

**CAMBIOS ANATOMOPATOLÓGICOS EN
GLOMÉRULO RENAL DE RATONES INTOXICADOS
EXPERIMENTALMENTE CON CADMIO**

LETTY MARCANO, INGRID CARRUYO, XIOMARA MONTIEL Y PEDRO SALAZ¹

*Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias,
Universidad del Zulia, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela
letty_marcano@hotmail.com, lettymarcano@cantv.net*

¹*Unidad de Microscopía Electrónica, Universidad Francisco de Miranda
Coro, Estado Falcón, Venezuela*

Resumen. Se valoró las alteraciones estructurales inducidas en glomérulo de ratones expuestos a intoxicación crónica por cadmio. Los ratones hembras (*Mus musculus*) se distribuyeron en tres grupos: Grupo control de 20 ratones, sometidos a ingesta *ad libitum* con agua destilada por un período de 100 días y Grupos B y C, constituidos por 20 ratones cada uno, a los cuales se les sustituyó el agua destilada por solución de CdCl₂ a concentraciones de 10 ppm y 15 ppm, por el mismo período. Las muestras de riñón fueron procesadas por las técnicas convencionales para el estudio por microscopía óptica y electrónica. Se revelaron alteraciones en el glomérulo expuesto; a 10 ppm muestra una membrana basal irregular, con pérdida de pedicelos y alteraciones de la arquitectura celular. Adicionalmente, se observaron depósitos intra-celulares en forma de huellas dactilares. En los tejidos tratados con cadmio a 15 ppm, se observaron cambios similares pero más severos, con la presencia de cuerpos multivesiculares y zonas de detritos celulares. Algunas células muestran características necróticas con tumefacción y fragmentación nuclear (cariorrhexis). Los resultados sugieren que el cadmio induce un efecto citotóxico, valorado por cambios anatomopatológicos del glomérulo. Un importante hallazgo en este estudio es que el cadmio actúa en el glomérulo a concentraciones relativamente bajas, tal que los humanos expuestos ambientalmente podrían sufrir algún tipo de glomerulopatía. *Recibido: 17 marzo 2006, aceptado: 27 marzo 2007.*

Palabras clave: Cadmio, glomerulopatía, *Mus musculus*, ratón, riñón, toxicología, ultraestructura.

ANATOMOPATHOLOGICAL CHANGES IN RENAL GLOMERULI OF MICE
INTOXICATED EXPERIMENTALLY WITH CADMIUM

Abstract. We evaluated structural alterations in renal glomeruli of mice chronically exposed to cadmium. Female mice (*Mus musculus*) were divided into three groups: a control group of 20 mice, were administered distilled water for 100 days, and two experimental groups A and B, with 20 mice each, were administered a 10 ppm and 15 ppm CdCl₂ solution for 100 days respectively. Kidney samples were fixed and processed using standard methods for optical and electron microscopy. Analyses of micrographs showed alterations in the glomeruli exposed to cadmium. The glomerulus exposed to 10 ppm Cd⁺² showed an irregular basal membrane with pedicel loss and alterations in cell architecture. In addition, intramembranous deposits in form of fingerprints were observed. In tissues exposed to 15 ppm cadmium, similar but more severe changes were observed, including presence of multivesicular bodies and cellular detritus zones. Some cells showed necrosis with tumefaction and nuclear fragmentation (cariorexix). Results suggest that exposure to cadmium induced cytotoxic effects, revealed by anatomical and pathological changes in the glomerulus. An important finding in this study is that cadmium acts on the glomerulus even at relatively low concentrations. Thus, humans environmentally exposed to cadmium are at risk of suffering glomerulopathy. *Received: 17 March 2006, accepted: 27 March 2007.*

Key words: Cadmium, glomerulopathy, *Mus musculus*, mice, kidney, toxicology, ultrastructure.

INTRODUCCIÓN

El cadmio es un metal pesado cuya producción y uso en el ámbito industrial se ha extendido rápidamente, hasta el punto que la Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA. 1992), lo considere determinante en problemas de salud ocupacional. La fabricación de baterías y la estabilización de algunos plásticos son los usos más frecuentes de este metal, sin embargo, es utilizado igualmente en la elaboración de algunos plaguicidas y fertilizantes. (USEPA 2001). Esto conlleva a considerar, que en suelos agrícolas contaminados con el metal, la exposición de rumiantes a este elemento potencialmente tóxico se produzca, al pastorear en dichas áreas.

El metal, una vez que ha ingresado al organismo, se fija rápidamente a los tejidos, principalmente en riñón e hígado, combinándose de forma selectiva con la metalotioneína (Geret y Cosson 2002). Cuando los niveles de cadmio en dichos tejidos exceden a los de esta proteína, el metal ejerce su efecto tóxico,

cuyas primeras manifestaciones son propias de nefropatías y alteraciones hepáticas (USEPA 2001). En intoxicaciones crónicas son habituales la osteopatía y algunos tipos de cáncer relacionados con el aparato reproductor masculino (Leoni *et al.* 2002, Koisumi y Yamada 2003).

Son varios los trabajos donde se reporta el efecto de la contaminación por cadmio en suelos, plantas y tejido animal, señalando una gran capacidad de bioacumulación y toxicidad (USEPA 2001, Marcano *et al.* 2001, 2002, Romero *et al.* 2003, Watjen 2004, Marcano *et al.* 2005). El riñón es considerado un órgano crítico para la toxicidad por cadmio, tanto en humanos como en animales de experimentación, los daños reportados están relacionados con su efecto en túbulos renales (Kogan *et al.* 2000, Brzóska *et al.* 2003, Azar *et al.* 2004). En el presente trabajo, se evalúan los cambios estructurales en glomérulo de ratones albino suizo (*Mus musculus*), expuestos a intoxicación crónica con cloruro de cadmio (CdCl_2), seleccionando para tal efecto las concentraciones consideradas como permisible por la Agencia de Protección Ambiental de EE.UU: 1×10^{-3} y 5×10^{-3} mg/kg/día, en agua y alimentos respectivamente (USEPA 2001).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 60 ratones hembras, destetados, de 22 días de nacidos, con una talla promedio de $6,41 \pm 0,53$ cm y peso promedio de $22,34 \pm 2,3$ g. Los ratones recibieron una dieta estándar basada en un alimento comercial, mantenidos en condiciones convencionales de temperatura de 22 ± 1 °C, con una humedad relativa de $50 \pm 10\%$ y período de luz/oscuridad de 12 h/12 h. Los animales se distribuyeron en tres grupos: Grupo A: 20 ratones control, sometidos a ingesta *ad libitum* con agua destilada por un período de 100 días. Grupos B y C, constituidos por 20 ratones cada uno, a los cuales se les sustituyó el agua destilada por solución de CdCl_2 a concentraciones de 10 ppm y 15 ppm, por el mismo período. Finalizada la fase experimental, los animales fueron anestesiados intraperitonealmente con uretano (1g/kg) y sacrificados. Se extrajo el riñón, que fue cortado en secciones sagitales y transversales para ser procesado por microscopía. El estudio fue llevado a cabo de acuerdo a las normas de bioética y bioseguridad para la investigación con organismos vivos, ambiente y bioterios, establecidas por el Ministerio de Ciencia y Tecnología y el Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (Venezuela), para el uso de animales de experimentación.

PROCESAMIENTO PARA MICROSCOPIA ÓPTICA

Las muestras se fijaron en formaldehído al 10% a pH 7,2 por 24 h e incluidas en parafina; se realizaron cortes de 6µm de grosor, se hidrataron y tiñeron con hematoxilina-eosina y con el reactivo de Schiff-Ácido Periódico (PAS), para ser observadas en un microscopio de luz marca Zeiss.

PROCESAMIENTO PARA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

El tejido se fijó en glutaraldehído al 2% en buffer cacodilato 0,1 M, pH 7.2, por 2 h., a temperatura ambiente y post-fijadas en tetraóxido de osmio al 1% en el mismo buffer por 1 h. Posteriormente se deshidrató en etanol y óxido de propileno, se infiltró e incluyó en la resina poliéster Araldita 502. Se realizaron cortes ultrafinos de 100–200 nm, se tiñeron con acetato de uranilo y contrastaron con citrato de plomo, para ser observados en un microscopio electrónico de transmisión (Hitachi H-7000).

RESULTADOS

Posterior a los 30 días de iniciado el ensayo, todos los animales expuestos al tóxico comenzaron a presentar cambios como pigmentación y caída del pelo, oscurecimiento de los ojos, debilidad muscular e intranquilidad, los cuales se acentuaron a medida que la concentración de CdCl₂ y el tiempo de exposición se incrementaron. En la Figura 1 se muestra un glomérulo control, con patrones normales y distribución de células mesangiales y endoteliales característicos. El análisis de los cortes gruesos teñidos con hematoxilina-eosina y PAS, reveló alteraciones a las dos concentraciones empleadas. Los glomérulos se presentaron colapsados con disminución del espacio subcapsular de Bowman, retracción de los capilares, proliferación de células mesangiales vacuolizadas y con heteropicnosis nuclear. En el epitelio tubular se observó atrofia del ribete en cepillo, pérdida de contorno y límites celulares; algunos túbulos presentan dilataciones quísticas con apilamiento del epitelio tubular y fibrosis. También se evidenció la presencia de depósitos PAS positivos (Fig. 2). La Figura 3, muestra la micrografía electrónica de corpúsculo renal control en la que se puede apreciar la lámina basal uniforme y células del epitelio visceral: Podocito y pedicelo, mitocondrias de forma elongada y crestas organizadas características de este tejido. Los cambios ultraestructurales de glomérulos de tejido renal expuesto a 10 ppm de Cd⁺² se presentan en la Figura 4, se observa la membrana basal engrosada, con pérdida de pedicelos y aposición directa del citoplasma. En el citoplasma adyacente, se muestra una gran vacuolización del citoplasma, mitocondrias hinchadas con desorganización de las crestas mitocondriales y pérdida de la forma alargada

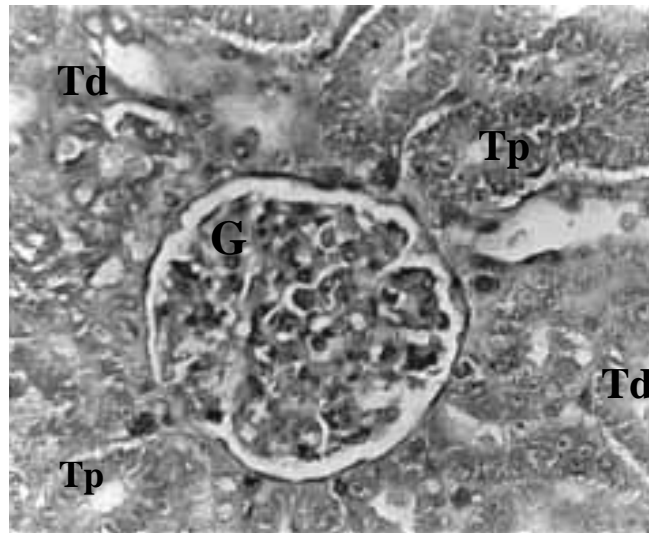


Figura 1. Tejido renal de ratón control. Se muestra el glomérulo (G) con patrones normales, distribución de células mesangiales y endoteliales características. Túbulo distal (Td) y proximal (Tp) (200X).

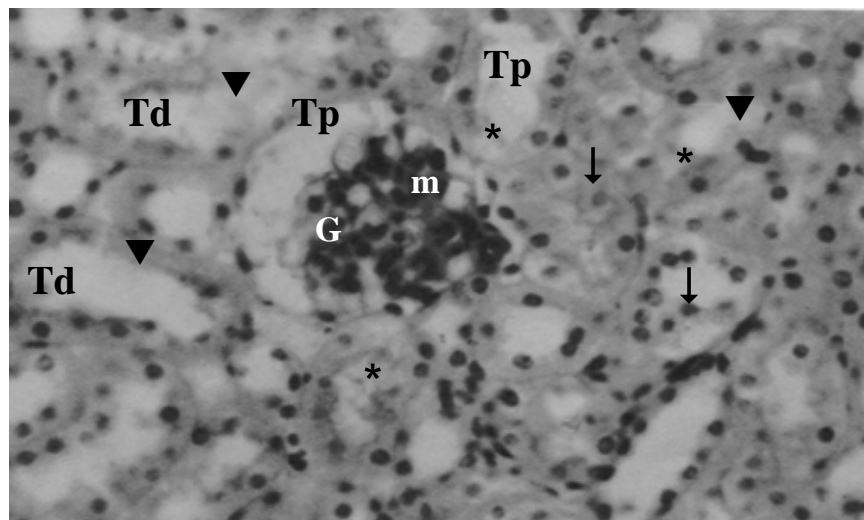


Figura 2. Tejido renal de ratón expuesto a 10 ppm con Cd²⁺: Glomérulo (G) colapsado con disminución del espacio subcapsular de Bowman, proliferación de células mesangiales (m); dilatación de los túbulos distal (Td) y proximal (Tp), con atrofia del ribete en cepillo (▼); células vacuolizadas con pérdida de contorno y heteropícnosis nuclear (↓). También se observa la presencia de depósitos PAS positivos (*) (400 X).

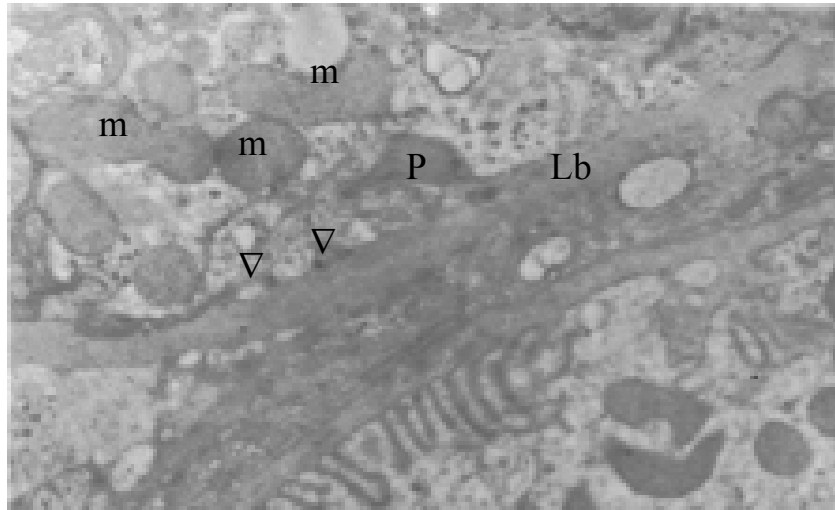


Figura 3. Micrografía electrónica de corpúsculo renal control. Se observa la lámina basal (Lb) uniforme, Podocito (P), pedicelo (∇), mitocondrias de forma elongada y crestas organizadas (16.000 X).

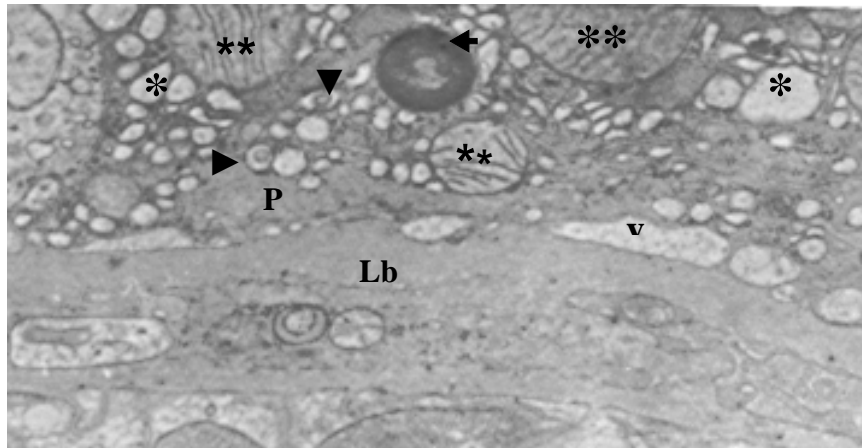


Figura 4. Micrografía de glomérulo de tejido de ratón expuesto al cadmio Cd+2 (10 ppm). Se muestra la lámina basal (Lb), podocitos (P) y depósitos en forma de gotas hialinas (▼). Se observa vacuolización (v), dilatación de cisternas citoplasmáticas (*) y tumefacción mitocondrial (**). También se presentan depósitos intracelulares en forma de huellas dactilares (♣) (16.000 X).

normal; depósitos en forma de gotas hialinas y la presencia de depósitos intracelulares en forma de huellas dactilares, estos últimos presentados con más detalles en la Figura 5. En los glomérulos renales de los ratones tratados con cadmio a 15 ppm, los cambios fueron más severos. Las mitocondrias aparecieron tumefactas con densidades amorfas, el retículo endoplásmico se mostró dilatado, con desprendimiento y disgregación de ribosomas; presentándose cuerpos multivesiculares y zonas de detrito celular (Fig. 6). La frecuencia de tumefacción mitocondrial obtenida en los resultados se evidencia en la Figura 7, donde se observa un núcleo con la envoltura nuclear deformada y cromatina condensada. En la Figura 8 se revela una célula con características necróticas, con tumefacción y fragmentación nuclear (cariorrhexis), acompañadas de hematíes.

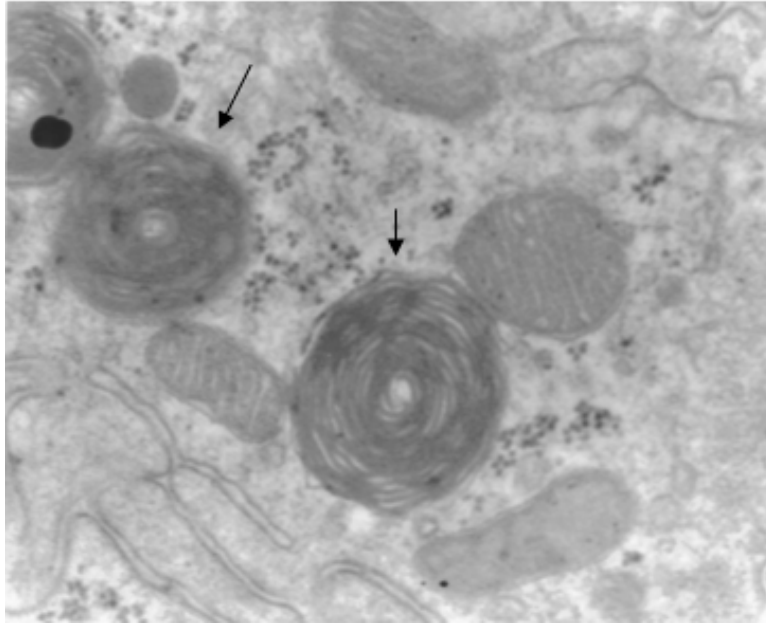


Figura 5. Micrografía donde se muestra a mayor aumento la presencia de depósitos intracelulares en forma de huellas dactilares (▼) (33.000 X).

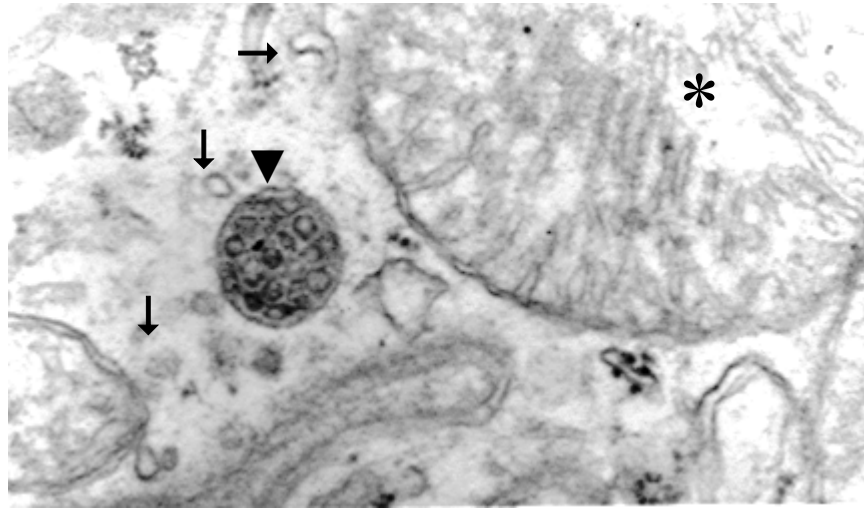


Figura 6. Micrografía de glomérulo de tejido de ratón expuesto al cadmio 15 ppm. Se observa tumefacción mitocondrial (*), cuerpos multivesiculares (▼) y zonas de detrito celular (↓) (30.000 X).

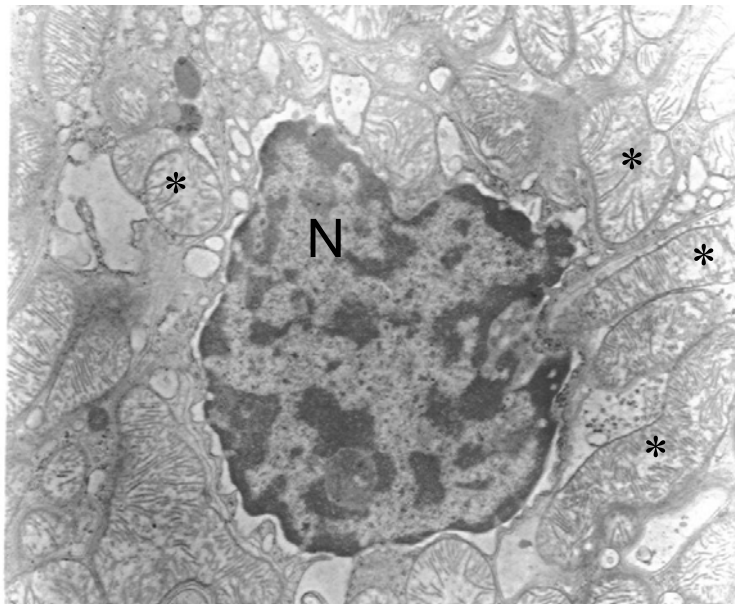


Figura 7. Micrografía de célula de endotelio glomerular de tejido de ratón expuesto al cadmio 15 ppm. Se observa un núcleo (N) con cromatina condensada y una envoltura nuclear hinchada y deformada. También se presentan mitocondrias tumefactas (*).

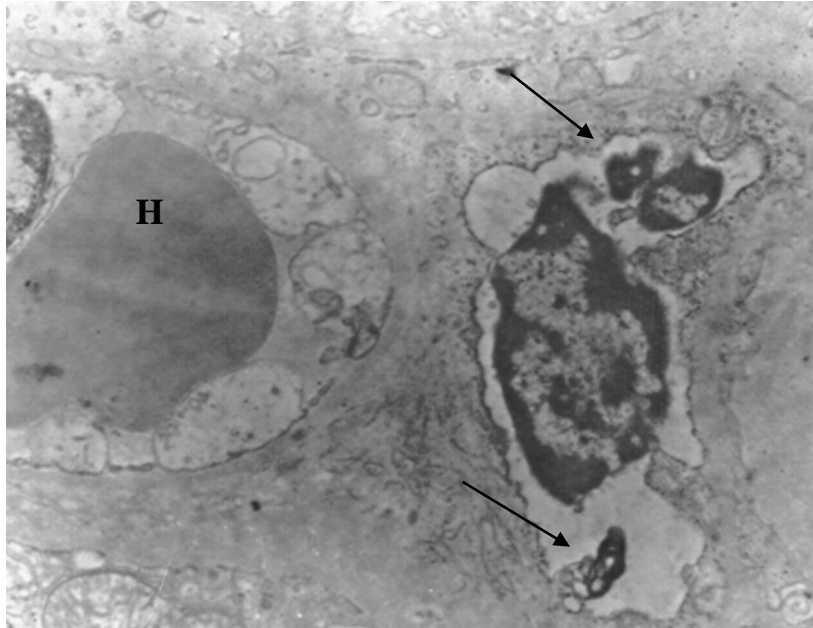


Figura 8. Micrografía de célula de endotelio glomerular; se muestra tumefacción y fragmentación nuclear (↓) y la presencia de hematíes (H) (24.000 X).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos coinciden con los reseñados por otros autores que establecen el daño causado por el cadmio en modelos murinos (Matsuura *et al.* 1991, Dorian *et al.* 1995, Brzosca *et al.* 2003). Thijssen *et al.* (2007) reportan daños funcionales e histológicos del riñón en ratones expuestos a bajas dosis de cadmio, señalando que sus estudios no corroboran la hipótesis de que los niveles de cadmio en orina sea un indicador del nivel total del metal en el cuerpo, por lo menos cuando este último es bajo. Brzosca *et al.* (2004), en estudios realizados en ratas expuesta a intoxicación crónica con cadmio, establecen que uno de los principales blancos para la toxicidad del cadmio en el riñón son los túbulos proximales. El glomérulo también es dañado, mientras que en otras partes del nefrón los daños son menores. Los resultados señalan cambios anatomopatológicos en glomérulo del tejido renal de los ratones expuestos, que revelan la citotoxicidad ejercida por el metal. La vacuolización citoplasmática observada, coincide con los reportes de Thijssen *et al.* (2007); esta, al igual que la dilatación de organelos y tumefacción mitocondrial mostrada a microscopía electrónica, podría ser consecuencia del efecto inhibitorio sobre las enzimas responsables del mantenimiento de la

integridad celular, tal como lo señalan Korotkov *et al.* (1998). Ellos sugieren que el cadmio altera la estructura de la membrana celular por su efecto inhibitorio sobre la actividad de enzimas como la glutatión reductasa, glutatión peroxidasa y catalasa, reportando además alteraciones de la membrana interna mitocondrial, instaurando un incremento de la permeabilidad al K^{+2} y al H^{+2} . Koizumi *et al.* (1996) establecen que el cadmio produce inhibición de la ATPasa $Na^{+2}-K^{+2}$, originando un aumento del sodio intracelular lo cual ocasiona retención de agua e hólisis celular. Por otro lado, Pourahmad *et al.* (2003), reportan cambios en la permeabilidad de la membrana plasmática causados por el metal asociado con la formación de peróxidos lipídicos, que podrían convertirse en radicales libres capaces de generar lesiones en las membranas celulares.

La reacción de PAS demuestra desorganización de los componentes de la lámina basal, lo cual podría ser la causa de las irregularidades obtenidas. Asar *et al.* (2004), reportan un incremento en la producción de fibronectina en ratas tratadas con cadmio, posiblemente mediado por aumento de los niveles de la forma activa del TGF- α_1 induciendo la transformación de células mesangiales, sobreproduciendo fibronectina, que al acumularse puede originar glomeruloesclerosis o pérdida de la función laminar. Chambers *et al.* (1998) establecen que el Cd^{+2} es un potente inhibidor de la síntesis de proteoglicanos, componente esencial de esta estructura. Las alteraciones observadas en la lámina basal y la pérdida de pedicelos son compatibles con las características de una "Nefrosis lipoidea" (Barat *et al.* 2002) y se ha reportado que puedan ser causadas por la presencia de un factor sérico, posiblemente humoral, capaz de causar daño en las células epiteliales viscerales (podocitos), las cuales al degenerarse pierden su capacidad de filtración produciendo el colapso glomerular (Ávila-Casado 1999). Adicionalmente, se presentan depósitos intracelulares en forma de huellas dactilares característicos de lupus nefrítico proliferativo (García y Valenzuela 2002). Los cuerpos multivesiculares (Fig. 3), descritos como arreglos organizados de membranas citoplasmáticas y relacionados con altos niveles de interferón alfa, son particularmente prominentes en las células endoteliales de la nefropatía asociada al VIH (Ávila-Casado 1999). En la Figura 4 se muestran algunas células necróticas caracterizadas por tumefacción y fragmentación nuclear (cariorrhexis), acompañadas de hematíes, frecuentes en lesiones de nefrotoxicidad tales como Glomerulonefritis focal y segmentaria y en las asociadas al VIH (Ávila-Casado 1999, Szczech 2001, Oates y Gilkenson 2002). Existen reportes que establecen la toxicidad del cadmio en tejido renal en modelos experimentales. Dorian *et al.* (1995) señalan que la exposición aguda al cadmio produce hepatotoxicidad, pero no daño renal. Sin embargo, la exposición crónica

produce efectos nefrotóxicos. Matsuura *et al.* (1991) y Asar *et al.* (2004) señalan alteraciones ultraestructurales en los organelos celulares de túbulo proximal de ratas, infiriendo que el daño es heterogéneo en el nefrón, posiblemente debido a la distribución del cadmio en el interior celular. Similarmente Brzóska *et al.* (2004), establecen alteraciones estructurales y fisiológicas en túbulo proximal, en ratas sometidas a intoxicación con niveles de cadmio inferiores a las reportadas como aceptables para la exposición ambiental en humanos.

Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por otros autores quienes señalan alteraciones morfológicas inducidas por el metal en diversos tejidos (Kogan *et al.* 2000, Alvarez-Barrientos *et al.* 2001, Marcano *et al.* 2001, 2005, Romero *et al.* 2003).

CONCLUSIÓN

Los resultados permiten establecer cambios anatomopatológicos del glomérulo de ratones expuestos experimentalmente al cadmio, aún a concentraciones consideradas como permisible por la USEPA, lo que pone de manifiesto el riesgo para la salud de los organismos, incluyendo humanos, expuestos ambientalmente al metal. Se recomienda realizar monitoreos para valorar los niveles del metal presentes en zonas urbanas y rurales.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento de esta investigación.

LITERATURA CITADA

- ALVAREZ-BARRIENTOS, A., J. E. O'CONNOR, R. NIETO, A. MORENO Y P. PRIETO. 2001. Use of flow cytometry and confocal microscopy techniques to investigate early CdCl₂-induced nephrotoxicity in vitro. *Toxicol. in Vitro* 15: 407-412.
- ASAR, M., Ü. KAYISLI, T. IZGÜT-UYSAL Y G. AKKOYUNLU. 2004. Immunohistochemical and ultrastructural changes in the renal cortex of cadmium-treated rats. *Biol. Trace. Element. Res.* 97: 249-263.
- ÁVILA-CASADO, M. A. 1999. Glomerulopatía colapsante: Una nueva entidad asociada a síndrome nefrótico e insuficiencia renal terminal. *Rev. Invest. Clin.* 51: 367-373.
- BARAT, A., M. MOLINA Y F. MANZARBEITIA. 2002. Sinopsis de patología ultraestructural del glomérulo renal. *Rev. Esp. Patol.* 35: 151-166.

- BRZÓSKA, M., M. KAMINSKI, D. SUPERNAK-BOBKO, K. ZWIERZ Y J. MONIUSZKO-JAKONIUK. 2003. Changes in the structure and function of the kidney of rats chronically exposed to cadmium. I. Biochemical and histopathological studies. *Arch. Toxicol.* 77: 344–352.
- BRZÓSKA, M., M. KAMINSKI, M. DZIKI Y J. MONIUSZKO-JAKONIUK. 2004. Changes in the structure and function of the kidney of rats chronically exposed to cadmium. II. Histoenzymatic studies. *Arch. Toxicol.* 78: 226–231.
- CHAMBERS, R., R. MCANULTY Y A. SHOCK. 1998. Cadmium selectively inhibits fibroblast procollagen production and proliferation. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 3: 498–506.
- DORIAN, C., V. H. GATTONE Y C. D. KLAASSEN. 1995. Discrepancy between the nephrotoxic potencies of cadmium-metallothionein and cadmium chloride and the renal concentration of cadmium in the proximal convoluted tubules. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 130: 161–168.
- GARCÍA, I. Y M. VALENZUELA. 2002. Glomerulopatías con depósitos fibrilares. *Rev. Esp. Patol.* 35: 167–176.
- GERET, F. Y R. P. COSSON. 2002. Induction of specific isoforms of metallothionein in mussel tissues after exposure to cadmium or mercury. *Arch. Environ. Cont. Toxicol.* 42:36–42.
- KOROTKOV, S., I. SKUISKII Y V. GIAZUNOV. 1998. Cd⁺² effects on respiration and swelling of rat liver mitochondria were modified by monovalent cations. *J. Inorg. Biochem.* 70: 17–23.
- KOGAN, M., L. LOPEZ, L. ROMANO Y F. RODRÍGUEZ. 2000. Effects of cadmium on somatic and gonadal growth of juvenil females of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Brachyura: Grapsidae). *Zool. Stud.* 39: 344–350.
- KOIZUMI, T., H. SHIRAKURA, H. KUMAGAI, H. TATSUMOTO Y T. SUZUKI. 1996. Mechanism of cadmium induce cytotoxicity in rat hepatocytes: cadmium induce active oxygen-related permeability changes of the plasma membrane. *Toxicol.* 114: 125–134.
- KOIZUMI, S. Y H. YAMADA. 2003. DNA microarray analysis of altered gene expression in cadmium-exposed human cells. *J. Occup. Health* 45: 331–334.
- LEONI, G., L. BOGLIOLO, G. DEINA, F. BERLINGUER, I. ROSATI, P. PINTUS, S. LEDDA Y S. NAITANA. 2002. Influence of cadmium exposure on in vitro gamete dysfunction. *Reprod. Toxicol.* 16: 371–377.
- MARCANO, L., I. CARRUYO Y X. MONTIEL. 2001. Alteraciones citológicas inducidas por el Cadmio en meristemos radiculares de cebolla (*Allium cepa* L). *Rev. Fac. Agron.* 18: 247–257.
- MARCANO, L., I. CARRUYO, A. DEL CAMPO Y X. MONTIEL. 2002. Effect of cadmium on the nucleoli meristematic cells of *Allium cepa*. L. An ultrastructural study. *Environ. Res.* 88: 30–35.
- MARCANO, L., I. CARRUYO, C. FARÍA Y X. MONTIEL. 2006. Citotoxicidad del cadmio en hepatocitos de ratón albino. *Rev. Biol. Trop.* 54: 257–263.
- MATSUURA, K., M. TAKASUGI, Y. KUNIFUJI, A. OIRÉ Y A. KUROIWA. 1991. Morphological effects of cadmium on proximal tubular cells in rats. *Biol. Trace. Elem. Res.* 31: 171–182.

- OATES, J. Y G. GILKENSON. 2002. Mediator of injury in lupus nephritis. *Curr. Opin. Rheumatol.* 14: 498–503.
- OSHA. 1996. Occupational exposure to cadmium in the construction industry. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, Std. 29 CFR. 1910–1927.
- POURAHMAD, J., P. O'BRIEN, F. JOKAR Y B. DARAEI. 2003. Carcinogenic metal induced sites of reactive oxygen species formation in hepatocytes. *Toxicol. in Vitro* 17: 803–810.
- ROMERO, D., M. GÓMEZ-ZAPATA, A. LUNA Y J. GARCÍA-FERNÁNDEZ. 2003. Morphological characterisation of BGM (Buffalo Green Monkey) cell line exposed to low doses of cadmium chloride. *Toxicol. in Vitro* 17: 293–299.
- THIJSEN, S., J. MARINGWA, C. FAES, I. LAMBRICHTS Y E. VAN KERKHOVE. 2007. Chronic exposure of mice to environmentally relevant, low doses of cadmium leads to early renal damage, not predicted by blood or urine cadmium levels. *Toxicology* 229: 145–156.
- (USEPA) UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 2001. Chronic toxicity summary. Cadmium and cadmium compounds. Environmental Protection Agency, CAS Registry Number 7440-43-9.
- WATJEN, W. Y D. BEYERSMANN. 2004. Cadmium-induced apoptosis in C6 glioma cells: influence of oxidative stress. *Biometals* 17: 65–78.
- SZCZECZ, L. 2001. Renal disease associated with human immunodeficiency virus infection: epidemiology, clinical course and management. *Clin. Inf. Dis.* 33: 115–119.