http://journal.unoeste.br/index.php/cv
DOI: 10.5747/cv.2020.v12.n1.v280
ISSN on-line 1984-6436

Colloquium Vitae

Submetido: 09/08/2019 Revisado: 12/08/2019 Aceito: 12/08/2019

INGESTÃO DE DICROMATO DE POTÁSSIO INDUZ ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM CARDIOMIÓCITOS DE RATOS

Alan José Barbosa Magalhães[1], Roselene Modolo Regueiro Lorençoni[2]

[1]Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, SP; [2]Universidade Estadual Paulista – UNESP, Presidente Prudente, SP. e-mail: ajb_magalhaes@yahoo.com.br

RESUMO

O objetivo do estudo foi analisar efeitos da suplementação de dicromato de potássio à dieta sobre a morfologia do tecido muscular cardíaco de ratos. Foram utilizados 40 ratos machos, divididos em G0: dieta basal, G1: dieta basal + 12 mg.Kg^{-1} de dicromato de potássio, G2: dieta basal + 24 mg.Kg^{-1} e G3: dieta basal + 36 mg.Kg^{-1}, por 90 dias. Os animais foram eutanasiados, com extração do coração para análises morfológicas e análise da dimensão fractal. Foram utilizados o teste de Levene, Anova One-Way, Kruskall-Wallis, Tukey e Dunn para comparação dos resultados, adotando p<0,05. Não houve diferenças na massa corporal e massa do coração. G1 apresentou maior inflamação tecidual em relação a G2 e G0. Conclui-se que o dicromato de potássio pode gerar alterações morfológicas em decorrência de efeito pró-inflamatório em cardiomiócitos de ratos.

Palavras-chave: coração, dicromato de potássio, toxicidade, citologia, histologia.

POTASSIUM DICHROMATE INTAKE INDUCES MORPHOLOGICAL CHANGES IN RAT'S CARDIOMYOCYTES

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the effects of diet's potassium dichromate supplementation on cardiac muscle tissue morphology in rats. Forty male rats were used, divided into G0: basal diet, G1: basal diet + 12 mg.Kg^{-1} potassium dichromate, G2: basal diet + 24 mg.Kg^{-1} and G3: basal diet + 36 mg.Kg^{-1} for 90 days. The animals were euthanized, with heart extraction for morphological analysis and fractal dimension analysis. Anova One-Way, Kruskall-Wallis, Tukey and Dunn were used to compare the results, with p<0.05. There is no differences on body mass and heart mass. G1 showed greater tissue inflammation of compared to G2 and G0. It was concluded that potassium dichromate generates morphological changes by proinflammatory effect in rat cardiomyocytes.

Keywords: heart, potassium dichromate, toxicity, cytology, histology.

INTRODUÇÃO

Grandes quantidades de Cromo (Cr) são liberadas no meio ambiente por ação humana[1], sendo o dicromato de potássio (K2Cr2O), sua forma mais letal[2]. Quando em contato com o organismo, há o risco de desenvolvimento de câncer[3]. O dicromato de potássio (K2Cr2O) é um tipo de metal pesado proveniente da crosta terrestre, encontrado frequentemente em metalúrgicas, fertilizantes e agrotóxicos, muito encontrado entre os componentes químicos que poluem o meio ambiente[2,3].

Após a ingestão de alimentos contaminados, o K2Cr2O pode trazer efeitos tóxicos deletérios em todo o organismo, principalmente para o intestino[4], fígado[5] e coração[6].

A exposição a agentes tóxicos pode desenvolver efeitos deletérios sobre o tecido muscular cardíaco, podendo comprometer sua função e a longo prazo pode causar insuficiência

Artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

cardíaca[4]. Um estudo[5] verificou em seu estudo que a intoxicação do miocárdio de ratos proporcionou lesões na parede do ventrículo esquerdo e infiltrado inflamatório associado a degeneração de miofibrilas, além de degeneração neuronal nos gânglios nervosos cardíacos.

A miotoxicidade foi constatada através de aumentos na atividade da CK-MB (creatinoquinase MB), apresentando forte indício de lesão cardíaca, proporcionada principalmente por necrose de cardiomiócitos associada à inflamação e hemorragia miocárdica dos animais, entre 6h-48h após a primeira exposição do tecido aos agentes tóxicos[6]. Logo, os efeitos de agentes tóxicos sobre o tecido muscular cardíaco proporcionam efeito inflamatório seguido de lesão miocárdica em curtos períodos de tempo após à exposição inicial.

Percebe-se que são bem explorados os efeitos sobre o tecido muscular cardíaco causado pela presença de agentes tóxicos. No entanto, não há consenso na literatura quanto aos efeitos específicos da exposição do tecido muscular cardíaco ao dicromato de potássio (K2Cr2O) no que condiz a resposta morfológica tecidual e qual é a quantidade mínima que possa refletir efeitos tóxicos no coração.

Neste sentido, o presente estudo tem por objetivo analisar os efeitos da suplementação de dicromato de potássio à dieta basal sobre a morfologia do tecido muscular cardíaco de ratos.

METODOLOGIA

Animais

Foram utilizados 40 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus novergicus*), com 25 dias de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE). Estes foram mantidos em gaiolas individuais, sob condição padrão de iluminação, com ciclo claro/escuro, iniciado às 7h, com temperatura média de 23°C. A pesquisa foi desenvolvida obedecendo às normas e os princípios éticos de experimentação animal do Comitê de Ética do Uso de Animais da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), protocolo nº 785.

Protocolo de dietas

Os animais foram divididos em quatro grupos, de acordo com suas respectivas dietas:

- Grupo 0 (G0): dieta basal (ração da marca Supra Lab® - proteína: 25%; extrato etéreo: 3%; matéria fibrosa: 18%; matéria mineral: 11%; cálcio: 2%; fósforo: 0,5%);
- Grupo 1 (G1): dieta basal incorporada com 12 $mg.Kg^{-1}$ de dicromato de potássio (K2Cr2O 99,999% de pureza, da marca Aldrich Chemical Company® Inc., Milwaukee, Wisconsin, USA);
- Grupo 2 (G2): dieta basal incorporada com 24 $mg.Kg^{-1}$ de dicromato de potássio;
- Grupo 3 (G3): dieta basal incorporada com 36 $mg.Kg^{-1}$ de dicromato de potássio;

As dietas foram administradas durante 90 dias, precedidos com sete dias de adaptação ao manejo dos animais. A massa corporal dos animais foi mensurada semanalmente.

Procedimento cirúrgico

A eutanásia dos animais foi realizada no Biotério de Experimentação Animal da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE). Os animais foram eutanasiados 24 horas após o último dia de protocolo de dieta. Foi mensurada a massa corporal final antes de iniciar os procedimentos cirúrgicos.

Em seguida os animais foram anestesiados utilizando-se a associação de dois fármacos (cloridrato de xilasina e cloridrato de ketamina 1:1; 40mg/Kg da massa corporal) por via intraperitoneal, seguida de parada cardíaca induzida perfusão do ventrículo esquerdo com 1 mL de KCl a 10% até a parada cardíaca em diástole.

Realizada esta etapa, foi feita uma incisão paramedial no abdômen, com rebatimento do tecido epitelial até a exposição dos órgãos. Logo após a incisão, foi retirado o coração, que foi pesado em balança de precisão e fixado imediatamente em solução de formalina 10%. Após 24 h, este órgão foi transferido para frascos com álcool 70%. Esta solução foi renovada por três dias, conforme a eliminação dos resíduos do fixador[7].

Morfologia tecidual

O preparo das peças e análises das lâminas foi realizado no Laboratório de Análise da Plasticidade Muscular (LAPMUS), do Departamento de Fisioterapia da FCT/UNESP de Presidente Prudente. Após a fixação e a permanência em álcool 70%, foi realizado o procedimento para inclusão do material em

Artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

parafina e posterior corte em micrótomo rotatório Microm® HM 325, com cortes transversais do ventrículo esquerdo, medindo exatamente 6µm de espessura. A coloração foi realizada com Hematoxilina e Eosina (HE)[8].

Análise da dimensão fractal (DF)

As imagens dos núcleos de cardiomiócitos foram obtidas por meio de um microscópio óptico Nikon® H550, objetiva com aumento de 100x e com acoplamento de câmera digital Nikon® Infinity 1, com captura de imagens por meio de um software de análise de imagens computadorizadas NIS-Elements D 3.0 - SP7 – build 547, Nikon® for Windows®.

A análise da dimensão fractal (DF) foi realizada utilizando o software de análise de imagens computadorizadas (ImageJ® 1.47t for Windows® do National Institute of Health - USA), utilizando cinco imagens por animal. As imagens passaram pelo processo de binarização, em preto e branco. Em seguida, foi utilizado o método de *box-counting*, com o tamanho padrão de contagem oferecido pelo software (2, 3, 4, 6, 8, 16, 32 e 64), onde o valor final da DF encontra-se entre 0 e 2^{12}.

Análise estatística

Para comparação estatística dos resultados obtidos, foi utilizado o Teste de Levene para a verificação da normalidade dos dados e o Teste ANOVA-OneWay e o Pós-Teste de Tukey (Teste Kruskall-Wallis e Pós-Teste de Dunn para variáveis não paramétricas). Foi adotado valor de significância $p<0,05$ para todos os procedimentos. Os cálculos foram realizados com o software IBM SPSS 22 for Windows® o software Origin versão 9.0® for Windows® para elaboração de gráficos e box-plots

RESULTADOS

A Figura 1 apresenta dados da evolução da massa corporal dos animais durante o período experimental.

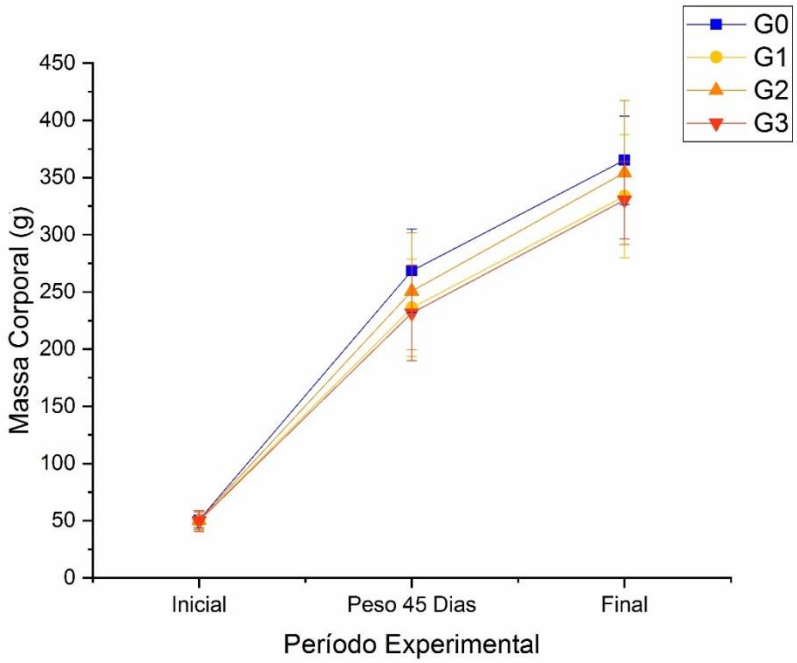


Figura 1. Evolução da massa corporal dos animais durante o período experimental. Não houve significância das diferenças.

Nota-se que não houve diferença estatisticamente significante entre os valores de massa corporal dos animais nos períodos inicial, massa 45 dias (metade do período experimental) e final.

A Figura 2 apresenta os valores referentes à massa do coração dos animais ao final do período experimental.

Os resultados da Figura 3 mostram que não houve diferença estatisticamente significante nos valores de massa do coração dos animais.

Artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

A Tabela 1 apresenta os valores da análise cariométrica do núcleo dos cardiomiócitos dos animais.

Na Figura 4, encontram-se os dados referentes à análise de Dimensão Fractal (DF) do tecido muscular cardíaco dos animais.

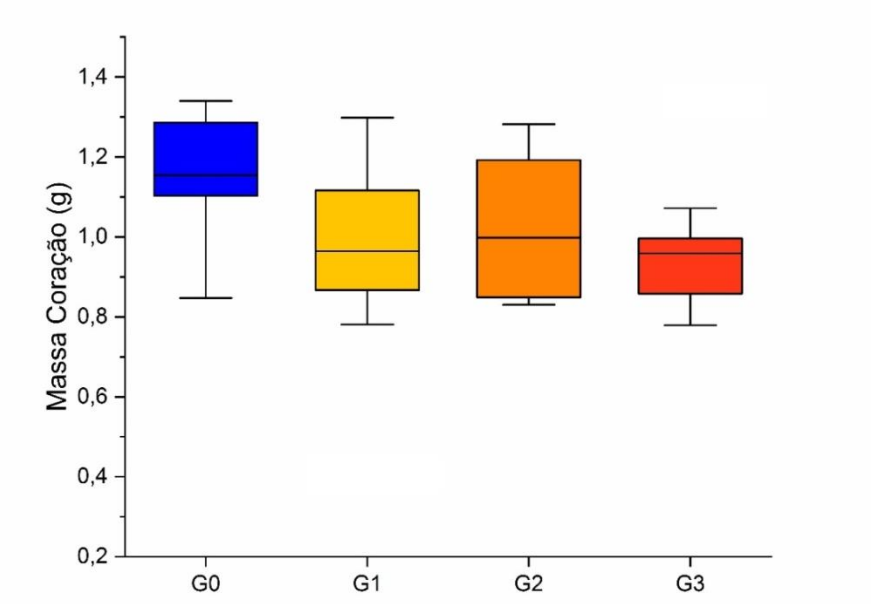


Figura 2. Boxplot com valores médios seguidos de desvio padrão do peso do coração dos animais. Não houve significância das diferenças.

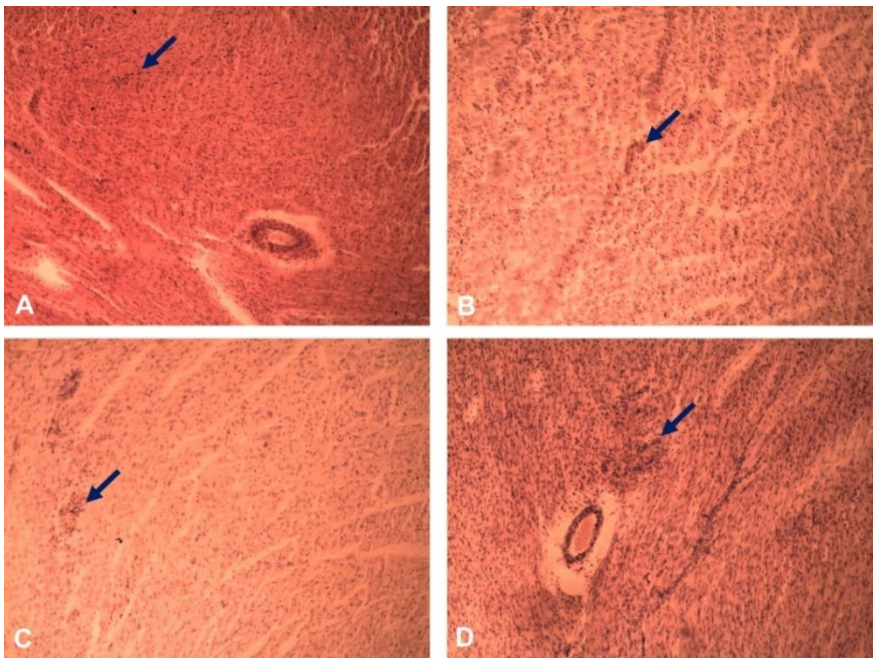


Figura 3. Fotomicrografia do tecido muscular cardíaco de ratos, cortados com espessura de 6µm e coloração por HE, onde as setas indicam o núcleo dos cardiomiócitos. Legenda: A = G0; B = G1, C = G2; D = G3. 100X.

Artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

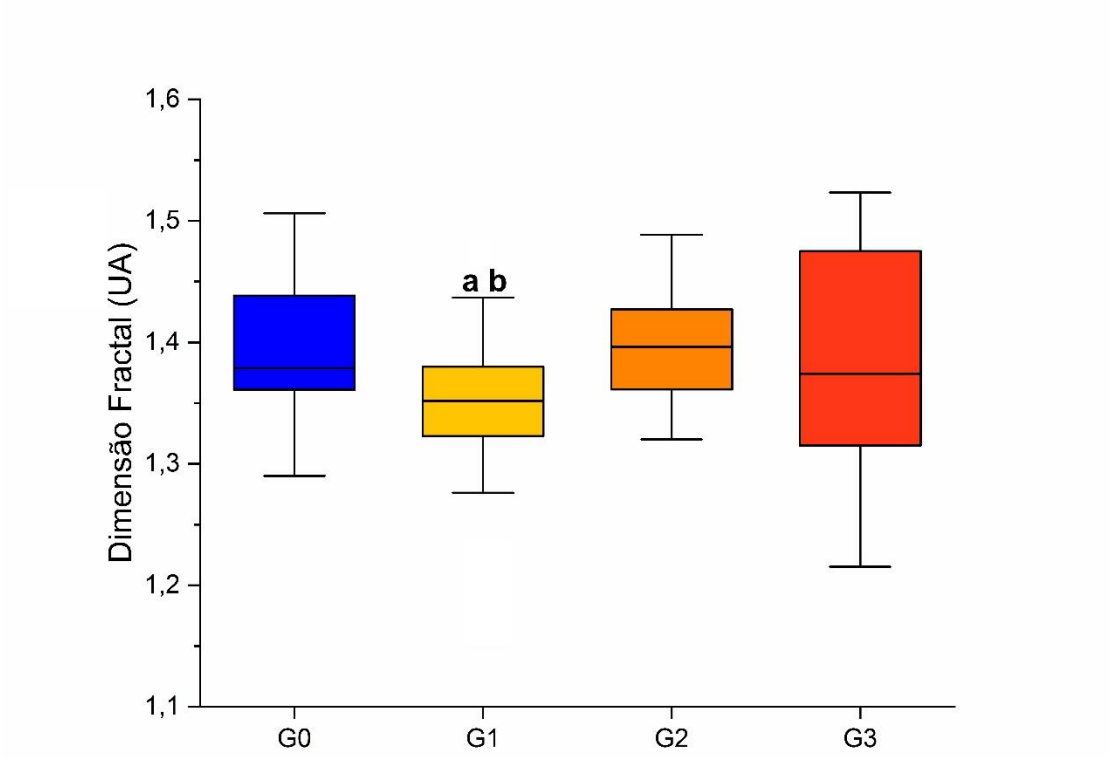


Figura 4. Boxplot com valores médios seguidos de desvio padrão da análise da dimensão fractal do tecido muscular cardíaco dos animais. UA: Unidade Arbitrária. [a] p=0,026 em relação à G0. [b] p=0,008 em relação à G2.

Na Figura 4, nota-se diferença estatisticamente significante de G1 em relação à G0 (p=0,026) e G2 (p=0,008), onde G1 apresentou menor valor de DF em relação à G0 e G2.

DISCUSSÃO

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos quanto à massa corporal inicial, durante e ao final do período experimental. No presente estudo, apenas o uso de dieta acrescida diferentes quantidades de dicromato de potássio foi utilizada como intervenção durante o período experimental.

Para que promover alterações na massa corporal dos animais, outras intervenções deveriam associar-se aos protocolos de dieta utilizados no presente estudo. A utilização de dietas com altas concentrações calóricas[13,14] podem contribuir diretamente para aumentos da massa corporal de animais. Quando refere-se a redução da massa corporal, a utilização de protocolos de treinamento aeróbio ou anaeróbio podem proporcionar depleção de lipídeos, podendo refletir diretamente na redução da massa corporal de animais[15].

Além disso, apesar da utilização de dieta padrão associada ao dicromato de potássio em diferentes quantidades para os grupos G1, G2 e G3, esta combinação não foi suficiente para produzir diferença significativa de massa corporal em relação ao G0, que utilizou apenas ração padrão. Tal achado pode explicar a semelhança do peso corporal dos animais no início, durante e ao final do período experimental.

Um estudo verificou que a reprogramação de fibroblastos endógenos em cardiomiócitos funcionais reprogramados por células somáticas diferenciadas pode proporcionar a capacidade de regeneração destas células cardíacas quando necessário[21]. Tal achado pode explicar a semelhança da massa do coração entre os grupos estudados.

Os principais achados deste trabalho quanto à DF, os principais achados do presente estudo mostram que G1 apresentou menores valores de DF em relação à G0 e G2. A utilização do estudo em DF para caracterização histológica do tecido muscular cardíaco em possíveis alterações morfológicas têm demonstrado grande efetividade para diagnóstico de rejeição

Artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

tecidual[23] ou risco de morbidade consequente de falhas na função miocárdica[24].

Outro estudo[25] observou em seus estudos a eficácia da utilização da DF para verificar alterações morfológicas sobre o tecido muscular cardíaco de ratos. O miocárdio ventricular pode adaptar-se a estresses sofridos em sua estrutura, conservando sua inicialmente sua dimensão fractal. No entanto, alguns segmentos teciduais podem sofrer alterações adaptativas[26].

Alterações no tecido cardiovascular estão ligadas à estresse oxidativo e menor expressão de agentes anti-inflamatórios, podendo reduzir o trofismo muscular cardíaco na parede ventricular de ratos expostos à agentes tóxicos[16]. Um estudo[17] verificou que semelhantes alterações teciduais no tecido muscular cardíaco pode ser desencadeado pelo efeito inflamatório modulado pela alta concentração de NF-κB.

Outro estudo[18] observou que animais com idade avançada possuem aumento nas concentrações de tiol não-protéico no miocárdio, gerando menor estimulação da expressão de NF-κB, proporcionando menor efeito inflamatório e com melhor efeito antioxidante em relação a animais com idade jovem ou jovem-adulta.

Possivelmente, as quantidade de dicromato de potássio adicionados à dieta de G1 e o baixo efeito antioxidante do tecido muscular cardíaco dos animais, considerados com idade adulto-jovem, durante o período experimental contribuíram para maior toxicidade do dicromato de potássio ao tecido cardíaco e resultando em maior efeito pró-inflamatório.

Um estudo[19] observou lesões teciduais cardíacas provocada por toxicidade da exposição à palitoxina. Além disso, os animais expostos à palitoxina apresentaram efeitos tóxicos sobre a excitabilidade tecidual, comprometendo sua função e estrutura.

Apesar de os animais possuírem a mesma idade e permanecerem em iguais condições por todo o período experimental, não foram encontrados achados na literatura que apontem uma quantidade máxima ou mínima de dicromato de potássio que possam desencadear o efeito tecidual em G1 e explicar a ausência desta resposta tecidual em G3.

A exposição de células cardíacas a outras substâncias medicamentosas ou tóxicas podem estimular a redução do volume celular do cardiomiócito de ratos, podendo refletir na redução do volume da parede ventricular[20].

A desregulação protéica causada por agentes tóxicos pode trazer efeitos deletérios sobre o a função contração/relaxamento do coração, morfologia tecidual e desenvolvimento do coração, estando resposta diretamente relacionada à presença de agentes tóxicos do qual o coração é exposto[22].

Entretanto, neste mesmo estudo não foi observado crescente efeito tóxico significativo quando o coração foi exposto a maiores doses destas toxinas, corroborando os dados da presente pesquisa, pois G1 apresentou maiores alterações morfológicas em seus cardiomiócitos em relação à G0, G2 e G3.

No presente estudo, G1 apresentou menores valores de DF em relação ao G0, pois a presença de agentes tóxicos no músculo cardíaco podem induzir a lesões teciduais e estresse oxidativo[27, 28]. G1 possivelmente apresentou estes resultados por resposta ao K2Cr2O presente em sua dieta.

Com relação à diferença nos menores valores de DF de G1 em relação à G2, a absorção celular de agentes químicos pode prejudicar a formação estrutural tecidual e contratilidade cardíaca de animais expostos a agentes tóxicos[29]. Estudos recentes demonstram que a análise em dimensão fractal pode caracterizar alterações teciduais na parede ventricular cardíaca, seja por alterações geradas pela própria função do miocárdio ou efeitos indiretor provenientes da circulação sanguínea[29,30].

Entretanto, os valores de DF podem apontar um crescente efeito tóxico de G1 em relação a G0 e em relação a G2. A exposição a agentes tóxicos no tecido muscular cardíaco pode levar a alterações morfológicas citoplasmáticas, celulares e nucleares induzidos por efeito oxidativo[31].

Logo, os maiores valores de DF de G2 em relação à G1 podem estar relacionados a maiores efeitos tóxicos ao tecido muscular cardíaco em G2, por estresse oxidativo causado pela suplementação de K2Cr2O em sua dieta em relação à G1. Quando comparados os valores de G0, G1 e G2, observa-se que G0 e G2 não possuem diferença significante entre si.

O presente estudo limitou-se apenas a observar os efeitos da suplementação de dicromato de potássio à dieta basal dos animais apenas por análise histológica do tecido muscular cardíaco. No entanto, a literatura traz que estas alterações podem ocorrer por respostas inflamatórias. Logo, para estudos futuros, torna-

Artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

se necessária a análise de concentrações de citocinas pró e anti-inflamatórias, como também a associação de outros tipos de dieta e intervenções, para verificar se este é um efeito específico do dicromato de potássio sobre o tecido muscular cardíaco ou se a resposta tecidual apresentada no presente estudo é uma resposta padrão do tecido mediante a presença de agentes tóxicos, independentemente da quantidade de toxinas presente.

Logo, conclui-se que a suplementação de dicromato de potássio à dieta basal de G1 proporcionou maiores diferenças nos valores de DF em relação a G2 e G0, resultando em maior efeito pró-inflamatório no tecido muscular cardíaco. Não foram encontradas diferenças significativas quanto a massa corporal e massa do coração dos grupos estudados.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver qualquer potencial conflito de interesse que possa interferir na imparcialidade deste trabalho científico.

REFERÊNCIAS

1. Kilarski J, Studnicki A, Suchon J. The study of chromium cast steel on the liners of mining combines. Arch Foundry Eng. 2011;10:31-6

2. Linos A, Petralias A, Christophi CA, Christoforidou E, Kouroutou P, Stoltidis M, *et al*. Oral ingestion of hexavalent chromium through drinking water and cancer mortality in an industrial area of Greece - an ecological study. Environ Health. 2011;10:50. DOI: https://doi.org/10.1186/1476-069X-10-50

3. Sedman RM, Beaummont J, Mcdonald TA, Krowech G, Howd R. Review of evidence regarding the carcinogenicity of hexavalent chromium in drinking water. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2006;24:155-82. DOI: https://doi.org/10.1080/10590500600614337

4. Calore EE, Narciso E. Alterações histológicas no coração de ratos expostos a compostos organofosforados por tempo prolongado. Rev Inst Adolfo Lutz. 2006;65(3):213-6

5. Silveira MF, Quináia SP, Peres JA. Intoxicação plumbífera aguda no tecido cardíaco em ratos Wistar. Rev Acad Ciênc Agrár Ambient. 2013;11(1):45-50. DOI: http://dx.doi.org/10.7213/academica.7754

6. Berger M, Beys-da-Silva WO, Santi L, Oliveira IM, Jorge PM, Henriques JAP et al. Acute Lonomia obliqua caterpillar envenomation-induced physiopathological alterations in rats: Evidence of new toxic venom activities and the efficacy of serum therapy tocounteract systemic tissue damage. Toxicon. 2013;74:179-92. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.08.061

7. Camargo Filho JCS, Garcia BC, Kodama FY, Bonfim MR, Vanderlei LCM, Ramos EMC. Effects of aerobic exercise on the skeletal muscle of rats exposed to cigarette smoke. Rev Bras Med Esporte. 2011;17(6):412-15. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S1517-86922011000600010

8. Dal Pai V. Histoenzimologia: teoria e prática. Instituto de Biociências – Unesp, Botucatu, 1995

9. Martins AT, Santos FS, Scannavino LFL, Pires JR, Zuza EP. Junior JAP, et al. Effect of sodium cyclamate on the rat fetal exocrine pancreas: a karyometric and stereological study. Int J Morphol. 2010;28(3):899-904. DOI: http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022010000300038.

10. Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. An Acad Bras Ciênc. 2003;75(4):469-86. DOI: https://doi.org/10.1590/S0001-37652003000400006

11. Martins MRI, Azoubel R. Efeitos do aspartame no rim fetal de ratos: estudo cariométrico. J Bras Nefrol. 2006;28(3):151-7

12. Arruda PFF, Gatti M, Facio Jr FN, Arruda JGF, Moreira RD, Murta LO, Arruda LF, Godoy MF. Quantification of fractal dimension and Shannon's entropy in histological diagnosis of prostate cancer. BMC Clin Pathol. 2013;13:6. DOI: http://dx.doi.org/10.1186/1472-6890-13-6

13. Panveloski-Costa AC, Pinto Júnior DA, Brandão BB, Moreira RJ, Machado UF, Seraphim PM. Resistive training reduces inflammation in skeletal muscle and improves the peripheral insulin sensitivity in obese rats induced by

Artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

hyperlipidic diet. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2011;55(2):155-63. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302011000200008

14. Dos Santos ACA, Lopes ACT, Da Cruz GXC, Garcia BC, Kodama FY, Camargo RCT. Estudo biométrico de ratos alimentados com dois tipos de dieta. Colloq Vitae. 2010;2(2):1-5. DOI: http://dx.doi.org/10.5747/cv2010.v02.n2.v029

15. Araújo MB, Voltarelli FA, Manchado-Gobatto FB, Moura LP, Mello MAR. Treinamento em diferentes intensidades e biomarcadores de estresse oxidativo e do metabolismo glicídico musculoesquelético de ratos. Rev Educ Fis. 2010;21(4):695-707. DOI: http://dx.doi.org/10.4025/reveducfis.v21i4.8538

16. Fikret G, Mikail K, Murat Cetin R, Hüseyin A. Effects of prenatally exposed diclofenac sodium on rat heart tissue: a stereological and histological study. Turk J Med Sci. 2015;45:474-80. DOI: https://doi.org/10.3906/sag-1404-173

17. Kose O, Arabaci T, Gedikli S, Eminoglu D. O, Kermen E, Kizildag A, et al. Biochemical and histopathologic analysis of the effects of periodontitis on left ventricular heart tissues of rats. J Periodont Res. 2017;52:176-85. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/jre.12380

18. Marques GL, Neto FF, Ribeiro CAO, Liebel S, Fraga R, Bueno RRL. Oxidative damage in the aging heart: an experimental rat model. Open Cardiovasc Med J. 2015;9:78-82. DOI: http://dx.doi.org/10.2174/1874192401509010078

19. Del Favero G, Beltramo D, Sciancalepore M, Lorenzon P, Coslovich T, Poli M, et al. Toxicity of palytoxin after repeated oral exposure in mice and in vitro effects on cardiomyocytes. Toxicon. 2013;75:3-15. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.06.003

20. Gevrek F, Kara M, Rağbetli MC, Aslan H. Effects of prenatally exposed diclofenac sodium on rat heart tissue: a stereological and histological study. Turk J Med Sci. 2015;45:474-80. DOI: http://dx.doi.org/10.3906/sag-1404-173

21. Ieda M, Fu J, Delgado-Olguin P, Vedantham V, Hayashi Y, 1 Bruneau BG et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. Cell. 2010;142:375-86. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2010.07.002

22. Huang Q, Xi G, Alamdar A, Zhang J, Shen H. Comparative proteomic analysis reveals heart toxicity induced by chronic arsenic exposure in rats. Environ Pollut. 2017;229:210-8. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.077

23. Moreira RD, Moriel AR, Murta Junior LO, Neves LA, Godoy MF. Dimensão Fractal na quantificação do grau de rejeição celular miocárdica pós-transplante cardíaco. Rev Bras Cir Cardiovasc. 2011;26(2):155-63. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0102-76382011000200004

24. Godoy MF, Takakura IT, Correa PR. Relevância da análise do comportamento dinâmico não-linear (Teoria do Caos) como elemento prognóstico de morbidade e mortalidade em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica. Arq Ciênc Saúde. 2005;12(4):167-71.

25. Oliveira MAB, Brandi AC, Santos CA, Botelho PHH, Cortez JLL, Godoy MF, et al. Comparison of fractal dimension and Shannon entropy in myocytes from rats treated with histidine-tryptophan-glutamate and histidine-tryptophan cetoglutarate. Rev Bras Cir Cardiovasc. 2014;29(2):156-62. DOI: http://dx.doi.org/10.5935/1678-9741.20140052

26. Facciuto F, Carral L, Cabral ME, Bertoluzzo MG, Vinuesa MA, Piskorz D. Morphological expression of hypertension in the left ventricular myocardium. analysis of fractal dimension by echocardiography. J Hypertens. 2016;34(2):e244. DOI: https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000492041.70384.51

27 - Ding Rui, Chen Daojun, Yang Yongjian. Liver and heart toxicity due to 90-day oral exposure of ICR mice to N,N-dimethylformamide. Environ Toxicol Pharmacol. 2011;31:357-63. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2011.01.002

28. Laovitthayanggoon S, Henderson CJ, Catherine J. and Tate RJ, Currie S, McCluskey C, et al. In vivo and in vitro toxicity of cobalt in the

Artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

heart. In: British Toxicology Society Congress, 2017.

29. Zouein FA, Kurdi M, Booz GW, Fuseler JW. Applying fractal dimension and image analysis to quantify fibrotic collagen deposition and organization in the normal and hypertensive heart. Microsc Microanal. 2014;20:1134-44. DOI: http://dx.doi.org/10.1017/S1431927614001044

30. Pacagnelli FL, Sabela AKDA, Mariano TB, Ozaki GAT, Castoldi RC, Carmo EM, et al. Fractal dimension in quantifying experimental-pulmonary-hypertension-induced cardiac dysfunction in rats. Arq Bras Cardiol. 2016;107(1):33-9. DOI: http://dx.doi.org/10.5935/abc.20160083

31. Chaâbane M, Elwej A, Ghorbel I, Boudawara T, Zeghal N, Soudani N. Citrus aurantium L. peel extract mitigates hexavalent chromium-induced oxidative stress and cardiotoxicity in adult rats. Pharm Biomed Res 2017;3(2):8-18. DOI: http://dx.doi.org/10.29252/pbr.3.2.8

Artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).