



# AVALIAÇÃO FRACTAL DA REDE VASCULAR DA MEMBRANA DO SACO VITELÍNICO DE EMBRIÕES DE CODORNA JAPONESA (*COTURNIX JAPONICA*) EXPOSTOS AO CAMPO MAGNÉTICO DE BAIXA FREQUÊNCIA COM DIFERENTES INTENSIDADES

Victor Felipe da Silva Araújo<sup>1,2\*</sup>, Edbergue Ventura Lola Costa<sup>1,2</sup>, Romildo de Albuquerque Nogueira<sup>1,2</sup>

1 Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional da UFRPE

2 Centro de Apoio à Pesquisa da UFRPE

\*victorfelipearaujo@gmail.com

## INTRODUÇÃO

O aumento do número de aparelhos elétricos e eletrônicos nos mais variados locais (residências, hospitais, escolas, empresas, laboratórios) faz com que as pessoas convivam com a poluição eletromagnética com variáveis níveis de potência e frequência. Tem sido sugerido que campos magnéticos (CMs) e campos eletromagnéticos (CEMs) de 50 a 60 Hz são capazes de produzir diversos efeitos adversos em humanos e animais, por exemplo: câncer; doenças neurodegenerativas; distúrbios na reprodução; efeitos neuropsíquicos; alterações citogenéticas; alterações no sistema cardiovascular, nervoso, neuroendócrino e imunológico; distúrbios do crescimento e desenvolvimento; variação dos perfis hematológicos e bioquímicos (ANSELMO *et al.*, 2005). Estudos reportam vários efeitos de CMs e CEMs no sistema vascular sanguíneo. A ação de CEMs de 900 MHz (valor de emissão do telefone celular) afeta o fluxo sanguíneo cerebral e a atividade neuronal em humanos (HUBER *et al.*, 2002; WOLF *et al.*, 2006; AALTO *et al.*, 2006). CMs e CEMs podem produzir alterações na vasculogênese (surgimento dos primeiros vasos sanguíneos), na angiogênese (surgimento de vasos a partir de vasos pré-existentes), vasodilatação e vasoconstrição (TEPPER *et al.*, 2004; MCKAY *et al.*, 2007; BEKHITE *et al.*, 2010; COSTA *et al.*, 2013). Segundo Delle Monache *et al.* (2008) o CEM de frequência extremamente baixa (CEM-FEB) pode influenciar na proliferação, migração e formação do tubo endotelial (etapas da angiogênese). Vários modelos que representam a rede vascular sanguínea demonstraram algum efeito promovido pela ação de CMs. Experimentos realizados por Martino *et al.* (2010) evidenciaram que o CM estático pode promover o aumento da proliferação de células endoteliais de veias umbilicais humanas (CEVUH). Em contraste, Li *et al.* (2007) presenciaram que o CM impediu o crescimento de CEVUH. Pesquisadores têm evidenciado que CMs podem gerar inibição da angiogênese na membrana corioalantóide (MCA) de embriões de galinha (RUGGIERO *et al.*, 2004; WANG *et al.*, 2009; BALANEZHAD *et al.*, 2010); bem como a inibição da vasculogênese e angiogênese da membrana do saco vitelínico (MSV) de embriões de codorna japonesa (COSTA *et al.*, 2013; COSTA; NOGUEIRA, 2015). Cada efeito parece depender da intensidade, frequência, tempo de exposição ao CM, podendo também considerar quanto ao tipo de emissão (CM pulsátil ou estático) e a susceptibilidade da espécie. Diante os resultados contraditórios da ação do CM sobre a angiogênese e a carência de trabalhos diante a ação do CM sobre vasculogênese, existe a necessidade de realização de mais pesquisas na tentativa de entender os efeitos promovidos pela ação de CMs de baixa frequência sobre a rede vascular sanguínea.

A finalidade deste trabalho é investigar possíveis efeitos promovidos pelo campo magnético (CM) de diferentes intensidades e com frequência de 60 Hz sobre a vasculogênese e angiogênese em membrana do saco vitelínico (MSV) de embriões de codorna japonesa (*Coturnix japonica*). Assim foi utilizada métodos de geometria fractal (dimensão de contagem por caixas -  $D_{cc}$  e dimensão de informação -  $D_{inf}$ ) para avaliar a vasculogênese e a angiogênese da rede vascular (próximo à cabeça do embrião) da MSV de embriões de codorna japonesa, nas 72 horas de incubação, expostas e não expostas às diferentes intensidades de CM com frequência de 60 Hz.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A MSV é um anexo embrionário que serve de modelo para realização de estudo *in vivo* dos vasos sanguíneos. Os ovos fertilizados de codorna japonesa (*Coturnix japonica*) foram provenientes da Estação Experimental de Pequenos Animais do Carpina (EEPAC) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Os ensaios experimentais foram realizados no LABTEC (Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional) da UFRPE, enquanto que a análise dos dados foi efetuada no LACREC (Laboratório de Análise Computacional e Realidades Complexas) do CENAPESQ (Centro de Apoio à Pesquisa da UFRPE). Os ovos do grupo submetido ao CM foram incubados em uma chocadeira (temperatura de 37,5°C e umidade acima de 60%) associada a um par de bobinas de Helmholtz ligadas, capazes de gerar um CM de baixa frequência (60 Hz) com diferentes intensidades. Já os ovos do grupo controle foram incubados em mesma chocadeira associada às bobinas de Helmholtz desligadas. A emissão do CM foi controlada pelo um temporizador que ligu e desligou o par de bobinas de Helmholtz nos tempos programados (mantendo ligado durante 2 h e desligado durante 6 h). A exposição ao CM foi de 2 h com intervalos de 6 h entre as aplicações, totalizando uma exposição diária de 6 horas conforme Costa *et al.* (2013).

Foram utilizados 50 ovos no total, sendo 10 ovos utilizados para cada ensaio. Cada ensaio formou um grupo que foi submetido a um determinado valor de intensidade de CM, totalizando 4 grupos, ou seja, 4 diferentes valores de intensidades (1,13; 0,98; 0,83 e 0,16 mT). As redes vasculares das MSVs dos embriões de codorna (ensaio da vasculogênese e angiogênese) foram expostas ao CM no período compreendido de 48 a 72 h de incubação (período de visualização da MSV).

Os ovos foram limpos com clorexidina 2% e colocados na incubadora. No segundo dia (após 24 horas) de incubação, os ovos

tiveram uma área da casca seccionada formando uma janela de 2,0 cm de comprimento por 1,5 cm de largura. Foi removido um volume em torno de 2,5 ml de albúmen por meio de uma seringa, em seguida a janela foi coberta por parafilme.

Foram capturadas as imagens da rede vascular da MSV, da região próxima à cabeça do embrião. Esta região, em 72 horas, tem como referência a apresentação de um vaso vitelínico de considerável calibre que se distancia do embrião passando sob a sua cabeça chegando à borda da MSV. O processo de ramificação deste vaso e ramificações vasculares que ocorrem próximas a ele permitiu que a vasculogênese e angiogênese que ocorre na MSV fossem avaliadas. Imagens da rede vascular dessa região foram fotografadas em 72 horas. As fotografias foram realizadas com uma câmara digital Sony DSC-W230 12.1 megapixels acoplada a uma lupa estereoscópica Opton TIM 2B (aumento de 40 vezes). As imagens digitalizadas da rede vascular (1920x1080 pixels) foram transferidas para o computador para serem esqueletizadas visando à análise fractal da rede vascular que se forma ao longo do tempo de observação. A esqueletização é um processo que consiste em separar os vasos sanguíneos do plano de fundo nos quais os vasos estão contidos, considerando um diâmetro único para todos os vasos da rede. O procedimento de esqueletização manual dos vasos foi realizado pelo programa Paint (Microsoft, Redmond, WA, EUA) gerando imagens binarizadas para posterior análise fractal.

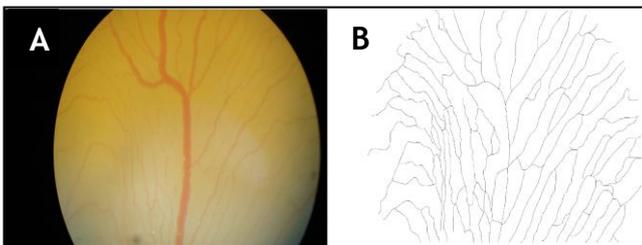


Figura 1. Rede vascular da membrana do saco vitelínico, mostrando o vaso de referência bem no centro da imagem (A) e imagem esqueletizada da rede vascular (B).

As imagens da rede vascular sanguínea esqueletizadas da MSV foram avaliadas pelo software Benoit 1.3 Sistema de Análise Fractal (Trusoft, St. Petersburg, FL, EUA) utilizando dois métodos: dimensão de contagem por caixas ( $D_{cc}$ ) e a dimensão de informação ( $D_{inf}$ ). Para  $D_{cc}$ , a imagem foi coberta por uma série de caixas de diferentes tamanhos ( $N(r)$ ), contendo pelo menos um pixel da imagem. Foi formado um gráfico de duplo log de  $N(r)$  em função dos lados das caixas  $r$  (COSTA et al., 2013). A inclinação dessa relação com o sinal invertido é  $D_{cc}$ , que é calculada através da equação 1:

$$D_{cc} = -\lim_{\epsilon \rightarrow 0} \left[ \frac{\log N(r+\epsilon) - \log N(r)}{\log(r+\epsilon) - \log r} \right] \quad (1).$$

Onde  $\epsilon$  é uma variação infinitesimal nos tamanhos das caixas.

Na  $D_{inf}$ , a imagem foi coberta por várias caixas de diferentes tamanhos e a contagem foi realizada com base na probabilidade de ocupação das caixas pelo objeto fractal. O procedimento foi repetido com várias grades contendo, a cada etapa, um número maior de caixas  $N(r)$  à medida que os lados de caixas  $r$  vão reduzindo seu tamanho. Posteriormente, foi traçado um gráfico duplo logaritmo da entropia de Kolmogorov em função dos lados das caixas  $r$ . A  $D_{inf}$  foi obtida pela inclinação do gráfico duplo logaritmo da entropia de Kolmogorov ( $S(r)$ ) versus  $r$ , com sinal invertido. A entropia de Kolmogorov  $S(r)$  é definida como segue:

$$S(r) = \lim_{N \rightarrow \infty} \sum_{i=1}^{N(r)} m_i \log(m_i) \quad (2).$$

Onde  $N$  é o número de caixas,  $m_i = M_i/M$ ,  $M_i$  é o número de pontos na  $i$ -ésima caixa,  $M$  é o número total de pontos do objeto fractal e  $r$  é o lado das caixas (COSTA et al., 2013).

Formalmente a  $D_{inf}$  é calculada pela expressão (3):

$$D_{inf} = -\lim_{\epsilon \rightarrow 0} \left[ \frac{S(r+\epsilon) - S(r)}{\log(r+\epsilon) - \log r} \right] \quad (3).$$

Sendo  $\epsilon$  uma variação infinitesimal nos tamanhos das caixas.

As dimensões fractais ( $D_{cc}$  e  $D_{inf}$ ) da rede vascular das MSVs de cada grupo foram avaliadas pelo teste de normalidade de Shapiro - Wilk. Este teste permitiu identificar que o grupo exposto a 0,83 mT não seguiu uma distribuição normal, assim sendo utilizado em seguida o teste de Kruskal-Wallis para comparar os grupos ao nível de significância de 5% ( $p > 0,05$ ). Os dados foram representados por mediana e desvio interquartilico.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da rede vascular foi realizada utilizando os valores da  $D_{cc}$  e  $D_{inf}$ . A figura 2 mostra medianas e os desvios interquartilicos dos valores de  $D_{cc}$  dos grupos expostos ao CM e grupo controle, não havendo alterações significativas das redes vasculares dos grupos submetidos ao CM ( $p=0,45$ ).

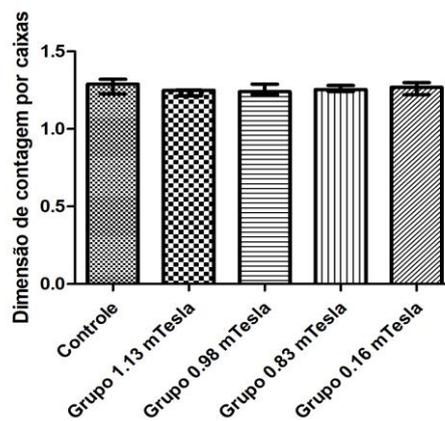


Figura 2. Dimensões de contagem por caixas ( $D_{cc}$ ) das imagens esqueletizadas da rede vascular das membranas do saco vitelínico de embriões de codornas submetidos às diferentes intensidades de campo magnético (1,13; 0,98; 0,83 e 0,16 mT), o gráfico mostra as medianas e os desvios interquartilicos.

Também foram observados que os valores de  $D_{inf}$  (figura 3) não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os grupos pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p=0,56$ ).

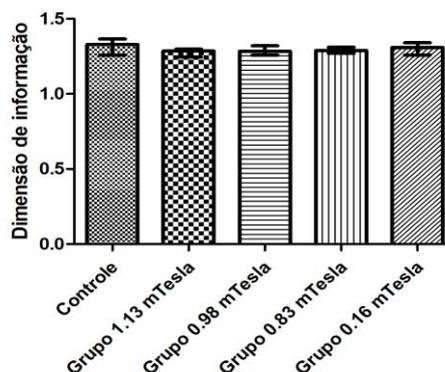


Figura 3. Dimensões de informação ( $D_{inf}$ ) das imagens esqueletizadas da rede vascular das membranas do saco vitelínico de embriões de codornas submetidos às diferentes intensidades de campo magnético (1,13; 0,98; 0,83 e 0,16 mT), o gráfico mostra as medianas e os desvios interquartilicos.

A geometria fractal é uma ferramenta que permite analisar estruturas de grande complexidade e que assim são de difícil mensuração. A rede vascular sanguínea é considerada uma estrutura fractal, devido ao processo de ramificação vascular apresentar autossimilaridade em diferentes escalas, ou seja, os vasos geram vasos de diâmetros menores, sendo este processo similar em escalas distintas de observação. Um objeto ou processo fractal possui as seguintes características: (1) autossimilaridade, o que significa que as partes de um objeto ou processo se assemelham a todo o objeto ou processo; (2) dependência de escala, que significa dizer que a medida da grandeza depende da escala na qual ela é medida; (3) dimensão fractal, que fornece uma descrição quantitativa da autossimilaridade e dependência de escala, e (4) as propriedades estatísticas anômalas dos fractais (MANDELBROT, 1991; BASSINGTHWAIGHT et al., 1994). Por se enquadrar como objeto fractal a rede vascular sanguínea pode ser estudada pelos métodos que mensuram a dimensão fractal. Vários trabalhos têm utilizado a dimensão fractal para avaliar o efeito de drogas no desenvolvimento da rede vascular sanguínea (MCKAY et al., 2008; VÝBOH et al., 2010; BORBA et al., 2017), no estudo da angiogênese tumoral (KIRCHNER et al., 1996; TAVERNA et al., 2009), bem como para medir o comportamento da rede vascular em determinadas enfermidades como a retinopatia diabética (AVAKIAN et al., 2002; CHEUNG et al., 2009; KUNICKI et al., 2009). A dimensão fractal é um descritor estatístico do padrão de preenchimento de espaço e de densidade que serve como ferramenta capaz de avaliar arquitetura vascular [FAMILY et al., 1989; PARSONS - WINGERTER et al., 2000; MANCARDI et al., 2008]. Os métodos utilizados para obtenção da dimensão fractal permitem acompanhar o desenvolvimento da rede vascular, assim podendo estimar a quantidade de vasos sanguíneos que preenchem a área em estudo. Assim os valores da dimensão fractal irão variar de 1 a 2, quando mais próximo de dois significa que mais complexa ou maior é a densidade da rede vascular sanguínea (COSTA et al., 2015).

Nosso estudo mostrou que os valores de dimensão fractal, tanto para o método de contagem por caixas quanto para o método de dimensão de informação, dos grupos de embriões expostos às diferentes intensidades de CM quando comparados às dimensões fractais do grupo controle não foram significativamente diferentes. Isso mostra que o CM não foi capaz de promover efeitos notáveis sobre a densidade vascular, que pode ser interpretada como o crescimento vascular (vasculogênese e angiogênese) que ocorre no momento de aplicação das várias intensidades (0,16; 0,83; 0,98; 1,13 mT). A área investigada foi uma região próxima à cabeça do embrião, acompanhando um vaso maior (vaso de referência) que se origina da região umbilical e que passa sob a porção cefálica do embrião até alcançar a borda do saco vitelínico. Esta região é um local que se tentou manter padrão para o estudo, apesar de ter algumas poucas variações na posição do vaso de referência entre os embriões. A distribuição vascular do local estudado não se mostrou visualmente reduzido, porém devido à vascularização sanguínea ser um processo heterogêneo, apenas recursos adequados como tratamento de imagem por esqueletização e quantificação da complexidade do processo vascular através de algoritmos fractais permitem a estimação da densidade vascular deste local. A geometria fractal é uma ferramenta que possibilita a identificação de uma possível redução ou aumento da distribuição vascular da área estudada.

Trabalhos têm reportados que os CMs produzem alterações no calibre dos vasos; influência sobre a perfusão sanguínea; modulação do fluxo e pressão sanguínea, influência na vasculogênese e angiogênese (MCKAY et al., 2010; DELLE MONACHE et al., 2013; XU et al., 2013; COSTA et al., 2013). Efeitos inibitórios de angiogêneses na rede vascular da MCA de embriões

de galinhas foram observados por Ruggiero et al. (2004) utilizando CM estático de 200 mT durante 3 horas por dia. Também Wang et al. (2009) observaram uma inibição da angiogênese da rede vascular da MCA de embriões de galinha utilizando um gradiente de CM estático (200-400 mT), bem como Balanezhad et al. (2010) aplicando CEM de 40 mT por 4 horas de exposição diária.

Costa et al. (2013) têm observado através de dimensão fractal uma menor densidade da rede vascular macroscópica das MSV de embriões de codorna expostos durante 6 e 9 horas ao CM de 1,13 mT com frequência de 60 Hz; enquanto períodos menores e maiores de exposição ao CM do que os referidos intervalos não tiveram diferenças estatísticas. Este efeito inibitório do CM de 1,13 mT também foi confirmado no estudo de Costa e Nogueira (2015) utilizando a geometria multiractal. No entanto, os resultados deste recente trabalho são contraditórios ao de Costa et al. (2013) e de Costa e Nogueira (2015) mostrando que o CM com intensidade 1,13 mT apresentou nenhum efeito significativo sobre a distribuição da rede vascular da MSV observada microscopicamente. Era esperado neste recente trabalho encontrar alterações na distribuição dos vasos menores, uma vez que houve a alteração do número de vasos maiores ou perceptíveis ao olho no estudo de Costa et al. (2013). Pode-se considerar que os métodos fractais utilizados tenham um limiar de sensibilidade e com isso não consigam identificar alterações bastante sutis, já que entre os métodos há aqueles com maior acurácia, por exemplo, o método fractais de contagem por caixa é menos robusto do que o método de dimensão de informação. Outro fato a refletir é que intensidades baixas possuem baixa probabilidade para promover alterações vasculares significantes na MSV, que é um modelo de ensaio similar a MCA, pois os estudos com MCA têm utilizado intensidades maiores como observados no trabalho de Ruggiero et al. (2004), Wang et al. (2009) e Balanezhad et al. (2010).

Os dados obtidos no presente trabalho corroboram com os observados por Silva et al. (2014), onde se verificou através das dimensões fractais que o CM com intensidade de 1 mT e frequência de 60 Hz não promoveu diferenças significativas na densidade vascular da MSV de embriões de codornas, quando observadas macroscopicamente. Também Henderson et al. (2006) não identificaram alterações da ação do CM com frequência de 50 Hz sobre as células endoteliais de veias umbilicais humanas.

## CONCLUSÕES

Com bases nos nossos resultados utilizando os métodos de obtenção das dimensões fractais (dimensão de contagem por caixa e dimensão de informação), não houve alteração da densidade da rede vascular da membrana do saco vitelínico de embriões de codornas japonesas (*cortunix japonica*) expostos durante 6 h diárias de campo magnético com diferentes intensidades (0,16; 0,83; 0,98; 1,13 mT) e frequência de 60 Hz. Isso mostra que esta faixa de campo magnético não promoveu efeitos significantes na vasculogênese e angiogênese.

## REFERÊNCIAS

- AALTO, S.; HAARALA, C.; BRÜCK A.; SIPILÄ, H.; HÄMÄLÄINEN H.; O RINNE, J. Mobile phone affects cerebral blood flow in humans. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, v.26, p.885-890, 2006.
- ANSELMO, C.W.S.F.; BION, F.M.; CATANHO, M.T.J.A.; MEDEIROS, M.C. Possíveis efeitos adversos dos CEM (50/60 Hz) em humanos e em animais. *Ciência & Saúde Coletiva*, v.10, p.71-82, 2005.
- AVAKIAN, A.; KALINA, R.E.; SAGE, E.H.; RAMBHIA, A.H.; ELLIOTT, K.E.; CHUANG, E.L.; CLARK, J.I.; HWANG, J.; PARSONS-WINGERTER, P. Fractal analysis of region-based vascular change in the normal and non-proliferative diabetic retina. *Current Eye Research*, v.24, n.4, p.274-280, 2002.

- BALANEZHAD, S.Z.; PARIVAR, K.; BAHARARA, J.; KOUCHESFEHANI, H.M.; ASHRAF, A. The effect of extremely low frequency electromagnetic field on angiogenesis. *Research Journal of Environmental Sciences*, v.4, n.3, p.300-304, 2010.
- BEKHITE, M.M.; FINKENSIEPER, A.; ABOU-ZAID, F.A.; EL-SHBAGY, I.K.; OMAR, K.M.; FIGULLA, H-R.; SAUER, H.; WARTENBERG, M. Static electromagnetic fields induce vasculogenesis and chondro-osteogenesis of mouse embryonic stem cells by reactive oxygen species-mediated up-regulation of vascular endothelial growth factor. *Stem Cells and Development*, v.19, p.731-743, 2010.
- BASSINGTHWAIGHTE, J.B.; LIEBOVITCH, L.S.; WEST, B.J. *Fractal physiology*. New York: Oxford University Press, 1994. 364 p.
- BORBA, F.K.S.L.; COSTA, E.V.L.; POLLI, V.A.B.; COELHO, D.S.; MARASCHIN, M.; DIAS, P.F.; NOGUEIRA, R.A. Pro-angiogenic Activity Assay of Chondroitin Sulfate and Glucosamine Sulfate on Vascular Network of Mouse and of Chick Embryo Chorioallantoic Membrane. *Journal of Glycobiology*, v.6, n.3, p.1000129, 2017.
- COSTA, E.V.L.; JIMENEZ, G.C.; BARBOSA, C.T.F.; NOGUEIRA, R.A. Fractal analysis of extra-embryonic vascularization in japanese quail embryos exposed to extremely low frequency magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, v.34, n.2, p.114-121, 2013.
- COSTA, E.V.L.; NOGUEIRA, R.A. Multifractal dimension and lacunarity of yolk sac vasculature after exposure to magnetic field. *Microvascular Research*, v.99, p.1-7, 2015.
- COSTA, E.V.L.; NOGUEIRA, R.A. Fractal, multifractal and lacunarity analysis applied in retinal regions of diabetic patients with and without non-proliferative diabetic retinopathy. *Fractal Geometry and Nonlinear Analysis in Medicine and Biology*, v.1, n.3, p.112-119, 2015.
- CHEUNG, N.; DONAGHUE, K.C.; LIEW, G.; ROGERS, S.L.; WANG, J.J.; LIM, S.W.; JENKINS, A.J.; HSU, W.; LEE, M.L.; WONG T.Y. Quantitative assessment of early diabetic retinopathy using fractal analysis. *Diabetes Care*, v.32, n.1, p.106-110, 2009.
- DELLE MONACHE, S.; ALESSANDRO, R.; IORIO, R.; GUALTIERI, G.; COLONNA, R. Extremely low frequency electromagnetic fields (elf-emfs) induce invitro angiogenesis process in human endothelial cells. *Bioelectromagnetics*, v. 29, p.640-648, 2008.
- FAMILY, F.; MASTERS, B.R.; PLATT, D.E. Fractal pattern formation in human retinal vessels. *Physica D*, v.38, p.98-103, 1989.
- KIRCHNER, L. M.; SCHMIDT, S.P.; GRUBER, B.S. Quantitation of angiogenesis in the chick chorioallantoic membrane model using fractal analysis. *Microvascular Research*, v. 54, p.2-14, 1996.
- KUNICKI, A.C.B.; OLIVEIRA, A.J.; MENDONÇA, M.B.M.; BARBOSA, C.T.F.; NOGUEIRA, R.A. 2009. Can the fractal dimension be applied for the early diagnosis of non-proliferative diabetic retinopathy? *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. v.42, n.10, p.930-934, 2009.
- HUBER, R.; TREYER, V.; BORBÉLY, A.A.; SCHUDERER, J.; GOTTSSELIG, J.M.; LANDOLT, H.-P.; WERTH, E.; BERTHOLD, T.; KUSTER, N.; BUCK, A.; ACHERMANN, P. Electromagnetics fields, such as those from mobile phones, alter regional cerebral blood flow and sleep and waking EEG. *Journal Sleep Research*, v. 11, p.289-295, 2002.
- LI, F.; XU, K.-W.; WANG, H.-C.; GUO, W.-Y.; HAN, Y.; LIU, B.; ZHANG, R.-Q. Effects of static magnetic field on human umbilical vessel endothelial cell. *Journal of Medical Colleges of PLA*, v.22, p.106-110, 2007.
- MARTINO, C.F.; PEREA, H.; HOPFNER, U.; FERGUSON, V.L.; WINTERMANTEL, E. Effects of weak static magnetic fields on endothelial cells. *Bioelectromagnetics*, v.31, p.296-301, 2010.
- MCKAY, J.C.; PRATO, F.S.; THOMAS, A.W. A literature review: The effects of magnetic field exposure on blood flow and blood vessels in the microvasculature. *Bioelectromagnetics*. v.28, p.81-98, 2007.
- MANCARDI, D.; VARETTO, G.; BUCCI, E.; MANIERO, F.; GUIOT, C. Fractal parameters and vascular networks: facts & artifacts. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, v.5, n.12, p.1-8, 2008.
- MCKAY, T.L., GEDEON, D.J., VICKERMAN, M.B., HYLTON, A.G., RIBITA, D., OLAR, H.H., KAISER, P.K., PARSONS-WINGERTER, P. Selective inhibition of angiogenesis in small blood vessels and decrease in vessel diameter throughout the vascular tree by triamcinolone acetonide. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, v.49, p.1184-1190, 2008.
- PARSONS-WINGERTER, P.; ELLIOTT, K.E.; CLARK, J.I.; FARR, A.G. Fibroblast growth factor-2 selectively stimulates angiogenesis of small vessels in arterial tree. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v.20, p.1250-1256, 2000.
- RUGIERO, M.; BOTTARO, D.P.; LIGURI, G.; GULISANO, M.; PERUZZI, B.; PACINI, S. 0.2T Magnetic field inhibits angiogenesis in chick embryo chorioallantoic membrane. *Bioelectromagnetics*, v. 25, p. 390-396, 2004.
- SILVA, M.M.S; ALMEIDA, T.H.S., COSTA, E.V.L., SILVA, J.E.S. NOGUEIRA, R.A. Crescimento vascular em membrana do saco vitelínico e desenvolvimento embrionário de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) expostas a campo magnético de baixa frequência. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.66, n.4, p.1003-1009, 2014.
- TEPPER, O.M.; CALLAGHAN, M.J.; CHANG, E.I.; GALIANO, R.D.; BHATT, R.D.; BAHARESTANI, S.; GAN, J.; SIMON, B.; HOPPER, R.A.; LEVINE, J.P.; GURTNER, G.C. Electromagnetic fields increase in vitro and in vivo angiogenesis through endothelial release of FGF-2. *FASEB Journal*, v.18, p.1231-1233, 2004.
- TAVERNA, G., COLOMBO, P., GRIZZI, F., FRANCESCHINI, B., CEVA-GRIMALDI, G., SEVESO, M., GIUSTI, G., PICCINELLI, A., GRAZIOTTI, P. Fractal analysis of two-dimensional vascularity in primary prostate cancer and surrounding non-tumoral parenchyma. *Pathology Research and Practice*. v.205, p.438-444, 2009.
- VÝBOH, P.; ZEMAN, M.; BILČÍK, B.; ŠÁRNIKOVÁ, B.; KOŠTÁL, L. Angiogenic effect of leptin in the quail chorioallantoic membrane. *Acta Veterinaria Brno*, v.79, p.13-17, 2010.
- WANG, Z.; YANG, P.; XU, H.; QIAN, A.; HU, L.; SHANG, P. Inhibitory effects of a gradient static magnetic field on normal angiogenesis. *Bioelectromagnetics*, v.30, p.446-453, sep. 2009.
- WOLF, M.; HAENSEL, D.; MORREN, G.; Froehlich, J. Do GSM 900MHz signals affect cerebral blood circulation? A near-infrared spectrophotometry study. *Optics Express*, v. 14, p.6128 - 6141, 2006.