A quantitative study. *Int. J. Dev. Neurosci.* 21:445-450.
- 16) Porter R., Ghosh S., Lange G.D., Smith T.G., Jr. 1991. A fractal analysis of pyramidal neurons in mammalian motor cortex. *Neurosci. Lett.* 130:112-116.
- 17) Reichenbach A., Siegel A., Senitz D., Smith T.G., Jr. 1992. A comparative fractal analysis of various mammalian astroglial cell types. *Neuroimage* 1:69-77.
- 18) Senitz D., Reichenbach A., Smith T.G., Jr. 1995. Surface complexity of human neocortical astrocytic cells: changes with development, aging, and dementia. *J. Hirnforsch* 36:531-537.
- 19) Siegel A., Reichenbach A., Hanke S., Senitz D., Brauer K., Smith T.G., Jr. 1991. Comparative morphology of Bergmann glial (Golgi epithelial) cells. A Golgi study. *Anat. Embryol. (Berl)* 183:605-612.
- 20) Ślęzak M., Pfrieger F.W., Sołtys Z. 2006. Synaptic plasticity, astrocytes and morphological homeostasis. *J. Physiol. (Paris)* 99:84-91.
- 21) Smith T.G., Jr., Behar T.N. 1994. Comparative fractal analysis of cultured glia derived from optic nerve and brain demonstrate different rates of morphological differentiation. *Brain Res.* 634:181-190.
- 22) Smith T.G., Jr., Brauer K., Reichenbach A. 1993. Quantitative phylogenetic constancy of cerebellar Purkinje cell morphological complexity. *J. Comp. Neurol.* 331:402-406.
- 23) Sołtys Z., Janeczko K., Orzyłowska-Śliwiska O., Zaremba M., Januszewski S., Oderfeld-Nowak B. 2003. Morphological transformations of cells immunopositive for GFAP, TrkA or p75 in the CA1 hippocampal area following transient global ischemia in the rat. A quantitative study. *Brain Res.* 987:186-193.
- 24) Sołtys Z., Orzyłowska-Śliwiska O., Zaremba M., Orłowski D., Piechota M., Fiedorowicz A., Janeczko K., Oderfeld-Nowak B. 2005. Quantitative morphological study of microglial cells in the ischemic rat brain using principal component analysis. *J. Neurosci. Methods* 146:50-60.
- 25) Sołtys Z., Ziaja M., Pawliński R., Setkowicz Z., Janeczko K. 2001. Morphology of reactive microglia in the injured cerebral cortex. Fractal analysis and complementary quantitative methods. *J. Neurosci. Res.* 63:90-97.
- 26) Takeda T., Ishikawa A., Ohtomo K., Kobayashi Y., Matsuoka T. 1992. Fractal dimension of dendritic tree of cerebellar Purkinje cell during onto- and phylogenetic development. *Neurosci. Res.* 13:19-31.
- 27) Wingate R.J., Fitzgibbon T., Thompson I.D. 1992. Lucifer yellow, retrograde tracers, and fractal analysis characterise adult ferret retinal ganglion cells. *J. Comp. Neurol.* 323:449-474.
- 28) Wolff J.R., Chao T.I. 2004. Cytoarchitectonics of non-neuronal cells in the central nervous system. *Adv. Molec. Cell Biol.* 31:1-51.