



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**INFLUÊNCIA DO pH DA ÁGUA NA HEPATO E NEFROTOXICIDADE NA
INTOXICAÇÃO CRÔNICA POR CÁDMIO EM RATOS WISTAR**

DANIEL JOSÉ PIMENTEL BONFIM

**INFLUÊNCIA DO pH DA ÁGUA NA HEPATO E NEFROTOXICIDADE NA
INTOXICAÇÃO CRÔNICA POR CÁDMIO EM RATOS WISTAR**

DANIEL JOSÉ PIMENTEL BONFIM

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Hermann Bremer Neto

636.086 59 Bonfim, Daniel José Pimentel.
B713i Influência do pH da água na hepato e
nefrotoxicidade na intoxicação crônica por cádmio em
ratos Wistar/ Daniel José Pimentel Bonfim. --
Presidente Prudente, 2014.
51 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste,
Presidente Prudente, SP, 2014.

Bibliografia.

Orientador: Hermann Bremer Neto.

1. Intoxicação por Cádmio. 2. Rim. 3. Fígado. 4.
Intoxicação por água. I. Título.

DANIEL JOSÉ PIMENTEL BONFIM

**INFLUÊNCIA DO pH DA ÁGUA NA HEPATO E NEFROTOXICIDADE NA
INTOXICAÇÃO CRÔNICA POR CÁDMIO EM RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada à Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre – Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 22 de agosto de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hermann Bremer Neto
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE
Presidente Prudente-SP

Prof. Dra. Maria Raquel Marçal Natali
Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR

Prof. Dra. Gisele Alborghetti Nai
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE
Presidente Prudente-SP

DEDICATÓRIA

Á Deus pela oportunidade recebida.

Á toda minha família pelo grande incentivo, por prestar todo o apoio e me oferecer todo alicerce necessário para que alçasse mais um degrau rumo ao saber e ao conhecimento.

Á todos os meus amigos conquistados ao longo dessa jornada que espero sejam para toda a vida.

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos ao Professor Doutor Hermann Bremer Neto, Orientador dessa Dissertação, por sempre se colocar ao meu inteiro dispor, prestando todos os esclarecimentos e orientando as dúvidas surgidas, as quais foram imprescindíveis para que reunisse condições de concluí-la.

Estendo meus agradecimentos também à co-Orientadora da presente Dissertação, Professora Dra. Gisele Alborghetti Nai igualmente por se colocar à minha inteira disposição, sempre com muito profissionalismo e dinamismo.

Á todos que direta ou indiretamente me auxiliaram com informações e idéias para a realização da presente Dissertação.

“Há um ditado chinês que diz que:

.....se dois homens vêm andando por uma estrada, cada um carregando um pão, ao se encontrarem, eles trocam os pães; cada um vai embora com um. Porém, se dois homens vêm andando por uma estrada, cada um carregando uma idéia, ao se encontrarem, trocam as idéias; cada um vai embora com duas.

Quem sabe, é esse mesmo o sentido do nosso fazer: repartir idéias, para todos terem pão...”

Cortella

RESUMO

INFLUÊNCIA DO pH DA ÁGUA NA HEPATO E NEFROTOXICIDADE NA INTOXICAÇÃO CRÔNICA POR CÁDMIO EM RATOS WISTAR

Introdução: O cádmio é um metal pesado encontrado no meio ambiente e utilizado industrialmente e pode causar efeitos hepato e nefrotóxicos. **Objetivo:** Avaliar o efeito do pH da água de beber na hepato e nefrototoxicidade provocadas pela intoxicação crônica por cádmio. **Material e métodos:** Utilizou-se 90 ratos Wistar albinos, adultos, machos, distribuídos em 6 grupos (n=15): GC5 –solução de cloreto de cádmio na água de beber com pH ácido (pH 5,0); GC7 – solução de cloreto de cádmio (400mg/L) na água de beber com pH neutro (pH 7,0); GC8 –solução de cloreto de cádmio na água com pH básico (pH 8,0). GSC5 –água de beber com pH ácido (pH 5,0); GSC7 – água de beber com pH neutro (pH 7,0); GSC8 – água de beber com pH básico (pH 8,0). Os animais foram eutanasiados seis meses após o início do experimento. Realizaram-se provas de função hepática e renal e histopatologia renal e hepática. **Resultados:** O pH ácido da água influenciou negativamente em ALP, ALT e uréia nos animais expostos ao cádmio ($p < 0,05$). No fígado, a maioria dos animais do grupo GC7 (57,1%) e do grupo GC5 (53,3%) apresentaram esteatose microvesicular difusa, sendo que a maioria dos animais dos outros grupos não apresentou esteatose ($p > 0,05$). No rim, embora a maioria dos animais do grupo GC7 (78,6%) e do grupo GSC5 (71,4%) tenha apresentado degeneração hidrópica tubular, só houve diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo GSC7 ($p < 0,05$). **Conclusão:** O cádmio em pH ácido da água levou a maior elevação dos níveis séricos de ALP e AST e de uréia, mostrando que esse metal pesado na dieta hídrica em pH ácido aumenta o seu efeito hepato e nefrotóxico.

Palavras-chave: cádmio, acidificação, rim, fígado, toxicidade.

ABSTRACT

INFLUENCE OF pH OF WATER IN HEPATO AND NEPHROTOXICITY OF CHRONIC CADMIUM POISONING IN WISTAR RATS

Introduction: Cadmium is a heavy metal found in the environment and used industrially and can cause hepato-and nephrotoxic effects. **Objective:** To evaluate the effect of pH of drinking water in the hepato-and nephrotoxicity caused by chronic cadmium poisoning. **Methods:** We used 90 Wistar albino rats, adult, male, divided into 6 groups (n = 15): GC5 - solution of cadmium chloride in drinking water at acidic pH (pH 5.0) water; GC7 - solution of cadmium chloride (400mg / L) in drinking water at neutral pH (pH 7.0 water); GC8 - solution of cadmium chloride in water at alkaline pH (pH 8.0); GWC5 - drinking water at acidic pH (pH 5.0); GWC7 - drinking water at neutral pH (pH 7.0); GWC8 - drinking water at alkaline pH (pH 8.0). The animals were euthanized six months after the beginning of the experiment. We performed tests of hepatic and renal function and liver and renal histopathology. **Results:** The acid pH of the water caused alteration in ALP, ALT and urea in animals exposed to cadmium (p <0.05). In the liver, most of the animals of group GC7 (57.1%) and GC5 group (53.3%) showed diffuse microvesicular steatosis and most of the animals from the other groups showed no steatosis (p > 0.05). In the kidney, although most animals of GC7 group (78.6%) and GWC5 group (71.4%) has presented tubular hydropic degeneration, there was statistically significant difference only in relation to GWC7 group (p <0.05). **Conclusion:** The cadmium in acid pH of the water led to higher elevation in serum ALP, AST and urea, showing that this heavy metal in a drinking water at acidic pH increases its hepato and nephrotoxic effect.

Keywords: cadmium, acidification, kidney, liver, toxicity.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Cádmio	11
1.2 Toxicidade do Cádmio.....	15
1.3 Nefrotoxicidade Relacionada ao Cádmio	16
1.4 Hepatotxicidade Relacionada ao Cádmio.....	17
1.5 Regulação do pH no Organismo	17
1.6 Influência do pH nos Tecidos Normais.....	19
1.7 Água Potável.....	20
REFERÊNCIAS.....	23
2 ARTIGO.....	25
ANEXOS	45
Anexo 1 - Aprovação do Trabalho pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE).	45
Anexo 2 – Normas de Publicação da Revista Científica a Qual o Artigo Será Submetido.....	46

1 INTRODUÇÃO

As substâncias químicas fazem parte da natureza, tendo sido extraídas e utilizadas desde os primórdios da civilização humana para os mais diversos fins. Esta utilização vem crescendo ao longo do tempo e aumentou significativamente com a industrialização, quando começou também, de forma importante, a produção de substâncias sintéticas. Esta evolução, que trouxe avanços importantes e decisivos, também teve impacto marcante no ambiente e na saúde das populações em razão da poluição e da contaminação dela decorrentes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Deve ser lembrado que existe uma diferença entre a capacidade que tem um agente para causar dano e a possibilidade de que este agente cause dano. O potencial intrínseco de um agente tóxico para lesar a saúde só se concretiza se houver condições para que este agente alcance o(s) órgão(s) crítico(s) que ele pode danificar (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2001).

Quando o risco provém de substâncias ou produtos utilizados é simples associar sua presença com determinadas operações. O mesmo não acontece quando os agentes químicos ocorrem como subprodutos, ou resíduos, ou são produzidos acidentalmente como resultado de reações químicas de combustão ou pirólise, decomposição de certos materiais, ou aparecem como impurezas. O problema das impurezas deve ser cuidadosamente examinado, visto que certos produtos químicos podem conter contaminantes muito mais tóxicos do que eles próprios, oferecendo riscos para a saúde (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2001).

Outro aspecto importante da toxicidade das substâncias químicas refere-se às suas propriedades físicas. A proporção dos componentes de um vapor pode diferir muito de sua proporção na mistura líquida que lhe deu origem (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Dentre os diversos agentes químicos, os quais os serem humanos podem estar expostos, temos os metais pesados. Metal pesado é definido como sendo um elemento com densidade atômica maior do que 6 g cm^{-3} . Entre os metais pesados mais estudados, encontram-se elementos não essenciais para os vegetais, como o chumbo, cádmio, cromo e mercúrio; e os micronutrientes: cobre,

zinco, ferro e manganês. Porém, mesmo os essenciais podem tornar-se contaminantes ou poluentes de solo e água (CAVALCANTE; NASCIMENTO, 2012).

1.1 Cádmi

O cádmio (Cd) é um metal pesado, de número atômico 48 e peso molecular de 112,411 (Figura A), que foi descoberto por volta de 1815 em minérios contendo carbonato e zinco. O cádmio é um dos mais abundantes elementos não essenciais encontrados no ambiente, sendo muito utilizado em aplicações industriais. Além disso, é um dos componentes da fumaça do cigarro, e conseqüentemente pode contaminar as populações que estão em contato com este metal pesado (LUCHESE, 2007).

Figura A – Tabela Periódica

1A (1)																	8A (18)	
1 100794 H Hidrogênio	2 9012182 Be Berílio											3 10811 B Boro	4 120107 C Carbono	5 1400674 N Nitrogênio	6 159994 O Oxigênio	7 1899840 F Flúor	8 201797 Ne Neônio	
3 6941 Li Lítio	4 9012182 Be Berílio	11 22399770 Na Sódio	12 243050 Mg Magnésio	13 2698153 Al Alumínio	14 280855 Si Silício	15 309737 P Fósforo	16 32006 S Enxofre	17 354527 Cl Cloro	18 39948 Ar Argônio									
19 390983 K Potássio	20 40078 Ca Cálcio	21 449559 Sc Escândio	22 47867 Ti Titânio	23 509415 V Vanádio	24 519661 Cr Cromo	25 54938 Mn Manganês	26 55845 Fe Ferro	27 589332 Co Cobalto	28 586934 Ni Níquel	29 63546 Cu Cobre	30 6539 Zn Zinco	31 69723 Ga Gálio	32 7261 Ge Germanio	33 749216 As Arsênio	34 7896 Se Selênio	35 79904 Br Bromo	36 838 Kr Criptônio	
37 854678 Rb Rubídio	38 8762 Sr Estrôncio	39 88905 Y Ítrio	40 91224 Zr Zircônio	41 92906 Nb Nióbio	42 9594 Mo Molibdênio	43 98049 Tc Técncio	44 10107 Ru Rutênio	45 102905 Rh Ródio	46 10642 Pd Paládio	47 1078682 Ag Prata	48 112411 Cd Cádmio	49 114818 In Índio	50 11871 Sn Estanho	51 12175 Sb Antimônio	52 1276 Te Telúrio	53 1269044 I Iodo	54 13129 Xe Xenônio	
55 13298545 Cs Césio	56 137327 Ba Bário	57 71 * Rf Rutherfordio	72 17849 Hf Háfnio	73 180947 Ta Tântalo	74 18384 W Tungstênio	75 186207 Re Rênio	76 19023 Os Ósmio	77 192217 Ir Iridio	78 195078 Pt Platina	79 196966 Au Ouro	80 20059 Hg Mercúrio	81 2043833 Tl Tálio	82 2072 Pb Chumbo	83 2089803 Bi Bismuto	84 210 Po Polônio	85 210 At Astato	86 222 Rn Radônio	
87 2230197 Fr Frâncio	88 22602 Ra Rádio	89 * ** Ac Actínio	103 26111 Rf Rutherfordio	104 26211 Db Dubnio	105 26211 Sg Seabórgio	106 26212 Bh Bóhrio	107 269 Hs Hássio	108 269 Mt Meitnênio	109 269 Uun Unúnio	110 272 Uuu Unúbio	111 272 Uub Unúmbio							
		57 1389055 La Lantânio	58 140116 Ce Cério	59 1409076 Pr Praseodímio	60 14424 Nd Neodímio	61 1457 Pm Promécio	62 15036 Sm Samário	63 151964 Eu Európio	64 15725 Gd Gadolínio	65 1589253 Tb Térbio	66 16250 Dy Dísprosio	67 1649303 Ho Hólmio	68 16726 Er Érbio	69 1689342 Tm Túlio	70 17304 Yb Ítábio	71 174967 Lu Lutécio		
		89 227 Ac Actínio	90 2320381 Th Tório	91 2310358 Pa Protactínio	92 2380288 U Urânio	93 237 Np Netúnio	94 244 Pu Plutônio	95 243 Am Americônio	96 247 Cm Cúrio	97 247 Bk Berquélio	98 251 Cf Califórnio	99 252 Es Einstênio	100 257 Fm Férmio	101 258 Md Mendelévio	102 259 No Nobelio	103 262 Lr Laurencio		

Fonte: TABELA... (2011)

O cádmio é comercialmente obtido como um co-produto industrial das atividades de exploração mineira e fundição do zinco e do chumbo. Os componentes com cádmio são utilizados como estabilizadores em produtos como os polímeros de cloreto de vinila (PVC), como pigmentos e, mais usualmente, em baterias e pilhas níquel-cádmio recarregáveis. O cádmio metálico é muito utilizado como um agente anticorrosão e encontra-se também presente como contaminante nos fertilizantes à base de fosfato (LOPES, 2009).

As estimativas indicam que, anualmente, a nível mundial, são libertadas para o ambiente cerca de 30.000 toneladas de cádmio, sendo que 4.000 a 13.000 toneladas são de origem antropogênica, as quais incluem fumos, poeiras e restos das fundições de minério, incineração de produtos constituídos por este elemento e queima de combustíveis fósseis. Os fertilizantes e respectivas lamas agrícolas, o tabaco, as águas de resíduos municipais e descargas de esgotos são outra importante fonte deste elemento (LOPES, 2009).

Para além das fontes antropogénicas, o cádmio, pode também ocorrer naturalmente nos sistemas aquáticos onde surge em concentrações bastante variáveis de acordo com a área geográfica. Apesar dos peixes serem uma importante via de contaminação humana com este elemento, as plantas apresentam um poder de absorção superior. Assim, a contaminação dos solos com cádmio é especialmente relevante uma vez que pode representar uma importante porta de entrada deste elemento na cadeia alimentar. Os fertilizantes fosfatados e as lamas provenientes do tratamento de águas residuais utilizadas na atividade agrícola, o lixo que é descarregado nas terras de cultivo, a deposição atmosférica e o cádmio presente nas águas de irrigação constituem as principais fontes de cádmio no solo. Existem espécies como o girassol, a soja, os amendoins e o tabaco que captam e acumulam cádmio em concentrações muito elevadas, em muitos casos superiores às que originam efeitos tóxicos no Homem e noutros animais. A elevada capacidade de absorção do cádmio pela planta tabaco faz com que o fumo constitua uma das principais fontes de exposição a este elemento (LOPES, 2009).

O cádmio entra no organismo, principalmente, por inalação e ingestão. Os pulmões absorvem de 10 a 40% do cádmio inalado, enquanto que o cádmio ingerido através dos alimentos e da água é pouco absorvido pelo trato gastrintestinal (5-7%), sendo a maior parte eliminado pelas fezes. Porém, deficiências de cálcio, ferro e proteínas aumentam a taxa de absorção do cádmio ingerido, como é o caso da população brasileira que tem hábitos alimentares comprometidos e fumantes (boa parte da população) que podem absorver quantidades comparáveis à ingestão diária. O grau de absorção gastrintestinal é dependente da forma química, da dose ingerida de cádmio e de características individuais, tais como género e idade (SOUZA et al., 2010).

Quando a exposição é pequena o cádmio fica retido unido a metalotionina (MT) na mucosa intestinal, ocorrendo a eliminação através da

descamação do epitélio que se verifica continuamente. Quando os níveis de exposição são mais elevados ultrapassa-se a capacidade da MT para formar complexo com o cádmio, pelo que o metal atravessa a mucosa e passa para a circulação, sendo distribuído principalmente para fígado e rim (LOPES, 2009).

Quando a exposição é reduzida e prolongada no tempo (situação que se verifica na exposição por ingestão), o cádmio acumula-se majoritariamente nos rins (LOPES, 2009).

No homem, o cádmio possui um tempo de meia-vida bastante longo, tendo este valor nos rins e fígado sido estimado em 6 a 38 anos e 4 a 19 anos, respectivamente (LUCHESE, 2007; LOPES, 2009).

Uma vez que o cádmio está presente na maior parte dos alimentos, em concentrações que são muito variáveis (Tabela A), pode dizer-se que os níveis da sua ingestão vão depender não só das condições sob as quais os alimentos são produzidos, mas também dos diferentes hábitos alimentares que as populações apresentam. A alimentação é a principal via de exposição dos seres humanos a este elemento (LOPES, 2009).

Tabela A – Concentração de Cádmi Presente em Alguns Alimentos

Alimento	Gama de concentração
Leite	< 10 ppb
Ovos	< 10 ppb
Carne de vaca	< 10 ppb
Pescada	4,1-14,3 ppb (pf)
Salmonete	7,6-28,9 ppb (pf)
Mexilhão	0,13 - 0,14 (mg/kg pf)
Ameijoa	0,14 (mg/kg pf)
Ostra	0,4-40 ppm (ps)
Vieira	3,2-66 ppm (pf)
Camarão	<0,1-2,2 (mg/kg pf)
Sapateira	1 - 13(mg/Kg pf)
Navalheira	0,024-0,504 (mg/kg pf)
Fruta	<1-100 ppb (pf)
Espinafre	0,03-0,31 ppm (pf)
Alface	<0,001-24 ppm (pf)
Couve	2-150 ppb (pf)
Batata	5-180 ppb (pf)
Cenoura	1-220 ppb (pf))
Cebola	<2-90 ppb (pf)
Tomate	<1-80 ppb (pf)
Feijão	20-80 ppb (pf)
Arroz	<1-310 ppb (pf)
Trigo	<5-230 ppb (pf)

ppm: partes por milhão; **ppb:** partes por bilião; **pf:** peso fresco; **ps:** peso seco

Fonte: Lopes, 2009.

Considerando então que a maioria dos alimentos contém cádmio, atribui-se aproximadamente dois terços do valor da ingestão diária de cádmio aos produtos de origem vegetal e um terço aos produtos de origem animal (peixe, moluscos e crustáceos, principalmente) (LOPES, 2009).

Atualmente, as ingestões admissíveis de cádmio situam-se em 7,0 µg/kg peso corporal por semana (LOPES, 2009).

Um dos principais fatores que afeta a disponibilidade dos metais pesados às plantas é o pH do solo, o qual apresenta, em geral, relação inversa com a disponibilidade desses elementos. O efeito negativo da calagem na fitodisponibilidade dos metais é devido, principalmente, ao aumento da capacidade de troca catiônica e à formação de hidróxidos e carbonatos de baixa solubilidade, como: por exemplo: $\text{Cd}(\text{OH})_2$ $K_{ps} = 2,5 \times 10^{-14}$ (CUNHA et al., 2006).

1.2 Toxicidade do Cádmio

O cádmio interfere em muitas funções celulares, principalmente pela formação de complexos com grupos externos de compostos orgânicos, tais como as proteínas, resultando na inibição de atividades essenciais. Além disso, pode provocar alterações nos sistemas antioxidantes, estimulando o acúmulo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e eventualmente morte celular (SOUZA et al., 2009).

A ingestão de doses elevadas de cádmio pode originar efeitos de toxicidade aguda que envolve náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia, enquanto que a inalação de doses elevadas está relacionada com o desenvolvimento de edema pulmonar. A exposição crônica ao cádmio tem estado associada ao desenvolvimento de múltiplos efeitos de toxicidade que incluem, entre outras, doenças pulmonares, renais, cardiovasculares e ósseas (LOPES, 2009).

Alguns estudos mostram perda de peso nos animais expostos a ingestão de cádmio, provavelmente por alteração no metabolismo hormonal e por diminuir a absorção de metais essenciais ao organismo (MOTTA et al., 2004).

O cádmio pode causar lesão direta ao testículo. Uma toxina testicular e os vários sais derivados podem induzir dano severo ao epitélio espermatogênico em modelo experimental com ratos. O efeito do cádmio sobre os testículos parece se manifestar principalmente nas células de Sertoli, que apresentam mais mudanças morfológicas na microscopia eletrônica. O cádmio pode também interferir com as funções normais das enzimas mitocondriais. A lesão testicular pelo cádmio é primariamente vascular e o dano vascular vai determinar o grau de lesão das células germinativas e de Leydig. Esta lesão pode vir a gerar tumores nas células de Leydig, degeneração tubular (exposição a altas doses) e atrofia, além da indução de necrose tecidual e déficit de produção de androgênios. Nas exposições crônicas a doses mais baixas, a maior disposição de metalotioneína, ligada ao cádmio, faz com que a lesão testicular se mostre menos agressiva quando comparado a outros quadros de intoxicação aguda (QUEIROZ, 2005).

Em estudo da Organização Mundial de Saúde sobre efeitos do cádmio no sangue de homens adultos, os resultados gerais indicaram que mesmo pequenas exposições ao cádmio (10 $\mu g/l$) podem reduzir significativamente a qualidade do sêmen, no entanto, sem maiores evidências conclusivas de alterações reprodutivas endócrinas masculinas (QUEIROZ, 2005).

1.3 Nefrotoxicidade Relacionada ao Cádmio

A excreção do cádmio absorvido ocorre majoritariamente por via urinária. Este processo é, contudo, insuficiente e lento, o que explica o longo tempo de meia-vida do cádmio no organismo, o que estará relacionado, por sua vez, com a possível ocorrência de efeitos tóxicos mesmo após a redução parcial ou total da exposição (LOPES, 2009).

A córtex renal pode reter 33% da carga total de cádmio, o fígado 14%, os pulmões 2% e o pâncreas, menos de 1%. Os 50% restantes são distribuídos entre os outros tecidos, tais como pulmões, aorta, coração e músculos, em ordem decrescente (SOUZA et al., 2010).

Quando o teor de cádmio no córtex renal atinge o limite crítico de 200 mg.Kg⁻¹ surgem as primeiras disfunções renais, ocasionando, nos casos, mais graves, osteomalacia (VENEZUELA, 2001).

Estudos mostram que se a concentração renal for maior que 10 µg/g, já podem ser observadas alterações ultraestruturais (lesão da borda em escova dos microvilos e edema mitocondrial nas células dos túbulos contorcidos proximais). Numa concentração de 30 µg/g já se observa necrose (BRZÓSKA et al., 2003).

O estudo de Castro e Silva e Fregoneze (2002), onde foram injetados cádmio e chumbo no sistema nervoso central, demonstrou que ambos os metais pesados estudados reduzem a ingestão de água em animais desidratados e também naqueles cuja ingestão de água deve-se a estímulos farmacológicos centrais sobre as vias colinérgicas, angiotensinérgicas e beta-adrenérgicas centrais. Mostrando que estes metais estão bloqueando agudamente passos neuroquímicos que são indispensáveis à geração da sede. Observou-se também a ingestão de sal ocorrendo em animais desidratados, é bloqueada pela presença aguda de metais pesados no sistema nervoso central. E, por último, apresentaram dados mostrando que, agudamente, os metais pesados exercem ação natriurética e caliurética, o que parece depender de estímulo dos receptores AT1 centrais da angiotensina II e exigem o funcionamento de canais de cálcio voltagem-dependentes (CASTRO e SILVA; FREGONEZE, 2002).

Quando o fígado e os rins são atingidos o indivíduo morre, geralmente, por parada respiratória e colapso cardiovascular (VENEZUELA, 2001).

1.4 Hepatotoxicidade Relacionada ao Cádmio

O cádmio produz lesão hepática extensa após a exposição aguda e crônica em animais (LIU et al., 2004). Na intoxicação por cádmio, ocorre aumento nos níveis da transaminases sanguíneas, além de histologicamente serem observados: borramento da estrutura trabecular dos lóbulos, degeneração vacuolar e necrose individual de hepatócitos, aumento do número de células de Küpffer e infiltrado mononuclear (BRZÓSKA et al., 2003).

Ao contrário da maioria dos agentes tóxicos hepáticos, o cádmio produz danos no fígado, sem biotransformação uma vez que não sofre conjugação enzimática, e não há possibilidade de degradação (LIU et al., 2004). As células endoteliais são o alvo inicial do cádmio no fígado (LIU et al., 2004).

Após administração aguda de cádmio, ocorrem congestão hepática, isquemia e hipóxia muito rapidamente. A hipóxia isquêmica resultante conduz a infiltração de neutrófilos, ativação de células de Küpffer e inflamação, o que poderia potencialmente contribuir para a apoptose hepatocelular generalizada e necrose observada com cádmio (LIU et al., 2004).

Mediadores inflamatórios, tais como TNF, IL-1, IL-6, IL-8, e NO, parecem ter diversos papéis hepatotoxicidade aguda induzida por cádmio (LIU et al., 2004).

O doador de óxido nítrico (NO), O_2 -vinyl 1-(pyrrolidin-1-yl) diazen-1-ium-1,2-diolate (V-PYRRO/NO), é metabolizado pelo sistema enzimático P450 para liberar NO e é efetivo em proteger contra a hepatotoxicidade contra endotoxinas e acetoaminofeno e também cádmio (LIU et al., 2004).

1.5 Regulação do pH no Organismo

Existem três sistemas primários reguladores da concentração de íon hidrogênio nos líquidos corporais que evitam a acidose ou alcalose: os sistemas químicos de tampões ácido-base dos líquidos corporais, que imediatamente se combinam com o ácido ou com a base evitando alterações excessivas na concentração de íon hidrogênio; o centro respiratório, que regula a remoção de gás carbônico - CO_2 (e, portanto, de ácido carbônico - H_2CO_3) do líquido extracelular; e os rins, que podem excretar urina ácida ou alcalina, reajustando assim a

concentração de íon hidrogênio no líquido extracelular de volta ao normal durante a acidose ou alcalose (GUYTON; HALL, 2006).

Quando ocorre uma alteração na concentração de íon hidrogênio, o sistema tampões dos líquidos corporais reage em fração de segundo para minimizar estas mudanças. Os sistemas tampões não eliminam os íons hidrogênio do organismo nem os adiciona, somente os mantém estacionados até que o equilíbrio possa ser restabelecido. A segunda linha de defesa, o sistema respiratório, também atua em poucos minutos para eliminar o CO_2 e, conseqüentemente, o H_2CO_3 do organismo. Estas primeiras duas linhas de defesa impedem que a concentração de íon hidrogênio se altere excessivamente até que a terceira linha de defesa, a mais lenta – os rins -, possa eliminar o excesso de ácido ou base do organismo. Embora os rins sejam relativamente lentos para responder, comparado com as outras defesas eles são, no decurso de um período de horas ou vários dias, sem dúvida o mais potente dos sistemas reguladores ácido-básico (GUYTON; HALL, 2006).

Todos esses sistemas tampões funcionam juntos em razão de os íons hidrogênio serem comuns nas reações de todos os sistemas. Portanto, sempre que há uma mudança na concentração de íon hidrogênio no líquido extracelular, o equilíbrio de todo o sistema tampão muda ao mesmo tempo. Este fenômeno é chamado de princípio isoídrico (GUYTON; HALL, 2006).

A primeira linha de defesa inclui o hidrogênio e o bicarbonato. Sem o tamponamento, a produção e a ingestão diária de ácidos provocariam grandes mudanças na concentração de íon hidrogênio no líquido corporal, sendo o sistema tampão bicarbonato o mais importante no líquido extracelular. O resultado, em consequência disso, é a tendência a diminuir os níveis de CO_2 no sangue; entretanto, a diminuição de CO_2 no sangue inibe a respiração e diminui a velocidade de expiração do CO_2 . O aumento de bicarbonato (HCO_3) que ocorre no sangue é compensado por sua excreção renal aumentada (GUYTON; HALL, 2006).

Uma segunda linha de defesa contra alterações ácido-básicas é o controle da concentração do CO_2 do líquido extracelular pelos pulmões. Um aumento da pressão parcial de gás carbônico (PCO_2) do líquido extracelular diminui o pH, enquanto a diminuição na PCO_2 eleva o pH. Portanto, ajustando-se a PCO_2 para mais ou para menos, os pulmões podem efetivamente regular a concentração de íon hidrogênio do líquido extracelular. Um aumento na ventilação elimina o CO_2 do líquido extracelular, que, por ação das massas, reduz a concentração de íon

hidrogênio. Inversamente, a ventilação diminuída aumenta o CO_2 e, desse modo, também a concentração de íon hidrogênio do líquido extracelular (GUYTON; HALL, 2006).

O mecanismo pelo qual os rins excretam urina ácida ou básica é o seguinte: grandes quantidades de íons bicarbonato são filtrados continuamente para os túbulos, e, sendo excretados para a urina, isto remove a base do sangue. Por outro lado, grandes quantidades de íons hidrogênio também são secretadas para a luz tubular pelas células epiteliais tubulares, desse modo removendo ácido do sangue. Caso mais íons hidrogênio sejam excretados do que íons bicarbonato filtrados, haverá uma perda efetiva de ácido dos líquidos extracelulares. Inversamente, se mais bicarbonato é filtrado do que hidrogênio é secretado, haverá uma perda efetiva de base (GUYTON; HALL, 2006).

Um tampão é uma solução que resiste a mudanças de pH quando se adicionam pequenas quantidades de ácido ou base (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2006).

1.6 Influência do pH nos Tecidos Normais

As mudanças no pH afetam profundamente a ionização das proteínas e, conseqüentemente, a atividade de diversas enzimas. A redução do pH diminui o débito cardíaco e a pressão do sangue arterial, enquanto o aumento no pH leva a constrição de pequenas artérias e pode desencadear arritmias. Mudanças no pH associadas à pressão parcial do dióxido de carbono (pCO_2), afetam a oxigenação dos tecidos pela modificação da forma da curva de saturação de hemoglobina, influenciando, desta maneira, a facilidade com que a hemoglobina libera seu oxigênio para os tecidos (BAYNES; DOMINICZAK, 2007).

Tanto a acidose quanto a alcalose apresentam uma série de efeitos indesejáveis. Efeitos deletérios da acidose são: sobrecarga respiratória, anorexia, náuseas, vômitos, alterações neurológicas, hiperpotassemia, diminuição da responsividade às catecolaminas, depressão da contratilidade miocárdica, vasoconstrição renal, oligúria e resistência a ação da Insulina. Já os efeitos deletérios da alcalose incluem: hipocalcemia por diminuição do cálcio ionizável, hipopotassemia com aumento da perda urinária de potássio, efeito da alteração da relação potássio intracelular/ potássio extracelular no miocárdio com suscetibilidade

a arritmias, aumento da afinidade da hemoglobina (Hb) pelo oxigênio (O_2) (desvio da curva de dissociação para a esquerda), com hipóxia tecidual e acidose paradoxal do líquor com piora das condições neurológicas (ÉVORA; GARCIA, 2008).

A acidose metabólica pode resultar de várias causas gerais: (1) incapacidade dos rins de excretar os ácidos metabólicos normalmente formados pelo organismo, (2) formação de quantidades excessivas de ácidos metabólicos no organismo, (3) adição de ácidos metabólicos ao corpo, pela ingestão, ou infusão, de ácidos, e (4) perda de base dos líquidos corporais, que tem o mesmo efeito que adicionar ácido aos líquidos corporais. Algumas condições específicas que provocam acidose metabólica: acidose tubular renal, diarreia, vômito do conteúdo intestinal, diabetes melito, ingestão de ácidos e insuficiência renal crônica (GUYTON; HALL, 2006).

Na acidose metabólica, as compensações primárias incluem aumento da frequência de ventilação, que reduz a pCO_2 , e compensação renal, que, através da adição de novo bicarbonato ao líquido extracelular, ajuda a minimizar a queda inicial na concentração extracelular de HCO (bicarbonato) (GUYTON; HALL, 2006).

A retenção excessiva de bicarbonato ou a perda de íons hidrogênio do organismo resultam em alcalose metabólica. A alcalose metabólica não é tão comum como a acidose metabólica. Algumas das causas da acidose metabólica são: alcalose provocada pela administração de diuréticos (exceto os Inibidores da Anidrase Carbônica), excesso de aldosterona, vômito de conteúdo gástrico e ingestão de substâncias alcalinas (GUYTON; HALL, 2006).

Na alcalose metabólica, as compensações primárias consistem na diminuição da ventilação, que eleva a pCO_2 , e no aumento da excreção renal de íons bicarbonato, que ajuda a compensar a elevação inicial da concentração de íons bicarbonato no líquido extracelular (GUYTON; HALL, 2006).

1.7 Água Potável

A água potável atende um padrão de potabilidade que tem como referência um conjunto de valores usados como parâmetro da qualidade, que não oferece riscos à saúde, sendo destinada à ingestão, preparação e produção de alimentos e à higiene pessoal, independentemente de sua origem (BRASIL. Ministério da Saúde, 2011).

Esta água também atende aos padrões organolépticos, que é um conjunto de parâmetros caracterizados por provocar estímulos sensoriais que afetam a aceitação para consumo humano, mas que não necessariamente implicam risco à saúde (BRASIL. Ministério da Saúde, 2011). Os padrões organolépticos de potabilidade estão especificados na Tabela B.

Tabela B - Padrões Organolépticos da Água Potável

Parâmetro	CAS	Unidade	VMP ⁽¹⁾
Alumínio	7429-90-5	mg/L	0,2
Amônia (como NH ₃)	7664-41-7	mg/L	1,5
Cloreto	16887-00-6	mg/L	250
Cor Aparente ⁽²⁾	-	uH	15
1,2 diclorobenzeno	95-50-1	mg/L	0,01
1,4 diclorobenzeno	106-46-7	mg/L	0,03
Dureza	-	mg/L	500
Etilbenzeno	100-41-4	mg/L	0,2
Ferro	7439-89-6	mg/L	0,3
Gosto e odor ⁽³⁾	-	Intensidade	6
Manganês	7439-96-5	mg/L	0,1
Monoclorobenzeno	108-90-7	mg/L	0,12
Sódio	7440-23-5	mg/L	200
Sólidos dissolvidos totais	-	mg/L	1000
Sulfato	14808-79-8	mg/L	250
Sulfeto de hidrogênio	7783-06-4	mg/L	0,1
Surfactantes	-	mg/L	0,5
Tolueno	108-88-3	mg/L	0,17
Turbidez ⁽⁴⁾	-	UT	5
Zinco	7440-66-6	mg/l	5
Xilenos	1330-20-7	mg/L	0,3

*⁽¹⁾ VMP: valor máximo permitido; ⁽²⁾ uH: Unidade Hazen (mg Pt-Co/L); ⁽³⁾ Intensidade máxima de percepção para qualquer característica de gosto e odor com exceção do cloro livre, nesse caso por ser uma característica desejável em água tratada; ⁽⁴⁾ UT: Unidade de turbidez. CAS: número de referência de compostos e substâncias químicas adotado pelo *Chemical Abstract Service*.

Fonte: Brasil. Ministério da saúde, 2011.

A Portaria nº 2.914 de 12 de Dezembro de 2011 do Ministério da Saúde visa determinar parâmetros de potabilidade para a água de consumo humano: 1. O ideal é que o pH permaneça na faixa de 6,0 a 9,5; 2. O cloro residual livre deve manter um teor máximo de 2 mg/L; e 3. O ferro e o manganês podem estar acima do seu valor máximo permitido de acordo com a tabela dos padrões organolépticos, desde que os demais elementos do padrão de potabilidade não estejam alterados e que as concentrações de ferro não ultrapassem 2,4 mg/L e de manganês 0,4 mg/L (BRASIL. Ministério da Saúde, 2011).

O cádmio é um metal que contamina diversos alimentos, e desta forma pode contaminar também os seres humanos, além da exposição ocupacional. Compreender melhor as alterações renais e hepáticas provocadas pelo cádmio no

organismo e as possíveis formas de bloqueá-las é importante para prevenção de toxicidade renal e hepática relacionadas a este elemento.

Não há estudos na literatura avaliando a influência do pH da água de beber na hepato e nefrotoxicidade do cádmio.

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do pH da água de beber na hepato e nefrotoxicidade provocadas pela intoxicação por cádmio.

REFERÊNCIAS

BAYNES, J. W.; DOMINICZAK, M. H. **Bioquímica Médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2914, de 12 de Dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 14 dez. 2011, Seção 1, p. 39-46.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Risco químico: atenção à saúde dos trabalhadores expostos ao benzeno**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRZÓSKA, M. M. et al. Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol. **Alcohol e Alcoholism**, v. 38, n. 1, p. 2–10, 2003.

CASTRO E SILVA, E.; FREGONESE, J. Efeitos de metais pesados sobre o controle central do equilíbrio hidroeletrolítico. **R. Ci. Méd. Biol.**, v. 1, n. 1, p. 116-123, 2002.

CAVALCANTI, L. R. S.; NASCIMENTO, C. W. A. **Definição de teores naturais de metais pesados e avaliação da vulnerabilidade à contaminação em solos de referência do estado de Pernambuco**. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0131-1.pdf>. Acesso em: 16 mar. 2012

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006

CUNHA, K. P. V. et al. Disponibilidade, acúmulo e toxidez de cádmio e zinco em milho cultivado em solo contaminado. **R. Bras. Ci. Solo**, n. 32, p. 1319-1328, 2008.

ÉVORA, P. R. B.; GARCIA, L. V. Equilíbrio ácido-base. **Medicina** (Ribeirão Preto), v. 41, n. 3, p. 301-311, 2008.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Metals**. Lyon: IARC, 1993. (Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans).

LIU, J. et al. The nitric oxide donor, O₂-Vinyl 1-(Pyrrolidin-1-yl)diazen-1-ium-1,2-diolate (V-PYRRO/NO), protects against cadmium-induced hepatotoxicity in mice. **JPET**, n. 310, p.18–24, 2004.

LOPES, A. M. R. M. **Avaliação da contaminação em metais pesados no pescado**: análise da situação do pescado comercializado em Portugal e dos alertas emitidos pelo sistema RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed). 2009. 181 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.

LUCHESE, C. **Efeito do cádmio sobre a enzima d-aminolevulinato desidratase de pulmão de ratos *in vitro***: interação com agentes quelantes e antioxidantes. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Toxicológica) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

MOTTA, A. C. F. et al. The carcinogenic potential of cadmium in the palatal and gingival epithelium of rats. A morphologic and morphometric analysis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, n. 41, p. 183-188, 2004.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Doenças relacionadas ao trabalho: manual de procedimentos para os serviços de saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2001. Disponível em: < www.opas.org.br >. Acesso em: 03 mar. 2012.

QUEIROZ, E. K. R. Exposição ocupacional a interferentes endócrinos com efeitos sobre o sistema reprodutor masculino. 62 f. 2005. Dissertação (**Mestrado em Saúde Pública**) - Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

SOUZA, M. C. B. et al. Fatores ambientais e reprodução: metais (chumbo e cádmio): fundamentação da pesquisa. **JBRA Assist. Reprod.**, v. 14, n. 4, 2010.

SOUZA, V. L. et al. Efeitos do cádmio na anatomia e na fotossíntese de duas macrófitas aquáticas. **Acta bot Brás.**, v. 2, n. 23, p. 343-354, 2009.

TABELA periódica completa 2011 atualizada. GrZero, 2011. Disponível em: <http://www.grzero.com.br/tabela-periodica-completa-2011-atualizada/>. Acesso em: 20 mar 2012.

VENEZUELA, T. C. Determinação de contaminantes metálicos (metal tóxico) num solo adubado com composto de lixo em área olerícola no município de Nova Friburgo. 96 f. 2001. Dissertação (**Mestrado em Toxicologia Ambiental**) - Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

2 ARTIGO**INFLUÊNCIA DO pH DA ÁGUA NA HEPATO E NEFROTOXICIDADE NA INTOXICAÇÃO CRÔNICA POR CÁDMIO EM RATOS WISTAR****INFLUENCE OF pH OF WATER IN HEPATO AND NEPHROTOXICITY IN CHRONIC CADMIUM POISONING IN WISTAR RATS****TÍTULO RESUMIDO: pH, HEPATO E NEFROTOXICIDADE E CÁDMIO.****RUNNING TITLE: pH, HEPATO AND NEPHROTOXICITY AND CADMIUM**

Daniel José Pimentel Bonfim¹, Gisele Alborghetti Nai², Fernanda Maria Garcia³, Soraia Younan Coluna⁴, Cecília Braga Laposy⁵, Rogério Giuffrida⁶, Hermann Bremer Neto⁷.

Correspondência: Hermann Bremer Neto - Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE) - Rua José Bongiovani, 700 - Presidente Prudente – SP - Brazil. Fone: 55 18 3229 1082. Fax: 55 18 3229 11194 - Email: hermann@unoeste.br

¹ Discente de Mestrado, Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

² Doutora, professora do Departamento de Patologia e do Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil

³ Discente de graduação em Medicina, Faculdade de Medicina de Presidente Prudente (FAMEPP), Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

⁴Discente de Mestrado, Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

⁵Docente de Mestrado, Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

⁶Docente de Mestrado, Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

⁷Docente de Mestrado, Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

RESUMO

Introdução: O cádmio é um metal pesado encontrado no meio ambiente e utilizado industrialmente que pode causar efeitos hepato e nefrotóxicos. **Objetivo:** Avaliar o efeito do pH da água de beber na hepato e nefrotoxicidade provocadas pela intoxicação crônica por cádmio. **Material e métodos:** Utilizou-se 90 ratos Wistar albinos, adultos, machos, distribuídos em 6 grupos (n=15): GC5 –solução de cloreto de cádmio na água de beber com pH ácido (pH 5,0); GC7 – solução de cloreto de cádmio (400mg/L) na água de beber com pH neutro (pH 7,0); GC8 –solução de cloreto de cádmio na água com pH básico (pH 8,0). GSC5 – água de beber com pH ácido (pH 5,0); GSC7 – água de beber com pH neutro (pH 7,0); GSC8 – água de beber com pH básico (pH 8,0). Os animais foram eutanasiados seis meses após o início do experimento. Realizaram-se provas de função hepática e renal e histopatologia renal e hepática. **Resultados:** O pH ácido da água influenciou negativamente em ALP, ALT e uréia nos animais expostos ao cádmio ($p < 0,05$). No fígado, a maioria dos animais do grupo GC7 (57,1%) e do grupo GC5 (53,3%) apresentaram esteatose microvesicular difusa, sendo que a maioria dos animais dos outros grupos não apresentou esteatose ($p > 0,05$). No rim, embora a maioria dos animais do grupo GC7 (78,6%) e do grupo GSC5 (71,4%) tenham apresentado degeneração hidrópica tubular, só houve diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo GSC7 ($p < 0,05$). **Conclusão:** O cádmio em pH ácido da água elevou os níveis séricos de ALP e AST e de uréia, mostrando que esse metal pesado na dieta hídrica em pH ácido aumenta o seu efeito hepato e nefrotóxico.

Palavras-chave: cádmio, acidificação, rim, fígado, toxicidade.

ABSTRACT

Introduction: Cadmium is a heavy metal found in the environment and used industrially and can cause hepato-and nephrotoxic effects. **Objective:** To evaluate the effect of pH of drinking water in the hepato-and nephrotoxicity caused by chronic cadmium poisoning. **Methods:** We used 90 Wistar albino rats, adult, male, divided into 6 groups (n = 15): GC5 - solution of cadmium chloride in drinking water at acidic pH (pH 5.0) water; GC7 - solution of cadmium chloride (400mg / L) in drinking water at neutral pH (pH 7.0 water); GC8 - solution of cadmium chloride in water at alkaline pH (pH 8.0); GWC5 - drinking water at acidic pH (pH 5.0); GWC7 - drinking water at neutral pH (pH 7.0); GWC8 - drinking water at alkaline pH (pH 8.0). The animals were euthanized six months after the beginning of the experiment. We performed tests of hepatic and renal function and liver and renal histopathology. **Results:** The acid pH of the water caused alteration in ALP, ALT and urea in animals exposed to cadmium (p <0.05). In the liver, most of the animals of group GC7 (57.1%) and GC5 group (53.3%) showed diffuse microvesicular steatosis and most of the animals from the other groups showed no steatosis (p > 0.05). In the kidney, although most animals of GC7 group (78.6%) and GWC5 group (71.4%) has presented tubular hydropic degeneration, there was statistically significant difference only in relation to GWC7 group (p <0.05). **Conclusion:** The cadmium in acid pH of the water led to higher elevation in serum ALP, AST and urea, showing that this heavy metal in a drinking water at acidic pH increases its hepato and nephrotoxic effects.

Key words: cadmium, acidification, kidney, liver, toxicity.

INTRODUÇÃO

O cádmio (Cd) é um metal pesado, descoberto por volta de 1815 em minérios contendo carbonato e zinco. É um dos mais abundantes elementos não essenciais encontrados no ambiente, em componentes da fumaça do cigarro, sendo muito utilizado em aplicações industriais (WHO, 1992; Yuan et al, 2014).

Esse mineral é conhecido por ser um dos poluentes ambientais e industriais mais tóxicos (El-Refaiy e Eissa, 2013), sendo comercialmente obtido como um co-produto industrial das atividades de exploração de minérios e fundição do zinco e do chumbo. Os compostos com cádmio são utilizados como estabilizadores em produtos como os polímeros de cloreto de vinila (PVC), como pigmentos e, mais usualmente, em baterias e pilhas de níquel-cádmio recarregáveis (Järup e Akesson, 2009) e em produtos odontológicos (Menezes et al., 2009). Além disso, encontra-se também presente como contaminante nos fertilizantes à base de fosfato (Järup e Akesson, 2009).

Este metal pesado entra no organismo, principalmente, por inalação e ingestão (Souza et al, 2010) e a exposição crônica a esse metal pesado está associada ao desenvolvimento de múltiplos efeitos de toxicidade que incluem, entre outras, doenças pulmonares, hepáticas, renais, cardiovasculares e ósseas (Castro-González et al, 2008).

Os órgãos alvo do cádmio são testículos, fígado e rins (Yuan et al, 2014). O cádmio produz lesão hepática extensa após a exposição aguda e crônica em animais (Liu et al, 2004). Quando a exposição é prolongada no tempo (situação que se verifica na exposição por ingestão), este metal acumula-se majoritariamente nos rins (WHO, 1992). Quando o teor de cádmio no córtex renal atinge o limite crítico de 200 mg.kg^{-1} , surgem as primeiras disfunções renais, ocasionando, nos casos mais graves, osteomalacia (Castro-González et al, 2008).

A excreção do cádmio absorvido ocorre majoritariamente por via urinária, porém este processo é, contudo, insuficiente e lento, o que explica o longo tempo de meia-vida do metal pesado no organismo, o que estará relacionado, por sua vez, com a possível ocorrência de efeitos tóxicos, mesmo após a redução parcial ou total da exposição (Castro-González et al, 2008).

Este é um metal que contamina a água, solo e plantas e desta forma pode contaminar também os seres humanos. Compreender melhor a influência do pH na

água de beber como veículo para a intoxicação crônica por cádmio e as alterações renais e hepáticas provocadas no organismo de ratos, como modelo experimental, é importante para prevenção de toxicidade renal e hepática relacionadas a este elemento. Não há estudos na literatura avaliando a influência do pH da água de beber na nefro e hepatotoxicidade ao cádmio.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do pH da água de beber na hepato e nefrotoxicidade provocadas pela intoxicação crônica por cádmio.

MATERIAL E MÉTODOS

Protocolo animal

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Oeste Paulista (CEUA – UNOESTE) (Protocolo nº 1180).

Para este estudo, foram utilizados 90 ratos Wistar albinos (*Ratus Norvegicus albinus*), adultos, machos, com peso entre 200 a 250g. Foram separados e agrupados em número de três em caixas grandes retangulares, medindo 49x34x16cm, preconizadas para alojamento de cinco ratos adultos. Os ratos foram colocados em biotério climatizado em umidade e temperatura e equipado com ciclo de 12 horas de claro e escuro.

A exposição ao cádmio foi feita com cloreto de cádmio (CdCl_2 - Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA), com as seguintes especificações: hidrato mínimo de 98%, conteúdo de água de aproximadamente 2,5 mole/mole. A solução de cloreto cádmio foi dada aos animais na água de beber, todos os dias durante 6 meses, dissolvido na concentração de 400mg/L (adaptado de MOTTA et al, 2004). A água foi acidificada com ácido clorídrico e alcalinizada com hidróxido de sódio. A troca da água do bebedouro foi realizada três vezes por semana, para evitar alteração do pH. As soluções residuais de água com cádmio foram encaminhadas para central de resíduos da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE, Presidente Prudente, Brasil) e neutralizadas para posterior descarte. A água residual nos bebedouros foi medida a cada troca de solução, para se determinar a ingestão média de cada animal.

Os animais foram distribuídos em 6 grupos (n=15): GC5 – solução de cloreto de cádmio na água de beber com pH ácido (pH 5,0); GC7 – solução de cloreto de cádmio (400mg/L) na água de beber com pH neutro (pH 7,0); GC8 – solução de

cloreto de cádmio na água com pH básico (pH 8,0). GSC5 –água de beber com pH ácido (pH 5,0); GSC7 – água de beber com pH neutro (pH 7,0); GSC8 – água de beber com pH básico (pH 8,0). Animais de todos os grupos receberam a dieta hídrica e sólida (SUPRALAB Comércio e Serviço Ltda, São Leopoldo, Brasil) *ad libitum*.

A anestesia e eutanásia foram realizadas com Tiopental sódico (Syntec, EUA), nas doses de 40mg/Kg e 100 mg/Kg de peso, respectivamente, administrado na cavidade peritoneal (Paiva et al, 2005). Animais de todos os grupos foram eutanasiados 6 meses após o início do experimento.

Análise bioquímica

Logo após a anestesia dos animais foi realizada punção intracardíaca com vacutainer (BD Vacutainer[®], Becton, Dickinson and Company, EUA) para coleta de 10ml de sangue para realização dos seguintes exames laboratoriais: uréia, creatinina, AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanino aminotransferase), fosfatase alcalina (ALP), GGT (Gama glutamil transpeptidase), albumina, glicose, bilirrubinas total e direta. Toda bioquímica sérica foi realizada em aparelho automatizado (COBAS C111, Roche, EUA).

Análise histopatológica

Após a eutanásia, retirou-se o fígado e os rins de cada animal. Os fragmentos retirados foram fixados em formol a 10% (Cinética Indústria Química, São Paulo, Brasil) durante 24 horas e submetidos a processamento histológico habitual, com inclusão em parafina (Dinâmica Reagentes Analíticos, São Paulo, Brasil). Cortes seriados de 5 μ foram obtidos através de microtomo LEICA RM2265 (Leica Biosystems Nussoch GmbH, Alemanha) e corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE) (Dolles, São Paulo, Brasil).

A análise histopatológica foi cega e realizada por um único observador experiente, utilizando-se microscópio óptico comum (NIKON Labophot, Japão) e avaliaram-se os seguintes parâmetros, com seus respectivos escores: 1. No fígado: infiltrado inflamatório intersticial (0=ausente, 1=leve, 2=moderada, 3=intensa) (Mori et al, 2009) e tipo de célula inflamatória presente (polimorfonucleares e/ou

monucleares); congestão tecidual (0=ausente, 1=leve, 2=moderada, 3=intensa); necrose (0=ausente; 1=presente: focal, "em saca bocada" e "em ponte"); necrose vascular (0=ausente, 1=presente); colestase (0=ausente, 1=presente); presença e tipo de esteatose (0=ausente, 1= presente: microvesicular e/ou macrovesicular). 2. No rim: infiltrado inflamatório intersticial (0=ausente, 1= leve, 2=moderado, 3=intenso) (Mori et al, 2009) e tipo de célula inflamatória presente (polimorfonucleares e/ou monucleares); alteração tubular (0=sem lesão, 1=degeneração hidrópica, 2=necrose tubular); lesão glomerular (0=ausente; 1=presença de esclerose); necrose da parede arteriolar (0=ausente; 1= necrose focal; 2= necrose difusa); espessamento de membrana basal de vasos (0=ausente, 1=presente); cilindros (0=ausente, 1=presente); nefrocalcinose (0=ausente, 1=presente).

Análise estatística

Para comparar os parâmetros estudados entre os grupos experimental e controle e entre as diferentes concentrações hidrogeniônicas, recorreu-se a análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis. Os contrastes entre os tratamentos foram avaliados pelo método de Student-Newman-Keuls. Todas as análises foram realizadas com o uso do software SPSS for Windows v.13.0 (Field, 2009). Os resultados são apresentados em mediana (25th;75th quartis) e o nível de significância adotado para todas as análises foi de 5%.

RESULTADOS

Cinco animais morreram ao longo do estudo (um do grupo GC7, um do grupo GC8, um do grupo GSC5 e dois do grupo GSC8). A causa de morte dos animais do grupo GC7 e GC8 foi edema agudo pulmonar. Nos animais do grupo GSC5 e GSC8, não foi possível se estabelecer a causa de morte após a necropsia.

A ingestão média de água por animal por dia no Grupo GC5 de 57mL, no Grupo GC7 foi de 55mL, no Grupo GC8 de 52mL, no Grupo GSC5 de 60mL, no Grupo GSC7 de 73 mL e no grupo GSC8 de 70mL, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p>0,05$).

Análise bioquímica

Os resultados da análise bioquímica dos parâmetros de função hepática e renal estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros bioquímicos (provas de função hepática e renal) em ratos Wistar. Valores expressos em mediana (intervalo interquartilico).

Parâmetros (unidade)	Grupos					
	GC5	GC7	GC8	GSC5	GSC7	GSC8
ALP (U.L ⁻¹)	107,6 (105,4 – 110,5) ^c	99,5 (96,6 – 102,5) ^b	102,1 (100,8 – 104,4) ^b	94,9 (92,4 – 95,6) ^a	92,7 (91,9 – 94,3) ^a	92,1 (90,8 – 94,4) ^a
ALT (U.L ⁻¹)	68,0 (65,1 – 69,9) ^c	60,5 (57,0 – 64,4) ^b	61,2 (59,8 – 62,2) ^b	52,1 (51,0 – 53,5) ^a	51,7 (48,8 – 54,3) ^a	51,3 (49,9 – 53,3) ^a
AST (U.L ⁻¹)	151,0 (150,8 – 158,5) ^b	152,6 (150,8 – 157,5) ^b	155,8 (150,8 – 158,5) ^b	132,7 (130,2 – 136,0) ^a	131,0 (129,6 – 135,8) ^a	130,6 (128,9 – 135,2) ^a
GGT (U.L ⁻¹)	9,4 (9,3 – 9,6) ^b	9,0 (8,9 – 9,3) ^b	9,2 (8,7 – 9,5) ^b	5,0 (4,5 – 5,4) ^a	5,1 (4,6 – 5,2) ^a	5,0 (4,5 – 5,1) ^a
Bilirrubina total (mg.dL ⁻¹)	1,3 (0,9 – 1,1) ^b	1,2 (0,9 – 1,1) ^b	1,2 (0,9 – 1,2) ^b	1,0 (1,2 – 1,4) ^a	1,1 (1,2 – 1,3) ^a	1,0 (1,2 – 1,3) ^a
Bilirrubina direta (mg.dL ⁻¹)	0,6 (0,6 – 0,7) ^b	0,5 (0,5 – 0,6) ^b	0,6 (0,5 – 0,6) ^b	0,3 (0,3 – 0,4) ^a	0,3 (0,3 – 0,3) ^a	0,3 (0,3 – 0,4) ^a
Albumina (g.dL ⁻¹)	2,1 (2,1 – 2,2) ^a	2,6 (2,0 – 2,3) ^a	2,1 (2,3 – 2,7) ^a	4,4 (4,0 – 4,6) ^b	4,5 (4,2 – 5,4) ^b	4,5 (4,3 – 4,8) ^b
Glicose (mg.dL ⁻¹)	135,0 (129,5 – 142,0) ^b	123,2 (116,3 – 127,7) ^b	122,8 (116,2 – 129,9) ^b	105,3 (102,1 – 106,4) ^a	109,2 (103,3 – 111,0) ^a	106,7 (104,7 – 109,2) ^a
Uréia (mg.dL ⁻¹)	65,2 (63,1 – 67,4) ^c	58,9 (55,9 – 60,0) ^b	58,7 (56,7 – 59,5) ^b	41,0 (39,3 – 42,1) ^a	38,7 (37,7 – 42,3) ^a	42,0 (39,5 – 43,4) ^a
Creatinina (mg.dL ⁻¹)	0,8 (0,7 – 0,8) ^b	0,8 (0,7 – 0,8) ^b	0,7 (0,7 – 0,8) ^b	0,6 (0,6 – 0,6) ^a	0,6 (0,5 – 0,6) ^a	0,6 (0,6 – 0,6) ^a

*GC5: cádmio em água com pH 5,0; GC7: cádmio em água com pH 7,0; GC8: cádmio em água com pH 8,0; GSC5: somente água com pH 5,0; GSC7: somente água com pH 7,0; GSC8: somente água com pH 8,0. Resultados com diferentes sobrescritos na mesma linha diferem significativamente ($p < 0,05$).

Análise histopatológica

Fígado

Animais de todos os grupos apresentaram congestão hepática leve. Apenas um animal do grupo GC5 e um do grupo GSC7 apresentaram infiltrado linfocitário ínfimo entre hepatócitos ($p=0,9984$). Assim como, apenas 2 animais do grupo GSC8 apresentaram colestase intracelular. Nenhum animal apresentou necrose vascular ($p>0,05$) (Tabela 2).

No grupo GC5, 26,6% dos animais apresentaram necrose hepatocítica focal, enquanto os demais grupos não apresentaram esta alteração ($p=0,7606$) (Tabela 2 e Figura 1).

O padrão de esteatose observada foi microvesicular e a maioria dos animais do grupo GC7 apresentou esteatose difusa (57,1%), sendo que três apresentaram esteatose focal e três não tinham esta alteração. A maioria dos animais do grupo GC5 (53,3%) também apresentou esteatose difusa e o restante não teve esta alteração. A maioria dos animais do grupo GC8 (64,3%), GSC5 (78,6%), GSC7 (60%) e GSC8 (84,6%) não apresentou esteatose ($p>0,05$). Com relação a este parâmetro não houve diferença estatisticamente significativa entre os animais dos grupos GC7 e GC5 ($p=0,3336$), entre os dos grupos GC5 e GC8 ($p=0,1322$) e entre os animais dos grupos GC5 e GSC7 ($p=0,1654$) (Tabela 2 e Figura 1).

Tabela 2. Média dos escores estabelecidos para análise histopatológica do fígado.

Parâmetros	Grupos					
	GC5	GC7	GC8	GSC5	GSC7	GSC8
Congestão	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a
Intensidade da inflamação	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
Necrose de hepatócitos	0,3 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
Colestase	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0,2 ^a
Esteatose	1,1 ^{a,b}	1,4 ^a	0,4 ^{b,c}	0,2 ^c	0,5 ^{b,c}	0,3 ^c
Necrose vascular	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a

*GC5: cádmio em água com pH 5,0; GC7: cádmio em água com pH 7,0; GC8: cádmio em água com pH 8,0; GSC5: somente água com pH 5,0; GSC7: somente água com pH 7,0; GSC8: somente água com pH 8,0. Resultados com diferentes sobrescritos na mesma linha diferem significativamente ($p < 0.05$).

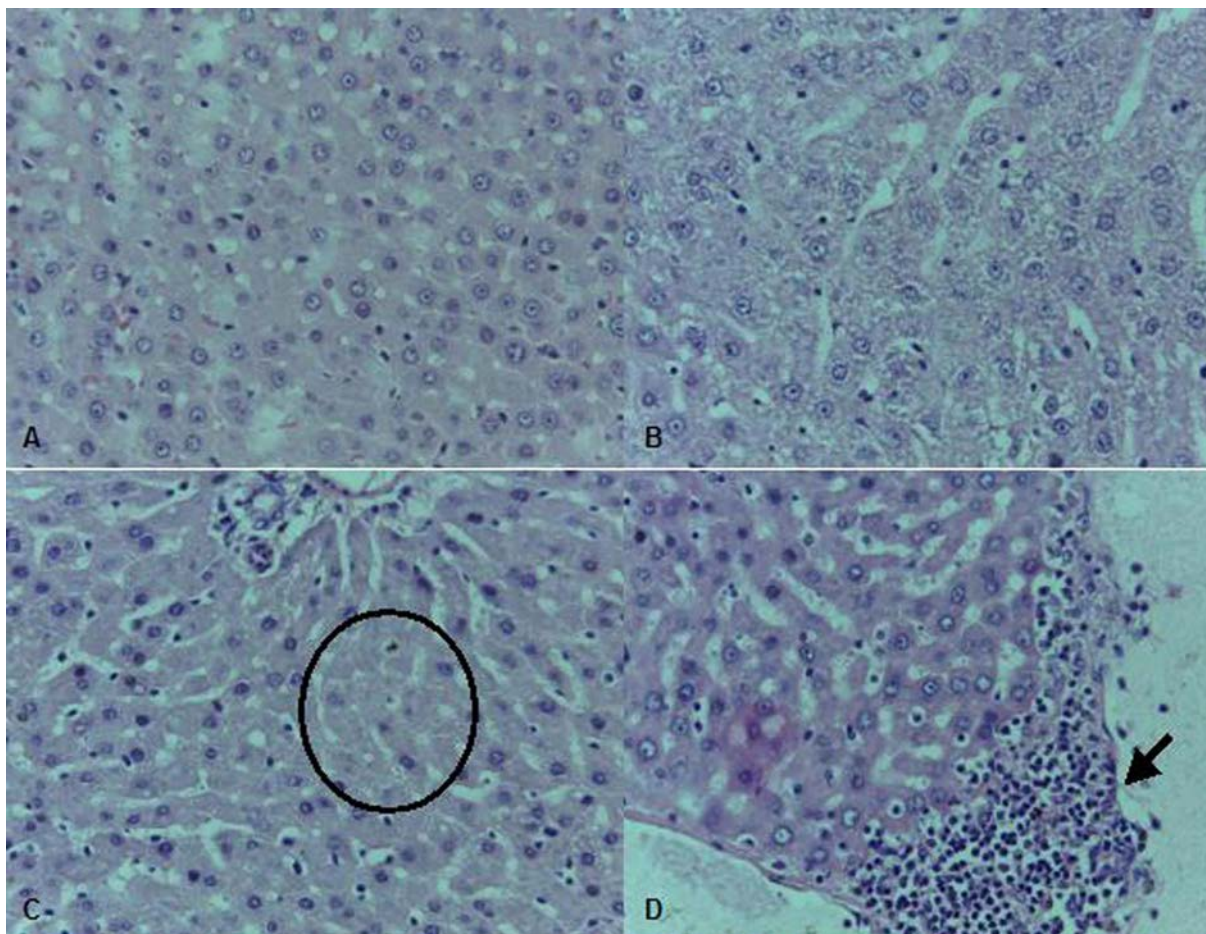


Figura 1. Fotomicroscopia do fígado. A – Fígado normal – animal do grupo GC7. B – Esteatose microvesicular difusa – animal do grupo GC7. C – Foco de necrose hepatocítica (círculo) – animal do grupo GC5. Hematoxilina-eosina, aumento de 200x. D – Infiltrado linfocitário focal (seta) – animal do grupo GC5. Hematoxilina-eosina, aumento de 400x.

Rim

Nenhum animal apresentou alteração glomerular, necrose vascular nem presença de cilindros (Tabela 3). Também não foram observados nefrocalcinose nem cálculos na pelve renal.

Apenas dois animais do grupo GC7 apresentaram congestão leve e os demais animais deste grupo e dos outros grupos apresentaram congestão moderada ($p=0,0681$) (Tabela 3).

Nos casos onde foi observada inflamação, houve predomínio de linfócitos e ocorreu no interstício. A maioria dos animais do grupo GC7 (85,7%) apresentou inflamação leve, 80% dos animais do grupo GC5 apresentou ínfimo infiltrado linfocitário, assim como maioria dos animais do grupo GSC5 (57,1%). Animais do

grupo GC8 apresentaram ínfimo infiltrado em 40% dos casos e infiltrado leve em 35,7%. A maioria dos animais dos grupos GSC8 (84,6%) e GSC7 (80%) não apresentaram infiltrado inflamatório ($p < 0,00001$) (Tabela 3 e Figura 2).

Tabela 3. Média dos escores estabelecidos para análise histopatológica do rim.

Parâmetros	Grupos					
	GC5	GC7	GC8	GSC5	GSC7	GSC8
Congestão	2 ^a	1,9 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^a
Intensidade da inflamação	0,9 ^b	1,7 ^a	1,1 ^{a,b}	0,6 ^{b,c}	0,4 ^c	0,3 ^c
Alteração de túbulo renal	0,4 ^a	0,9 ^a	0,5 ^a	0,7 ^a	0 ^b	0,2 ^{a,b}
Alteração de glomérulo	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
Necrose vascular	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
Presença de cilindros	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a

*GC5: cádmio em água com pH 5,0; GC7: cádmio em água com pH 7,0; GC8: cádmio em água com pH 8,0; GSC5: somente água com pH 5,0; GSC7: somente água com pH 7,0; GSC8: somente água com pH 8,0. Resultados com diferentes sobrescritos na mesma linha diferem significativamente ($p < 0,05$).

Apenas um animal do grupo GC7 apresentou necrose tubular aguda e nenhum animal do grupo GSC7 apresentou alteração tubular. Apresentaram degeneração hidrópica tubular, 78,6% dos animais do grupo GC7, 40% dos do grupo GC5, 50% dos do grupo GC8, 71,4% daqueles do grupo GSC5 e 38,4% dos do grupo GSC8 ($p = 0,0018$) (Tabela 3 e Figura 2).

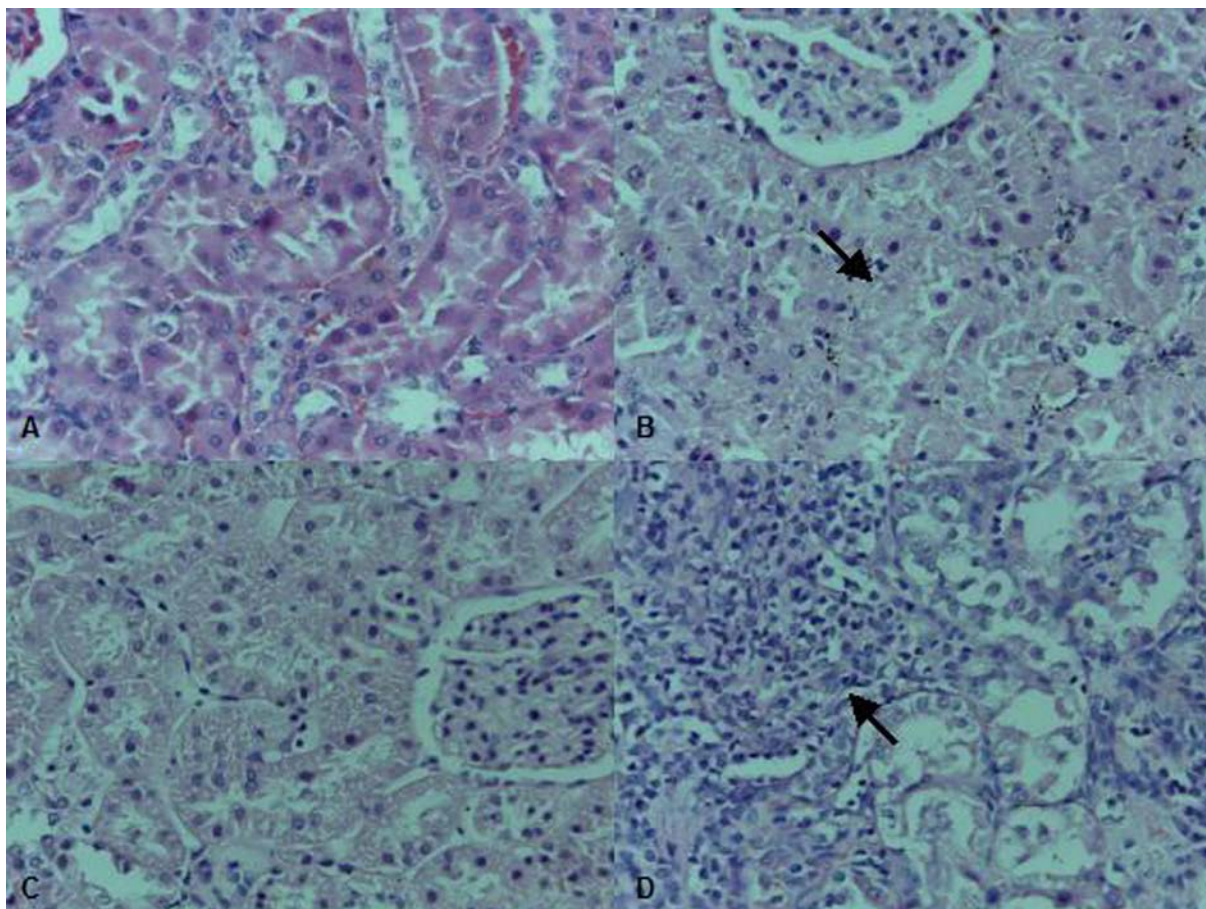


Figura 2. Fotomicroscopia do rim. A – Rim normal – animal do grupo GC7. B – Necrose tubular aguda (seta) – animal do grupo GC7. C – Degeneração hidrópica tubular – animal do grupo GC5. D – Infiltrado linfocitário leve (seta) e degeneração hidrópica tubular – animal do grupo GC8. Hematoxilina-eosina, aumento de 400x.

DISCUSSÃO

O cádmio está presente na maior parte dos alimentos, em concentrações que são muito variáveis e é uma das principais vias de exposição dos seres humanos a este metal pesado (Järup e Akesson, 2009; Thomas et al., 2013). Segundo a Organização Mundial de Saúde, a ingestão diária máxima de cádmio deve ser de $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de massa corporal (WHO, 1992). Neste estudo, os animais foram expostos a 400mg de cádmio / litro de água potável ingerida, um valor bem acima da ingestão diária permitida, simulando situações de contaminação ambiental em larga escala e por um período de cento e oitenta dias, intoxicação crônica.

Em geral, a disponibilidade dos metais pesados às plantas tem relação inversa ao pH do solo. O efeito negativo da calagem na fitodisponibilidade dos

metais é devido, principalmente, ao aumento da capacidade de troca catiônica e à formação de hidróxidos e carbonatos de baixa solubilidade (Cunha et al., 2008). Assim, neste estudo o uso de pH em diferentes concentrações foi realizado para avaliar se em animais, o pH também poderia influenciar na absorção e no efeito tóxico do cádmio.

Quando o fígado e os rins são atingidos o indivíduo morre, geralmente, por parada respiratória e colapso cardiovascular (Venezuela, 2001). No presente estudo, dois animais expostos ao cádmio morreram por edema agudo pulmonar, complicação esta associada à intoxicação por cádmio (Järup e Akesson, 2009).

Após administração aguda de cádmio, ocorrem congestão hepática, isquemia e hipóxia muito rapidamente. A hipóxia isquêmica resultante conduz a infiltração de neutrófilos, ativação de células de Küpffer e inflamação, o que poderia potencialmente contribuir para a apoptose hepatocelular generalizada e necrose observada (Liu et al., 2004). Assim são observados, aumento nos níveis da transaminases sanguíneas, e histologicamente, borramento da estrutura trabecular dos lóbulos, degeneração vacuolar, necrose individual de hepatócitos e infiltrado mononuclear (Brzoska et al., 2003). No estudo de El-Refaiy e Eissa (2013), onde os animais foram expostos a ingestão de cádmio na concentração de 3 mg de Cd/kg de peso corporal, foi observada lesão hepática grave, incluindo alteração gordurosa, necrose focal, núcleos picnóticos, cariólise e diminuição do número de ductos biliares. Em nosso estudo, não foi observada diminuição de ductos biliares e necrose vascular em nenhum dos grupos estudados. Infiltrado inflamatório foi apenas focal em alguns casos. A congestão foi leve nos animais de todos os grupos, independente da exposição ao cádmio ou pH da água. Necrose focal de hepatócitos foi observada apenas em 26,6% dos animais do grupo GC5, provavelmente por se tratar de exposição crônica em níveis menores do que os aplicados no estudo de El-Refaiy e Eissa (2013). Animais dos grupos GC5 e GC7 foram os que apresentaram esteatose microvesicular difusa em maior número de animais e a maioria dos animais dos outros grupos não apresentou esteatose ($p > 0,05$). Embora, se tenha observado colestase apenas em raros animais do grupo GSC8, os animais expostos ao cádmio (independente do pH da água) mostraram aumento nos níveis de GGT, mostrando já haver lesão canalicular, porém sem expressão microscópica.

No estudo de Zhang et al. (2013) realizado em ratos com exposição do cádmio na concentração de 50 mg /L, não foram observadas alterações nos níveis

de AST, porém a ALT mostrou-se muito aumentada em relação ao grupo controle. Neste estudo, ALP, AST e ALT (marcadores de lesão hepática) mostraram-se aumentadas. O aumento de AST observado no presente estudo, provavelmente ocorreu pela exposição crônica ao cádmio. Além disso, houve diminuição de função hepática nos animais expostos ao cádmio observados pelo aumento dos níveis de bilirrubina total e bilirrubina direta.

O aumento de ALP e AST foi mais significativo nos animais expostos ao cádmio em água com pH ácido. Animais expostos ao cádmio em pH ácido foram os únicos que apresentaram necrose de hepatócitos, o que justifica a maior elevação enzimática neste grupo. Assim, apesar de não haver lesão hepática microscópica (ausência de inflamação e pequeno número de casos com necrose hepatocítica) significativa, já observamos perda de função hepática nos animais expostos ao cádmio. As diferenças com estudo de Zhang et al. (2013) são explicadas pela exposição ao cádmio em concentração (400mg.L^{-1}) e tempo maior efetuados no presente estudo.

Estudos mostram que doses elevadas de cádmio podem aumentar os níveis de colesterol, triglicérides e glicose (Mladenović et al., 2014), enquanto a exposição oral crônica a baixas dosagens não altera estes níveis (Lovásová et al., 2013). No presente estudo, os animais expostos ao cádmio (independente do pH da água) mostram aumento dos níveis glicêmicos, provavelmente pela exposição a altas concentrações de cádmio.

Se a concentração renal for maior que $10\ \mu\text{g.g}^{-1}$, já podem ser observadas alterações ultraestruturais (lesão da borda em escova dos microvilos e edema mitocondrial nas células dos túbulos contorcidos proximais). Numa concentração de $30\ \mu\text{g.g}^{-1}$ já se observa necrose (Brzoska et al., 2003). Acredita-se que a nefrotoxicidade induzida por Cádmio é mediada através do complexo de metalotioneína de cádmio (Cd-MT), o qual é sintetizado no fígado, liberado para a circulação e captado pelas células renais do túbulo proximal. O complexo Cd-MT é filtrado pelo glomérulo e absorvido pelas células tubulares proximais. No seu trajeto através do rim, este complexo provoca lesões, principalmente na região cortical, atingindo o túbulo proximal e causando uma perda progressiva da função do órgão (El-Refaiy e Eissa, 2013).

No estudo de Castro e Silva e Fregoneze (2002), foi observado que o cádmio reduz a ingestão de água em ratos desidratados e também naqueles cuja ingestão

de água deve-se a estímulos farmacológicos centrais sobre as vias colinérgicas, angiotensinérgicas e beta-adrenérgicas centrais. Isto mostra que o cádmio bloqueia passos neuroquímicos que são indispensáveis à geração da sede. Estes autores observaram também que a ingestão de sal ocorrendo em animais desidratados é bloqueada pela presença aguda de cádmio no sistema nervoso central, além de demonstrarem que, agudamente, o cádmio exerce ação natriurética e caliurética. No presente estudo, houve diminuição de ingestão de água nos grupos expostos ao cádmio, embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa com os grupos não expostos ao cádmio. Tal dado pode justificar, o aumento de uréia nos animais expostos ao cádmio.

A exposição ao cádmio está associada com aumento da excreção urinária de cálcio. Hipercalciúria é reconhecida como um importante fator de risco para a formação de pedra nos rins. Há um aumento da prevalência de cálculos renais entre indivíduos expostos ocupacionalmente ao cádmio (Thomas et al., 2013). Neste estudo não se observou nefrocalcinose ou presença de cálculos na pelve renal, apesar da exposição ao cádmio em alta dosagem.

Apesar dos resultados conflitantes entre estudos observacionais clínicos, estudos experimentais mostram clara evidência de lesão renal após a exposição em baixas doses ao cádmio. A exposição crônica resulta em dano tubular proximal com disfunção mitocondrial. O principal mecanismo de lesão renal induzida por cádmio é o estresse oxidativo (Chung et al., 2013).

O desenvolvimento de alterações morfológicas nos rins após a exposição ao cádmio em baixas doses parece ser muito lento. De acordo com um estudo experimental anterior com animais continuamente expostos a baixos níveis de cádmio por 1 ano, só no 12^o mês que a atrofia tubular mesmo leve e fibrose intersticial foram vistos, sem outras alterações patológicas nos rins (Khalil-Manesh et al., 1993). Outros estudos mostram que os rins de animais expostos ao cádmio apresentavam degeneração tubular proximal, apoptose, atrofia, inflamação intersticial e edema glomerular (Sabolic'et al., 2001; Gonick, 2008; El-Refaiy e Eissa, 2013). Já o estudo de Zhang et al. (2013) não mostrou alteração glomerular, apenas tubular. Neste estudo, animais expostos ao cádmio apresentaram elevação nos níveis de uréia e creatinina, sendo que os níveis de uréia sofreram uma elevação maior que os níveis de creatinina comparados aos grupos controles e também foram mais elevados nos animais expostos ao cádmio em pH ácido. Nível sérico de

creatina muito elevado só ocorre a partir de diminuição da ordem de 50-60% da taxa de filtração glomerular (Shemesh et al., 1985). Neste estudo, embora a dose de cádmio a que os animais foram expostos fosse muito mais elevada que no estudo de Zhang et al. (2013) e por tempo mais prolongado, também não foram observadas alterações glomerulares, necrose vascular e presença de cilindros em nenhum dos grupos avaliados. As diferenças observadas entre este estudo e os outros podem ser justificadas pelas diferentes concentrações de cádmio utilizadas nos estudos e por diferença no tempo de exposição a este elemento.

Metais pesados, como o Cd, desempenham papel crucial no processo de indução da apoptose, e podem, assim, alterar o equilíbrio da homeostase celular no sentido de um aumento da mortalidade celular (Gao et al., 2013). Neste estudo, observamos poucos casos de necrose hepática e renal, apesar da alta dosagem de exposição ao cádmio.

CONCLUSÃO

O cádmio em pH ácido da água levou a maior elevação dos níveis séricos de ALP e AST, além de elevar os níveis séricos de uréia, mostrando que o pH ácido maximiza a toxicidade hepática e renal do cádmio. Assim como, o cádmio em pH básico da água diminuiu a formação de esteatose hepática, mostrando que o pH básico pode conferir proteção a toxicidade hepática do cádmio.

REFERÊNCIAS

Brzóška MM, Moniuszko-Jakoniuk J, Pilat-Marcinkiewicz B, Sawicki B. 2003. Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol. *Alcohol e Alcoholism* 1:2-10.

Castro e Silva E, Fregonese J. 2002. Efeitos de metais pesados sobre o controle central do equilíbrio hidroeletrólítico. *R. Ci. Med. Biol* 1:116-123.

Castro-González M., Méndez-Armenta M. 2008. Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environ Toxicol Pharmacol* 26: 263-71.

Cunha KPV, Nascimento CWA, Pimentel RMM, Accioly AMA, Silva AJ. 2008. Disponibilidade, acúmulo e toxidez de cádmio e zinco em milho cultivado em solo contaminado. *R. Bras. Ci. Solo* 32:1319-1328.

El-Refaiy AI, Eissa FI. 2013. Histopathology and cytotoxicity as biomarkers in treated rats with cadmium and some therapeutic agents. *Saudi Journal of Biological Sciences* 20, 265–280.

Field A. *Descobrimos a estatística usando o SPSS*. 2009. 2. ed. Porto Alegre: Artmed 688p..

Gao D, Xu Z, Qiao P, Liu S, Zhang L, et al. 2013 Cadmium Induces Liver Cell Apoptosis through Caspase-3A Activation in Purse Red Common Carp (*Cyprinus carpio*). *PLoS ONE* 8(12): e83423.

Gonick HC. 2008. Nephrotoxicity of cadmium & lead. *Indian J Med Res* 128:335–52.

Järup L, Akesson A 2009 Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol Appl Pharmacol* 238: 201-208.

Khalil-Manesh F, Gonick HC, Cohen AH. 1993. Experimental model of lead nephropathy. III. Continuous low-level lead administration. *Arch Environ Health* 48:271–8.

Liu J, Qu W, Saavedra JE, Waalkes MP. 2004. The nitric oxide donor, O₂-Vinyl 1-(Pyrrolidin-1-yl)diazen-1-ium-1,2-diolate (V-PYRRO/NO), protects against cadmium-induced hepatotoxicity in mice. *JPET* 310:18–24.

Lovásová E, Rácz O, Cimboláková I, Nováková J, Dombrovský P, Ništiar F. 2013. Effects of chronic low-dose cadmium exposure on selected biochemical and antioxidant parameters in rats. *J Tox Env Health. Part A.* 76(17):1033-8.

Mladenović J, Ognjanović B, Dorđević N, Matić M, Knežević V, Stajin A, Saičić Z. 2014. Protective effects of oestradiol against cadmium-induced changes in blood parameters and oxidative damage in rats. *Arh Hig Rada Toksikol* .(1):37-46

Mori GG, Moraes IG, Nunes DC, Castilho LR, Poi WR, Capaldi MLPM. 2009. Biocompatibility evaluation of alendronate paste in rat's subcutaneous tissue. *Dental Traumatology*. 25: 209–212; doi: 10.1111/j.1600-9657.2008.00731.x

Motta ACF, Migliari DA, Gioso MA, Komesu MC, Sala MA, Lopes RA. 2004. The carcinogenic potential of cadmium in the palatal and gingival epithelium of rats. A morphologic and morphometric analysis. *Braz J Vet Res An Sci* 41:183-188.

Paiva FP, Mafilli VV, Santos ACS. 2005. *Curso de Manipulação de Animais de Laboratório*. Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz. Available from: http://www.bioteriocentral.ufc.br/arquivos/apostilha_manipulacao.pdf.

S. Chung SJ, Kim ES, Koh HE, Yoon CW, Park YS, Chang SJ. 2013. Blood lead and cadmium levels and renal function in Korean adults. *Clin Exp Nephro*. DOI 10.1007/s10157-013-0913-6.

Sabolic´ I, Herak-Kramberger CM, Brown D. 2001 Subchronic cadmium treatment affects the abundance and arrangement of cytoskeletal proteins in rat renal proximal tubule cells. *Toxicology* 165:205–16.

Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD. 1985. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney Int* 28:830-8.

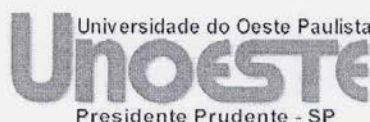
Souza MCB, Mancebo ACA, Santos HCN, Costa ALR, Taitson PF, Moreira MFR. 2010. Fatores Ambientais e Reprodução: Metais (chumbo e cádmio). *Fundamentação da pesquisa. JBRA Assist. Reprod* 14:38-42.

Thomas LD, Elinder CG, Tiselius HG, Wolk A, Akesson A. 2013. Dietary cadmium exposure and kidney stone incidence: a population-based prospective cohort study of men & women. *Environ Int.* 59:148-51.

WHO. 1992. World Health Organization. *Environmental Health Criteria, Cadmium*. 1st ed. World Health Organization, Geneva, Switzerland 134.

Yuan G, Dai S, Yin Z, Lu H, Jia R, Xu J, Song X, Li L, Shu Y, Zhao X. 2014. Toxicological assessment of combined lead and cadmium: Acute and sub-chronic toxicity study in rats. *Food Chem Toxicol* 65:260-8.

Zhang J, Song J, Zhang M, Zhou G, Cheng, Xie X. 2013. Combined Effects of Fluoride and Cadmium on Liver and Kidney Function in Male Rats. *Biol Trace Elem Res* 155:396–402.

ANEXOS**Anexo 1 - Aprovação do Trabalho pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE).**

Coordenadoria Central de Pesquisa (CCPq)
Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

PARECER FINAL

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "INFLUÊNCIA DO pH DA ÁGUA DE BEBER NA HEPATO E NEFROTOXICIDADE DA INTOXICAÇÃO POR CÁDMIO: UM ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS" cadastrado no PROGRAMA DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (PROBIC) na Coordenadoria Central de Pesquisa (CCPq) e na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o número nº 1180 (online) tendo como pesquisador responsável o Prof.Dr. HERMANN BREMER NETO , os docentes participantes GISELE ALBORGHETTI NAI , JOSE LUIZ SANTOS PARIZI e PAULO EDUARDO PARDO, os acadêmicos DANIEL JOSÉ PIMENTEL BONFIM, FERNANDA MARIA GARCIA e SORAIA YOUNAN COLUNA foi avaliado e APROVADO nas duas instâncias da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente-SP.

Presidente Prudente, 11 de junho de 2012.

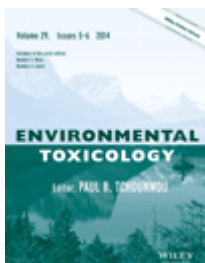

Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.
Coordenador Científico da CCPq


Prof. Ms. Adriana Falco de Brito
Coordenadora da CEUA-UNOESTE

Anexo 2 – Normas de Publicação da Revista Científica a Qual o Artigo Será Submetido.

Environmental Toxicology

© 2014 Wiley Periodicals, Inc.



Edited By: PAUL B. TCHOUNWOU

Impact Factor: 2.708

ISI Journal Citation Reports © Ranking: 2012: 8/80 (Water Resources); 31/85 (Toxicology); 53/210 (Environmental Sciences)

Online ISSN: 1522-7278

Author Guidelines

NIH Public Access Mandate

For those interested in the Wiley-Blackwell policy on the NIH Public Access Mandate, [please visit our policy statement](#)

Author Services – Online production tracking is now available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services.

Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated emails at key stages of production. The author will receive an email with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete email address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

- [Permission Request Form](#)

Author Guidelines

Submission of Manuscripts

Environmental Toxicology is now receiving submitted manuscripts online at <http://mc.manuscriptcentral.com/tox>

All manuscripts should now be submitted online. To submit a manuscript, launch your web browser and go to <http://mc.manuscriptcentral.com/tox>. Check for an existing user account by entering your email address in the space beneath the box that reads "Password Help." If you are submitting for the first time, and you do not find an existing account, create a new account by clicking on the words "Create Account" in the top right corner of the screen. Instructions are posted under the heading "Resources" on the login page and also within the site itself. Please be sure to read them carefully. If you experience difficulty during the submission process, contact technical support at support@scholarone.com

For other submission questions, contact the Editor, Prof. Paul B. Tchounwou (paul.b.tchounwou@jsums.edu). Postal address: 1400 Lynch Street, Box 18540, Jackson, MS 39217, U.S.A.

File Format Instructions for Online Submission

Manuscript file, tables, and figures must be submitted separately.

TEXT

Submit your text in DOC, DOCX, or RTF format. Do not embed figures or tables in this document; these should be submitted as separate files.

TABLES

Tables should be created with a word processor and saved in DOC, DOCX, or RTF format. Do not embed tables in your text.

FIGURES

To ensure the highest print quality, your figures must be submitted in TIF format according to the following minimum resolutions:

- 1200 dpi (dots per inch) for black and white line art (simple bar graphs, charts, etc.)
- 300 dpi for halftones (black and white photographs)
- 600 dpi for combination halftones (photographs that also contain line art such as labeling or thin lines)

Vector-based figures (e.g. figures created in Adobe Illustrator) should be submitted in EPS format.

COLOR FIGURES

In addition to the above resolution guidelines, color figures must be submitted in a CMYK colorspace. Do not submit color figures as RGB.

UNACCEPTABLE FIGURE FORMATS

Do not submit figures in any of the following formats: JPG, GIF, PSD, CRD, PCT, PPT, PDF, XLS, DOC, BMP, 123 (or other Lotus formats).

At the end of a successful submission, a confirmation screen with manuscript number will appear and you will receive an e-mail confirming that the manuscript has been received by the journal. If this does not happen, please check your submission and/or contact tech support at support@scholarone.com .

Manuscript Preparation

Papers will be considered for publication as normal research publications, the details for which are below, as Reviews, Short Communications, and as Technical Methods. For these formats, refer to earlier issues of the Journal. All pages must be numbered consecutively. Figures and tables should be clearly labeled. A manuscript should include a title, abstract, keywords, introduction, materials and methods, results, discussion, and references.

Title Page

The title page must state the names and full addresses of all authors. Telephone and fax numbers, as well as e-mail address must be provided for the corresponding author to whom galley proofs will be sent. A short running head with less than ten words should also be included. If any of the authors have a commercial interest in the methods or results of this research, it is to be declared.

Abstract

The abstract should give concise information about the objectives of the work, the methods used, and the results and conclusions obtained. A length of approximately 250 words is sufficient.

Keywords

Keywords have become increasingly important for information retrieval. Consequently, authors must be careful to select up to 10 keywords.

Editorial Style

Be guided by the *Council of Biology Editors (CBE) Style Manual* . Follow *Webster's International Unabridged Dictionary* as the authority for spelling and hyphenation of words. Avoid breaking words at the end of lines. Système Internationale (SI) or modern metric units are used. Non-standard abbreviations should be defined at first mention. Standard abbreviations (refer to *CBE Manual*) do not require definition.

Copyright

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions

http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services

http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

Figures

Graphs and charts should be prepared in a consistent style, including lettering and numbering. The lettering should be large enough to be legible when reduced. Whenever appropriate, indicate magnification or size of a photograph with a scale line; otherwise, give the magnification in the legend. Legends for figures should be listed on a separate sheet, quadruple-spaced between legends. Abbreviation Fig.

To ensure that your digital graphics are suitable for print purposes, please go to RapidInspector™ at <http://rapidinspector.cadmus.com/wi/index.jsp>. This free, stand-alone software application will help you to inspect and verify illustrations right on your computer.

All color figures will be reproduced in full color in the online edition of the journal at no cost to authors. Authors are requested to pay the cost of reproducing color figures in print. Authors are encouraged to submit color illustrations that highlight the text and convey essential scientific information. For best reproduction, bright, clear colors should be used. Dark colors against a dark background do not reproduce well; please place your color images against a white background wherever possible. Color proofs will be sent to the contributor for approval prior to printing.

Tables

Each table should have a brief descriptive title. Do not include explanatory material in titles; use footnotes, keyed with lower case letters, at the bottom of the table. Use no vertical rules. Only use underlining for italic print. Horizontal rules should be placed one-half space or more below a typed line. Define all data in column heads with appropriate units or descriptions. Explanations can be given in footnotes keyed with lower case letters. Plan your tables to be no wider than 66 characters, including spaces, or 11 cm wide when printed.

References

References should be prepared according to CBE (Council of Biology Editor's, Inc.) style. Refer to the CBE Style Manual, 6th Edition (Cambridge University Press). In the text, references should be cited by the name and date system (when there are more than two authors provide only the first name followed by "et al."). Citations such as "in preparation" and "personal communication" should be included parenthetically in the text; for personal communications, include institutional affiliation and date. For example: (Smith, A.B., University of Adelaide, 2003, Personal Communication). In the final list, references must be double-spaced, in alphabetical order, and chronological for more than one reference with the same authorship. Use a letter suffix if more than one author reference is for the same year. Begin each reference with the names of all authors and the year of publication. For references to journals, **give titles of articles in full**, abbreviate journal names according to Index Medicus, and provide inclusive pagination. For references to books, include all authors' names, year of publication, chapter title (if any), editor (if any), book title, city of publication, and publisher's name. Note the following examples:

Journal article:

King VM, Armstrong DM, Apps R, Trott JR. 1998. Numerical aspects of pontine, lateral reticular, and inferior olivary projections to two paravermal cortical zones of the cat cerebellum. *J Comp Neurol* 390:537-551.

Book:

Voet D, Voet JG. 1990. *Biochemistry*. New York: John Wiley & Sons. 1223 p.

Book chapter:

Gilmor ML, Rouse ST, Heilman CJ, Nash NR, Levey AI. 1998. Receptor fusion proteins and analysis. In: Ariano MA, editor. *Receptor localization*. New York: Wiley-Liss. p 75-90.

Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. A list of independent suppliers of editing services can be found at www.blackwellpublishing.com/bauthor/english_language.asp. Japanese author can also find a list of local English improvement services at <http://www.wiley.co.jp/journals/editcontribute.html>. All services are paid for and

arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Correspondence All other correspondence should be addressed to the Publisher, c/o John Wiley & Sons, Inc., 111 River Street, Hoboken, NJ 07030.

E-mail: jrnprodtox@cadmus.com