

Flávia Helena Costa Cabral

*Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia*

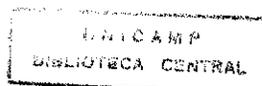


***"Alterações morfológicas testiculares
provocadas pelo cádmio, paracetamol e cádmio
associado ao paracetamol, em ratos."***

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo (a) candidato (a)
*Flávia Helena Costa
Cabral*
e aprovada pela Comissão Julgadora.

03/07/96 H. H. H. H.

***Campinas, S. P.
1996***



Flávia Helena Costa Cabral



***"Alterações morfológicas testiculares
provocadas pelo cádmio, paracetamol e cádmio
associado ao paracetamol, em ratos."***

*Tese apresentada ao Instituto de Biologia, da
Universidade Estadual de Campinas, como um dos
requisitos para a obtenção do título de Mestre em
Ciências Biológicas na Área de Biologia Celular.*

Orientadora: Prof^ª Dra. Mary Anne Heidi Dolder

Campinas, S. P.

1996

3767 96

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNICAMP

C112a Cabral, Flávia Helena Costa
Alterações morfológicas testiculares provocadas pelo
cádmio, paracetamol e cádmio associado ao paracetamol,
em ratos / Flávia Helena Costa Cabral. -- Campinas, SP :
[s.n.], 1996.

Orientador: Mary Anne Heidi Dolder.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Biologia.

1. Cádmio. 2. Acetaminofen. 3. Testículos. 4. Rato.
I. Dolder, Mary Anne Heidi. II. Universidade Estadual
de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

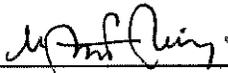
LOCAL E DATA: Campinas, 03 de Julho de 1996

BANCA EXAMINADORA:

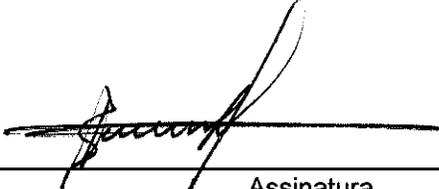
TITULARES:

Prof. Dra.: MARY ANNE HEIDI DOLDER 
Assinatura

Prof. Dr.: ATHANASE BILLIS 
Assinatura

Prof. Dr.: URBANO M. F. MEIRELLES 
Assinatura

SUPLENTE:

Prof. Dr.: EDSON ROSA PIMENTEL 
Assinatura

Para Renata e Fernanda, partes fundamentais e preciosas, razões da minha vida.

Para Cabral, amado e amigo em todos os momentos, razão da minha perseverança.

Para Antonio e Cléa, exemplos de amor e honestidade, motivos constantes do meu orgulho.

" Os passos que o pesquisador terá que percorrer, até o término da pesquisa, dependerão do passo inicial: a formulação do problema. Formulado o problema, busca-se a solução. Esta será interessante ou não, contribuirá para o progresso da ciência ou não, terá valor ou não terá, se o problema formulado tiver sido interessante ou banal. Embora o pesquisador não chegue a uma solução – frequentemente não são encontradas soluções imediatas para os problemas – cabe-lhe o mérito de ter aberto o caminho. Outros virão secundá-lo em sua marcha através do emaranhado terreno do conhecimento científico. Desde Einstein, acredita-se que é mais importante para o desenvolvimento da ciência saber formular problemas do que encontrar soluções."

(CERVO, A. L. & BERVIAN, P. A. **Metodologia Científica**. São Paulo, Ed.

McGraw-Hill do Brasil Ltda, 1973. cap. IV, p. 79.)

PREFÁCIO

O homem não age só e diretamente sobre todas as coisas. Sempre há um intermediário, um instrumento, entre ele e seus atos.

Meus profundos agradecimentos à inestimável ajuda na realização deste trabalho para :

- Profa. Dra. MARY ANNE HEIDI DOLDER pela orientação, apoio, incentivo, compreensão em todos os momentos e principalmente pela confiança que depositou em meu desempenho durante todo o tempo.

- Prof. Dr. URBANO MORATO FERRAZ MEIRELLES do Depto. de Farmacologia (FCM- UNICAMP) pela orientação precisa e segura durante a realização experimental do presente estudo. Sem dúvida, com seu trabalho ético, constante e meticuloso, intensificou em mim o amor pela Ciência e Pesquisa.

- Prof. Dr. ATHANASE BILLIS pela acolhida no Depto. de Anatomia Patológica (FCM- UNICAMP), apoio, ensinamentos durante o período experimental do presente trabalho e sugestões durante a fase de pré-banca.

- Prof. Dr. EDSON ROSA PIMENTEL pela importante discussão técnico-científica realizada durante a fase de pré-banca.

- Prof. Dr. ANGELO LUIZ CORTELAZZO pela colaboração constante durante o curso de Mestrado e sugestões durante a fase de pré-banca.

- Corpo docente do Curso de Pós-Graduação em Biologia Celular (Nível Mestrado em Ciências Biológicas), Profa. Dra. Mary Anne Heidi Dolder, Profa. Dra. Maria Luiza Silveira Mello, Profa. Dra. Shirlei Maria Recco Pimentel, Profa. Dra. Maria Lúcia Furlan Wada, Profa. Dra. Laurecir Gomes, Prof. Dr. Hernandes Faustino de Carvalho, Prof. Dr. Edson Rosa Pimentel, Prof. Dr. Angelo Luiz Cortelazzo, pelos ensinamentos recebidos

- Prof. Paulo Inácio K. L. Prado pelos ensinamentos, apoio e sugestões prestadas na análise estatística do presente trabalho.

- Prof. Dr. Francesco Langone do Depto. de Anatomia (FCM - UNICAMP) que possibilitou o uso do fotomicroscópio Zeiss Jenapol e a execução da parte histológica do presente estudo, colocando à nossa disposição o laboratório e orientação.

- Sr. Norivaldo Celestino e Sr. Marco Aurélio R. de Paula do Depto. de Anatomia (FCM- UNICAMP), pela valiosa colaboração na parte histológica do trabalho e ensinamentos técnicos prestados.

- Prof. Dr. Asit Choudhuri do Depto. de Metalogênese e Geoquímica (Instituto de Geociências- UNICAMP) que possibilitou o uso do fotomicroscópio petrográfico Zeiss Axiophoto.

- Às secretárias Líliam A. S. Panagio e Maria Aparecida da Cunha do Depto. de Biologia Celular (IB- UNICAMP) que com carinho e disponibilidade ajudaram durante o transcorrer do presente trabalho.

- Aos técnicos do Depto. de Biologia Celular, Francisco A. Malattesta, Mário Bianchi e Klélia Aparecida de Carvalho pelo apoio técnico prestado.

- Aos funcionários e amigos do Depto. de Biologia Celular, Irma Chamorro Sanseverino e Sidnei H. Simões pela atenção e carinho constantes.

- Aos colegas e amigos do Depto. de Biologia Celular Jeannie Nascimento dos Santos, José Alencar de Carvalho, Christiane Bertachini Lombello, José Lino Neto, Estela Rossetto, Cristiana de Noronha Begnami, Daniela Zanin Covizi, Maria Izabel Gallão, Selma Candelária Genari, Mauricio J. L. V. do Amaral, Sebastião R. Taboga, Nazário de Souza Messias Jr., Alexandre Oliveira, Guido Tirone, Patrícia Parise Maltempi, Luis Antônio V. Dias Pereira, Silvya Stuchi, Fernando Ananias, Arnaldo Rodrigues dos Santos Jr., Marcelo A. Marreto Esquisatto, Odair Aguiar Jr. pelo carinho e companherismo, auxiliando sempre a superar os diversos obstáculos enfrentados.

- Profa. Dra. Carmen S. Zickel e Profa. Dra. Urara Kawazoe pelos ensinamentos e carinho.

- À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de Bolsa de Mestrado.

- Prof. Dr. Gilberto C. Costa e Eng. Roberto Luis Costa da Faculdade de Engenharia (PUC- Porto Alegre, RS) pelos ensinamentos e apoio na parte de informática do presente trabalho.

- Sr. ANTÔNIO BASTOS COSTA e Sra. CLÉA BARRIO COSTA, queridos pais, que sempre souberam incentivar-me a "lutar" pelos meus ideais o meu especial e carinhoso agradecimento.

- À todos que de alguma forma colaboraram na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	<i>Página</i>
1. INTRODUÇÃO	10
1.1. Considerações gerais sobre o sistema reprodutor masculino.....	10
1.2. Espermatogênese no rato.....	13
1.3. Fatores que afetam a espermatogênese.....	15
1.4. Revisão bibliográfica.....	16
1.5. Objetivos.....	47
2. MATERIAL E MÉTODOS	49
2.1. Material biológico.....	49
2.2 Procedimentos prévios.....	49
2.3. Tratamentos.....	49
2.3.1. Experimento 01.....	50
2.3.2. Experimento 02.....	51
2.3.3. Experimento 03.....	51
2.4. Métodos.....	52
2.4.1. Microscopia de luz.....	52
2.4.1.1. Fixação.....	52
2.4.1.2. Desidratação, diafanização e inclusão.....	52
2.4.1.3. Microtomia, desparafinização e hidratação.....	53
2.4.1.4. Coloração, desidratação e montagem.....	53
2.4.2. Análise do material e obtenção de fotomicrografias.....	53
2.4.3. Morfometria.....	54
2.4.4. Análise estatística dos experimentos.....	54

	Página
3. RESULTADOS	56
3.1. Observações morfológicas.....	56
3.1.1. Animais controles.....	56
3.1.2. Experimento 01.....	63
3.2. Observações morfométricas (Considerações gerais).....	77
3.2.1. Morfometria Experimento 01.....	77
3.3. Análises Estatísticas (Considerações gerais).....	79
3.3.1. Análise Estatística Experimento 01.....	79
3.1.3. Experimento 02.....	86
3.1.3.1. Morfometria Experimento 02.....	97
3.1.3.2. Análise Estatística Experimento 02.....	97
3.1.4. Experimento 03.....	106
4. DISCUSSÃO	141
5. CONCLUSÕES	149
6. RESUMO	152
7. ABSTRACT	155
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	157

Lista de abreviaturas usadas neste trabalho.

A	Espermatogônia A
Ad	Tecido Adiposo
C. Int.	Células intersticiais (Leydig)
Ep	Epidídimo
exp.	Experimento
Fig.	Figura
Gráf.	Gráfico
H	Hemossiderina
Int	Interstício
L	Lúmen
n	Número (de animais)
NAC	<i>N</i> -acetil cisteína
NAPQI	<i>N</i> -acetil- <i>p</i> -benzoquinona
PCML	Paracetamol
p. ex.	Por exemplo
S	Célula de Sertoli
TA	Túnica Albugínea
Tab.	Tabela
Tb	Túbulo seminífero
V	Vaso sanguíneo

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações gerais sobre o sistema reprodutor masculino.

O sistema reprodutor masculino é formado por um par de testículos, um conjunto de canais (vias genitais), glândulas acessórias e o pênis. Os testículos têm a organização de glândulas tubulares compostas. Eles contêm numerosos túbulos seminíferos, bastante contorcidos, que produzem os espermatozóides (BLOOM & FAWCETT, 1986). Deles dependem as duas funções essenciais do macho: a esteroidogênica e a espermatogênica (MIES FILHO, 1987).

A função esteroidogênica, diz respeito aos hormônios esteróides androgênicos, produzidos pelas células intersticiais ou células de Leydig (células endócrinas). Os hormônios esteróides, sobretudo a testosterona, atuam na regulação do desenvolvimento dos espermatozóides, além do desenvolvimento e manutenção das glândulas acessórias (vesículas seminais, próstata e as glândulas bulbouretrais). Esses hormônios, ainda influenciam o desenvolvimento das características sexuais secundárias masculinas (BLOOM & FAWCETT, 1986) e até certo ponto, o comportamento sexual (ROSS et al., 1993).

As células de Leydig, ocorrem em grupos de vários tamanhos localizando-se nos espaços angulares intersticiais entre os túbulos seminíferos, além dos elementos de tecido conjuntivo usuais. O tecido intersticial apresenta variações marcantes nas diferentes espécies animais, no que diz respeito ao volume relativo das células de Leydig. Também a quantidade deste tecido pode variar grandemente com as espécies (BLOOM & FAWCETT, 1986).

Da função espermatogênica diz-se a produção dos espermatozóides. Eles estão entre as células mais especializadas, apresentando grande especificidade de forma, refletindo assim sua função bastante característica

(FAWCETT et al., 1971). Os espermatozóides contêm a informação genética requerida para a transmissão hereditária das características da espécie (PARVINEN et al., 1986). Sendo assim, muitas são as modificações que uma determinada célula indiferenciada sofrerá até tornar-se um espermatozóide. Todas estas modificações fazem parte de um processo dinâmico, designado espermatogênese (FAWCETT et al., 1971). Este processo é fundamental e ao mesmo tempo um dos mais complexos, ocorrendo nos organismos mais evoluídos (HENNIG, 1987).

A espermatogênese em mamíferos adultos, acontece no complexo epitélio dos túbulos seminíferos dos testículos (BUSTOS-OBREGON et al., 1975). Este epitélio é constituído por dois tipos básicos de células: as células de Sertoli e as células espermatogênicas (ROSS et al., 1993).

As células de Sertoli, constituem uma população que não prolifera, composta por um único tipo celular. Cada célula de Sertoli estende-se da lâmina basal até o lúmen e confere, assim, organização estrutural ao túbulo seminífero (ROSS et al., 1993).

As principais funções atribuídas às células de Sertoli são: 1) Dar suporte físico às células espermatogênicas (ROSS et al., 1993); 2) Mediar os metabólitos e nutrientes (UENO et al., 1991); 3) Controlar a elongação das espermátides (RASTOGI et al., 1988; TABOGA, 1990); 4) Fagocitar as células espermatogênicas degeneradas e excesso de resíduos citoplasmáticos (RUSSEL & CLERMONT, 1976; RUSSEL, 1979a, b; ROSS et al., 1993).

As células de Sertoli, são ainda responsáveis pelo processo de liberação dos espermatozóides em direção ao lúmen do túbulo seminífero, designado espermição (FAWCETT & PHILLIPS, 1969; RUSSEL & CLERMONT, 1976).

No estudo de PARVINEN (1982), verifica-se que em certos organismos, as células de Sertoli estão envolvidas na secreção de proteínas que se

ligam aos androgênios; assim como na secreção de várias substâncias estimuladoras e inibidoras que participam da regulação da mitose e meiose.

Também nas células de Sertoli são encontradas extensas regiões de junções oclusivas entre estas e as células espermatogênicas, que segundo DYM & FAWCETT (1970), constituem os locais da barreira hematotesticular. Esta barreira é de grande importância biológica, provavelmente por ter mecanismos de preservação da espécie, protegendo as células espermatogênicas da ação de agentes nocivos e anticorpos (HENNIG, 1987). As células de Sertoli portanto, desempenham um papel fundamental no desenvolvimento das células espermatogênicas, no entanto, muitas de suas atividades específicas ainda precisam ser esclarecidas (ROSS et al., 1993).

Quanto às células espermatogênicas, constituem uma população em proliferação, pois dividem-se sucessivamente neste processo dinâmico, organizando-se em camadas distintas nos túbulos seminíferos (ROSS et al., 1993). As células mais imaturas, as espermatogônias, localizam-se perto da lâmina basal. Os espermatócitos ocupam a região mediana e as espermatídes próximas ao lúmen do túbulo seminífero (LEBLOND & CLERMONT, 1952). As espermatídes apresentam conteúdo genético haplóide e sofrem diferenciação morfológica mais drástica, conhecida como espermiogênese à medida que vão sendo transformadas em espermatozóides (ROSS et al., 1993).

A maior ou menor produção de espermatozóides, segundo MIES FILHO (1987), depende da espécie animal considerada e, dentro desta, do tamanho dos testículos, além dos fatores estimulantes ou limitantes da espermatogênese.

1.2. Espermatogênese no rato.

Numerosos estudos bioquímicos, fisiológicos e morfológicos que utilizaram o rato como modelo animal contribuíram muito para o entendimento da espermatogênese (ROSS et al., 1993), pois nestes animais ela exibe um grau de ordem e regularidade, que facilita a análise sistemática do processo (BLOOM & FAWCETT, 1986). Embora alguns aspectos da espermatogênese sejam únicos em humanos, no rato esse processo tem notáveis semelhanças com várias espécies de mamíferos estudadas, inclusive os primatas (ROSS et al., 1993).

As várias gerações de células espermatogênicas no rato, não se distribuem aleatoriamente no epitélio seminífero, mas organizam-se em associações celulares bem definidas (HESS et al., 1990). No rato são identificadas 14 dessas associações celulares distintas, também chamadas de estádios (LEBLOND & CLERMONT, 1952; ROSS et al., 1993). O número de estádios da espermatogênese varia de acordo com a espécie estudada, porém como estão em constante cinética numa determinada área do túbulo seminífero, são mencionados por LEBLOND & CLERMONT (1952), como "ciclo do epitélio seminífero".

A duração deste ciclo no rato é de aproximadamente 12 dias e uma espermatogônia leva cerca de 4 ciclos ou 48 dias, para completar a sua diferenciação e ser liberada como espermatozóide (BLOOM & FAWCETT, 1986). Os estádios identificados no rato ocupam áreas relativamente extensas ao longo dos túbulos seminíferos. Desta maneira, um corte transversal típico do túbulo seminífero de rato, pode-se identificar apenas 1 estádio da espermatogênese deste animal (ROSS et al., 1993).

Foram descritas no rato 6 gerações de espermatogônias, sendo produzidas por divisões sucessivas e com diferenças morfológicas relativamente pequenas. As letras A (A_1 , A_2 , A_3 , A_4), In e B foram adotadas para distinguir os tipos

de espermatogônias. As espermatogônias do tipo A, são produzidas pela divisão mitótica das células-tronco. Sendo que A_1 , A_2 , A_3 e A_4 , correspondem respectivamente a cada uma das quatro gerações das espermatogônias do tipo A. As espermatogônias intermediárias são representadas por I_n . Já as divisões mitóticas das espermatogônias do tipo B, dão origem aos espermátócitos primários pré-leptótenos, marcando o início da fase meiótica (LEBLOND & CLERMONT, 1952; ROSS et al., 1993).

À medida que as células espermatogênicas prosseguem na prófase da primeira divisão meiótica, atravessam uma série de fases morfológicamente distintas: pré-leptóteno, leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e diacinese. Desta maneira, são produzidos os espermátócitos secundários, pela primeira divisão meiótica. A primeira divisão, através da meiose é caracterizada pela redução do número cromossômico das células diplóides em células haplóides. Esta redução é necessária e tem como objetivo manter o número constante de cromossomas nas espécies (BLOOM & FAWCETT, 1986).

Na segunda divisão meiótica, os espermátócitos secundários originam as espermátides haplóides. As espermátides sofrem várias modificações bioquímicas e estruturais, num processo designado de espermiogênese. Este último evento culmina com a produção dos espermatozóides (ROSS et al., 1993).

Durante a espermiogênese, as transformações morfológicas das espermátides foram divididas (didaticamente), em uma série de etapas morfológicamente distinguíveis de 1 a 19 (LEBLOND & CLERMONT, 1952). Os principais critérios usados para se identificar estas etapas, são as alterações morfológicas do núcleo e do acrossomo (DYM & CLERMONT, 1970).

1.3. Fatores que afetam a espermatogênese.

Nos organismos adultos, inúmeras disfunções orgânicas entre outros fatores, podem comprometer o ciclo do epitélio seminífero e consequentemente afetar a espermatogênese. As células espermatogênicas do epitélio seminífero, são muito sensíveis a fatores nocivos (BLOOM & FAWCETT, 1986).

Eventualmente, os fatores que podem afetar a espermatogênese são: (1) as deficiências nutricionais; (2) as infecções gerais ou locais; (3) a temperatura testicular elevada; (4) os hormônios; (5) os agentes tóxicos como mutagênicos, drogas, antimetabólicos e pesticidas (especialmente os hidrocarbonetos halogenados de cadeia curta) e (6) as radiações (ROSS et al., 1993).

Segundo ROSS e colab. (1993), após a exposição a tais agentes, ocorrem alterações degenerativas, como descamação prematura das células, formação de células gigantes multinucleadas ou até mesmo esterilidade.

1.4. Revisão bibliográfica.

Atualmente, é crescente a preocupação quanto à deterioração ambiental e seus efeitos sobre a saúde. Os problemas mundiais de poluição do ar e da água, entre outros, ameaçam a qualidade de vida do homem (BERNARD & LAUWERYS, 1984). O conjunto das doenças de origem ambiental torna-se, dentro desta perspectiva, ilimitado (GOYER & MEHLMAN, 1977; ROBBINS et al., 1986).

A preocupação não é menor para com alguns produtos terapêuticos e praticamente todos os compostos químicos conhecidos que possuem o potencial de provocarem alterações e, algumas vezes, a morte (ROBBINS et al., 1991). Muitos são tóxicos e os efeitos dependem do fator quantitativo da dose, outros são insidiosos e seu potencial surge somente passado algum tempo (ROBBINS et al., 1986).

Por outro lado, cada vez mais, no mundo moderno, intensifica-se a atividade do setor químico envolvido na geração de produtos, em resposta às crescentes demandas dos consumidores. Grande variedade destes produtos químicos (p. ex. medicamentos, cosméticos, defensivos agrícolas, conservantes / germicidas de água ou de alimentos, etc.) é colocada no mercado sem que testes para comprovação de seus efeitos tóxicos *in vivo* ou condições apropriadas para administração e emprego, tenham sido considerados (BRITO, 1994).

Torna-se, também um problema de saúde pública e médico da sociedade atual, o uso e o abuso de algumas drogas disponíveis (KANDEL & LOGAN, 1984; YAMAGUCHI & KANDEL, 1984a, b), sem a obrigatoriedade de prescrição médica, visto que podem ser adquiridas sem controle dos órgãos oficiais em muitos países (ROBBINS et al., 1986; BRITO, 1994). A falta deste controle é perigosa aos usuários desinformados, por sugerir que são drogas totalmente inócuas (MARTIN, 1978).

Deste modo, algumas vezes as drogas são acidentalmente ingeridas e em doses excessivas, representando riscos individuais de forma não-intencional. Em alguns casos, as drogas podem provocar intoxicações, envolvendo substâncias caseiras como p. ex. agentes de limpeza, detergentes, aspirinas, cosméticos, etc. (TRINKOFF & BAKER, 1986). Tragicamente, muitos destes casos podem levar à morte e acometem principalmente as crianças (MEREDITH et al., 1978) e os adolescentes (ROBINS, 1984; TRINKOFF & BAKER, 1986). No entanto, as mortes acidentais não constituem surpresa, pois muitas intoxicações são provenientes de produtos considerados triviais ou até mesmo daqueles classificados como venenos (ROBBINS et al., 1991).

Outras vezes, os casos de intoxicações envolvem a ação deliberada dos indivíduos na intenção suicida e por consequência de superdosagem auto-administrada (ROBBINS et al., 1991). Essas mortes envolvem principalmente os adolescentes (KANDEL & LOGAN, 1984; YAMAGUCHI & KANDEL, 1984a, b; TRINKOFF & BAKER, 1986; HAWTON & FAGG, 1992; MYERS et al., 1992) e o uso por parte deles de drogas das mais diversas procedências (MARTIN, 1978; ROBINS, 1984; ROBBINS et al., 1991).

Em outros casos ainda, as intoxicações sobrevêm do uso de drogas não-prescritas e auto-administradas inadequadamente, com possíveis resultados não antecipados e portanto imprevisíveis (ROBBINS et al., 1991). Geralmente, a falta de informações sobre os efeitos dos remédios ou como as drogas atuam no organismo, fazem com que muitos consumidores não percebam os riscos da automedicação (VAITSMAN, 1995).

Sendo assim, os efeitos inesperados dos medicamentos ingeridos sem orientação médica, podem ocasionar reações medicamentosas adversas. Estas reações raramente são fatais, porém constituem uma outra categoria de riscos individuais, envolvendo alterações químicas e medicamentosas

(ROBBINS et al., 1991). Além disso, estas reações podem originar-se de efeitos colaterais, efeitos por extensão, interações com outros medicamentos, idiossincrasia ou hipersensibilidade à droga ingerida (ROBBINS et al., 1986).

Na investigação das intoxicações à compostos químicos ou drogas terapêuticas, é importante também que se considere a influência dos fatores genéticos (ROBBINS et al., 1991). Segundo os trabalhos de NEBERT & FELTON (1976) e DER et al. (1976), as diferenças genéticas provavelmente devem alterar as respostas individuais à compostos estranhos, afetando de maneiras diferentes quanto à absorção, ligação, distribuição, excreção, biotransformação ou na interação droga-droga.

Ocasionalmente, muitas intoxicações caem na categoria de riscos ocupacionais, como na exposição humana a níveis elevados de produtos e subprodutos tóxicos (ROBBINS et al., 1991). Exemplificando, pode-se citar as contaminações que ocorrem nas minas ou indústrias de metais pesados. As intoxicações com metais são conhecidas há muito tempo, porém as mais estudadas são aquelas provocadas pelo chumbo, zinco, cobre, mercúrio (GOYER & MEHLMAN, 1977) e mais recentemente o cádmio (BERNARD & LAUWERYS, 1984; WHO, 1992a).

A intensa e prolongada exposição de mineiros ou processadores, através da inalação dos resíduos destes metais, podem resultar em inúmeras enfermidades graves (ROBBINS et al., 1986). Ao mesmo tempo, representam riscos coletivos, pela dispersão aérea dos resíduos tóxicos e/ou pelos despejos industriais dos metais processados, prejudicando desta maneira os trabalhadores e as comunidades instaladas próximas a estes locais (SHAIKH & SMITH, 1984; FÖRSTNER, 1984; ROBBINS et al., 1986).

Nos estudos das poluições ambientais, têm-se registrado que durante as últimas décadas, com a expansão industrial no mundo, os depósitos de

muitos metais concentrados na crosta terrestre são usualmente perigosos e tendem a aumentarem (BERNARD & LAUWERYS, 1984; WHO, 1992b). A intensa atividade humana deixa vestígios de vários metais e estes são distribuídos lentamente para o meio ambiente (WHO, 1992a). Além disso, o aspecto mais importante que distingue os metais de outros poluentes tóxicos, é que eles não são biodegradáveis (ROBARDS & WORSFOLD, 1991).

Entre os metais registrados nas poluições, o cádmio é um elemento relativamente raro, porém é liberado no ar, na água e nos solos (WHO, 1992a). Os níveis de cádmio na crosta terrestre, são estimados entre 0,1 e 0,2 ppm (AYLETT, 1979), fazendo deste elemento o 67º na ordem de abundância (EARL & VISH, 1979).

Várias nações industrializadas no mundo vem despertando o interesse aliado à preocupação pelos despejos residuais contendo metais, onde na atualidade destaca-se também o cádmio (POON, 1984). Por exemplo, a análise de sedimentos em amostras de águas é utilizada como rotina em alguns países. Este método identifica resíduos de metais e outros contaminantes descarregados nas águas (FÖRSTNER, 1984). Os estudos nacionais para análise de sedimentos em regiões litorâneas do Rio de Janeiro, adjacentes às indústrias de mineração e metalurgia, revelam um aumento de resíduos nestas águas, de cádmio e zinco (BARCELLOS et al., 1991).

Dentre os metais, o cádmio é um elemento reconhecido relativamente a pouco tempo (ROBARDS & WORSFOLD, 1991). Foi identificado como elemento químico distinto, em 1817 (SHERLOCK, 1984; ROBARDS & WORSFOLD, 1991). O cádmio é um metal eletropositivo, apresentando o estado de oxidação +2 e, neste sentido, assemelha-se aos elementos (zinco e mercúrio) do grupo IIB (MAHAN, 1972) ou à família 12 da tabela periódica (FONSECA, 1993). Apresenta ponto de fusão a 321°C e ebulição a 767°C (WAALKES et al., 1992).

Alguns sais de cádmio, como o sulfeto, o carbonato e o óxido são praticamente insolúveis em água, mas podem converter-se em sais hidrossolúveis em meio natural (WHO, 1992b). Os óxidos de cádmio (CdO) por ex., são óxidos básicos (com acentuado caráter iônico) e se dissolvem em soluções de ácidos fortes (FONSECA, 1993). Porém o sulfato, nitrato e os haletos, são hidrossolúveis (WHO, 1992b).

A forma natural do cádmio na biosfera, provém principalmente de emissões vulcânicas (ROBARDS & WORSFOLD, 1991), refletindo assim o enriquecimento deste metal na atmosfera (WILLIAMS & HARRISON, 1984). Também pode estar presente no meio ambiente pela queima de combustíveis fósseis (SHAIKH & SMITH, 1984), na exsudação da vegetação, incêndios florestais ou em fortes ventos contendo poeiras (RAVERA, 1984).

Na litosfera, o cádmio é extraído como substância metálica (CdS) da grenockita (RAVERA, 1984; FONSECA, 1993), ou dos minérios de zinco, principalmente da blenda (ZnS), onde está associado em pequenas quantidades, na proporção de 1:445 (EARL & VISH, 1979). Pode ser encontrado também, na calamina (ZnCO₃) e zincita (ZnO) e é obtido como subproduto no processo de redução do zinco. O cádmio e o zinco são separados por destilação (MAHAN, 1972; WAALKES et al., 1992). O cádmio, pode ser recuperado em certa proporção nas fumaças das usinas metalúrgicas de zinco ou na reciclagem de peças que o contenham (ABREU, 1973).

Ao contrário de outros metais, o cádmio só foi utilizado na indústria e em larga escala, à partir de 1940 (SHERLOCK, 1984). Até os anos 50 não era reconhecido como uma ameaça em termos de poluente ambiental (BERNARD & LAUWERYS, 1984; ROBARDS & WORSFOLD, 1991), ou como sério contaminante em alimentos (SHERLOCK, 1984).

Porém, com o avanço das pesquisas sobre os efeitos tóxicos deste metal, o consumo industrial nos últimos anos tem se modificado de tal maneira que em alguns países proíbe-se o seu uso. Em outros, utiliza-se o cádmio sob forma de compostos em baixas concentrações e/ou restringe-se sua reciclagem (WHO, 1992a).

O maior emprego industrial do cádmio atualmente, é como componente elétrodo em baterias (Ni-Cd), com crescimento registrado a partir de 1985 e particularmente no Japão (WILSON, 1988 apud WHO, 1992b).

Ocasionalmente, o cádmio ainda pode ser empregado industrialmente em alguns países como: (1) agente protetor contra corrosão, sendo depositado eletroliticamente (cadmiagem) sobre certas partes de automóveis, aviões e alguns aparelhos elétricos (BERNARD & LAUWERYS, 1984; ROBARDS & WORSFOLD, 1991); (2) pigmento em plásticos e vidros (WHO, 1992b) ou em tintas e esmaltes (WAALKES et al., 1992), sob forma de sulfeto de cádmio; (3) estabilizante de plásticos, sob forma de sal (WHO, 1992b); (4) ou ainda, como elemento componente de várias ligas e soldas metálicas (BERNARD & LAUWERYS, 1984).

Na atualidade o cádmio é identificado como um elemento perigoso devido sua alta toxicidade (WHO, 1992a). Portanto, é necessário e importante a sua constante monitorização (RAVERA, 1984; WHO, 1992a). Em alguns países que já tiveram problemas sérios de contaminações por metais pesados, são adotados métodos analíticos para o controle ambiental destes elementos. E constata-se nestas regiões, p. ex. níveis menores do cádmio em relação àqueles verificados em décadas passadas (WHO, 1992a).

Entre os efeitos tóxicos do cádmio, a principal característica é sua excepcional tendência de acumulação nos organismos (BERNARD & LAUWERYS, 1984; ROBARDS & WORSFOLD, 1991). Segundo McCAULL (1971),

no agudo e crônico envenenamento pelo cádmio, os efeitos fisiopatológicos são presumivelmente causados por íons cádmio (Cd^{++}). Este metal é indicado como um agente citotóxico, pois os íons cádmio têm particular afinidade por grupos sulfidrilas (SH), grupos hidroxilas (OH) e ligantes contendo nitrogênio (McCAULL, 1971; OEHME, 1979).

No homem, a principal via de entrada do cádmio é através dos pulmões (HALLENBECK, 1984) e o mais notável são os efeitos agudos ocasionados pela inalação dos seus gases e vapores (WILLIAMS & HARRISON, 1984; WHO, 1992a). Dependendo do tamanho da partícula, 10-50% do cádmio inalado é depositado nos alvéolos pulmonares e a absorção deste metal depende da sua forma química (BERNARD & LAUWERYS, 1984; HALLENBECK, 1984), assim como da solubilidade em fluidos biológicos (WHO, 1992b).

A respeito dos efeitos pulmonares, na exposição ocupacional leve ao cádmio, podem ocorrer problemas na função ventilatória, avançando para uma insuficiência respiratória (WHO, 1992a). Em curtas e repetidas exposições, verifica-se dispnéia e enfisema pulmonar grave (ULANDER & AXELSON, 1974; ANDERSON & SCOTT, 1976; HALLENBECK, 1984). Já as exposições ocupacionais prolongadas, podem ocasionar efeitos crônicos obstrutivos das vias respiratórias, assim como graves lesões pulmonares, renais, ósseas, cerebrais, entre outras (McCAULL, 1971; HALLENBECK, 1984; FOULKES, 1990; WAALKES et al., 1992; WHO, 1992a).

Paralelamente aos efeitos crônicos deste metal, são registradas a anemia e anosmia (BERNARD & LAUWERYS, 1984). As exposições ocupacionais intensas (p. ex. metalúrgicos, refinadores ou soldadores) pela inalação dos vapores do óxido de cádmio (CdO), podem levar à pneumonites agudas com edema pulmonar, sendo letal em alguns casos (BERNARD & LAUWERYS, 1984; WHO, 1992a).

Outra maneira do cádmio ser absorvido pelo homem é através do trato gastrointestinal. Neste caso, os efeitos do cádmio dependem do tipo de dieta usada e do estado nutricional do indivíduo (BERNARD & LAUWERYS, 1984; WHO, 1992a). Os estudos da cinética e metabolismo do cádmio, revelam que quando este metal é absorvido pelo pulmão ou trato gastrointestinal, armazena-se principalmente no fígado e rins (BERNARD & LAUWERYS, 1984; WHO, 1992a).

Desta maneira, o rim é outro órgão crítico dos efeitos tóxicos do cádmio (WAALKES et al., 1992). Segundo GOYER (1986), a exposição ocupacional intensa ao cádmio independente da rota de absorção, resulta em disfunção renal e o acúmulo deste metal, predomina na córtex renal. Como consequência desta nefropatia, observam-se alterações na reabsorção de proteínas (proteinúria), glicose (glicosúria) e aminoácidos (aminoacidúria). A proteinúria se caracteriza pela maior excreção de proteínas de baixo peso molecular, na urina (SHAIKH & SMITH, 1984; GOYER, 1986).

Segundo FRIBERG e colaboradores (1974), a proteinúria induzida geralmente para as pessoas expostas ocupacionalmente ao cádmio é de caráter irreversível. BERNARD & LAUWERYS (1984), sugerem que a proteinúria e o enfisema pulmonar atribuídos no passado ao chumbo, provavelmente também foram causados pelo cádmio.

Outro aspecto importante do cádmio é quanto à via de eliminação, pois devido seu potencial tóxico cumulativo nos organismos, somente pequenas quantidades absorvidas serão excretadas. Esta excreção ocorre principalmente pela via urinária, sendo que em importante fração da urina o cádmio encontra-se ligado à proteínas, provavelmente as metalotioneínas (BERNARD & LAUWERYS, 1984).

Alguns trabalhos relatam, que em indivíduos com disfunções renais o aumento das metalotioneínas na urina é significativo (SHAIKH & SMITH,

1984; GOYER, 1986). Verifica-se também nos estudos com animais submetidos ao cádmio, que as concentrações das metalotioneínas aumentam em muitos órgãos, particularmente no fígado e rins (KOTSONIS & KLAASSEN, 1978; NISHIMURA et al., 1990; WAALKES et al., 1992; WHO, 1992a).

As metalotioneínas, são responsáveis pelo transporte e armazenamento de muitos metais (WHO, 1992a). São proteínas de baixo peso molecular (10.000-12.000 dáltons), ricas em resíduos de cisteína com particular característica de ligarem-se ao zinco, cobre, mercúrio, prata (HALLENBECK, 1984) e provavelmente com os íons do cádmio (JACOBSON & TURNER, 1980). A união do cádmio intracelular com as metalotioneínas sintetizadas nos tecidos, parece corresponder ao mecanismo de defesa desenvolvidos por certos organismos contra a toxicidade deste metal (BERNARD & LAUWERYS, 1984; WHO, 1992a).

O mecanismo da detoxificação do cádmio, ainda não é bem elucidado. No entanto, alguns trabalhos indicam que este mecanismo varia de acordo com a espécie estudada e em algumas observa-se maior resistência ao cádmio que outras (RAVERA, 1984).

Contribuindo nesta investigação, os estudos de WAALKES et al. (1988a) em camundongos de diferentes linhagens BALB/c (resistentes ao Cd) e NFS (suscetíveis ao Cd), indicam que os testículos destes animais são deficientes de metalotioneínas. Neste trabalho, verifica-se que o cádmio está ligado à proteínas, descritas pelos autores como "pequenas proteínas" ("low- M_r "). Estas proteínas não são as mesmas metalotioneínas encontradas no fígado destes animais, pois são formadas por sequências de aminoácidos diferentes.

Segundo estudos em ratos de GREGUS & KLAASSEN (1986), quando o cádmio está concentrado no fígado, a principal via de excreção é a biliar, podendo estar complexado à glutatona. Estes autores sugerem que a glutatona, funcione como um carregador das moléculas do cádmio, no transporte hepatobiliar.

No trabalho de WAHBA et al. (1990), os resultados mostram que a glutathiona intracelular é encontrada relativamente em altas concentrações nos testículos de ratos e camundongos, ao contrário do que é verificado em relação às metalotioneínas. A glutathiona (GSH), provavelmente desempenha importante função na proliferação e diferenciação das células espermatozóides, atuando quando na ausência de concentrações suficientes de metalotioneínas, na proteção imediata das células germinativas contra a toxicidade de compostos químicos (incluindo os metais) e radicais livres. Os autores enfatizam, a importância do metabolismo de compostos com grupos sulfidrilas (incluindo a glutathiona), nos possíveis mecanismos de tolerância desenvolvidos pelas células intersticiais testiculares à toxicidade do cádmio.

Recente trabalho de SHIRAISHI et al. (1995), em cultura de células obtida de tumores testiculares das células de Leydig em ratos (R2C), mostra que as metalotioneínas protegem e reduzem os efeitos genotóxicos do cádmio. De acordo com alguns estudos *in vivo*, sabe-se que as células de Leydig são alvos da carcinogenicidade do cádmio e admite-se as interações deste metal com o DNA. Os autores sugerem, que as proteínas às quais o cádmio se liga não seriam verdadeiras metalotioneínas.

Ainda, figuram entre os efeitos tóxicos do cádmio, as alterações no metabolismo do cálcio, como a hipercalcúria (WHO, 1992a), cálculos renais (WAALKES et al., 1992) e lesões ósseas (BERNARD & LAUWERYS, 1984).

Usualmente, as lesões nos ossos manifestam-se tardiamente como consequência do envenenamento severo e crônico ao cádmio. Neste caso, pode ocorrer o surgimento de fraturas espontâneas, osteoporose e osteomalacia (BERNARD & LAUWERYS, 1984).

Extrema manifestação destes efeitos tóxicos do cádmio, ocorreu em área endêmica, na comunidade do município de Toyama, ao norte do Japão, no período de 1939 a 1945. Este período marcou a II Guerra Mundial, onde

foi crescente a demanda por metais, associada com a total despreocupação na época pelas poluições e/ou contaminações nos rios (KOBAYASHI, 1970). Nesta região, os agricultores utilizavam água do rio (Jintsu) próximo à comunidade, para beber e irrigar as plantações de arroz, sua principal fonte de alimentação. Porém, a água estava contaminada por zinco, chumbo e cádmio, provenientes de uma mina próxima e que descarregava seus resíduos neste rio. A contaminação dos indivíduos, provocou uma doença conhecida com o nome de "Itai-Itai" e o elemento responsável, o cádmio, só foi reconhecido dez anos após a citada doença (McCAULL, 1971; ROBARDS & WORSFOLD, 1991).

Foram registrados inúmeros casos fatais e os indivíduos contaminados apresentavam fortes dores nos ossos, grande dificuldade em caminhar, múltiplas fraturas, glicosúria, proteinúria, aminoacidúria e severa osteomalacia (HAGINO, 1957; KOBAYASHI, 1970; MIYAHARA et al., 1980).

A síndrome "Itai-Itai", mostra claramente os efeitos deletérios do cádmio no homem. De acordo com alguns estudos provavelmente, as pessoas contaminadas também apresentavam deficiências nutricionais como carência de cálcio, ferro e vitamina D, contribuindo para a potencialização deste metal (BERNARD & LAUWERYS, 1984; WHO, 1992a). A pesquisa de WANG et al. (1994), menciona que possivelmente, a deficiência do cálcio na dieta é um dos principais fatores para a investigação etiológica da síndrome "Itai-Itai", até hoje não elucidada. E certamente, com o evento da II Guerra Mundial, esta população no Japão ficou deficiente de nutrientes contendo este elemento.

Os estudos até hoje prosseguem, na tentativa de se encontrar uma terapia eficiente à base de agentes quelantes, na prevenção do homem à toxicidade do cádmio (CANTILENA & KLAASSEN, 1982; KOJIMA et al., 1986; JONES et al., 1991; KOJIMA et al., 1992; KOJIMA et al., 1993).

A perspectiva de uma contaminação insidiosa e gradativa se torna ainda mais provável, quando lembra-se que o cádmio é eliminado muito lentamente do organismo, sendo sua meia-vida estimada em aproximadamente 25 a 30 anos no homem (FRIBERG et al., 1986). Assim, um contaminante presente em pequeníssima quantidade pode, através dos anos atingir níveis significativos (HALLENBECK, 1984). Como exemplo disso, pode-se citar o tabagismo (ROBBINS et al. 1991).

A magnitude do risco acarretado pelo tabagismo está correlacionada à exposição cumulativa (BERNARD & LAUWERYS, 1984). No entanto, outras variáveis podem estar envolvidas, como a idade de início do fumar, profundidade da inalação, exposição ocupacional concomitante ou fatores individuais como os genéticos, pouco esclarecidos ainda (ROBBINS et al., 1991).

Vários estudos, portanto, identificam no fumo outra perigosa via de contaminação pelo cádmio (WHO, 1992 a). Segundo YOST (1984), nos indivíduos fumantes que consomem 1 maço de cigarros por dia a concentração do cádmio chega a 2-4 µg.

LEWIS et al. (1972) e ELLIS et al. (1979), avaliando as concentrações do cádmio pelo número de maços de cigarros fumados no ano, revelam que os indivíduos fumantes acumulam aproximadamente 0,5 mg. E os fumantes inveterados, com idade entre 50-60 anos acumulam 2x mais cádmio que os não-fumantes (LEWIS et al., 1972; ELLIS et al., 1979; BERNARD & LAUWERYS, 1984).

As medidas das concentrações do cádmio no sangue demonstram também, que indivíduos fumantes apresentam índices maiores quando comparados aos não-fumantes (ULANDER & AXELSON, 1974; WAALKES et al., 1992).

Os estudos de SAARANEN e colab. (1989), através de análises das concentrações do cádmio no plasma seminal, mostram que os indivíduos fumantes apresentam níveis maiores deste metal em relação aos não-fumantes. Estes autores sugerem, que provavelmente não há barreiras efetivas para impedir a entrada deste elemento no sistema reprodutivo masculino, principalmente quando é verificada a sua concentração na circulação. Enfatizam também, a possibilidade de uma potencialização do cádmio à outros efeitos tóxicos, prejudicando na reprodução e fertilidade masculina.

Outra fonte de exposição do cádmio, é através de alimentos contaminados (WHO, 1992a). Os níveis do cádmio alcançados pela ingestão dos alimentos contaminados, usualmente, podem atingir níveis maiores que os verificados pelo hábito de fumar (VAN BRUWAENE et al., 1984).

A intoxicação aguda pelo cádmio, causada pela ingestão de alimentos contaminados é rara (WHO, 1992a). Porém, devido alguns hábitos alimentares e procedimentos agrícolas adotados em determinadas regiões, possivelmente, os níveis do cádmio nos indivíduos, pela ingestão de alimentos contaminados podem aumentar (VAN BRUWAENE et al., 1984). Eventualmente as concentrações do cádmio em muitos alimentos, aumentam também com as poluições ambientais (SHERLOCK, 1984).

Sendo assim, outra via de contaminação é na utilização de sedimentos que contenham o cádmio e empregados como fertilizantes (DAVIS, 1984). Desta maneira, os níveis deste metal aumentam nos solos (ROBARDS & WORSFOLD, 1991; WHO, 1992a). Também as aplicações de fertilizantes à base de fosfatos, contendo traços de cádmio, somada às poluições atmosféricas, são fontes importantes do aumento deste metal em terras cultivadas de algumas regiões. Conseqüentemente, a alimentação humana pelo consumo destes produtos agrícolas (especialmente vegetais) pode estar contaminada (DAVIS, 1984; VAN BRUWAENE

et al., 1984; ROBARDS & WORSFOLD, 1991; WHO, 1992a). Nos vegetais, a concentração do cádmio é maior nas raízes e grãos; nas folhas este metal é encontrado em menores quantidades (SHERLOCK, 1984).

Usualmente, em regiões contaminadas a ingestão do cádmio nos alimentos e água é estimada entre 10 a 50 μg / dia, porém estes níveis são substancialmente menores do que aqueles considerados tóxicos para os homens (SANDSTEAD, 1977). Por exemplo, o estudo de FRIBERG e colab. (1974), apresenta dados sobre a ingestão de alimentos e água na área endêmica do Japão, onde ocorreu o mais grave envenenamento ("Itai-Itai") por estas vias. Nos indivíduos contaminados, calcula-se que os níveis do cádmio aproximaram-se à 600 μg / dia e a concentração deste metal no arroz estimada em 1 μg / g.

De um modo geral, em regiões contaminadas a concentração do cádmio no homem é estimada entre 140-260 μg / dia (WHO, 1992a). Mesmo em nosso meio, encontramos trabalhos como de SAKUMA e colab. (1989), avaliando a concentração do cádmio em alimentos, através de análises toxicológicas para vários tipos de vegetais, crescidos em solos onde provavelmente houve acúmulo de metais.

Recente artigo de jornal (GUEDES, 1995), noticia resultados de estudos apresentados no "Simpósio Internacional de Envelhecimento e Performance Cerebral" e atestam à continuada preocupação com a contaminação por metais pesados (alumínio, chumbo, mercúrio e cádmio). Estes dados revelam, o alto grau de metais encontrado na água tratada do município do Rio e excesso de agrotóxicos com traços desses metais nas verduras e legumes, que podem provocar efeitos graves para a saúde da população. Destacam-se entre os efeitos a perda de memória, agressividade, angústia, mal de Alzheimer, psicoses, lesões renais, infertilidade e distúrbios do sistema nervoso central.

Ainda relacionado, aos perigos das contaminações alimentares, atualmente nota-se maior e especial interesse quanto à bioacumulação do cádmio

em organismos marinhos (RAY, 1984; WHO, 1992a). Certos organismos marinhos comestíveis de vida livre, como mariscos e crustáceos, são considerados acumuladores naturais do cádmio (RAY, 1984).

A crescente investigação da patobiologia do cádmio, através de estudos em roedores, demonstra que este elemento é um agente tóxico para uma grande variedade de tecidos e órgãos (FOULKES, 1990; GOYER, 1986; WAALKES et al., 1992). Sua toxicidade depende da concentração nestes órgãos (GUNN & GOULD, 1970).

Entre os órgãos investigados, os testículos de roedores revelaram-se extremamente suscetíveis ao cádmio induzido. Por exemplo, a administração de uma única e baixa dose do cádmio (0,01 mmol / kg) por via parenteral, produz necrose e total degeneração testicular em muitas espécies de ratos e camundongos (GUNN & GOULD, 1970).

Na investigação sobre a ação de várias drogas que afetam a espermatogênese, o cádmio é destacado como um agente antifertilizante (JACKSON, 1964). Neste mesmo enfoque, contribuem os trabalhos de FOX & FOX (1967), que confirmam os estudos de JACKSON (1964), assim como relatam os efeitos deletéricos do cloreto de cádmio sobre os testículos de outros animais.

Segundo SAKSENA e colab. (1977), a administração de uma única injeção subcutânea do $CdCl_2$, nas doses de 1mg e 5 mg / kg, em ratos albinos CD (360-440 g), resulta em significativa redução do peso testicular, epidídimo, vasos deferentes, próstata ventral e vesícula seminal. Observam-se após a dose de 5 mg do $CdCl_2$, a perda do libido e total esterilidade. Os autores sugerem, que o cloreto de cádmio não somente afeta a espermatogênese, mas também inibe a produção de andrógenos.

Ainda quanto à toxicidade do cádmio nos testículos de roedores, os efeitos dependem da linhagem estudada (WAALKES et al., 1988a). Os

estudos de GUNN et al. (1964), revelam que estes órgãos em algumas raças de ratos e camundongos são totalmente refratários ao cádmio.

GUNN & GOULD (1970), descreveram grandes alterações nos testículos de várias espécies de mamíferos, quando estes animais são submetidos ao cádmio. Porém, os estudos de CAMERON & FOSTER (1963), sobre os efeitos deste mesmo metal nos testículos de coelhos adultos (2-3 kg), os resultados foram irregulares e pouco representativos. Entre os sintomas da intoxicação pelo cádmio, os coelhos apresentaram perda de apetite e consequente diminuição do peso corporal. As doses testadas de 18 mg / kg (por via subcutânea) e 5 mg / kg (por via intravenosa), foram letais para esses animais. Colateralmente, foram avaliados estes resultados em ratos, os quais apresentaram-se mais uniformes e melhor definidos.

Destaca-se na pesquisa sobre a ação do cádmio nos testículos de ratos, o trabalho pioneiro de PARÍZEK & ZÁHOR (1956). Neste estudo o cloreto de cádmio, foi usado por via subcutânea em ratos adultos (\pm 300g). Foram notadas, profundas alterações testiculares de 2 a 4 horas após a administração do cádmio, como o edema intersticial, descamações celulares, núcleos picnóticos, cariorréxis e lise nuclear. Após 8 horas à administração do CdCl_2 , observa-se grande hemorragia. De 24 a 48 horas, todo o parênquima testicular sofreu severo dano, com colapso dos túbulos seminíferos, edema intersticial e pronunciada degeneração do epitélio seminífero. Verifica-se 12 dias após à dose inicial, total necrose dos tecidos testiculares.

Alguns trabalhos sobre a ação do cádmio nos testículos de roedores, como os de CHIQUOINE (1963) e GUNN e colab. (1963), relatam alterações vasculares nestes órgãos. Estes autores sugerem, que as alterações vasculares são de grande importância na avaliação das lesões testiculares. GUNN e colab. (1963), propõem ainda, que enzimas que normalmente atuam sobre o sistema vascular dos testículos e contribuem para a regulação termal destes, sejam

sensíveis ao cádmio. Paralelamente a este estudo, foram pesquisados animais que não têm os testículos alojados em bolsas escrotais, onde estas alterações não se verificam .

Outras pesquisas em camundongos albinos Swiss (CHIQUEINE, 1964) e em ratos Wistar (MASON et al., 1964), revelam que o cádmio causa edema intersticial e necrose isquêmica secundária do epitélio germinativo. Segundo estes autores, o cádmio altera a permeabilidade capilar do endotélio testicular em roedores. A isquemia resultante das alterações vasculares, causa compressão aos vasos sanguíneos intersticiais e desta maneira, produz necrose nos túbulos seminíferos. O trabalho em ratos da linhagem CD de AOKI & HOFFER (1978), informa que todas as mudanças fisiológicas e bioquímicas observadas nos testículos destes animais, provavelmente, são ocasionadas pela isquemia e sugerem a ação direta do cádmio nestes órgãos.

A toxicidade do cádmio foi testada também por GOUVEIA (1988), em ratos Wistar, adultos-jovens (190-250 g). O cádmio sob forma de cloreto de cádmio (CdCl_2), foi injetado intraperitonealmente na dose de 1 mg / ml (p / v). Observa-se, severo edema intersticial e alterações nos túbulos seminíferos, 24 horas após a citada dose. Passados 14 dias à administração do cádmio verifica-se, atrofia testicular, necrose dos túbulos seminíferos, espessamento do interstício e fibrose , trombose em alguns vasos intertubulares e a túnica albugínea espessada. Possivelmente, a hipóxia ocasionada pela trombose ou compressão da vasculatura peritubular, altera a permeabilidade dos tecidos testiculares e pode ser responsável ainda, pela necrose do epitélio seminífero. Baseado nestes resultados, o autor sugere que a microcirculação nos testículos de ratos é sensível aos efeitos fisiopatológicos do cádmio.

Segundo os estudos de HEW e colab. (1993), o CdCl_2 na dose única de 1,0 mg / kg provoca alterações na espermiacão de ratos Sprague-Dawley.

Entre as células do epitélio testicular, as mais afetadas foram as células de Sertoli do estágio VIII da espermatogênese, sugerindo sensibilidade à ação do cádmio. E provavelmente, as alterações verificadas nestas células afetam a consequente liberação dos espermatozóides para o lúmen do túbulo seminífero.

Inúmeras hipóteses têm sido propostas, a fim de tentar esclarecer o(s) mecanismo(s) através do qual o cádmio, provavelmente, induz à atrofia testicular. Inclui-se nestas hipóteses resultados como: hemorragias, edemas, necroses, isquemias, hipóxias, aumento da permeabilidade vascular, ação direta do cádmio nos testículos, etc. Mas, segundo AOKI & HOFFER (1978), não há um consenso no que diz respeito ao mecanismo preciso da ação fisiopatológica do cádmio nos testículos. De acordo com os resultados acima citados, estes autores sugerem que as lesões do endotélio testicular em ratos ocasionadas pelo cádmio, são provavelmente em consequência de todos estes eventos interdependentes, que acontecem numa sequência precisa.

Alguns trabalhos sobre a ação do cádmio, dizem respeito às investigações deste elemento como mais um possível agente carcinogênico, devido ao extraordinário efeito citotóxico (GUNN & GOULD, 1970). Entretanto, o termo "carcinogênico" é passível de discussão, pois muitas vezes ele se baseia em estudos epidemiológicos e em animais de relevância discutível (ROBBINS, 1991).

A ação carcinogênica do cádmio em órgãos reprodutivos de roedores também foi investigada. De acordo com estudos em ratos e camundongos de HADDOW e colab. (1964), após 10 semanas às aplicações de sulfato de cádmio por injeções subcutâneas, observam-se nestes locais o aparecimento de sarcomas. Também, ocorrem hiperplasia e neoplasia nas células de Leydig (adenomas) e atrofia testicular.

Em estudos experimentais, sobre os efeitos carcinogênicos dos metais, SUNDERMAN (1977) menciona que uma simples injeção de cloreto de

cádmio, provoca o desenvolvimento de Leydigomas em 80% dos ratos investigados, após 1 ano à aplicação. Os tumores nas células de Leydig induzidos pelo cloreto de cádmio, parecem ser endocrinologicamente funcionais.

Pelos estudos de WAALKES e colab. (1988b) em ratos Wistar, observam-se adenomas nas células de Leydig, que estão provavelmente associados com a crônica degeneração dos testículos, induzidas pelo cádmio. Os autores sugerem ainda, que o CdCl_2 induz lesões pré-neoplásicas na próstata nestes animais. Neste trabalho, uma única injeção do cloreto de cádmio e o aparecimento neste local de sarcoma, confirma os estudos de HADDOW e colab. (1964).

Outro estudo de WAALKES e colab. (1989), utilizando o tratamento concomitante com o acetato de zinco, os efeitos carcinogênicos do CdCl_2 nos testículos de ratos Wistar são modificados. Porém a incidência de tumores de próstata aumenta significativamente. Os resultados de WAALKES e colab. (1991), indicam que possivelmente uma dieta deficiente em zinco aumenta os efeitos carcinogênicos do CdCl_2 .

Baseados em estudos epidemiológicos relacionados a metais, são destacados o níquel, crômio, arsênico e cádmio como prováveis carcinógenos para o homem quando associados às exposições ambientais e ocupacionais (SUNDERMAN, 1977 e 1978; WAALKES et al., 1992).

A ação hipotética carcinogênica do cádmio é pouco conhecida e certamente complexa (WAALKES et al., 1992), porém ele é implicado como agente carcinogênico de próstata no homem (KIPLING & WATERHOUSE, 1967; SUNDERMAN, 1977). No ano de 1979 (IARC, 1979) e em 1987 (IARC, 1987), o Centro Internacional de Pesquisa sobre o Câncer ("International Agency for Research on Cancer"), considerou como suficientes as evidências do cádmio à carcinogenicidade em animais de laboratório. No entanto, as observações feitas nos

seres humanos ainda são limitadas; pois os resultados baseiam-se na grande maioria dos casos, em pesquisas epidemiológicas de difíceis interpretações.

Os estudos experimentais, nos órgãos reprodutores enfocando a ação tóxica do cádmio por tratamentos isolados, são bem conhecidas. Ao contrário pouco se sabe das interações deste metal com outros metais ou agentes não-metálicos, requerendo uma maior investigação dos possíveis mecanismos que reforçam ou diminuem a ação conjunta (WAALKES et al., 1992).

O estudo da ação sinérgica do chumbo e cádmio, p. ex. em órgãos reprodutores de ratos Sprague-Dawley de DER e colab. (1976), comprovam o reforço na ação conjunta destes metais. Neste estudo, a administração intraperitoneal de acetato de chumbo nas doses de 50 ou 250 $\mu\text{g} / \text{kg}$, não provoca alterações histológicas. Os grupos tratados apenas com o cloreto de cádmio, nas doses de 50 ou 250 $\mu\text{g} / \text{kg}$, também não ocasiona alterações. No entanto, o tratamento simultâneo do cádmio com o chumbo em doses menores de 25 $\mu\text{g} / \text{kg}$ cada uma, provoca aspermatogênese e aparente aumento do tamanho dos túbulos seminíferos.

Também na pesquisa teratogênica com hamsters, o estudo de FERM (1969), revela interessante exemplo da interação do chumbo com o cádmio, nas malformações fetais. Segundo OEHME (1979), há poucas evidências na literatura científica, de que o cádmio seja um agente teratogênico para o homem.

Nos estudos de FAHIM & KHARE (1980) em ratos Sprague-Dawley, a administração simultânea do acetato de chumbo (0,025 mg / kg) e cloreto de cádmio (0,075 mg / kg) em injeções intraperitoneais diárias, durante um mês, mostram que cerca de 90% dos túbulos seminíferos apresentam alterações morfológicas. Porém as células intersticiais, mostram-se resistentes à esta dose. Na próstata, a substituição do epitélio colunar por escamoso, sugere alteração pré-

cancerosa progressiva, devido à redução do suprimento androgênico ocasionada pela diminuição do fluxo sanguíneo.

Em recentes estudos sobre investigação de metais implicados na infertilidade masculina (OLDEREID et al., 1993), foram avaliadas as concentrações de chumbo, cádmio e zinco nos tecidos reprodutivos de órgãos masculinos humanos (testículos, epidídimo, próstata e vesículas seminais), removidos por necrópsia. Neste estudo, também foram analisadas as exposições ocupacionais e ambientais (rural / urbana), assim como a idade (18-80, média 40 anos) dos indivíduos. Os resultados revelam, que as concentrações destes metais estão presentes em todos os órgãos reprodutivos examinados, porém em diferentes concentrações. Sendo que, o epidídimo e a vesícula seminal, continham as mais altas concentrações do cádmio. E os testículos e próstata, apresentaram maiores concentrações do zinco. Em todos os indivíduos examinados, as análises confirmam que as concentrações do cádmio aumentam com o avanço da idade. Porém, as concentrações do cádmio nos tecidos reprodutivos não tiveram influências quanto às exposições ambientais ou ocupacionais. Segundo estes autores, o envolvimento destes metais não fornece dados significativos para implicá-los na etiologia da infertilidade masculina ou gênese das neoplasias glandulares.

Em relação aos produtos terapêuticos, o paracetamol mostra-se um exemplo bem atual para se estudar o efeito de uma droga vendida sem prescrição médica que é, portanto, pouco controlada quanto ao seu uso (HONGSLO et al., 1993; THOMAS, 1993; BRUNBORG et al., 1995; WIGER et al., 1995).

O paracetamol ($C_8H_9NO_2$), é um derivado do para-aminofenol (FLOWER et al., 1983). Os principais efeitos farmacológicos, que justificam seu uso terapêutico, são o analgésico e o antipirético, cuja ação se faz sentir rapidamente (ZANINI & OGA, 1989). A atividade antipirética do paracetamol, reside em sua

estrutura amino-benzênica. Também este fármaco tem atividade antiinflamatória, porém o efeito é fraco e clinicamente pouco usado (FLOWER et al., 1983).

O paracetamol pode ser conhecido também com os nomes de: acetaminofen; 4'-Hidroxiacetanilida; *N*-Acetil-*p*-aminofenol; *N*-(4-Hidroxifenil) acetamida; 4-acetaminofenol; 4-acetamidofenol (FLOWER et al., 1983; MARTINDALE, 1989; THOMAS, 1993). É vendido sob muitas marcas registradas, p. ex. Tylenol[®] (Johnson & Johnson) e incluindo várias formas de apresentações comerciais como p. ex. comprimidos ou gotas (FLOWER et al., 1983).

Os medicamentos analgésicos, antipiréticos e antiinflamatórios, representam um grupo heterogêneo de compostos, frequentemente não relacionados quimicamente; embora em sua maioria sejam ácidos orgânicos. No entanto, estes medicamentos compartilham igualmente de certas ações terapêuticas e efeitos colaterais. O protótipo é a aspirina e por esse motivo, estes compostos são frequentemente denominados como "substâncias semelhantes à aspirina" (FLOWER et al., 1983).

O paracetamol, foi primeiramente utilizado em terapêutica por von Mering em 1893. Entretanto, ganhou popularidade na medicina a partir de 1949, após ser reconhecido como principal metabólito ativo tanto da acetanilida quanto da fenacetina. Tem estado disponível sem prescrição desde 1955 (FLOWER et al., 1983; THOMAS, 1993).

Segundo GOODMAN et al. (1983), muitos metabólitos resultantes da biotransformação das drogas (como o paracetamol) têm atividade farmacológica similar ou diferente da molécula que lhes deu origem. Também estes metabólitos, muitas vezes podem ser mais ativos do que a molécula original (que pode ser designada como uma pró-droga).

Os chamados analgésicos de carvão ativado, como a fenacetina e seu metabólito ativo o paracetamol (FLOWER et al., 1983), são

alternativas eficientes para a aspirina (BARKER et al., 1977). A aspirina (ácido acetilsalicílico) é uma medicação altamente tóxica com um potencial de lesão significativo, porém é vendida também sem prescrição médica. Constituiu, em épocas passadas, importante causa de envenenamento grave, às vezes fatal em crianças (ROBBINS et al., 1986, 1991). O paracetamol é substituto apropriado para a aspirina, em pacientes nos quais os salicilatos estão contra-indicados (p. ex. portadores de úlcera péptica). Normalmente o paracetamol é bem tolerado e tem efeitos colaterais moderados, apresentando menos toxicidade que a aspirina, sendo também preferido à fenacetina (FLOWER et al., 1983).

Atualmente, o paracetamol é um dos mais populares entre os analgésicos alcançando posição de "analgésico de uso doméstico". É utilizado sem receita médica na maioria dos países do mundo (ROBBINS et al., 1991; WIGER et al., 1992; THOMAS, 1993; HONGSLO et al., 1994; BRUNBORG et al., 1995). Habitualmente o paracetamol é bastante seguro, pois para adultos a diferença entre a dose terapêutica usual (0,5 g / kg) e a dose tóxica (10 a 25 g / kg) é bem grande (FLOWER et al., 1983; ROBBINS et al., 1991).

Entretanto o uso deste medicamento em doses excessivas, pode causar em alguns indivíduos reações adversas, sobrepondo aos seus benefícios terapêuticos (ZANINI & OGA, 1989). Entre as reações adversas do paracetamol, são descritos alguns casos de hipersensibilidade à droga, erupções cutâneas e outras reações alérgicas (FLOWER et al., 1983). Porém, o efeito adverso mais grave do paracetamol na superdosagem é a necrose hepática (dose-dependente), potencialmente fatal (FLOWER et al., 1983).

Em adultos, a hepatotoxicidade pode ocorrer após ingestão de uma única dose de 10 a 15 g do paracetamol, sendo potencialmente letal uma dose de 25 g ou mais (FLOWER et al., 1983; ROBBINS et al., 1991).

A hepatotoxicidade, pode precipitar o aparecimento de icterícia, alterações na coagulação e progredir para encefalopatia (PRESCOTT et al., 1971), coma e morte (PRESCOTT et al., 1971; FLOWER et al., 1983). Observa-se ainda, indícios concomitantes de lesão renal, com registros de necrose tubular (FLOWER et al., 1983; THOMAS, 1993). Em alguns casos na dose tóxica do paracetamol, observam-se anormalidades no metabolismo da glicose, assim como acidose e alcalose metabólicas (FLOWER et al., 1983; MARTINDALE, 1989). Em raros casos relata-se anoxia e edema cerebral (DIXON, 1976); depressão miocárdica inespecífica (FLOWER et al., 1983; MARTINDALE, 1989); hipotensão arterial e arritmia cardíaca (DIXON, 1976).

A hepatotoxicidade potencial do paracetamol pode ser aumentada com a ingestão crônica e excessiva de álcool (BARKER et al., 1977; HAWTON & FAGG, 1992), devido a redução da capacidade metabólica do fígado (FLOWER et al., 1983). Os efeitos tóxicos do paracetamol podem também aumentar com a administração simultânea de várias drogas (HARVEY & SPOONER, 1978), p. ex. barbitúricos (PRESCOTT et al., 1971) e alguns produtos químicos (BARKER et al., 1977; ROBBINS et al., 1986).

Recentes trabalhos relatam o crescente consumo do paracetamol em vários países (HONGSLO et al., 1993; BRUNBORG et al., 1995; GREENWALD, 1996). Registram-se muitos casos acidentais de envenenamentos por doses excessivas do paracetamol em crianças, sendo em alguns fatais (MEREDITH et al., 1978; TRINKOFF & BARKER, 1986). Nos últimos anos observa-se também, que o número de auto-envenenamentos e principalmente suicídios por doses maciças do paracetamol, cresceu de modo alarmante em adolescentes (BARKER et al., 1977; HARVEY & SPOONER, 1978; TRINKOFF & BARKER, 1986; HAWTON & FAGG, 1992; MYERS et al., 1992; THOMAS, 1993).

As investigações farmacocinéticas do paracetamol, demonstram que este medicamento é rápida e quase completamente absorvido a partir do trato gastrointestinal. Após doses terapêuticas, atinge o máximo de sua concentração no plasma de 30 a 60 minutos e sua meia-vida é estimada entre 1 a 4 horas (PRESCOTT et al., 1971; FLOWER et al., 1983; MARTINDALE, 1989). O paracetamol é relativamente distribuído de modo uniforme, através da maior parte dos líquidos corporais (FLOWER et al., 1983).

Alguns estudos revelam que o paracetamol atravessa também facilmente a placenta (THOMAS, 1993). No entanto, não há evidências na literatura, deste medicamento ser um agente teratogênico para o homem (NELSON & FORFAR, 1971; RIGGS et al., 1989). Segundo o estudo de RIGGS e colab. (1989), o paracetamol é frequentemente receitado como analgésico em doses terapêuticas para pacientes grávidas.

Normalmente, o paracetamol nas doses terapêuticas é metabolizado primariamente pelos sistemas enzimáticos dos peroxissomos hepáticos. O retículo endoplasmático hepático contém grupos importantes de enzimas oxidativas denominadas oxidases de função mista, que catalisam a maior parte das reações químicas das drogas (p. ex. conjugações, oxidações). Também essas enzimas participam na biotransformação de muitas drogas e podem ocorrer em outros órgãos como o rim e epitélio gastrointestinal (GOODMAN et al., 1983).

Nas doses terapêuticas, a maior parte do paracetamol ingerido (cerca de 80%) é excretado após conjugação hepática com o ácido glicurônico e sulfatos (JOLLOW et al., 1974). Nestas doses, cerca de 4% do paracetamol é excretado livre de conjugação (PRESCOTT et al., 1971). No entanto, outra pequena parte do paracetamol (menos de 5%), é convertida via citocromo P-450 combinado à ação das oxidases hepáticas de função mista (alquilação), a um metabólito intermediário reativo *N*-acetil-*p*-benzoquinona imina (NAPQI) (MITCHELL et al.,

1974). Segundo POTTER & HINSON (1987), outra via alternativa é a oxidação do paracetamol para *N*-hidroxiparacetamol (ou 3,4 epoxiparacetamol) com subsequente desidratação para NAPQI ou com a oxidação direta de 2-elétrons para NAPQI.

Estes metabólitos (NAPQI) também podem ser rapidamente transformados em conjugados não-tóxicos, ligando-se à cisteínas e ácido mercaptúrico (JOLLOW et al., 1974). Subsequentemente, esses conjugados são excretados na sua maior parte pela urina e em menor quantidade pela bile (THOMAS, 1993).

Mais comumente, nas doses terapêuticas do paracetamol, os metabólitos reativos (NAPQI) formados, são detoxificados pela combinação com a glutathiona hepática (ROBBINS et al., 1991), sendo facilmente excretado sob forma de 3-(glutathiona-S-il)-paracetamol (MYERS et al., 1992). Porém, sabe-se que a glutathiona tem suprimento limitado no fígado e rins. Sendo assim, quando grandes quantidades do paracetamol são ingeridas a glutathiona é depletada. Desta maneira, o paracetamol sob forma do metabólito eletrófilo reativo (NAPQI) ou epóxido, pode atingir concentração suficiente para reagir com os constituintes celulares. Sobrevém a necrose hepática ou renal (GOODMAN et al., 1983; ROBBINS et al., 1991; MYERS et al., 1992; THOMAS et al., 1993).

Em relação as crianças, sabe-se que elas apresentam diferenças na metabolização do paracetamol, pois têm menos capacidade para glicuronização da droga que os adultos (FLOWER et al., 1983). Portanto, quando doses excessivas são ingeridas por crianças, principalmente de maneira acidental, o paracetamol sofre *N*-hidroxilação seguida de desidratação espontânea para formar o metabólito reativo NAPQI, que é geralmente responsável pela hepatotoxicidade (MEREDITH et al., 1978).

A base bioquímica do mecanismo hepatotóxico do paracetamol foi amplamente estudada em animais de laboratório, por Mitchell e colaboradores

(MITCHELL et al., 1973a, b; JOLLOW et al., 1973; POTTER et al., 1973; MITCHELL et al., 1974). De acordo com estes estudos, observa-se que após doses excessivas do paracetamol, alguns metabólitos reativos permanecem livres de conjugação. Estes metabólitos ligam-se então de forma covalente e irreversivelmente às proteínas de membranas (principalmente a grupos cisteína disponíveis) dos hepatócitos, causando a destruição destas células e subsequente lesão do órgão.

Os estudos experimentais de JOLLOW et al. (1973) e POTTER et al. (1973) sobre a citotoxicidade do paracetamol informam, que os danos hepáticos são proporcionais à extensão das ligações covalentes do metabólito (NAPQI) aos constituintes celulares, ocorrendo entre 1 a 2 horas após as doses tóxicas. O trabalho de MITCHELL et al. (1973b) em camundongos, revela que estes danos ocorrem quando a glutathione é depletada de 20 a 30% dos seus valores normais. Além disso, a velocidade de biotransformação deste medicamento nas diversas linhagens e espécies, pode ser variável em relação à suscetibilidade dos animais ao paracetamol (JOLLOW et al., 1974).

O mecanismo da hepatotoxicidade do paracetamol foi também investigado por HOLME & JACOBSEN (1986). Estes autores dão ênfase às ligações covalentes dos metabólitos reativos (NAPQI) às macromoléculas dos hepatócitos. Provavelmente, a oxidação (alquilação) de grupos tióis das enzimas hepatocitárias, em particular as Ca^{2+} -translocases, podem representar a alquilação das moléculas vitais, ocasionando desta forma distúrbios na homeostase do Ca^{2+} e a consequente morte celular. Além disso, possivelmente as diferentes espécies por fatores endógenos, devem desenvolver mecanismos metabólicos específicos à toxicidade do paracetamol.

Verifica-se também pelos estudos de RAY e colab. (1990), que as doses tóxicas do paracetamol (600 mg / kg) em camundongos Swiss (NIH), podem ativar os processos catabólicos cálcio-dependentes no fígado, incluindo a

degradação de fosfolipídios, proteínas e fragmentação do DNA. Possivelmente, a dose excessiva do paracetamol, pode causar uma diminuição na homeostase do cálcio, ocorrendo a ruptura do citoesqueleto e do DNA, com a consequente morte celular.

No trabalho de HINSON e colab. (1990) em seres humanos, foi evidenciada através de imunoenaios, a ligação intracelular do metabólito reativo (NAPQI) a grupos de macromoléculas contendo cisteína. A hepatotoxicidade do paracetamol, foi avaliada pelo aumento da concentração no soro de proteínas 3-(cisteína-S-il)-paracetamol. Os resultados deste trabalho, confirmam os estudos de MITCHELL e colab. (1974), podendo também ser proveitosos para o diagnóstico da hepatotoxicidade.

A descoberta de que a disponibilidade da glutathiona determina o limiar para a resposta tóxica (GOODMAN et al., 1983), levou a medicina terapêutica a utilizar alguns precursores da glutathiona (p. ex. L-cisteína, L-metionina, *N*-acetil-cisteína, etc.), no tratamento das intoxicações provocadas pelo paracetamol (THOMAS, 1993). Estes compostos sulfidrílicos agem, em parte, para a restauração das reservas hepáticas da glutathiona no homem. Nos animais a ação é protetora (GOODMAN et al., 1983).

Entre os métodos de tratamento mais eficazes, destaca-se o uso da *N*-acetil-cisteína (NAC) (MYERS et al., 1992; THOMAS, 1993). Também nos casos de intoxicações graves pelo paracetamol, devem ser instituídos prontamente alguns procedimentos para limitar a absorção continuada da substância, como p. ex. a indução de vômitos ou lavagem gástrica (FLOWER et al., 1983).

Lesões extrahepáticas pelas superdosagens do paracetamol, em animais experimentais, revelam que outros órgãos além do fígado e rins podem ser afetados pelos efeitos citotóxicos deste medicamento (PLACKE et al., 1987; HONGSLO et al., 1994).

Nos estudos de PLACKE e colab. (1987) em camundongos submetidos ao paracetamol na dose única de 600 mg / kg verificam-se nefrose, necrose do epitélio bronquiolar, alterações testiculares e áreas necrosadas no tecido linfóide. Nos testículos observam-se, degenerações de espermátides e presença de células gigantes. Estes resultados, demonstram os efeitos necrogênicos do paracetamol em outros tecidos, paralelamente à hepatotoxicidade.

Alterações na espermatogênese, também foram observadas em camundongos tratados com injeções intraperitoniais, de paracetamol (400mg / kg) ou hidroxauréia (200 mg / kg), no trabalho de WIGER e colab. (1992). Provavelmente, estes dois compostos provocam uma inibição específica na síntese de replicação do DNA, nos testículos.

WIGER e colab. (1995), relata que as doses tóxicas do paracetamol (400 mg / kg), podem causar atraso na espermatogênese de camundongos. Observam-se também alterações celulares em vários estádios da espermatogênese, diminuição no número de espermátócitos tetraplóides (fase paquíteno), espermatozóides com maior suscetibilidade à denaturação e redução do peso testicular. Nos testículos destes animais, verifica-se que a quantidade da glutathiona não diminuiu, nem aumentaram as ligações covalentes do metabólitos (NAPQI) aos constituintes celulares. Estes autores consideram a possibilidade de outra via alternativa de metabolização do paracetamol nos testículos.

Segundo DIXON & LEE (1980) nos testículos, provavelmente, muitos fatores podem modificar a toxicidade das drogas. Incluem-se nestes fatores, os parâmetros farmacocinéticos de absorção, distribuição, ativação, detoxificação, ligações covalentes com macromoléculas e reparo do DNA. Os processos de toxificação e detoxificação, podem ocorrer tanto no epitélio seminífero como nos compartimentos intersticiais do testículo. O reparo do DNA possivelmente está

associado à capacidade das células espermatozóides se tornarem resistentes à droga.

A avaliação do efeito genotóxico do paracetamol nas doses terapêuticas, também foi estudada *in vivo*, em linfócitos humanos por HONGSLO e colab. (1991). Este estudo revela um aumento das frequências de cromátides-irmãs trocadas e quebradas, sugerindo ser esta uma das prováveis causas da genotoxicidade do paracetamol.

O estudo *in vitro* em células humanas demonstra que o paracetamol provoca inibição da ribonucleotídeo redutase (HONGSLO et al., 1993). Desta forma, o paracetamol indiretamente inibe a síntese de reparo do DNA; pela quebra de uma das fitas do DNA ("single strand breaks- SSBs"). Segundo os autores estes resultados, podem contribuir para as investigações citotóxicas e genotóxicas do paracetamol na espécie humana, demonstrando o efeito clastogênico deste medicamento, pela quebra da "SSBs" do DNA.

Outro estudo (HONGSLO et al., 1994) em camundongos (ICR) e ratos Wistar, tratados com paracetamol na dose de 300 mg / kg, propõe dois possíveis mecanismos para os efeitos tóxicos do paracetamol nas células do fígado, rins e baço. O primeiro mecanismo proposto (interação química direta), ocorreria pela ligação covalente do NAPQI ao DNA e causando desta maneira a inibição na síntese de replicação do DNA. O segundo (interação indireta), ocorreria na síntese de reparo do DNA. Provavelmente, estes mecanismos podem ocorrer também em outros órgãos, com pouca capacidade de metabolizar o paracetamol. Segundo os autores, estes mecanismos propostos podem ser importantes na investigação dos efeitos genotóxicos, citotóxicos e possivelmente carcinogênicos do paracetamol *in vivo*.

Alguns estudos relatam que altas doses tóxicas do paracetamol, podem induzir tumores no fígado de camundongos (FLAKS & FLAKS,

1983 apud BRUNBORG et al., 1995) e na bexiga de ratos (FLAKS et al., 1985 apud BRUNBORG et al., 1995). Entretanto, o Centro Internacional de Pesquisa sobre o Câncer considerou como limitadas as evidências da carcinogenicidade do paracetamol para animais e inadequadas para o homem (IARC, 1990).

Vários tipos de células de mamíferos, submetidas à agentes genotóxicos combinados ou não com o paracetamol foram investigadas por BRUNBORG e colab. (1995). De acordo com os resultados deste trabalho, provavelmente, o paracetamol inibe indiretamente o reparo do DNA que sofreu excisão de nucleotídeos, atrasando desta forma a divisão celular nos mamíferos.

A revisão da literatura evidencia, portanto, que cada substância pode exercer em diferentes organismos, além do efeito esperado, outros não desejáveis. Implicações clínicas podem ocorrer quando se utiliza doses excessivas de uma determinada substância ou simultaneamente vários princípios ativos (GOODMAN et al., 1983).

O uso simultâneo de drogas, conhecido como interação medicamentosa (ZANINI & OGA, 1989) é tema de grande importância nos dias atuais, em que o uso abusivo nas associações de drogas ainda se faz de forma indiscriminada.

1.5. Objetivos

Com estas considerações gerais e baseados nos dados da literatura específica, propomos com o presente trabalho analisar e avaliar os efeitos do cádmio (na forma de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e do paracetamol (sob forma de Tylenol[®] - gotas), nos testículos de ratos Wistar, submetidos a diferentes doses destas drogas em tratamentos isolados, além de verificar a possibilidade de uma potencialização das duas substâncias quando administradas em conjunto ou em série.

**MATERIAL E
MÉTODOS**

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material biológico.

No presente trabalho, foram estudados 44 ratos adultos-jovens, pesando $148 \pm 17,3$ g, da linhagem Wistar do sexo masculino, provenientes do Biotério Central da UNICAMP.

2.2. Procedimentos prévios.

Os animais foram aclimatados às condições de laboratório, em um período de ± 05 dias, antes do início dos experimentos e divididos ao acaso, em grupos de exposição.

Foram mantidos em gaiolas, com regime alimentar clássico de laboratório, com ração tipo PURINA e água potável *ad libitum*. A temperatura do laboratório foi medida durante todo o período experimental ($22 \pm 3^\circ\text{C}$) e a luminosidade foi natural.

2.3. Tratamentos.

Foram realizados 03 experimentos, com tratamentos distintos. Os animais de cada experimento, foram divididos em grupos de acordo com às dosagens de cada droga, assim como na associação destas. As drogas utilizadas foram o cloreto de cádmio hidratado ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), marca RIEDEL-DE HAËN AG e o paracetamol, na forma de TYLENOL[®]- gotas, fabricado por JOHNSON & JOHNSON. Em cada experimento foi usada uma dose.

2.3.1. Experimento 01.

No experimento 01, foram estudados 12 animais ($163 \pm 7,4$ g), distribuídos em 6 grupos. O $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, foi injetado por via subcutânea (dorso-lateral), em dose única ao primeiro dia. O paracetamol, foi administrado em 03 doses (em dias alternados) por via oral, gavagem. Os animais foram sacrificados, quando os tratamentos completaram 06 dias. O peso corporal, foi medido diariamente, durante o período experimental.

As doses foram distribuídas nos 6 grupos, da seguinte maneira:

Grupo 1 ($n = 2$), cloreto de cádmio a $15 \mu\text{mols} / \text{kg}$ do peso corporal;

Grupo 2 ($n = 2$), paracetamol a $8,8 \text{ mmols} / \text{kg}$;

Grupo 3 ($n = 2$), cloreto de cádmio a $15 \mu\text{mols} / \text{kg}$ + paracetamol a $8,8 \text{ mmols} / \text{kg}$;

Grupo 4 ($n = 2$), cloreto de cádmio a $7,5 \mu\text{mols} / \text{kg}$;

Grupo 5 ($n = 2$), cloreto de cádmio a $7,5 \mu\text{mols} / \text{kg}$ + paracetamol a $8,8 \text{ mmols} / \text{kg}$;

Grupo 6 ($n = 2$), animais controles que nada receberam.

2.3.2. Experimento 02.

No experimento 02, foram estudados 12 animais ($156 \pm 14,1$ g), divididos em 4 grupos. Ao primeiro dia, uma única dose de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ foi injetada nos animais por via subcutânea (dorso-lateral). O paracetamol foi administrado em 03 doses, por via oral, gavagem. Os animais foram sacrificados, quando os tratamentos completaram 03 dias. Durante o período experimental, diariamente os animais foram pesados. Após o sacrifício, o peso testicular dos animais foi aferido em balança analítica, marca MARTE. As doses nos 4 grupos, foram distribuídas da seguinte forma:

Grupo 1 (n = 3), cloreto de cádmio a $2,5 \mu\text{mols} / \text{kg}$ do peso corporal;

Grupo 2 (n = 3), paracetamol a $4,4 \text{ mmols} / \text{kg}$;

Grupo 3 (n = 3), cloreto de cádmio a $2,5 \mu\text{mols} / \text{kg}$ + paracetamol a $4,4 \text{ mmols} / \text{kg}$;

Grupo 4 (n = 3), animais controles que nada receberam.

2.3.3. Experimento 03.

No experimento 03, foram estudados 20 animais ($135 \pm 13,7$ g). Destes, um grupo de 16 animais foi submetido no primeiro dia a uma única dose de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a $10 \mu\text{mols} / \text{kg}$, injetado por via subcutânea (dorso-lateral). Os 04 animais restantes foram utilizados para controles e receberam também, ao primeiro dia uma dose única de $2 \text{ ml} / \text{kg}$ de soro fisiológico, por via subcutânea (dorso-lateral). Dois animais (um controle e outro tratado), foram sacrificados 08 dias após à dose citada acima. Após estes primeiros animais, os demais foram sacrificados a cada 05 dias. Este experimento teve a duração de 83 dias. O peso corporal dos animais, foi verificado diariamente. E o peso testicular foi verificado em balança analítica marca MARTE, no momento do sacrifício de cada animal.

2.4. Métodos.

Ao final de cada experimento, os animais foram anestesiados com éter etílico MERCK, sendo seus testículos avaliados quanto à forma e aspecto geral e posteriormente dissecados. Os testículos foram pesados e fixados em seguida. No presente trabalho foram utilizadas técnicas para a microscopia de luz comum.

2.4.1. Microscopia de Luz.

2.4.1.1. Fixação.

O fixador utilizado foi o Bouin, segundo as especificações de McMANUS & MOWRY (1960). Os testículos isolados, foram pré-fixados durante 06 horas. Após esse período, os testículos foram seccionados transversalmente na região mediana e retornaram à solução fixadora durante 24 horas. Completado esse período, as peças foram lavadas em álcool 70%, durante 24 horas.

2.4.1.2. Desidratação, diafanização e inclusão.

Todo o material foi desidratado em álcoois de concentrações crescentes. Foram diafanizados em dois banhos de xilol e incluídos em paraplast, segundo ROMEIS (1928) e BEHMER e colab. (1976). Na inclusão, os segmentos foram orientados para a obtenção de cortes histológicos transversais em relação ao eixo maior do testículo, levando-se em consideração a orientação dos túbulos seminíferos.

2.4.1.3. Microtomia, desparafinização e hidratação.

Na microtomia foram obtidos cortes de 6 µm de espessura, utilizando o micrótomo manual REICHERT-JUNG (modelo- 1130/Biocut). Os cortes foram distendidos em água a 40°C e montados em lâminas histológicas albuminizadas. Estas foram colocadas em estufa, mantendo a temperatura entre 58°C e 60°C, durante 06 horas, para remover a maior parte do meio de inclusão.

Através de 2 passagens (5 minutos cada uma) no xilol, os cortes foram desparafinizados. Em seguida, foram hidratados em álcoois de concentrações decrescentes e lavados por 5 minutos em água corrente.

2.4.1.4. Coloração, desidratação e montagem.

Os cortes foram submetidos à coloração com hematoxilina e eosina (HE) segundo LILLIE (1954), para estudos da espermiogênese. Após a coloração, foram desidratados em 3 banhos de etanol e 2 banhos no xilol. As lâminas contendo os cortes, foram montadas em Bálsamo do Canadá sintético.

2.4.2. Análise do material e obtenção de fotomicrografias.

As lâminas coradas com HE, foram analisadas em microscópio de luz, binocular CARL ZEISS. Foram fotomicrografadas em fotomicroscópios, ZEISS - modelo M35, ZEISS - modelo AXIOPHOTO e ZEISS - modelo JENAPOL. O filme utilizado para as fotomicrografias, foi Kodak TMX - 100.

2.4.3. Morfometria.

Os diâmetros dos túbulos seminíferos, foram avaliados em cortes histológicos corados pela técnica de hematoxilina-eosina (HE), dos animais dos experimentos 01 e 02.

O parâmetro utilizado para obtenção dos dados biométricos do diâmetro de túbulos seminíferos, foi obtido pela seleção de um corte transversal do testículo de cada animal, onde foram medidos 15 túbulos seminíferos com distribuição aleatória e disposição transversal, considerando a delimitação da lâmina basal dos mesmos. A partir das medidas obtidas dos diâmetros maior e menor, determinou-se o diâmetro médio dos túbulos seminíferos de cada animal.

O estudo morfométrico foi avaliado com o auxílio de uma ocular micrométrica-OSM da marca MICRONAL - OLYMPUS de escala móvel e aumento 16X (para objetos de 90 μ m a 1,6 mm) adaptada ao microscópio de luz da marca CARL ZEISS. Todas as medidas dos diâmetros de túbulos seminíferos, foram realizadas utilizando-se a objetiva de 10 vezes.

2.4.4. Análise estatística dos experimentos.

Às médias morfométricas individuais, foi aplicada a análise de variância segundo ZAR (1984), utilizando o programa SYSTAT (versão 5.03), para serem avaliadas as dimensões dos túbulos seminíferos nos experimentos 01 e 02, cujos animais submeteram-se a diferentes tratamentos.

RESULTADOS

3. RESULTADOS

3.1. Observações morfológicas.

Neste estudo o peso corporal dos animais foi medido na chegada destes e diariamente, durante os 03 experimentos. Antes da dissecação dos testículos estes órgãos foram avaliados quanto à forma e aspecto geral externo. Logo após a dissecação destes órgãos, foi feita a pesagem testicular.

O material foi observado pelos cortes histológicos de testículos, através da microscopia de luz. As observações que seguem limitam-se à descrição morfológica ou anatomopatológica da túnica albugínea, tecido intersticial, epitélio seminífero e vasos sanguíneos dos animais normais e submetidos a diferentes tratamentos.

3.1.1. Animais Controles.

Nos animais estudados que não se submeteram aos tratamentos, os testículos apresentaram forma ovóide. Nos experimentos 01 e 02 o peso testicular destes animais variou entre 1,20 g a 1,25 g e para os animais do experimento 03 de 1,24 g a 1,57 g (veja Tab. 5 e Gráf. 08).

A evolução do peso corporal dos animais controles está demonstrada pelos gráficos 01(exp. 01), 04 (exp. 02) e 07 (exp. 03), onde observa-se que estes animais ganharam peso de forma regular e gradual durante os 03 experimentos. Estes animais apresentaram comportamento normal, sem sinais de "stress", durante todos os 3 períodos experimentais.

Nos animais controles dos 03 experimentos, observam-se que cada testículo na superfície ântero-lateral é recoberta por uma membrana serosa

bastante fina, identificada como a camada visceral da túnica vaginalis. Esta camada adere como uma membrana lisa e brilhante à túnica albugínea (Figs. 1A, 1B e 2B).

A túnica albugínea é constituída por tecido conjuntivo denso (Figs. 1B e 2B), formando uma cápsula fibrosa. É rica em vasos sanguíneos, os quais podem ser vistos macroscopicamente no órgão recentemente dissecado devido à transparência da túnica vaginalis. A análise pela microscopia de luz revela, que a túnica albugínea em corte transversal nos animais normais, apresenta espessura fina (Figs. 1A e 1B).

O interior dos testículos não é dividido em compartimentos (Fig.1A), sendo o órgão preenchido totalmente por túbulos seminíferos (Figs. 1A a 1C, 2A e 2C). Estes túbulos são bastante contorcidos e por isso as observações feitas em cortes transversais, revelam formas variadas como mostra a Fig.1A. Os túbulos seminíferos são circundados por uma fina e contínua camada externa de células achatadas e matriz extracelular que constituem a lâmina basal (Fig.2A). Esta lâmina delimita os túbulos, formando o tecido peritubular.

O epitélio seminífero mostra-se estratificado, sendo constituído por dois tipos distinguíveis de células, as células de Sertoli (Figs. 2A, 8A e 8C) e as células espermatogênicas (Figs. 1D, 8A e 8C).

As células espermatogênicas são observadas em várias fases do processo de diferenciação (Figs. 1D, 2A, 8A e 8C), sendo as células mais imaturas localizadas perto da lâmina basal (Figs. 1D, 2A e 2C). As células mais maduras (ou mais diferenciadas), são encontradas próximas ao lúmen do túbulo seminífero (Fig. 1D).

No epitélio seminífero são identificadas várias camadas concêntricas de células, representando as gerações celulares em diferentes fases de desenvolvimento (Figs. 1D, 2A, 2C e 2D).

Não é elucidativo para este estudo caracterizar cada estágio da espermatogênese no rato, portanto, não foram identificadas as várias fases de diferenciação das células espermatogênicas no epitélio seminífero deste animal (consultar item 1.2). Salieta-se apenas que normalmente nos animais controles, observa-se grande variedade de células espermatogênicas em desenvolvimento. Em vários cortes transversais de túbulos seminíferos, são observados os diferentes estágios do ciclo do epitélio seminífero destes animais, como mostra a Fig. 1C.

As células de Sertoli observadas, estendem-se da lâmina basal até o lúmen do túbulo seminífero. Estas células são irregularmente prismáticas (Fig. 8C) com prolongamentos laterais e apicais, que se justapõem às células espermatogênicas adjacentes (Figs. 2A, 8A e 8C). Ao microscópio de luz, não é nítida a definição do tamanho e morfologia dos prolongamentos apicais e laterais. No corte transversal, visto na Fig. 8C, a célula de Sertoli pode ser nitidamente identificada, apresentando núcleo ovóide. Nos demais cortes, esta morfologia complexa e elaborada não pode ser vista claramente.

O espaço que circunda os túbulos seminíferos é preenchido por tecido intersticial (Figs. 1C, 1E, 2B e 2C), formado por tecido conjuntivo frouxo, associado em algumas regiões à vasos sanguíneos (Figs. 1C, 2B, 2C e 2D). Observa-se neste tecido células grandes, sendo identificadas como as células intersticiais ou Leydig (Fig. 2B, 2C e 2D). As células de Leydig ocorrem em grupos, apresentando tamanhos variáveis (Figs. 2B e 2D) com núcleos grandes e esféricos (Fig. 2D). No rato normal o tecido intersticial mostra-se esparsó (Figs. 1A, 1C, 2C e 2D).

PRANCHA N° 1 (Animais Controles)

Cortes histológicos de testículos de ratos com 6 µm de espessura, corados com HE e obtidos a partir de material incluído em paraplax.

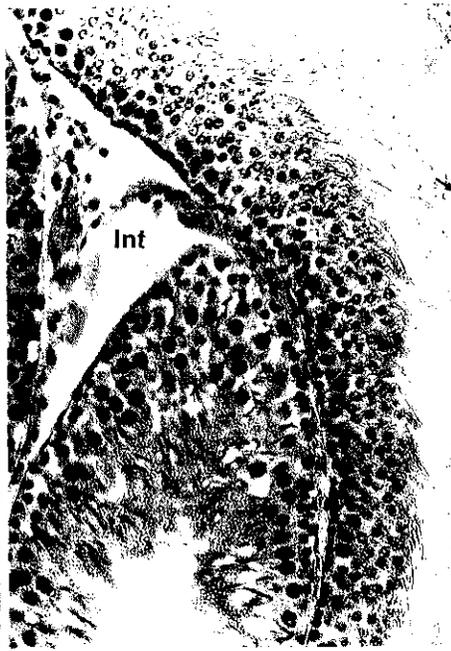
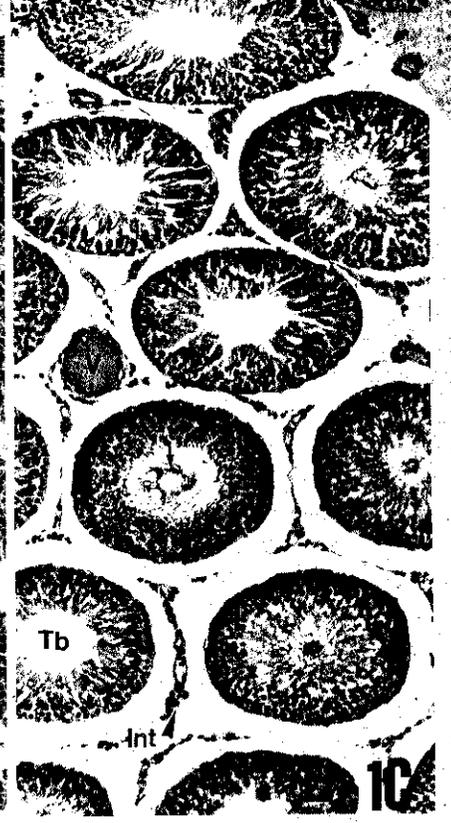
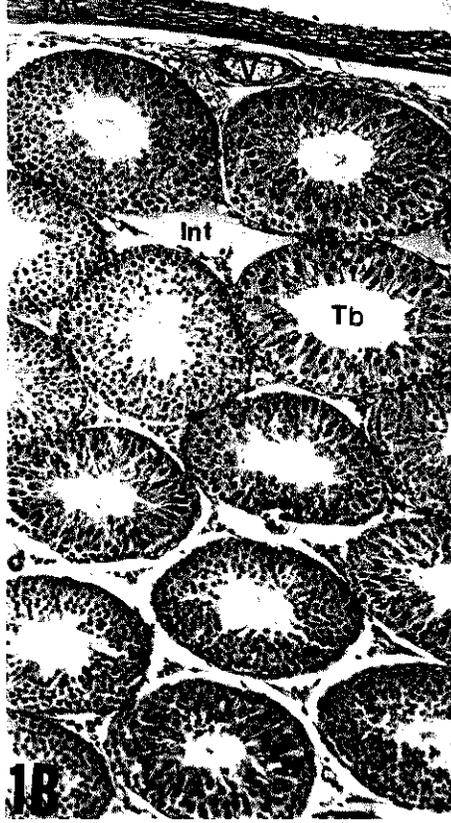
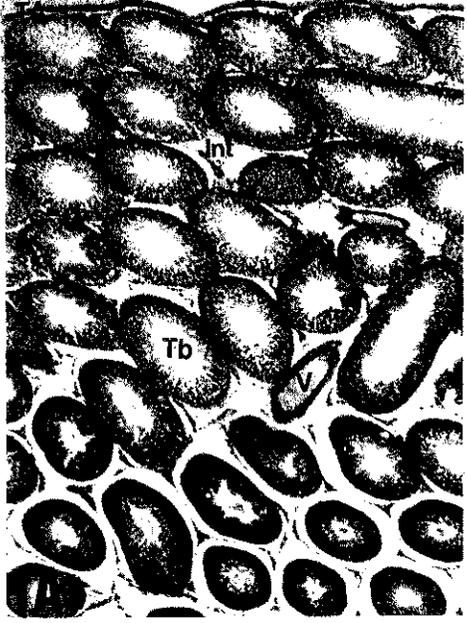
Figura 1A - Aspecto parcial do testículo de rato normal, mostrando a túnica albugínea (TA), o tecido intersticial (Int) que circunda os túbulos seminíferos (Tb) e presença de vaso sanguíneo (V). 51 X.

Figura 1B - Visão parcial dos túbulos seminíferos (Tb) próximos à túnica albugínea (TA), mostrando um vaso sanguíneo (V). Observa-se no espaço intersticial (Int) entre os túbulos seminíferos adjacentes a presença de pequenos grupos de células de Leydig. 110 X.

Figura 1C - Túbulos seminíferos (Tb) em corte transversal, mostrando vários estádios do ciclo do epitélio seminífero, em rato normal. No espaço intersticial pode-se notar um vaso sanguíneo (V) característico. A ponta de seta indica o tecido intersticial (Int), que é relativamente esparso neste animal. A seta menor (↓), indica as caudas dos espermatozóides no lúmen tubular em estágio final da maturação. 131 X.

Figura 1D - Visão parcial de um túbulo seminífero, mostrando as células espermatogênicas em diferentes fases de diferenciação. A seta maior indica as células espermatogênicas imaturas, próximas à lâmina basal. À medida que estas células sofrem diferenciação, movem-se em direção ao lúmen (L) do túbulo seminífero. Notar na seta menor (↓) as caudas dos espermatozóides no lúmen, lembrando uma disposição em turbilhão. 576 X.

Figura 1E - Secção longitudinal de túbulos seminíferos, mostrando sob outro ângulo as caudas dos espermatozóides (→) em direção ao lúmen tubular. Notar no canto superior esquerdo, o tecido intersticial (Int) circundando o túbulo seminífero adjacente. 256 X.



PRANCHA Nº 2 (Animais Controles)

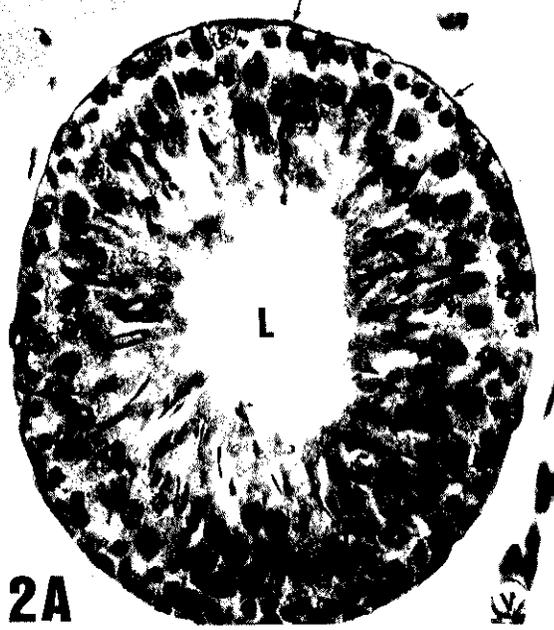
Cortes histológicos de testículos de ratos, com 6 µm de espessura e corados com HE.

Figura 2A - Secção transversal de um túbulo seminífero isolado onde observa-se o epitélio seminífero no rato, destacando o lúmen tubular (L). As setas maiores, indicam as células de Sertoli. As setas menores (↓), mostram a camada contínua de células que formam a lâmina basal, envolvendo todo o túbulo seminífero. No canto inferior direito nota-se a presença de um vaso sanguíneo (V) no interstício. 360 X.

Figura 2B - O exame desta figura revela a túnica albugínea (TA), constituída por tecido conjuntivo denso, formando uma cápsula fibrosa. Na face interna à túnica, indicado pela ponta de seta, este tecido dá lugar a outro mais frouxo, preenchendo assim todo o espaço intersticial (Int) entre os túbulos seminíferos. Notar no tecido intersticial presença de um vaso sanguíneo (V). 440 X.

Figura 2C - Corte transversal, mostrando dois túbulos seminíferos adjacentes em diferentes estádios, revelando o lúmen (L). O grupo de células intersticiais (C.Int) ou células de Leydig indicado pelas setas (↑), situam-se nos interstícios angulares destes túbulos. Nesta figura, pode-se notar que um vaso sanguíneo (V), foi cortado tangencialmente, devido sua posição no interstício. 180 X.

Figura 2D - Notar neste corte transversal, o tecido intersticial (Int) bem esparso e ocorrência de um vaso sanguíneo (V). 370 X.



3.1.2. Experimento 01.

Neste experimento foram estudados, 5 grupos de animais submetidos a diferentes tratamentos (veja Item 2.3.1), durante 06 dias. Paralelamente, foram estudados animais que nada receberam como controles, cujas análises morfológicas identificam-se com as descrições contidas no item 3.1.1. O peso testicular dos animais deste experimento não foi aferido. Segundo as observações diárias, todos os animais neste experimento alimentaram-se normalmente não apresentando alterações no comportamento ou sinais de "stress".

GRUPO 1 - Animais tratados com dose única de $CdCl_2 \cdot H_2O$ a 15 μ mol / kg.

Os testículos dos animais deste grupo, mostraram-se quanto à forma ovóides, porém com o aspecto externo hemorrágico. O Gráf. 01, mostra o desenvolvimento do peso corporal, onde observa-se que os animais deste grupo (Gr. 1), foram os que mais perderam peso (entre -08 a -17 g) em relação aos demais grupos de animais tratados e quando comparados aos animais dos grupos controles (C), que ganharam peso normalmente (+30 g).

Pela análise dos cortes histológicos, observa-se o espessamento da túnica albugínea (Figs. 3A e 3B) e presença de muitas células, possivelmente em processo de permição a este epitélio, conferindo-lhe desta maneira um aspecto bastante compacto (Fig. 3A, relacionar com 1B).

O tecido intersticial apresenta edema, com presença de muitas fibras (Fig. 3C). Observa-se também um aumento no número de células (hipertrofia numérica), neste tecido (Figs.3A e 3B).

O acúmulo de grandes quantidades de células no tecido intersticial como mostra as Figs. 3A e 3B, caracteriza um processo de infiltração inflamatória inespecífica. Nota-se na Fig. 3C, grande proliferação fibroblástica.

As alterações vasculares estão caracterizadas pela congestão dos vasos sanguíneos, que refletem a gravidade da lesão. Os vasos apresentam coágulos intraluminais (Fig. 3A). Observa-se no tecido perivascular edema e aumento do fluido intersticial (Fig. 3A).

Os túbulos seminíferos apresentam-se degenerados (Figs. 3A, 3B e 3C). A necrose é difusa no epitélio seminífero, sendo observada em todos os cortes analisados dos animais deste grupo .

As alterações morfológicas observadas no epitélio seminífero incluem, núcleos picnóticos (Figs. 3A, 3B e 3C) e fragmentação nuclear (cariorréxis) (Fig. 3C). O epitélio seminífero mostra-se, portanto, como um agregado de células multinucleadas (Fig. 3A). Morfologicamente os focos necróticos apresentam-se como restos amorfos (Fig. 3B), granulares (Fig. 3A), compostos de células coaguladas (Fig. 3C) com contornos básicos preservados, porém irregulares (Figs. 3A, 3B e 3C). Este quadro histológico observado em todos os animais deste grupo, pode ser classificado como necrose de coagulação.

GRUPO 2 - Animais tratados com 03 doses de paracetamol (PCML), cada uma a 8,8 mmols / kg.

Os animais do grupo 2 apresentaram testículos com forma ovóide e aspecto externo normal. O Gráf. 01, apresenta o desenvolvimento do peso corporal deste grupo (Gr. 2) e nota-se que os animais submetidos a esse tratamento ganharam peso (de +3 a +15 g) porém, apresentando menor ganho que os animais dos respectivos grupos controles (+30 g).

Pela observação microscópica nota-se que a túnica albugínea manteve o padrão morfológico normal (Figs. 3D e 3E, relacionar com 1B).

O tecido intersticial dos animais deste grupo, apresenta pequenas áreas com discreto edema focal (Fig. 3D).

As alterações vasculares observadas, localizam-se em vasos sanguíneos próximos à túnica albugínea, onde alguns apresentam coágulos intraluminais (Fig. 3E).

O epitélio seminífero apresenta padrões morfológicos normais, quando comparados aos animais dos grupos controles (Figs. 3D e 3E, comparar com 1B).

GRUPO 3 - Animais tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ na dose única de 15 μmol / kg + 03 doses de PCML, cada uma a 8,8 mmols / kg.

Os animais do 3º grupo apresentaram os testículos de forma ovóide com aspecto externo hemorrágico. A análise do Gráf. 01, revela que os animais deste grupo de tratamento (Gr. 3) tiveram perda de peso (-10 a -12 g) ao contrário do que se verificou com os animais dos grupos controles (+30 g).

Pela análise microscópica da túnica albugínea, observa-se um crescimento celular exagerado (hipertrofia), evidenciando morfológicamente um aspecto compacto (Figs. 4A e 4B, relacionar com 1B).

O tecido intersticial apresenta edema com predomínio de neutrófilos em permição a este tecido, caracterizando um infiltrado inflamatório agudo (Figs. 4A e 4B).

O epitélio seminífero apresenta necrose (Figs. 4A, 4B). As alterações morfológicas necróticas, observam-se pela fragmentação dos núcleos picnóticos (cariorréxis), desaparecendo quase completamente em algumas regiões deste epitélio (Fig. 4B). Portanto, este epitélio é visualizado como uma massa granular, onde as células necrosadas transformaram-se em áreas coaguladas, caracterizando uma necrose do tipo coagulativa (Figs. 4A e 4B).

GRUPO 4 - Animais tratados com $CdCl_2.H_2O$ na dose única de 7,5 μ mol / kg.

Neste grupo, os animais apresentaram os testículos na forma ovóide com aspecto externo normal, quando da dissecação. O Gráf. 01, mostra o desenvolvimento do peso corporal dos animais deste grupo (Gr. 4), indicando que houve um aumento progressivo, porém um pouco menor (+13 a +16 g) em relação aos animais dos grupos controles (+30 g).

Pela observação microscópica, a túnica albugínea apresenta-se morfológicamente normal (Figs. 4C e 4D, comparar com 1B).

O tecido intersticial, apresenta um pequeno aumento no número de células (Fig. 4D).

Observam-se poucas alterações vasculares, porém alguns vasos sanguíneos próximos à túnica albugínea, apresentam leve congestão (Fig. 4D).

Nos túbulos seminíferos a espermatogênese se faz ordenadamente, sendo a quantidade de células espermatogênicas normal. Podem ser observados espermatozóides maduros, cujas caudas podem ser vistas nos lúmens tubulares das Figs. 4C e 4D.

GRUPO 5 - Animais tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ na dose única de $7,5 \mu\text{mol} / \text{kg}$ + 03 doses de PCML, cada uma a $8,8 \text{ mmol} / \text{kg}$.

A forma dos testículos dos animais deste grupo, apresentaram-se ovóides com aspecto externo hemorrágico. O desenvolvimento do peso corporal dos animais deste grupo (Gr. 5), quando analisado no Gráf. 01, mostra que estes animais perderam peso (-7 a -8 g) durante o período experimental e em relação aos animais dos grupos controles (C).

A observação microscópica revela a túnica albugínea com grande espessamento, caracterizando uma hipertrofia grave. Nota-se a presença de muitos neutrófilos em processo de permição à túnica albugínea, conferindo-lhe um aspecto bastante compacto (Figs. 5A e 5B, comparar com 1B).

O tecido intersticial apresenta edema e observa-se na Fig. 5C muitas fibras e proliferação fibroblástica. Este tecido apresenta um grande aumento no volume celular, caracterizando uma infiltração inflamatória aguda e inespecífica.

Há grandes alterações vasculares, como congestão de vasos sanguíneos (Fig. 5A) com presença de coágulos intraluminais e espessamento fibro-hialino perivascular (Fig. 5C).

O epitélio seminífero apresenta o padrão histológico de necrose de coagulação. Este epitélio apresenta poucos núcleos identificáveis (Fig. 5C). Notam-se restos celulares amorfos, granulares, compostos de células fragmentadas e coaguladas, algumas com contornos básicos preservados porém irregulares. A necrose é difusa, sendo observada por toda a extensão do epitélio seminífero dos animais deste grupo (Figs. 5A, 5B e 5C). Observam-se nos espaços centrais de alguns túbulos seminíferos, processo de hialinização do epitélio seminífero, visualizado como grandes espaços claros (Fig. 5C).

PRANCHA Nº 3 (Experimento 01)

GRUPO 1 - Cortes de testículos dos animais tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ na dose única de 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$, observados após 6 dias.

Figura 3A - Corte histológico transversal, onde observa-se a túnica albugínea (TA) com espessamento e permição de células inflamatórias (ponta de seta maior). O tecido intersticial (Int), apresenta edema e infiltrado inflamatório inespecífico, com presença de fibras (pontas de setas menores). Nota-se congestão vascular (V). O epitélio seminífero (*), apresenta necrose difusa por toda sua extensão e observam-se alguns núcleos picnóticos. 210 X.

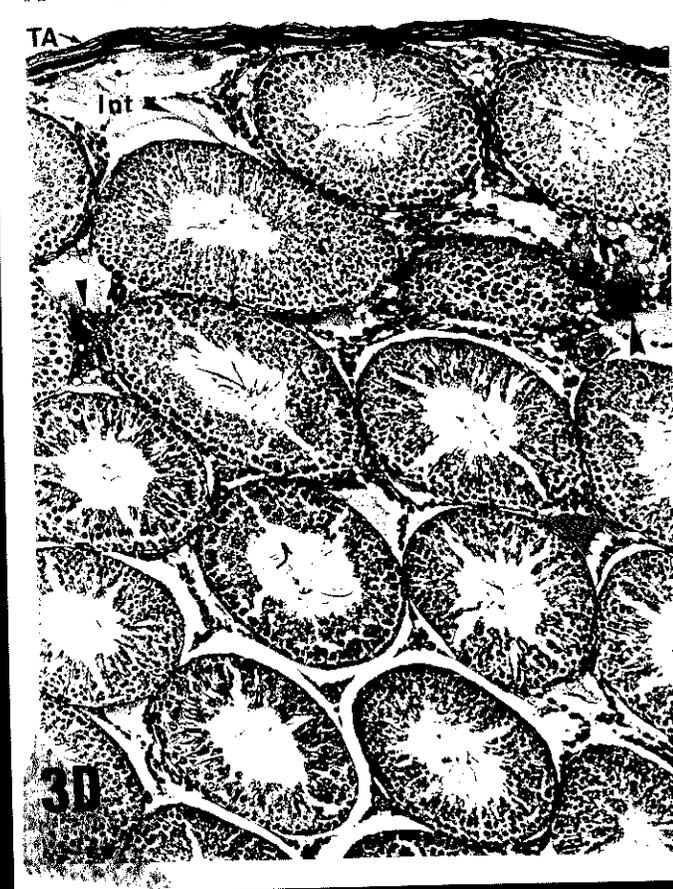
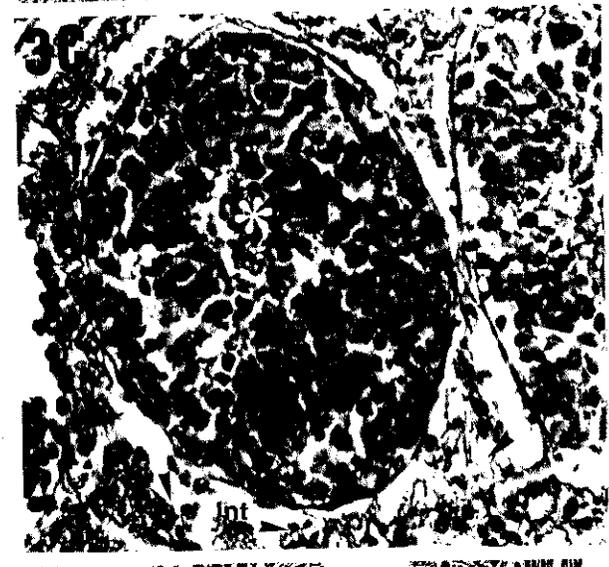
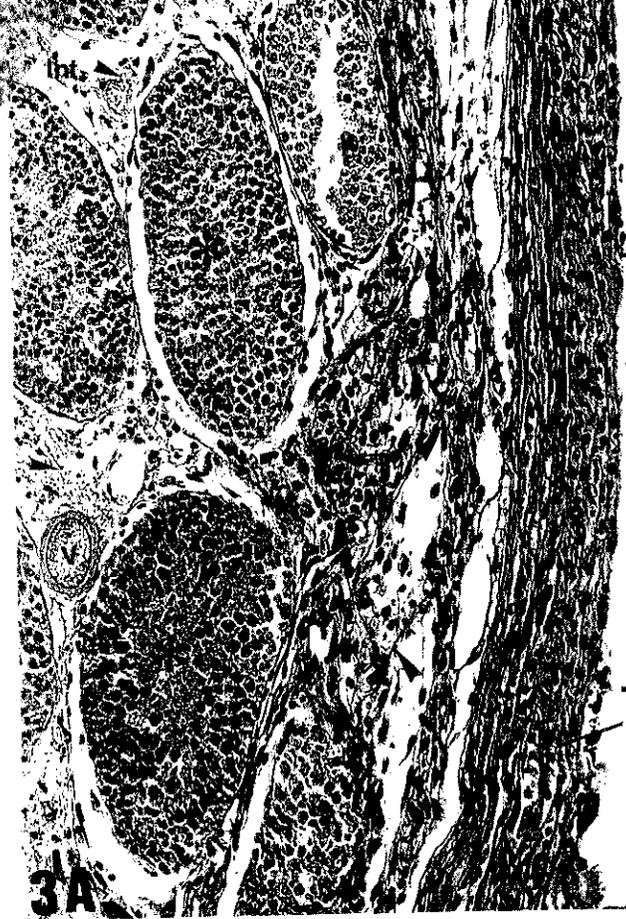
Figura 3B - Aspecto do testículo de rato, onde nota-se o espessamento da túnica albugínea (TA). A seta maior, mostra no interstício (Int) a presença de muitas fibras e edema. Os túbulos seminíferos (*) apresentam-se necrosados. 70 X.

Figura 3C - Detalhe de um túbulo seminífero (*), mostrando a necrose de coagulação do epitélio seminífero. O espaço intersticial (Int) circundante aos túbulos seminíferos, apresenta infiltração inflamatória aguda. As pontas de setas, indicam a presença de muitas fibras no interstício. 320 X.

GRUPO 2 - Cortes de testículos dos animais tratados com 03 doses de paracetamol, cada uma a 8,8 mmols / kg , analisados após 6 dias.

Figura 3D - Corte transversal, mostrando a túnica albugínea (TA) com aspecto normal. Em algumas áreas do tecido intersticial (Int), há discreto edema focal indicado pelas pontas de setas. 130 X.

Figura 3E - Corte histológico do testículo do animal visto na figura anterior, onde as pontas das setas mostram o leve edema intersticial (Int). O vaso sanguíneo (V) apresenta-se congestionado com presença de coágulo intraluminal. 180 X.



PRANCHA Nº4 (Experimento 01)

GRUPO 3 - Animais submetidos ao $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em dose única de $15 \mu\text{mols} / \text{kg}$ + 03 doses de paracetamol, cada uma a $8,8 \text{ mmols}$, observados após 6 dias.

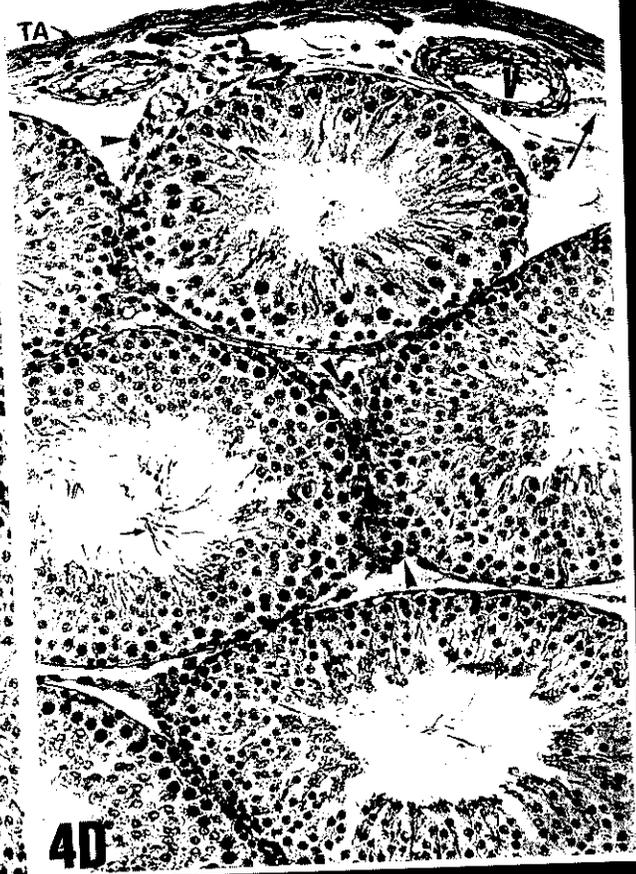
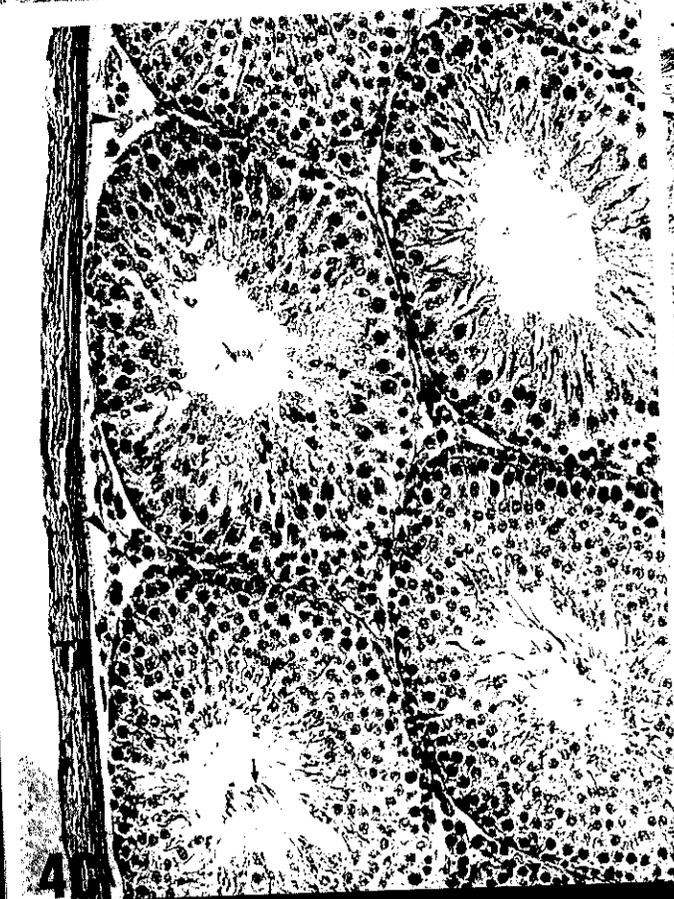
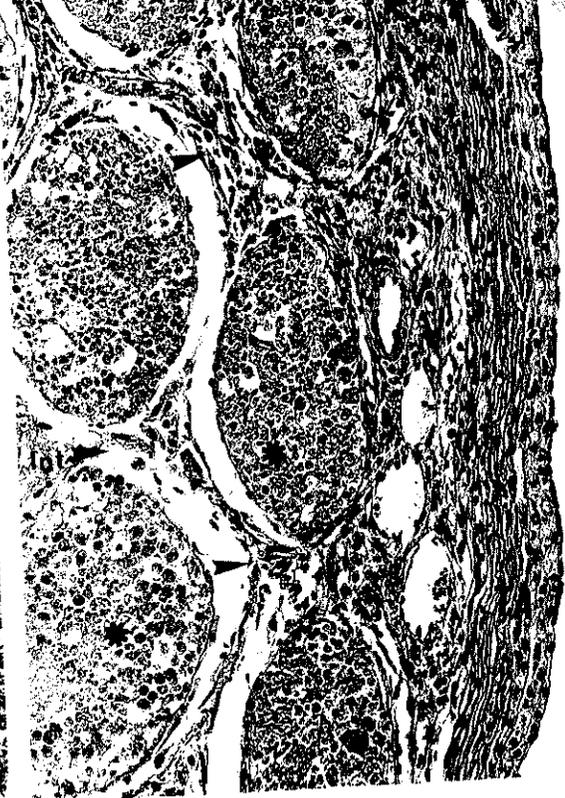
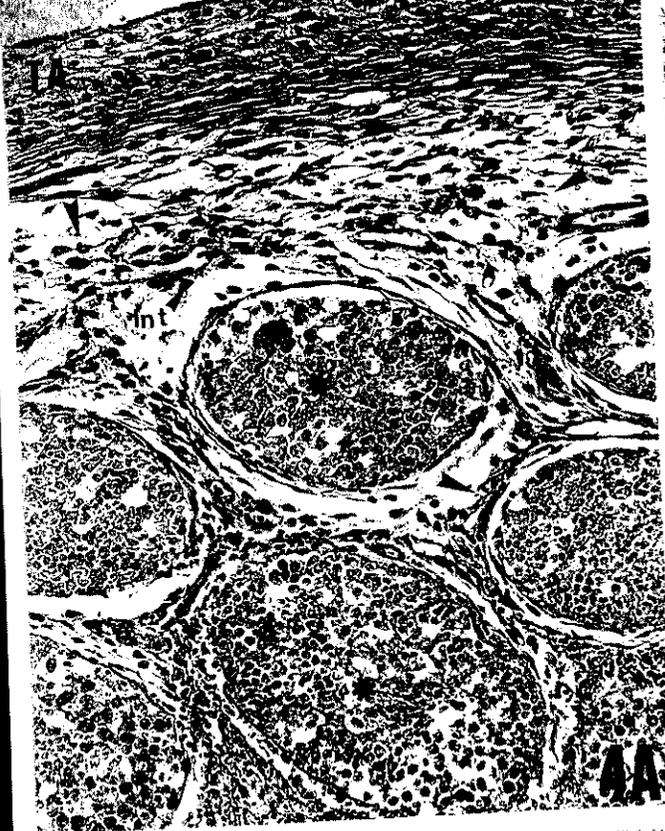
Figura 4A - Micrografia do testículo de rato, mostrando a túnica albugínea (TA) bastante espessada. O interstício (Int), indicado pelas pontas de setas, apresenta um infiltrado inflamatório agudo. Observa-se no epitélio seminífero (*), necrose de coagulação. 260 X.

Figura 4B - Corte transversal do testículo de outro animal deste grupo, onde a túnica albugínea (TA) apresenta-se espessada (ou hipertrófica), revelando seu aspecto compacto. As pontas de setas indicam, infiltração aguda no tecido intersticial (Int). O epitélio seminífero apresenta necrose (*). 180 X.

GRUPO 4 - Animais tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em dose única de $7,5 \mu\text{mols} / \text{kg}$, observados após 6 dias.

Figura 4C - Corte transversal de testículo de rato, onde a túnica albugínea (TA), apresenta-se morfológicamente normal. O espaço intersticial, indicado pelas pontas de setas está normal. Os túbulos seminíferos, apresentam estádios distintos da espermatogênese. A seta menor (\downarrow), mostra as caudas dos espermatozóides maduros no lúmen tubular. 260 X.

Figura 4D - Micrografia apresentando a túnica albugínea (TA) com aspecto normal. As pontas de setas mostram o espaço intersticial um pouco aumentado, próximo à túnica albugínea. O vaso sanguíneo (V), no canto superior direito, apresenta pequena congestão vascular. A seta maior indica o interstício próximo ao vaso, levemente hemorrágico. A seta menor (\rightarrow), indica as caudas dos espermatozóides maduros, no lúmen tubular. 240 X.



PRANCHA Nº 5 (Experimento 01)

GRUPO 5 - Cortes de testículos de ratos submetidos ao $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em dose única de $7,5 \mu\text{mols} / \text{kg}$ + 03 doses de paracetamol, cada uma a $8,8 \text{ mmols} / \text{kg}$, observados após 6 dias.

Figura 5A - Corte transversal de testículo de rato, onde nota-se a túnica albugínea (TA) com grande espessamento. Observa-se também processo de permeação de neutrófilos à túnica albugínea, indicado no canto superior esquerdo. Os vasos sanguíneos (V), apresentam-se congestionados (*). O tecido intersticial apresenta edema e presença de muitas fibras (ponta de seta menor). As pontas de setas maiores, indicam infiltrado inflamatório inespecífico no interstício (Int). O epitélio seminífero (★) está necrosado e notam-se em algumas áreas deste epitélio, início de hialinização. 260 X.

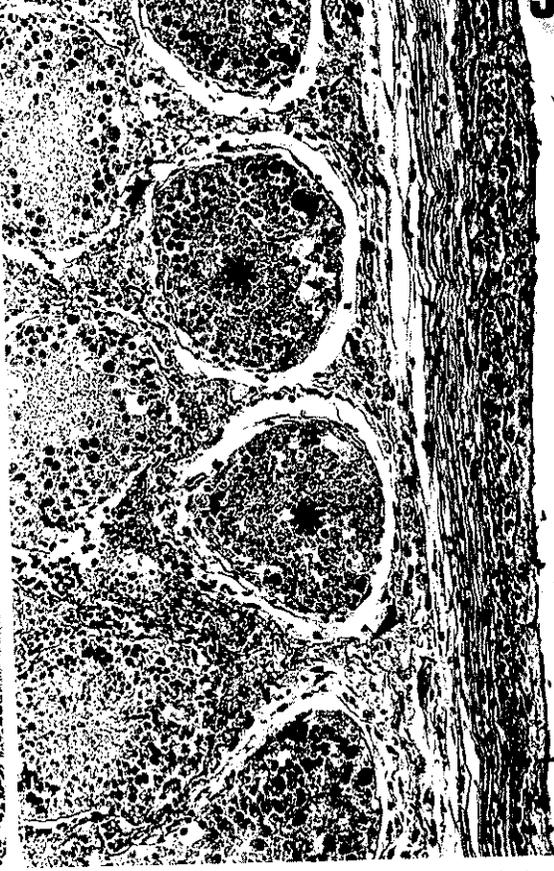
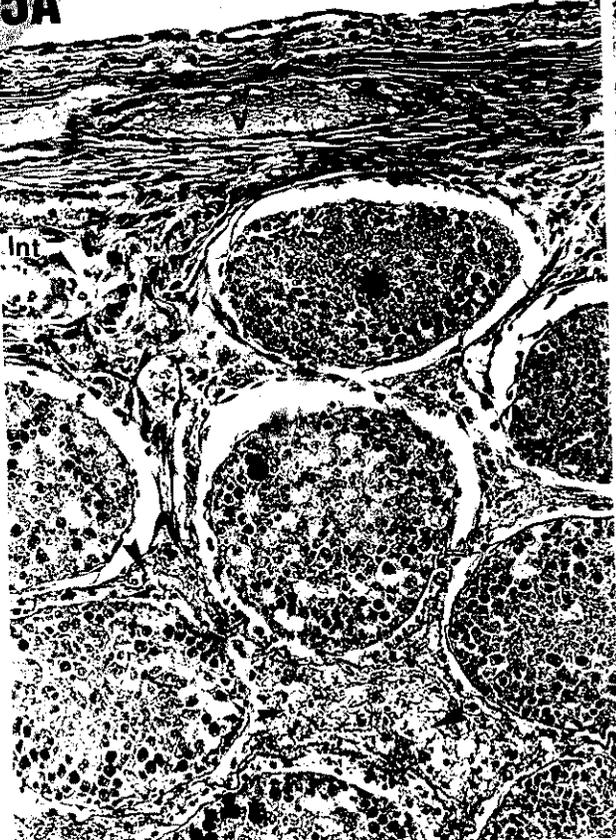
Figura 5B - Aspecto do testículo de outro animal deste grupo, onde a túnica albugínea (TA) apresenta hipertrofia. No tecido intersticial, observam-se presença de fibrose e infiltrado inflamatório agudo, nas pontas de setas. O epitélio seminífero (★) apresenta necrose de coagulação e os contornos dos túbulos seminíferos mostram-se totalmente irregulares. 180 X.

Figura 5C - Detalhe de um túbulo seminífero necrosado. Observa-se ao centro do epitélio seminífero (★) uma hialinização. As setas maiores, indicam o interstício (Int) fibroso, em degeneração. As pontas de setas, mostram intenso espessamento fibro-hialino perivascular. 610 X.

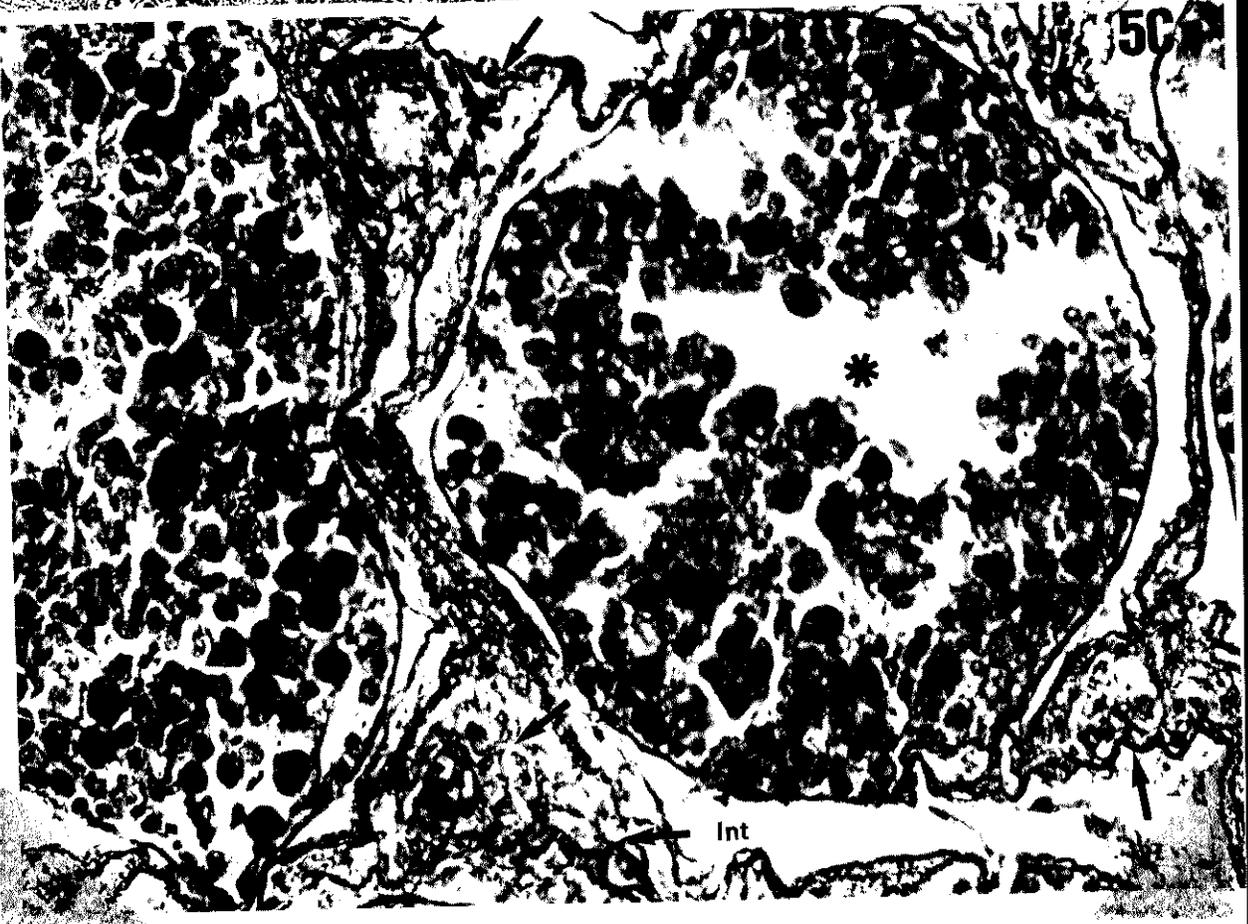
5A

IA

Int



TA



Int

50

GRÁFICO Nº 01 (Experimento 01)**Gráfico 01 - Peso corporal dos animais.**

Desenvolvimento do peso corporal (g) dos grupos de animais controles (C) e tratados com:

Gr. 1 - $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ na dose de 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$;

Gr. 2 - paracetamol na dose de 8,8 mmols / kg ;

Gr. 3 - $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ na dose de 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ + paracetamol na dose de 8,8 mmols / kg ;

Gr. 4 - $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ na dose de 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$;

Gr. 5 - $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ na dose de 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ + paracetamol na dose de 8,8 mmols / kg .

O $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ foi administrado em dose única e o paracetamol em 03 doses, cada uma de 8,8 mmols / kg , em dias alternados. Este experimento teve a duração de 06 dias.

Peso corporal

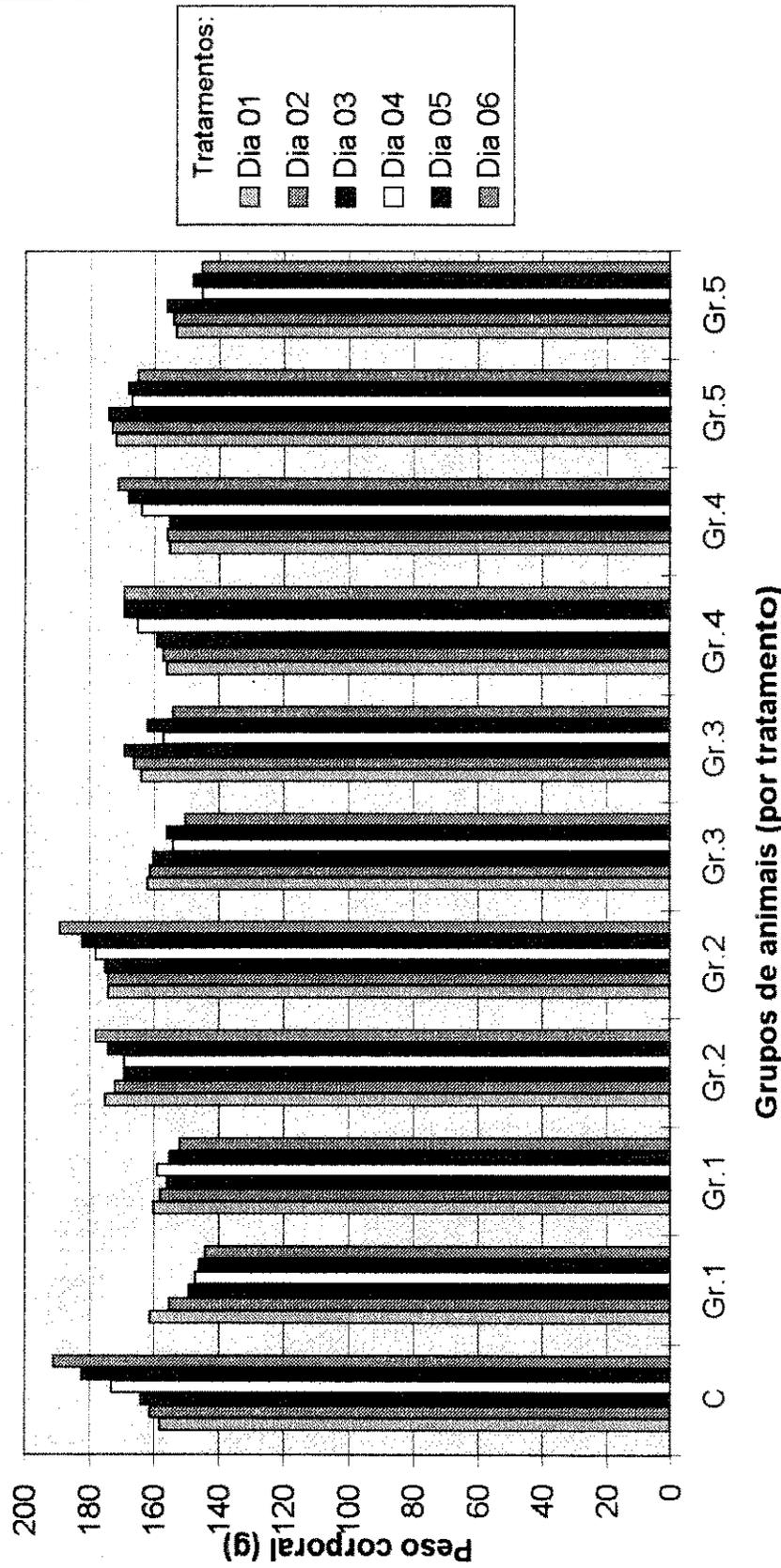


Gráfico 01 - Experimento 01 (duração 06 dias).

3.2. Observações morfométricas.

Considerações gerais.

Às medidas morfométricas, descritas no item 2.4.3, foram aplicadas a análise estatística de variância. Os resultados (consultar Tabs. 01 e 02), indicam que existem diferenças significativas nos diâmetros de túbulos seminíferos nos animais tratados do experimento 01 (ver Gráfs. 02 e 03). No experimento 02, os resultados (consultar Tabs. 03 e 04), mostram que não há diferenças significativas no diâmetro de túbulos seminíferos dos animais tratados (ver Gráfs. 05 e 06). Já no experimento 03, não foi possível fazer as medidas morfométricas, devido às grandes alterações encontradas nos túbulos seminíferos dos animais tratados.

3.2.1. Morfometria Experimento 01.

Pela análise dos Gráfs. 02 e 03, observa-se que os animais do grupo 1 ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$), foram os que tiveram maior redução no diâmetro de túbulos seminíferos (ver Tab. 01).

No grupo 2 (PCML a 8,8 mmols / kg), pela análise dos Gráfs. 02 e 03, observa-se que os animais não tiveram uma redução no diâmetro de túbulos seminíferos tão expressiva (ver Tab. 01), porém a análise estatística indica valores marginalmente significativos (Tab. 02).

O grupo 3 ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ + PCML a 8,8 mmols / kg), pela análise dos Gráfs. 02 e 03, revelam também que há redução significativa no diâmetro de túbulos seminíferos (Tab. 01). Da mesma forma, as análises estatísticas indicam a existência de diferenças significativas quando da interação das duas drogas sobre os diâmetros de túbulos seminíferos em ratos tratados (Tab. 02).

No grupo 4 ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a $7,5 \mu\text{mols / kg}$), como mostram os Gráfs. 02 e 03, os animais apresentam redução no diâmetro de túbulos seminíferos, porém menor que os animais dos grupos 1 e 3. As medidas morfométricas (Tab. 01), assemelham-se ao grupo 2.

No grupo 5 ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a $7,5 \mu\text{mols / kg}$ + PCML a $8,8 \text{ mmols / kg}$), pela análise dos Gráfs. 02 e 03, nota-se que há redução bem significativa nas dimensões dos diâmetros de túbulos seminíferos, além disso os resultados individuais, que estão na Tab. 01, confirmam a análise de variância (Tab. 02).

3.3. Análises Estatísticas.

Considerações gerais.

Para testar a existência de diferenças no diâmetro de túbulos seminíferos de ratos que receberam diferentes tratamentos de cloreto de cádmio ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e paracetamol (PCML) assim como a interação entre estes, foram usadas as médias de 15 medidas morfométricas de túbulos seminíferos de cada animal dos experimentos 01 e 02. As diferenças entre estas médias e a ocorrência de interação entre os tratamentos foram testadas com uma análise de variância de 2 fatores, segundo ZAR (1984), cujos resultados estão nas Tabs. 02 e 04.

3.3.1. Análise Estatística Experimento 01.

As análises de variância indicam que, existem diferenças significativas no diâmetro de túbulos seminíferos de ratos tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, nas doses de 15 e 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ ($F = 37,95$; $p < 0,001$) e provavelmente também dos tratados com PCML na dose de 8,8 mmols / kg , pois a probabilidade está muito próxima do valor crítico de 0,05 ($F = 5,16$; $p = 0,057$), podendo ser definida como marginalmente significativa (Tab. 02).

Além disto, existe uma interação altamente significativa entre as duas drogas, nos animais tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ nas doses de 15 e 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ + PCML na dose de 8,8 mmols / kg ($F = 21,20$; $p = 0,001$) (veja Tab. 02).

GRÁFICO Nº 02 (Experimento 01)**Gráfico 02 - Diâmetro dos túbulos seminíferos (tratamentos por 06 dias).**

Médias individuais e desvio padrão dos diâmetros dos túbulos seminíferos dos animais dos grupos controles (C) e tratados com :

Gr. 1 - cloreto de cádmio na dose de 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$;

Gr. 2 - paracetamol na dose de 8,8 mmols / kg ;

Gr. 3 - cloreto de cádmio na dose de 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ + paracetamol na dose de 8,8 mmols / kg ;

Gr. 4 - cloreto de cádmio na dose de 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$;

Gr. 5 - cloreto de cádmio na dose de 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ + paracetamol na dose de 8,8 mmols / kg .

O cloreto de cádmio foi administrado em dose única no primeiro dia e o paracetamol em 03 doses, em dias alternados, cada uma de 8,8 mmols / kg .

Diâmetro de túbulos seminíferos.

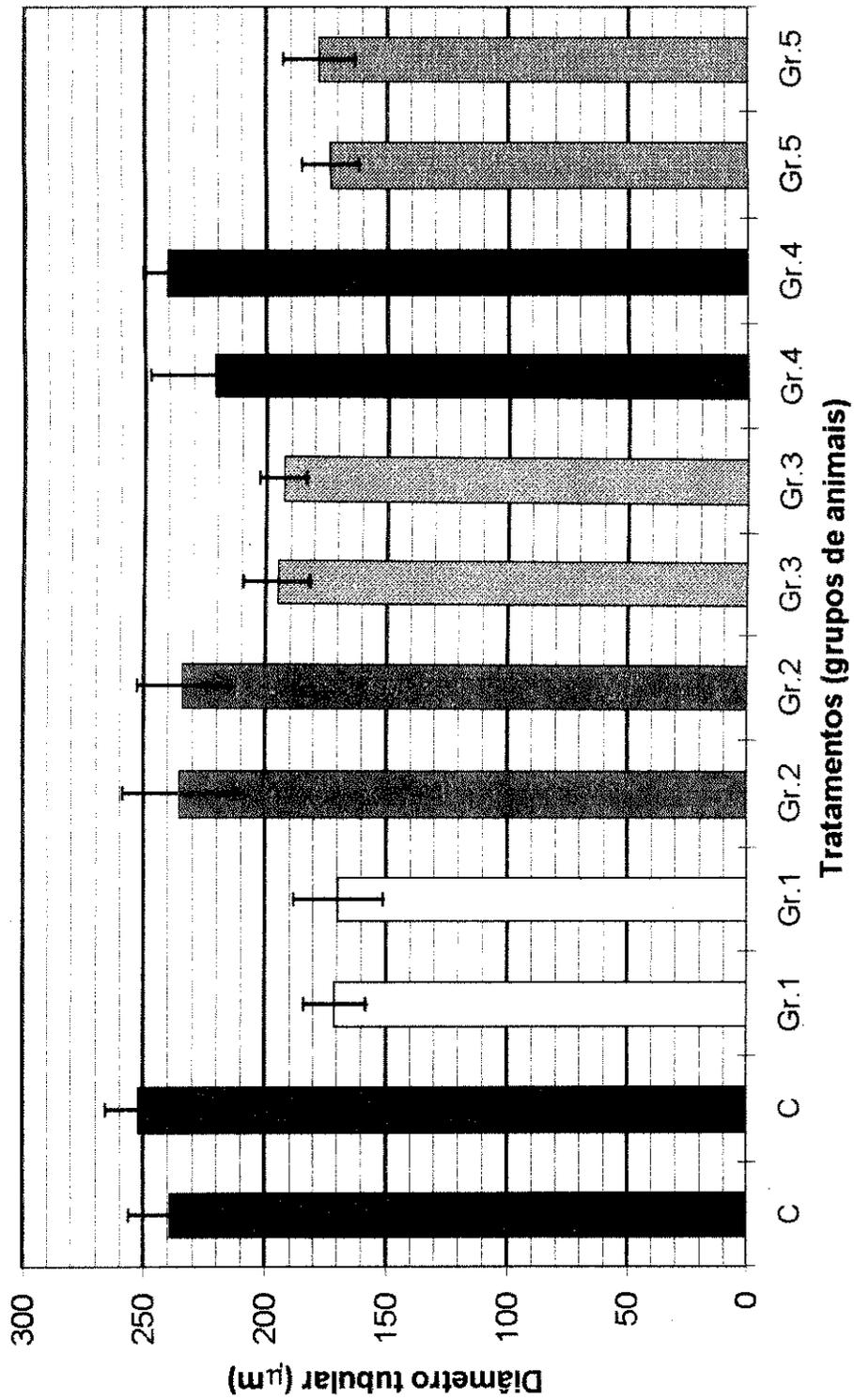


Gráfico 02 - Experimento 01 (duração 06 dias).

GRÁFICO Nº 03 (Experimento 01)

Gráfico 03 - Média dos diâmetros de túbulos seminíferos dos grupos de animais do Experimento 01.

Média dos diâmetros de túbulos seminíferos dos grupos de animais controles (**Gr. Controle**) e tratados com o:

Gr. 1 (Cd) - cloreto de cádmio na dose de 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$;

Gr. 2 (PCML) - paracetamol na dose de 8,8 mmols / kg ;

Gr. 3 (Cd+PCML) - cloreto de cádmio na dose de 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ + paracetamol na dose de 8,8 mmols / kg ;

Gr. 4 (Cd/2) - cloreto de cádmio na dose de 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$;

Gr. 5 (Cd/2+PCML) - cloreto de cádmio na dose de 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ + paracetamol na dose de 8,8 mmols / kg .

O cloreto de cádmio ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), foi administrado em dose única no primeiro dia e o paracetamol (PCML) em 3 doses, cada uma de 8,8 mmols / kg , em dias alternados. Este experimento teve a duração de 06 dias.

Média dos diâmetros de túbulos seminíferos.

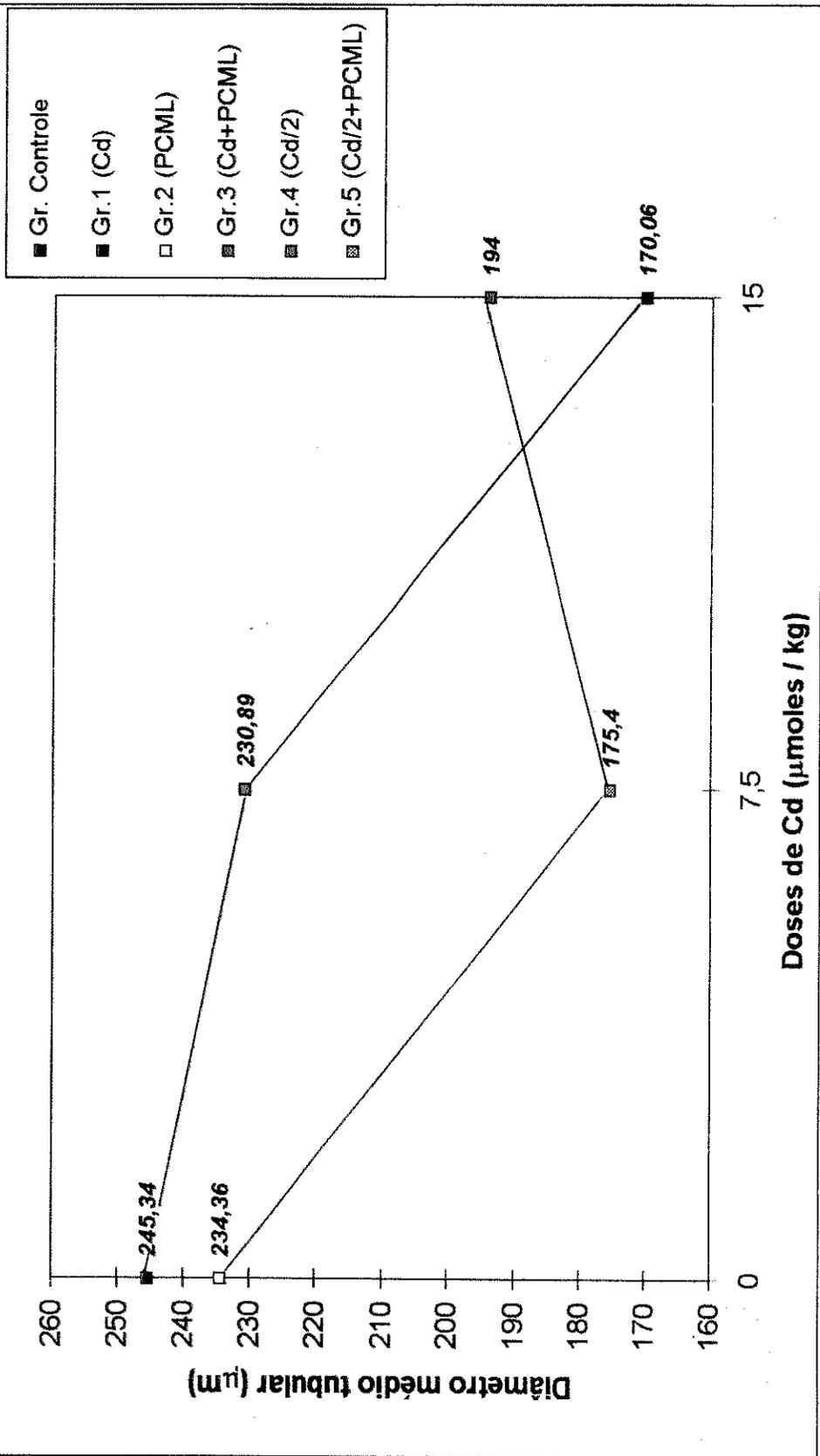


Gráfico 03 - Experimento 01 (duração 06 dias).

TABELA Nº 01 (Experimento 01)

Tabela 01 - Média e desvio padrão dos diâmetros (μm) de túbulos seminíferos dos animais do Experimento 01 (duração de 06 dias).

MORFOMETRIA		
ANIMAIS (Grupos)	TRATAMENTOS (Doses)	MÉDIA DOS DIÂMETROS Túbulos seminíferos (μm)
Gr. Contr. (n = 02)	-----	251,79 \pm 13,56
Gr. 01 (n = 02)	Cd (15 μmols / kg)	238,89 \pm 17,08
Gr. 02 (n = 02)	PCML (8,8 mmols / kg)	170,77 \pm 12,80
Gr. 03 (n = 02)	Cd + PCML (15 μmols / kg + 8,8 mmols / kg)	169,36 \pm 18,57
Gr. 04 (n = 02)	Cd (7,5 μmols / kg)	234,85 \pm 23,49
Gr. 05 (n = 02)	Cd + PCML (7,5 μmols / kg + 8,8 mmols / kg)	233,87 \pm 18,88
		195,08 \pm 13,68
		192,93 \pm 9,60
		221,19 \pm 26,32
		240,59 \pm 10,00
		172,99 \pm 11,74
		177,82 \pm 14,99

Obs.:

n = número de animais.

Cd - Cádmio na forma de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

PCML - Paracetamol na forma de Tylenol[®] - gotas.

TABELA Nº 02 (Experimento 01)

Tabela 02 - Análise de Variância dos diâmetros de túbulos seminíferos dos animais do Experimento 01.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA				
FATOR	G. L.	QUADRADO MÉDIO	F	p
<i>PCML</i>	1	463,18	5,16	0,057
<i>Cd</i>	2	3.406,83	37,95	< 0,001
<i>Cd + PCML</i>	2	1.902,61	21,2	0,001
<i>Erro</i>	7	89,77		

PCML - Paracetamol na forma de Tylenol[®] - gotas

Cd - Cádmio na forma de Cloreto de Cádmio.

G. L. - Grau de Liberdade.

F - Teste F (Paramétrico)

p - Probabilidade.

3.1.3. Experimento 02.

Neste experimento foram estudados 3 grupos de animais submetidos a tratamentos distintos (conforme item 2.3.2), durante 03 dias. As descrições morfológicas dos animais controles deste experimento são idênticas às contidas no item 3.1.1. Os animais deste experimento, alimentaram-se normalmente não apresentando alterações no comportamento, nem sinais de "stress".

GRUPO 1 - Animais tratados com $CdCl_2 \cdot H_2O$ na dose única de 2,5 μ mols / kg.

Os animais deste grupo apresentaram os testículos na forma ovóide com aspecto externo normal. O peso testicular dos animais, variou entre 1,125 g e 1,334 g (animais controles : 1,200 g). A análise do Gráf. 04, mostra que os animais deste grupo (Gr. 1), ganharam peso corporal progressivamente, semelhante ao que foi verificado nos animais dos grupos controles.

A microscopia de luz revela a túnica albugínea, com aspecto morfológico normal (Figs. 6A e 6D).

O tecido intersticial apresenta edema, o que foi observado em todos os cortes histológicos dos animais deste grupo (PRANCHA Nº 6). As células intersticiais apresentam-se desorganizadas, próximas à túnica albugínea (Figs. 6A e 6D). Nos testículos de alguns animais, notam-se presença de espaços claros no tecido intersticial, sugerindo início de hialinização (Fig. 6B). Os animais submetidos a esse grupo de tratamento, apresentaram vasos congestionados e dilatados, com presença de coágulos intraluminais (Fig. 6C).

O epitélio seminífero apresenta-se normal e pode-se observar vários estádios da espermatogênese (Figs. 6A a 6D).

GRUPO 2 - Animais tratados com 03 doses de PCML, cada uma a 4,4 mmols / kg.

Os testículos dos animais deste grupo apresentaram a forma ovóide com aspecto externo normal. O peso testicular variou entre 1,067 g e 1,211 g (animais controles : 1,200 g). A evolução do peso corporal, vista no Gráf. 04, indica que os animais deste grupo (Gr. 2) tiveram ganho de peso, igualmente como foi verificado nos animais dos grupos controles. Quando da análise microscópica a túnica albugínea dos animais, apresentou padrão histológico normal (Fig. 7C). Observou-se em um animal deste grupo, pequena alteração quanto a espessura da túnica albugínea, estando esta um pouco aumentada (Fig. 7B, comparar com 1B).

O tecido intersticial apresenta edema, sendo observado em todos os cortes histológicos dos animais deste grupo. Nas Figs. 7D e 8A, nota-se presença de fibras no interstício. As células intersticiais apresentam certo grau de desorganização (Figs. 7B a 7D e 8A). Os vasos sanguíneos apresentam-se congestionados e dilatados (Fig. 7A). Pela análise da Fig. 8B, pode-se observar vários núcleos de leucócitos dentro de um vaso sanguíneo, sugerindo uma possível infiltração inflamatória no interstício.

Nos animais deste grupo de tratamento, o epitélio seminífero apresenta um grande número de células em divisão, visto mais detalhadamente nas Figs. 8A e 8C. Também a análise das Figs. 8A e 8C, revela nitidamente as células de Sertoli, junto à lâmina basal. Os túbulos seminíferos na região mais central do parênquima testicular apresentam uma irregularidade dos contornos da lâmina basal (Fig. 7D) e também uma camada mais espessa de células germinativas o que equivale a um número maior de células espermatogênicas em fase de diferenciação, que pode ser visto nas Figs. 7A, 7B, 8A e 8C.

GRUPO 3 - Animais tratados com $CdCl_2 \cdot H_2O$ na dose única de $2,5 \mu\text{mols} / \text{kg}$ + 3 doses de PCML cada dose a $4,4 \text{ mmols} / \text{kg}$.

Os animais do 3º grupo apresentaram testículos na forma ovóide, com aspecto externo normal, porém um animal apresentou aspecto hemorrágico. O peso dos testículos variou de 0,708 g a 1,085 g (animais controles : 1,248 g). Pela análise do Gráf. 04, verifica-se que os animais deste grupo (Gr. 3), tiveram ganho de peso corporal durante o período experimental.

Pela análise dos cortes histológicos, a túnica albugínea apresentou padrão morfológico normal (Fig. 9C), porém um animal deste grupo apresentou um pequeno aumento quanto à espessura desta (Fig. 9A).

Em todos os animais submetidos a esse tratamento, verificou-se edema intersticial, principalmente na região central do parênquima testicular. Observa-se também que o tecido intersticial, apresenta escassez nas células de Leydig (Fig. 9B), verificando-se alguns espaços claros no intestício (Fig. 9D).

Os vasos sanguíneos apresentaram congestão e dilatação com presença de coágulos intraluminais (Fig. 9C).

Observa-se o epitélio seminífero com um pequeno aumento no volume celular, principalmente nas células em diferenciação. Verificou-se em um animal deste grupo de tratamento a falta de espermatozóides maduros, sendo observada a falta total de caudas nos lúmens dos túbulos seminíferos dos cortes histológicos analisados (Figs. 9A, 9B e 9D). Este padrão histológico, pode ser chamado de espermição deficiente, podendo ocorrer em diferentes níveis da espermatogênese. Nos demais animais deste grupo, observam-se diferentes estádios do ciclo normal do epitélio seminífero (Fig. 9C).

PRANCHA Nº 6 (Experimento 02)

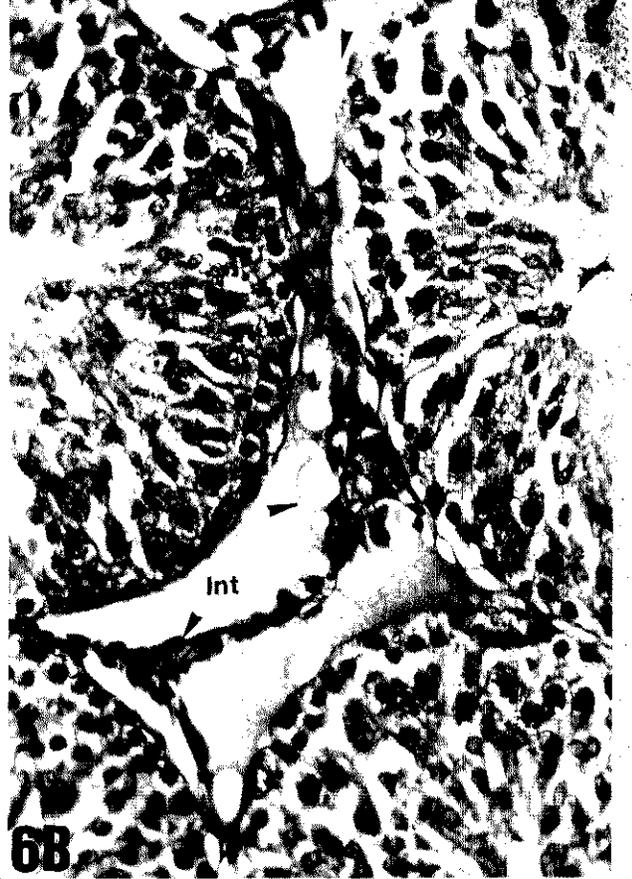
GRUPO 1 - Cortes de testículos de ratos tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ na dose única de $2,5 \mu\text{mols / kg}$, observados após 03 dias.

Figura 6A - Micrografia mostrando a túnica albugínea (TA) com aspecto normal. As pontas de setas, indicam edema no tecido intersticial (Int). Os túbulos seminíferos apresentam-se normais, sendo observados diferentes estádios da espermatogênese. 110 X.

Figura 6B - Detalhe do interstício (Int), onde observa-se edema. As pontas de setas indicam desorganização das células do tecido intersticial e presença de espaços claros, sugerindo a hialinização deste tecido. 370 X.

Figura 6C - Corte transversal de testículo de outro animal deste grupo, mostrando no tecido intersticial (Int) a presença de vasos sanguíneos (V) congestionados com coágulos intraluminais. As pontas de setas, revelam as células intersticiais desorganizadas. 90 X.

Figura 6D - O exame desta figura mostra a túnica albugínea (TA) normal. As pontas de setas, mostram as células intersticiais (Int) desorganizadas, próximas à túnica albugínea. No canto inferior esquerdo a ponta de seta, indica uma diminuição das células no tecido intersticial. 230 X.



PRANCHA Nº 7 (Experimento 02)

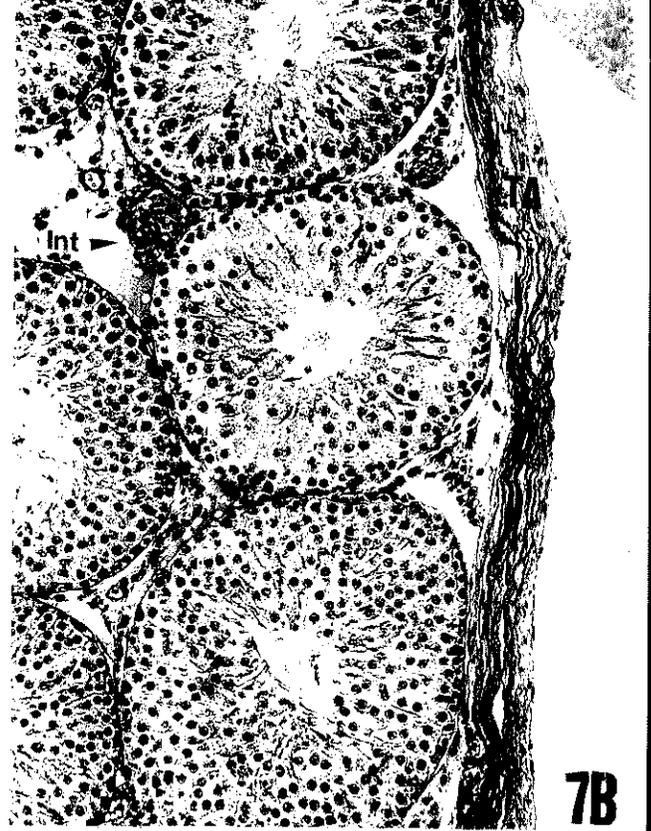
GRUPO 2 - Cortes de testículos de ratos submetidos a 3 doses do paracetamol, cada uma a 4,4 mmols / kg e observados após 03 dias.

Figura 7A - Corte transversal, mostrando no canto superior direito da micrografia a túnica albugínea (TA) normal. O interstício (Int), indicado pelas pontas de setas apresenta edema. O vaso sanguíneo (V), apresenta-se congestionado com presença de coágulo intraluminal. Nota-se no epitélio seminífero um número maior de células espermatogênicas, tornando-o mais compacto. 90 X.

Figura 7B - Exame em maior aumento, onde vê-se a túnica albugínea (TA) ligeiramente espessada. O interstício (Int), indicado pela ponta de seta apresenta edema e observa-se desorganização das células intersticiais. O epitélio seminífero, apesar dos túbulos estarem em diferentes estádios, apresenta-se com um número maior de células em diferenciação. 230 X.

Figura 7C - Secção do testículo de outro animal deste grupo, onde observa-se a túnica albugínea (TA) normal. As pontas de setas indicam, uma desorganização das células intersticiais (Int). 250 X.

Figura 7D - Visão da região central do parênquima testicular de rato, onde notam-se túbulos seminíferos (★) com contornos irregulares das lâminas basais. O tecido intersticial (Int), apresenta edema. Observa-se presença de fibras no interstício, sendo indicadas pela ponta de seta (parte superior da micrografia). A ponta de seta (parte inferior da micrografia), mostra certo grau de desorganização das células intersticiais. 70 X.



PRANCHA Nº 8 (Experimento 02)

GRUPO 2 - Cortes histológicos de testículos de ratos tratados com 3 doses de paracetamol, cada uma a 4,4 mmols / kg e observados após 03 dias.

Figura 8A - Corte transversal, destacando um túbulo seminífero. A seta indica a célula de Sertoli (S) sobre a lâmina basal do epitélio seminífero e aos lados desta observam-se as espermatogônias (A). As pontas de setas mostram várias células em divisão celular. As células de Leydig indicadas pela ponta de seta, apresentam-se desorganizadas no tecido intersticial (Int). A seta na parte inferior da micrografia, mostra presença de fibras no interstício. No lúmen (L) do túbulo seminífero, observam-se caudas de espermatozóides maduros. 440 X.

Figura 8B - Micrografia onde vê-se entre dois túbulos seminíferos adjacentes, um corte tangencial de um vaso sanguíneo (V) congestionado. As setas pequenas (↓) mostram núcleos de leucócitos dentro deste vaso, sugerindo um provável processo inflamatório no tecido intersticial. 410 X.

Figura 8C - Detalhe de um túbulo seminífero para exame em maior aumento das células espermatogênicas do epitélio seminífero. As células de Sertoli (S) indicadas pelas setas, estão localizadas sobre a lâmina basal do epitélio seminífero. Observam-se também em destaque as espermatogônias (A). As pontas de setas mostram metáfases da divisão celular do epitélio seminífero. 775 X.



PRANCHA Nº 9 (Experimento 02)

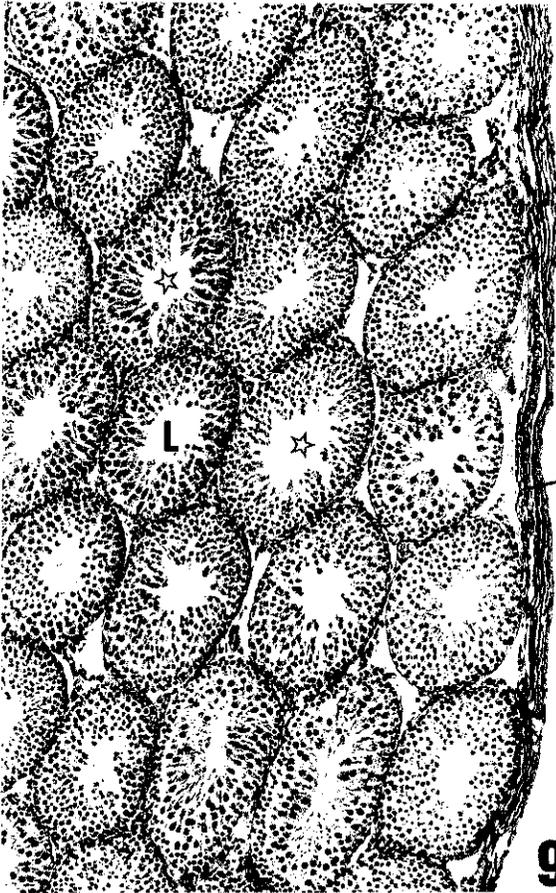
GRUPO 3 - Cortes de testículos de ratos tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em dose única a $2,5 \mu\text{mols} / \text{kg}$ + 3 doses de paracetamol cada uma a $4,4 \text{ mmols} / \text{kg}$, observados após 03 dias.

Figura 9A - Aspecto parcial do testículo de rato com os túbulos seminíferos (☆) em diferentes estádios, onde não se observam caudas de espermatozóides nos lúmens (L). A túnica albugínea (TA), apresenta-se ligeiramente aumentada quanto à espessura. O tecido intersticial que circunda os túbulos é escasso. 70 X.

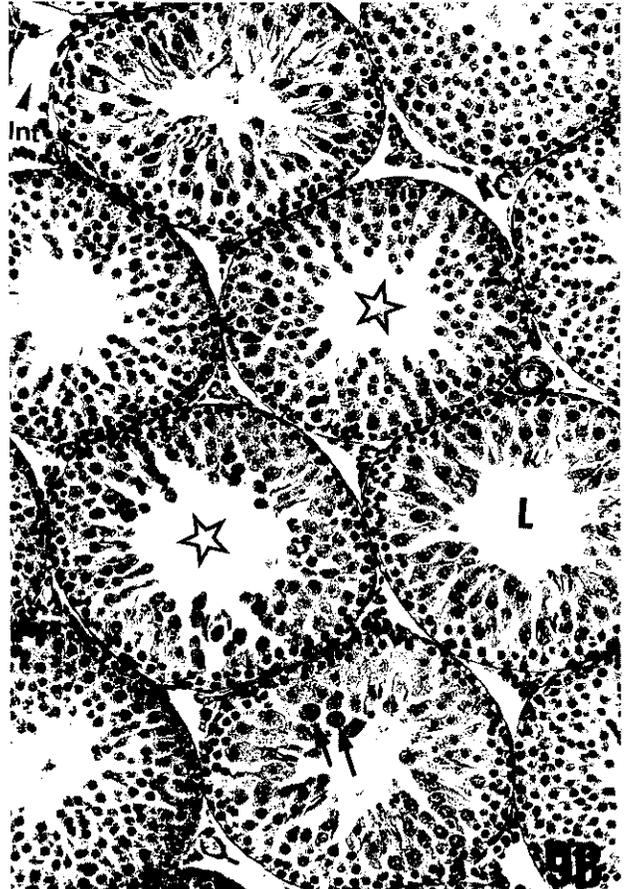
Figura 9B - Corte transversal de túbulos seminíferos (☆) mostrando o padrão histológico de espermição deficiente, caracterizado pela falta dos estádios finais da maturação do espermatozóide, a espermição. As setas indicam diferentes fases da divisão celular, já próximas ao lúmen (L). O interstício (Int), indicado pela ponta de seta, apresenta-se com poucas células intersticiais. 150 X.

Figura 9C - Corte de testículo de outro animal deste grupo, onde observa-se a túnica albugínea (TA) com aspecto normal. O interstício (Int) indicado pela ponta de seta, apresenta edema. O vaso sanguíneo (V), próximo à túnica apresenta-se congestionado com coágulo intraluminal. Os túbulos seminíferos apresentam-se em diferentes estádios, sendo observadas as caudas dos espermatozóides maduros nos lúmens. 110 X.

Figura 9D - Exame em maior aumento de um túbulo seminífero (☆), onde observa-se no lúmen (L) a falta de caudas de espermatozóides. O tecido intersticial (Int) apresenta, espaços claros, que anteriormente foi preenchido por células intersticiais. 450 X.



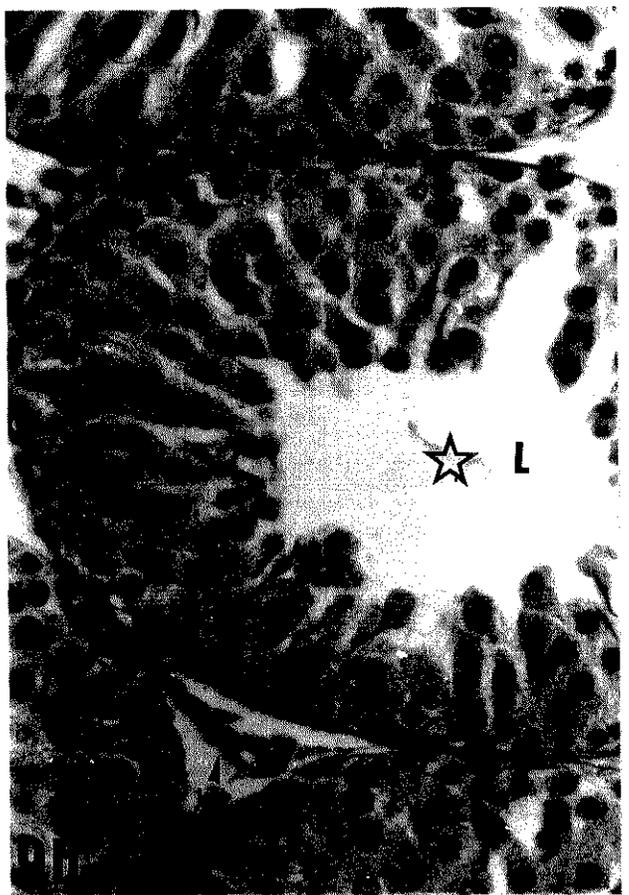
9A



9B



9C



9D

3.1.3.1. Morfometria Experimento 02.

As medidas morfométricas, como mostra a Tab. 03, revelam que os animais do experimento 02, não tiveram redução nas dimensões dos diâmetros de túbulos seminíferos.

Também pelas análises dos Gráfs. 05 e 06, pode-se notar que os animais dos grupos 1, 2 e 3 tiveram as medidas dos diâmetros de túbulos seminíferos muito semelhantes às do grupo controle. Da mesma maneira os dados da análise de variância, indicados na Tab. 04, confirmam que não há diferenças significativas nos diâmetros de túbulos seminíferos dos animais estudados, neste experimento.

3.1.3.2. Análise Estatística Experimento 02.

As análises de variância indicam que não há diferenças significativas nos diâmetros de túbulos seminíferos de ratos tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, na dose de 2,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ ($F= 0,09$; $p= 0,769$) e nos tratados com PCML na dose de 4,4 mmols / kg ($F= 1,71$; $p= 0,223$) (Tab. 04).

Também não há diferenças significativas quando da interação das duas drogas sobre os diâmetros de túbulos seminíferos nos ratos tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ na dose de 2,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ + PCML na dose de 4,4 mmols / kg ($F= 0,83$; $p= 0,385$), neste experimento (Tab. 04). Para confirmar os resultados, foi feita uma segunda análise sem a interação das duas drogas, onde o $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ($F= 0,135$; $p=0,721$) e o PCML ($F= 1,915$; $p= 0,196$), não mostraram diferença significativa. Portanto, pode-se afirmar com estes novos dados, que não há diferenças significativas nos diâmetros de túbulos seminíferos dos animais do experimento 02, tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ou com PCML, nas doses acima citadas.

GRÁFICO Nº 04 (Experimento 02)**Gráfico 04 - Peso corporal dos animais.**

Desenvolvimento do peso corporal (g) dos animais dos grupos controles (C) e tratados com:

Gr. 1 - cloreto de cádmio na dose única de 2,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$;

Gr. 2 - 3 doses de paracetamol cada uma de 4,4 mmols / kg ;

Gr. 3 - cloreto de cádmio na dose única de 2,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ + 3 doses de paracetamol cada uma de 4,4 mmols / kg .

Este experimento teve a duração de 03 dias.

Peso corporal

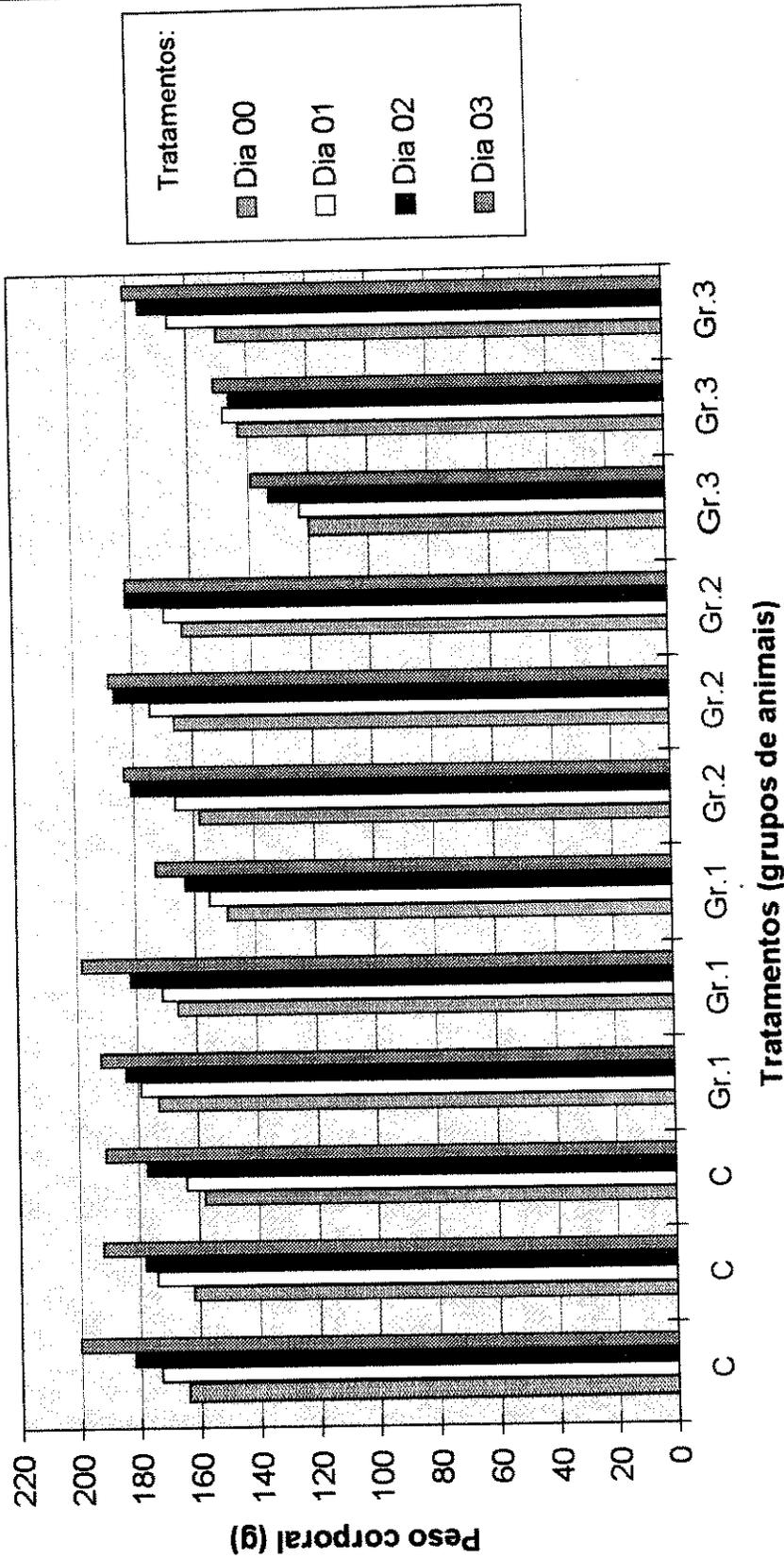


Gráfico 04 - Experimento 02 (duração 03 dias).

GRÁFICO Nº 05 (Experimento 02)**Gráfico 05 - Diâmetro dos túbulos seminíferos (tratamentos por 03 dias).**

Médias individuais e desvio padrão dos diâmetros de túbulos seminíferos dos grupos de animais controles (C) e tratados com :

Gr. 1 - cloreto de cádmio na dose de 2,5 μ mols / kg;

Gr. 2 - paracetamol na dose de 4,4 mmols / kg;

Gr. 3 - cloreto de cádmio na dose de 2,5 μ mols / kg + paracetamol na dose de 4,4 mmols / kg.

Diâmetro de túbulos seminíferos.

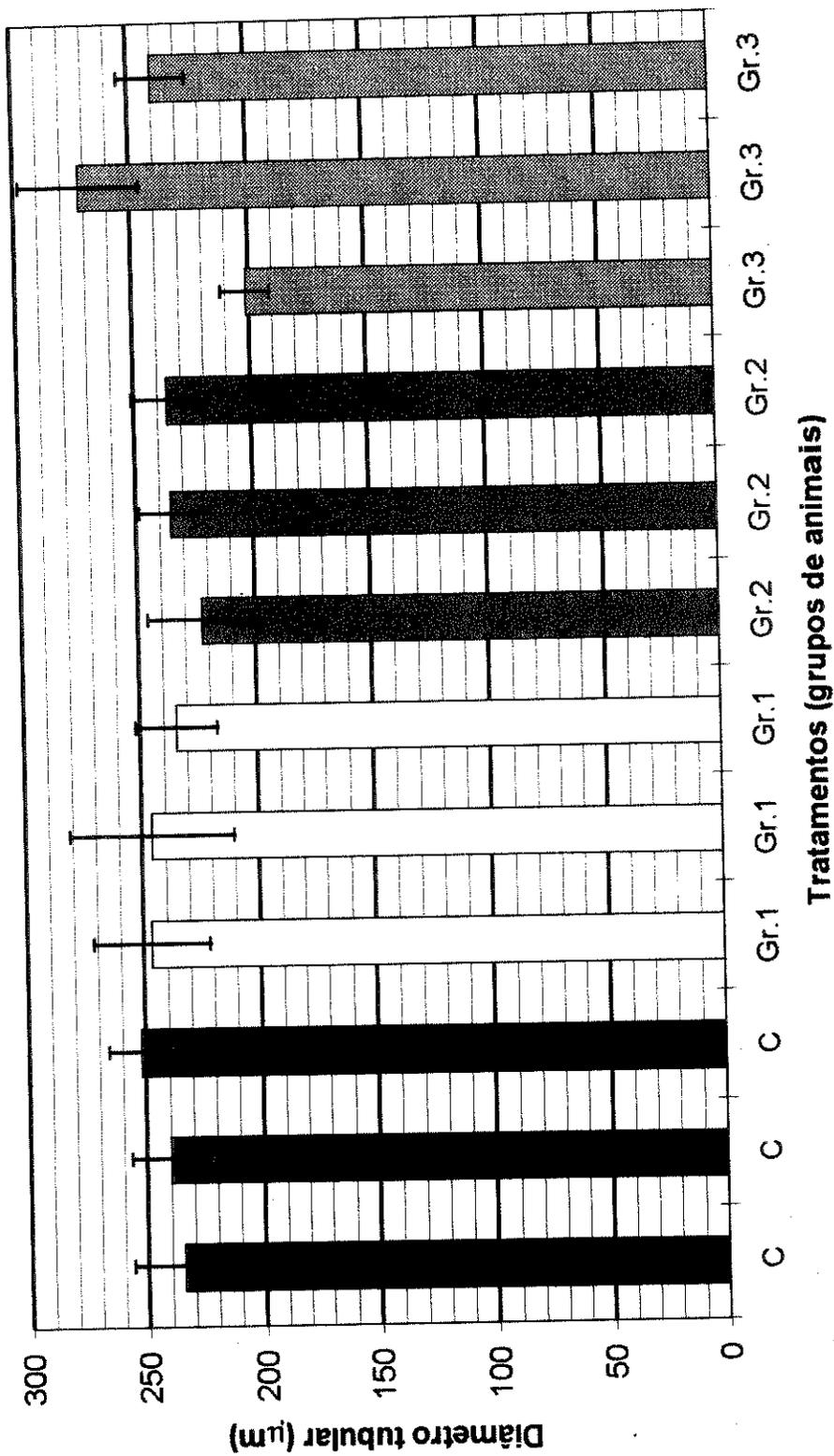


Gráfico 05 - Experimento 02 (duração 03 dias).

GRÁFICO Nº 06 (Experimento 02)

Gráfico 06 - Média dos diâmetros de túbulos seminíferos dos grupos de animais do Experimento 02.

Médias dos diâmetros de túbulos seminíferos dos grupos de animais controles (**Gr. Controle**) e tratados com o:

Gr. 1 (Cd) - cloreto de cádmio na dose de 2,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$;

Gr. 2 (PCML) - paracetamol na dose de 4,4 mmols / kg ;

Gr. 3 (Cd+PCML) - cloreto de cádmio na dose de 2,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ + paracetamol na dose de 4,4 mmols / kg .

O cloreto de cádmio foi administrado em dose única no primeiro dia e o paracetamol em 3 doses, cada uma de 4,4 mmols / kg . Este experimento teve a duração de 03 dias.

Média dos diâmetros de túbulos seminíferos.

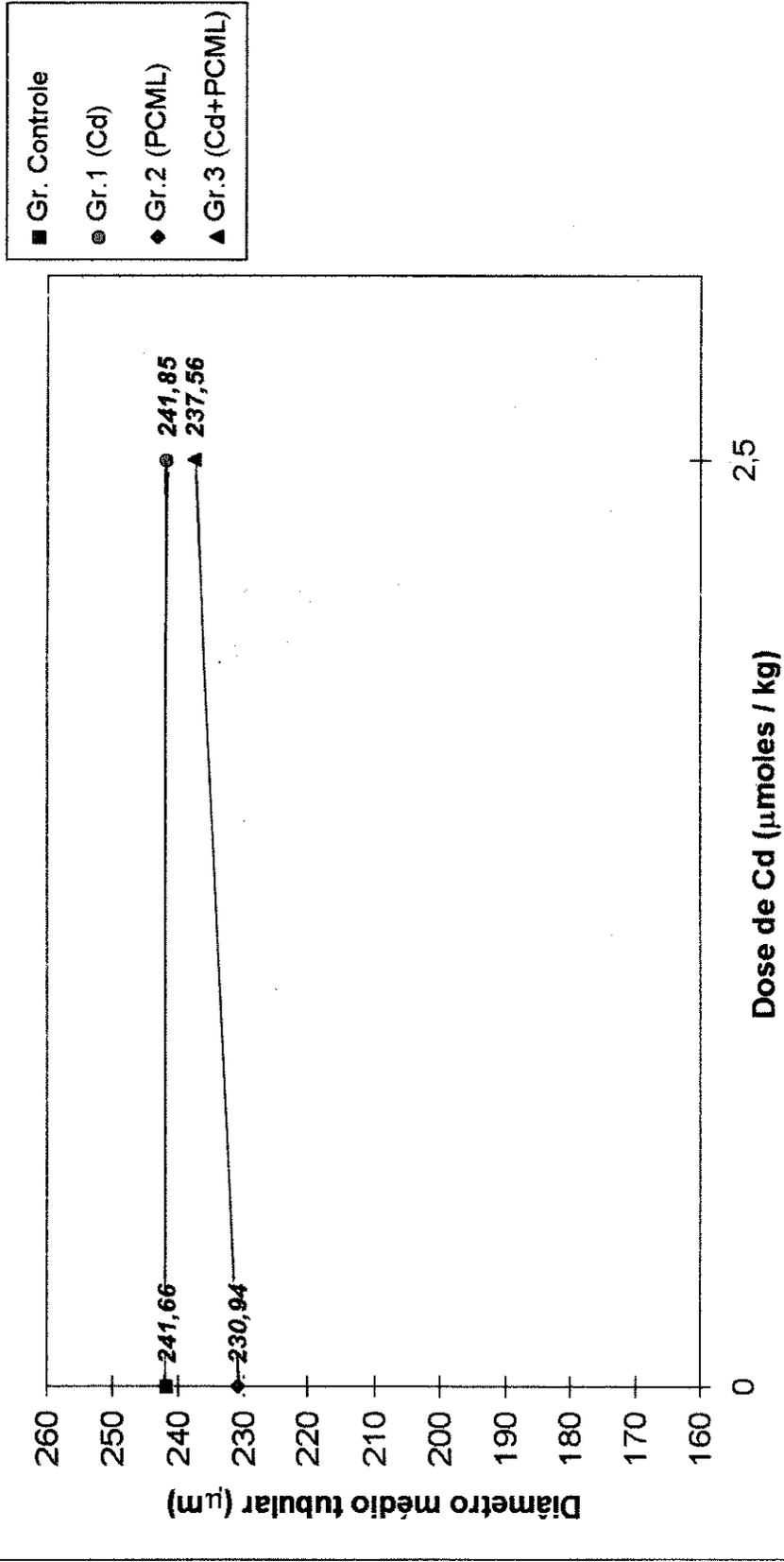


Gráfico 06 - Experimento 02 (duração 03 dias).

TABELA Nº 03 (Experimento 02)

Tabela 03 - Média e desvio padrão dos diâmetros (μm) de túbulos seminíferos dos animais do Experimento 02 (duração de 03 dias).

MORFOMETRIA		
ANIMAIS (Grupos)	TRATAMENTOS (Doses)	MÉDIA DOS DIÂMETROS Túbulos seminíferos (μm)
Gr. Contr. (n = 03)	-----	234,09 \pm 21,82
		239,08 \pm 17,21
		251,81 \pm 13,56
Gr. 01 (n = 03)	Cd (2,5 μmols / kg)	246,15 \pm 24,95
		245,41 \pm 35,13
		233,98 \pm 17,53
Gr. 02 (n = 03)	PCML (4,4 mmols / kg)	222,33 \pm 23,24
		235,03 \pm 13,46
		235,47 \pm 15,41
Gr. 03 (n = 03)	Cd + PCML (2,5 μmols / kg + 4,4 mmols / kg)	201,15 \pm 10,35
		271,86 \pm 25,84
		239,67 \pm 14,74

Obs.:

n = número de animais.

Cd - Cádmio na forma de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

PCML - Paracetamol na forma de Tylenol[®] - gotas.

TABELA Nº 04 (Experimento 02)

Tabela 04 - Análise de Variância dos diâmetros de túbulos seminíferos dos animais do Experimento 02.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA				
FATOR	G. L.	QUADRADO MÉDIO	F	p
<i>PCML</i>	1	642,64	1,71	0,223
<i>Cd</i>	1	34,24	0,09	0,769
<i>Cd + PCML</i>	1	312,87	0,83	0,385
<i>Erro</i>	9	375,35		

PCML - Paracetamol na forma de Tylenol[®] - gotas.

Cd - Cádmio na forma de Cloreto de Cádmio.

G. L. - Grau de Liberdade.

F - Teste F (Paramétrico).

p - Probabilidade.

3.1.4. Experimento 03.

Neste experimento foram estudados 20 animais, sendo 16 destes tratados com o cádmio sob forma de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em dose única de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$, ao primeiro dia. O primeiro animal (01), submetido a este tratamento foi sacrificado juntamente com um animal controle (C), após 08 dias da citada dose (ver Gráf. 07). Os demais animais foram sacrificados a cada 05 dias após o animal 01, tendo este experimento a duração de 83 dias. Os animais dos grupos controles, neste experimento, apresentaram descrições morfológicas semelhantes às descritas no item 3.1.1. Pelas observações diárias verificou-se que todos os animais deste experimento, alimentaram-se normalmente não apresentando alterações no comportamento nem sinais de "stress", durante o período experimental. O peso testicular teve como critério a média de pesos dos dois testículos (esquerdo e direito), por apresentarem valores muito próximos, exceção feita ao animal 13 que apresentou valores bem diferentes (Tab. 05).

Observações morfológicas.

Animais submetidos no primeiro dia ao cádmio sob forma de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, em dose única de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$:

- Animal (01) observado após 08 dias.

Os testículos deste animal apresentaram atrofia e aspecto externo hemorrágico. A média dos pesos testiculares deste animal submetido ao tratamento citado acima e observado após 08 dias foi de 0,53 g. Já o peso testicular do animal controle (C) sacrificado no mesmo dia foi de 1,24 g (Gráf. 08 e Tab. 05). O animal 01 tratado, como mostra o Gráf. 07 e Tab. 05, teve ganho de peso corporal de forma normal.

Ao exame microscópico, a túnica albugínea apresenta-se com grande espessamento, caracterizando uma hipertrofia (Fig. 10A, comparar com 1A). Observa-se em todo o parênquima testicular grande degeneração do tecido intersticial (Fig. 10A), onde nota-se edema e presença de infiltrado inflamatório (Fig. 10B). Os vasos sanguíneos apresentam-se congestionados e dilatados, com presença de coágulos intraluminais (Fig. 10B).

O epitélio seminífero apresenta o padrão histológico de necrose de coagulação (Fig. 10B), sendo observada em todo o testículo (Fig. 10A). A análise histológica revela os túbulos seminíferos com contornos irregulares mostrando-se contraídos em toda a extensão do parênquima testicular (Fig. 10A).

- *Animal (02) observado após 13 dias.*

Os testículos deste animal apresentaram atrofia e aspecto externo hemorrágico, sendo o peso testicular de 0,51 g (Gráf. 08 e Tab. 05). Pela análise do Gráf. 07 e Tab. 05, observa-se que este animal (02) teve aumento de peso corporal de forma normal.

A análise histológica mostra um grande espessamento da túnica albugínea (Figs. 10C e 10D). Observa-se a presença de muitas células, em processo de permição à túnica, conferindo-lhe um aspecto bastante compacto (Fig. 10D). O tecido intersticial apresenta edema, presença de muitas fibras e aumento do volume celular (Fig. 10D). Em algumas regiões do interstício, notam-se espaços claros indicando, provavelmente, início de hialinização. Alguns vasos sanguíneos apresentam espessamento fibro-hialino perivascular (Fig. 10D).

O epitélio seminífero apresenta necrose de coagulação em todo o parênquima testicular (Figs. 10C e 10D).

PRANCHA Nº 10 (Experimento 03)

Cortes histológicos de testículos de ratos submetidos ao $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em dose única de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$, corados com HE.

- Análise do material após 08 dias.

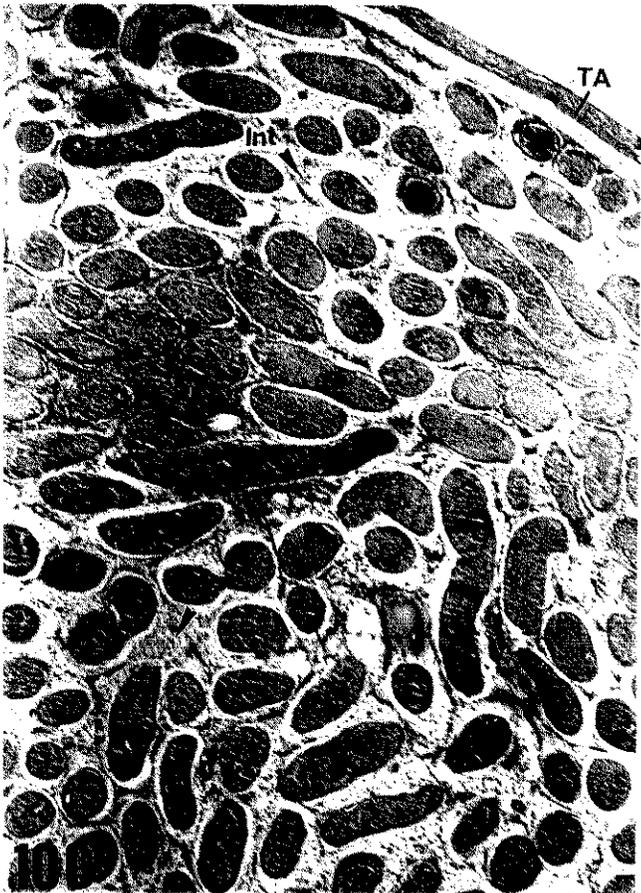
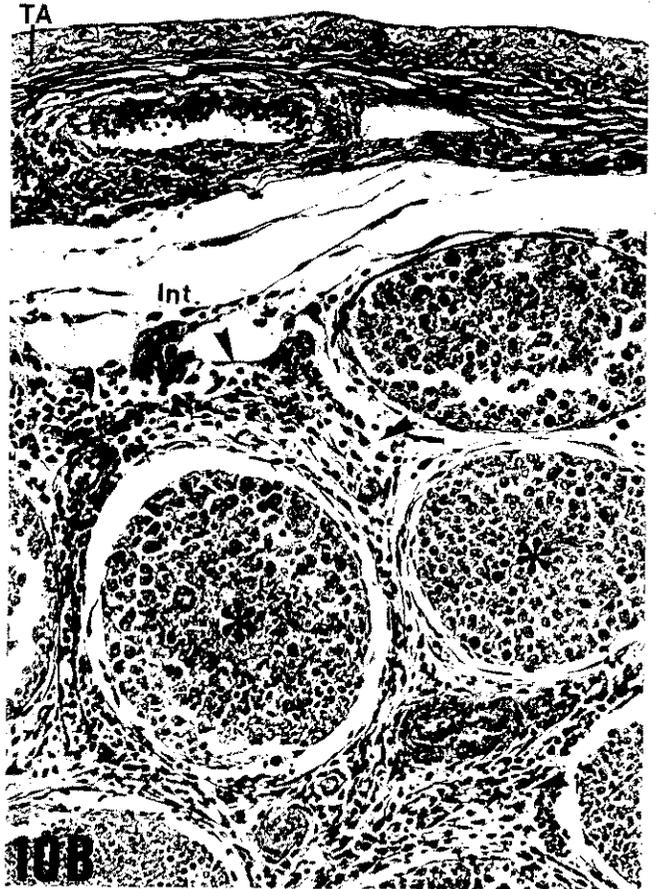
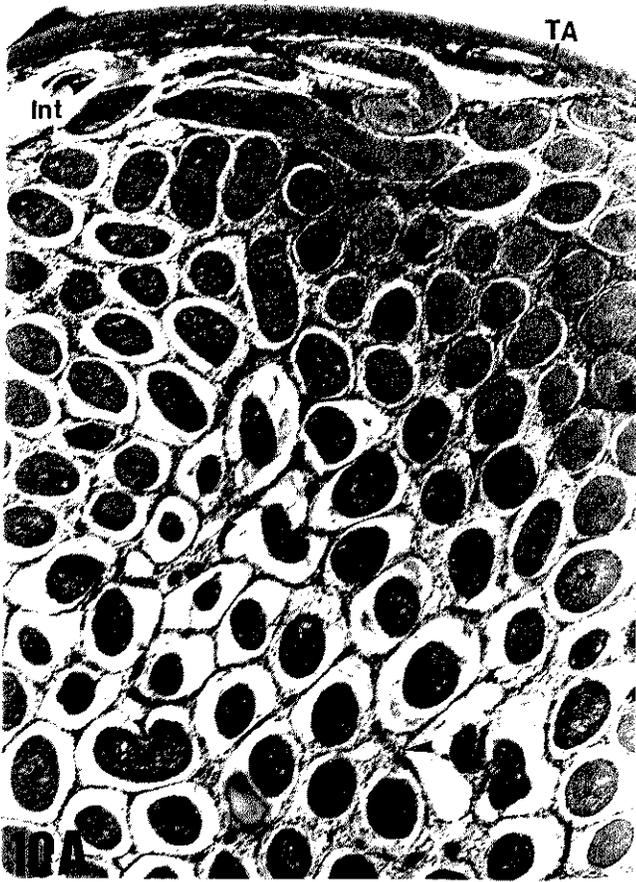
Figura 10A - Corte transversal, revelando a túnica albugínea (TA) com espessamento. Os túbulos seminíferos, apresentam-se degenerados e hipotróficos. Todo o epitélio seminífero (*) apresenta necrose. As pontas de setas indicam o edema e a hipertrofia do tecido intersticial (Int), com presença de infiltrado inflamatório. 40 X.

Figura 10B - Exame em maior aumento da figura anterior, onde observa-se o espessamento da túnica albugínea (TA). No interstício (Int) próximo à túnica (indicado pelas pontas de setas), nota-se o aumento do número das células intersticiais. O vaso sanguíneo (V) apresenta-se congestionado. O epitélio seminífero (*) apresenta necrose de coagulação. 250 X.

- Observação do material após 13 dias.

Figura 10C - Corte transversal do testículo, onde observa-se a túnica albugínea (TA) espessada. O interstício (Int) apresenta edema e hipertrofia, indicados pelas pontas das setas. Os túbulos seminíferos (*) apresentam-se necrosados em todo o parênquima testicular. 40 X.

Figura 10D - Detalhe da figura anterior, onde observa-se o espessamento da túnica albugínea (TA). No interstício (Int), as pontas de setas mostram a permição de células à túnica albugínea e presença de fibras. O epitélio seminífero (*) apresenta necrose de coagulação. A seta indica espessamento fibro-hialino perivascular. 230 X.



- Animal (03) observado após 18 dias.

Os testículos apresentaram atrofia e aspecto externo hemorrágico, sendo o peso testicular de 0,41 g (Gráf. 08 e Tab. 05). A análise do Gráf. 07 e Tab. 05, mostra que este animal (03), ganhou peso corporal de maneira normal.

Nota-se a túnica albugínea com grande espessamento (Figs. 11A e 11B), apresentando uma região mais externa fortemente necrosada (Fig. 11C). O tecido intersticial apresenta-se em total degeneração, com grande fibrose (Fig. 11D) e presença de infiltrado inflamatório inespecífico (Fig. 11C).

Nos vasos sanguíneos observa-se espessamento fibro-hialino perivascular, com presença de coágulos intraluminais (Fig. 11B). O epitélio seminífero apresenta necrose (Fig. 11A), notando-se na região central do parênquima testicular alguns focos de calcificação, em processo inicial (Fig. 11D).

- Animal (04) observado após 23 dias.

Os testículos apresentaram-se atroficos e hemorrágicos, com peso de 0,31 g (Gráf. 08 e Tab. 05). O desenvolvimento do peso corporal deste animal (04) como mostra o Gráf. 07 e Tab. 05, ocorreu normalmente.

A túnica albugínea apresenta grande espessamento, onde observa-se a invasão de vasos sanguíneos e parte do epidídimo (Fig. 11E). Os vasos sanguíneos apresentam espessamento fibro-hialino perivascular, com presença de coágulos intraluminais (Fig. 11F).

O tecido intersticial apresenta-se fibroso e em grande degeneração (Figs. 11E e 11F). O epitélio seminífero apresenta necrose em todo o parênquima testicular, sendo observados vários focos de calcificação.

PRANCHA Nº 11 (Experimento 03)

Cortes de testículos de ratos submetidos ao $CdCl_2.H_2O$ em dose única de 10 μ mols / kg.

- Observação do material após 18 dias.

Figura 11A - Corte transversal do testículo, mostrando a túnica albugínea (TA) com grande espessamento. O interstício (Int) indicado pelas pontas de setas, apresenta fibrose e total degeneração. Os túbulos seminíferos (*) mostram o padrão histológico de necrose em todo o parênquima testicular. No canto superior esquerdo e próximo à túnica albugínea, vê-se um vaso sanguíneo (V) em congestão, obliterado por coágulo no lúmen. 40 X.

Figura 11B - Detalhe do espessamento da túnica albugínea (TA) onde destaca-se o vaso sanguíneo (V) descrito na figura anterior. Notar a fibrose no tecido intersticial (Int), envolvendo o vaso e a total degeneração dos túbulos seminíferos (*). 70 X.

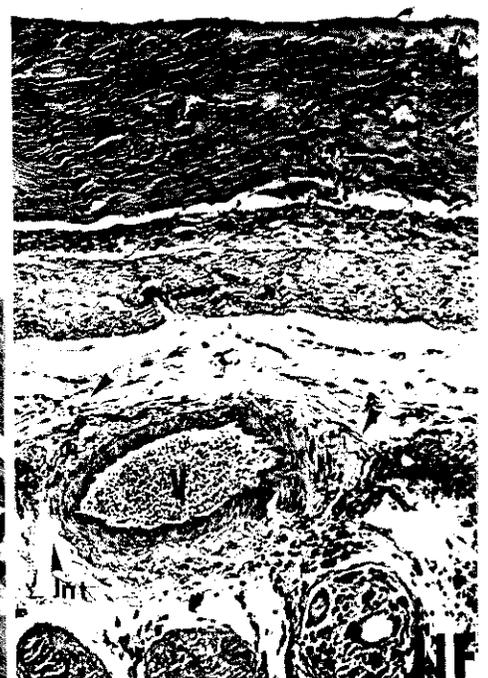
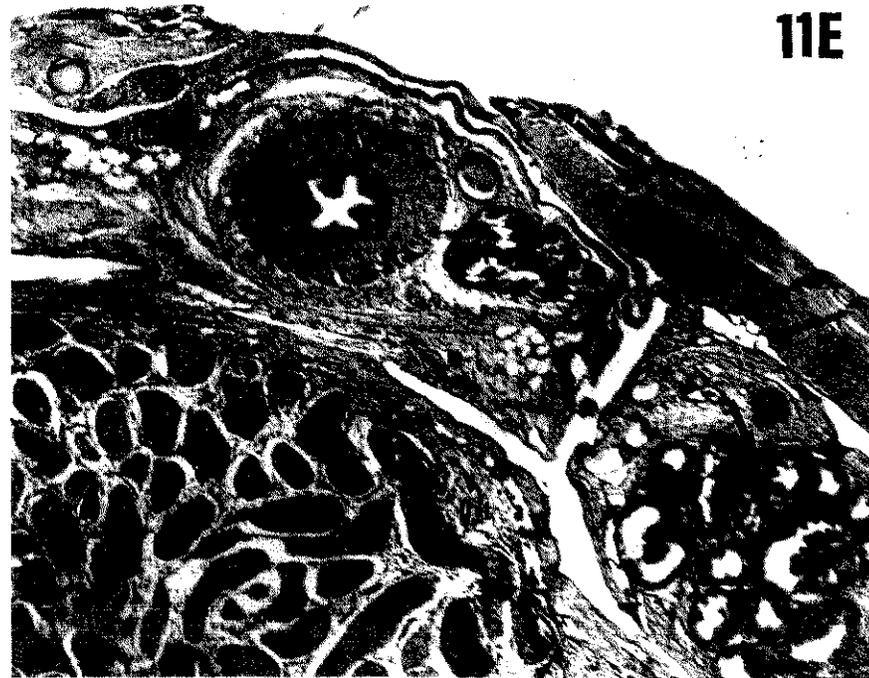
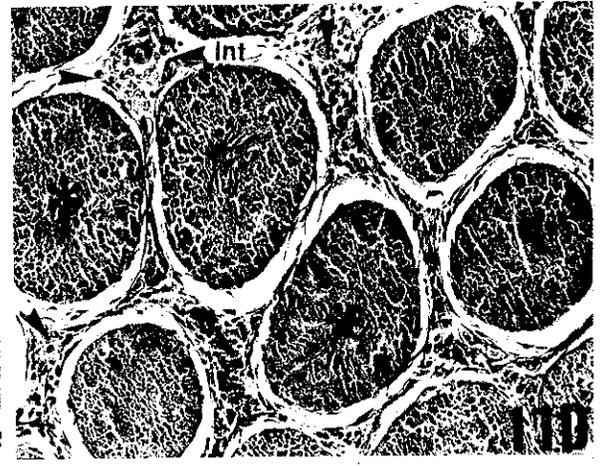
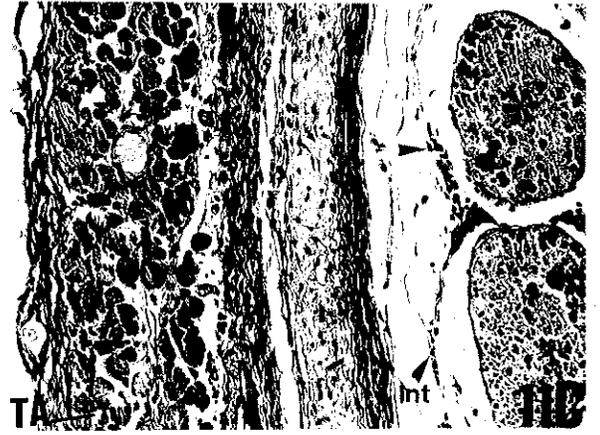
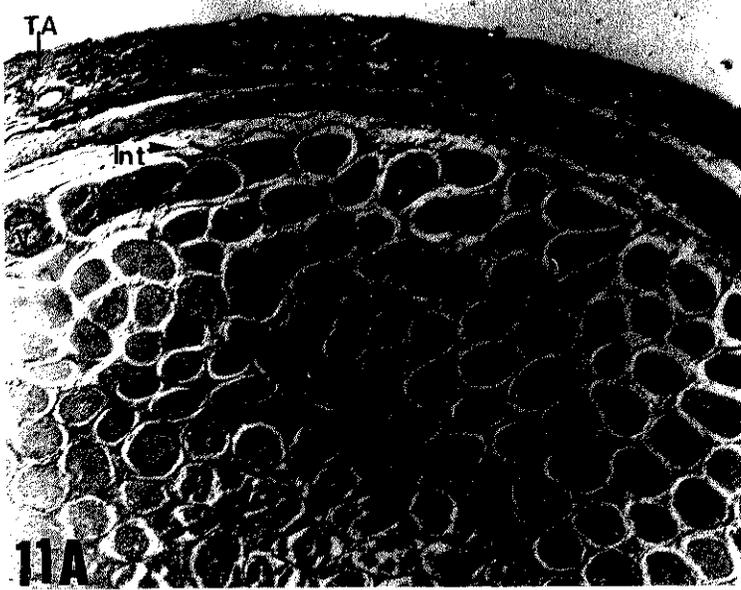
Figura 11C - Exame em maior aumento da hipertrofia da túnica albugínea (TA) onde observa-se uma região mais externa, fortemente necrosada. O tecido intersticial (Int) próximo à túnica albugínea, apresenta fibrose (pontas de setas). Os túbulos seminíferos (*) encontram-se necrosados. 100 X.

Figura 11D - Destaca-se nesta figura a degeneração do interstício (Int), indicada pelas pontas de setas. Os túbulos seminíferos (*) na região central do parênquima testicular, mostram alguns focos de calcificação (pontos mais escuros). 120 X.

- Análise do material após 23 dias.

Figura 11E - Micrografia destacando a hipertrofia da túnica albugínea (TA). A diminuição do tamanho do testículo, resultante da necrose dos túbulos seminíferos (*), permitiu a invasão de vasos e de parte do epidídimo indicado pela seta dentro da túnica. Observa-se a degeneração do interstício (Int). 40 X.

Figura 11F - Corte transversal de outra região do testículo, destacando um vaso sanguíneo (V) em congestão, com fibrose-hialina perivascular. O tecido intersticial (Int) indicado pelas pontas de setas, apresenta fibrose e total degeneração. 100 X.



- Animal (05) observado após 28 dias.

Os testículos deste animal apresentaram atrofia e aspecto externo hemorrágico, tendo o peso de 0,43 g (Gráf. 08 e Tab. 05). Este animal (05), teve ganho de peso corporal de forma normal, como mostra o Gráf. 07 e Tab. 05.

A túnica albugínea apresenta hipertrofia (Fig. 12A, relacionar com 1A). O interstício apresenta-se totalmente degenerado, destacando a presença de grande fibrose intersticial (Fig. 12B). Nota-se na parte central do parênquima testicular, grandes espaços hialinizados, onde anteriormente haviam túbulos seminíferos (Fig. 12A). O quadro histológico do epitélio seminífero é de necrose de coagulação, sendo observados também focos de calcificação (Fig. 12B). A Fig. 12A, mostra a hipotrofia dos túbulos seminíferos no parênquima testicular.

- Animal (06) analisado após 33 dias.

Os testículos apresentaram atrofia e aspecto externo hemorrágico, tendo o peso de 0,36 g (Gráf. 08 e Tab. 05). O peso corporal deste animal (06), analisado pelo Gráf. 07 e Tab. 05, mostra um aumento normal.

Observa-se grande espessamento da túnica albugínea formado por tecido muscular acima do tecido conjuntivo (Fig. 12C).

O tecido intersticial apresenta-se degenerado, com grande fibrose (Fig. 12C). Os vasos sanguíneos apresentam congestão, com presença de coágulos intraluminais.

O epitélio seminífero apresenta necrose de coagulação, sendo observada em todo o parênquima testicular (Figs. 12C e 12D). Notam-se nos túbulos seminíferos focos de calcificação distrófica (Fig. 12D).

PRANCHA Nº 12 (Experimento 03)

Cortes de testículos de ratos tratados com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em dose única de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$.

- Observação do material após 28 dias.

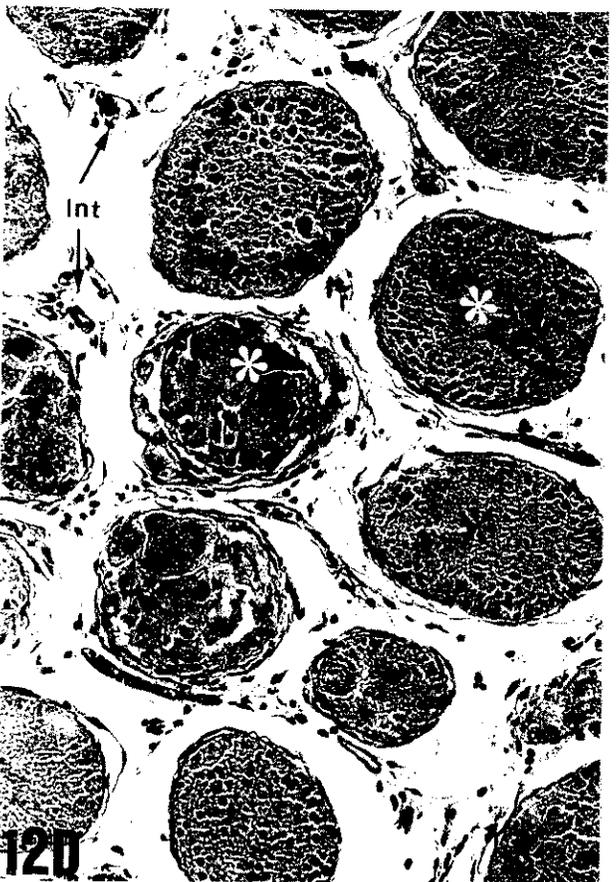
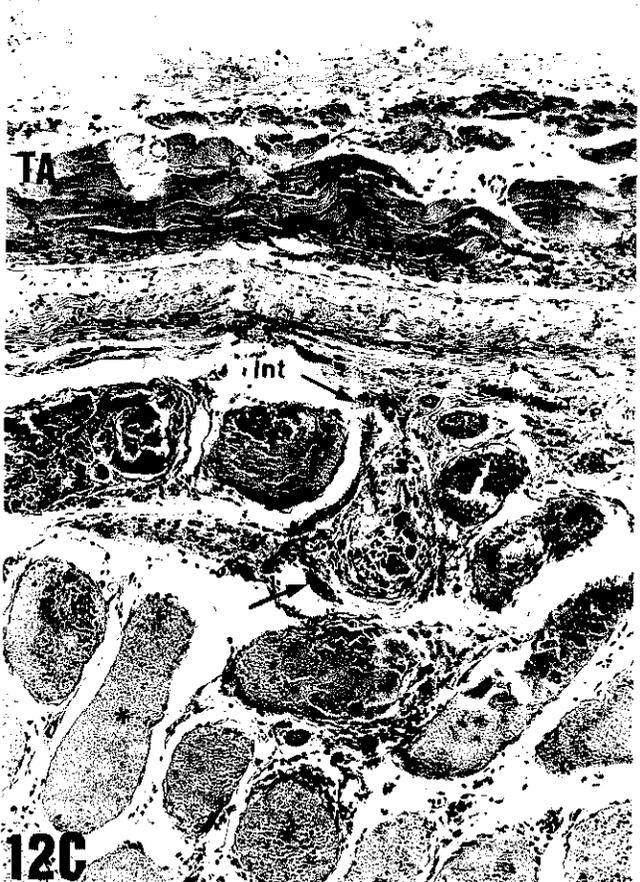
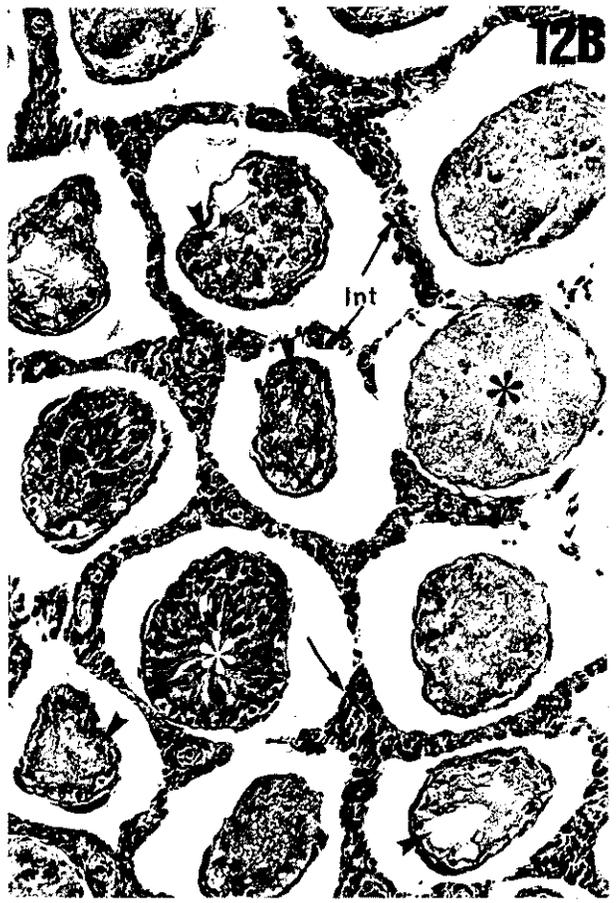
Figura 12A - Aspecto do testículo em corte transversal, onde observa-se a túnica albugínea (TA) com hipertrofia. Esta figura mostra grandes espaços (☆) hialinizados, deixados na parte central do parênquima testicular, pela total degeneração dos túbulos seminíferos. As pontas de setas, indicam a fibrose e degeneração do tecido intersticial. Os túbulos seminíferos (*), apresentam o quadro histológico de necrose do tipo coagulativa. 40 X.

Figura 12B - Detalhe dos túbulos seminíferos (*), onde observa-se a necrose. No epitélio seminífero (pontas de setas), notam-se focos de calcificação. O interstício (Int) indicado pelas setas, apresenta intensa fibrose e a total degeneração deste tecido. 180 X.

- Análise do material após 33 dias.

Figura 12C - Micrografia destacando o aspecto compacto da túnica albugínea (TA), onde observa-se o tecido muscular acima do tecido conjuntivo. No interstício (Int) nota-se grande fibrose e degeneração deste tecido. Os túbulos seminíferos (*) apresentam necrose de coagulação. 80 X.

Figura 12D - Detalhe dos túbulos seminíferos (*), onde observa-se focos de calcificação distrófica no epitélio seminífero. No interstício (Int) indicado pela seta, nota-se a total degeneração deste tecido. 200 X.



- Animal (07) observado após 38 dias.

Os testículos deste animal apresentaram atrofia e aspecto hemorrágico, sendo o peso de 0,51 g (Gráf. 08 e Tab. 05). O desenvolvimento do peso corporal deste animal (07), indicado no Gráf. 07 e Tab. 05, revela um aumento de forma normal.

A observação da túnica albugínea, pela análise histológica revela uma grande hipertrofia (Fig. 13A). O interstício apresenta grande degeneração e fibrose (Fig. 13A e 13B). Nota-se intensa congestão dos vasos sanguíneos.

O epitélio seminífero apresenta necrose de coagulação em evolução adiantada, notando-se intensa calcificação distrófica (Fig. 13B).

- Animal (08) analisado após 43 dias.

Os testículos deste animal apresentaram forma ovóide e aspecto normal. O peso testicular foi de 1,57 g (Gráf. 08), sendo igual a pesagem do animal controle, sacrificado no mesmo dia (veja Tab. 05). Este animal (08), teve ganho de peso corporal de forma normal, como mostra o Gráf. 07 e Tab. 05.

Pela análise microscópica da túnica albugínea, nota-se que esta manteve o padrão histológico normal (Fig. 13C comparar com Fig. 1B).

O tecido intersticial apresenta leve edema (Fig. 13D). Observa-se a dilatação e congestão dos vasos sanguíneos, em áreas não fotografadas do interstício.

O epitélio seminífero apresenta o padrão histológico muito próximo ao normal de células espermatogênicas, podendo ser vistas em vários estádios de desenvolvimento (Figs. 13C e 13D).

PRANCHA N° 13 (Experimento 03)

Cortes de testículos de ratos submetidos ao $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em dose única de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$.

- Observação do material após 38 dias.

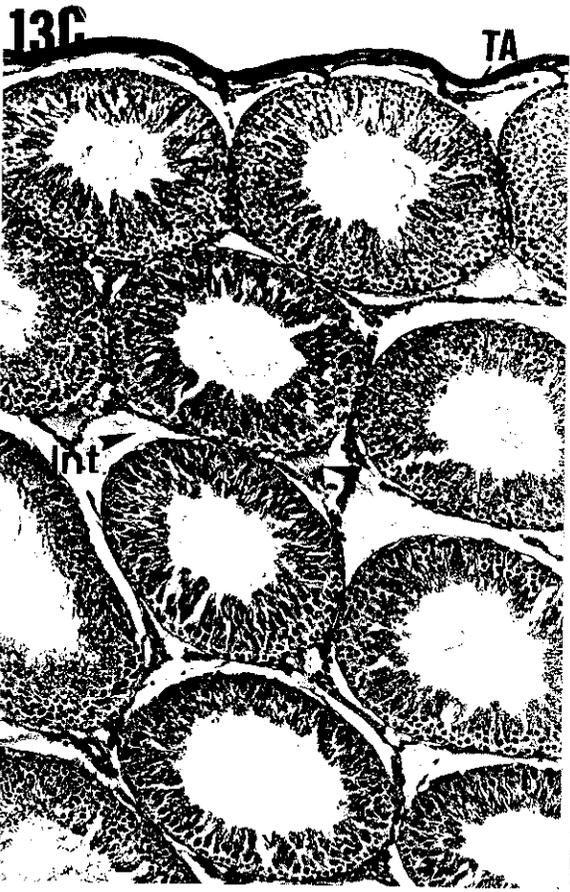
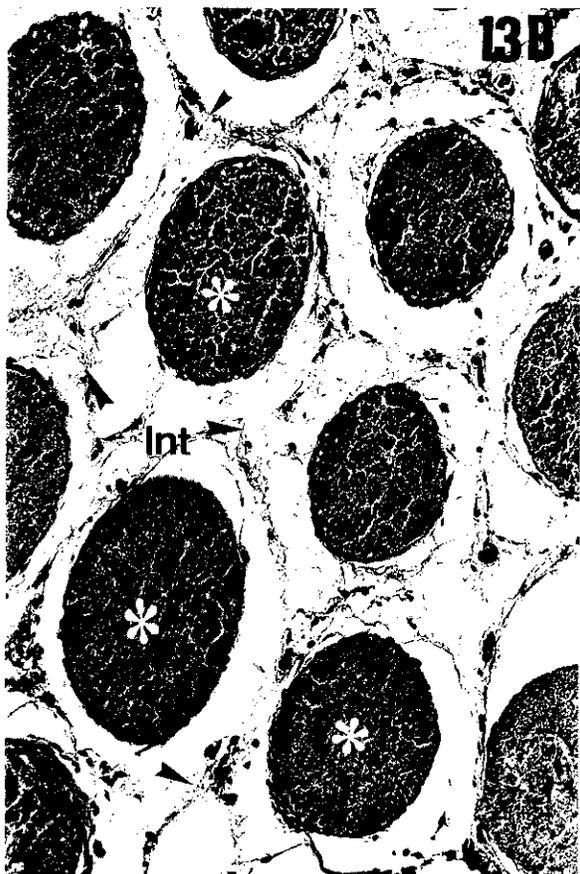
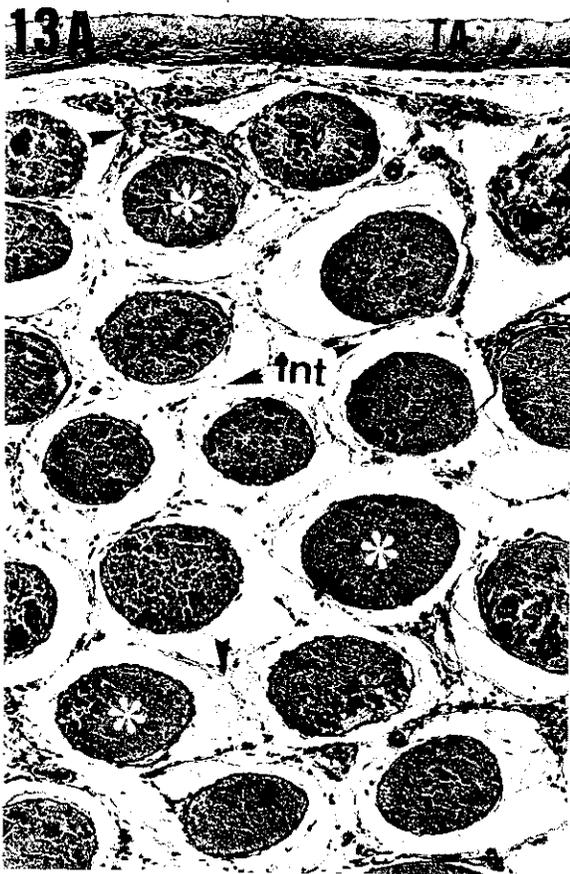
Figura 13A - Corte transversal onde observa-se a hipertrofia da túnica albugínea (TA). O interstício (Int) indicado pelas pontas de setas, apresenta o aspecto fibróide. A ponta de seta próxima à tunica albugínea, mostra uma área com hipertrofia intersticial. O epitélio seminífero (*) apresenta necrose de coagulação. 80 X.

Figura 13B - Detalhe dos túbulos seminíferos, onde observa-se a necrose destes. Nota-se a degeneração do interstício (Int) com presença de grande fibrose. Observa-se no epitélio seminífero (*) calcificação distrófica. 200 X.

- Análise do material após 43 dias.

Figura 13C - Aspecto parcial do testículo, onde observa-se a túnica albugínea (TA) com aspecto normal. As pontas de setas no tecido intersticial (Int), indicam leve edema. O epitélio seminífero apresenta-se normal quanto às células espermatogênicas. 110 X.

Figura 13D - Detalhe dos túbulos seminíferos da figura anterior, onde observa-se o padrão histológico normal da espermatogênese. O interstício (Int) apresenta edema, sendo indicado pelas pontas de setas. 250 X.



- Animal (09) analisado após 48 dias.

Os testículos apresentaram atrofia e aspecto hemorrágico, sendo o peso de 0,62 g (Gráf. 08 e Tab. 05). O desenvolvimento do peso corporal deste animal (09), ocorreu normalmente como mostra o Gráf. 07 e Tab. 05.

Ao exame microscópico da túnica albugínea, observa-se espessamento (Fig. 14A). Os vasos sanguíneos presentes na túnica apresentam-se bastante congestionados, com coágulos no lúmen (Fig. 14B).

O tecido intersticial encontra-se com edema e hipertrófico (Fig. 14B). Nota-se a expressiva degeneração do tecido intersticial, sendo observada grande fibrose (Figs. 14A e 14B).

Alguns túbulos apresentam hialinização do epitélio seminífero (Fig. 14A), enquanto em outros nota-se grande necrose e presença de calcificação distrófica (Fig. 14B).

- Animal (10) observado após 53 dias.

Os testículos deste animal apresentaram as maiores atrofias visíveis externamente, notando-se grandes hemorragias. A pesagem testicular foi de 0,27 g (ver Gráf. 08 e Tab. 05). Pela análise do Gráf. 07 verifica-se que, o desenvolvimento do peso corporal neste animal (10), ocorreu normalmente.

O aspecto histológico da túnica albugínea, mostra um intenso espessamento (Figs. 14D e 14C). Várias camadas de tecido muscular podem ser vistas na Fig. 14D, dispostas em aposição ao tecido conjuntivo que forma a túnica albugínea.

Os vasos sanguíneos próximos à túnica ou atravessando-a apresentam congestão, notando-se coágulos intraluminais (Fig. 14D). Também em

outras regiões do parênquima testicular, observam-se vasos sanguíneos congestionados. Destaca-se na Fig. 15B, um corte tangencial de vaso sanguíneo, onde observam-se numerosos núcleos de leucócitos em permissão ao tecido intersticial, indicando um processo de infiltração inflamatória inespecífica.

O tecido intersticial apresenta total degeneração, com hipertrofia, presença de fibroses e focos de colagenização (Figs. 14C, 14E, 15A e 15B).

Em vários locais do interstício, notam-se agregados de um pigmento granular amarelo-dourado, identificado como hemossiderina (Fig. 15A e 15B).

O epitélio seminífero em colapso, apresenta necrose (Fig. 15A). Pode-se observar regiões de grande calcificação distrófica, vistas nas Figs. 15A e 15B.

O parênquima testicular apresenta-se completamente degenerado, pois já não se vêem contornos de túbulos seminíferos (Fig. 14E). Observa-se na Fig. 14D uma fibrose-hialina peritubular com conteúdo calcificado que caracteriza a lesão grave do epitélio seminífero.

PRANCHA Nº 14 (Experimento 03)

Cortes de testículos de ratos tratados com dose única de CdCl₂.H₂O a 10 μmols / kg.

- Análise do material após 48 dias.

Figura 14A - Micrografia do testículo, onde observa-se a túnica albugínea (TA) com grande espessamento e nela, indicada pela seta menor (↑), um vaso sanguíneo congestionado com coágulo intraluminal. O interstício (Int) próximo à túnica apresenta edema. A seta maior indica fibrose e hipertrofia intersticial. O epitélio seminífero apresenta-se necrosado. O túbulo seminífero (*) central desta figura, apresenta hialinização do epitélio germinativo. 80 X.

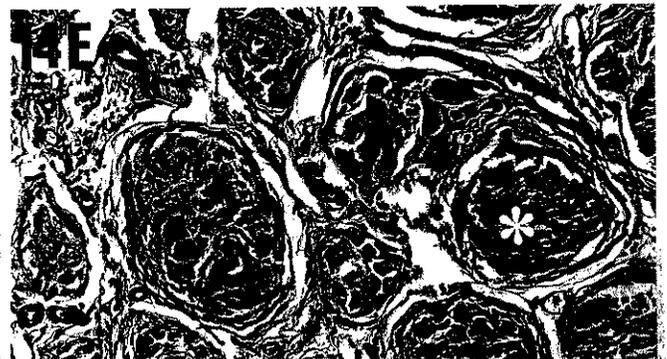
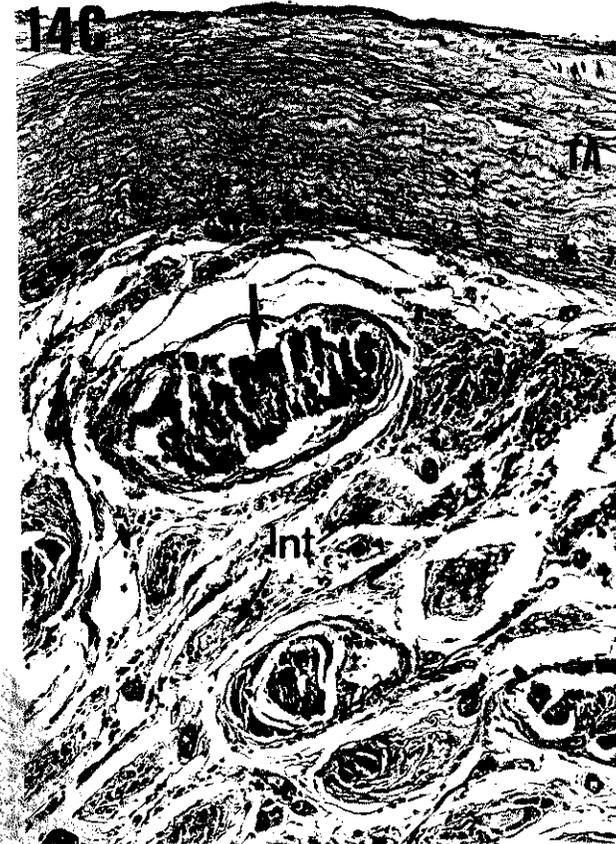
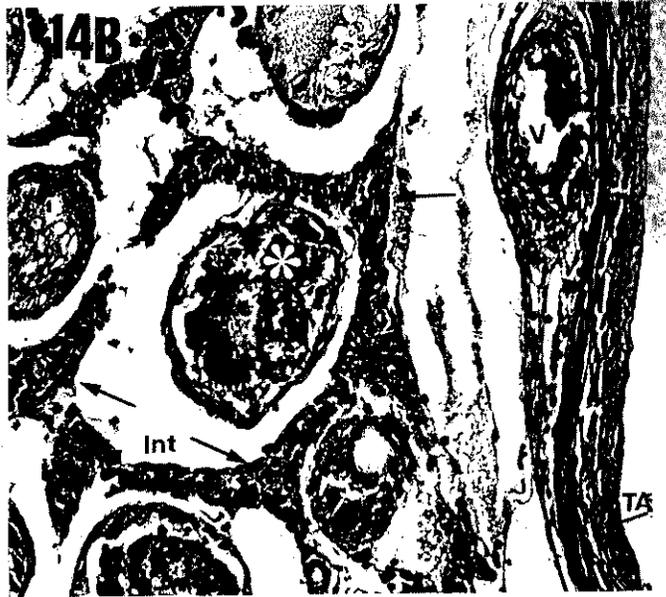
Figura 14B - Detalhe parcial do testículo, onde observa-se a túnica albugínea (TA) com vaso sanguíneo (V) em congestão. A seta (próxima a esse vaso), indica edema intersticial. As demais setas indicam a hipertrofia do tecido intersticial (Int). O túbulo seminífero (*) mostra o padrão histológico de necrose de coagulação e calcificação distrófica. 160 X.

- Observação do material após 53 dias.

Figura 14C - Corte transversal do testículo esquerdo, mostrando a intensa hipertrofia da túnica albugínea (TA). O interstício (Int) indicado pela seta menor apresenta-se fibroso. A seta maior indica calcificação distrófica do epitélio seminífero. 110 X.

Figura 14D - Corte transversal de testículo direito do mesmo animal visto na figura anterior, onde observa-se a túnica albugínea (TA) com um espessamento maior. Na camada central da túnica, nota-se um vaso sanguíneo (V) congestionado. O túbulo seminífero (*) apresenta calcificação distrófica e a seta indica outro túbulo com conteúdo calcificado e fibrose-hialina peritubular. 100 X.

Figura 14E - Detalhe da calcificação distrófica do epitélio seminífero (*) no parênquima testicular esquerdo. 140 X.



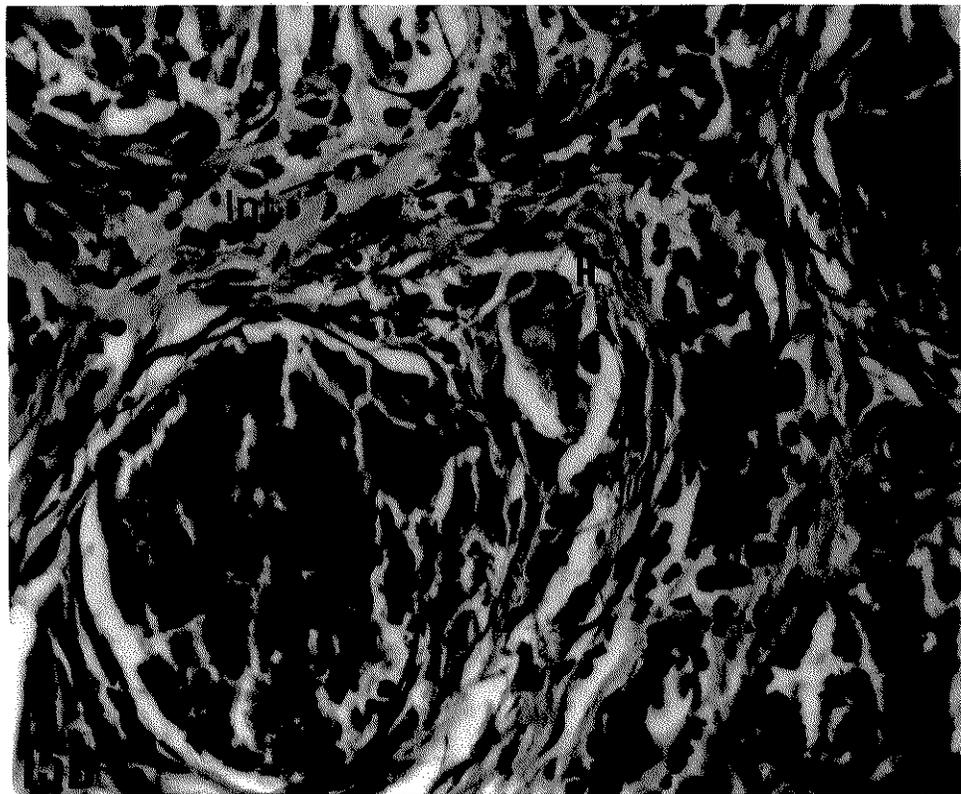
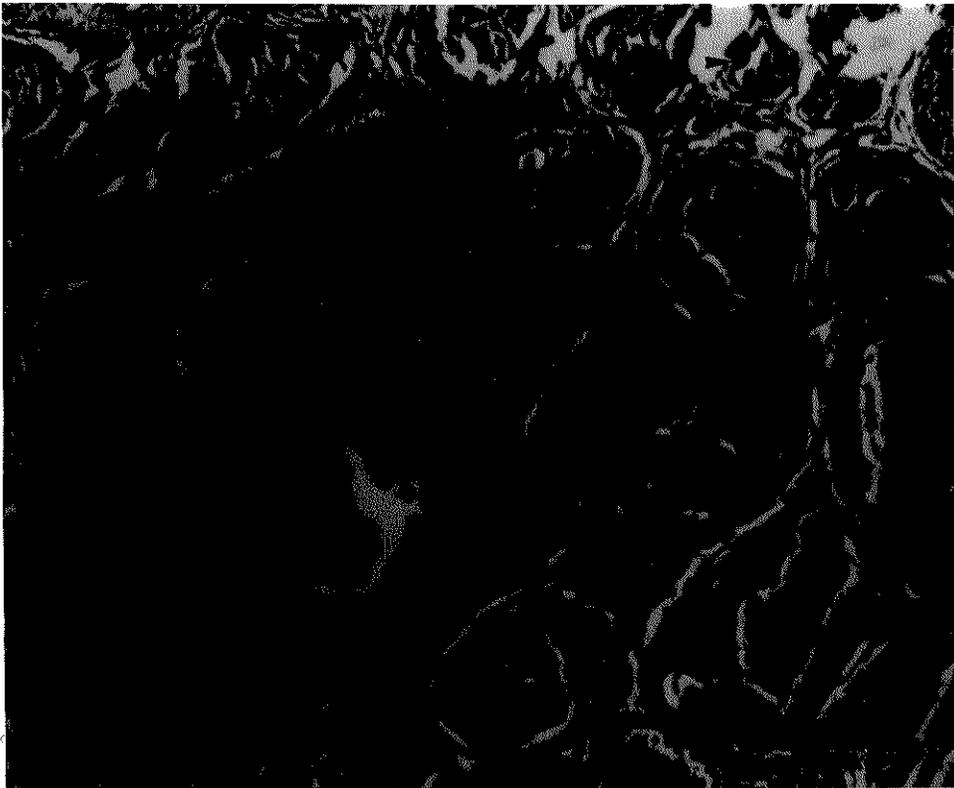
PRANCHA Nº 15 (Experimento 03)

Cortes de testículos de ratos submetidos ao CdCl₂.H₂O em dose única de 10 µmols / kg.

- Análise do material após 53 dias.

Figura 15A - Corte transversal do testículo esquerdo, onde observa-se o espessamento da túnica albugínea (TA). O interstício (Int) indicado pela seta apresenta-se degenerado com edema, fibrose e focos de colagenização. O epitélio seminífero (★), foi substituído por concreções calcificadas. As pontas de setas indicam pigmentos endógenos em vários pontos do parênquima testicular. 110 X.

Figura 15B - Exame em maior aumento da Fig. 15A, onde o interstício (Int) apresenta infiltrado inflamatório inespecífico, indicado pelas pontas de setas. O vaso sanguíneo (V) congestionado apresenta núcleos de leucócitos mononucleados (→), sendo também observados no corte tangencial de outro vaso próximo. O epitélio seminífero (★) apresenta-se necrosado com calcificação distrófica. Observa-se no interstício sob forma de grumo, um pigmento granular amarelo-dourado, a hemossiderina (H). 430 X.



- *Animal (11) observado após 58 dias.*

Os testículos apresentaram atrofia e aspecto hemorrágico, tendo o peso de 0,38 g (ver Gráf. 08 e Tab. 05). Este animal (11), apresentou ganho de peso corporal normalmente, com mostra o Gráf. 07 e Tab. 05.

Microscopicamente, a túnica albugínea apresenta grande espessamento (Fig. 16A). O tecido intersticial apresenta-se totalmente degenerado com hipertrofia e presença de grandes espaços claros (hialinizados). Nota-se grande fibrose e colagenização no interstício (Fig. 16C). Observa-se a congestão dos vasos sanguíneos (Fig. 16B) com presença de coágulos intraluminais (Fig. 16C). O epitélio seminífero apresenta necrose em todo o parênquima testicular (Fig. 16A). Pode-se observar vários padrões histológicos da evolução da necrose, no epitélio seminífero (Fig. 16A). A maior parte dos túbulos seminíferos, apresentam-se calcificados (Figs. 16A, 16B e 16C). Nota-se degeneração hialina peritubular, com conteúdo calcificado em alguns túbulos, como mostra a Fig. 16A. Observa-se também grandes espaços desocupados deixados por túbulos degenerados (Fig. 16C).

- *Animal (12) analisado após 63 dias.*

Os testículos deste animal apresentaram a forma ovóide e aspecto externo normal. A pesagem testicular foi de 1,46 g e o testículo do animal controle sacrificado no mesmo dia, pesou 1,52 g (consultar Gráf. 08 e Tab. 05). O animal (12), teve ganho de peso corporal normalmente, como mostra o Gráf. 07 e Tab. 05).

A análise microscópica da túnica albugínea, revela um pequeno espessamento desta (Fig. 16D). O tecido intersticial apresenta algumas regiões com edema (Figs. 16D e 16 F). O epitélio seminífero, mostra-se histologicamente normal, quanto às células espermatogênicas (Figs. 16E e 16F).

PRANCHA Nº 16 (Experimento 03)

Cortes de testículos de ratos submetidos ao $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, na dose única de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$.

- Observação do material após 58 dias.

Figura 16A - Corte transversal do testículo, onde observa-se o espessamento da túnica albugínea (TA). O interstício (Int) próximo à túnica, apresenta grande degeneração fibróide. A seta indica hipertrofia das células intersticiais. Nota-se no tecido intersticial, focos de colagenização. Os túbulos seminíferos, apresentam degeneração hialina peritubular. Observa-se no epitélio seminífero (*) necrose e calcificação distrófica. 80 X.

Figura 16B - Detalhe do parênquima testicular, onde observam-se estágios evolutivos da necrose, como a calcificação distrófica e hialinização completa do epitélio germinativo (*). O interstício (Int), indicado pelas setas apresenta hipertrofia e fibrose. Observa-se um vaso sanguíneo (V) com coágulo intraluminal. 140 X.

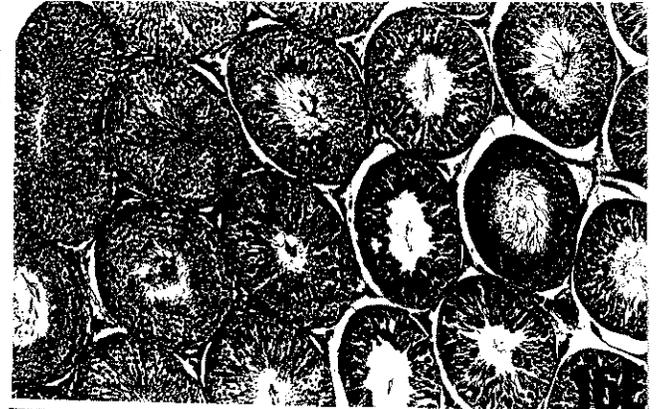
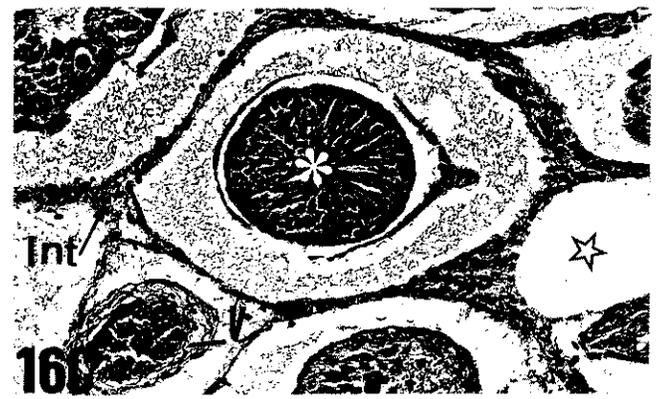
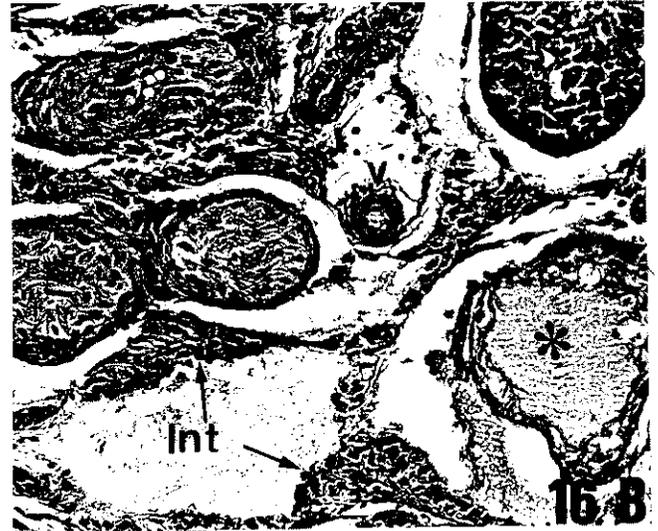
Figura 16C - Detalhe de um túbulo seminífero calcificado (*) e em volta a fibrose do tecido intersticial (Int), que apresenta-se degenerado. Observa-se um vaso sanguíneo (V), com fibrose-hialina perivascular. Alguns espaços desocupados (☆), resultam da degeneração dos túbulos seminíferos. 140 X.

- Análise do material após 63 dias.

Figura 16D - Corte transversal onde nota-se a túnica albugínea (TA) com pequeno espessamento. Observa-se um vaso sanguíneo (V), próximo à túnica com coágulo no lúmen. O interstício (Int) apresenta edema, indicado pelas setas (←). O epitélio seminífero (★) apresenta diversos estádios do ciclo espermatogênico normal. 110X.

Figura 16E - Detalhe dos túbulos seminíferos onde observam-se vários estádios do ciclo do epitélio seminífero. Notam-se caudas de espermatozóides maduros no lúmen tubular. 80 X.

Figura 16F- Destaque para o edema no interstício (Int) indicado pela ponta de seta. 130 X.



- Animal (13) observado após 68 dias.

O testículo esquerdo deste animal apresentou forma ovóide com aspecto externo normal, pesando 1,36 g. No entanto, o testículo direito apresentou atrofia, observando-se a congestão dos vasos testiculares e pesando 0,79 g (ver Gráf. 08). A análise do Gráf. 07, revela que este animal (13), teve aumento do peso corporal normalmente (veja também Tab. 05).

A análise microscópica entretanto, mostra que em ambos testículos houve espessamento da túnica albugínea. O tecido intersticial apresenta edema, fibrose, infiltrado inflamatório inespecífico e hipertrofia das células intersticiais (Figs. 17A e 17B).

Os vasos sanguíneos, apresentam grande congestão com presença de coágulos intraluminais e fibrose-hialina perivascular (Fig. 17B).

O epitélio seminífero apresenta vários padrões histológicos, onde observa-se alguns túbulos aparentemente normais (testículo esquerdo visto na Fig. 17A) e outros em grande degeneração hialina (testículo direito visto na Fig. 17B).

- Animal (14) observado após 73 dias.

Os testículos deste animal apresentaram atrofia e aspecto externo hemorrágico, tendo o peso de 0,39 g (ver Gráf. 08 e Tab. 05). Pela análise do Gráf. 07 e Tab. 05, observa-se que este animal (14), teve aumento normal do peso corporal.

A análise histológica mostra o grande espessamento da túnica albugínea, onde observa-se a presença do tecido muscular conjugado ao tecido conjuntivo, conferindo um aspecto compacto. Nota-se a presença de tecido adiposo areolar recobrimo e preenchendo todo o parênquima testicular (Figs. 17C, 17D).

Observa-se também o epidídimo livre de espermatozóides, invadindo a túnica albugínea (Fig. 17C). Nota-se a presença de grandes espaços vazios que acompanham o tecido intersticial e túbulos seminíferos degenerados (Figs. 17C, 17D).

Os vasos sanguíneos apresentam congestão (Fig.17D). O órgão apresenta-se hipotrófico, com a absorção completa do parênquima testicular.

PRANCHA Nº 17 (Experimento 03)

Cortes de testículos de ratos tratados com o $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, em dose única de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$.

- Observação do material após 68 dias.

Figura 17A - Micrografia de testículo esquerdo, onde observa-se o espessamento da túnica albugínea (TA). No interstício (Int) nota-se em determinadas áreas presença de infiltrado inflamatório e edema. Alguns túbulos apresentam total degeneração hialina (☆), porém outros estão pouco modificados. 110 X.

Figura 17B - Detalhe dos túbulos seminíferos do testículo direito do mesmo animal da figura anterior, onde observa-se a degeneração hialina do epitélio seminífero (☆). Nota-se a fibrose no tecido intersticial (Int), sendo indicada pela seta. A seta maior, mostra a hipertrofia das células intersticiais. Observa-se no vaso sanguíneo (V) coágulo intraluminal e fibrose-hialina perivascular. 160 X.

- Análise do material após 73 dias.

Figura 17C - Corte transversal do testículo, destacando a hipotrofia do órgão. O parênquima testicular foi totalmente absorvido. Observa-se a substituição dos tecidos normais pelo tecido adiposo areolar (Ad). Notar a invasão do epidídimo (Ep) na túnica albugínea (TA) que apresenta-se espessada. Verifica-se a presença de grandes espaços hialinizados (☆) acompanhando os tecidos degenerados do parênquima testicular. 35 X.

Figura 17D - Detalhe em maior aumento da figura anterior, onde observa-se o espessamento da túnica albugínea (TA), pela conjugação do tecido muscular ao tecido conjuntivo denso. Logo abaixo da túnica, verifica-se tecido areolar adiposo (Ad). Notam-se espaços deixados pela absorção dos túbulos seminíferos necrosados. Os espaços (☆) são delimitados pelo tecido intersticial em degeneração. Identifica-se um vaso sanguíneo (V) congestionado. 100 X.

- Animal (15) analisado após 78 dias.

Os testículos deste animal apresentaram forma ovóide, porém com congestão dos vasos sanguíneos testiculares. O peso testicular foi de 2,04 g (veja Gráf. 08 e Tab. 05). O animal (15), como mostra o Gráf. 07 e Tab. 05, foi o que mais ganhou peso corporal dos animais deste experimento.

A observação microscópica revela um pequeno espessamento da túnica albugínea (Fig. 18A). O tecido intersticial apresenta edema e observa-se quantidades irregulares de células intersticiais. Nota-se no parênquima testicular, algumas áreas de hialinização do tecido intersticial (Fig. 18B). O epitélio seminífero é normal e aparecem vários tipos celulares da espermatogênese (Figs. 18A e 18B).

- Animal (16) observado após 83 dias.

Os testículos deste animal, podem ser descritos como atróficos e hemorrágicos. A pesagem testicular foi de 0,55 g, enquanto o peso do testículo do animal controle, sacrificado no mesmo dia foi de 1,39 g (ver Gráf. 08). A evolução do peso corporal deste animal (16), como mostra o Gráf. 07 e Tab. 05, ocorreu de maneira normal.

A observação do órgão a fresco revelou o enrijecimento deste, caracterizando uma possível esclerose da túnica albugínea. Pela análise histológica a túnica apresenta grande hipertrofia (Fig. 18C). O tecido adiposo ocupa quase que a totalidade do órgão. O epidídimo sem o conteúdo normal de espermatozóides, ocupou também o espaço deixado pela reabsorção dos túbulos seminíferos necrosados (Fig 18D). O órgão apresenta apenas restos de tecido intersticial com necrose e calcificação dos espaços deixados pela degeneração total dos tecidos normais do parênquima testicular (Fig. 18C).

PRANCHA Nº 18 (Experimento 03)

Cortes de testículos de ratos tratados com CdCl₂.H₂O em dose única de 10 µmols / kg.

- Observação do material após 78 dias.

Figura 18A - Aspecto parcial do corte transversal, onde nota-se um pequeno espessamento da túnica albugínea (TA). O interstício (Int) indicado pela seta, apresenta edema. No epitélio seminífero nota-se em diversos túbulos uma escassez de células germinativas em fase de diferenciação, enquanto outro túbulo (★) apresenta um maior número destas. 110 X.

Figura 18B - Detalhe para o espessamento da túnica albugínea (TA). O interstício (Int) apresenta edema com áreas hialinizadas, sendo indicadas pelas setas. O túbulo seminífero (★), apresenta um número maior de células em diferenciação, enquanto os demais apresentam uma população mais reduzida. 250 X.

- Análise do material após 83 dias.

Figura 18C - Visão geral do testículo hipotrófico, onde a túnica albugínea (TA) apresenta o aspecto de uma cápsula muito espessa. O tecido adiposo areolar (Ad) ocupa quase a totalidade do órgão. Espaços deixados pela degeneração dos túbulos são delimitados por tecido intersticial necrosado e calcificado. O epidídimo (Ep) ocupa o espaço dos tecidos normais do parênquima testicular, dentro da túnica albugínea. 40 X.

Figura 18D - Detalhe em maior aumento do corte visto na figura anterior, onde observa-se o tecido epididimário (Ep) com aspecto normal, porém sem conteúdo, sendo indicado pelas setas. 160 X.

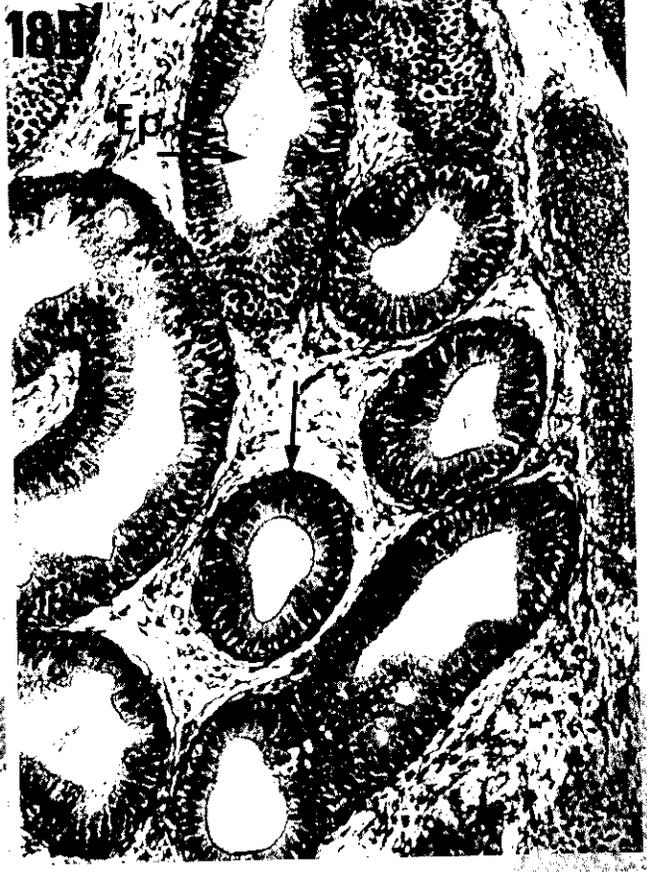
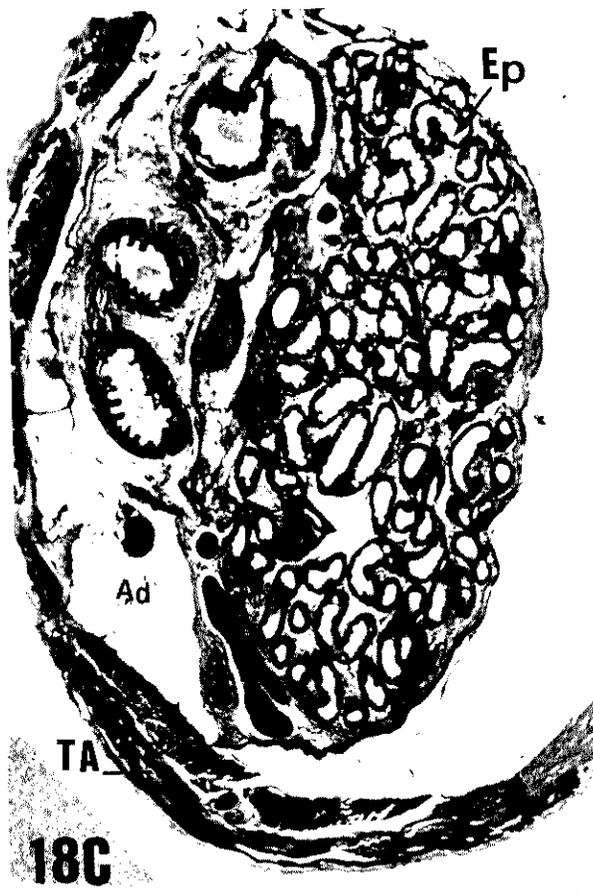
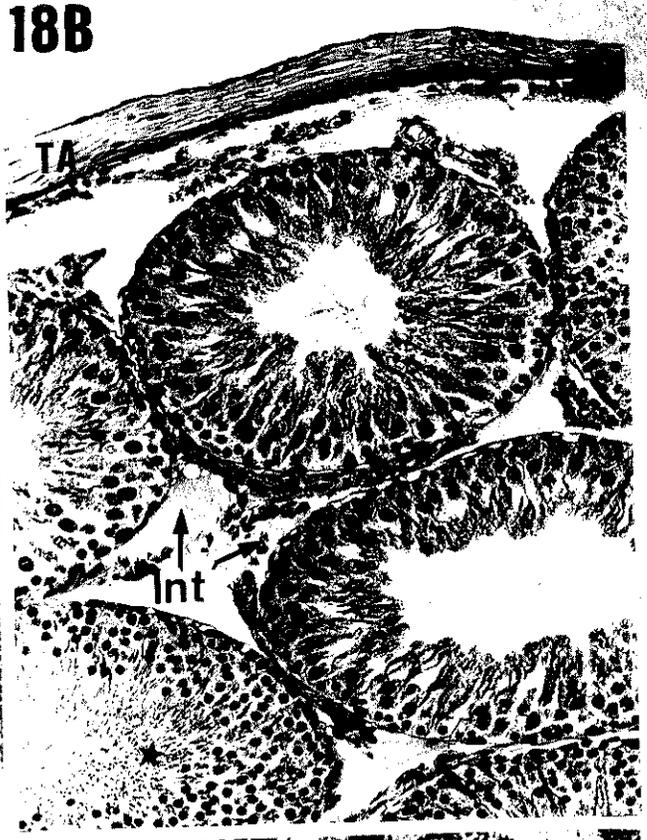


GRÁFICO Nº 07 (Experimento 03)**Gráfico 07 - Peso corporal dos animais.**

Desenvolvimento do peso corporal (g) dos animais dos grupos controle (C) e tratados ao primeiro dia do experimento com $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em dose única de $10 \mu\text{mols / kg}$. Os números dos animais (01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16), correspondem à seqüência em que foram feitas as análises, sendo os animais (01 e C) sacrificados 08 dias após a dose citada. Os demais animais deste exp. foram sacrificados a cada 05 dias, à partir dos primeiros. Este experimento (03), teve a duração de 83 dias.

Peso corporal.

- C
- 01
- 02
- 03
- 04
- 05
- 06
- 07
- 08
- C
- 09
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- C
- 16

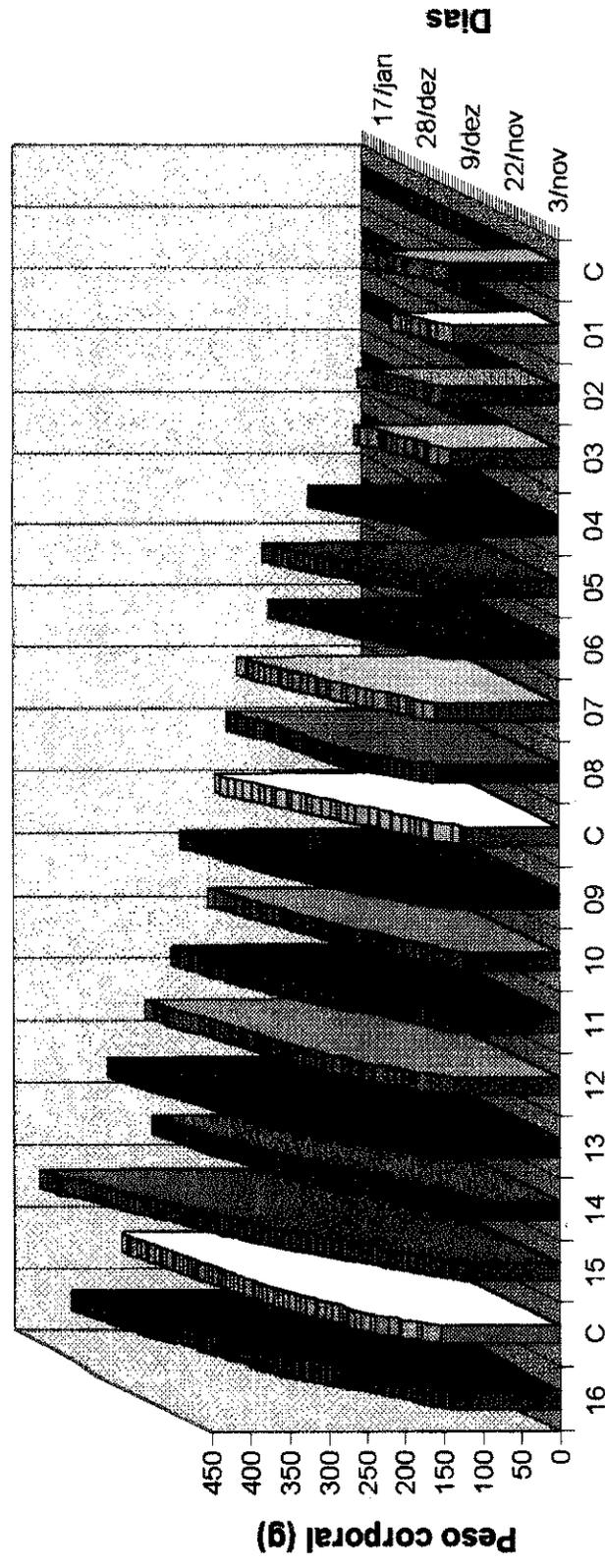


Gráfico 07 - Experimento 03 (duração 83 dias).

GRÁFICO Nº 08 (Experimento 03)**Gráfico 08 - Pesos corporais e testiculares.**

Análise dos pesos corporais (inicial e final) correlacionados aos testiculares, dos animais submetidos ao $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em dose única de $10 \mu\text{mols} / \text{kg}$. Os números de **01** a **16** representam os animais na seqüência de suas análises, onde **01** e **C**, foram sacrificados 08 dias após a dose citada e à partir do número **02** os animais foram sacrificados a cada 05 dias. Este experimento teve a duração de 83 dias. A letra **C**, representa os animais que foram utilizados como controles.

Pesos corporais e testiculares.

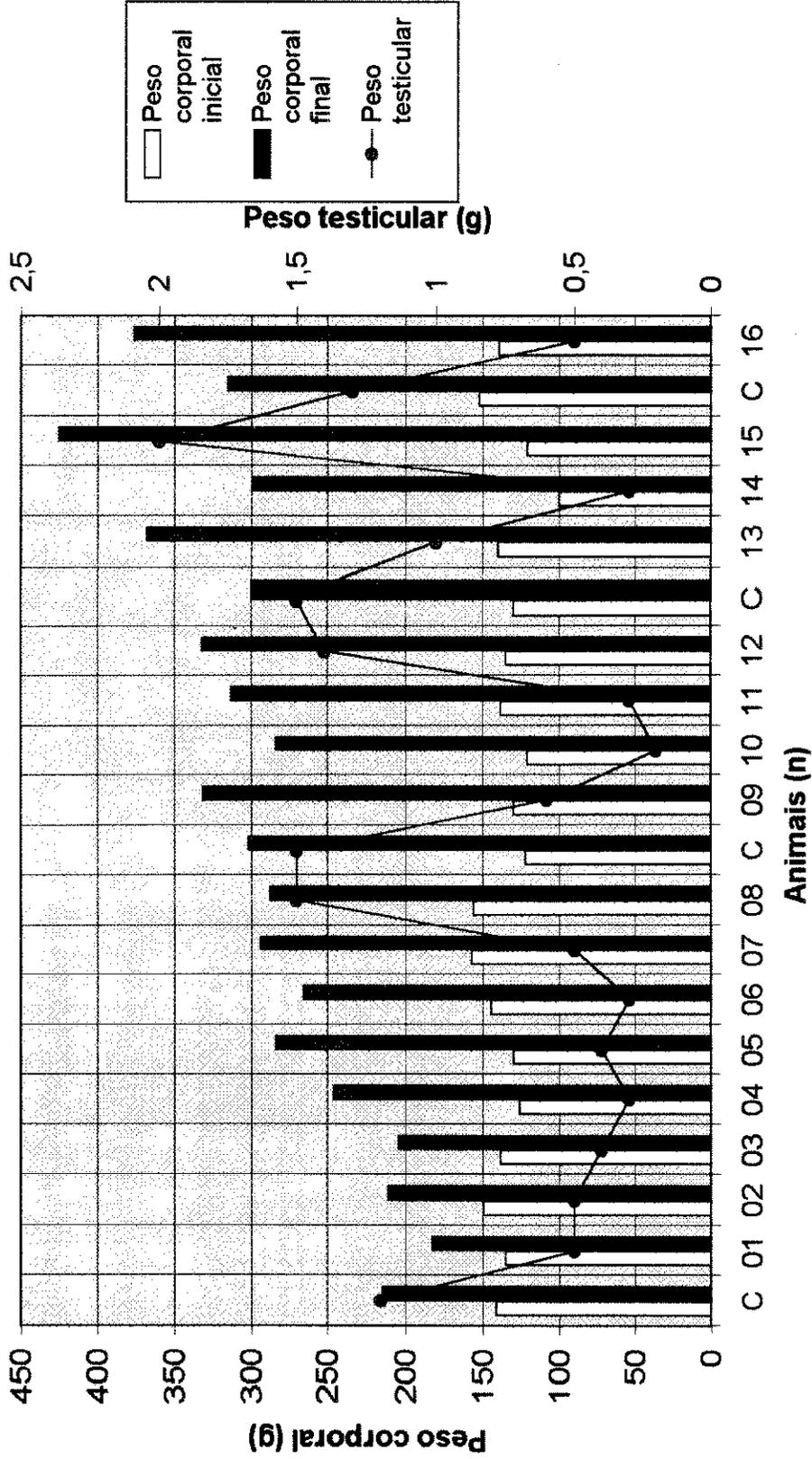


Gráfico 08 - Experimento 03 (duração 83 dias).

TABELA Nº 05 (Experimento 03)

Tabela 05 - Valores dos pesos corporais (g) e médias dos pesos testiculares (g) dos animais do Experimento 03 (duração de 83 dias).

ANIMAIS (n = 20)	DIAS	PESOS		
		PESO CORPORAL Inicial (g)	PESO CORPORAL Final (g)	PESO TESTICULAR (g)
Contr.	08	141	215	1,24
01	08	135	182	0,53
02	13	149	211	0,51
03	18	138	204	0,41
04	23	126	246	0,31
05	28	130	284	0,43
06	33	144	265	0,36
07	38	157	294	0,51
08	43	156	288	1,57
Contr.	43	122	302	1,57
09	48	130	331	0,62
10	53	121	284	0,27
11	58	138	313	0,38
12	63	135	332	1,46
Contr.	63	130	300	1,52
13	68	140	368	1,36 e 0,79 *
14	73	100	299	0,39
15	78	121	425	2,04
Contr.	83	152	315	1,39
16	83	139	376	0,55

Obs.:

n = número de animais.

* Estes valores correspondem respectivamente ao peso do testículo esquerdo e direito.

DISCUSSÃO

4. DISCUSSÃO

As informações colhidas através da revisão bibliográfica do cádmio e do paracetamol, revelam que estas substâncias podem induzir alterações bem graves em diferentes órgãos e organismos. No entanto, as respostas aos efeitos tóxicos são variáveis e dependem consideravelmente da maior ou menor suscetibilidade das espécies animais investigadas (GUNN et al., 1964; WAALKES et al., 1992).

O cádmio entre os metais é menos conhecido quanto aos efeitos deletérios que provoca nos seres vivos. Porém a Organização Mundial de Saúde identifica atualmente este elemento como perigoso devido sua alta toxicidade, sendo sua principal característica a excepcional tendência de bioacumulação. Indica também este metal, apesar de relativamente raro, como importante poluente ambiental (WHO, 1992a).

Um fato de particular importância é que o cádmio, contaminando lentamente as águas, os solos e o ar entra no ciclo biológico através da incorporação pelos animais e plantas usados na alimentação e pode eventualmente tornar-se disponível à absorção pelo homem (RAVERA, 1984; RAY, 1984; SHERLOCK, 1984; VAN BRUWAENE et al., 1984; SAKUMA et al., 1989; ROBARDS & WORSFOLD, 1991; WHO, 1992a; GUEDES, 1995).

Referente ao paracetamol usado como produto terapêutico não controlado, os dados atuais revelam o crescente consumo desta droga (HONGSLO et al., 1993; BRUNBORG et al., 1995; GREENWALD, 1996), assim como um grande aumento nos casos de auto-envenenamentos e suicídios por doses excessivas deste fármaco (TRINKOFF & BARKER, 1986; HAWTON & FAGG, 1992; MYERS et al., 1992; THOMAS, 1993).

Os dados da literatura específica, revelam também que os testículos de roedores são particularmente suscetíveis ao cádmio (GUNN & GOULD, 1970; WAALKES et al., 1992), porém quanto ao paracetamol há poucas informações das alterações provocadas neste órgão (PLACKE et al., 1987). Já as alterações provocadas quando estas duas substâncias são administradas concomitantemente não foram estudadas, não existindo dados na literatura. Sendo assim, a escolha destas duas substâncias para análise e avaliação dos seus efeitos tóxicos à nível testicular em ratos Wistar, deve-se principalmente a estes motivos.

Não é objetivo deste estudo, discutir o quanto as alterações provocadas pelos efeitos destas substâncias em ratos são iguais ou diferentes da dos homens. No entanto, acreditamos que os conhecimentos adquiridos nesta espécie animal podem alertar os estudiosos de intoxicações com cádmio para a sua importância no homem, onde as contaminações ou associações de drogas podem trazer consequências ainda mais graves.

O peso corporal dos animais que receberam dose de 15 μmol s / kg, medido após 06 dias, mostrou uma perda em relação ao primeiro dia do experimento para os animais que receberam cádmio ou cádmio associado ao paracetamol. Isto demonstra o efeito deletério destas drogas sobre a saúde geral dos animais. Entretanto não chegou a afetar o comportamento dos animais investigados, o que não foi pesquisado com maior profundidade porque este aspecto foge aos objetivos do presente trabalho.

Nos testículos de três animais observados após 43, 63 e 78 dias, tratados com cádmio na dose de 10 μmol s / kg, foram observadas apenas pequenas alterações morfológicas, como leve edema, congestão de vasos sanguíneos e quantidades irregulares de células intersticiais. Estes resultados indicam que estes animais são mais resistentes que os demais deste grupo de investigação, provavelmente, devido à fatores genéticos ou idiossincrásicos.

Com a administração do cádmio nas doses de 7,5 ou 2,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$, houve ganho de peso, porém sensivelmente menor que os animais controles. Isto sugere que o efeito deste metal sobre a saúde geral dos animais é proporcional à dose recebida. Este resultado corrobora os relatos de GUNN & GOULD (1970), que observaram os efeitos deletérios do cádmio relacionados à concentração. Também no experimento com dose de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ o peso corporal, medido após maior intervalo de tempo (08-83 dias), mostra um ganho menor ao que foi medido nos controles. O tempo de recuperação após o contato com o metal é, portanto, outro parâmetro importante para esta avaliação.

O paracetamol administrado em 3 doses (4,4 ou 8,8 mmols / kg) resultou em ganho de peso corporal dos animais deste tratamento, porém apresentando menor ganho que os animais controles. No entanto, com a dose maior associada ao cádmio à 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$, os animais tiveram perda de peso corporal. Este dado sugere um efeito aditivo das duas substâncias sobre a saúde geral dos animais.

A avaliação do aspecto geral externo dos testículos dos animais submetidos ao cádmio em dose única de 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ ou com esta dose associada ao paracetamol (3 doses de 8,8 mmols / kg) mostrou que os testículos foram semelhantes quanto à forma aos dos animais controles. Entretanto, o aspecto hemorrágico destes órgãos indicou sinais de lesões. Doses menores de cádmio não afetaram o aspecto macroscópico do testículos em experimentos de até 06 dias. No entanto o exame após 08 dias mostrou uma redução do testículo, que se agrava com o tempo. Esta redução progressiva mostra que o tempo é fator importante para a avaliação do efeito do cádmio nos testículos. O exame histológico dos testículos destes animais, confirmou as alterações sugeridas pela perda de peso, sendo estas detectadas à microscopia de luz. Nossos resultados da diminuição do peso testicular após a administração do cádmio na dose de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ (2 mg / kg), confirmam os

achados de SAKSENA e colab. (1977) dos efeitos deletérios do CdCl_2 sobre os órgãos reprodutivos em ratos.

Nos animais submetidos ao cádmio nas doses de 10 e 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$, as alterações na estrutura testicular incluíram o expressivo espessamento da túnica albugínea, edema, fibrose e hipertrofia das células intersticiais. Possivelmente, o tecido intersticial apresenta um aumento no número de células por causa da reação inflamatória, que representa uma resposta à lesão testicular. Assim ocorre uma proliferação de fibroblastos, como uma manifestação do processo cicatricial. A fibrose resultante é uma indicação da cronicidade da lesão.

As alterações morfológicas verificadas após 06 dias nos animais tratados com o $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ na maior dose de 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ (3 mg / kg), ou na dose de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ (2mg / kg) após 08 dias, caracterizam-se como sendo uma forte necrose em todo o parênquima testicular. Os túbulos seminíferos contraídos, hipotróficos e com perda da organização típica das células germinativas em camadas revelam o quadro patológico de necrose de coagulação. Calcificação inicial dos túbulos foi encontrado com 18 dias e focos de calcificação após 23, 28 e 33 dias. Uma calcificação distrófica intensa dos túbulos seminíferos foi verificada com 38 dias, levando a evidência de que a lesão é irreversível. Após 53 dias, encontramos a hemossiderina, um pigmento produzido por hemorragias internas. Este quadro é indicativo de congestão vascular prolongada, que levaria a microhemorragias. Estes resultados confirmam os estudos pioneiros de PARÍZEK & ZÁHOR (1956), sobre efeito do cádmio em testículos de ratos, onde 1ml de CdCl_2 na concentração de 0,03M (\cong 10 mg / kg), foi administrado por via subcutânea. Nossos resultados também corroboram os trabalhos de CAMERON & FOSTER (1963); CHIQUOINE (1964); MASON e colab. (1964); GUNN & GOULD (1970); AOKI & HOFFER (1978) e GOUVEIA (1988).

Com o $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ administrado na dose de $7,5 \mu\text{mols / kg}$ ($1,5 \text{ mg / kg}$), não se detectam tais alterações, após 06 dias. Esta dose menor do cádmio provavelmente representa, a dose próxima ao limite mínimo para desencadear uma resposta à toxicidade. Entretanto, com a administração simultânea do cádmio nas doses de $7,5$ e $15 \mu\text{mols / kg}$ com o paracetamol, observa-se o agravamento destes efeitos. Estes dados, contribuem à hipótese de potencialização do cádmio em relação a outras substâncias tóxicas, conforme proposto por DER e colab. (1976) e SAARANEN e colab. (1989).

No grupo tratado com $2,5 \mu\text{mols / kg}$, não se observam alterações na túnica albugínea. O epitélio seminífero mantém o padrão normal quanto às células espermatogênicas. Porém observa-se um discreto edema e desorganização das células intersticiais e a hialinização, possivelmente em consequência da congestão dos vasos testiculares. Estes efeitos sugerem um processo passível de reversibilidade.

Pela morfometria constata-se alterações nos diâmetros dos túbulos seminíferos dos animais submetidos ao cádmio na dose $15 \mu\text{mols / kg}$, que apresentaram-se mais reduzidos. Entretanto na dose de $7,5 \mu\text{mols / kg}$ verificaram-se medidas quase iguais aos dos animais controles. Também a análise de variância, revela que as medidas dos diâmetros dos túbulos seminíferos para todos os animais submetidos ao cádmio, apresentaram-se significativas. Assim esta metodologia mostra-se particularmente útil para os casos com alterações mínimas.

Nos testículos dos animais submetidos ao cádmio na dose de $2,5 \mu\text{mols / kg}$, não se verificaram alterações estruturais, nem os diâmetros dos túbulos seminíferos são afetados. A análise estatística revela que os valores medidos pela morfometria dos diâmetros dos túbulos seminíferos destes animais, não são significativos.

Nos testículos dos animais tratados com 3 doses de paracetamol (4,4 mmols / kg) verificaram-se alterações mínimas. O edema foi sempre encontrado nos testículos de animais tratados com paracetamol. Apenas um animal deste grupo, apresentou também leve aumento na espessura da túnica albugínea, sugerindo que a dose empregada neste tratamento, pode estar muito próxima à menor dose do paracetamol que traz alguma alteração testicular. Provavelmente, este animal apresenta maior sensibilidade que os demais deste grupo de tratamento, apresentando um efeito conhecido como idiossincrásico (NEBERT & FELTON, 1976; ROBBINS et al., 1986).

A análise morfológica dos testículos dos animais tratados somente com o paracetamol, revelam a estrutura semelhante ao dos animais controles. A espermatogênese foi normal. A túnica albugínea apresentou-se fina, porém observou-se leve edema no tecido intersticial, assim como notou-se vasos sanguíneos congestionados. Portanto, é possível que o paracetamol tem efeito sobre a circulação testicular.

No caso da maior dose do paracetamol, observou-se um pequeno estreitamento dos diâmetros dos túbulos seminíferos. A análise estatística revelou valores marginalmente significativos, porém a redução destes diâmetros não foi visualmente detectável. A metade desta dose não levou a diminuição dos diâmetros de túbulos, conforme demonstrado pela morfometria e classificado pela análise estatística como não significativo.

Entretanto, a observação de maior número de células germinativas em divisão encontradas em alguns túbulos seminíferos sugere um pequeno atraso no processo de maturação destas células, ou ainda de um estímulo à produção destas células. Estas observações são contrárias aos resultados encontrados por WIGER e colab. (1995) que relatam altas doses tóxicas do paracetamol causando atraso na espermatogênese de camundongos.

Com a interação dos tratamentos do cádmio na dose de 2,5 $\mu\text{mols / kg}$ (0,5 mg / kg) e o paracetamol à 4,4 mmols / kg, verificou-se que os testículos dos animais apresentam alterações bastante semelhantes ao grupo que se submeteu à dose única de cádmio (2,5 $\mu\text{mols / kg}$). As principais alterações são verificadas à nível de tecido intersticial e vasos sanguíneos. Um animal apresentou espermiacão deficiente, o que pode ser de caráter provisório, sendo recuperado após algum tempo, uma vez que não houveram grandes danos aos tecidos. Este último dado confirma os achados de HEW e colab. (1993), que observaram alterações na espermiacão de ratos com a administração da dose única de 1 mg / kg do CdCl_2 . Segundo estes autores, outros agentes tóxicos também podem induzir a falta de espermiacão.

CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

As análises dos resultados morfológicos, biométricos e estatísticos permitem concluir:

1. O cádmio provoca efeitos tóxicos nos testículos dos ratos da linhagem Wistar utilizados. Esse efeito é relacionado à dose do CdCl_2 .

- O cádmio na dose de $15 \mu\text{mols} / \text{kg}$ acompanhada por 06 dias acarreta, além da perda de peso corporal uma diminuição significativa dos diâmetros dos túbulos seminíferos e grandes alterações morfológicas.

- O cádmio na dose de $10 \mu\text{mols} / \text{kg}$ acompanhada por 83 dias, provoca perda acentuada de peso testicular. Ocorrem alterações tão drásticas nesse órgão que impedem a sua análise morfométrica.

- O cádmio na dose de $7,5 \mu\text{mols} / \text{kg}$ acompanhada por 06 dias apresenta alterações em escala muito menor, sem alterações morfológicas marcantes. Entretanto nesta dose, o cádmio tem efeito significativo sobre os diâmetros dos túbulos seminíferos.

- O cádmio na dose de $2,5 \mu\text{mols} / \text{kg}$ acompanhada por 03 dias as alterações morfológicas são mínimas. Nesta dose o cádmio não tem efeito significativo sobre os diâmetros dos túbulos seminíferos.

2. O paracetamol nas doses de $4,4$ e $8,8 \text{ mmols} / \text{kg}$ causa poucas alterações morfológicas nos testículos de ratos. Porém na dose de $8,8 \text{ mmols} / \text{kg}$, tem efeito marginalmente significativo sobre os diâmetros dos túbulos seminíferos.

5. CONCLUSÕES

As análises dos resultados morfológicos, biométricos e estatísticos permitem concluir:

1. O cádmio provoca efeitos tóxicos nos testículos dos ratos da linhagem Wistar utilizados. Esse efeito é relacionado à dose do CdCl_2 .

- O cádmio na dose de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ acompanhada por 83 dias, provoca ganho de peso corporal menor em relação aos controles e perda acentuada de peso testicular. Ocorrem ainda alterações tão drásticas nesse órgão que impedem a sua análise morfométrica.

- O cádmio na dose de 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ acompanhada por 06 dias acarreta, além da perda de peso corporal, como no caso anterior, uma diminuição significativa dos diâmetros dos túbulos seminíferos e grandes alterações morfológicas.

- O cádmio na dose de 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ acompanhada por 06 dias apresenta o mesmo padrão de alterações mas em escala muito menor, sem alterações morfológicas marcantes.

- O cádmio na dose de 2,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ acompanhada por 03 dias as alterações morfológicas são mínimas. Nesta dose o cádmio não tem efeito significativo sobre os diâmetros dos túbulos seminíferos.

2. O paracetamol nas doses de 4,4 e 8,8 mmols / kg causa poucas alterações morfológicas nos testículos. Porém na dose de 8,8 mmols / kg , tem efeito marginalmente significativo sobre os diâmetros dos túbulos seminíferos.

3. A administração simultânea do cádmio (7,5 e 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$) com o paracetamol (8,8 mmols / kg), leva a uma potencialização dos efeitos tóxicos sobre os testículos de ratos. Estes efeitos são também verificados pela redução altamente significativa dos diâmetros dos túbulos seminíferos.

4. Os resultados do presente trabalho permitem que seja feito um alerta aos estudiosos de intoxicações com cádmio para a sua importância no homem, notadamente quando há associação com o uso do paracetamol. Acreditamos que no estudo de pacientes com infertilidade masculina deva ser pesquisado, na anamnese, o possível efeito ocupacional por exposição ao cádmio agravado por eventual uso do paracetamol.

6. RESUMO

O cádmio é um elemento químico, reconhecido atualmente como perigoso devido sua alta toxicidade e os efeitos deletérios que provoca nos seres vivos. Recentemente também tem sido investigadas com maior interesse e atenção, algumas drogas vendidas sem prescrições médicas como por ex. o paracetamol, cujos efeitos tóxicos são pouco informados aos usuários.

O presente trabalho tem por objetivos analisar e avaliar os efeitos do cádmio (sob forma de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), do paracetamol (na forma de Tylenol[®] - gotas) e destas substâncias administradas simultaneamente, sobre os testículos de ratos.

Neste estudo foram utilizados 44 ratos, do sexo masculino (adultos-jovens) da linhagem Wistar. Realizaram-se estudos histológicos qualitativos e quantitativos à microscopia de luz.

Os animais foram submetidos à diferentes dosagens do cádmio (2,5; 7,5; 10 e 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$), do paracetamol (4,4 e 8,8 mmols / kg) e do cádmio associado ao paracetamol (2,5 $\mu\text{mols} / \text{kg} + 4,4 \text{ mmols} / \text{kg}$; 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg} + 8,8 \text{ mmols} / \text{kg}$; 15 $\mu\text{mols} / \text{kg} + 8,8 \text{ mmols} / \text{kg}$).

As observações histológicas revelaram, para os animais submetidos ao cádmio nas doses de 10 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ (com duração de 83 dias) ou 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ (duração de 06 dias), alterações morfológicas graves em todo o parênquima testicular. Estas alterações são caracterizadas por necrose coagulativa do epitélio seminífero, espessamento da túnica albugínea e degeneração do tecido intersticial. Para os animais tratados com 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$, houve perda de peso corporal e os resultados quantitativos demonstram valores significativos pela redução dos diâmetros de túbulos seminíferos. Para os animais tratados com 10

$\mu\text{mols} / \text{kg}$, os resultados qualitativos revelaram uma diminuição dos pesos testiculares.

Nas doses do cádmio com 2,5 e 7,5 $\mu\text{mols} / \text{kg}$ e do paracetamol com 4,4 e 8,8 mmols / kg respectivamente, não se observou efeitos lesivos graves nos testículos dos animais investigados. Entretanto quando estas duas substâncias foram administradas simultaneamente, observou-se o efeito aditivo que provocou alterações testiculáres, detectadas à microscopia de luz. A administração do cádmio (7,5 e 15 $\mu\text{mols} / \text{kg}$) com o paracetamol (8,8 mmols / kg), leva a uma potencialização dos efeitos deletérios, sendo evidenciada pela redução altamente significativa dos diâmetros dos túbulos seminíferos.

ABSTRACT

7. ABSTRACT

Cadmium is a chemical element recognized today as dangerous due to its high toxicity and harmful effects toward life. Also recently, drugs sold freely without prescription, such as paracetamol, are being investigated for their toxic effects, of which the public is frequently not aware.

This study was undertaken to analyse and evaluate the effects on rat testicles of cadmium ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), of paracetamol (in the form of Tylenol[®] - drops) and of these two substances administered simultaneously.

For this work, 44 male rats (young adults) of the Wistar lineage were used. Quantitative and qualitative evaluations were made with light microscopy.

The animals received various dosages of cadmium (2.5, 7.5, 10 and 15 μmol / kg), of paracetamol (4.4 and 8.8 mmol / kg) and of cadmium associated with paracetamol (2.5 μmol / kg + 4.4 mmol / kg; 7.5 μmol / kg + 8.8 mmol / kg; 15 μmol / kg + 8.8 mmol / kg).

Histological observations showed severe alterations of the testicles for animals that received cadmium in the dose of 10 μmol / kg (followed for a 83 day period) or 15 μmol / kg (for 06 days). These alterations were classified as coagulative necrosis of the seminal epithelium, tunica albuginea thickening and degeneration of the interstitial tissue. Animals treated with 15 μmol / kg lost body weight and the reduction in diameter of the seminal tubules was highly significant. Animals which received 10 μmol / kg had a reduction in weight of their testicles.

In the cadmium doses of 2.5 and 7.5 μmol / kg and of paracetamol in doses of 4.4 and 8.8 mmol / kg no serious lesions were encountered in the animals studied. However, when these substances were administered simultaneously, an additive effect was shown to cause slight testicular alterations, observed with the light microscope. Higher cadmium doses (7.5 and 15 μmol / kg) and the larger paracetamol dose (8.8 mmol / kg) resulted in a potentiation of the harmful effects, measured by the highly significant reduction in diameter of the seminal tubules.

**REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

1. ABREU, S. F. **Recursos minerais do Brasil**. São Paulo, Ed. Edgard Blücher Ltda, 1973. cap. XIX, p. 690-693.
2. ANDERSON, W. A. D. & SCOTT, T. M. **Sinopse de Patologia**. 2. ed. Rio de Janeiro, Ed. Cultura Médica Ltda, 1976. cap. X, p. 263.
3. AOKI, A. & HOFFER, A. P. Reexamination of the lesions in the rat testis caused by cadmium. **Biol. Reprod.**, v. 18, p. 579-591, 1978.
4. AYLETT, B. J. The chemistry and bioinorganic chemistry of cadmium. In: WEBB, M. **The chemistry, biochemistry and biology of cadmium**. New York, Elsevier / North Holland, 1979. p. 1. **apud** WAALKES, M. P. et al., p. 185, 1992.
5. BARCELLOS, C.; REZENDE, C. E.; PFEIFFER, W. C. Zn and Cd production and pollution in a brazilian coastal region. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 22, p. 558-561, 1991.
6. BARKER, J. D.; de CARLE, D. J.; ANURAS, S. Chronic excessive acetaminophen use and liver damage. **Ann. Intern. Med.**, v. 87, p. 299-301, 1977.
7. BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para Histologia normal e Patológica**. São Paulo, Edart., EDUSP, 1976.
8. BERNARD, A. & LAUWERYS, R. Cadmium in human population. (Cadmium - a complex environmental problem. Part II). **Experientia**, v. 40, p. 143-152, 1984.
9. BLOOM, W. & FAWCETT, D. W. **Textbook of Histology**. 11. ed. Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1986.

* Segundo [Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). **NBR 6023: Referências Bibliográficas**. Rio de Janeiro, Ago. 1989. 19 p.]

10. BRITO, A. S. **Manual de ensaios toxicológicos *in vivo***. Campinas, Editora da UNICAMP, 1994. p. 9-11.
11. BRUNBORG, G.; HOLME, J. A.; HONGSLO, J. K. Inhibitory effects of paracetamol on DNA repair in mammalian cells. **Mutation Research**, v. 342, p. 157-170, 1995.
12. BUSTOS-OBREGON, E. C.; FLECHON, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, J. E.; HOLSTEIN, A. F. Morphological appraisal of gametogenesis. Spermatogenetic process in mammals with particular reference to man. **Andrologia**, v. 7, p. 141-163, 1975.
13. CAMERON, E. & FOSTER, C. L. Observations on the histological effects of sub-lethal doses of cadmium chloride in the rabbit. I. The effect on the testis. **J. Anat.**, v. 97, p. 269-280, 1963.
14. CANTILENA, L. R. & KLAASSEN, C. D. Decreased effectiveness of chelation therapy with time after acute cadmium poisoning. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 63, p. 173-180, 1982.
15. CHIQUOINE, A. D. Studies on testicular necrosis induced by cadmium salts. **Anat. Rec.**, v. 145, p. 216, 1963.
16. CHIQUOINE, A. D. Observations on the early events of cadmium necrosis of the testis. **Anat. Rec.**, v. 149, p. 23-36, 1964.
17. DAVIS, R. D. Cadmium in sludges used as fertilizer. (Cadmium - a complex environmental problem. Part II). **Experientia**, v. 40, p. 117-126, 1984.
18. DER, R.; FAHIM, Z.; YOSEF, M.; FAHIM, M. Environmental interaction of the lead and cadmium on the reproduction and metabolism of male rats. **Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.**, v. 14, p. 689-713, 1976.
19. DIXON, R. L. & LEE, I. P. Pharmacokinetic and adaptation factors involved in testicular toxicity. **Fed. Proc.**, v. 39, p. 66-72, 1980.

20. DIXON, M. F. Paracetamol Hepatotoxicity. **Lancet**, v. 1, p. 35, Jan. 3, 1976.
21. DYM, M. & CLERMONT, Y. Role of spermatogonia in the repair of the seminiferous epithelium following X-irradiation of the rat testis. **Am. Anat.**, v. 128, p. 265-282, 1970.
22. DYM, M. & FAWCETT, D. W. The blood-testis barrier in the rat and the physiological compartmentalization of the seminiferous epithelium. **Biol. Reprod.**, v. 3, p. 308-326, 1970.
23. EARL, F. L. & VISH, T. J. Cadmium. In: OEHME, F. W. **Toxicity of heavy metals in the environment**. (Hazardous and Toxic Substances. Part 2). New York, Marcel Dekker Inc., 1979. cap. 26, p. 620-622.
24. ELLIS, K. J.; VARTSKY, D.; ZANZI, I.; COHN, S. H.; YASUMARA, S. Cadmium: *In vivo* measurement in smokers and nonsmokers. **Science**, v. 205, p. 323-325, July 20, 1979.
25. FAHIM, M. S. & KHARE, N. K. Effects of subtoxic levels of lead and cadmium on urogenital organs of male rats. **Arch. Androl.**, v. 4, p. 357-362, 1980. **apud** KEMPINAS, W. de G. Efeitos da intoxicação crônica pelo chumbo no sistema reprodutor masculino do rato adulto. (Tese de Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1987. p. 23.
26. FAWCETT, D. W. & PHILLIPS, D. M. Observations on the release of spermatozoa and on changes in the head during passage through the epididymis. **J. Reprod. Fertil. [Suppl.]**, v. 6, p. 405-418, 1969.
27. FAWCETT, D. W.; ANDERSON, W. A.; PHILLIPS, D. M. Morphogenetic factors influencing the shape of the sperm head. **Dev. Biol.**, v. 26, p. 220-251, 1971.
28. FERM, V. H. The syneratogenic effect of lead and cadmium. **Experientia**, v. 25, p. 56-57, 1969.

29. FLOWER, R. J.; MONCADA, S.; VANE, J. R. Agentes Analgésico-Antipiréticos e Antiinflamatórios. In: GOODMAN, L. S. et al. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 6. ed. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan S. A., 1983. V. 1, cap. 29, p. 596-615.
30. FONSECA, M. R. M. **Química Integral**. São Paulo, FTD, 1993. cap. 7, p. 52-53, cap. 8, p. 54-57, cap. 34, p. 198-200.
31. FÖRSTNER, U. Cadmium in sediments. (Cadmium - a complex environmental problem. Part I). **Experientia**, v. 40, p. 23-29, 1984.
32. FOULKES, E. C. The concept of critical levels of toxic heavy metals in target tissues. **Crit. Rev. Toxicol.**, v. 20, p. 327-339, 1990.
33. FOX, B. W. & FOX, M. Biochemical aspects of the actions of drugs on the spermatogenesis. **Pharmacol. Rev.**, v. 19, p. 21-57, 1967.
34. FRIBERG, L.; PISCATOR, M.; NORDBERG, G. F.; KJELLSTRÖM, T. Cadmium in the environment. Cleveland, CRC Press, p. 1-248, 1974 **apud** HALLENBECK, W. H., p.139, 1984.
35. FRIBERG, L.; ELINDER, C. -G.; KJELLSTRÖM, T.; NORDBERG, G. F. Cadmium and health: A toxicological and epidemiological appraisal. Boca Raton, CRC Press, 1986. V. 2 **apud** WAALKES, M. P. et al., p. 185, 1992.
36. GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G.; GILMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 6. ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S. A., 1983. V. 1, cap. 1, p. 8-15.
37. GOUVEIA, M. A. The testes in cadmium intoxication: morphological and vascular aspects. **Andrologia**, v. 20, p. 225-231, 1988.
38. GOYER, R. A. & MEHLMAN, M. A. **Toxicology of trace elements**. (Advances in modern toxicology). Washington, Hemisphere Publishing Corporation, 1977. V. 2.

39. GOYER, R. A. Toxic effects of metals. In: KLAASSEN, C. D.; AMDUR, M. O.; DOULL, J., eds. **Toxicology: the basic science of poisons**. New York, Macmillan, 1986. p. 582.
40. GREENWALD, J. Bitter ads to swallow. **Time**, v. **147**, p. 40-41, Apr. 1, 1996.
41. GREGUS, Z. & KLAASSEN, C. D. Disposition of metals in rats: A comparative study of fecal, urinary, and biliary excretion and tissue distribution of eighteen metals. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. **85**, p. 24-38, 1986.
42. GUEDES, G. Água e vegetais contaminam população do Rio. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 12 Jul. 1995. Caderno A, p. 15.
43. GUNN, S. A.; GOULD, T. C.; ANDERSON, W. A. D. The selective injurious response of testicular and epididymal blood vessels to cadmium and its prevention by zinc. **Am. J. Pathol.**, v. **42**, p. 685-702, 1963. *apud* FOX, B. W. & FOX, M., p. 44, 1967.
44. GUNN, S. A.; GOULD, T. C.; ANDERSON, W. A. D. Strain differences in susceptibility of mice and rats to cadmium-induced testicular damage. **J. Reprod. Fertil.**, v. **10**, p.273-281, 1964.
45. GUNN, S. A. & GOULD, T. C. Cadmium and other mineral elements. In: JOHNSON, A. D.; GOMES, W. R.; VANDEMARK, N. L., eds. **The Testes**. New York, Academic Press, 1970. V. III, cap. 10, p. 411-481.
46. HADDOW, A.; ROE, F. J. C.; DUKES, C. E.; MITCHELY, B. C. V. Cadmium neoplasia: sarcomata at the site of injection of cadmium sulphate in rats and mice. **Brit. J. Cancer**, v. **18**, p. 667-673, 1964. *apud* FOX, B. W. & FOX, M., p. 45, 1967.
47. HAGINO, N. J. About investigations on Itai-Itai disease. **J. Toyama Med. Assoc. [Suppl. 21]**, 1957. *apud* BERNARD, A. & LAUWERYS, R., p. 144, 1984.

48. HALLENBECK, W. H. Human health effects of exposure to cadmium. (Cadmium - a complex environmental problem. Part II). **Experientia**, v. 40, p. 136-142, 1984.
49. HARVEY, J. G. & SPOONER, J. B. Paracetamol poisoning. **Br. Med. J.**, v. 2, p. 832-833, Sept. 16, 1978.
50. HAWTON, K. & FAGG, J. Deliberate self-poisoning and self-injury in adolescents. A study of characteristics and trends in Oxford, 1976-89. **Br. J. Psychiatry**, v. 161, p. 816-823, 1992.
51. HENNIG, W. Results and problems in cell differentiation. In: HENNIG, W. **Spermatogenesis: genetic aspects**. Berlin, Springer-Verlag, 1987. V. 15.
52. HESS, R. A.; SCHAEFFER, D. J.; EROSCHENKO, V. P.; KEEN, J. E. Frequency of the stages in the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Biol. Reprod.**, v. 43, p. 517-524, 1990.
53. HEW, K-W.; ERICSON, W. A.; WELSH, M. J. A single low cadmium dose causes failure of spermiation in the rat. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 121, p. 15-21, 1993.
54. HINSON, J. A.; ROBERTS, D. W.; BENSON, R. W.; DALHOFF, K.; LOFT, S.; POULSEN, H. E. Mechanism of paracetamol toxicity. **Lancet**, v. 1, p. 732, Mar. 24, 1990.
55. HOLME, J. A. & JACOBSEN, D. Mechanism of paracetamol toxicity. **Lancet**, v. 1, p. 804-805, Apr. 5, 1986.
56. HONGLO, J. K.; BRØGGER, A.; BJØRGE, C.; HOLME, J. A. Increased frequency of sister-chromatid exchange and chromatid breaks in lymphocytes after treatment of human volunteers with therapeutic doses of paracetamol. **Mutation Research**, v. 261, p. 1-8, 1991.

57. HONGSLO, J. K.; BRUNBORG, G.; STEFFENSEN, I. -L.; HOLME, J. A. Paracetamol inhibits UV-induced DNA repair in resting human mononuclear blood cells *in vitro*. **Mutagenesis**, v. 8, p. 423-429, 1993.
58. HONGSLO, J. K.; SMITH, C. V.; BRUNBORG, G.; SØDERLIND, E. J.; HOLME, J. A. Genotoxicity of paracetamol in mice and rats. **Mutagenesis**, v. 9, p. 93-100, 1994.
59. International Agency for Research on Cancer (IARC). **Cadmium and cadmium compounds**. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to man. Geneva, World Health Organization, 1979. **apud** Carcinogenicity of cadmium. **Lancet [Editorial]**, v. 1, p. 931, Oct. 18, 1986.
60. International Agency for Research on Cancer (IARC). **Cadmium**. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Geneva, World Health Organization, [Suppl. 7], 1987 **apud** WAALKES, M. P. et al., p. 187, 1992.
61. International Agency for Research on Cancer (IARC). **Paracetamol (acetaminophen)**. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Geneva, World Health Organization, 1990. V. 50, p. 307-332 **apud** BRUNBORG, G. et al., p. 158, 1995.
62. JACKSON, H. The development of antifertility substances. In: **Fortschritte der Arzneimittel-forschung**. (Progress in drug research). Stuttgart, Birkhäuser Verlag Basel, 1964. V. 7, p. 133-192.
63. JACOBSON, K. B. & TURNER, J. E. The interaction of cadmium and other metal ions with proteins and nucleic acids. **Toxicology**, v. 16, p. 1-37, 1980. **apud** SHAIKH, Z. A. & SMITH, L. M., p. 40, 1984.
64. JOLLOU, D. J.; MITCHELL, J. R.; POTTER, W. Z.; DAVIS, D. C.; GILLETTE, J. R.; BRODIE, B. B. Acetaminophen-induced necrosis. II. Role of binding *in vivo*. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 187, p. 195-202, 1973. **apud** THOMAS, S. H. L., p. 93, 1993.

65. JOLLOW, D. J.; THORGEIRSSON, S. S.; POTTER, W. Z.; HASHIMOTO, M.; MITCHELL, J. R. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. VI. Metabolic disposition of toxic and non toxic doses of acetaminophen. **Pharmacology**, v. 12, p. 251-271, 1974. **apud** Paracetamol hepatotoxicity. **Lancet [Editorial]**, v. 2, p. 1189-1191, Dec. 13, 1975.
66. JONES, M. M.; CHERIAN, M. G.; SINGH, P. K.; BASINGER, M. A.; JONES, S. G. A comparative study of the influence of vicinal dithiols and a dithiocarbamate on the biliary excretion of cadmium in rat. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 110, p. 241-250, 1991.
67. KANDEL, D. B. & LOGAN, J. A. Patterns of drug use from adolescence to young adulthood. I. Periods of risk for initiation, continued use, and discontinuation. **Am. J. Public Health**, v. 74, p. 660-666, 1984 **apud** Epidemiology of drug usage. **Lancet [Editorial]**, v. 1, p. 147-148, Jan. 19, 1985.
68. KIPLING, M. D. & WATERHOUSE, J. A. H. Cadmium and prostatic carcinoma. **Lancet**, v. 1, p. 730-731, Apr. 1, 1967.
69. KOBAYASHI, J. **Relation between the "Itai-Itai" disease and the pollution of river water by cadmium from a mine.** Proceedings of the 5th International Water Pollution Research Conference. [s. l.], July / Aug., 1970 **apud** Cadmium pollution and Itai-Itai disease. **Lancet [Editorial]**, v. 1, p. 382-383, Feb. 20, 1971.
70. KOJIMA, S.; KAMINAKA, K.; KIYOZUMI, M.; HONDA, T. Comparative effects of three chelating agents on distribution and excretion of cadmium in rats. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 83, p. 516-524, 1986.
71. KOJIMA, S.; SUGIMURA, Y.; HIRUKAWA, H.; KIYOZUMI, M.; SHIMADA, H.; FUNAKOSHI, T. Effects of dithiocarbamates on testicular toxicity in rats caused by acute exposure to cadmium. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 116, p. 24-29, 1992.

72. KOJIMA, S.; SUGIMURA, Y.; ONO, H.; SHIMADA, H.; FUNAKOSHI, T. *N*-benzil-D-glucamine dithiocarbamate and *N*-*p*-isopropylbenzyl-D-glucamine dithiocarbamate improve the protective effect of diethyldithiocarbamate against cadmium-induced testicular toxicity in rats. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 16, p. 244-247, 1993.
73. KOTSONIS, F. N. & KLAASSEN, C. D. The relationship of metallothionein to the toxicity of cadmium after prolonged oral administration to rats. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 46, p. 39-54, 1978.
74. LEBLOND, C. P. & CLERMONT, Y. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 55, p. 548-573, 1952.
75. LEWIS, G. P.; COUGHLIN, L. L.; JUSKO, W. J.; HARTZ, S. Contribution of cigarette smoking to cadmium accumulation in man. **Lancet**, v. 2, p. 291-292, Feb. 5, 1972.
76. LILLIE, R. D. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 2. ed. New York, McGraw- Hill, 1954. p. 715.
77. MAHAN, B. H. **Química um curso universitário**. 2. ed. Berkeley-Universidade da Califórnia, Ed. Edgard Blücher Ltda, 1972. cap. 16, p. 532-533.
78. MARTIN, E. W. **Hazards of Medication**. 2. ed. Philadelphia, J. B. Lippincott Co., 1978.
79. MARTINDALE. **The Extra Pharmacopoeia**. 29. ed. London, Pharmaceutical Press, 1989. p. 32-34.
80. MASON, K. E.; BROWN, J. A.; YOUNG, J. O.; NESBIT, R. R. Cadmium-induced injury of the rat testis. **Anat. Rec.**, v. 149, p. 135-148, 1964.
81. McCAULL, J. Building a shorter life. **Environment**, v. 13, p. 2-15, p. 38-41, 1971.

82. McMANUS, J. F. A. & MOWRY, R. W. **Staining methods: Histologic and Histochemical**. New York, P. B. Hoeber, 1960.
83. MEREDITH, T. J.; NEWMAN, B.; GOULDING, R. Paracetamol poisoning in children. **Br. Med. J.**, v. 2, p. 478-479, Aug. 12, 1978.
84. MIES FILHO, A. **Reprodução dos Animais**. 6. ed. Porto Alegre, Ed. Sulina, 1987. V. 1, p. 13-61.
85. MITCHELL, J. R.; JOLLOW, D. J.; POTTER, W. Z.; DAVIS, G. C.; GILLETTE, J. R.; BRODIE, B. B. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. I. Role of drug metabolism. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 187, p. 185-194, 1973a. **apud** THOMAS, S. H. L., p. 93, 1993.
86. MITCHELL, J. R.; JOLLOW, D. J.; POTTER, W. Z.; GILLETTE, J. R.; BRODIE, B. B. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.187, p. 211-217, 1973b. **apud** Paracetamol hepatotoxicity. **Lancet [Editorial]**, v. 2, p. 1189-1191, Dec. 13, 1975.
87. MITCHELL, J. R.; THORGEIRSSON, S. S.; POTTER, W. Z.; JOLLOW, D. J.; KEISE, H. Acetaminophen-induced hepatic injury: Protective role of glutathione in man and rationale for therapy. **Clin. Pharmacol. Ther.**, v. 16, p. 676-684, 1974. **apud** Paracetamol hepatotoxicity. **Lancet [Editorial]**, v. 2, p. 1189-1191, Dec. 13, 1975.
88. MIYAHARA, T.; MIYAKOSHI, M.; SAITO, Y.; KOZUKA, H. Influence of poisonous metals on bone metabolism. III. The effect of cadmium on bone resorption in tissue culture. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 55, p. 477-483, 1980.
89. MYERS, W. C.; OTTO, T. A.; HARRIS, E.; DIACO, D.; MORENO, A. Acetaminophen overdose a suicidal gesture: a survey of adolescents knowledge of this potential for toxicity. **J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry**, v. 31, p. 686-690, July 4, 1992.

90. NEBERT, D. W. & FELTON, J. S. Importance of genetic factors influencing the metabolism of foreign compounds. **Fed. Proc.**, v. **35**, p. 1133-41, 1976.
91. NELSON, M. M. & FORFAR, J. O. Associations between drugs administered during pregnancy and congenital abnormalities of the fetus. **Br. Med. J.**, v. **1**, p. 523-527, 1971.
92. NISHIMURA, H.; NISHIMURA, N.; TOHYAMA, C. Localization of metallothionein in the genital organs of the male rat. **J. Histochem. Cytochem.**, v. **38**, p. 927-933, 1990.
93. OEHME, F. W. **Toxicity of heavy metals in the environment.** (Hazardous and Toxic Substances. Part 2). New York, Marcell Dekker Inc., 1979.
94. OLDEREID, N. B.; THOMASSEN, Y.; ATTRAMADAL, A.; OLAISEN, B.; PURVIS, K. Concentrations of lead, cadmium and zinc in the tissues of reproductive organs of men. **J. Reprod. Fertil.**, v. **99**, p. 421-425, 1993.
95. PARÍZEK, J. & ZÁHOR, Z. Effect of cadmium salts on testicular tissue. **Nature**, v. **177**, p. 1036-1037, 1956.
96. PARVINEN, M. Regulation of the seminiferous epithelium. **Endocr. Rev.**, v. **3**, p. 404-417, 1982.
97. PARVINEN, M.; VIHKO, K. K.; TOPPARI, J. Cell interactions during the seminiferous epithelial cycle. **Int. Rev. Cytol.**, v. **104**, p. 115-151, 1986.
98. PLACKE, M. E.; WYAND, D. S.; COHEN, S. D. Extrahepatic lesions induced acetaminophen in the mouse. **Toxicol. Pathol.**, v. **15**, p. 381-387, 1987.
99. POON, C. P. C. Removal of cadmium from wastewaters. (Cadmium - a complex environmental problem. Part II). **Experientia**, v. **40**, p. 127-136, 1984.
100. POTTER, D. W. & HINSON, J. A. Mechanisms of acetaminophen oxidation to *N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine by horseradish peroxidase and cytochrome P450. **J. Biol. Chem.**, v. **262**, p. 966-973, 1987.

101. POTTER, W. Z.; DAVIS, D. C.; MITCHELL, J. R.; JOLLOW, D. J.; GILLETTE, BRODIE, B. B. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. III. Cytochrome P450-mediated covalent binding *in vitro*. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 187, p. 203-210, 1973 **apud** THOMAS, S. H. L., p. 93, 1993.
102. PRESCOTT, L. F.; WRIGHT, N.; ROSCOE, P.; BROWN, S. S. Plasma-paracetamol half-life and hepatic necrosis in patients with paracetamol overdose. **Lancet**, v. 1, p. 519-522, Mar. 13, 1971.
103. RASTOGI, R. K.; BAGNARA, J. I.; IELA, L.; KRASOVICH, M. A. Reproduction in the Mexican leaf frog, *Pachimedusa dacnicolor*. IV. Spermatogenesis: A light and ultrasonic study. **J. Morphol.**, v. 197, p. 277-302, 1988.
104. RAVERA, O. Cadmium in freshwater ecosystems. (Cadmium - a complex environmental problem. Part I). **Experientia**, v. 40, p. 02-14, 1984.
105. RAY, S. Bioaccumulation of cadmium in marine organisms. (Cadmium - a complex environmental problem. Part I). **Experientia**, v. 40, p. 14-23, 1984.
106. RAY, S. D.; SORGE, C. L.; RAUCY, J. L.; CORCORAN, G. B. Early loss of large genomic DNA *in vivo* with accumulation of Ca²⁺ in the nucleus during acetaminophen-induced liver injury. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 106, p. 346-351, 1990.
107. RIGGS, B. S.; BRONSTEIN, A. C.; KULIG, K.; ARCHER, P. G.; RUMACK, B. H. Acute acetaminophen overdose during pregnancy. **Obstet. Gynec.**, v. 74, p. 247-253, 1989. **apud** THOMAS, S. H. L., p. 109, 1993.
108. ROBARDS, K. & WORSFOLD, P. Cadmium: Toxicology and Analysis. **Analyst**, v. 116, p. 549-568, 1991.
109. ROBBINS, S. L.; ANGELL, M.; KUMAR, V. **Patologia Básica**. São Paulo, EDUSP, 1986. cap. 1, p. 3-31, cap. 2, p. 32-68, cap. 3, p. 69-90, cap. 9, p. 267-291.

110. ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S.; KUMAR, V. **Patologia Estrutural e Funcional**. 4. ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S. A., 1991. cap. 1, p. 1-32, cap. 2, p. 33-72, cap. 3, p. 73-100, cap. 9, p. 387-424.
111. ROBINS, L. N. The natural history of adolescent drug use. **Am. J. Public Health**, v. 74, p. 656-657, 1984 *apud* Epidemiology of drug usage. **Lancet [Editorial]**, v. 1, p. 147-148, Jan. 19, 1985.
112. ROMEIS, B. **Guia formulário de técnica histológica**. Barcelona, Labor, 1928.
113. ROSS, M. H.; REITH, E. J.; ROMRELL, L. J. **Histologia: texto e atlas**. 2. ed. São Paulo, Ed. Med. Panamericana, 1993. cap. 21, p. 603-647.
114. RUSSEL, L. Further observations on the tubulobulbar complexes formed by late spermatids and Sertoli cells in the rat testis. **Anat. Rec.**, v. 194, p. 213-232, 1979a.
115. RUSSEL, L. Spermatid-Sertoli tubulobulbar complexes as devices for elimination of cytoplasm from the head region of late spermatids of the rat. **Anat. Rec.**, v. 194, p. 233-246, 1979b.
116. RUSSEL, L. & CLERMONT, Y. Anchoring device between Sertoli cells and late spermatids in rat seminiferous tubules. **Anat. Rec.**, v. 185, p. 259-278, 1976.
117. SAARANEN, M.; KANTOLA, M.; SAARIKOSKI, S.; VANHA-PERTTULA, T. Human seminal plasma cadmium: Comparison with fertility and smoking habits. **Andrologia**, v. 21, p. 140-145, 1989.
118. SAKSENA, S. K.; DAHLGREN, L.; LAU, I. F.; CHANG, M. C. Reproductive and endocrinological features of male rats after treatment with cadmium chloride. **Biol. Reprod.**, v. 16, p. 609-613, 1977.

119. SAKUMA, A. M.; SCORSAFAVA, M. A.; ZENEBON, O.; TIGLEA, P.; FUKUMOTO, C. J. Fresh vegetables sold in São Paulo [Brazil]: Aspects of lead, cadmium and zinc contamination. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 49, p. 81-84, 1989.
120. SANDSTEAD, H. H. Nutrient interactions with toxic elements. In: GOYER, R. A. & MEHLMAN, M. A. **Toxicology of trace elements**. (Advances in modern toxicology). Washington, Hemisphere Publishing Corporation, 1977. V. 2, cap. 8, p. 241-256.
121. SHAIKH, Z. A. & SMITH, L. M. Biological indicators of cadmium exposure and toxicity. (Cadmium - a complex environmental problem. Part I). *Experientia*, v. 40, p. 36-43, 1984.
122. SHERLOCK, J. C. Cadmium in foods and the diet. (Cadmium - a complex environmental problem. Part II). *Experientia*, v. 40, p. 152-156, 1984.
123. SHIRAISHI, N.; HOCHADEL, J. F.; COOGAN, T. P.; KOROPATNICK, J.; WAALKES, M. P. Sensitivity to cadmium-induced genotoxicity in rat testicular cells is associated with minimal expression of the metallothionein gene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v. 130, p. 229-236, 1995.
124. SUNDERMAN, F. W. Jr. Metal carcinogenesis. In: GOYER, R. A. & MEHLMAN, M. A. **Toxicology of trace elements**. (Advances in modern toxicology). Washington, Hemisphere Publishing Corporation, 1977. V. 2, cap. 9, p. 257-295.
125. SUNDERMAN, F. W. Jr. Carcinogenic effects of metals. *Fed. Proc.*, v. 37, p. 40-46, 1978.
124. TABOGA, S. R. Estudo estrutural, ultraestrutural e citoquímico da espermatogênese, com ênfase na espermiogênese de *Hyla ranki* (Amphibia, Anura, Hylidae). (Tese de Mestrado) - Instituto de Biologia, UNICAMP, 1990.

125. THOMAS, S. H. L. Paracetamol (Acetaminophen) poisoning. **Pharmacol. Ther.**, v. 60, p. 91-120, 1993.
126. TRINKOFF, A. M. & BAKER, S. P. Poisoning hospitalizations and deaths from solids and liquids children and teenagers. **Am. J. Public Health**, v. 76, p. 657-660, 1986.
127. UENO, H.; NISHIMUNE, Y.; MORI, H. Cyclic localization change of the Golgi Apparatus in the Sertoli Cells induced by mature spermatids in the rats. **Biol. Reprod.**, v. 44, p. 656-662, 1991.
128. ULANDER, A. & AXELSON, O. Measurement of blood-cadmium levels. **Lancet**, v. 1, p.682-683, Apr. 13, 1974.
129. VAITSMAN, H. Perigo: remédios. **O Globo**, Rio de Janeiro, 20 Ago. 1995. Caderno Jornal da Família, p. 01.
130. VAN BRUWAENE, R.; KIRCHMANN, R.; IMPENS, R. Cadmium contamination in agriculture and zootechnology. (Cadmium - a complex environmental problem. Part I). **Experientia**, v. 40, p. 43-52, 1984.
131. WAALKES, M. P.; PERANTONI, A.; BHAVE, M. R.; REHM, S. Strain dependence in mice of resistance and susceptibility to the testicular effects of cadmium: assessment of the role of testicular cadmium-binding proteins. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 93, p. 47-52, 1988a.
132. WAALKES, M. P.; REHM, S.; RIGGS, C. W.; BARE, R. M.; DEVOR, D. E.; POIRIER, L. A.; WENK, M. L.; HENNEMANN, J. R.; BALASCHAK, M. S. Cadmium carcinogenesis in male Wistar [CrI:(WI)BR] rats: Dose-response analysis of tumor induction in the prostate and testes and at the injection site. **Cancer Res.**, v. 48, p. 4656-4663, Aug. 15, 1988b.

133. WAALKES, M. P.; REHM, S.; RIGGS, C. W.; BARE, R. M.; DEVOR, D. E.; POIRIER, L. A.; WENK, M. L.; HENNEMANN, J. R. Cadmium carcinogenesis in male Wistar [Cri:(WI)BR] rats: Dose-response analysis of effects of zinc on tumor induction in the prostate, in the testes, and at the injection site. **Cancer Res.**, v. 49, p. 4282-4288, Aug. 1, 1989.
134. WAALKES, M. P.; KOVATCH, R.; REHM, S. Effect of chronic dietary zinc deficiency on cadmium toxicity and carcinogenesis in the male Wistar [Hsd: (WI)BR] rat. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 108, p. 448-456, 1991.
135. WAALKES, M. P.; COOGAN, T. P.; BARTER, R. A. Toxicological principles of metal carcinogenesis with special emphasis on cadmium. **Crit. Rev. Toxicol.**, v. 22, p. 175-201, 1992.
136. WAHBA, Z. Z.; HERNANDEZ, L.; ISSAQ, H. J.; WAALKES, M. P. Involvement of sulfhydryl metabolism in tolerance to cadmium in testicular cells. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 104, p. 157- 166, 1990.
137. WANG, C.; BROWN, S.; BHATTACHARYYA, M. H. Effect of cadmium on bone calcium and ⁴⁵Ca in mouse dams on a calcium-deficient diet: evidence of Itai-Itai-like syndrome. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 127, p. 320-330, 1994.
138. WIGER, R.; HONGSLO, J. K.; EVENSON, D. P.; DE ANGELIS, P. E.; HOLME, J. A. **Effects of paracetamol on spermatogenesis and spermiogenesis in laboratory mice.** 2nd Nordic Toxicology Congress. (Humans in the toxic environment). Mariehamn, Finland, May 6-10, 1992.
139. WIGER, R.; HONGSLO, J. K.; EVENSON, D. P., DE ANGELIS, P. E.; SCHWARZE, P. E.; HOLME, J. A. Effects of acetaminophen and hydroxyurea on spermatogenesis and sperm chromatin structure in laboratory mice. **Reprod. Toxicol.**, v. 9, p. 21-33, 1995.
140. WILLIAMS, C. R. & HARRISON, R. M. Cadmium in the atmosphere. (Cadmium - a complex environmental problem. Part I). **Experientia**, v. 40, p. 29-36, 1984.

141. World Health Organization (WHO). **Cadmium**. (Environmental health criteria: 134). Geneva, World Health Organization, 1992a.
142. World Health Organization (WHO). **Cadmium: Environmental Aspects**. (Environmental health criteria: 135). Geneva, World Health Organization, 1992b.
143. YAMAGUCHI, K. & KANDEL, D. B. Patterns of drug use from adolescence to young adulthood. II. Sequences of progression. **Am. J. Public Health**, v. **74**, p. 668-672, 1984a *apud* Epidemiology of drug usage. **Lancet [Editorial]**, v. **1**, p. 147-148, Jan. 19, 1985.
144. YAMAGUCHI, K. & KANDEL, D. B. Patterns of drug use from adolescence to young adulthood. III. Predictions of progression. **Am. J. Public Health**, v. **74**, p. 673-681, 1984b *apud* Epidemiology of drug usage. **Lancet [Editorial]**, v. **1**, p. 147-148, Jan. 19, 1985.
145. YOST, K. J. Cadmium, the environment and human health: an overview. (Cadmium - a complex environmental problem. Part II). **Experientia**, v. **40**, p. 157-164. 1984.
146. ZANINI, A. C. & OGA, S. **Farmacologia Aplicada**. 4. ed. São Paulo, Editora Atheneu, 1989.
147. ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. 2. ed. Englewood Cliffs, Prentice-Hall, 1984.