

EFEITO DA CELULOSE ALIMENTAR NA ABSORÇÃO
INTESTINAL DE CHUMBO

POR
TEREZINHA J. GARCIA SALVA
ENG^a ALIMENTOS

TESE APRESENTADA PARA OBTENÇÃO
DO TÍTULO DE MESTRE EM
CIÊNCIAS DE ALIMENTOS

Prof. Dr. JAIME AMAYA-PARISAN
ORIENTADOR

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

1982

A G R A D E C I M E N T O S

- Ao Prof. Jaime Amaya-Farfan pela amizade e orientação desta tese.
- Ao CNPq pelo auxílio financeiro.
- Ao Prof. Valdemiro Carlos Sgarbieri por ter permitido o desenvolvimento deste trabalho em seu laboratório.
- Ao Cláudio Pimentel pela grande ajuda nos experimentos em Biotério.
- Ao Durigan pelo estímulo para a execução deste trabalho.
- À Gláucia, Eliana e Júlia pela amizade alegre e descontraída.
- Às técnicas Keiko e Helena pela colaboração.
- Aos bibliotecários desta Faculdade e da Faculdade de Biologia pela atenção.

Ao Marco e ao José

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	viii
SUMMARY.....	x
1. INTRODUÇÃO..	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. FONTES DE CONTAMINAÇÃO.....	3
ALIMENTOS E BEBIDAS.....	4
ÁGUA.....	4
TINTAS.....	5
AR.....	5
2.2. ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO E EXCREÇÃO DO METAL....	6
ABSORÇÃO.....	6
DISTRIBUIÇÃO APÓS A ABSORÇÃO.....	9
EXCREÇÃO.....	13
2.3. COMPONENTES DA DIETA QUE TÊM SEU EFEITO NA AB- SORÇÃO, RETENÇÃO E EXCREÇÃO DE CHUMBO ESTUDA- DO.....	14
FERRO.....	15
CÁLCIO E FÓSFORO.....	15
VITAMINA D.....	18
ZINCO.....	19
COBRE.....	19
PROTEÍNAS E AMINO ÁCIDOS.....	20
GORDURA.....	20
AGENTES QUELANTES.....	21
LEITE.....	21

2.4. EFEITOS BIOQUÍMICOS DA INTOXICAÇÃO POR CHUMBO...	22
2.5. DIAGNÓSTICO DO ENVENENAMENTO.....	23
2.6. QUÍMICA DO CHUMBO.....	25
2.7. FIBRA ALIMENTAR.....	25
CELULOSE.....	28
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1. MÉTODO EMPREGADO PARA A DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CHUMBO.....	32
3.1.a. METODOLOGIA.....	32
3.1.b. CONSTRUÇÃO DA CURVA PADRÃO.....	33
3.1.c. DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE DO APARELHO	33
3.1.d. DETERMINAÇÃO DO LIMITE DE DETECÇÃO.....	33
3.1.e. DETERMINAÇÃO DA PORCENTAGEM DE RECUPERAÇÃO.....	34
3.2. EXPERIMENTOS BIOLÓGICOS.....	34
3.2.1. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE CELULOSE NA DIETA NO TEMPO DE ABSORÇÃO DO CHUMBO E NA CONCENTRAÇÃO INICIAL DO METAL NOS RINS E FÍGADO.....	34
3.2.2. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE CELULOSE NA DIETA NA DEPOSIÇÃO DE CHUMBO NOS RINS E FÍGADO E NA CONCENTRAÇÃO DO METAL NO SANGUE	39
3.3. RETENÇÃO DE CHUMBO PELA CELULOSE <i>in vitro</i>	40
3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1. ESTUDO DA ABSORÇÃO DE CHUMBO EM ANIMAIS TRATADOS COM REFEIÇÃO ÚNICA.....	45
DIETA ISENTA DE CELULOSE.....	48
DIETA COM 0,5% DE CELULOSE.....	50

DIETA COM 1% DE CELULOSE.....	52
DIETA COM 2% DE CELULOSE.....	54
4.2. ESTUDO DA ABSORÇÃO DE CHUMBO COM INGESTÃO PRO- LONGADA DE DIETA.....	59
4.3. INTERAÇÃO CELULOSE PbO <i>in vitro</i>	67
5. CONCLUSÕES.....	77
6. BIBLIOGRAFIA.....	79

ÍNDICE DE TABELA

	Página
TABELA 1. Deposição de chumbo radioativo em vários órgãos a intervalos de tempo após a administração intravenosa de uma dose teste de $PbCl_2$	11
TABELA 2. Composição das dietas empregadas nos testes biológicos.....	36
TABELA 3. Composição da mistura salina empregadas nos experimentos biológicos.....	37
TABELA 4. Composição da mistura vitamínica empregada nos experimentos biológicos.....	38
TABELA 5. Quantidades de ração e chumbo ingeridas pelos animais e a relação entre o chumbo depositado nos três tecidos e o ingerido durante 30 minutos de refeição.....	57
TABELA 6. Quantidade de dieta consumida e ganho de peso por grupo de ratos alimentados com dietas com vários níveis de celulose acrescidas de PbO no ensaio de 44 dias.....	60
TABELA 7. Teor de chumbo nos rins, fígado e sangue dos animais tratados por 44 dias com dieta com vários níveis de celulose	62
TABELA 8. Quantidades de ração e chumbo consumidas por animal tratado por 44 dias com dieta contendo diferentes teores de celulose...	63

TABELA 9. Porcentagem de chumbo excretado nas fe-	
zes dos animais tratados com dietas con	
tendo vários níveis de celulose.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Etapas da síntese do grupo heme.....	23
FIGURA 2. Monômeros e polímeros encontrados na fibra sugerir a alguma nomenclatura sugerida..	27
FIGURA 3. Esquema seguido para a observação da <u>capa</u> cidade da celulose de reter Pb <i>in vitro</i> ...	42
FIGURA 4. Curva padrão para a determinação da concen- tração de Pb ⁺² em solução.....	44
FIGURA 5. Efeito dos vários níveis de celulose dietá- ria na absorção e acumulação inicial de Pb ⁺² conjunta no sangue, rins e fígado do rato em função do tempo pós prandial.....	46
FIGURA 6. Variação da porcentagem de chumbo deposita- do no sangue, rins e fígado com o tempo de corrido após o início da refeição com <u>die</u> ta isenta de celulose.....	49
FIGURA 7. Variação da porcentagem de chumbo deposita- do nos rins, fígado e sangue com o tempo decorrido após o início da refeição com <u>u</u> ma dieta com 0,5% de celulose.....	51
FIGURA 8. Variação da porcentagem de chumbo deposita- do no sangue, rins e fígado com o tempo decorrido após o início da refeição com <u>u</u> ma dieta com 1% de celulose.....	53

FIGURA 9. Variação da porcentagem de chumbo depositado no fígado, rins e sangue com o tempo decorrido após o início da refeição com uma dieta com 2% de celulose.....	55
FIGURA 10. Variação da porcentagem de chumbo retido pela celulose com a quantidade de metal a ela adicionado em meio ácido.....	68
FIGURA 11. Variação da porcentagem de chumbo retido pela celulose com a quantidade de metal a ela adicionado em meio alcalino.....	69
FIGURA 12. Retenção de chumbo pela celulose quando a 1 g de fibra se adiciona 25 mg de PbO e se agita em meio alcalino ou ácido....	70
FIGURA 13. Retenção de chumbo pela celulose quando a 1 g de fibra se adiciona 50 mg de PbO e se agita com solução de NaOH pH 8,1. Extrações com água destilada.....	72
FIGURA 14. Retenção de chumbo pela celulose quando a 1 g da fibra se adiciona 100 mg de PbO e se agita com solução de HCl ou NaOH. Extrações com água destilada.....	74
FIGURA 15. Retenção de chumbo pela celulose quando a 1 g da fibra se adiciona 250 mg de PbO e se agita com HCl $10^{-2}N$. Extrações com água destilada.....	75
FIGURA 16. Retenção de chumbo pela celulose quando a 1 g da fibra se adiciona 250 mg de PbO usando uma mesma solução de HCl $10^{-2}N$ e NaOH pH 8,1 para agitação e extração....	76

RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido com a finalidade de definir o efeito da fibra dietária na absorção, deposição inicial e retenção de chumbo administrado oralmente na forma de litargírio no organismo animal.

Foram realizados experimentos biológicos onde se trabalhou com ratos machos e fêmeas da raça Wistar alimentados com uma refeição única por 30 minutos ou *ad libitum* por 44 dias conforme o experimento. Após o período de alimentação foram determinadas as concentrações de Pb no fígado, rins, sangue e fezes dos animais por espectrofotometria de absorção atômica.

Os resultados mostraram que a celulose diminui a absorção, a deposição inicial e a retenção de chumbo no organismo sendo que para se obter uma maior eficiência da fibra nesse sentido ela deve estar presente na dieta em concentrações de 1 a 2%.

O experimento com uma única refeição revelou que ocorrem 2 máximos de deposição de chumbo; um deles entre 1 e 4 horas e o outro entre 5,5 e 8,5 horas após o início da refeição. Esses 2 picos correspondem provavelmente a dois sítios de absorção, um deles no intestino delgado e o outro no intestino grosso.

Além de confirmar que é necessária uma concentração de 1 a 2% de celulose na dieta para que se obtenha uma mínima deposição de chumbo e que a maior deposição do metal se dá nos rins e a menor no sangue, o experimento de 44 dias de alimentação mostrou também que a celulose na dieta aumenta a excreção fecal do metal.

Um experimento *in vitro*, onde se misturou vá-
rias quantidades de PbO e celulose em meio alcalino e ácido,
seguido de extensiva lavagem, revelou que a fibra tem capaci-
dade de reter grande quantidade do metal devido em grande
parte à baixa solubilidade do composto nesses meios.

SUMMARY

The purpose of this work was to define the effect of dietary fiber in the absorption, initial deposition and retention of lead orally administered as litharge.

Two kinds of biological experiments were designed using both male and female Wistar rats, which were either trained to eat a single meal in 30 minutes or fed *ad libitum* for 44 days. Diets were prepared with levels of 0, 0.5; 1.0 and 2.0% cellulose. Lead was added to the diets in concentrations of 1.3% for the former and 160 ppm for the latter. The heavy metal content in the blood, liver, kidney, and feces of the animal was determined by atomic absorption spectrophotometry.

The results showed that cellulose decreased in testinal absorption, initial deposition and retention in the tissues of lead in the animal. The protective effect of the dietary cellulose, however, appeared to have reached a maxi mum between 1 and 2%.

Of the tissues studied, kidney attained the highest and blood the lowest lead concentration, regardless of form of feeding.

The short term experiment revealed two maximal deposition versus post-prandial time, one between 1 to 4 hours and another between 5.5 and 8.5 hours. Such maxima were believed to be originated by two distinct absorption sites, the small and large intestines, respectively.

The long term experiment confirmed that 1-2% cellulose in the diet was needed in order to provide a maximal protective effect and that the highest and lowest concentra

tion of lead occurred in kidney and blood, respectively. Moreover, this experiment showed that cellulose in the diet inhanced fecal lead excretion.

An *in vitro* experiment in which various amounts of litharge were mixed with cellulose in either alkaline or acid media, followed by extensive washing, suggested that this form of lead could be retained to a large extent by the fiber due to the low solubility of the monoxide.

1. INTRODUÇÃO

O chumbo é um metal largamente distribuído na natureza devido não apenas ao seu grande uso atual como tam bém por ter sido utilizado sem sofrer controle algum desde a antiguidade. A ampla distribuição do metal, que é reconhecidamente tóxico, faz com que ainda hoje, apesar de muitas me di das terem sido tomadas, tanto no sentido de limitarem o seu emprego como no sentido de fazer aumentar a higiene nas indústrias que trabalham com chumbo, muitas pesquisas sejam realizadas sobre as causas, os efeitos e controles do enve ne na men to pelo metal.

O chumbo pode atingir o organismo através do ar, da ingestão de alimentos ou bebidas contaminadas e tin tas. O metal absorvido no intestino entra na corrente sanguí nea, se instala nos eritrócitos e então se distribui pelos tecidos moles, principalmente rins e fígado, se depositando, posteriormente nos tecidos duros como dentes e ossos. Enquan to que o metal retido nos ossos se mantém inerte, o re ti do nos tecidos moles causa alteração de sistemas enzimáticos, on de se destacam as reações de formação do grupo heme, causan do o envenenamento de homens e animais. Embora não cause en ve ne na men to quando instalado nos ossos, o chumbo retido nes se tecido representa um constante perigo de envenenamento pe lo fato de que, sob distúrbios de saúde, o metal pode ser li be ra do em doses maciças e atingir os diversos órgãos através da corrente sanguínea.

A eliminação do chumbo dos tecidos se dá a di fe ren tes velocidades dependendo das características de cada um deles. Se por um lado o chumbo depositado nos tecidos mo les tem uma meia vida relativamente curta, podendo entrar na corrente sanguínea e ser eliminado, o metal depositado nos ossos torna-se praticamente indisponível para a excreção em indivíduos sadios.

Muitos componentes da dieta afetam a absorção e/ou a retenção de chumbo pelo organismo. O efeito desses componentes sobre a absorção intestinal do metal se deve ao fato de poderem alterar a solubilidade do composto metálico, e a facilidade de contato entre o metal e a parede do intestino, ou então por poderem competir com o chumbo pelo sítio de absorção. A ingestão de leite por exemplo foi considerada por muitos anos como uma medida profilática contra o envenenamento por chumbo e alguns estudos mais antigos sugeriam que essa capacidade do leite era devida justamente ao fato de seus constituintes diminuírem a absorção intestinal do íon metálico. Embora tenha sido comprovado por vários trabalhos experimentais mais recentes que o leite não tem o poder profilático que lhe era atribuído, talvez porque o efeito de seus constituintes se anulem entre si, a idéia de se prevenir o envenenamento por chumbo diminuindo sua absorção permanece válida.

O presente trabalho baseou-se na suposição de que as fibras, componentes naturais da dieta humana e animal, poderiam diminuir a absorção intestinal de chumbo por: a) po derem formar ob hidratação, estruturas que envolveriam o metal mecanicamente tornando-o menos disponível para a absor ção; b) diminuírem o tempo de trânsito do alimento diminuín do portanto o tempo de contato entre o metal e a mucosa in testinal, c) terem grupos funcionais na molécula capazes de formarem ligações fracas com metais divalentes.

Considerando o efeito das fibras, e em parti cular o da celulose, no funcionamento do intestino, na absor ção e metabolismo de componentes da dieta e o seu efeito na diminuição da toxicidade de elementos tóxicos, o presente trabalho tem por objetivo definir a ação da celulose na ab sorção, excreção fecal, toxicidade e deposição de chumbo in gerido na dieta, bem como tentar relacionar resultados obti dos *in vivo* com os obtidos de sistemas modelos de interação Pb/celulose.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. FONTES DE CONTAMINAÇÃO

O chumbo é extraído, fundido e empregado na manufatura de muitos produtos há milhares de anos. A grande e descuidada utilização desse elemento altamente tóxico é tida como responsável por envenenamentos ocorridos já na antiguidade. É atribuída ao metal, por exemplo, a grande intoxicação ocorrida entre os romanos devida ao hábito de armazenarem vinhos, alimentos ácidos e sucos de frutas em recipientes metálicos contendo chumbo.

O chumbo ocorre naturalmente na superfície da terra principalmente na forma de seu sulfeto, galena, e na forma de $PbCl_2$, cerusita. Ele está amplamente distribuído em todos os organismos vivos, inclusive nos usados como alimento para consumo humano, embora em concentrações baixas (menores que 1 ppm em alimentos não contaminados, NRC, 1973).

Para se ter uma idéia da quantidade de chumbo utilizada atualmente consideremos seu consumo de 1,3 milhões de toneladas anuais nos E.U., na produção de baterias, pigmentos, soldas, na indústria de cerâmica e como aditivo de gasolina (EMBER, 1980). O metal é, ou pelo menos já foi, empregado na manufatura de tubos, cisternas, recipientes para a produção e armazenamento de ácido sulfúrico, utensílios domésticos, linotipo metálico e, formando liga com antimônio, estanho e cobre, é usado na manufatura de placas acumuladoras de baterias. Na forma de monóxido, litargírio, tem aplicação em tintas, impressões gráficas e vernizes. Como arsenato é utilizado em inseticidas, e na forma de borato aparece na fabricação de plásticos. O chumbo tem uso cada vez mais reduzido em soldas de embalagens metálicas e em cerâmicas, e nos últimos anos praticamente deixou de ser adicionado à gasolina como antedetonante.

Embora em alguns países o uso do chumbo esteja sob rigorosa fiscalização, ele continua a ser amplamente utilizado representando ainda um risco para a saúde pública.

As fontes de chumbo que têm sido objeto de muito estudo são:

a) alimentos, bebidas, água e tintas, que servem de veículo para a ingestão direta do metal.

b) emissão do metal por indústrias e pela queima de combustíveis; formas que são absorvidas por inalação.

ALIMENTOS E BEBIDAS

São as principais fontes de envenenamento do homem adulto e de muitas crianças. A contaminação dos alimentos na sua origem se deve ao uso de inseticidas que contêm o metal, fertilizantes feitos de detritos e pela deposição de compostos emitidos por indústrias ou resultantes da queima de gasolina. A contaminação pode ocorrer ainda durante o preparo ou armazenamento dos alimentos e bebidas, principalmente sucos de frutas e vinhos, quando em contato com utensílios feitos do metal ou cuja solda o contenha (SMITH, 1976; BARRY, 1975; NRC, 1973). A contaminação através da solda é muito comum ainda hoje em sucos de frutas ácidas sendo tanto maior quanto maiores forem a acidez e a área da solda. (ROUSEFF e TING, 1980).

ÁGUA

A contaminação da água por chumbo se deve principalmente a descargas industriais e ao uso de tanques para o seu armazenamento e encanamentos feitos do metal. Tais encanamentos e tanques não são empregados nas construções mais recentes sendo porém ainda encontrados nas construções mais antigas.

As características da água que se relacionam com a sua contaminação são a dureza e o pH. Assim o teor de

chumbo no líquido é maior em regiões de águas moles e pHs ácidos e menor em regiões de águas duras e pHs alcalinos (GOLDBERG, 1975; BARRY, 1975).

TINTAS

A ingestão de escamas de tintas que contém chumbo, como resultado do hábito de crianças malnutridas ingerirem terra e tinta das paredes, tem sido a principal responsável pelo envenenamento de crianças residentes em casas antigas com poucos cuidados de manutenção (CHISOLM e BARLTROP, 1979).

O chumbo, que na forma de carbonato, cromato e outros sais, já foi usado universalmente por muitos anos como pigmento de tintas, tem sido substituído por titânio em tintas de uso doméstico mas ainda é usado largamente em tintas para cartazes de propaganda.

AR

O chumbo do ar tem origem principalmente na emissão por indústrias que com ele trabalham e pela oxidação de chumbo tetralquila dos combustíveis. Adicionado às gasolinas de alta eficiência na forma de tetraetila e tetrametila num nível de 0,5 g/l (CHAMBERLAIN *et alii*, 1975) o chumbo da gasolina causa a poluição do ar que tem recebido maior atenção nos últimos anos. Muita discussão tem ocorrido sobre ser ou não essa fonte de chumbo responsável pelo maior teor de Pb no sangue de indivíduos residentes nas grandes cidades. Assim, no simpósio sobre chumbo ocorrido em Londres em 1974, BARRY (1975) afirmou que o maior índice do metal nesses indivíduos está relacionado a fatores como a exposição da população local a emissões industriais, ao consumo de bebidas, principalmente vinhos, contaminadas com chumbo e a ingestão de escamas de tintas por crianças, e não à presença do chumbo na gasolina.

Segundo GOLDBERG (1975) a fração de chumbo atmosférico retido pelo organismo varia com a solubilidade e tamanho das partículas nos diversos compostos e é da ordem de 1/3 a 1/10 da quantidade presente na atmosfera. Determinações feitas por CANNON e BOWLES (1962) indicaram que o chumbo da gasolina é responsável pelo maior teor do metal nas águas, plantas e solo de regiões próximas a estradas de grande tráfego.

Uma outra fonte de envenenamento é o contato direto com o metal como o que ocorre com os trabalhadores das indústrias que o utilizam de alguma forma. Responsável por muitas mortes no início do século, seu perigo está relacionado diretamente às condições de higiene da indústria (BARLTROP, 1975).

Nenhuma das fontes de intoxicação por chumbo com exceção às que dizem respeito ao contato direto com o metal, é suficiente para causar a intoxicação aguda do homem, contribuindo no entanto cada uma para aumentar a carga do metal no organismo.

A ingestão média de chumbo pelo homem adulto é de 0,45 mg, sendo 0,22-0,40 mg proveniente de alimentos; 0,1mg vem da água; 0,03 mg do ar urbano (0,01 mg do ar rural) e 0,04 mg proveniente de cigarros para fumantes de um número superior a 30 unidades por dia (VEMICOPAL e LUCKEY, 1978).

2.2. ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO E EXCREÇÃO DO METAL

ABSORÇÃO

A principal via de entrada de chumbo no organismo é a absorção gastrointestinal (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1972).

Vários fatores se relacionam com a absorção de

chumbo que se dá no intestino. GARBBER e WEI (1974) observaram que tanto a quantidade de chumbo administrada quanto a presença de alimento no intestino influem na porcentagem do metal absorvido. Seus experimentos indicaram que a ausência de alimento no trato gastrointestinal causa um aumento na porcentagem de chumbo absorvido quando doses traços de acetato de chumbo são administradas oralmente em ratos, não afetando no entanto a absorção quando se administram doses da ordem de 2 mg/Pb/Kg.

CONRAD e BARTON (1978) notaram que ratos adultos mantidos em jejum por um período de 5 dias apresentavam reduzida absorção intestinal de chumbo e deposição na carcaca, o que não ocorria com os animais mantidos em jejum por três dias ou uma noite. Administrando intragastricamente $PbCl_2$ e $Pb(NO_3)_2$ em ratos mantidos em jejum por uma noite os autores verificaram que não havia diferença na porcentagem de chumbo absorvido para os diferentes níveis inferiores a 10 µg do composto. Testando o efeito da quantidade do metal administrado intragastricamente sobre sua absorção notaram que para uma faixa de 10 µg a 1 mg, embora houvesse uma relação inversa entre a quantidade de chumbo administrada e a porcentagem absorvida, maiores quantidades eram absorvidas para maiores doses administradas. Os resultados desse experimento indicaram haver uma absorção de 6, 2 e 1% para as doses de 10 µg, 100µg e 1 mg respectivamente sugerindo que os aceptores oferecem apenas um bloqueio relativo à absorção do metal o que não impediria um envenenamento agudo devido a sua ingestão em grande quantidade.

Trabalhos realizados com fragmentos isolados de intestino de rato para saber do sítio de absorção do metal administrado oralmente, indicaram que o chumbo é mais eficientemente absorvido no duodeno, em uma menor extensão no íleo e em quantidades "desprezíveis" no cólon e estômago (CONRAD e BARTON, 1978). Esses trabalhos indicaram ainda que a absorção duodenal era maior em ratos nos quais o duto biliar foi mantido intacto, sugerindo que a bile contém fatores que aumentam

a absorção do metal. Um experimento realizado com injeção de $PbCl_2$ em fragmento isolado de duodeno mostrou que a máxima absorção na mucosa intestinal ocorre meia hora após a administração da dose teste enquanto que a deposição na carcaca aumenta lentamente num período de 2 horas para depois atingir um platô. Isto sugeriu a CONRAD e BARTON (1978) que o receptor da mucosa se torna relativamente saturado e não aceita mais chumbo do lúmen até que o chumbo da mucosa seja transferido para o corpo do animal.

Certos fatores fisiológicos estão associados a alterações na absorção de chumbo no intestino. KOSTIAL *et alii* (1971) observaram que a absorção intestinal de chumbo administrado oralmente em ratos recém nascidos era muito maior (55% da dose teste em 40 horas) do que a que ocorre em ratos de quatro meses de idade (1% no mesmo intervalo de tempo). CONRAD e BARTON (1978) usando segmentos isolados de duodeno de rato observaram que a absorção de chumbo diminui com o aumento do peso do animal (entre 79 e 660 g) e idade (entre 30 dias e 1 ano). Também BARLTROP e MEEK (1975) administrando oralmente acetato de chumbo em ratos observaram que apesar de não haver grande diferença na absorção do metal no intestino dos animais com idade entre 21 e 42 dias a tendência era de para maior idade ocorrer menor absorção.

BARLTROP e MEEK (1975) notaram que existe uma diferença significativa na absorção dos diferentes compostos de chumbo administrados oralmente. A absorção de chumbo foi testada e a ordem encontrada para os diversos compostos foi: chumbo metálico < cromato < naftalato < sulfeto < carbonato básico. Os autores supuseram que a alta absorção do carbonato básico de chumbo (12 vezes maior que a do chumbo metálico) se deve a sua alta solubilidade no suco gástrico, mas afirmaram que não era possível relacionar as diferenças observadas entre os outros compostos e a sua solubilidade nos fluidos biológicos.

BARTON *et alii* (1978), trabalhando com segmentos isolados de duodeno onde injetaram $PbCl_2$, observaram que

a absorção de chumbo no intestino delgado de rato se dá através da ligação do íon a duas proteínas da mucosa. Uma dessas proteínas, CaBP (Calcium Binding Protein), que tem sua síntese dependente da vitamina D (WASSERMAN *et alii*, 1968), é mais importante para a absorção de cálcio que de chumbo. A segunda proteína tem maior peso molecular e é por ela que o chumbo tem maior afinidade.

DISTRIBUIÇÃO APÓS A ABSORÇÃO

O chumbo absorvido no intestino se dirige primeiramente para o fígado pela circulação portal. Do fígado o metal pode voltar ao intestino via bile ou através do sangue ser transportado para o osso e outros tecidos como rins, baço, cérebro e músculo.

O fato de a quantidade de chumbo presente nas células vermelhas após a administração de uma dose teste ser maior do que a quantidade presente no plasma e o fato de a velocidade de desaparecimento do chumbo das células vermelhas não estar relacionado ao tempo de vida do eritrócito sugeriu a RABNOWITZ *et alii* (1974) que este serve como uma importante via de transporte de chumbo para a deposição em vários órgãos.

BARLTROP e SMITH (1975), trabalhando com sangue humano *in vitro*, sugeriram que o chumbo poderia se combinar primeiramente com a superfície das células vermelhas com posterior transferência através da membrana e finalmente se combinar com a hemoglobina. Estes autores apresentaram ainda um caminho alternativo de distribuição do chumbo nas células vermelhas no qual o íon se combinaria primeiramente com frações intracelulares que não a hemoglobina para então se ligar a essa.

SELHI e WHITE (1975), em seus experimentos com sangue humano, mostraram que na membrana celular dos eritró

citos há dois sítios com pouca diferença de afinidade pelo chumbo. A partir de resultados de trabalho com células livres de hemoglobina e frações intracelulares os autores mostraram que o íon não se liga à hemoglobina e que sua ligação aos eritrócitos causa uma grande alteração na estrutura das membranas celulares.

O íon transportado pelo sangue se difunde no espaço extravascular e entra nas células dos tecidos se fixando nas estruturas intracelulares. O depósito do metal dentro da célula se dá com a formação de um composto de chumbo e proteína, provavelmente na forma de complexo chumbo-proteína (GOYER *et alii*, 1970), conhecido como corpo de inclusão. Esses corpos são mais abundantemente encontrados no núcleo de tecidos macios em órgãos como rins e fígado que são responsáveis pela excreção do metal (MOORE *et alii*, 1973). Em seus estudos com ratos alimentados com dieta a 1% de acetato de chumbo, GOYER *et alii* (1970) observaram que 80 a 90% do chumbo renal estava concentrado dentro do núcleo da célula e que pelo menos 50% do chumbo nuclear se encontrava nos corpos de inclusão.

CASTELLINO e ALOJ (1969), estudando a distribuição de chumbo nas frações intracelulares de rins e fígado de ratos, relataram que o chumbo injetado intravenosamente penetra rapidamente nas células, estando presente em todas as frações 1 hora após a administração. Segundo esses pesquisadores a distribuição do metal entre as organelas estaria relacionada à força de ligação do chumbo a elas. Dando prosseguimento ao trabalho observaram que a ligação entre o chumbo e o mitocôndria era mais estável do que entre o metal e o núcleo, microssomo ou a fração restante da célula.

CONRAD e BARTON (1978) observaram em seus experimentos que a deposição de chumbo nos tecidos após a administração de $PbCl_2$ intravenosamente se dá segundo o apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Deposição de chumbo radioativo em vários órgãos a intervalos de tempo após a administração intravenosa de uma dose teste de $PbCl_2^a$.

SÍTIO	% de ^{210}Pb a intervalos de tempo após a injeção									
	1h	2h	4h	8h	1dia	2dias	5dias	7dias	14dias	
Corpo inteiro	99,90	98,30	92,30	81,10	77,90	64,60	49,90	51,40	49,80	
Hemácias	17,67	17,28	13,83	10,02	5,94	2,85	0,45	0,30	0,15	
Vol. de plasma	1,98	0,72	0,27	0,18	0,04	0	0	0	0	
Rins	23,88	23,23	21,20	19,22	13,32	9,91	3,59	2,21	0,55	
Fígado	10,48	9,04	9,07	7,25	4,09	2,07	0,55	0,42	0,28	
Int. delgado	2,94	2,99	2,65	3,21	1,32	0,65	0,12	0,10	0,04	
Fêmur	1,50	1,82	1,63	1,99	2,32	2,12	2,19	2,36	2,36	

^a Valores tomados como porcentagem da dose de 2 μCi de ^{210}Pb (CONRAD E BARTON, 1978).

Nessa tabela pode-se notar que a deposição de chumbo nos ossos começa a ocorrer 1 hora após a administração da dose teste havendo um aumento até o primeiro dia. A quantidade de chumbo parece então permanecer estável no tecido por períodos prolongados com uma velocidade de perda relativamente baixa. Isto sugeriu aos autores que uma vez que o chumbo se deposita nos ossos ele se torna praticamente indisponível para a eliminação, o que explicaria o aumento da quantidade do metal no organismo à medida que o animal envelhece bem como o envenenamento crônico que ele causa.

Ainda na Tabela 1 pode-se ver que o chumbo se deposita principalmente nos rins, sangue e fígado e uma vez que as porcentagens depositadas nesses tecidos são bem maiores do que as depositadas nos demais, uma diminuição do somatório das porcentagens depositadas neles reflete mais acuradamente a diminuição da porcentagem depositada no organismo.

Já em 1926, AUB *et alii* tinham sugerido que o chumbo devia seguir o mesmo percurso do cálcio no organismo, se depositando nos ossos por um longo período de tempo sendo daí liberado como o é o cálcio. Segundo esses pesquisadores, o chumbo seria eliminado da porção trabecular do osso em casos de alcoolismo, pneumonia e operações cirúrgicas para ser então depositado nos ossos em formação ou ser carregado pelo sangue para outros tecidos.

Uma explicação para a deposição do chumbo nos ossos foi apresentada por SOBEL *et alii* (1940) postulando que o chumbo, fósforo e vitamina D formam um sistema para a deposição do metal que é análogo ao sistema de calcificação. Esse sistema seria governado pelas mesmas leis do processo de calcificação, porém não necessariamente na mesma direção, ou seja, seria possível haver simultaneamente deposição de chumbo e remoção de cálcio. SOBEL *et alii* (1938a) afirmaram que o chumbo pode ser considerado como um elemento formador do osso, embora não sendo um constituinte normal, parecendo que

o mecanismo de deposição do metal seria semelhante ao do cálcio e fósforo, isto é, quanto maior o produto $Ca \times P$ no soro sanguíneo maior seria a sua deposição.

NORIMATSU e TALMAGE (1979) trabalhando com ratos, observaram que o chumbo reage fortemente com o cálcio e o fósforo da superfície do osso, se mantendo ligado ao primeiro ponto de contato de onde só se desliga por reabsorção, um processo natural de ressolubilização da região cristalina do tecido devido à alteração no equilíbrio de íons. Testando o efeito do hormônio calcitonina sobre o chumbo depositado nos ossos, os autores do trabalho notaram que sob administração do hormônio os ossos, tanto o tecido trabecular, como o compacto, incorporam o metal em uma menor quantidade. Tendo uma ação independente da reabsorção ou formação, a calcitonina poderia agir alterando o fluido e/ou a superfície do osso diminuindo assim a concentração de chumbo na superfície do osso ou o seu movimento através dele.

Os trabalhos realizados por RABINOWITZ *et alii* (1976) levaram-nos a estabelecer a cinética do chumbo no organismo humano. Os autores sugeriram um modelo com três compartimentos para o metabolismo do metal. O primeiro desses compartimentos inclui o sangue e outros tecidos que entram em rápido equilíbrio com ele. O segundo se relaciona principalmente com a concentração do metal nos tecidos moles e com as partes do esqueleto mais ativas para a troca do metal, enquanto o terceiro diz respeito à concentração do metal nos ossos. Os resultados obtidos nesse experimento permitiram a formulação de uma equação através da qual foi obtida uma meia vida do metal de 35 dias, 40 dias e 27 anos para o primeiro, segundo e terceiro compartimento respectivamente.

EXCREÇÃO

A excreção de chumbo se dá principalmente através da urina e fezes e em quantidades muito menores atra

vês da unha, cabelos, suor e secreções salivares.

CONRAD e BARTON (1978) notaram que a excreção de chumbo pelo organismo do rato adulto se dá de maneira bifásica, sendo uma etapa inicial de perda rápida e uma outra onde a excreção se dá mais lentamente. Mais da metade de uma pequena dose parenteral é excretada uma semana após a administração da dose teste com a maior quantidade sendo excretada no primeiro dia. A partir da primeira hora há uma perda mais lenta de chumbo pela carça com um $t_{1/2}$ de aproximadamente 6 meses. Cerca de 2/3 da excreção se dá através da urina com a maior parcela da quantidade restante sendo excretada nas fezes.

BLAXTER e COWIE (1946) já haviam observado que a bile é uma importante via de excreção de chumbo; num período de 6 dias 7,4% da dose de chumbo injetada intravenosamente em ovelhas foi excretada e dessa quantidade 17,1% estava na urina, 80,7% foi excretada através do material biliar drenado e 2,2% nas fezes. Igualmente CONRAD e BARTON (1978), em experimentos com ratos, concluíram que a bile era uma importante via de excreção de chumbo no intestino quando notaram que a concentração do metal no duodeno de animais com o duto biliar intato era maior do que em outros segmentos do intestino delgado, o que não acontecia com animais com o duto biliar não ligado ao intestino.

2.3. COMPONENTES DA DIETA QUE TÊM SEU EFEITO NA ABSORÇÃO, RETENÇÃO E EXCREÇÃO DE CHUMBO ESTUDADO

Segundo BARLTROP e KHOO (1975) há três maneiras pelas quais fatores nutricionais podem interferir na absorção de chumbo no intestino. Primeiro ligando o chumbo a um fator de baixa absorção tornando-o assim pouco disponível para a absorção. Segundo, pela interação do fator com o processo celular, regulando assim a absorção do chumbo. Terceiro, pela modificação do estado metabólico dos tecidos que

têm afinidade pelo chumbo.

FERRO

CONRAD e BARTON (1978) de seus experimentos com ratos concluíram que o efeito do ferro na diminuição da absorção intestinal do chumbo não se deve, provavelmente, a alterações na solubilidade do metal, mas sim à simples competição por sítios de absorção na mucosa.

CÁLCIO E FÓSFORO

O efeito do cálcio sobre a absorção e retenção de chumbo tem sido estudado desde 1926 quando AUB *et alii* sugeriram que esses dois metais teriam o mesmo metabolismo.

Experimentos realizados por LEDERER e BING (1940) indicaram que a deposição de chumbo, administrado oralmente, nos ossos de ratos em crescimento é retardada pelo aumento de cálcio na dieta. O chumbo presente nos rins dos animais tratados com diversos níveis de cálcio refletiu o presente nos ossos, com uma maior concentração do metal nos rins implicando em uma maior concentração nos ossos. A concentração de chumbo nos rins, por grama de matéria seca, se mostrou bem superior à concentração no fígado, onde não variou regularmente com a concentração de cálcio na dieta.

Um outro resultado obtido por LEDERER e BING (1940) foi que em animais que sofreram injeção intraperitoneal de chumbo não houve diferença significativa no conteúdo de metal nos tecidos para os diferentes níveis de cálcio. Esses resultados levaram-nos à conclusão de que a inibição da deposição é consequência de reações que ocorrem no aparelho digestivo. Segundo esses pesquisadores o cálcio poderia tornar o chumbo menos solúvel dificultando-lhe assim a absorção na mucosa intestinal.

SOBEL *et alii* (1940) concluíram de seus estudos com ratos que o efeito do cálcio sobre a deposição de chumbo nos ossos é essencialmente competitiva, uma vez que o cálcio remove o fósforo necessário para a deposição do chumbo. Trabalhando com dietas com teores diferentes de cálcio e fósforo, esses pesquisadores obtiveram resultados que levaram-nos a supor a existência de uma relação Pb/P tal que a deposição de chumbo nos ossos seja favorecida e que a adição ou remoção de fósforo, de modo a alterar essa relação, implicaria em uma diminuição de chumbo.

Níveis de 0,1% de cálcio na dieta aumentam o efeito tóxico do chumbo em rato quando comparados com níveis de 0,7%. Esse maior efeito tóxico foi notado tanto por causar uma diminuição mais acentuada de hematócrito quanto pela excreção bastante elevada de ácido δ -amino levulínico urinário e aumento do número de corpos de inclusão nos rins (SIX e GOYER, 1970). Nesse experimento notou-se também que o nível de chumbo no sangue era quatro vezes maior nos animais tratados com dieta com baixo teor de cálcio.

QUARTERMAN e MORRISON (1975) observaram que a absorção de chumbo, administrado oralmente em ratos, está relacionado ao conteúdo de cálcio e fósforo na dieta e não à relação existente entre esses elementos, ou aos níveis de cálcio e fósforo da carcaça do animal. Notaram ainda que o efeito desses dois elementos sobre a absorção do chumbo era independente da velocidade de formação do esqueleto do animal. Uma redução nos teores de cálcio e fósforo a níveis de 33 e 70% respectivamente dos níveis recomendados para o crescimento de ratos, causaram um grande aumento na retenção do chumbo adicionado à dieta, no entanto não afetaram a retenção de chumbo administrado intraperitonealmente. Nesse experimento ficou claro também que as dietas com baixo teor de cálcio fazem com que o chumbo ósseo seja mais estável, sendo esse efeito mais acentuado quando se associa ao baixo teor de fósforo.

Testando o efeito do ânion que acompanha o cálcio MEREDITH *et alii* (1977) observaram que não havia diferença entre CaCl_2 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CaSO_4 , gluconato de cálcio e glicerofosfato de cálcio na retenção de chumbo administrado oralmente em ratos, sugerindo que o efeito do $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ na diminuição da absorção intestinal do metal se deve ao cálcio e não ao íon fosfato. Além disso foi verificado que o $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ não afeta a retenção do chumbo administrado intraperitonealmente, reforçando a idéia de que a ação do cálcio é sobre a absorção do chumbo a nível do intestino e que a suplementação intraperitoneal de cálcio, de modo a aumentar o cálcio sistêmico, não afeta em nada a retenção e distribuição de chumbo nos tecidos.

Os estudos de BARTON *et alii* (1978) mostraram que ratos previamente tratados por duas semanas com dietas de baixa e alta concentração de cálcio de modo a variar a sua concentração no organismo, apresentaram uma mesma absorção intestinal de chumbo, tendo se mostrado porém maior a excreção total do metal no grupo de animais tratados com dieta com alto teor de cálcio. Contrariamente ao trabalho anterior, esse trabalho mostrou que o cálcio sistêmico age sobre a retenção de chumbo não afetando no entanto a sua absorção.

Experimentos *in vitro* realizados por BARTON *et alii*, (1978) mostraram que o cálcio não altera a solubilidade do chumbo no intestino nem tampouco forma polímeros com o metal, indicando que provavelmente não era uma interação entre o cálcio e o chumbo que diminuía a absorção do metal. Investigando o sítio de absorção do cálcio e do chumbo no intestino, verificaram que realmente os dois elementos competem por duas proteínas da mucosa responsável pela sua absorção. Observaram ainda que o excesso de cálcio no organismo não altera significativamente a concentração e a afinidade dessas duas proteínas pelo chumbo.

VITAMINA D

SOBEL *et alii* (1938a, 1938b, 1940) verificaram que a vitamina D da dieta causa um aumento da concentração de chumbo no fêmur e sangue de ratos, quaisquer que sejam os níveis de cálcio e fósforo da dieta. Sobre o efeito da vitamina na deposição de chumbo nos ossos os autores consideram que sendo ela responsável pelo aumento do produto das concentrações de cálcio e fósforo do soro sanguíneo será consequentemente responsável pelo aumento da formação da porção inorgânica do osso (da qual o chumbo participa embora sem ser um constituente normal) havendo portanto um aumento na deposição do metal. Testando o efeito das concentrações de cálcio e fósforo da dieta sobre a capacidade de a vitamina D aumentar a concentração de chumbo no sangue e ossos dos animais, esses pesquisadores notaram que um aumento da concentração de cálcio ou fósforo na dieta causa uma diminuição da concentração de chumbo tanto nos ossos quanto no sangue. Dos resultados destes trabalhos os autores sugerem que a vitamina D altera tanto a absorção intestinal de chumbo quanto a retenção do metal no osso.

Trabalhando com ratos tratados com dietas às quais fora adicionado $PbCl_2$ marcado com ^{203}Pb , BARLTROP e KHOO (1975) observaram que uma variação no teor de mistura vitamínica da dieta não altera a assimilação de chumbo, conforme o indicado pela concentração do metal nos rins. Os resultados desse experimento levaram-nos a sugerir que o efeito das vitaminas sobre a deposição de chumbo não é devido a sua ação no intestino. Essa sugestão aparentemente contraria a sugestão de SOBEL *et alii* (1938a, 1938b, 1940) porém deve-se considerar que BARLTROP e KHOO (1975) trabalharam com mistura vitamínica, onde o efeito de uma vitamina pode anular o de outra, enquanto SOBEL *et alii* (1938a, 1938b, 1940) trabalharam com a vitamina pura. De fato trabalhos mais recentes (BARTON *et alii*, 1978) indicam que realmente o efeito da vitamina D sobre a deposição de chumbo se deve ao seu efeito tanto a nível

de absorção intestinal quanto a nível de deposição do metal absorvido.

ZINCO

Os estudos realizados por CERKLEWISK e FORBES (1976) mostraram que a adição de 200 ppm de zinco na forma de carbonato à dieta pode aliviar muitos dos efeitos tóxicos do chumbo. O efeito do excesso de zinco na dieta pode ser notado pela diminuição da concentração de chumbo no sangue, rins, fígado e tíbias; diminuição de excreção de ácido δ -amino levulínico urinário; diminuição do acúmulo de porfirina e eritrocítica livre; diminuição da atividade da enzima desidratase do ácido δ -amino levulínico dos rins; e uma diminuição da absorção aparente do metal. O tratamento dos animais com dieta contendo zinco na forma de carbonato seguido de injeção intraperitoneal de 100 μ g de sulfato de zinco mostrou que o elemento quando administrado intraperitonealmente não afeta a toxicidade do chumbo. Os autores do trabalho concluíram que provavelmente a diminuição da toxicidade do metal se deva a sua competição com o zinco pelos sítios de absorção no intestino uma vez que não se deve à formação de um complexo pouco solúvel de zinco e chumbo.

COBRE

O aumento da concentração de cobre na dieta causa um aumento da toxicidade do chumbo em ratos como pode ser observado pelo aumento da excreção de ácido δ -amino levulínico urinário e pelo aumento da concentração do metal nos rins. O maior teor de cobre na dieta causa uma tendência ao aumento da concentração de chumbo nas tíbias, fígado e sangue (CERKLEWISK e FORBES, 1977). Uma explicação que esses pesquisadores apresentaram para o fato foi de que um aumento na concentração de cobre na dieta poderia modificar o comportamento de outros elementos traços criando condições mais favoráveis para a toxicidade do chumbo. Assim o efeito

do zinco na diminuição da toxicidade do chumbo poderia ser alterado pela suplementação de cobre uma vez que zinco e cobre competem para o mesmo sítio de absorção no duodeno.

PROTEÍNAS E AMINO ÁCIDOS

MYLROIE *et alii* (1977) observaram que ratos expostos a quantidades comparáveis de chumbo na dieta apresentavam muito menor concentração de chumbo no sangue quando o teor de proteína na dieta era normal (27% de caseína) do que quando era baixo (8% de caseína). Apesar da grande diferença de concentração do metal no sangue, os animais tratados com essas dietas não apresentaram diferenças significativas nas concentrações de metal nos rins e fígado. Segundo os resultados desse experimento amino ácidos sulfurados diminuem o efeito tóxico do Pb. A substituição da alanina da dieta com baixo teor de proteína por cisteína causou uma grande diminuição da concentração de chumbo no sangue, fígado e baço, apesar de não ter diminuído significativamente o teor de metal nos rins e ossos. Embora a metionina não tenha se mostrado tão efetiva quanto a cisteína na redução da concentração de chumbo no sangue, o efeito dos dois amino ácidos sobre a deposição de chumbo nos tecidos se mostrou semelhante.

GORDURA

O aumento da concentração de gordura, presente na dieta como óleo de milho, a níveis superiores a 5%, causa um aumento da concentração de chumbo, administrado oralmente, no sangue, rins, fêmur, fígado e carcaça de ratos. Por outro lado, concentrações de 0 e 2,5% não causam alteração da concentração do metal nos tecidos e sangue em relação ao nível de 5% (BARLTROP e KHOO, 1975).

AGENTES QUELANTES

GARBER e WEI (1974) observaram que alguns agentes quelantes aumentam a absorção de chumbo, o que parece estar relacionado à facilidade de o agente ser absorvido. Assim, o EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) e DTPA (ácido dietilenotriaminopentacético) que são pouco absorvidos não causam alteração significativa na absorção de chumbo quando este é administrado oralmente, enquanto que o NTA (ácido nitriloacético) e o citrato que são facilmente absorvidos no intestino aumentam a absorção do metal.

LEITE

O leite foi usado por muitos anos como um agente profilático contra o envenenamento por chumbo, no entanto seu efeito sobre a absorção do metal já havia sido questionado por AUB *et alii* em 1926. Experimentos com chumbo radioativo mostraram que em ratos o metal é mais eficientemente absorvido (KELLO e KOSTIAL, 1973), ou então não tem a sua absorção significativamente alterada (GARBER e WEI, 1974) pela administração oral do leite.

BARLTROP e KHOO (1975) sugeriram de seus experimentos que o alto teor de gordura do leite poderia causar um aumento na absorção intestinal do chumbo, que é contrabalançado pela capacidade de seus minerais a diminuírem.

Além da gordura, a lactose e o ácido cítrico são componentes do leite que individualmente causam um aumento na absorção de chumbo administrado oralmente, podendo portanto serem igualmente responsáveis pela anulação da capacidade de outros constituintes do alimento de diminuir a absorção do metal (STEPHENS e EALDRON, 1975).

2.4. EFEITOS BIOQUÍMICOS DA INTOXICAÇÃO POR CHUMBO

Devido à grande afinidade do chumbo pelos grupos δ -amino, sulfidrilas, carboxílicos, fenólicos e imidazol ele pode deslocar o metal original de muitas metaloenzimas causando-lhes a inativação (NEATHERY e MILLER, 1975). Dos efeitos bioquímicos do chumbo o mais bem estudado é a inibição de quase todas as enzimas envolvidas na síntese do grupo heme (MOORE, 1975; QUARTERMAN e MORRISON, 1975, SMITH, 1976). Esse grupo é sintetizado por todas as células segundo um mesmo processo ilustrado na Figura 1.

Das enzimas que participam dessa síntese, o chumbo tem capacidade de inibir:

a) Sintetase do ácido δ -amino levulínico (δ -ALA sintetase).

b) Desidratase do ácido δ -amino levulínico (δ -ALAD)-cuja inibição é responsável pela elevação do nível de ácido δ -amino levulínico no sangue e pela sua excreção na urina.

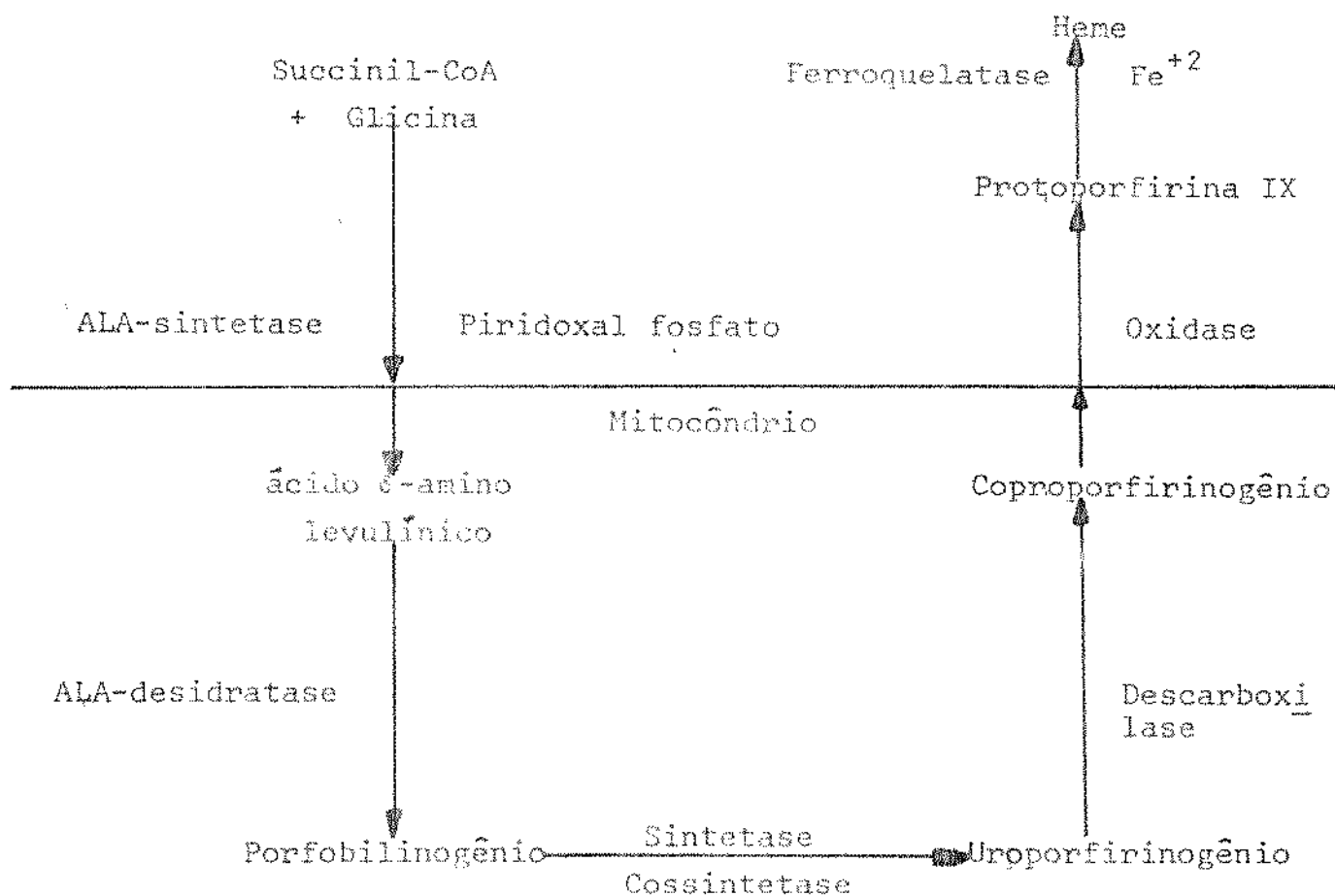
c) Cossintetase e sintetase -a inibição dessas duas enzimas é responsável pela excreção de coproporfirinogênio na urina.

d) Ferroquelatase - cuja inibição impede a incorporação de Fe^{+2} à porfirina causando um aumento do nível de protoporfirina eritrocítica livre.

O chumbo causa ainda alteração na estrutura do mitocôndrio de células de rins de ratos com consequente redução da velocidade de respiração e da fosforilação oxidativa (GOYER *et alii*, 1968)

SELHI e WHITE (1975) concluíram de seus experimentos *in vitro* que a alteração da membrana celular, das células vermelhas de indivíduos normais, causada por um excesso de chumbo, diminui a atividade da enzima ATPase de Na^+/K^+ da membrana.

Figura 1 - Etapas da síntese do grupo heme.



QUARTERMAN e MORTIMER (1975) sugeriram em seus trabalhos que o chumbo causa um estímulo na síntese de células vermelhas.

2.5. DIAGNÓSTICO DO ENVENENAMENTO

Os testes de laboratório para diagnóstico de envenenamento por chumbo se dividem em dois grandes grupos:

- testes primários: detecção de chumbo nos tecidos;
- testes secundários: detecção dos efeitos do

chumbo nos tecidos, principalmente alteração no metabolismo da porfirina incluindo a determinação de porfirina urinária, determinação da concentração de ácido δ -amino levulínico na urina e mais recentemente da concentração de protoporfirina e nitrocítica livre. Como teste secundário tem recebido ainda atenção a determinação da atividade da enzima δ -ALAD (desidratase do ácido δ -amino levulínico) (BARLTROP, 1975; MOORE, 1975).

Há muita discussão sobre a validade dos métodos usados para o diagnóstico de absorção indevida de chumbo e envenenamento, sendo o mais confiável e mais amplamente aceito a determinação da concentração do metal no sangue. É interessante notar que segundo vários pesquisadores, o nível de ácido δ -amino levulínico urinário permanece elevado mesmo após muito tempo de encerrada a exposição ao metal, quando o nível de chumbo no sangue já atingiu o nível normal. Isso faz com que o teste não se preste para o reconhecimento de ingestão momentânea indevida do metal (BLUMENTHAL *et alii*, 1970, KING *et alii*, 1972; VINCENT *et alii*, 1970; BLANKSMA, 1970).

MYLROIE *et alii* (1977) por sua vez questionam a validade da determinação da concentração de chumbo no sangue como método para medir a exposição ao metal pois resultados de seus experimentos indicam que embora a concentração de chumbo no sangue seja diminuída em algumas situações isso pode não acontecer com a concentração do metal nos rins, fígado e ossos.

Segundo CHISOLM e BARLTROP (1979) a concentração de chumbo no sangue e o chumbo quelatável (quantidade de chumbo excretada na urina após a administração de uma dose padrão de CaEDTA ou D-penicilamina) devem ser usados como indicadores da concentração do metal nos tecidos, enquanto que os vários metabólitos encontrados no sangue e urina servem como indicadores do seu efeito.

2.6. QUÍMICA DO CHUMBO

O metal exibe valências $+2$ e $+4$ sendo a forma $+2$ a mais estável, com a forma $+4$ aparecendo em compostos organometálicos. A forma divalente pode ser um ácido pouco ou muito solúvel dependendo do meio biológico; assim o chumbo forma complexos estáveis com grupos e biopolímeros contendo carboxilatos e fosfatos; os grupos imidazol e amino também são importantes para a formação de complexos com chumbo. O metal forma ainda complexos estáveis com nucleosídeos, especialmente com citidina (VEMIGOPAL e LUCKEY, 1978).

O monóxido de chumbo (litargírio) ocorre em duas formas, uma forma tetraédrica e outra rômica com solubilidade de 0,0017 (20°C) e 0,0023 g/100 ml respectivamente. Dissolve-se facilmente em ácidos formando sais, sendo apenas fracamente solúvel em soluções diluídas de hidróxido (OHLWEILER, 1971).

2.7. FIBRA ALIMENTAR

Durante muitos anos as fibras da dieta tiveram seu papel desconsiderado. Nos últimos anos, no entanto, muitas pesquisas têm sido realizadas sobre esses componentes e cada vez mais se torna evidente a sua importante função como constituinte da dieta.

Fibra alimentar ou "dietary fiber" é o termo mais comumente empregado para se referir a substâncias não absorvidas nem digeridas no sistema gastrointestinal (SCALA, 1974). Existe ainda muita discordância sobre quais polímeros devem caber nessa classe de compostos (TROWELL, 1974; SPILLER *et alii*, 1974; HELLENDORRN, 1975) e qual o melhor nome dado a ela (FURDA, 1977), uma vez que muitas substâncias que cabem na definição de fibra alimentar não são filamentos nem fibras.

De uma maneira ampla, fibra alimentar se refere ao material de origem vegetal constituinte da parede celular (celulose, hemicelulose, lignina e substâncias pecticas) e outros polissacarídeos de origem vegetal frequentemente presentes na dieta (mucilagens, ceras e gomas) (SOUTHGATE, 1976), que não são digeridos pela secreção gastrointestinal.

A Figura 2 apresenta os monômeros e polímeros classificados como fibra alimentar e alguns dos nomes sugeridos para esse grupo de compostos.

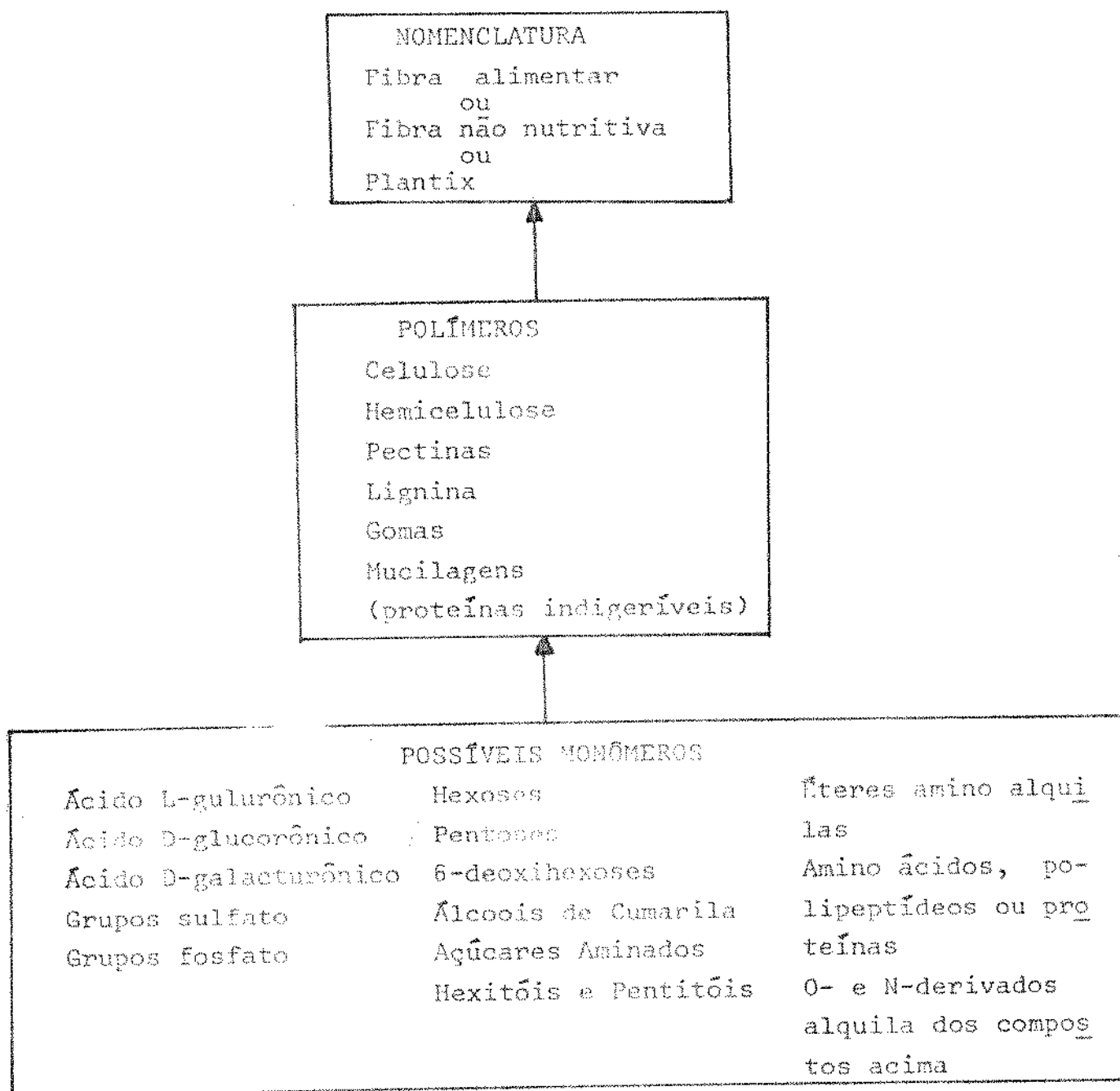
Tem-se observado curiosamente que algumas doenças como apendicite, tumores intestinais, doença diverticular, doenças do coração, hemorróidas, varicose e câncer do cólon e reto são mais comuns nas sociedades mais desenvolvidas economicamente. Esse fato, segundo BURKITT (1975) poderia estar relacionado à diminuição do consumo de fibras na dieta.

Duas das propriedades mais importantes das fibras se referem a sua capacidade de ligar água e poder atuar como resina de troca iônica (McCONNEL *et alii*, 1974). Os polissacarídeos classificados como fibra quando colocados na água podem absorverem-na de modo a se incharem ou então formar géis como acontece com as substâncias pecticas e hemicelulose.

A capacidade de absorção de água de um polissacarídeo é ditada pela química e forma da macromolécula, bem como pela concentração de eletrólito, pH do meio e modo de preparo da fibra utilizada no teste. (EASTWOOD e MITCHEL, 1976).

A absorção de água pelas fezes é responsável pela diminuição do tempo de trânsito do alimento, que é o tempo decorrido para que o alimento percorra o espaço compreendido entre a boca e o ânus (EASTWOOD, 1974). Com a diminuição do tempo de trânsito o tempo de exposição do alimento à parede intestinal é também diminuído (BURKITT, 1975) havendo uma diminuição da absorção de elementos constituintes da dieta (NOMANI *et alii*, 1979; LANG e BRIGGS, 1976).

Figura 2 - Monômeros e polímeros encontrados na fibra alimentar e alguma nomenclatura sugerida.



(SPILLER *et alii*, 1978).

A presença de grupos ácidos em polissacarídeos como as substâncias pecticas conferem-lhes a propriedade de atuarem como resinas trocadoras de cations, cuja capacidade está relacionada linearmente com a capacidade de retenção de água (EASTWOOD *et alii*, 1976).

As fibras absorvem ácidos e sais biliares e, segundo trabalhos realizados por BIRKNER e KERN (1974), a hemicelulose, salicilassulfapiridina e colestiramina adsorvem quantidades significativas de sais biliares *in vitro*, num processo que é uniforme e monomolecular. EASTWOOD E HAMILTON (1968) notaram que, *in vitro*, sais e ácidos biliares são adsorvidos fortemente pela lignina e quanto mais polar o ácido menor a afinidade pela fibra. A adsorção se mostrou hidrofóbica sendo máxima quando os grupos carboxílicos e hidroxilas estão na forma não ionizada.

A adsorção de sais e ácidos biliares pelas fibras e sua excreção nas fezes levam a uma diminuição da concentração de colesterol no sangue. (SPILLER e AMEN, 1975).

Além das propriedades acima citadas as fibras podem ainda atuar como um sistema de filtração em gel afetando a entrada de substrato e enzimas em seus interstícios e assim a susceptibilidade do substrato à hidrólise enzimática (EASTWOOD e MITCHEL, 1976).

Devido à grande variação na constituição dos polímeros classificados como fibras alimentares, cada um dos componentes do grupo terá características próprias e seu comportamento deve ser estudado separadamente.

CELULOSE

Polímero linear de alto peso molecular composto de unidades de glucose unidas por ligações glicosídicas $\beta(1-4)$, a celulose é insolúvel em água mas tem grande capaci

dade de absorvê-la.

Soluções aquosas de ácido hidrolisam as ligações glicosídicas entre o Carbono-1 e o Oxigênio das glicos adjacentes; a hidrólise parece se dar ao acaso ao longo da cadeia com uma velocidade maior nas suas extremidades. O hidróxido de sódio aquoso causa alguma separação das cadeias (SOUTHGATE, 1976).

A celulose aumenta a velocidade de esvaziamento gastrointestinal estimulando a sua motilidade, causando alterações das enzimas do intestino delgado, além de alterar a ação microbiana intestinal (LANG e BRIGGS, 1976; SPILLER *et alii*, 1978). Conquanto o suco gastrointestinal não hidrolise a celulose, cerca de 50% das 21 gramas da fibra ingerida por adolescentes são digeridas pela microflora intestinal (PETZER *et alii*, 1979; HOLLOWAY *et alii*, 1978). Por outro lado, dietas contendo até 20% de celulose tiveram cerca de 25% da fibra destruída no intestino de ratos (HOVE e KING, 1979).

Os efeitos fisiológicos das características funcionais das fibras de modo geral são bastante diferentes do seu comportamento *in vitro*. Fatores como a osmolalidade, a presença de outras moléculas, a possibilidade de adsorção e a presença de água e bactérias influem marcadamente nas características desses elementos.

Em seus experimentos com ratos, KEIM e KEIS (1979) notaram que a adição de celulose, hemicelulose e lignina nas concentrações de 5, 10, 20% causava uma grande diminuição da digestibilidade da proteína. Essa capacidade foi atribuída ao poder das fibras de ligarem a proteína tornando-a inacessível à ação enzimática, além de aumentar a motilidade intestinal diminuindo o tempo para que ocorra a digestão. NOMANI *et alii* (1979), trabalhando com ratos notaram que a celulose aumentava a utilização do nitrogênio absorvido diminuindo no entanto a digestibilidade da proteína. Esses pesquisadores sugeriram que o efeito da fibra se devia

provavelmente ao fato dela causar alteração no metabolismo da proteína endógena.

Experimentos de ERSHOFF e THURSTON (1974) revelaram que a suplementação das dietas oferecidas a ratos com 5 e 10% de celulose anulavam o efeito negativo do amarantho (quanto ao peso, aparência e tempo de sobrevivência dos animais) presente na dose maciça de 5% na dieta. ERSHOFF (1972) observou que a celulose incorporada à dieta em níveis de 5 e 10% diminuía também o efeito negativo do ciclamato de sódio adicionado à dieta nas concentrações de 2,5; 5 e 10%. Esses experimentos levaram ERSHOFF e THURSTON (1974) a sugerirem que dada a marcante atuação da celulose sobre o efeito desses compostos, ela poderia igualmente ter efeito protetor e/ou terapêutico contra outros agentes tóxicos.

KRITCHEVISKY e STORY (1974) estudando a capacidade da colestiramina, colestipol, celulose, celofane e outras fibras adsorverem taurocolato ou glicolato de sódio *in vitro* notaram que as fibras naturais não nutritivas (celulose e celofane) ligam os sais biliares em alguma extensão, numa relação que é linear entre a quantidade de fibra e a quantidade de sais biliares ligados. Essa adsorção por celulose e hemicelulose levou os autores a afirmarem que certas fibras não nutritivas naturais não podem ser consideradas componentes inertes da dieta, havendo assim necessidade de se conhecer seus efeitos no intestino.

ISMAIL-BEIGI *et alii* (1977) observaram que a adição de 10 g de celulose à refeição diária de indivíduos adultos causava um aumento das quantidades de cálcio e zinco excretadas pelas fezes. Esse aumento de excreção causou nos indivíduos um balanço negativo dos metais e uma diminuição de suas concentrações no plasma. Também foram observados casos onde a adição de celulose causou um balanço negativo de magnésio e fósforo. Embora a adição de celulose cause um aumento do volume intestinal, que poderia implicar numa espécie de diluição dos metais diminuindo-lhes o contato com a parede *in*

testinal e portanto diminuindo-lhes absorção, os autores acreditam que seja pouco provável ser esse o motivo da diminuição da absorção dos metais estudados, uma vez que os íons dos metais divalentes são absorvidos principalmente no intestino delgado onde há uma mistura bastante efetiva do conteúdo intestinal. Esses pesquisadores não apresentam uma explicação para o fato de a celulose diminuir a absorção de cálcio, zinco, magnésio e fósforo mas consideram de grande importância nutricional o fato dela interferir na absorção de cálcio e zinco uma vez que essa absorção é ainda diminuída pela presença dos ftatos presentes na farinha de trigo integral. Igualmente McHALE *et alii* (1979) afirmam que a celulose adicionada à dieta causa uma diminuição na absorção intestinal de cálcio e magnésio quando trabalhos realizados com adolescentes revelaram haver um aumento significativo da quantidade de cálcio excretada na urina e uma diminuição do nível de magnésio no soro sanguíneo.

Pela quantidade de trabalhos publicados nota-se que têm sido realizados nos últimos anos muitos experimentos com a finalidade de observar o efeito das fibras, e dentre elas a celulose, sobre a absorção e metabolismo de outros componentes da dieta. A celulose tem mostrado que pode agir tanto sobre a digestão quanto na absorção e excreção de nutrientes como amino ácidos, colesterol e minerais, e foi baseado nesses fatos que se desenvolveu o presente trabalho.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MÉTODO EMPREGADO PARA A DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CHUMBO

3.1.a. METODOLOGIA

O método empregado para a determinação da concentração de chumbo no sangue, rins e fígado dos animais, bem como para a sua determinação em todas as dietas e fezes foi o proposto por HOOVER *et alii* (1969). Foram feitas poucas alterações no método original tendo-se procedido da seguinte maneira:

- Digestão a quente em mistura de ácido sulfúrico, ácido nítrico e ácido perclórico 70%, numa relação v/v de 1:5:2, de uma quantidade de amostra seca suficiente para que a quantidade de chumbo presente nela pudesse ser detectada pelo método. A digestão foi efetuada ao ar livre em digestores de proteína com as amostras tendo sido colocadas em balões de Kjeldahl.

- O material digerido foi transferido para tubos de centrífuga de 50 ml onde por reação com carbonato de amônio o sulfato de chumbo precipitado na digestão ácida foi transformado em carbonato de chumbo. A reação com carbonato de amônio foi feita duas vezes para cada amostra cada uma das quais seguida de centrifugação a 12.000 rpm/10' em centrífuga Sorvall modelo RC2-B.

- O carbonato de chumbo formado na etapa anterior foi dissolvido em HNO_3 1N. A leitura de absorbância dessa solução foi feita em espectrofotômetro de absorção atômica de marca FVE UNICAM modelo SP 90A operando nas condições ajustadas para a construção da curva padrão. Com a medida de absorbância da solução e a curva padrão obteve-se a concentração de Pb^{+2} na solução final de HNO_3 e assim a sua concentração no material inicial.

3.1.b. CONSTRUÇÃO DA CURVA PADRÃO

A curva padrão foi construída a partir da dis solução de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ em HNO_3 1N para concentrações de 1, 3, 5, 10, 25 e 50 $\mu\text{gPb}^{+2}/\text{ml}$. As soluções preparadas tiveram a absorbância lida em espectrofotômetro de absorção atômica da marca PYE UNICAM SP 90A operando nas seguintes condições:

Chama: ar-acetileno

Fluxo de acetileno: 1.000 cm^3/min

Fluxo de ar: 5 l/min

Lâmpada de catodo ôco para a determinação de chumbo

Altura do queimador: 1 cm

"Slit": 0,2 mm

Ruido: 2

Comprimento de onda: 283,3 nm

Corrente: 6 mA

O aparelho foi zerado com uma solução de HNO_3 1N e teve a absorbância máxima ajustada com uma solução de 50 $\mu\text{g Pb}^{+2}/\text{ml}$ em HNO_3 1N.

3.1.c. DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE DO APARELHO

A sensibilidade do aparelho para as condições de operação citadas foi considerada como a concentração de Pb^{+2} em solução responsável por uma absorção de 1% (0,0044 de absorbância) conforme o manual do aparelho. As concentrações de Pb^{+2} consideradas para a obtenção da equação da reta pela a plicação do método dos mínimos quadrados para a obtenção da sensibilidade foram 1, 3, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

3.1.d. DETERMINAÇÃO DO LIMITE DE DETECÇÃO

Determinado segundo o manual do aparelho em u

so, que define o limite de detecção como sendo duas vezes o desvio padrão do branco. Para este resultado o branco foi considerado a mistura ternária de H_2SO_4 , HNO_3 e $HClO_4$ 70% (1:5:2 v/v), passando pelo mesmo tratamento das demais amostras. Trabalhou-se com 10, 20 e 30 ml da mistura de ácidos uma vez que dependendo da quantidade de amostra colocada para digerir foram usados diferentes volumes dela.

3.1.e. DETERMINAÇÃO DA PORCENTAGEM DE RECUPERAÇÃO

A porcentagem de recuperação foi determinada através do tratamento de amostras de 270 mg de dieta 0,5% de celulose às quais se adicionou 1 ml de solução 5, 10, 20 e 50 μg Pb^{+2} /ml. O volume de HNO_3 1N nas soluções finais nas quais se fizeram as leituras de absorbância foi mantido constante e igual a 5 ml.

Todos os reagentes foram de grau p.a. e todo o material de vidro foi lavado com HNO_3 10% e enxaguado com água destilada.

3.2. EXPERIMENTOS BIOLÓGICOS

Para esses experimentos os animais receberam uma dieta de composição conhecida apresentada na Tabela 2.

3.2.1. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE CELULOSE NA DIETA NO TEMPO DE ABSORÇÃO DO CHUMBO E NA CONCENTRAÇÃO INICIAL DO METAL NOS RINS E FÍGADO

Quarenta e oito ratas da raça Wistar com idade entre 28 e 40 dias foram divididas em 4 grupos de 12 animais cada de modo que todos os grupos tivessem o mesmo peso médio de 124 ± 2 g. Inicialmente os animais acostumados a consumir

ração comercial de marca Purina foram colocados em gaiolas individuais de ferro esmaltado com fundos em forma de grade e deixados em jejum por 24 horas, consumindo água *ad libitum*. Passadas essas 24 horas iniciou-se o período de adaptação dos animais ao consumo de nova dieta num tempo controlado. Para essa fase de adaptação os 4 grupos foram condicionados a ingerir as dietas cuja composição aparece na Tabela 2. Aqui não foi adicionado PbO e as concentrações de celulose foram iguais a 0,0; 0,5; 1,0 e 2,0% diferente para cada um dos grupos. O tempo decrescente de alimentação foi de 60, 45 e 30 minutos a intervalos de 24 horas, conforme se tratasse do 1º, 2º ou 3º dia de adaptação. Decorridos esses tempos a ração foi retirada da gaiola e foi registrada a quantidade ingerida por cada animal. No intervalo de 24 h entre uma refeição e outra os animais consumiram água *ad libitum*. No quarto dia do experimento os animais receberam a mesma dieta a que foram adaptados porém acrescida de PbO para uma concentração média de chumbo de $1,3 \pm 0,2\%$, durante um tempo de 30 minutos. Nesse intervalo de tempo os animais tratados com dieta isenta de celulose consumiram menos ração (aproximadamente 2 g/animal) do que os animais tratados com dieta acrescida de celulose (aproximadamente 8 g/animal) correspondendo a cerca de 26 e 100 mg de chumbo respectivamente. Decorrido o tempo de alimentação a dieta foi retirada da gaiola onde se manteve apenas a água. Foram anotadas as quantidades de dieta consumida por cada animal.

O estudo de absorção e distribuição inicial do metal nos rins e fígado dos animais foi feito através da determinação de sua concentração no sangue e nos tecidos desses órgãos a 1; 2,5; 4; 5,5; 8,5 e 11,5 horas após o início da refeição. A cada tempo dois animais foram anestesiados com éter e lhe foi retirada uma amostra de sangue da veia porta hepática com agulha hipodérmica lavada com solução de ácido cítrico 5%. Foram extraídos então os rins e fígado dos quais se retirou o excesso de sangue por leve pressão contra papel absorvente. O material coletado (rins, fígado e sangue) foi liofi-

Tabela 2 - Composição das dietas empregadas nos testes biológicos.

COMPONENTE	PORCENTAGEM
Proteína (caseína comercial de pureza conhecida)	10
Gordura (óleo de milho comercial)	8
Mistura salina ¹	5
Mistura vitamínica ²	2
Celulose*	
PbO**	
Amido e açúcar na proporção de 2:1 para completar	100%

¹ Composição indicada na Tabela 3

² Composição indicada na Tabela 4

* A celulose utilizada nos experimentos foi obtida através da moagem de papel Whatman de alta pureza em moinho de martelo. A celulose moída foi diluída fracionadamente com os ingredientes sólidos e secos da dieta em moinho Braun, até uma distribuição uniforme. As concentrações de fibra empregadas na dieta variaram de 0 a 2%, conforme o indicado nos experimentos, em detrimento das quantidades de amido e açúcar.

** O monóxido de chumbo (litargírio) utilizado tinha uma pureza de 99,4%, conforme o determinado por dissolução em HNO₃ 1N e leitura no espectrofotômetro de absorção atômica, e esteve presente nas dietas em diferentes concentrações para os diferentes experimentos biológicos.

Tabela 3 - Composição da mistura salina¹ empregada nos experimentos biológicos.

COMPONENTE	PORCENTAGEM
Molibdato de Amônio.4H ₂ O	0,003
Carbonato de cálcio	29,29
Fosfato de cálcio.2H ₂ O	0,43
Sulfato cúprico	0,156
Citrato fêrrico	0,623
Sulfato de magnésio.7H ₂ O	9,980
Sulfato de manganês.H ₂ O	0,121
Iodeto de potássio	0,0005
Fosfato de potássio	34,310
Cloreto de sódio	25,06
Selenito de sódio	0,002
Cloreto de zinco	0,02

¹ Segundo ROGERS e HARPER (1965).

Tabela 4 - Composição da mistura vitamínica¹ empregada nos ex
perimentos biológicos.

COMPONENTE	g/1000g de mistura
Vitamina A (200.000 U/g)	4,5
Vitamina D (400.000 U/g)	0,23
Alfa tocoferol	5,00
Ácido ascórbico	45,00
Inositol	5,00
Colina.HCl	74,00
Menadiona	2,25
Ácido p-amino benzóico	5,00
Niacina	4,50
Riboflavina	1,00
Piridoxina.HCl	1,00
Pantotenato de cálcio	3,00
Biotina	0,02
Ácido fólico	0,09
Vitamina B ₁₂	0,0014
Glucose em pó suficiente para completar 1.000g	

¹ "Vitamin Diet Fortification Mixture" da "Nutritional Bioche
micals Corporation - USA" 1977-1978.

lizado, triturado em almofariz e armazenado para a determinação da concentração de chumbo. Foram tomados os pesos úmido e seco dos órgãos extraídos.

Para se saber a concentração de chumbo no sangue, rins e fígado, não se deveu à sua adição à dieta, foram selecionados 4 animais de peso médio igual a 113 ± 2 g. Esses animais foram tratados do mesmo modo que os animais dos outros grupos tendo sido empregada no entanto uma dieta isenta de celulose à qual não se adicionou chumbo durante os quatro dias de experimento. No quarto dia de experimento dois dos animais tiveram o sangue, rins e fígado retirados antes da refeição e dois os tiveram 3 horas após o seu início. O material aqui coletado sofreu o mesmo tratamento do material coletado dos animais dos outros grupos.

A determinação da concentração de chumbo nos rins, fígado e sangue foi feita em amostras compostas do material extraído dos animais sacrificados ao mesmo tempo. Desse modo cada ponto das curvas corresponde à concentração média de chumbo para os dois animais. Devido ao fato dos animais terem ingerido quantidades de ração da mesma ordem de grandeza mas não idênticas foi mais recomendável expressar a quantidade de metal captada por cada tecido como uma porcentagem do chumbo total ingerido.

3.2.2. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE CELULOSE NA DIETA NA DEPOSIÇÃO DE CHUMBO NOS RINS E FÍGADO E NA CONCENTRAÇÃO DO METAL NO SANGUE

Vinte e seis ratos machos e fêmeas da raça Wistar foram empregados nesse experimento. Os animais, com idade entre 49 e 51 dias foram divididos em 4 grupos de peso médio igual a 109 ± 1 g. Os animais foram tratados por 44 dias com dietas a 0,0; 0,5; 1,0 e 2,0% de celulose, às quais foi adicionado PbO para uma concentração média de chumbo de

160 $\pm$ 8 ppm. O consumo da dieta bem como o de água durante to do o experimento se deu *ad libitum*. Os animais foram pesados a cada três ou quatro dias quando também se anotou a quantidade de dieta consumida. Ao final do experimento os animais foram anestesiados com éter e uma amostra de seu sangue foi retirada por punção cardíaca com agulha hipodérmica lavada com solução de ácido cítrico 5%. Após a retirada do sangue, os animais foram sacrificados por dose maciça de éter e lhes foram extraídos os rins e fígado. Para esse experimento, além do sangue, rins e fígado, foram também coletadas as fezes dos animais excretadas durante a quarta semana de experimento.

Todo o material coletado teve seus pesos seco e úmido anotados. O sangue, fígado e rins foram liofilizados, triturados em almofariz e armazenados para a determinação da concentração de chumbo. As determinações da concentração do metal foram feitas individualmente exceto para o sangue onde se trabalhou com o material obtido de um grupo de 3 ou 4 animais do mesmo sexo, uma vez que as concentrações de chumbo nesse tecido era bastante baixa. As fezes foram secas em estufa a 110°C, moídas em moinho Braun e peneiradas para que a sua fração fibrosa se separasse da fração em forma de pó. A determinação da concentração do metal foi feita para as duas frações, fibra e pó, separadamente. Pela mesma razão do experimento anterior, a deposição de chumbo foi expressa em termos de porcentagem de chumbo ingerido.

3.3. RETENÇÃO DE CHUMBO PELA CELULOSE *in vitro*

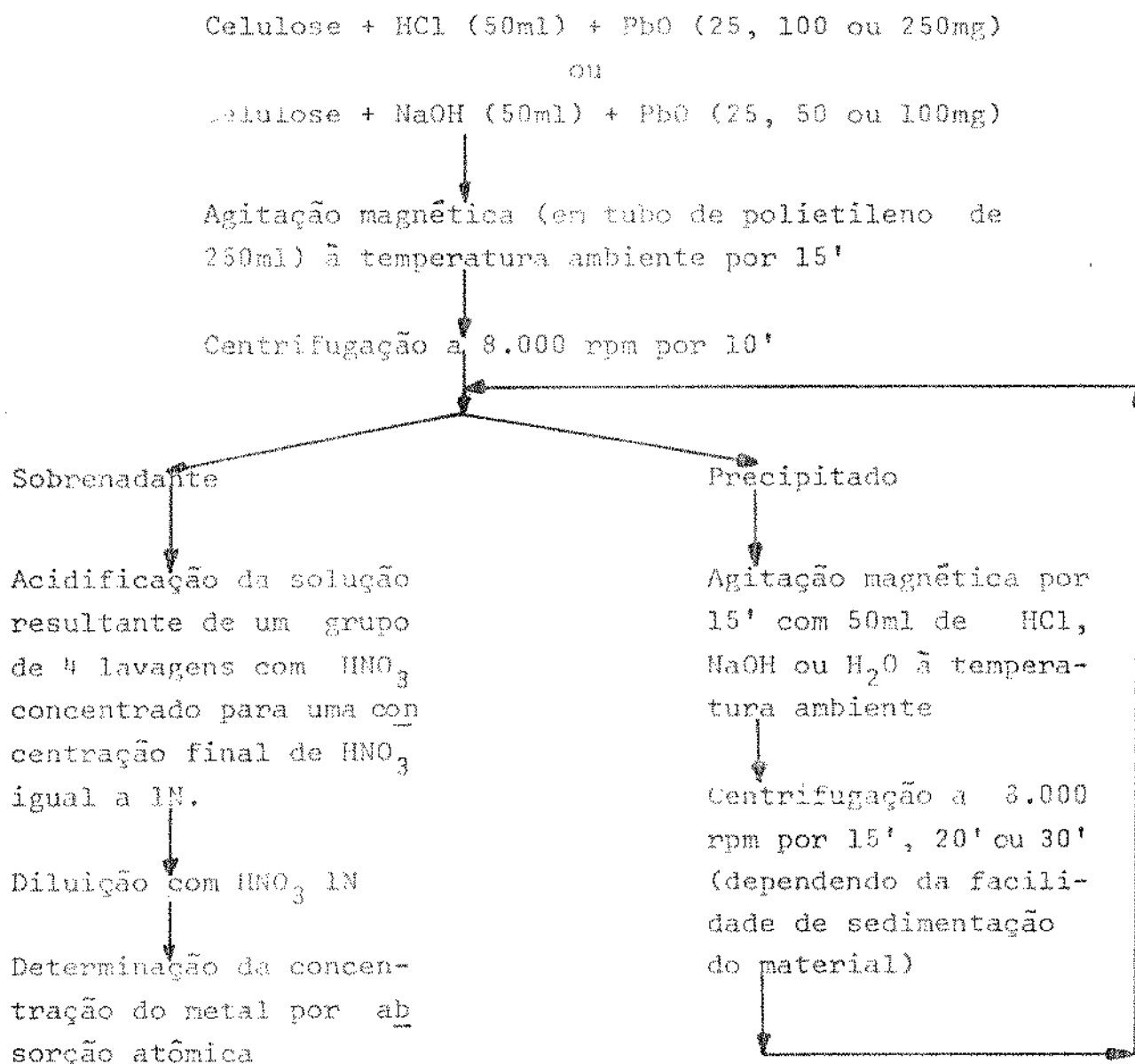
Esse experimento foi efetuado usando papel Whatman de alta pureza moído em moinho de martelo como fonte de celulose. A um grama de celulose foram adicionadas quantidades variadas de PbO e o material foi agitado com HCl 10^{-2} N ou com uma solução de NaOH pH 8,1. Após a agitação do material em tubo de polietileno, foram feitas lavagens sucessivas com água destilada, HCl 10^{-2} N ou NaOH pH 8,1, e determinadas

as quantidades de chumbo extraídas a cada lavagem. Após as lavagens foi determinada a quantidade de chumbo retida pela fibra através do método proposto por HOOVER *et alii* (1969). A Figura 3 mostra o esquema seguido para esse experimento.

3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as comparações entre médias foram feitas através da distribuição t de Student para pequenas amostras (HOEL, 1969) onde as concentrações de chumbo inferiores ao limite de detecção foram tomadas como a metade desse valor.

Figura 3 - Esquema seguido para a observação da capacidade da celulose de reter Pb *in vitro*.



Após as lavagens com H₂O o material restante no tubo de centrífuga foi retirado com auxílio de uma pinça e foi determinada a quantidade de chumbo nele retida.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

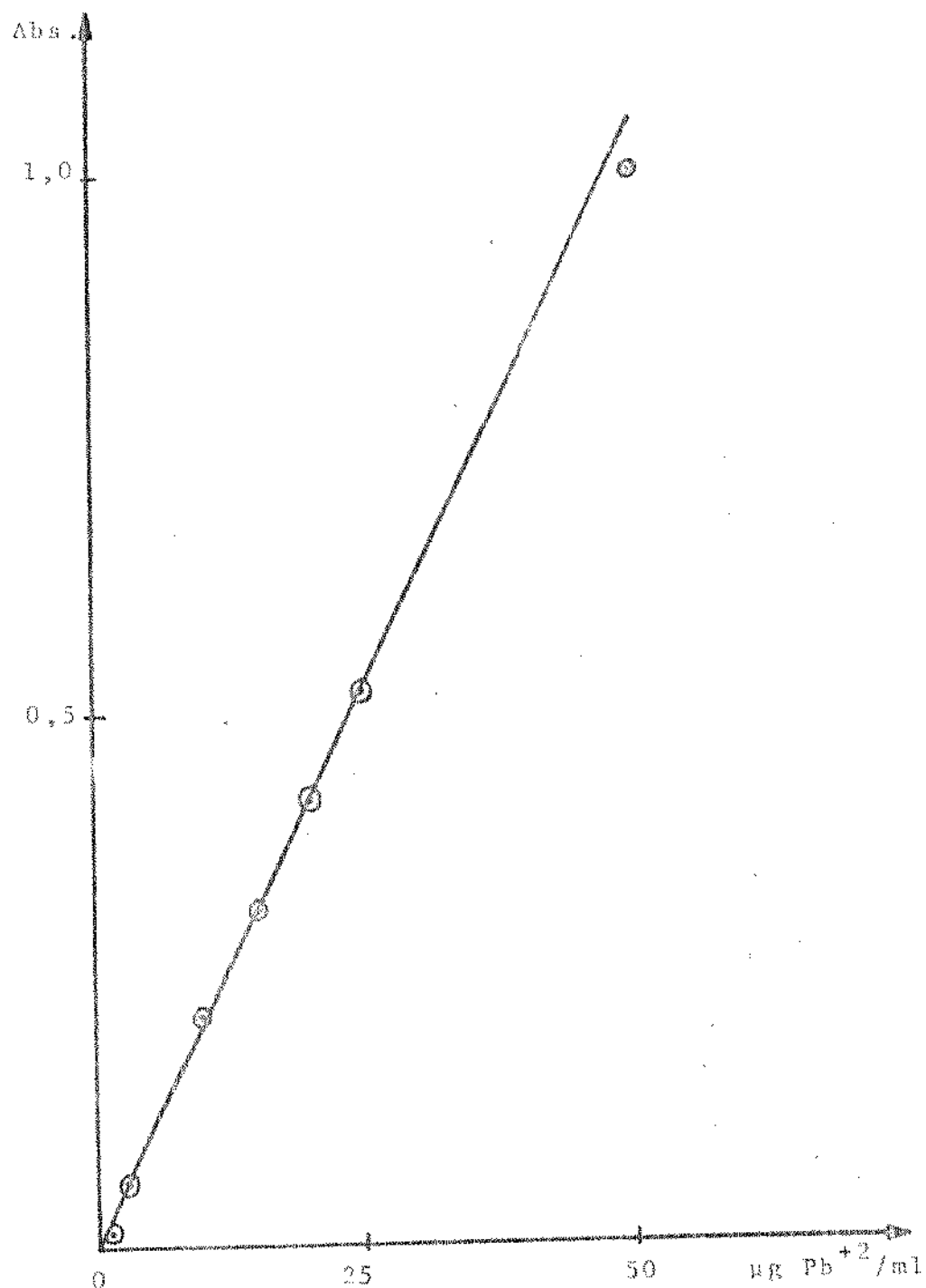
A curva padrão empregada para relacionar a absorbância lida no aparelho com a concentração de Pb^{+2} na solução de HNO_3 1N é apresentada na Figura 4. Por essa figura pode-se notar que existe grande linearidade entre os pontos obtidos para concentrações variando entre 0 e 25 $\mu\text{g Pb}^{+2}/\text{ml}$. Embora não tenham sido feitas leituras de absorbância para concentrações entre 25 e 50 $\mu\text{g/ml}$ a figura sugere haver um desvio dessa linearidade para concentrações superiores a 25 $\mu\text{g Pb}^{+2}/\text{ml}$. Com essas observações foi considerada como a adequada para se relacionar a absorbância com a concentração do íon em solução apenas a porção da curva compreendida entre 0 e 25 $\mu\text{g/ml}$. Todas as diluições feitas durante o trabalho visaram dessa maneira obter uma concentração do íon entre esses dois pontos extremos, o mais distante possível deles.

Para o intervalo de concentração entre 0 e 25 $\mu\text{g Pb}^{+2}/\text{ml}$ a sensibilidade do aparelho é de 0,2 $\mu\text{g/ml}$. O desvio padrão das leituras de absorbância das misturas ternárias foi de 3,09 correspondendo a um limite de detecção igual a 0,9 $\mu\text{g Pb}^{+2}/\text{ml}$.

A porcentagem de recuperação proporcionada pelo método foi de $80 \pm 12\%$, que é menor do que a encontrada pelos seus autores ($100 \pm 3\%$). Essa diferença pode ser explicada, pelo menos em parte, pela pequena quantidade de chumbo adicionada à dieta, uma vez que se notou que a porcentagem de recuperação era maior para maiores quantidades adicionadas à amostra, e HOOVER *et alii* (1969) adicionaram quantidades variando entre 5 e 10.000 μg , enquanto nós adicionamos quantidades variando entre 5 e 50 μg .

A concentração de chumbo no organismo dos animais tratados com dieta isenta de celulose e chumbo estava a

FIGURA 4 - Curva padrão para a determinação da concentração de Pb^{+2} em solução.



baixo do limite de detecção e nesse caso, para efeito de construção das curvas, foi considerada como zero. Do mesmo modo foram consideradas iguais a zero, para construção das curvas, as demais concentrações abaixo do limite de detecção.

4.1. ESTUDO DE ABSORÇÃO DE CHUMBO COM REFEIÇÃO ÚNICA

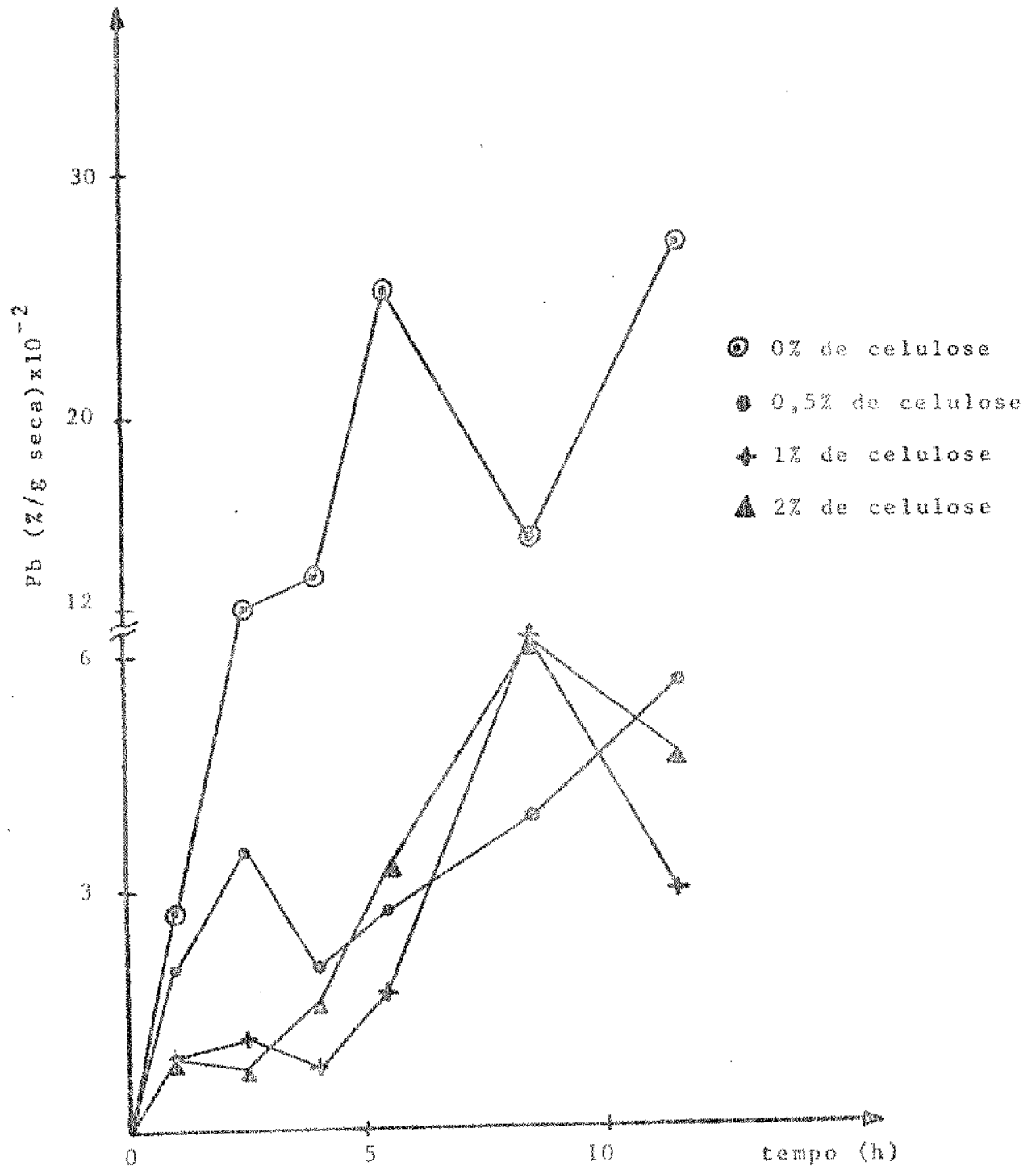
A Figura 5 é a representação gráfica do efeito da celulose alimentar na absorção de Pb^{+2} numa experiência com 48 ratas jovens tratadas como descrito na seção 3.2.1. A figura mostra que a soma das quantidades de chumbo que se depositam no fígado, rins e sangue, expressas como a porcentagem do metal ingerido, foi maior nos animais alimentados com dieta à qual não se adicionou celulose do que nos tratados com dieta contendo a fibra. Essa diferença já é bastante acentuada para a concentração de 0,5% de celulose na dieta.

A velocidade média de absorção de chumbo num intervalo de tempo, obtida da variação da porcentagem do metal depositado dividida pelo número de horas necessárias para que essa deposição ocorresse, não atingiu 0,1%/hora, mesmo no caso dos animais que ingeriram a refeição sem fibra. Apesar de aparentemente baixa essa porcentagem absorvida é bastante significativa quando se considera a alta concentração de chumbo na dieta (aproximadamente 1,3%).

Nesta figura foi possível observar uma relação inversa entre o teor de fibra e a porcentagem de Pb presente nos três tecidos no período considerado correspondente à absorção no intestino delgado (0 a 2,5 horas). No caso de ração isenta de celulose a absorção foi tão grande que a fase anterior (intestino delgado) e a posterior (intestino grosso) se confundiram e apareceram retardadas, sugerindo maior probabilidade de contato e/ou maior tempo de residência do metal na mucosa.

A curva correspondente à ração com 0,5% de celulose apresentou o mais claro pico de absorção delgado intestinal, sendo que as maiores concentrações de fibra este pico vai desaparecendo até ser praticamente inexistente com 2% de

FIGURA 5



celulose. A fase de absorção grosso intestinal, que alcançou um máximo em torno das 8,5 horas para os níveis de 1 e 2% de ce lulose, aparentemente não foi atingido pelos grupos que inge riram ração com 0 e 0,5% de celulose durante a duração do tes te que foi de 11,5 horas.

A partir das curvas dos grupos com 1 e 2% de ce lulose na ração podemos notar também que um aumento de 1 para 2% não causou posterior redução do tempo de absorção grosso in testinal máxima, como também não resultou numa queda proporcio nal da quantidade de chumbo captada pelos tecidos. A afirmação de CONRAD e BARTON (1978) de que o chumbo é mais abundantemen te absorvido no intestino delgado, e principalmente no duodeno, deveria ser reexaminada em virtude dos nossos resultados. As curvas correspondentes a 0,5; 1 e 2% de celulose sugerem que a absorção no intestino grosso é mais importante do que no intestino delgado. Essa aparente discrepância com os resulta dos de CONRAD e BARTON (1978) provavelmente se deve às reduzi das quantidades de isótopo ^{203}Pb (na forma de PbCl_2) usadas nos testes e ao fato de que esses pesquisadores trabalharam com segmentos isolados de intestino nos quais injetaram uma solu ção contendo 1 μg de PbCl_2 . Trabalhando com injeção em segmen tos isolados esses pesquisadores eliminaram o efeito do alimen to no intestino, eliminando assim o efeito do seu tempo de re sidência em cada um dos segmentos sobre a absorção dos seus componentes. A digestão da celulose pela microflora intestinal do animal poderia, por outro lado, ser responsável pelo menos em parte, pela grande absorção que ocorre no intestino grosso (HOVE e KING, 1979).

A diminuição das concentrações totais do metal nos três tecidos estudados, como se pode observar entre 2,5 e 4 horas e depois de 8,5 horas, são naturalmente devidas à: 1) diminuição temporária da taxa de absorção e 2) contínua re distribuição do metal absorvido no organismo. À medida que o bolo alimentar se desloca ao longo do intestino ele encontra regiões de maior ou menor absorção, além de que o metal deposi

tado num tecido pode ser redistribuído para outros não considerados nesse trabalho, e mesmo ser excretado, havendo então uma redução na sua concentração.

DIETA ISENTA DE CELULOSE

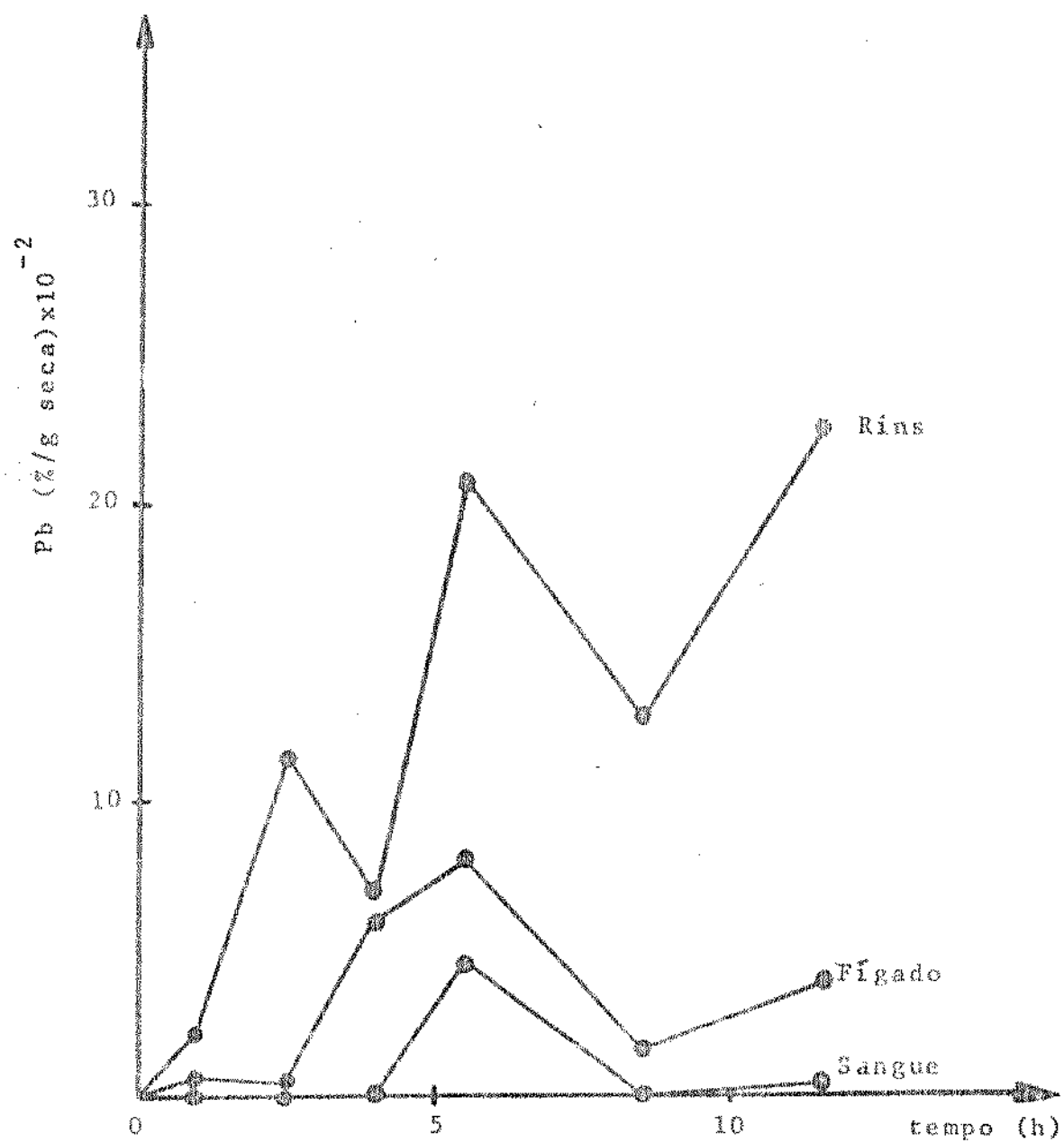
Os animais tratados com dieta isenta de celulose apresentaram relativamente uma grande deposição de chumbo no organismo já nas primeiras horas após o início da refeição. A velocidade de deposição de chumbo no organismo porém, variou dependendo do tipo de tecido considerado. Observando as curvas individuais de deposição de chumbo no fígado, sangue e rins na Figura 6 vemos que entre 1 e 2,5 horas após o início da refeição há um aumento considerável da quantidade de chumbo depositada nos rins mesmo quando as concentrações do metal no sangue e no fígado são baixas. Esse resultado é coerente com o fato de que, entre os tecidos moles, o rim é um importante retentor de metais pesados.

O teste de refeição única revelou claramente a movimentação dos íons chumbo nos primeiros órgãos a serem atingidos. O sangue aceita concentrações relativamente altas com bastante facilidade, mas também transfere essa carga com igual facilidade, ou talvez maior, para outros tecidos no seu percurso pelo organismo.

Os níveis de chumbo no fígado guardam uma relação de semelhança com o perfil de concentração no sangue, havendo, todavia, uma acumulação mais rápida no fígado do que no sangue (intervalo entre 2,5 e 4 horas). Tanto no sangue como no fígado e nos rins aparece um máximo de deposição em torno da 5,5 horas, para depois se registrar uma queda brusca até um mínimo em torno das 8,5 horas.

O perfil de retenção nos rins (Figura 6) se caracteriza por ter níveis até três vezes maior do que o sangue e o fígado e por apresentar máximos mais ou menos iguais mas

FIGURA 6



de tendência crescente até o final do período. O máximo registrado em torno das 5,5 horas aparentemente corresponde a uma absorção ocorrida no intestino grosso, enquanto que o máximo de absorção no intestino delgado (curvas do sangue e do fígado) teria ocorrido entre 1 e 2,5 horas.

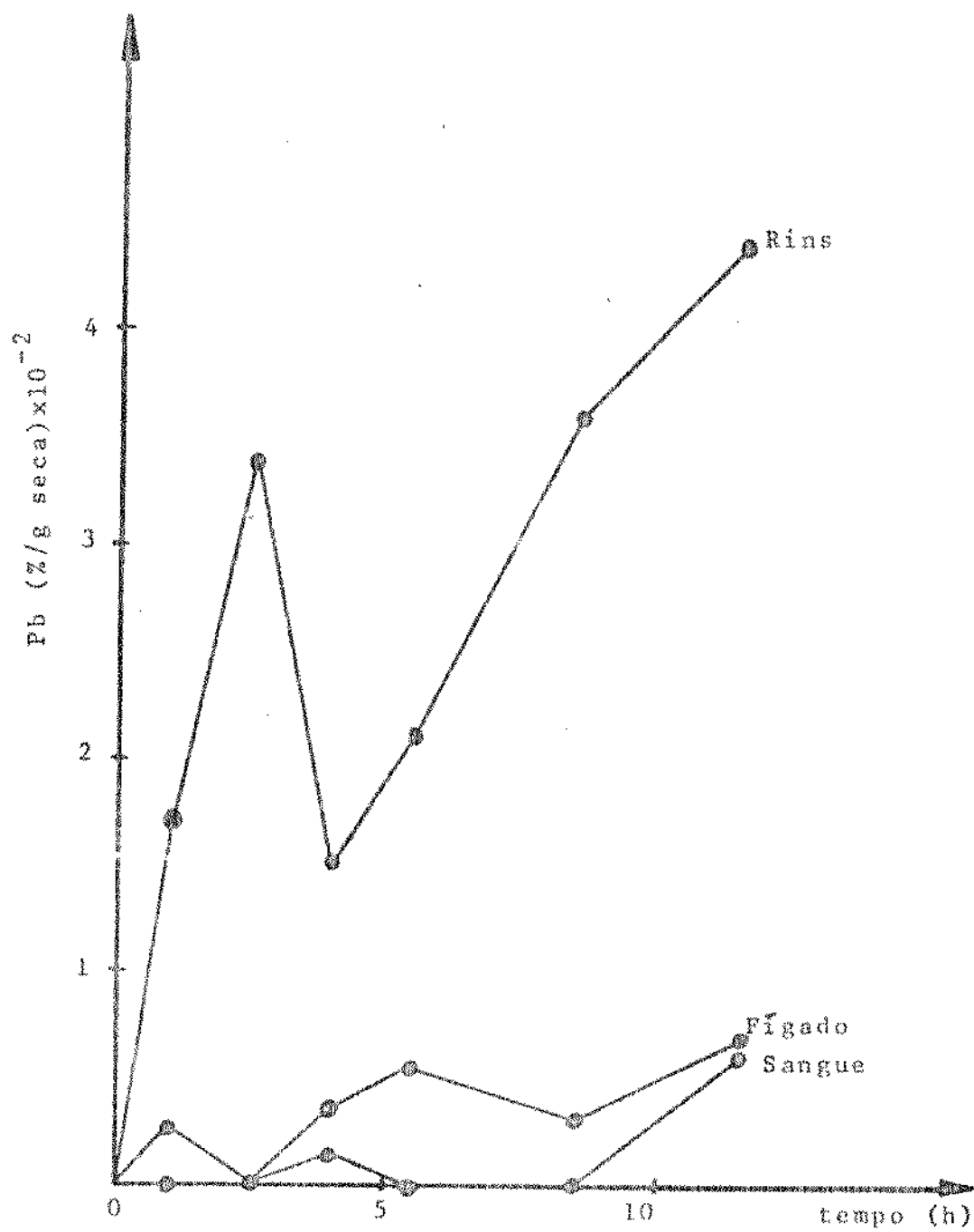
Os picos de acumulação no tecido hepático e renal, simultaneamente com o pico no sangue indica a transferência instantânea do metal do sangue para o rim e fígado. O aumento da concentração no rim após 2,5 horas é um tanto difícil de explicar se considerarmos que a absorção intestinal está praticamente terminada e a redistribuição do chumbo hepático e de outros órgãos é um processo relativamente lento, que começa com a transferência do metal do tecido mole para o sangue. (RABINOWITZ *et alii*, 1976).

DIETA COM 0,5% DE CELULOSE

Animais tratados com dieta com teor de celulose igual a 0,5% apresentaram uma reduzida taxa de absorção e retenção em relação aos animais tratados com dieta isenta de fibra. Na Figura 7 podemos observar que a absorção do metal diminuiu de mais de 20 vezes em comparação com a absorção ocorrida nos animais tratados com dieta sem celulose (perfil do sangue portal hepático). A retenção pelo fígado e especialmente pelos rins foi sensivelmente diminuída. Às 11,5 horas, por exemplo, o teor do metal aceito pelo rim caiu de 0,23 para 0,045%/g tecido seco com a simples inclusão de 0,5% de celulose. O perfil da curva do sangue portal hepático sugere que a absorção máxima ocorre em torno de 4 horas após o início da refeição. Dois máximos são claramente discerníveis, todavia, na curva do fígado os quais não refletem necessariamente máximos de absorção e sim o resultado da absorção, eliminação e redistribuição do metal como já foi discutido anteriormente.

O perfil de retenção de chumbo pelo rim (Figura 7) mostra um só pico em torno das 2,5 horas, seguindo de um va

FIGURA 7



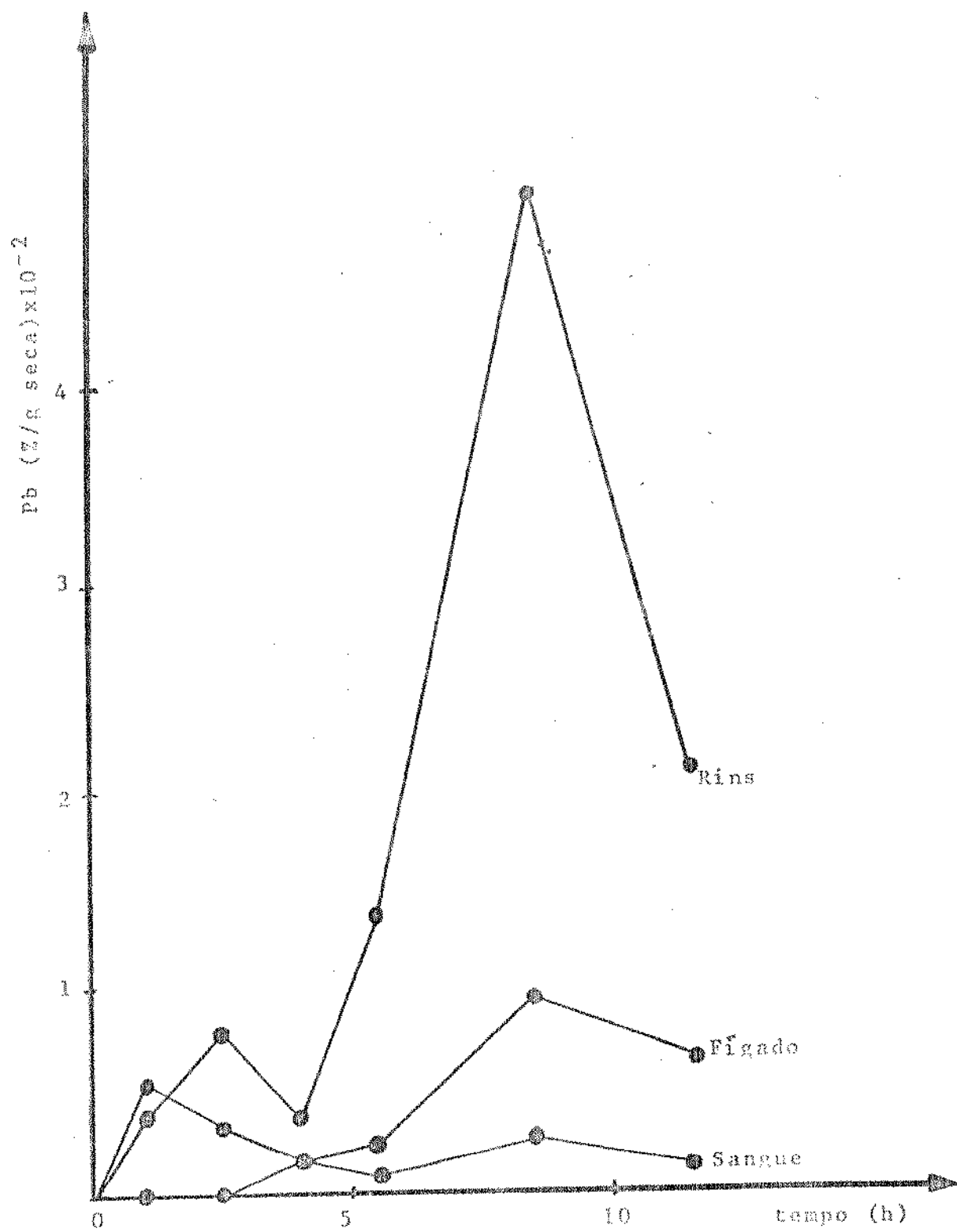
le abrupto e depois de um aumento gradativo e ininterrupto até o final da experiência. Esse comportamento parece indicar que logo após uma carga inicial não muito elevada o órgão consegue eliminar até 50% dela em pouco tempo (intervalo das 2,5 às 4 horas. Porém continuando a alimentação do chumbo no rim o tecido é capaz de aceitar maiores níveis de ocorrer uma nova eliminação maciça, daí que o novo pico tende a ser maior como já foi também observado na Figura 8.

Observou-se também na Figura 7 que as distâncias entre as curvas do sangue e/ou fígado e a curva de acumulação no rim foram proporcionalmente maiores quando a dieta foi acrescida de 0,5% de celulose. Esse comportamento sugere que o rim, na sua função protetora, retira o chumbo do sangue ligando e excretando o íon pela urina com uma capacidade específica própria do tecido. Sendo assim, níveis diferentes de chumbo no sangue poderiam eventualmente produzir cargas bastante diferentes no sangue e no fígado, dependendo de se o tecido renal se encontra saturado ou não. Em outras palavras, quantidades pequenas de chumbo no sangue (Figura 7) seriam rapidamente retiradas pelo rim, permanecendo baixo o nível do metal na corrente circulatória, enquanto que quantidades de chumbo superiores à capacidade do rim causariam uma certa saturação das células renais provocando a acumulação temporária no fígado e elevação do seu nível na corrente sanguínea. A mesma interpretação dos resultados pode ser aplicada às Figuras 8 e 9.

DIETA COM 1% DE CELULOSE

Em geral o acréscimo de mais de 0,5% de celulose à dieta já contendo 0,5% não causou uma posterior diminuição dos níveis de Pb no sangue ou nos dois outros tecidos estudados, como se pode observar na Figura 8. Houve porém uma diminuição notável do pico de retenção renal registrado às 2,5 horas, enquanto que apareceu um pico proeminente em

FIGURA 8



torno das 8,5 horas após a refeição. Por outro lado, os perfis de chumbo no sangue portal hepático e no tecido hepático apresentaram apenas ligeiras modificações guardando a mesma ordem de grandeza e a mesma relação entre si, já observadas na experiência com 0,5% de celulose.

Observou-se que, como no caso de 0,5% de celulose, os níveis de chumbo no sangue dos animais alimentados com a dieta contendo 1% de celulose tenderam a aumentar mais para o final do teste, isto é, a absorção duodenal ou delgado-intestinal perdeu magnitude, sendo superada pela absorção grosso-intestinal.

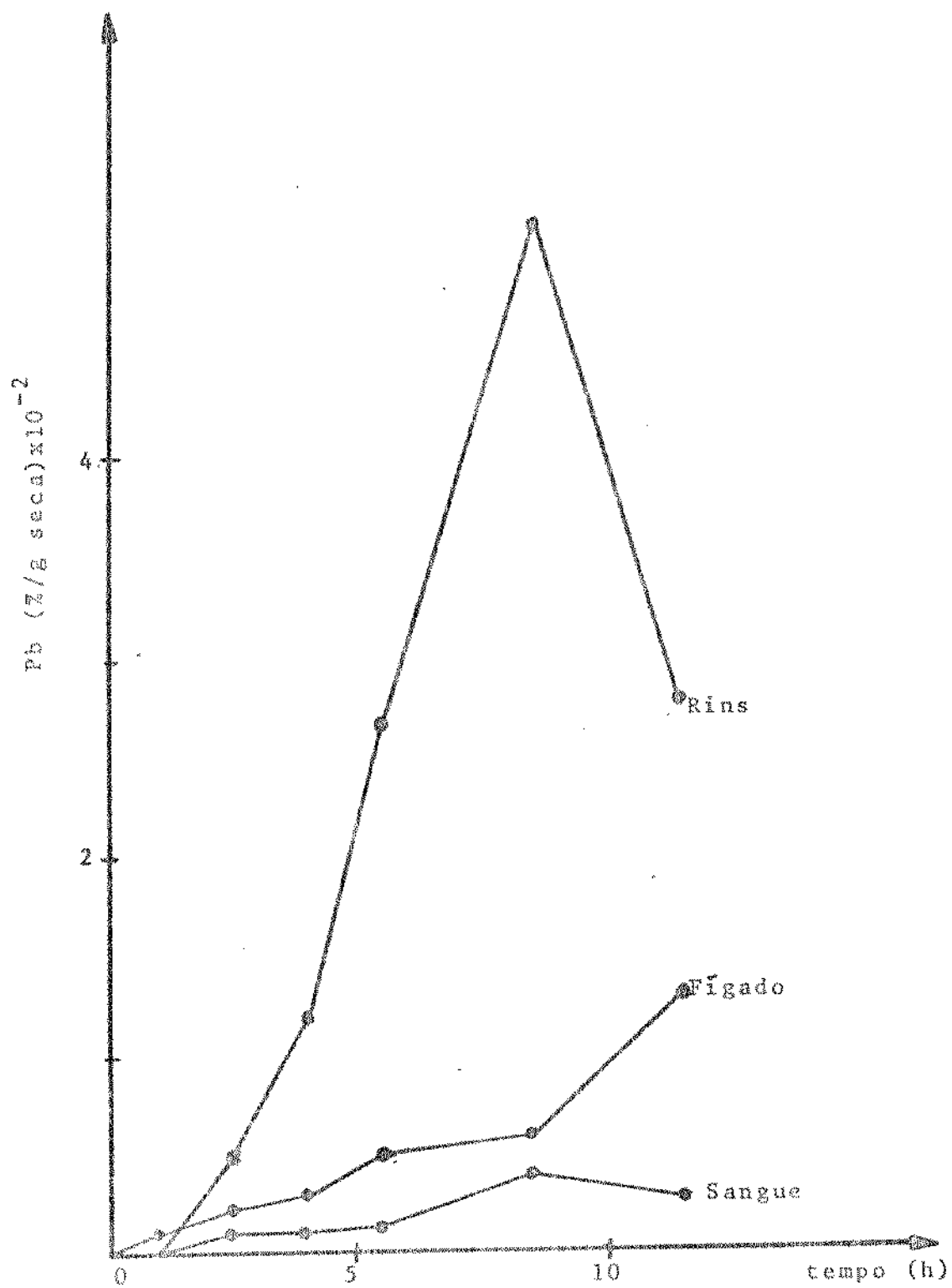
O perfil do chumbo no fígado continuou a apresentar um pico de acumulação transitória em torno de 1 hora seguido de um vale e um segundo pico localizado em torno das 8,5 horas. Embora o maior pico na curva do fígado tenha coincidido com o pico de maior fluxo de chumbo no sangue, o primeiro não parece depender do nível do metal no sangue. Interessante foi o fato de os picos das três curvas coincidirem no tempo de 8,5 horas o que indicou a importância da absorção de chumbo pelo intestino grosso quando a dieta contém 1% de celulose. Cabe ressaltar aqui que as dietas padrões para testes de alimentação incluem 1% de fibra, geralmente na forma de celulose.

DIETA COM 2% DE CELULOSE

Animais tratados com dieta com 2% de celulose responderam numa forma tão ou mais regular que aqueles tratados com dieta contendo 1% da fibra.

Na Figura 9 podemos observar que os níveis de chumbo no sangue e no fígado não apresentaram picos e sim uma tendência ascendente mais ou menos constante através da experiência. As curvas, porém, mantiveram a mesma ordem de grandeza e proporção da experiência anterior (Figura 8).

FIGURA 9



A curva de deposição de chumbo nos rins mostrou o desaparecimento do pico 2,5 horas e nenhuma alteração no pico das 8,5 horas. Basicamente o comportamento dos rins demonstrou que apenas houve alguma diferença na retenção do metal pelo tecido. Como seria improvável que a simples adição de celulose à dieta causasse mudanças químicas capazes de afetar a ligação do metal ao tecido renal, acredita-se que o efeito tenha sido a nível fisiológico, isto é, a alimentação com altos teores de fibra pode reduzir a absorção tanto do chumbo quanto de um nutriente qualquer no intestino delgado e/ou no intestino grosso (McHALE *et alii*, 1979; ISMAIL-BEIGI *et alii*, 1977). Interessante aqui é o fato de a quantidade de chumbo absorvido no intestino grosso não ter sido sensivelmente alterado com a elevação de 1 para 2% de celulose (Curva inferior das Figuras 8 e 9), nem ter havido aumento ou diminuição da quantidade total retida pelo rim como pode ser apreciado na curva superior da Figura 8.

Como já foi salientado anteriormente, quanto maior a dose de chumbo administrada oralmente menor é a porcentagem do metal absorvida (CONRAD e BARTON, 1978). No entanto, a sensibilidade da absorção à variação da quantidade de chumbo administrada não parece se dar a ponto de haver uma variação da porcentagem de chumbo absorvido devido a diferença da quantidade de chumbo ingerido entre os grupos de animais tratados com dietas contendo celulose. Pelas quantidades de chumbo ingerido pelos animais, apresentadas na Tabela 5, nota-se que a máxima diferença ocorre entre os animais do grupo tratado com dieta sem celulose e dos grupos de animais tratados com 0,5; 1 e 2% de celulose na dieta e é da ordem de 5 vezes.

Enquanto os animais tratados sem celulose ingeriram pouca dieta, e assim pouco chumbo, os demais animais ingeriram uma quantidade de metal cerca de 5 vezes maior no mesmo intervalo de tempo. Não sendo significativamente diferente as quantidades de chumbo ingeridas pelos animais dos três gru

Tabela 5 - Quantidades de ração e chumbo ingeridas pelos animais e a relação entre o chumbo depositado nos tecidos e o ingerido durante 30 minutos de refeição. (Os valores são referentes às quantidades consumidas por dois animais).

CELULOSE NA DIETA (%)	RAÇÃO INGERIDA (g)	CHUMBO INGERIDO (mg)	Pb DEPOSITADO/ Pb INGERIDO (%) $\times 10^{-2}$
0	6,0	72,0	2,62
	3,5	42,0	12,0
	3,0	36,0	13,0
	1,5	18,0	25,4
	4,5	54,0	14,9
	4,0	48,0	27,1
0,5	19,0	209,0	2,1
	18,0	198,0	3,6
	18,0	198,0	2,0
	20,0	220,0	2,9
	17,5	192,5	3,9
	18,5	209,0	5,7
1,0	15,0	210,0	1,0
	17,0	238,0	1,2
	12,0	168,0	0,8
	18,5	259,0	1,7
	12,5	175,0	6,2
	19,0	266,0	3,0
2,0	13,0	195,0	0,9
	15,0	225,0	0,8
	15,0	225,0	1,6
	9,0	135,0	3,3
	13,0	195,0	6,2
	11,0	165,0	4,1

pos tratados com celulose, não haveria uma diferença de absorção devida a variações nas quantidades de metal ingerido (CONRAD e BARTON, 1978). Assim, a diferença de absorção nesses casos seria devida exclusivamente a variação do teor de fibra na dieta, uma vez que todas as demais condições do experimento foram iguais. Por outro lado, a comparação entre as porcentagens de chumbo depositado nos animais dos grupos de dieta com celulose com as do metal depositado nos animais do grupo de dieta isenta da fibra não pode ser feita apenas em termos do teor de celulose na dieta. Entre esses animais a diferença nas quantidades de chumbo ingerido poderia causar alguma variação na taxa de absorção. Nesse caso a ingestão de uma menor quantidade de chumbo poderia ser responsável, pelo menos em parte, pela maior absorção intestinal que ocorreu nos animais tratados com dieta sem celulose.

Os resultados desse experimento concordam com os de CONRAD e BARTON (1978) no que diz respeito ao fato de a maior deposição do metal ocorrer nos rins, porém discorda quanto à segunda maior deposição ser no sangue e por último no fígado. Os nossos resultados indicaram que a deposição do metal no fígado é maior do que no sangue. Uma outra discordância entre os resultados de CONRAD e BARTON (1978) e os nossos é que os nossos resultados acusam aumentos e diminuições das porcentagens de chumbo depositadas nos tecidos mostrando haver uma constante captação e eliminação dos íons metálicos durante o período do experimento, enquanto que aqueles pesquisadores notaram que o chumbo depositado diminui constantemente com o passar do tempo. Essa diferença pode ser devida ao fato de que administrando o chumbo intravenosamente, como trabalharam CONRAD e BARTON (1978), não se tem a barreira imposta pela parede intestinal, ou seja, não é levado em conta o fator absorção.

Os resultados dessa experiência (Figuras 5-9) demonstraram:

- 1) O chumbo administrado oralmente em ratos, na

forma de PbO , é absorvido em duas etapas detectadas entre 1 e 4 horas e 5 e 8,5 horas após a ingestão; correspondendo aparentemente à absorção delgado intestinal e grosso intestinal, respectivamente.

2) A ausência de fibras na dieta resulta na absorção de elevadas quantidades de chumbo, sendo da ordem de 10 vezes maior do que dietas que a contenham.

3) Um consumo adequado de fibra alimentar, ilustrado pela celulose, é indispensável para reduzir os níveis de chumbo capazes de serem absorvidos pelo organismo. Dietas com teor um pouco abaixo de 1% de fibra, considerado ideal para a utilização máxima de nutrientes, podem oferecer algum grau de proteção contra o envenenamento por chumbo. Não seria necessário o uso de teores muito superiores a 1% já que não foi encontrada uma diferença sensível entre os níveis de chumbo retido nos rins, fígado ou sangue correspondente a absorção grosso intestinal dos animais tratados com dieta com 0,5; 1 e 2% de celulose. Desse modo uma dieta para o consumo humano com baixo teor de fibra alimentar, onde ela participa em concentração entre 0,1 e 0,4%, não oferece proteção alguma contra a absorção de chumbo. Por outro lado, o uso de 2% ou mais poderia afetar adversamente a absorção da maioria dos nutrientes que possuem um tempo limitado para sua absorção no intestino delgado.

4.2. ESTUDO DA ABSORÇÃO DE CHUMBO COM INGESTÃO PROLONGADA DE DIETA

O segundo experimento, no qual os ratos foram tratados por um período de 44 dias com dietas contendo aproximadamente 160ppm de chumbo na forma de PbO e nas quais os teores de celulose foram de 0; 0,5; 1 e 2%, forneceu os resultados de crescimento dos animais apresentados na Tabela 6. Esses resultados indicam que a celulose afeta a eficiência da ração tendo se mostrado maior para os níveis de 0,5 e 1%. Nota-se também que a eficiência da ração foi menor para um teor relativamente alto de celulose, como no caso em que aparece como 2%, do que para a dieta isenta de fibra. Trata-se aqui de um efeito puramente fisiológico que depende do teor de fibra

Tabela 6 - Quantidade de dieta consumida e ganho de peso por grupo de ratos alimentados com dietas com vários níveis de celulose acrescidas de PbO no ensaio de 44 dias.

CELULOSE NA DIETA (%)	CHUMBO INGERIDO (mg) +D.P.	RAÇÃO CONSUMIDA (g) +D.P.	GANHO DE PESO +D.P.	Pb INGERIDO/ GANHO PESO (mg/g)	EFICIÊN CIA DA RAÇÃO
0	84 ± 7	519 ± 18	73 ± 5	1,2	0,13
0,5	85 ± 10	533 ± 31	85 ± 7	1,0	0,16
1	77 ± 11	518 ± 35	76 ± 2	1,0	0,14
2	98 ± 9	680 ± 48	88 ± 7	1,1	0,12

e não do chumbo na dieta. Cabe ressaltar que mesmo não sendo conclusiva, devido às pequenas diferenças entre os resultados, essa observação concorda com os trabalhos de outros autores já citados na revisão bibliográfica (ISMAIL-BEIGI *et alii*, 1977; McHALE *et alii*, 1979).

A análise estatística dos resultados da Tabela 7 revelou que não existe correlação linear entre as porcentagens de chumbo depositado nos rins ou fígado com o peso inicial do animal com o seu sexo ou a quantidade de chumbo ingerido (Tabela 8). Embora as quantidades de chumbo ingerido não tenham variado muito dentro de um mesmo grupo as porcentagens do metal depositado variaram, mostrando a diferença de comportamento do organismo dos animais frente a uma mesma situação.

Analizando o efeito da concentração de celulose na dieta sobre a porcentagem de chumbo depositado nos rins (Tabela 7), verificou-se que existe uma diferença, ao nível de 1% de significância, entre os animais tratados com dieta sem celulose e 2% de celulose, assim como entre os animais tratados com dietas com 1 e 2% de celulose. Não foram significativas porém as diferenças entre as porcentagens depositadas nos animais tratados com dietas com 0 e 0,5%; 0 e 1%; 0,5 e 1% e 0,5 e 2% de celulose, a níveis de 1 ou 5% de significância. Esses resultados sugerem que para que a celulose diminua a deposição de chumbo nos rins é necessário que ela esteja presente na dieta em concentrações superiores a 1%.

A diferença entre as porcentagens de chumbo depositado nos rins dos animais tratados com 0; 1 e 2% de celulose se deu no sentido de que maiores níveis da fibra causaram uma menor deposição de chumbo nos tecidos.

Já a análise dos resultados das frações de chumbo depositado no fígado (Tabela 7) revelou que a diferença do teor de celulose na dieta as diminui significativamente

Tabela 7 - Teor de chumbo nos rins, fígado e sangue dos animais tratados por 44 dias com dieta com vários níveis de celulose.

CELULOSE NA DIETA (%)	RINS (%/g seca) $\times 10^{-2}$	RINS (μ g)	FÍGADO (%/g seca) $\times 10^{-3}$	FÍGADO (μ g/g seca)	SANGUE (%/g seca) $\times 10^{-3}$
0	6,6 ^a	28,3	12,9	22,1	
	9,6 ^a	36,3	20,7	40,6	1,6
	10,3 ^a	33,7	4,8	4,1	
	16,7 ^a	48,0	34,2	39,2	
	4,2 ^b	18,0	11,1	19,8	2,2
	6,6 ^b	27,4	13,6	21,1	
	11,2 ^b	40,3	20,8	33,3	
0,5	3,4 ^a	18,8	7,8	20,2	
	2,3 ^a	58,0	10,4	21,1	1,1
	3,5 ^a	77,2	8,7	14,6	
	8,7 ^b	31,6	19,5	33,8	
	10,6 ^b	48,9	17,5	36,2	2,5
	4,0 ^b	15,0	12,5	18,9	
1	4,7 ^a	21,9	7,7	13,1	
	4,5 ^a	14,1	10,3	18,5	0,9
	7,1 ^a	24,7	14,7	18,8	
	8,0 ^b	22,2	11,1	13,7	
	6,1 ^b	24,8	18,1	26,5	0,14
	7,9 ^b	18,1	3,9	3,4	
2	0,6 ^a	4,0	7,4	19,6	
	5,0 ^a	31,2	4,4	9,0	
	1,1 ^a	4,2	5,8	9,1	1,7
	n.d. ^a	n.d.	2,6	5,0	
	5,5 ^b	28,0	2,9	6,2	
	4,9 ^b	20,1	9,5	19,0	1,4
	2,6 ^b	10,2	4,2	7,1	

a machos

b fêmeas

Tabela 8 - Quantidades de ração e chumbo consumidas por animal tratado por 44 dias com dieta contendo diferentes teores de celulose.

CELULOSE NA DIETA (%)	PESO INICIAL DO ANIMAL (g)	RAÇÃO CONSUMIDA (g)	CHUMBO INGERIDO (mg)
0	130	548	88,8
	136	561	90,9
	95	527	85,4
	90	431	69,9
	140	551	89,3
	91	512	83,0
	90	504	81,7
0,5	125	630	100,3
	124	579	92,2
	87	452	72,1
	124	474	75,5
	98	568	90,4
	94	494	78,6
1	131	614	91,7
	114	563	84,1
	88	496	74,1
	124	488	72,9
	96	554	82,7
	96	391	58,4
2	120	657	111,0
	108	625	105,6
	102	508	85,8
	120	559	94,4
	113	624	105,4
	104	576	97,3
	101	532	89,9

te, ao nível de 5%, para todos os níveis da fibra testados, exceto que não há diferença entre as porcentagens depositadas nos animais tratados com 0,5 e 1%. Isso quer dizer que para efeito de diminuição da deposição do metal no fígado a presença de celulose é bastante significativa, como se nota pelos resultados dos animais tratados com dieta com 0 e 0,5%.

Enquanto que o aumento de 0 para 0,5% de celulose na dieta causa uma diminuição significativa nas porcentagens de chumbo depositado no fígado uma variação de 0,5 para 1% não a afeta, indicando que para se obter um novo aumento no poder protetor da fibra é necessário efetuar acréscimos de mais de 0,5% além do nível inicial de 0,5%.

Por razão da necessidade de agrupar 3 ou 4 animais para a obtenção de uma quantidade suficiente de sangue para análise não foi possível efetuar a análise estatística desses resultados. Eles sugerem no entanto que não há uma relação entre o teor de chumbo no sangue e o nível de celulose na dieta quando os animais são tratados por 44 dias *ad libitum* com dieta acrescida de PbO.

Os resultados desse experimento comprovam conseqüentemente que a celulose tem um efeito na deposição de chumbo no organismo como já indicava o experimento com uma única refeição por 30 minutos.

Existe na literatura apenas o trabalho de BARLTROP e KHOO (1975) que estuda o possível efeito da fibra alimentar na absorção de chumbo. Esses autores concluíram que o teor de celulose na dieta não afeta de forma significativa a absorção de chumbo, na forma de $PbCl_2$, no intestino de rato. A afirmação porém é baseada nos resultados de uma experiência na qual os ratos foram alimentados *ad libitum* com dietas com 0; 3 e 9% de celulose durante um período de 48 horas. Para interpretar esses resultados porém é preciso levar em conta dois fatores:

1) O $PbCl_2$ é uma forma bem mais solúvel de chumbo (solubilidade 0,99 g/100 ml contra 0,0017 g/100ml do litargírio) e por essa razão deve se difundir com maior facilidade através da fibra até as paredes do intestino.

2) A tendência de um teste de 48 horas, estando justamente dentro do período de adaptação do animal, é a dispersão dos dados devido ao consumo errático da ração. Essa consideração é de máxima importância, especialmente à luz dos resultados aqui apresentados. Lembrar-se-á que no teste de refeição única uma defazagem de 6 horas pode significar grande diferença na quantidade de chumbo depositado no rim ou no sangue por exemplo.

Os resultados de BARLTROP e KHOO (1975) não deixam de ter uma certa relevância no trabalho desta tese, entretanto, pois o fato de não existir diferença significativa entre as porcentagens de chumbo depositado quando se usa ração com 0 e 3% de celulose, quando se trata de ração acrescida de $PbCl_2$, e existir diferença quando se trata de 0 e 2% de celulose em ração acrescida de PbO , sugere que o mecanismo pelo qual a celulose reduz a absorção do Pb é puramente mecânico-fisiológico. Isto é a insolubilização do chumbo pode fazer com que o metal seja retido no retículo formado pela fibra mantendo-o afastado da parede intestinal, ao mesmo tempo que a passagem do bolo alimentar pelo intestino se dá com maior velocidade devido à presença da fibra.

Nos resultados apresentados na Tabela 9 vemos que quanto maior o teor de celulose na dieta maior é a quantidade de fezes excretadas pelos animais. Vemos ainda que a porcentagem de chumbo que é excretado nas fezes é maior para os maiores níveis de celulose na dieta mostrando ter havido uma menor absorção do metal. Essa porcentagem é relativamente pequena para qualquer nível de celulose sugerindo que uma grande fração do metal é excretado pela urina ou fica retido na parede intestinal.

Tabela 9 - Porcentagem de chumbo excretado nas fezes dos animais tratados com dietas contendo vários níveis de celulose. (Os resultados se referem às fezes coletadas durante a quarta semana de um experimento de 44 dias e correspondem a grupos de 6 ou 7 animais).

CELULOSE NA DIETA (%)	RAÇÃO INGERIDA (g)	CHUMBO INGERIDO (mg)	PESO DAS FUZES SECAS (g)	CHUMBO EXCRETADO (mg)	CHUMBO EXCRETADO (%)
0	558	90,4	10,5	14,7	16,2
0,5	531	84,6	13,5	19,7	23,3
2	71	123,2	24,5	35,9	29,1

4.3. INTERAÇÃO CELULOSE-PbO *in vitro*

A fim de verificar o tipo de interação existente entre o litargírio e a celulose foram realizados experimentos *in vitro* onde a uma quantidade fixa de celulose foram adicionadas quantidades variáveis de PbO conforme o descrito na seção 2.3. Os resultados apresentados nas Figuras 10 e 11 revelam que a celulose retém chumbo tanto quando submetida a tratamento ácido com HCl como quando submetida a tratamento alcalino com NaOH. As figuras mostram que a capacidade de chumbo retida pela fibra é maior para maiores quantidades de PbO exceto para 50 mg em meio alcalino. O tratamento com NaOH torna a celulose aparentemente mais eficiente na retenção de chumbo, talvez porque o óxido de chumbo seja menos solúvel nesse meio (OLWEILER, 1971) ou então porque a celulose tendo uma estrutura mais estável nessas condições (SOUTHGATE, 1976) facilite algum tipo de ligação com o metal. De qualquer maneira esses resultados sugerem que a capacidade da celulose de diminuir a absorção total de chumbo não é devida somente a sua capacidade de diminuir o tempo de trânsito dos alimentos mas também por poder reter o metal tanto em meio ácido, que é a condição da digestão gástrica quanto em meio alcalino, que é a condição do intestino delgado e grosso.

A Figura 12 mostra a porcentagem de chumbo retido após as lavagens da mistura de 25 mg de litargírio com 1 g de celulose agitada com HCl ou NaOH. Como o PbO é pouco solúvel nessas condições e tem a tendência de sedimentar nas paredes do tubo de polietileno, foi necessário fazer um branco onde se agitou apenas o litargírio com HCl ou NaOH. Esse branco serviu para detectar a fração de chumbo não extraído em água que era aderido às paredes do tubo. As quatro curvas mostram que a celulose é responsável pela retenção de uma grande porcentagem de chumbo e que a sua ação se faz notar mais acentuadamente em solução de NaOH. Além da quarta lavagem o Pb não foi mais extraído na

FIGURA 16

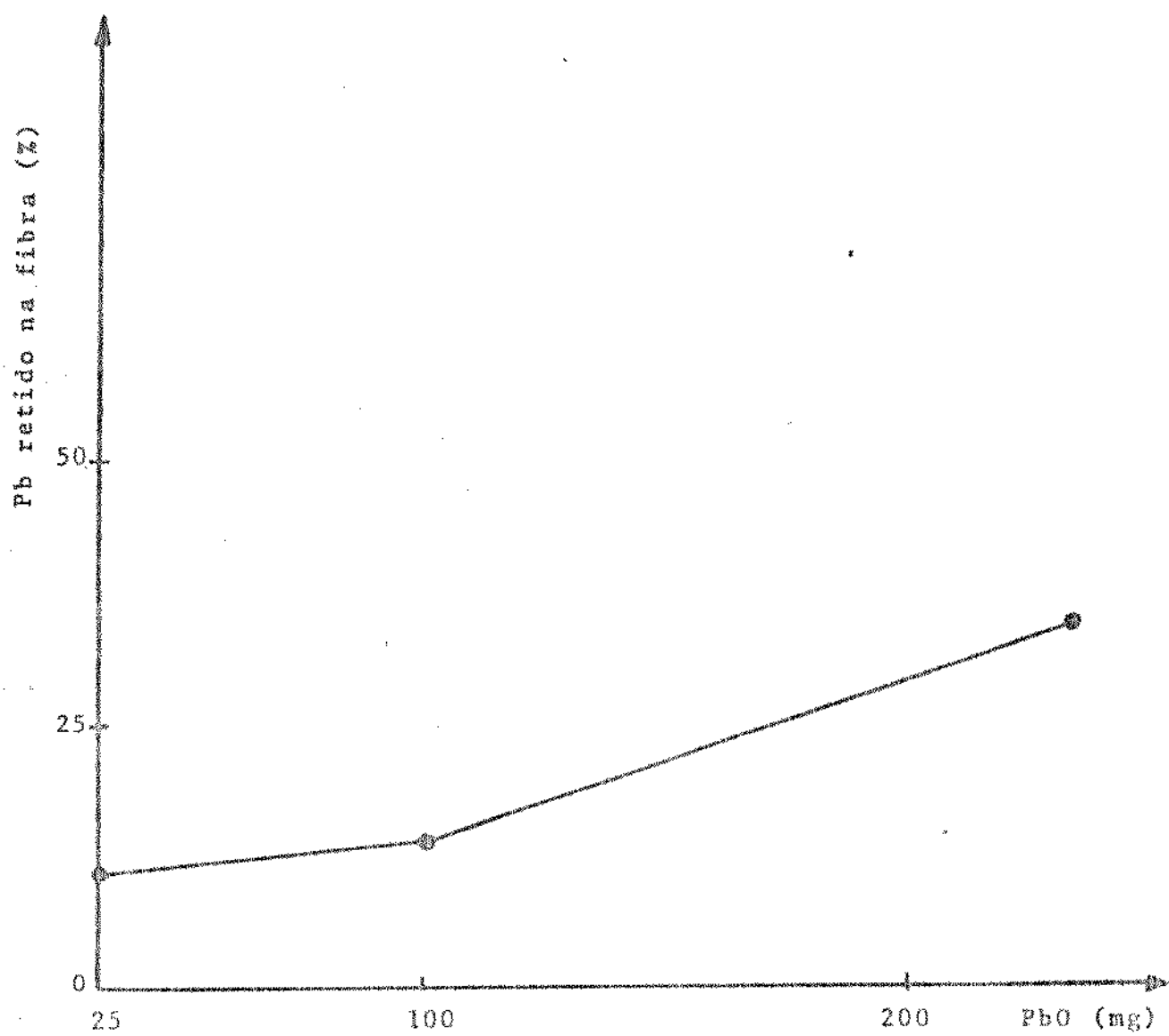


FIGURA 11

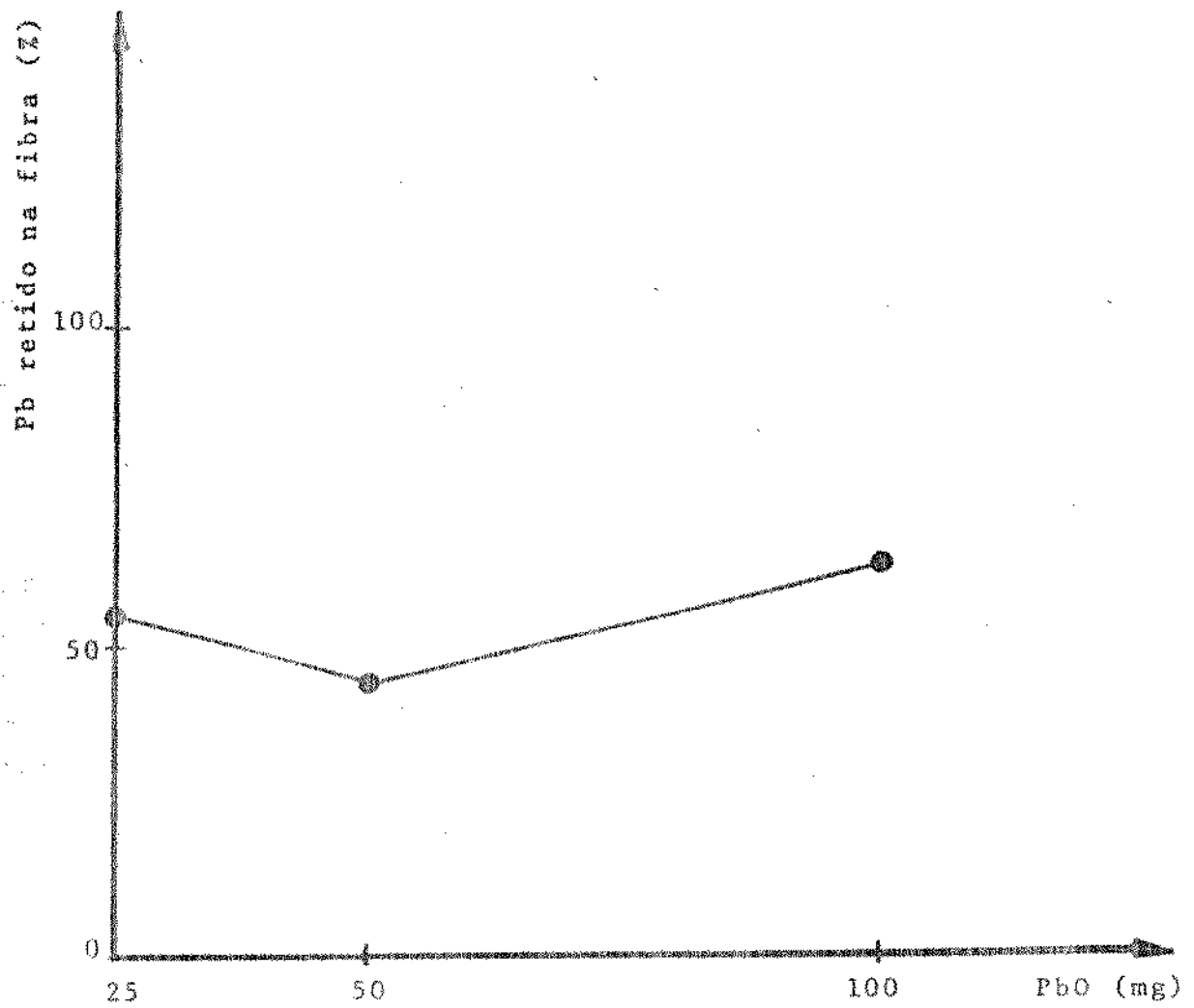
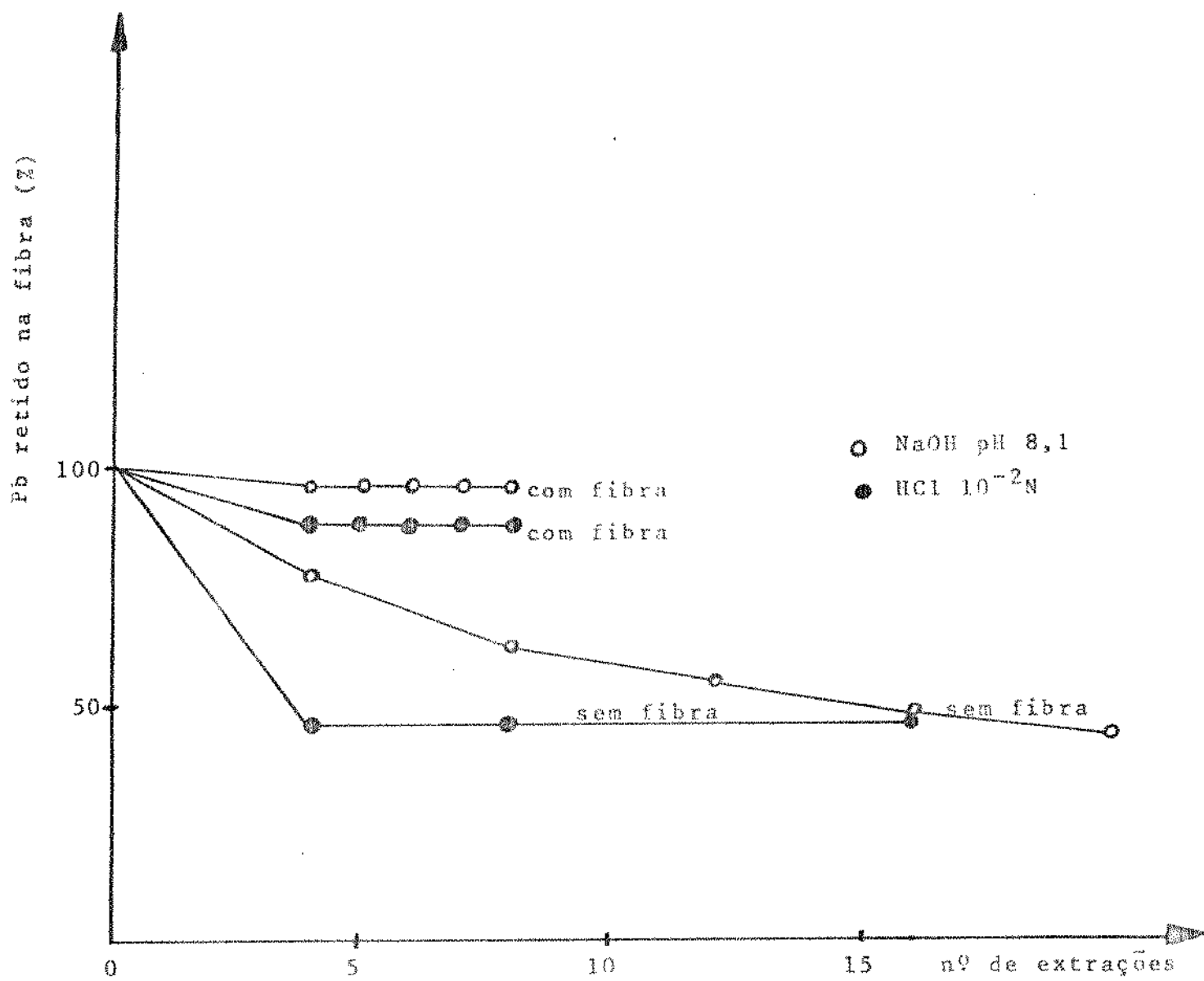


FIGURA 12



água o que sugere que a interação do metal com a fibra seja algo mais forte do que apenas uma interação física. Por outro lado a baixa solubilidade em água do composto que se forma em meio alcalino ou ácido poderia dificultar a sua extração e produzir uma curva do tipo das curvas superiores da Figura 12.

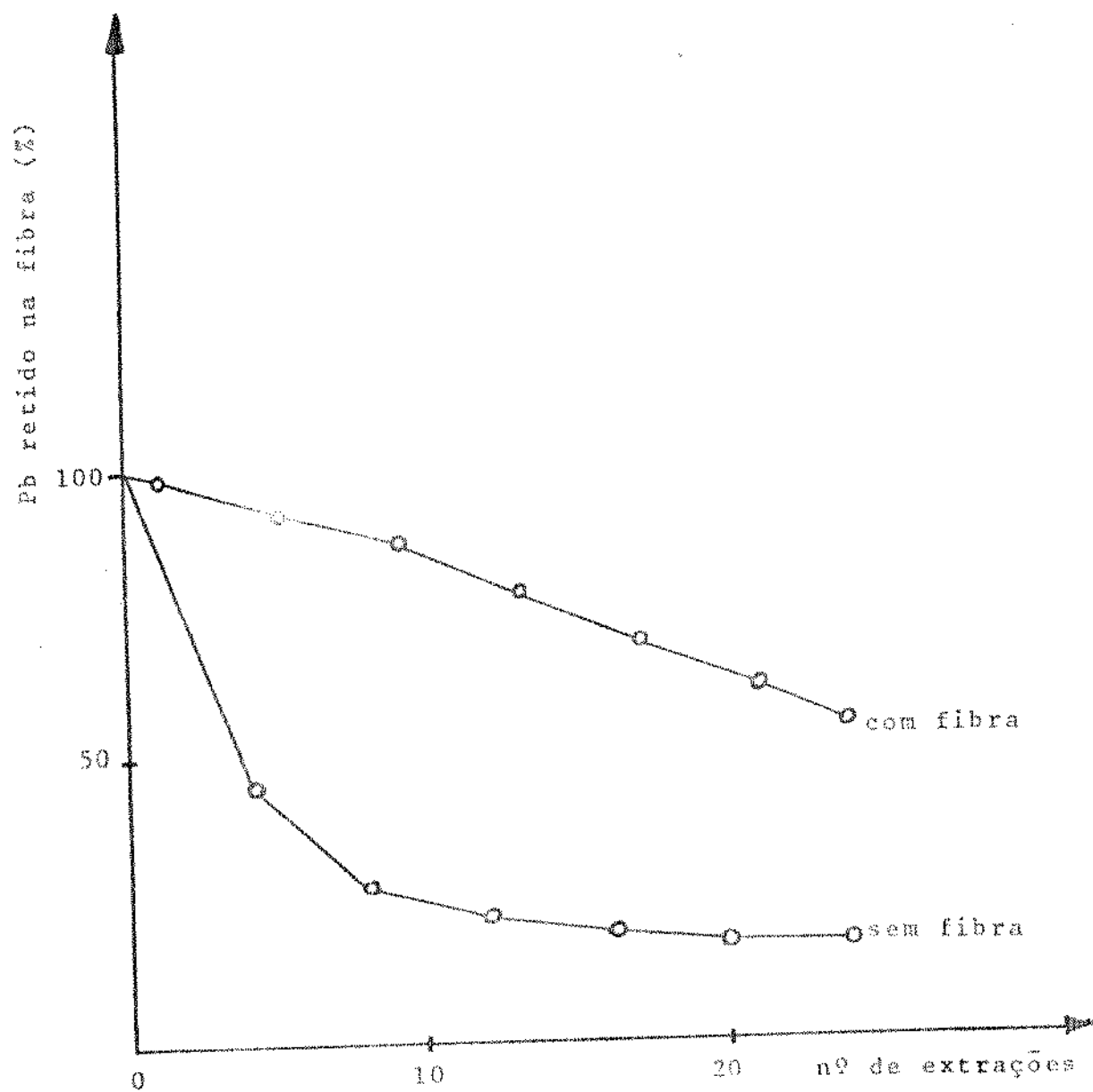
A Figura 13 mostra que um aumento da relação Pb/celulose implica em um aumento da quantidade de Pb que se mantém ligado à fibra após as 24 lavagens com água destilada, porém a extração do metal pela água continua a se dar de uma maneira bastante regular sugerindo que a baixa solubilidade do composto seja a principal responsável pela sua retenção pela fibra.

Quando a quantidade de PbO adicionado à fibra atinge 100 mg uma grande parcela de chumbo é extraída já nas primeiras lavagens quando o tratamento é feito com solução diluída de HCl. Em meio alcalino no entanto uma grande fração do Pb adicionado continua ligado à fibra. Esse experimento indica que uma grande sobrecarga de chumbo só não é retida pela fibra se o tratamento se der em meio ácido, ou seja, onde a solubilidade do PbO é maior e uma grande parcela do chumbo adicionado é extraído já na primeira lavagem quando se descarta o HCl (Figura 14).

Pela Figura 15 temos que a celulose ainda dificulta a extração de chumbo pela água quando se usa uma quantidade de PbO igual a 250 mg.

Usando-se HCl 10^{-2} N em lugar de água destilada para as lavagens há uma queda abrupta da quantidade de chumbo retido pela celulose já nas primeiras extrações (Figura 16). O uso de NaOH pH 8,1 para as lavagens levou a uma extração bastante menor do metal como indica a curva superior da mesma figura. Esses resultados juntamente com o fato de que aumentando a quantidade de chumbo adicionado à fibra há um aumento da porcentagem não extraída (Figuras 10 e

FIGURA 13



11) sugerem que a retenção do metal pela fibra se deve principalmente à baixa solubilidade do PbO nesse meio. Com estes dados, porém, não podemos descartar a possibilidade de alguma interação físico-química de menor magnitude entre a celulose e o Pb .

FIGURA 14

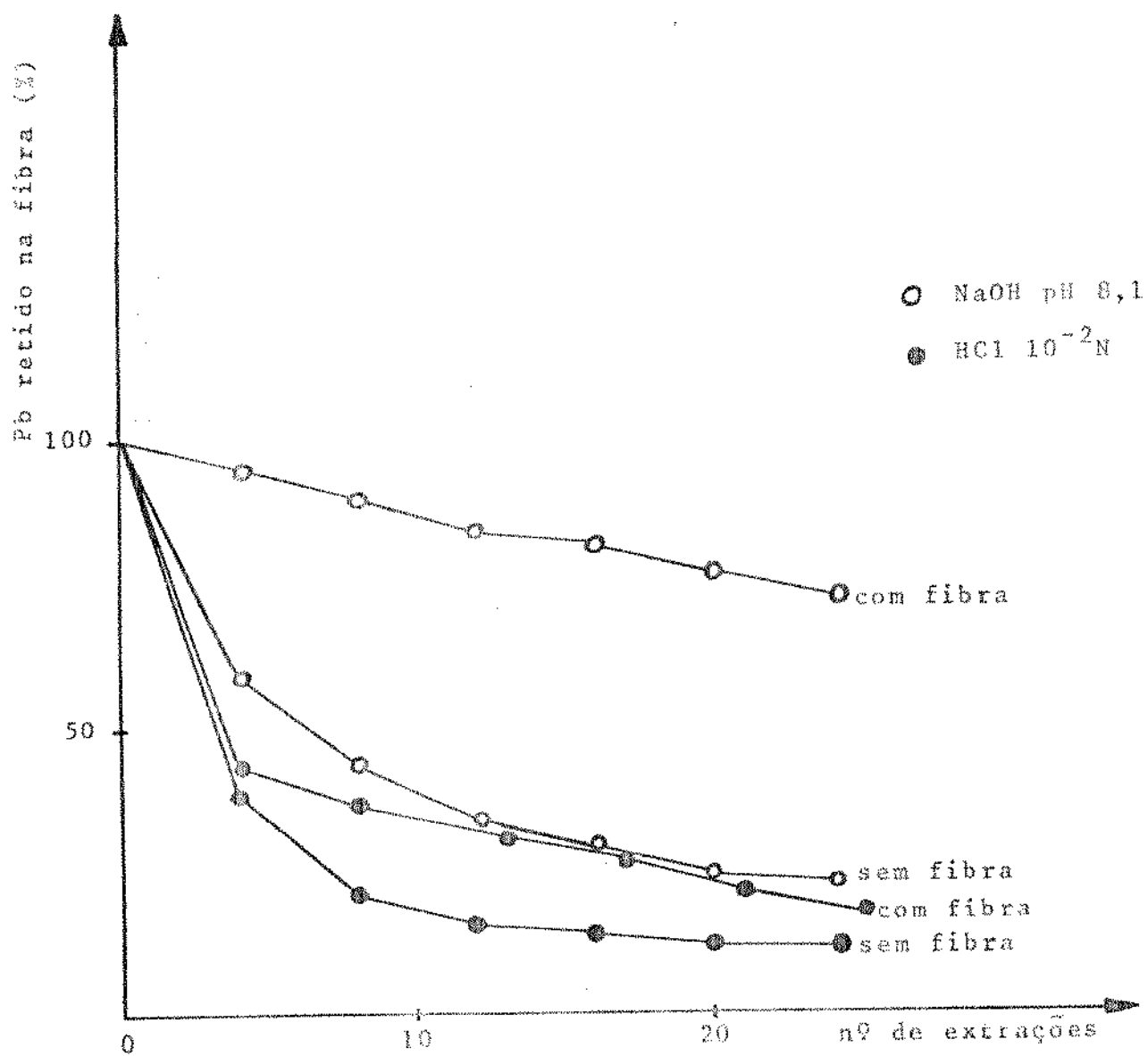


FIGURA 15

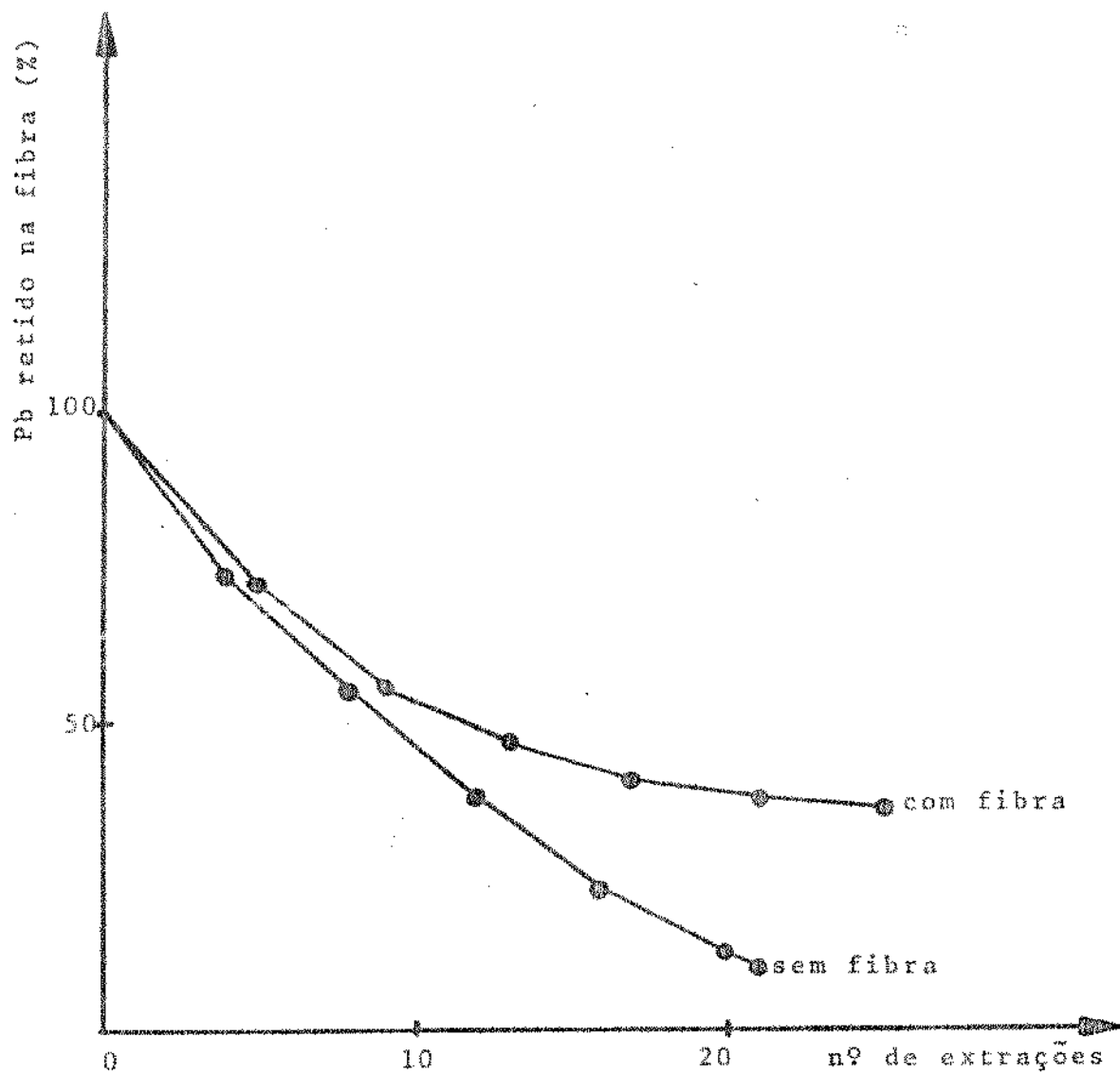
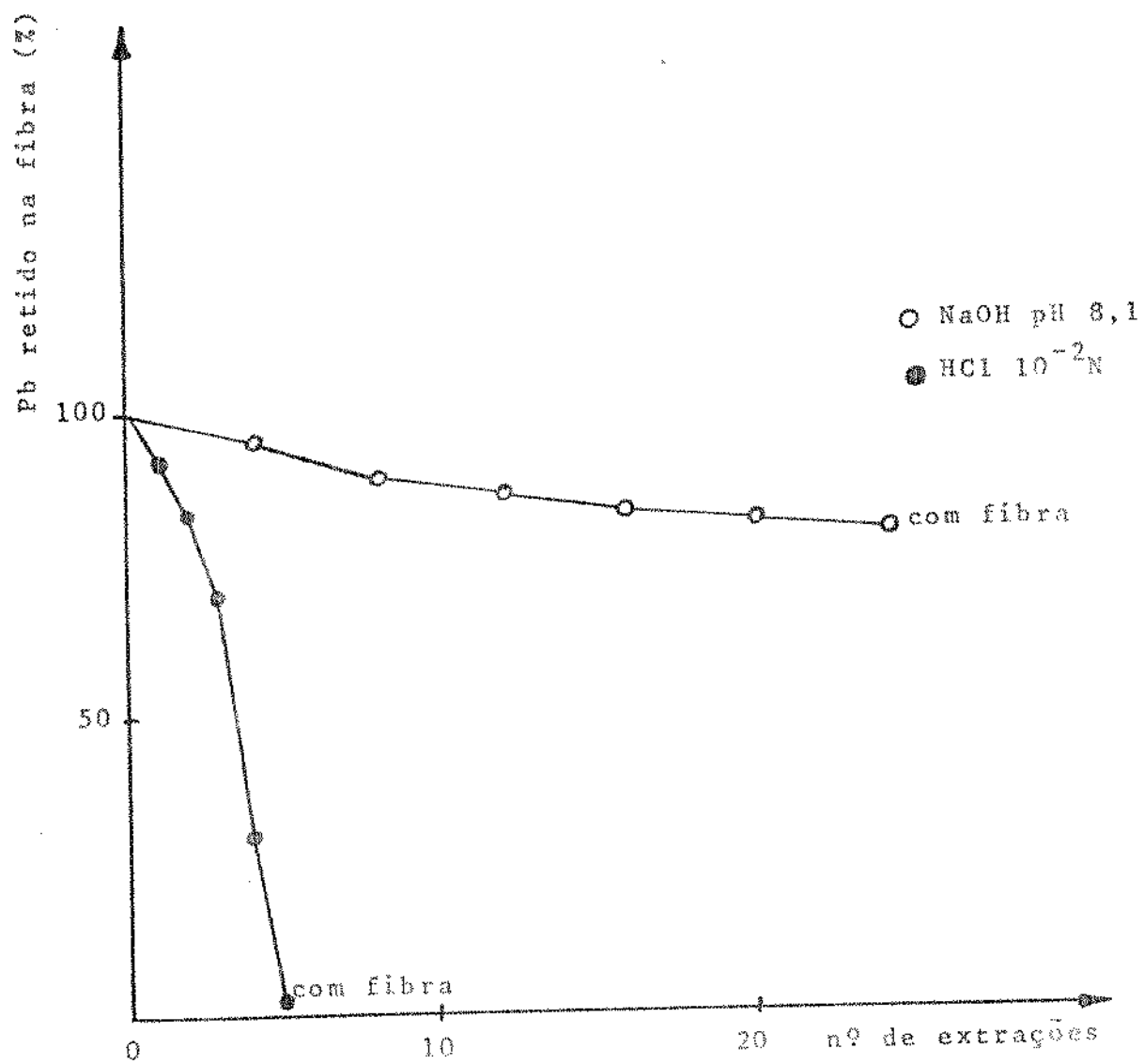


FIGURA 10



5. CONCLUSÕES

A absorção do chumbo ingerido na forma de litargírio, matéria prima muito utilizada na indústria cerâmica, apresentou as seguintes características:

1) Contrário ao que se acreditava até recentemente, a celulose alimentar tem um efeito na absorção de chumbo, pelo menos quando incorporado por via oral na forma de litargírio. Um motivo pelo qual a celulose diminui a porcentagem de chumbo absorvido é a retenção mecânica do metal pela fibra devido à baixa solubilidade do PbO em meio alcalino ou ácido.

2) Existem dois sítios principais de absorção de chumbo no intestino dos ratos. Um deles está localizado provavelmente no intestino delgado, onde a absorção máxima ocorre entre 1 e 4 horas e o outro já no intestino grosso como indica a máxima absorção ocorrida entre 5,5 e 8,5 horas.

3) A absorção grosso intestinal do metal se tornou mais importante do que a delgado intestinal à medida que a concentração de celulose na dieta aumentou de 0 para 2%.

4) A ausência de celulose na dieta resultou na absorção de elevadas quantidades de chumbo. As dietas sem a fibra causaram uma absorção cerca de 10 vezes maior do que as dietas que a continham.

5) Nas condições do experimento, a acumulação de chumbo ocorreu preferentemente no tecido renal onde existiu menor dependência da concentração de celulose na dieta.

6) A celulose dietária aumentou a excreção fecal do Pb administrado oralmente.

7) A celulose foi capaz de reter o chumbo tanto em meio ácido (condição gástrica) como em meio alcalino (condição intestinal) o que parece ser em grande parte, se não na sua totalidade, um processo de natureza físico-mecânica o qual é consistente com a baixa solubilidade do PbO nesses meios.

6. BIBLIOGRAFIA

- AUB, J.C.; FAIRHALL, L.T.; MINOT, A.S. e RESNIKOFF. Lead poisoning. Medicine Monographs, BALTIMORE, WILLIAMS & WILKINS Co. vol. 7, 1926 Apud AUB, J.C.; GEORGE, P.R. e ROSSMEISIL, E. Lead Studies XVII. Significance of bone trabeculae in the treatment of lead poisoning. American Journal of Public Health, 22: 825, 1932.
- BARLTROP, D. e SMITH, A.M. Kinetics of lead interaction with human erythrocytes. Postgraduate Medical Journal, 51: 770-773, 1975.
- _____. Current status of childhood lead poisoning. Postgraduate Medical Journal, 51: 776-777, 1975.
- _____ e KHOO, H.E. The influence of nutritional factors on lead absorption. Postgraduate Medical Journal 51: 795-800, 1975.
- _____ e MEEK, F. Absorption of different lead compounds. Postgraduate Medical Journal, 51: 805-809, 1975.
- BARRY, P.S.I. The current lead pollution problem. Postgraduate Medical Journal, 51: 783-787, 1975.
- BARTON, J.C.; CONRAD, M.E.; HARRISON, L. e NUBY, S. Effects of calcium on the absorption and retention of lead. J. Lab. Clin. Med. 91 (3):366-376, 1978.
- BIRKNER, H.J. e KERN, F. In vitro adsorption of bile salts to food residues, salicylazosulfapyridine and hemicellulose. Gastroenterology, 67: 237-244, 1974.

- BLANKSMA, L.A.; SACHS, H.K.; MURRAY, E.F. e O'CONNEL, M.J.
Failure of the urinary delta aminolevulinic acid test to detect pediatric lead poisoning. Am. Journal of Clinical Pathology, 53 (6): 956-962, 1970
- BLAXTER, K.L.; COWIE, A.T. Excretion of lead in the bile. Nature, 157: 588, 1946.
- BLUMENTHAL, S.; DAVIDOW, B.; HARRIS, D. e OLIVER-SMITH, F. A comparison between two diagnostic tests for lead poisoning, American Journal Public Health, 62: 1060-1064, 1972.
- BURKITT, D.P. Diet and Disease: dietary fiber a) diet determined pressure phenomena, Royal Society of Health Journal, 95 (4): 186, 1975
- CANNON, H.L. e BOWLES, J.M. Contamination of vegetables by tetraethyl lead. Science, 137: 765, 1962.
- CASTELLINO, N. e ALOJ, S. Intracellular distribution of lead in the liver and kidney of the rat. Brit. J. Industr. Med. 26: 139-143, 1969.
- CERKLEWISKI, F.L. e FORBES, R.M. Influence of dietary zinc on lead toxicity in the rat. J. Nutr., 105 (5): 689-696, 1976.
- _____ e _____. Influence of dietary copper on lead toxicity in the young male rat. J. Nutr., 107 (1): 143-146, 1977
- CHAMBERLAIN, A.C.; HEARD, M.J.; STOTT, A.N.; CLOUGH, W.S.; NEWTON, D. e WELLS, A.C. Uptake of inhaled lead from motor exhaust. Postgraduate Medical Journal, 51: 790-794, 1975.
- CHISOLM, J.J. e BARLTROP, D. Recognition and management of children with increased lead absorption-Review article. Ar

- chives of Disease in Childhood 54: 249-262, 1979.
- CONRAD, M.E. e BARTON, J.C. Factors affecting the absorption and excretion of lead in the rat. Gastroenterology, 74: 731-740, 1978.
- DAVIS, J.R. Reliability of urinary δ -ALA as a massa screening technic for childhood exposure to lead. Am. J.Clin.Pathol. 53 (6): 967-969, 1970.
- EASTWOOD, M.A. e MITCHEL, W.D. Physical properties of fiber: a biological evaluation. In: SPILLER, G.A. e AMEM, R.J., eds. Fiber in Human Nutrition, New York, Plenum Press, cap. 4, pp. 109-127, 1976.
- _____ e HAMILTON, D. Studies on the adsorption of bile salts to non-absorbed components of diet. Biochimica et Biophysica Acta, 152: 165-173, 1968.
- EMBER, L.R. Environmental lead: insidious health problem. Chemical Engineering News, june 23, 1980.
- ERSHOFF, B.H. e THURSTON, E.W. Effects of diet on amaranth, (FD&C Red n^o 2) toxicity in the rat. J. Nutr., 104(7):937-942, 1974.
- _____. Comparative of a purified diet and stock ration on sodium glutamate toxicity in rats. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 141 (3), 857-862, 1972.
- FURDA, I. Fractionation and examination of biopolymers from dietary fiber. Cereal Foods World, 22 (6): 252-254, 1977.
- FETZER, S.G.; KIES, C. e FOX, H.H. Gastric disappearance of dietary fiber by adolescent boys. Cereal Chemistry, 56 (1) 34, 1979.

- ISMAIL-BEIGI, F.; REINHOLD, J.G.; FARAJI, B. e ABADI, P.
Effects of cellulose added to diets of low and high fiber content upon the metabolism of calcium, magnesium, zinc and phosphorous by man. J. Nutr., 107: 510, 1977.
- KEIM, K. e KIES, C. Effects of dietary fiber on nutritional status of weanling mice. Cereal Chem., 56 (2): 73-78, 1979.
- KELLO, D. e KOSTIAL, K. The effect of milk diet on lead metabolism in rats. Environmental Research, 6: 355, 1973.
- KING, B.G.; SCHAPLOWSLY, A.F. e Mc CABE, E.B. Occupational health and child poisoning: mutual interest and special problems. Am. J. Public Health, 62: 1056-1059, 1972.
- KOSTIAL, K.; SIMONAVIC, I. e PISOMIC, M. Lead absorption from the intestine in newborn rats. Nature, 233, october 22: 564-565, 1971.
- KRITCHEVSKY, D.; TEPPER, S.A. e STORY, J.A. Binding of bile salts in vitro by nonnutritive fiber. J. Nutr., 104 (4): 458-462, 1974.
- LANG, J.A. e BRIGGS, G.M. The use and function of fiber in diets of monogastric animals. In: SPILLER, G.A. e AMEN, R. J., eds. Fiber in human nutrition, New York, Plenum Press, cap. 6, pp. 151-166, 1976.
- LEDERER, L.C. e BING, F.C. Effect of calcium and phosphorous on retention of lead by growing organism. J. Am. Medical Association, 144 (25): 2457-2461, 1940.
- MEREDITH, P.; MOORE, H. e GOLDBERG, A. The effect of calcium on lead absorption in rats. Biochem. J., 166 (3): 531-537, 1977.

- GARBER, B.T. e WEI, E. Influence of dietary factors on the gastrointestinal absorption of lead. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 27: 685-691, 1974.
- GOLDBERG, A. Review of recent advances of lead in clinical research. *Postgraduate Medical Journal*, 51: 747-750, 1975.
- GOYER, R.; KRALL, A. e KIMBALL, J.P. The renal tubule in lead poisoning. II - *In vitro* studies of mitochondrial structure and function. *Laboratory Investigation*, 19 (1): 73-83, 1968.
- _____; MAY, P.; CATES, M.M. e KRIGMAN, M. Lead and protein content of isolated intranuclear inclusion bodies from kidneys of lead - poisoned rats. *Laboratory Investigation*, 22 (3): 245-251, 1970.
- HELLENDORF, E.W. Enzymatic determination of indigestible residue (dietary fiber) content of human foods. *J. Sci. Food Agric.*, 26: 1461, 1975.
- HOEL, P.G. *Estatística Elementar*, 3ª edição brasileira. RJ, Editora Fundo de Cultura S.A., 1969, pp. 145-150.
- HOOVER, W.L.; REAGOR, J.C. e GARNER, J.C. Metals and other elements - Extraction and atomic absorption analysis of lead in plant and animal products. *J.A.O.A.C.*, 52 (4): 708-714, 1969.
- HOVE, A.E.L. e KING, S. Effects of pectin and cellulose on growth. Feed efficiency and protein utilization, and their contribution to energy requirement and cecal VTA in rats. *J. Nutrition*, 109: 1274-1278, 1979.
- HOLLOWAY, W.D.; TASMAN-JONES, C. e LEE, S.P. Digestion of certain fractions of dietary fiber in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 31: 927-930, 1978.

McCONNELL, A.A.; EASTWOOD, M.A. e MITCHELL, W.D. Physical characteristics of vegetable foodstuffs that could influence bowel function. J. Sci. Fd. Agric., 25: 1457 - 1464, 1974.

McHALE, M.; KEIS, C. e FOX, H.M. Calcium and magnesium nutritional status of adolescent humans fed cellulose or hemicellulose supplements. J. Fd. Sci., 44: 1412, 1979.

MOORE, J.F.; COYER, R.A. e WILSON, M. Lead induced inclusion bodies. Solubility, amino acid content, and relationship to residual acidic nuclear protein. Laboratory Investigation, 29 (5): 488-494, 1973.

MOORE, M.R. Lead and the mitochondrion. Postgraduate Medical Journal, 51: 760-764, 1975.

MYLROIE, A.A.; MOORE, L. e EROGBOCBO, U. Influence of dietary factors on blood and tissue lead concentrations and lead toxicity. Toxicology and Applied Pharmacology, 41: 361-367, 1977.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (1972). Lead: airborne lead in perspective pp. 47-70. Nat. Acad. Sci., Washington D.C. In: GARNER, B.T. e WEI, E. Influence of dietary factors on the gastrointestinal absorption of lead. Toxicology and Applied Pharmacology, 27: 685-691, 1974.

NEATHERY, M.W. e MILLER, W.J. Metabolism and toxicity of cadmium, mercury and lead in animals: A review. J. Dairy Science, 58 (12): 1767-1781, 1975.

NOMANI, M.Z.A.; FASHANDI, E.F.; DAVIS, G.K. e BRADAC, C.J. Influence of dietary fiber on the growth and protein metabolism of the rat. J. Fd. Sci., 44: 795, 1973.

NORIMATSU, H. e TALMAGE, R.V. Influence of calcitonin on the inicial uptake of lead and mercury by bone. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 161: 94-98, 1979.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Food and nutritive board. National Academy of Sciences. Committee on food Protection. Food and Nutrition board.

OHLWEILER, O.A. Química inorgânica, São Paulo, Edgar Blucher, Ed. da Universidade de São Paulo, 1971 pp. 298-305.

QUARTERMAN, J. e MORRISON, J.N. The effects of dietary calcium and phosphorous on the retention and excretion of lead in rats. Brit. J. Nutr., 34: 351-362, 1975.

RABINOWITZ, M.; WETHERILL, G.W. e KOPPLE, J.D. Studies of human lead metabolism by use of stable isotop traces. Environ. Health Perspecti. 7: 145-153, 1974.

_____; _____ e _____. Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. J. Clin. Invest., 58: 260-270, 1976.

ROGERS, Q.R. e HARPER, A.E. Amino acid diets and maximal growth in the rat. J. Nutr., 87: 267-273, 1965.

ROUSEFF, R.L. e TING, S.V. Lead uptake of grapefruit juices stored in cans as determined by flameless atomic absorption spectroscopy. J. Fd. Sci., 45: 965-968, 1980.

SCALA, J. Fiber - The forgotten nutrient. Fd. Technol., 1: 34-36, 1974.

SELHI, H.S. e WHITE, J.M. The effect of lead on the red cell membrane. Postgraduate Medical Journal, 51: 765-769, 1975.

SIX, K.M. e GOYER, R.A. Experimental enhancement of lead toxicity by low dietary calcium. J. Lab. Clin. Med. : 933-942, 1970.

SMITH, J.L. Metabolism and toxicity of lead. In: PRASAD, A. S. e OBERLEAS, D. eds. Trace elements in human health and disease. New York, Academic Press, 1976, vol. II, pp. 442-451.

SOBEL, A.E.; GAWRON, O. e KRAMER, B. Influence of vitamin D in experimental lead poisoning. Society for Experimental Biology Proceedings, 38: 433-435, 1938a.

_____; WEXLER, I.B.; PETROVSKY, D.D. e KRAMER, B. Influence of dietary calcium and phosphorous upon action of vitamin D in experimental lead poisoning. Society for Experimental Biology Proceeding, 38: 435-437, 1938b.

_____; YUSKA, H.; PETERS, D.D. e KRAMER, B. The biochemical behavior of lead. I - Influence of calcium, phosphorous and vitamin D on lead in blood and bone. J. Biol. Chem. 132: 239-265, 1940.

SOUTHGATE, D.A.T.; BAILEY, B.; COLLINSON, E. e WALKER, A.F. A guide to calculating intakes of dietary fiber. J. Human Nutr., 30: 303, 1976.

_____. The chemistry of dietary fiber. In: SPILLER, G.A. e AMEN, R.J. eds. Fiber in Human Nutrition, New York, Plenum Press, 1976.

SPILLER, G.A. e AMEN, R.J. Research on dietary fiber. Lancet, 2: 1155, 1974.

_____. Dietary fiber in human nutrition. CRC. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 7 (1): 39-70, 1975.

SPILLER, G.A.; SHIPLEY, E.A. e BLAKE, J.A. Recent progress in dietary fiber (plantix) in human nutrition. CRC. Critical Review in Food Science and Nutrition, 10: 31-90, 1978.

STEPHENS, R. e WALDRON, H.A. The influence of milk and related dietary constituents on lead metabolism. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 13: 555-563, 1975.

TROWELL, H.C. Definition of fiber. *Lancet*, 1: 503, 1974.

VEMIGOPAL, B. e LUCKEY, T.D. Metal Toxicity in Mamals. Vol. 2, New York, Plenum Press, pp. 185-195, 1978.

VINCENT, W.F.; VELMANN, W.W. e WEIDNER, G.L. The measurements of urinary δ ALA in detection of childhood lead poisoning. *Am. J. Clin. Pathol.*, 53 (6): 963-964, 1970.

WASSERMAN, R.H.; CORRADINO, R.A. e TAYLOR, A.N. Vitamin D dependent calcium-binding protein. Purification and some properties. *J. Biol. Chem.*, 248(14): 3978-3986, 1968.