

Permeabilidad intestinal mediante la prueba de manitol y lactulosa por cromatografía ¿el incremento de la permeabilidad intestinal es un posible factor desencadenante de un grupo de entidades alérgicas, inflamatorias y autoinmunes?

Raúl León-Barúa¹, Hernando Torres-Zevallos², Carla Gallo López-Aliaga³,
Giovanni Poletti Ferrara³

RESUMEN

En este artículo se revisa la fisiología de la permeabilidad intestinal, la estructura tisular y molecular de los componentes biológicos involucrados en el paso de sustancias en el intestino delgado, rutas y formas de transporte. Se realiza una descripción de los azúcares utilizados en la medición (test) de permeabilidad intestinal y sus características, detallando cuáles son los factores que pueden influir en el transporte, alterándolo. En esta revisión se elabora una lista de las enfermedades o entidades en las que existe una alteración de la permeabilidad intestinal, proponiendo una serie de factores determinantes y predisponentes que podrían explicarla. El test de permeabilidad intestinal constituye una herramienta de muy valiosa utilidad y abre un gran campo de posibilidades para el estudio de la etiopatogenia de un diverso grupo de entidades. Exponemos en detalle los procedimientos y metodología del test, resultados y valores esperados.

Palabras clave: Cromatografía. Cromatografía de gas. Cromatografía líquida. HPLC. Lactulosa. Manitol. Permeabilidad intestinal.

Lactulose mannitol intestinal permeability test applying chromatography. Is the increased intestinal permeability a possible factor triggering a group of allergic, inflammatory and autoimmune entities?

ABSTRACT

This article reviews physiology of intestinal permeability, tissue and molecular structure of biological components involved when substances get through the small intestine, routes and transport processes. A description of the sugar used for testing intestinal permeability and its characteristics is done, detailing which factors may influence in transport, changing it. In this review we have made a list of the illnesses or entities where intestinal permeability is altered, proposing a series of determining and triggering factors that could explain it. Intestinal permeability test is a very useful tool and gives a wide range of possibilities for studying the etiopathogeny of a diverse group of entities. Test procedures and methodology, as well as results and expected values are presented in detail.

Key words: Chromatography. Gas chromatography. Liquid chromatography. HPLC. Lactulose. Mannitol. Intestinal Permeability.

1. Escuela de Post-Grado Víctor Alzamora Castro, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

2. Unidad de Investigación de la Clínica Internacional. Lima, Perú.

3. Departamento de Ciencias Celulares y Moleculares, Laboratorio de Investigación y Desarrollo Abraham Vaisberg Wolach, Facultad de Ciencias y Filosofía Alberto Cazorla Talleri, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

Cómo citar el artículo: León-Barúa R, Torres-Zevallos H, Gallo C, Poletti G. Permeabilidad intestinal mediante la prueba de manitol y lactulosa por cromatografía, ¿el incremento de la permeabilidad intestinal es un posible factor desencadenante de un grupo de entidades alérgicas, inflamatorias y autoinmunes? *Interciencia* RCCI. 2014;5(1):47-54.

INTRODUCCIÓN

La barrera intestinal está en constante equilibrio, pero este puede verse afectado por diversas patologías o condiciones que conducen a una «alteración de la permeabilidad intestinal» de gran relevancia clínica. Se postula que esta alteración está vinculada con el desarrollo de varias enfermedades crónicas con componentes inflamatorios sistémicos o autoinmunes.

Bases biológicas de la prueba de permeabilidad intestinal

El sistema gastrointestinal es el órgano principal de digestión y absorción, y constituye una de las más grandes áreas de exposición a factores externos en el cuerpo humano. La función de barrera intestinal depende de un balance entre la integridad del tracto gastrointestinal, la flora ubicada en el lumen y el estado general de salud de la persona¹. El desarrollo de métodos para medir la función de la barrera intestinal se hizo

posible gracias a la introducción, en la década de 1970, de oligosacáridos no metabolizables como marcadores². La administración de azúcares no metabolizables y la subsecuente medición de estas sustancias en orina, es la base del test de permeabilidad intestinal, que permite valorar la integridad de la barrera epitelial.

El término «permeabilidad intestinal» hace referencia al paso normal de sustancias por la vía paracelular, es decir, a través de los espacios comprendidos entre las células de la barrera mucosa (ver Figura 1). La presencia de una barrera epitelial intestinal intacta, es esencial para prevenir el ingreso de sustancias nocivas a través de la mucosa del intestino. La disrupción de esta barrera resulta en un incremento de la permeabilidad intestinal.

¿Cómo medir la permeabilidad intestinal?

Es posible medir la permeabilidad intestinal mediante el uso de sondas no metabolizables por el intestino humano ni por su flora bacteriana; dichas sondas atraviesan la mucosa intestinal y

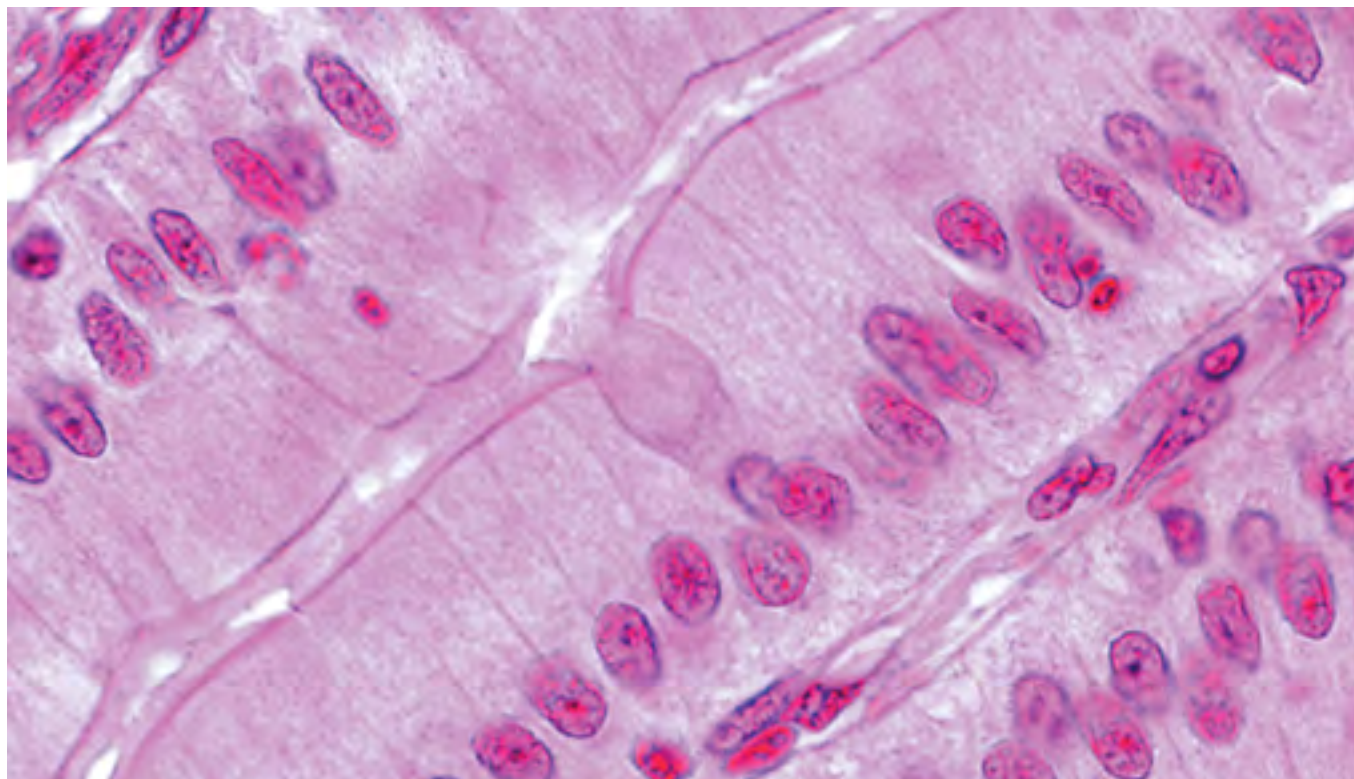


Figura 1. El transporte de moléculas a través del epitelio intestinal ocurre a través de dos rutas principales: la transcelular y la paracelular. El transporte de solutos por la vía transcelular es mediado por proteínas como transportadores y canales. El transporte por la vía paracelular, ocurre por la difusión de moléculas a través de los espacios entre células del epitelio intestinal, y no requiere de proteínas transportadoras.

son excretadas en la orina después de haber sido absorbidas en la circulación sistémica³.

La cuantificación de estas sondas en la orina colectada durante un periodo determinado, permite identificar la fracción de la sonda ingerida que ha penetrado la barrera mucosa por la vía paracelular. En condiciones normales, una mínima proporción de estas sondas de gran tamaño atravesaría la mucosa intestinal para llegar a la circulación, para luego ser filtrada por el riñón y ser detectada en la orina; de existir alguna anomalía en el transporte paracelular, el paso de la sonda de mayor tamaño se incrementaría, y una cantidad superior de esta, sería excretada en la orina.

La permeabilidad intestinal puede ser determinada usando una gran variedad de sondas como lactulosa, manitol, ramnosa, celobiosa, polietilenglicol (PEG) 400, PEG 1000, y sondas quelantes con ión central radiactivo como ⁵¹Cr-EDTA y ^{99m}Tc-DTPA.

Existe una serie de poros acuosos a lo largo del eje veloso de la cripta del intestino delgado. Mientras que la punta de los vellos contiene poros

relativamente pequeños (6 Å) y abundantes, las criptas contienen poros mucho más grandes (50-60 Å) pero menos abundantes. La base del vello contiene poros de tamaño intermedio (10-15 Å) (ver Figura 2).

La mayor parte de las sondas usadas para medir la permeabilidad intestinal son solubles en agua, por lo que no pueden atravesar la membrana celular de los enterocitos y utilizan la ruta paracelular, con el fin de atravesar el epitelio intestinal utilizando las uniones estrechas. Las sondas de menor tamaño pueden pasar fácilmente a través de las uniones estrechas más pequeñas, numerosas y accesibles presentes en las puntas vellosas, mientras que las sondas grandes deben utilizar los poros de mayor tamaño, que son menos accesibles y numerosos en la base de la cripta.

El método aceptado actualmente para determinar la permeabilidad intestinal, requiere del uso de dos sondas, pues de utilizarse solo una, no sería posible controlar los factores pre- y posmucosos (ver Tabla 1) –no relacionados a la actividad e integridad de la mucosa intestinal–, como el vaciado gástrico,

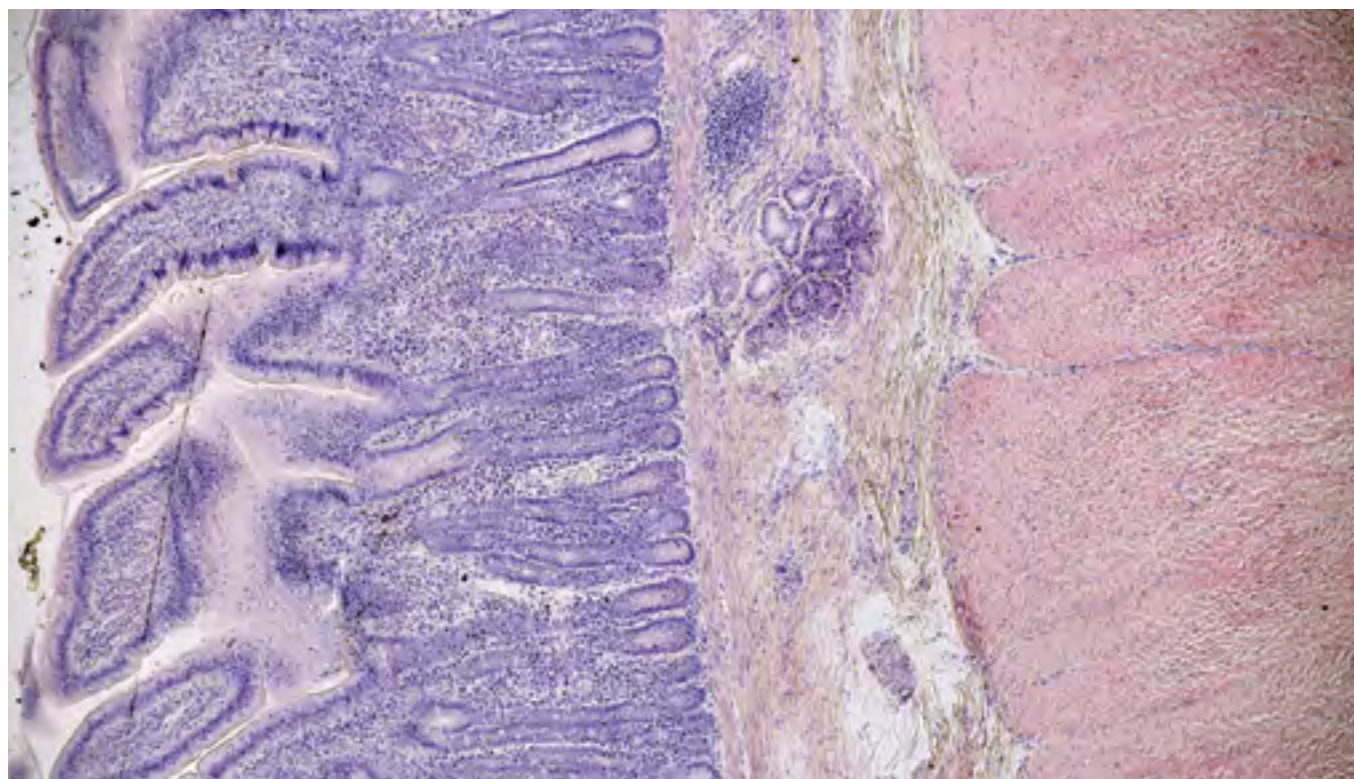


Figura 2. Mucosa intestinal.

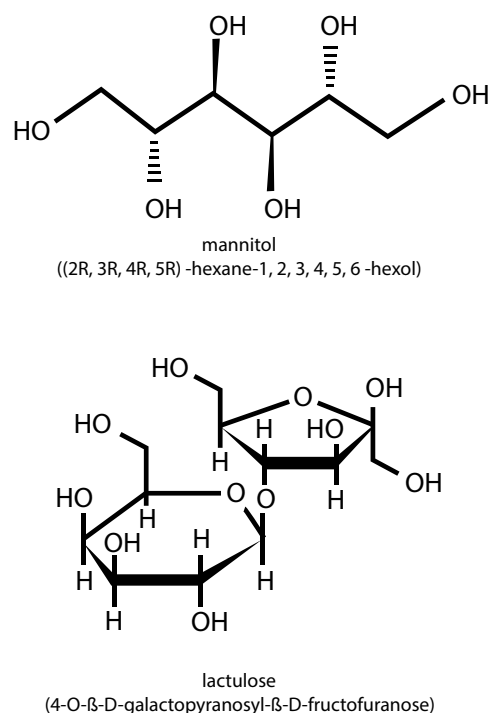


Figura 3. Estructuras químicas de manitol y lactulosa.

Tabla 1. Factores que afectan la excreción de una sonda en la prueba de permeabilidad intestinal.

Lugar	Factores
Premucoso	Ingestión incompleta de la solución para el test Vómitos Alteración de la velocidad del vaciado gástrico Degradación intestinal
Permeabilidad intestinal	Dilución por secreción Tránsito intestinal Área de la mucosa Permeabilidad de la mucosa
Disposición	Distribución sistémica Metabolismo Aclaramiento renal Colección de orina
Análisis	Preservación de la muestra Medición

tránsito intestinal, lavado renal o una recuperación incompleta de orina durante la prueba, entre otros. El no controlar estos factores no solo reduciría la sensibilidad y especificidad de la prueba, sino que podría generar problemas en la interpretación de los datos.

El uso de dos sondas administradas simultáneamente por vía oral, permite expresar su excreción urinaria como una relación matemática. Se asume que todos los factores, excepto la ruta de ingreso intestinal afectan de igual manera el tránsito de ambas sustancias. Cualquier variación en los determinantes pre- y posmucosos, afecta la permeabilidad total de la sondas de igual manera, de tal forma que la relación de excreción urinaria de las dos sondas, no se ve afectada.

PERMEABILIDAD INTESTINAL Y ENFERMEDAD

Alergia a alimentos y asma

Se ha postulado que la permeabilidad intestinal aumentada, incrementaría el transporte de antígenos a través del intestino, lo que llevaría al desarrollo de respuestas específicas contra estos⁴. Asimismo, se ha encontrado la permeabilidad incrementada en casos de asma moderada a severa⁵.

Enfermedad celiaca

Se observa una elevada sensibilidad en la prueba de lactulosa/manitol⁶. Se ha encontrado que la anomalía en la permeabilidad, podría estar relacionada con la patogénesis de la enteropatía por sensibilidad al gluten^{7,8}.

Enfermedad de Crohn

Existe también una alteración de la permeabilidad intestinal, incluso en áreas donde los rayos X muestran un intestino normal⁹. Se ha encontrado que un incremento en la permeabilidad intestinal precede a recaídas de la enfermedad de Crohn, y puede ser un buen indicador en la fase subclínica¹⁰. Se postula que la permeabilidad intestinal precede a los cambios inflamatorios crónicos¹¹, otros estudios muestran que el incremento de la permeabilidad en pacientes con enfermedad de Crohn¹², está asociada a altos niveles de anticuerpos contra el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF por *granulocyte macrophage-colony-stimulating factor*), lo que a su vez se relaciona con alteraciones estructurales de íleo en pacientes con Crohn. Así, se postula al test de permeabilidad intestinal como un endpoint en

ensayos clínicos de esta enfermedad.¹³

Diabetes mellitus tipo 1

Se ha encontrado que el incremento de la permeabilidad intestinal precede la aparición clínica de la diabetes mellitus tipo 1¹⁴. Se ha postulado que este incremento en la permeabilidad, permitiría el pasaje de antígenos que serían los desencadenantes de la respuesta autoinmune que conduce a esta enfermedad¹⁵.

Psoriasis

Se ha encontrado una mayor prevalencia de alteración de la permeabilidad intestinal en casos de psoriasis¹⁶, lo cual hace postular que este parámetro podría tener relación con su patogénesis¹⁷. Los tratamientos nutricionales mejoran el índice de casos de psoriasis así como la permeabilidad intestinal¹⁸.

Fibromialgia

Se ha encontrado un incremento significativo de la permeabilidad intestinal en pacientes con fibromialgia y síndrome de dolor regional complejo¹⁹. De la misma manera se postula aquí que el pasaje de muchas sustancias por el intestino, desencadenaría este tipo de problemas.

Tabla 2. Permeabilidad intestinal, factores determinantes, y consecuencias.

Factores determinantes y predisponentes
Sobrecrecimiento bacteriano
Incremento de la relación entre anaerobios y flora normal
Parasitosis intestinal, giardiasis, blastocistosis
Alteración de la motilidad intestinal
Infiltración linfocitaria intestinal (T-cell)
Repuesta inmune del hospedero (IL-18)
Promoción de la respuesta inflamatoria en el intestino (IL-6)
Daño de la zonula occludens, occludin, claudin
Alteración de la microbiota, fenotipo, microbiome, metagenome, y metabolome.
Consecuencias
Enfermedades relacionadas (alergia a alimentos, enfermedad celiaca, enfermedad de Crohn, diabetes mellitus tipo 1, psoriasis, fibromialgia, enteritis, cirrosis, colitis ulcerativa, enfermedad de Parkinson, obesidad, autismo, asma, esteatosis hepática no alcohólica y enteritis posinfecciosa).

Esteatosis hepática no alcohólica

En una investigación realizada por la Universidad de Hohenheim (Alemania), se encontró que tanto la permeabilidad intestinal, como la síntesis endógena de alcohol y los niveles de endotoxinas, estaban marcadamente alterados en los pacientes con esteatosis hepática no alcohólica²⁰. Se postula que la permeabilidad intestinal alterada podría jugar un rol importante en la patogénesis del depósito de grasa en el hígado²¹, y estaría relacionada con la severidad de la enfermedad²².

Enteritis posinfecciosa

En un estudio realizado en el Hospital de Nottingham (Reino Unido), con pacientes que habían tenido un cuadro agudo de enteritis por *Campylobacter*, se encontraron cambios a las pocas semanas, tales como el incremento de células endocrinas, de linfocitos T y aumento de la permeabilidad intestinal. Estas alteraciones persistieron por más de un año²³.

Cirrosis

Se postula que la alteración en la permeabilidad intestinal puede jugar un rol importante en la patogénesis del inicio y la progresión de la enfermedad hepática crónica. Se han encontrado altos niveles de citoquinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral alfa, interleuquina-6, nitritos y s-nitrosothiol total) en los pacientes con incremento de la permeabilidad intestinal²⁴.

Colitis ulcerativa

En pacientes con colitis ulcerativa con remisión clínica se ha encontrado un incremento en la permeabilidad en el intestino delgado, pero no en el colon, se encontró también incremento de la permeabilidad en sus familiares sanos, pero no en sus cónyuges, lo cual sugiere que se trataría de un defecto genéticamente determinado²⁵.

Parkinson

En un estudio realizado en la University of Calgary (Canadá), se encontró que una proporción significativa de pacientes con enfermedad de Parkinson, con mínimos síntomas gastrointestinales, tenían un incremento en la permeabilidad intestinal.²⁶

Tabla 3. Metodología usada en cromatografía.

Estudio	Campo	Método
Vilela EG. 2008 ³²	Enfermedad de Crohn (n = 31) Enfermedad celiaca (n = 22) Controles sanos (n = 15)	Cromatografía líquida de alto desempeño HPLC (por High-performance liquid chromatography) usando el sistema Shimadzu® (Japan), el cual consiste en una bomba de inyección, auto inyector, un controlador integrado con un software para la interpretación de los resultados y un detector del índice refractario.
Pearson AD. 1982 ³³	Enfermedad de Crohn (n = 8) Enfermedad celiaca (n = 5) Niños sanos (n = 31)	Cromatografía gas-líquida, columna de manitol (temperatura 205°C) y columna de lactulosa (temperatura 265°C).
Laker MF. 1980 ³⁴	Concentración de manitol en fluidos biológicos.	Cromatografía de gas (Pye 104 Series 64, Pye Unicam, Cambridge, England), equipado con detectores de ionización por llama, puertos inyectores de calor, y detectores. Columnas de cromatografía: OV-1 y OV-17.
Celli M. 1995 ³⁵	Niños sanos (n = 28) Niños con enteropatía por gluten (n = 28)	Comatografía de gas (modelo 5890 A), integrador (modelo 3390 A), y columna (HP1; 25 m, 0,32 mm y espesor de la película de 0,17 µm; todos de Hewlett-Packard, Palo Alto, CA. Detector operado por ionización de flama. Temperaturas: columna, 150-270 °C (8 °C/min); inyector, 270 °C; detector, 270°C. El conductor de gas fue nitrógeno (5 ml/min).
Spiller RC. 2000 ²⁵	Enteritis aguda por Campylobacter (n = 21) Controles (n = 12)	Lactulosa y manitol por cromatografía líquida de alto desempeño. Realizado por columna intercambiadora de aniones Hamilton RCX-10.

Obesidad

El incremento de la permeabilidad intestinal, alteración de la microbiota intestinal y endotoxemia metabólica jugarían un rol en desarrollo de obesidad y esteatosis hepática no alcohólica²⁷.

Autismo

Incremento de la permeabilidad intestinal en niños con esta alteración²⁸, de igual manera se especula que la alteración en esta región, puede representar un posible mecanismo para el pasaje incrementado –a través de la mucosa intestinal– de péptidos derivados de los alimentos, con subsecuentes anomalías de conducta²⁹.

El test

El test de permeabilidad intestinal con azúcares, es el de más valor en screening para detectar daño de la mucosa del intestino delgado. Este procedimiento es realizado mediante la administración oral de dos azúcares de diferente tamaño molecular y con diferentes rutas de absorción, que posteriormente son medidas en la excreción urinaria. En desórdenes del intestino delgado, la permeabilidad transcelular tiende a disminuir, reflejando una disminución del

número de células de la mucosa, mientras que la permeabilidad paracelular tiende a incrementarse, reflejando un daño de las uniones estrechas.

El cambio de los dos tipos de permeabilidad intestinal en direcciones contrarias, cuando ocurre alguna forma de alteración intestinal, es la razón que fundamenta el uso de la relación entre lactulosa y manitol (L/M) en orina, para propósitos de investigación. Esta aproximación está basada en la asunción de que los dos azúcares tienen diferencias en el tránsito intestinal, y excreción urinaria. La cromatografía tiene la capacidad de medir (o recuperar) los azúcares en la orina.

Después de un ayuno de toda la noche, los sujetos toman una solución de 100 ml de agua que contiene 18,2 g de manitol y 18,2 g de lactulosa. Se debe recolectar la orina en las siguientes 5 horas.

En un estudio con sujetos normales, se espera encontrar una relación lactulosa/manitol de no más de 0,03^{30,31}. El porcentaje de manitol recuperado en orina es alrededor de 15 ± 5 %, y la lactulosa se recupera en 0,3 ± 0,04 %. Lo que ocurre en

pacientes con alteración de la permeabilidad, es todo lo contrario: el manitol recuperado es menor y la lactulosa recuperada es mayor, por tanto hay un incremento en la relación lactulosa/manitol.

CONCLUSIONES

El test de permeabilidad intestinal es un método seguro, y de alta confiabilidad para detectar alteraciones en el paso de sustancias en el sistema digestivo, principalmente en el intestino delgado, su estudio abre un campo enorme para el estudio de la etiopatogenia de una serie de enfermedades posiblemente relacionadas con la alteración de la integridad «molecular» de este órgano. Estudiar estos aspectos es imprescindible para una mejor comprensión de dichas enfermedades.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

R.L.B. fue él de la idea original de realizar la presente revisión. Todos autores participaron en la redacción de manuscrito.

AYUDAS O FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Ninguna.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores no reportan conflictos de interés respecto al presente manuscrito.

REFERENCIAS

1. Bjarnason I, MacPherson A, Hollander D. Intestinal permeability: an overview. *Gastroenterology*. 1995;108:1566-81.
2. Menzies IS. Absorption of intact oligosaccharide in health and disease. *Biochem Soc Trans*. 1974;2:1042-7.
3. Uil JJ, van Elburg RM, van Overbeek FM, Mulder CJ, Van-Berge-Henegouwen GP, Heymans HS. Clinical implications of the sugar absorption test: intestinal permeability test to assess mucosal barrier function. *Scand J Gastroenterol*. 1997;32(suppl 223):70-8.
4. Mishra A, Makharia GK. Techniques of functional and motility test: how to perform and interpret intestinal permeability. *J Neurogastroenterol Motil*. 2012;18(4):443-7.
5. Walker J, Dieleman L, Mah D, Park K, Meddings J, Vethanayagam D. High prevalence of abnormal gastrointestinal permeability in moderate-severe asthma. *Clin Invest Med*. 2014;37(2):E53.
6. Juby LD, Rothwell J, Axon AT. Lactulose/mannitol test: an ideal screen for celiac disease. *Gastroenterology*. 1989;96:79-85.
7. Hall EJ, Batt RM. Abnormal permeability precedes the development of a gluten sensitive enteropathy in Irish setter dogs. *Gut*. 1991;32:749-53.
8. Heyman M, Abed J, Lebreton C, Cerf-Bensussan N. Intestinal permeability in coeliac disease: insight into mechanisms and relevance to pathogenesis. *Gut*. 2012;61(9):1355-64.
9. Peeters M, Ghooos Y, Maes B. Increased permeability of macroscopically normal small bowel in Crohn's disease. *Dig Dis Sci*. 1994;39:2170-6.
10. Wyatt J, Vogelsang H, Hübl W, Waldhöer T, Lochs H. Intestinal permeability and the prediction of relapse in Crohn's disease. *Lancet*. 1993;341:1437-9.
11. Teshima CW, Dieleman LA, Meddings JB. Abnormal intestinal permeability in Crohn's disease pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 2012;1258:159-65.
12. Nylund CM, D'Mello S, Kim MO, Bonkowski E, Däbritz J, Foell D, et al. Granulocyte macrophage-colony-stimulating factor autoantibodies and increased intestinal permeability in Crohn disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011;52(5):542-8.
13. Han X. Intestinal permeability as a clinical surrogate endpoint in the development of future Crohn's disease therapies. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*. 2010;4(2):159-76.
14. Bosi E, Molteni L, Radaelli MG. Increased intestinal permeability precedes clinical onset of type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2006;49:28:24-7.
15. Neu J, Reverte CM, Mackey AD. Changes in intestinal morphology and permeability in the biobreeding rat before the onset of type 1 diabetes. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40:589-95.
16. Humbert P, Bidet A, Treffel P, Drobacheff C, Agache P. Intestinal permeability in patients with psoriasis. *J Dermatol Sci*. 1991;2(4):324-6.
17. Ojetti V, De Simone C, Aguilar Sanchez J, Capizzi R, Migneco A, Guerriero C, et al. Malabsorption in psoriatic patients: cause or consequence? *Scand J Gastroenterol*. 2006;41(11):1267-71.
18. Brown AC, Hairfield M, Richards DG, McMillin DL, Mein EA, Nelson CD. Medical nutrition therapy as a potential complementary treatment for psoriasis--five case reports. *Altern Med Rev*. 2004;9(3):297-307.

19. Goebel A, Buhner S, Schedel R, Lochs H, Sprotte G. Altered intestinal permeability in patients with primary fibromyalgia and in patients with complex regional pain syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(8):1223-7.
20. Volynets V, Küper MA, Strahl S, Maier IB, Spruss A, Wagnerberger S, et al. Nutrition, intestinal permeability, and blood ethanol levels are altered in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Dis Sci*. 2012;57(7):1932-41.
21. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009;49(6):1877-87.
22. Giorgio V, Miele L, Principessa L, Ferretti F, Villa MP, Negro V, et al. Intestinal permeability is increased in children with non-alcoholic fatty liver disease, and correlates with liver disease severity. *Dig Liver Dis*. 2014;pii:S1590-8658(14)00242-4.
23. Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, Hebden JM, Wright T, Skinner M, et al. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut*. 2000;47(6):804-11.
24. Cariello R, Federico A, Sapone A, Tuccillo C, Scialdone VR, Tiso A, et al. Intestinal permeability in patients with chronic liver diseases: Its relationship with the aetiology and the entity of liver damage. *Dig Liver Dis*. 2010;42(3):200-4.
25. Büning C, Geissler N, Prager M, Sturm A, Baumgart DC, Büttner J, et al. Increased small intestinal permeability in ulcerative colitis: rather genetic than environmental and a risk factor for extensive disease? *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18(10):1932-9.
26. Salat-Foix D, Tran K, Ranawaya R, Meddings J, Suchowersky O. Increased intestinal permeability and Parkinson disease patients: chicken or egg? *Can J Neurol Sci*. 2012;39(2):185-8.
27. Frazier TH, DiBaise JK, McClain CJ. Gut microbiota, intestinal permeability, obesity-induced inflammation, and liver injury. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2011;35(5 Suppl):14S-20S.
28. Boukthir S, Matoussi N, Belhadj A, Mammou S, Dlala SB, Helayem M, et al. Abnormal intestinal permeability in children with autism. *Tunis Med*. 2010;88(9):685-6.
29. D'Eufemia P, Celli M, Finocchiaro R, Pacifico L, Viozzi L, Zaccagnini M, et al. Abnormal intestinal permeability in children with autism. *Acta Paediatr*. 1996;85(9):1076-9.
30. Cobden I, Rothwell J, Axon ATR. Intestinal permeability and screening tests for coeliac disease. *Gut*. 1980;21:512-8.
31. Pearson ADJ, Eastham EJ, Laker MF. Intestinal permeability in children with Crohn's disease and celiac disease. *BMJ*. 1982;285:20-1.
32. Vilela EG, Torres HO, Ferrari ML, Lima AS, Cunha AS. Gut permeability to lactulose and mannitol differs in treated Crohn's disease and celiac disease patients and healthy subjects. *Braz J Med Biol Res*. 2008;41:1105-9.
33. Pearson AD, Eastham EJ, Laker MF, Craft AW, Nelson R. Intestinal permeability in children with Crohn's disease and coeliac disease. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1982;285:20-1.
34. Laker MF, Mount JN. Mannitol estimation in biological fluids by gas liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives. *Clin Chem*. 1980;26:441-3.
35. Celli M, D'Eufemia P, Dommarco R, Martino F, Cardi E, Giardini O. Rapid Gas-Chromatographic Assay of Lactulose and Mannitol for Estimating Intestinal Permeability. *Clin Chem*. 1995;41(5):752-6.

Correspondencia:

Raúl León-Barúa
 Universidad Peruana Cayetano Heredia
 Escuela de Postgrado «Víctor Alzamora Castro»
 Av. Honorio Delgado 430
 Urb. Ingeniería, Lima 31, Lima, Perú.
 Tel: (511) 3190000
 E-mail: rlbmd@ndt-innovations.com