

## PERMEABILIDAD INTESTINAL EN NEONATOS

**A. Hernández Hernández \***, **H. Armas\***, **A. Oliva M. \*\***,  
**J. Fariña E. \*\***, **E. Domenech \***

*\* Departamento de Pediatría. Hospital Universitario de Canarias  
Facultad de Medicina. Universidad de La Laguna*

*\*\* Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica  
Facultad de Farmacia. Universidad de La Laguna*

### Introducción

La permeabilidad intestinal es la propiedad que presenta la mucosa digestiva para modificar la penetración de un soluto a través de la pared intestinal, especialmente en relación a las moléculas hidrosolubles no sujetas a una absorción activa o facilitada<sup>1</sup>. En los últimos 20 años ha crecido el interés por el conocimiento de la funcionalidad y el estado de la membrana intestinal, tanto en el período neonatal como en el adulto, así como las variaciones que pueda sufrir morfológica o funcionalmente por diversas enfermedades.

La membrana intestinal, al estar en contacto con el medio ambiente de la luz intestinal, tiene una doble funcionalidad, como barrera que evita la penetración de las noxas externas (bacterias o fragmentos de las mismas, antígenos de diverso origen, agentes carcinogénicos, etc.) y como membrana de absorción específica de sustancias fundamentales (nutrientes, agua, electrolitos, vitaminas, etc.). Se ha demostrado que el transporte de macromoléculas a través de la mucosa intestinal en animales, niños y recién nacidos tiene lugar por diferentes vías:

- 1.- Endocitosis mediada por receptores.
- 2.- Endocitosis no mediada por receptores.
- 3.- Penetración directa a través del enterocito.
- 4.- Paso a través de las uniones intercelulares.

Las tres primeras constituyen el paso o vía transcelular y la última, la vía paracelular<sup>2,3</sup>. El proceso pinocítico de absorción (endocitosis) es una actividad propia del

enterocito inmaduro, aunque después de la maduración o cierre de la membrana intestinal se ha demostrado que en un 15-30 % de los adultos<sup>4</sup> se produce el paso de antígenos por esta vía sin consecuencias patológicas, debido posiblemente a su buen control desde el punto de vista inmunológico.

El estudio de la permeabilidad intestinal, mediante la administración de diferentes partículas o moléculas, que atraviesan la mucosa mediante difusión pasiva exclusiva, está adquiriendo un gran interés en las últimas décadas<sup>1-3, 5</sup>, especialmente en los pacientes pediátricos en los que dicha función puede estar alterada por diferentes mecanismos agresores, y precisa una valoración lo menos cruenta posible<sup>6-16</sup>.

Se han utilizado diversas sustancias o moléculas con dicha finalidad<sup>13-36</sup>, sin que pueda afirmarse cuál es la molécula o test "ideal", ya que cada autor o grupo de investigadores utilizan un determinado marcador reconociendo las bondades y limitaciones de cada test. La mayoría están de acuerdo en que, sea cual sea la sustancia que se administre, los resultados han de expresarse en forma de porcentaje de la dosis suministrada o ratios entre moléculas de diferente tamaño<sup>9-12, 16, 26, 32, 37, 38</sup>, para obviar el efecto que, variables farmacodinámicas incontrolables, puedan producir sobre la difusión y la excreción de una única sustancia administrada para dichos fines. Los marcadores o moléculas más utilizadas han sido:

Los monosacáridos y azúcares de bajo peso molecular y bajo radio de sección como: la D-Xilosa, la L-Rhamnosa, y el D-Manitol<sup>29, 39</sup>.

Los disacáridos o azúcares de mayor peso molecular como<sup>26, 40</sup>: la lactulosa, el etilen-diamino-tetreacético (EDTA) marcado con Cr<sup>51</sup> o Tc<sup>99</sup>, la rafinosa, la estaquiosa, el FITC-dextran.

Otra de las sustancias utilizadas son los polietilen glicoles (PEG), que son unos polímeros de condensación que al disolverse en agua se fraccionan en un número variable de oligómeros de diferentes pesos moleculares y atraviesan la barrera intestinal por un mecanismo de difusión pasiva exclusivamente<sup>18, 41</sup>, en su mayoría por vía paracelular<sup>18, 41-43</sup>, aunque también en parte, por vía transcelular a través de poros o canales acuosos situados tanto en la superficie del enterocito como en las zonas estrechas<sup>26, 29, 39, 40</sup>, de tal forma que una disminución en la excreción porcentual de la dosis administrada de PEG o un incremento de los ratios entre micro y macromoléculas (oligómeros por debajo y por arriba del peso molecular medio) se correlaciona con un mayor grado de afectación de la mucosa.

Los PEG cumplen la mayoría de las características que lo hacen especialmente útiles para el estudio de la permeabilidad intestinal:

- El tener escasa o nula toxicidad, de hecho, han sido aprobados por la F.D.A.<sup>44-46</sup> para su uso con fines tanto clínicos como farmacéuticos.
- El atravesar la barrera intestinal por un mecanismo de difusión pasiva<sup>18, 41</sup>.
- El ser una molécula hidrofílica y lipofóbica que atraviesa las membranas celulares por canales acuosos, en función de su tamaño molecular.

- El tener gran estabilidad y no ser biodegradables, ni metabolizables, antes ni después de la absorción intestinal<sup>18, 47</sup>.
- El ser excretados en orina inalterados y uniformemente en las primeras horas tras la administración, dado que su absorción se produce en su mayoría en los tramos proximales del intestino antes de alcanzar el colon<sup>26, 37, 47-50</sup>.
- El ser medibles y cuantificables con precisión y sensibilidad en orina.

Dichas características han hecho que vengamos desde hace algún tiempo utilizando esta molécula para el estudio de la permeabilidad intestinal en niños sanos y afectados con diferentes grados de atrofia intestinal por la enfermedad celiaca<sup>38, 51</sup> y es de nuestro interés ampliar y profundizar en la utilidad de dicho test en niños de todas las edades incluido el período neonatal.

Se conoce que en los neonatos normales hay una alteración de la permeabilidad intestinal que perdura al menos durante los 3-4 primeros meses de vida<sup>16, 52, 53</sup>. Por otra parte se ha observado que los recién nacidos sometidos a fototerapia en un porcentaje variable de los mismos presentan heces diarreicas con incremento de las pérdidas hídricas y electrolíticas<sup>54-56</sup> en los que pueden estar implicados diversos mecanismos entre los que se incluyen alteraciones en potencial eléctrico transepitelial y de la función de barrera intestinal<sup>57</sup> bien por efecto de la bilirrubina indirecta, la fotobilirrubina e incluso la fototerapia en si misma.

## Objetivos

Ampliar y profundizar en el estudio de la permeabilidad intestinal mediante PEG 600 en neonatos sanos, ictericos y sometidos a fototerapia.

## Material y métodos

El estudio de permeabilidad intestinal se realizó a 64 recién nacidos, 34 mujeres y 30 varones. Se dividieron en tres grupos en función de los niveles de bilirrubina sanguínea total:

- Grupo Control (GC) formado por 16 recién nacidos, en los cuales los valores de bilirrubina sanguínea total (BST) fueron inferiores a 8 mg/dl.
- Grupo Ictéricos (GI) compuesto por 21 neonatos con valores de bilirrubina sanguínea entre 8 y 14 mg/dl, que no precisaron tratamiento fototerápico
- Grupo Fototerápico (GF) constituido por 27 recién nacidos que precisaron fototerapia, por más de 24 horas, ( $57 \pm 9$  horas de media) ya que la BST alcanzó valores de más de 14 mg/dl.
- Grupo de Recién nacidos no sometidos a fototerapia (GNF) los 37 resultantes de la reunificación del GC y GI

El tratamiento fototerápico se administró con unidades convencionales dotadas de contador horario y con 8 lámparas Philips de luz blanca diurna, con unas 200 horas de uso, colocadas a unos 45 cm de la superficie del recién nacido.

En todos los casos, previo a la inclusión de los pacientes en el estudio, se informó a los padres ampliamente del objetivo y método del trabajo, los cuales dieron su consentimiento para la incorporación al mismo.

Todos los neonatos del estudio fueron controlados y seguidos, en el Servicio de Neonatología del Hospital Universitario de Canarias.

Las condiciones asistenciales, clínicas y analíticas de todos los recién nacidos incluidos en el estudio fueron similares. Ninguno recibió medicación alguna excepto vitamina K (1 mg IM) en el momento del nacimiento.

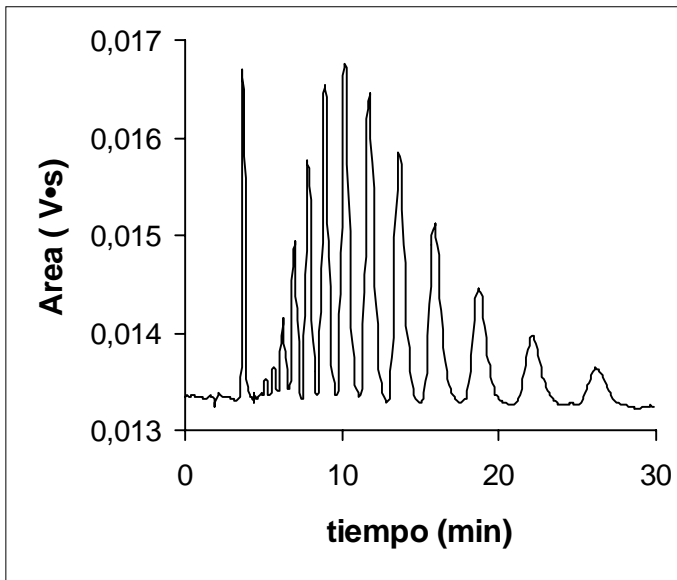
A todos los recién nacidos se les realizó un test de permeabilidad intestinal entre el tercer y cuarto día de vida ( $82,7 \pm 12,8$  horas), cuando habían recibido 38,8 horas de fototerapia en el caso del GF, mediante la administración de una dosis standar de 525 mgr de PEG 600 coincidiendo con la primera toma de leche adaptada de la mañana. Se recogió orina en las siguientes 6 horas conservándose congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior precesamiento mediante descengelación y extracción del PEG de la orina mediante columnas de sedimentación y determinación con un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

El estudio estadístico se realizó utilizando el programa Microsoft Editor MS-DOS para el tratamiento de texto, BRIEF como editor FORTRAN como lenguaje de programación para manejo de datos, los paquetes estadísticos para procesamiento de resultados fueron SPSS, BMDP y EPI. Se estableció el tamaño muestral para los objetivos propuestos con una potencia mínima de 0,9, un error  $b = 0,1$  y con un nivel de confianza de  $a = 0,05$ .

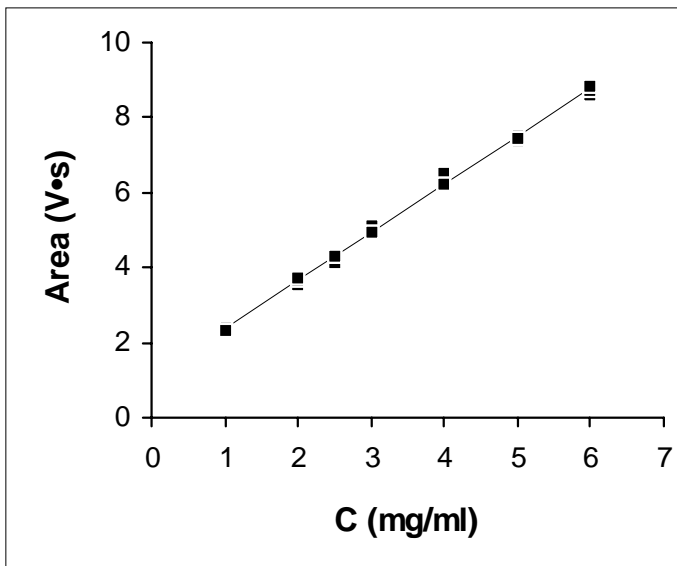
## Resultados

Los recién nacidos del GF presentaron un mayor porcentaje de heces líquidas, 33% frente al 13% del GC y un menor porcentaje de heces sólidas de un 11,5% frente al 26% del GC.

La HPLC nos posibilita obtener un cromatograma que nos permite la separación del PEG 600 en varios picos correspondientes a los oligómeros de pesos moleculares comprendidos entre 414 y 942 daltons. El tiempo de retención de cada uno de ellos es proporcional a la masa molecular, así los oligómeros con tiempo de retención más elevado serán los de mayor peso molecular (*figura 1*).



**Figura 1.** Cromatograma obtenido por HPLC-RF correspondiente a una muestra de PEG 600 en orina.



**Figura 2.** Recta de regresión áreas totales vs concentración de PEG 600 en orina.

$$\text{Area (mV} \cdot \text{s)} = 1092331 + 1277581 \cdot C \text{ (mg/ml)} \quad (r = 0,9986)$$

El área de todos los picos se correlaciona directamente con la concentración del PEG 600 excretado en orina, de tal forma que la cuantificación parcial de cada uno de los oligómeros presentes en la muestra se puede expresar como un porcentaje del área total (figura 2).

El porcentaje de PEG 600 excretado en orina osciló, desde valores menores al 1% hasta próximos al 14% (entre 0,17 y 13,69%) de las dosis administrada, media  $4 \pm 3\%$  (media  $3,97 \pm 2,92\%$ ) para todos los recién nacidos, sin que apreciáramos ninguna diferencia entre los neonatos sometidos a fototerapia ( $p = 0,647$ ) y los que no lo estuvieron, ni entre el GC y el GI (figura 3).

De ello concluimos que, apesar de eliminarse un bajo porcentaje de PEG en orina de todos nuestros neonatos, la cual es indicativa de la permeabilidad intestinal global, ni la ictericia ni la fototerapia han modificado de forma ostensible dicha excreción.

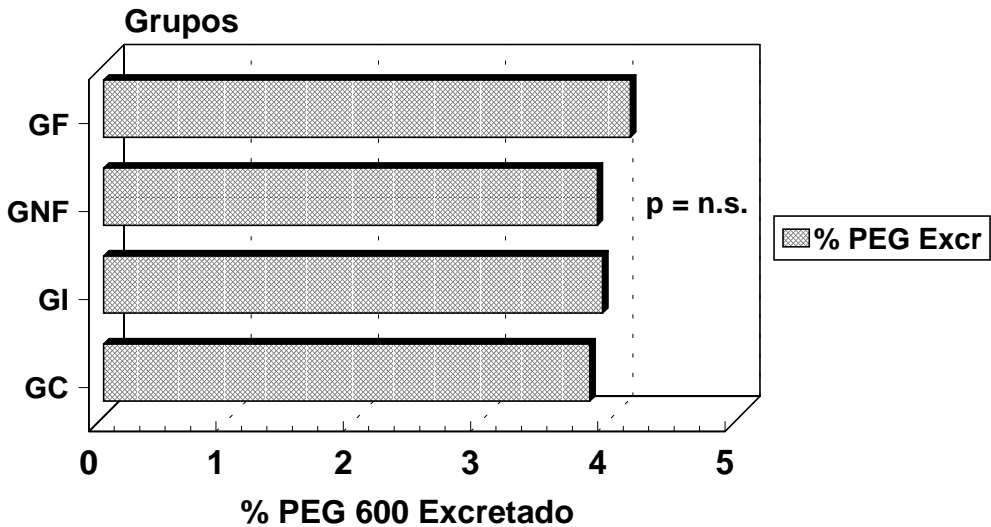


Figura 3. Excreción porcentual del PEG 600 en orina de 6 horas.

En la figura 4 representamos el porcentaje en el que contribuyeron cada uno de los diferentes oligómeros del PEG 600 a la excreción total del mismo. Observamos como las micromoléculas (oligómeros de PM interior a 634 daltons) atravesaron la barrera mucosa en mayor porcentaje en el GF que en el restos de los grupos, mientras que las macromoléculas (oligómeros de PM superior a 634 daltons) los hicieron en menor cuantía; alcanzando en casi todos los casos diferencias estadísticas con respecto a los recién nacidos no sometidos a fototerapia (GNF) y el GI pero no con respecto al GC).

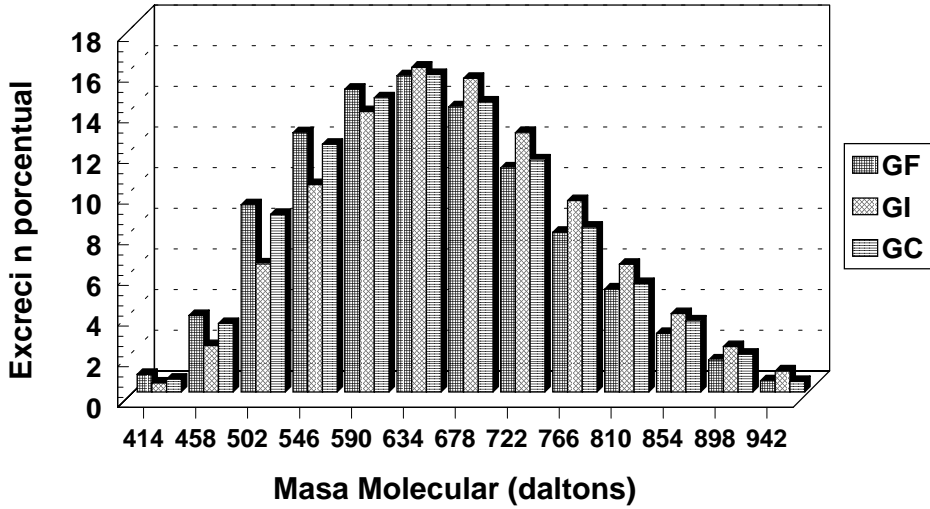


Figura 4. Excreción porcentual en orina de los 13 polímeros del PEG 600.

En la figura 5 apreciamos como en todos los neonatos se eliminó un mayor porcentaje global de micromoléculas (entre el 60 y 80% de la totalidad del PEG 600) que de macromoléculas (que osciló entre el 20 y 40%), pero globalmente el porcentaje de micromoléculas del GF ( $71 \pm 7\%$ ) fué mayor significativamente que al determinado en los neonatos no sometidos a fototerapia GNF ( $p < 0,0090$ ). Por otra parte, el porcentaje de macromoléculas (oligómeros entre 634 y 942 daltons) excretados por el GF ( $28,93 \pm 6,85\%$ ), de forma inversa a lo comentado previamente, fué menor al observado en el resto de los grupos.

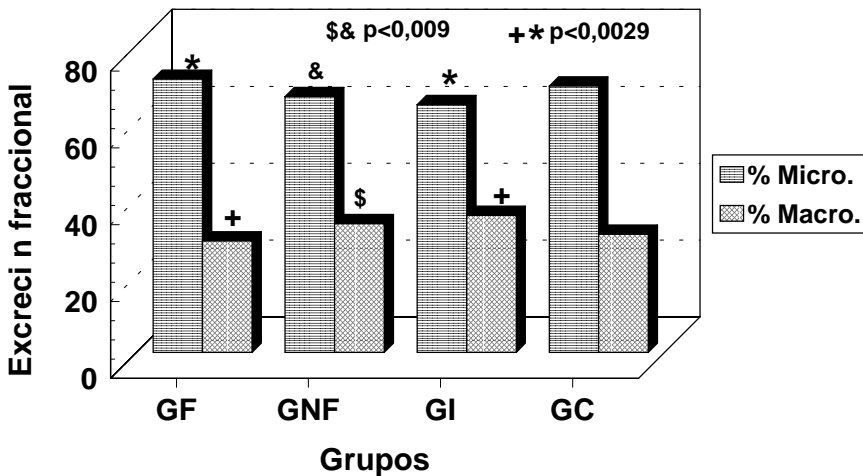


Figura 5. Excreción fraccional de micro y macromoléculas del PEG 600 por los diferentes grupos.

El ratio entre micro y macromoléculas fue (de  $2,66 \pm 0,95$ ) mayor para el GF, que el determinado para el GNF ( $2,11 \pm 0,7$ ) con  $p < 0,0098$ , al igual que para los subgrupos GC y GI por separado con  $p < 0,0047$ . De forma inversa, el ratio entre macro y micromoléculas fue (de  $0,42 \pm 0,14$ ) inferior para el GF al determinado en el GNF ( $p < 0,009$ ) y al del GI ( $p < 0,0030$ ), (figura 6).

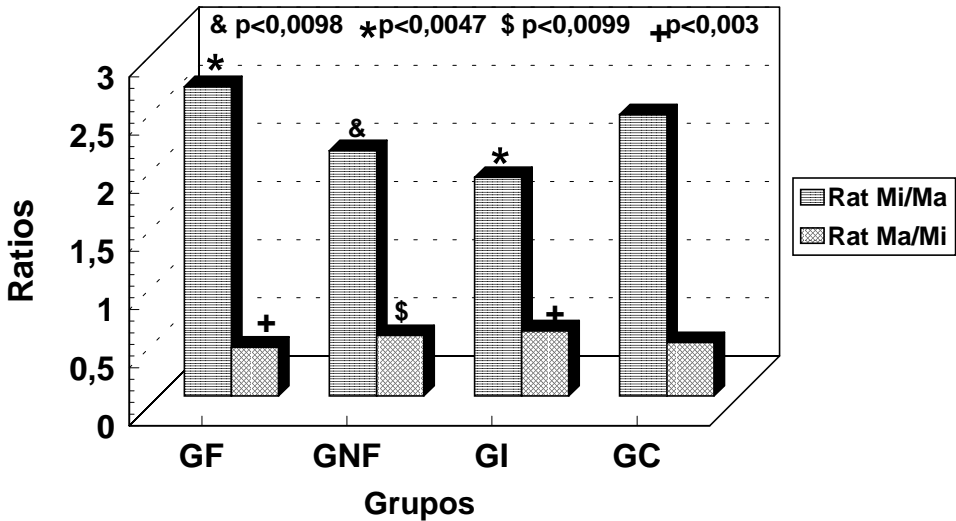


Figura 6. Ratios macro/micromoléculas del PEG 600.

## Discusión

La excreción porcentual del PEG 600 fué relativamente reducida en todos nuestros neonatos, con independencia de que estuviesen o no sometidos a fototerapia, pero similar a la observada por otros autores: Westron<sup>58</sup>, tras la administración de PEG 600 en crias de cerdos recién nacidos en la primera semana de vida (entre el momento de nacimiento y las 168 horas de vida) o a la apreciada por Johansen<sup>6</sup> y Stintzing<sup>8</sup> en lactantes por encima de los 6 meses de edad afectos de una diarrea por rotavirus e inferior a la de sus correspondientes controles (al utilizar una mezcla de PEG 400 y PEG 1000 con oligómeros que abarcan una amplia gama de pesos moleculares, entre 326 y 1.206 daltons, entre los cuales se encuentran los del PEG 600, 414-942 daltons), y a la determinada por Jackson<sup>20</sup> en adultos sanos, tras la administración con PEG 600, que osciló entre 19% y 66%.

Por otra parte en un estudio realizado por Olmo MT<sup>16</sup> en nuestro país, con EDTA Cr<sup>51</sup> en recién nacidos prematuros, términos, lactantes y niños, se ha visto que los recién nacidos normales presentan una alteración de la permeabilidad de la mucosa



intestinal que persiste hasta el quinto o sexto mes de vida y dicho trastorno es similar al observado, por los mismos autores, en niños de mayor edad afectados de enfermedad celíaca en remisión o en lactantes con gastroenteritis por rotavirus<sup>16</sup>. Dichos datos, al igual que los derivados de nuestros resultados, confirman la hipótesis de Weaver y cols<sup>52,53</sup> en el sentido de que la alteración de la permeabilidad intestinal parece ser una parte esencial a la adaptación postnatal, de la alimentación en todos los recién nacidos, debido a la inmadurez de la mucosa intestinal. Esto podría poner al recién nacido y al lactante en riesgo de desarrollar reacciones adversas contra los antígenos macromoleculares que se absorben intactos<sup>2-4,59</sup>.

Además comprobamos un incremento significativo de los ratios entre micro/macromoléculas en los neonatos sometidos a fototerapia (GF) con respecto aquellos que no se sometieron a la misma. Ello es equiparable a lo observado en otros trabajos por Fálth-Magnusson<sup>50</sup> y Stenhamer<sup>27</sup>, utilizando una mezcla de PEG 400 y 1.000 en lactantes y niños con alteraciones histológicas intestinales por diferentes patologías.

Por todo ello podemos concluir, que todos nuestros recién nacidos mostraron una permeabilidad intestinal alterada, en comparación a lo observado por otros autores en lactantes, niños y adultos sanos. Dicho trastorno es posiblemente fisiológico y debido a la inmadurez de la barrera intestinal en la época neonatal<sup>9,53</sup>, cuyas consecuencias nutritivo-inmunológicas están en continuo debate<sup>2,3,14,59</sup>, sin que la ictericia ni la fototerapia incrementen globalmente dicha alteración. Sin embargo, apreciamos que la fototerapia disminuye la capacidad de exclusión de la barrera intestinal para el paso de los oligómeros, de pesos moleculares inferiores a 634 daltons, ya que fué en el GF donde se excretaron en mayor cuantía con respecto a los neonatos no sometidos a la misma.

## Conclusiones

1.- La fototerapia convencional durante más de 24 horas produjo una alteración en la consistencia de las heces de nuestros recién nacidos objetivada en un incremento significativo del porcentaje de heces líquidas desde 13% en el grupo control al 33,5% del grupo fototerápico, con disminución de las heces sólidas desde el 26 % del grupo control al 11,5% del fototerápico.

2.- La cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa fue válida para la determinación de los diferentes polímeros del PEG 600 en muestras de pequeño volumen (5 ml) de orina de recién nacidos, consiguiendo un alto rendimiento de extracción (media  $91,72 \pm 3,1\%$ ) con un bajo coeficiente de variación 3,38%.

3.- Se observó una mayor concentración de PEG 600 en la orina de los recién nacidos del grupo icterico. Sin embargo, la permeabilidad global de la barrera intestinal determinada en porcentaje del PEG excretado en función de la dosis administrada fue similar en los tres grupos.

4.– La fototerapia condicionó un mayor paso de micromoléculas (oligómeros entre 414-634 daltons) que de macromoléculas (oligómeros entre 678-942 daltons) determinado por el porcentaje de micromoléculas del PEG excretado en orina, por los ratios entre micro/macromoléculas y por el estudio comparativo de distribución de los diferentes polímeros en la orina de los recién nacidos de los tres grupos.

5.– Apreciamos un trastorno de la barrera intestinal de todos nuestros recién nacidos, expresado en ratios entre oligómeros de diferente tamaño, acentuado con la fototerapia, que evidencia probablemente la inmadurez fisiológica de dicha barrera intestinal y expone al recién nacido en riesgo de desarrollar reacciones adversas por la absorción de macromoléculas antigénicas intactas.

## Bibliografía

1. Editorial. Intestinal permeability. *Lancet* 1985; 1: 256-8.
2. Walker WA, Isselbacher KJ. Uptake and transport of macromolecules by the intestine. Possible role in clinical disorders. *Gastroenterology* 1974; 67: 531-50.
3. Udall JN, Walker WA. The physiologic and pathologic basis for transport of macromolecular across the intestinal tract. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1982; 1: 295-301.
4. Korenblat RE, Rothberg RM, Minder P. Immune response of human adults after oral and parenteral exposure to bovine serum albumin. *J Allergy* 1968; 41: 226-35.
5. Sawamura R, Fernandes MIM, Troncon LEA. Alterações da permeabilidade intestinal em crianças. *Arq Gastroenterol* 1994; 31: 30-8.
6. Johansen K, Stintzing G, Magnusson E et al. Intestinal permeability assessed with polyethylene glycols in children with diarrhoea due to rotavirus and common bacterial pathogens in developing community. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 9: 307-13.
7. Litschitz CH, Polanco I, Lobb K. The urinary excretion polyethylene glycol as a test for mucosal integrity in children with coeliac disease: comparison with other no invasive tests. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 9: 49-57.
8. Stintzing G, Johansen K, Magnusson KE, Svensson L, Sundquist T. Intestinal permeability in small children during and after rotavirus diarrhoea assessed with different size polyethylene glycols (PEG 400 and PEG 1000). *Acta Paediatr Scand* 1986; 75: 1005-9.
9. Beach RC, Menzies IS, Clayden GS, Scopes JW. Gastrointestinal permeability changes in the preterm neonates. *Archi Dis Child* 1982; 57: 141-5.
10. Weaver LT, Laker MF, Nelson R. Enhanced intestinal permeability in preterm babies with bloody stools. *Arch Dis Child* 1984; 54: 280-1.

11. Halmiton Y, Hill A, Bose B, Bouchier IAD, Forsyth JS. Small intestinal permeability in pediatric clinical practice. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987; 6: 697-701.
12. Weaver LT, Laker MF, Nelson R, Lucas A. Milk feeding and changes in intestinal permeability and morphology in the newborn. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987; 6: 351-8.
13. Lifschitz CH, Irving CS, Marks LM, Klein PD, Finegold MJ, Nichols BL. Polyethylene glycol polymers of low molecular weight as probes of intestinal permeability II: Application to infants and children with intestinal disease. *J Lab Clin Med* 1986; 108: 37-43.
14. Axelsson I, Jakobsson I, Lindberg Y, Polberger S, Benediktsson B, Råihä N. Macromolecular absorption in preterm and term infants. *Acta Paediatr Scand* 1989; 78: 532-7.
15. Tanzer F, Koç H, Küçükuyurt I. Intestinal absorption of D-xylose in newborn of different gestational ages and sizes. *Acta Paediatr Scand* 1990; 79: 364-5.
16. Olmo MT, Escobar H, Jorda J. Estudio funcional de la permeabilidad de la membrana intestinal con EDTA Cr<sup>51</sup>. Metodo incruento y objetivo. *Premios Nestlé sobre Nutrición Infantil* 1990: 10-72.
17. Jenkins RT, Goodacre RL, Rooney PJ, Bienenstock J, Sivakumaran T, Walker WC. Studies of intestinal permeability in inflammatory diseases using polyethylene glycol 400. *Clin Biochem* 1986; 19: 298-302.
18. Chadwick VS, Phillips SF, Hofmann AF. Measurement of intestinal permeability using low molecular weight polyethylene glycols (PEG 400) II: Application to normal and abnormal permeability states in man and animals. *Gastroenterology* 1977; 73: 247-51.
19. Bjarnason I, Peters TS, Veal N. A persistent defect in intestinal permeability in coeliac disease demonstrated by a Cr<sup>51</sup> labelled EDTA absorption test. *Lancet* 1983; 1: 23-5.
20. Jackson PG, Lessof MA, Baker RW, Jean Frrett, MacDonald DM. Intestinal permeability in patients with eczema and food allergy. *Lancet* 1981; 1(8233):1285-6.
21. Serrander R, Magnusson KE, Kjalstrom E, Sundqvist T. Acute yersinia infections in man increase intestinal permeability for low-molecular weight polyethylene glycols (PEG 400). *Scand J Infect Dis* 1986; 18: 409-13.
22. Noone C, Menzies IS, Banatuala JE, Scopes JW. Intestinal permeability and lactose hydrolysis in human rotavirus gastroenteritis assessed simultaneously by non-invasive differential sugar permeation. *Eur J Clin Invest* 1986; 16: 217-25.
23. Bjarnason I, Zanelli G, Smith T et al. Nonsteroidal antiinflammatory drug induced intestinal inflammation in human. *Gastroenterology* 1987; 93: 480-9.
24. Lifschitz CH, Mahoney DH. Low-dose methotrexate-induced changes in intestinal permeability determined by polyethylene glycol polymers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 9: 301-6.

25. Buts JP, Molin CL, Roy CC, Weber A, Bonin A. One-hour blood xylose test: a reliable index of small bowel function. *J Pediatr* 1978; 90: 729-33.
26. Maxton DG, Bjarnason I, Reynolds AP et al. Lactulose 51-labelled ethylenediaminetetra-acetate, L-rhamnose and polyethylene glycol 400 as probe markers for assessment in vivo of human intestinal permeability. *Clin Sci* 1986; 71: 71-80.
27. Stenhammar L, Fälth-Magnusson K, Jansson G, Magnusson KE, Sundqvist T. Intestinal permeability to inert sugars and different sized polyethyleneglycols in children with coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 9: 281-9.
28. Cobden I, Dickinson RJ, Rothwell J, Axon ATR. Intestinal permeability assessed by excretion ratios of two molecules: results in coeliac disease. *Br Med J* 1978; 2: 1060-3.
29. Fordtran JS, Rector FC, Ewton MF, Jeter N, Kinney J. Permeability characteristics of the small intestine. *J Clin Invest* 1965; 44: 1935-44.
30. Ukabam SO, Cooper BT. Small intestinal permeability to mannitol, lactulose and polyethylene glycol 400 in coeliac disease. *Dig Dis Sci* 1984; 29: 808-16.
31. Laker MF, Bull AJ, Menzies IS. Evaluation of mannitol for use as a probe-marker of gastrointestinal permeability in man. *Eur J Clin Invest* 1982; 12: 485-91.
32. Pounder RE, Gomes MF, Lokschin F, Logan LH. The L-rhamnose/lactulose permeability test: non-invasive assessment of small intestinal damage. *Gastroenterology* 1984; 84: 1276-81.
33. Loehry CA, Axon ATR, Hilton PJ et al. Permeability of the small intestine to substances of different molecular weight. *Gut* 1970; 11: 466-70.
34. Bjarnason I, O'morain C, Levi AY, Peters TJ. Absorption of 51 chromium labelled ethylene diaminetetraacetate in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1983; 85: 318-22.
35. Turk H, Ythier E, Maquet M et al. Intestinal permeability to <sup>51</sup>Cr EDTA in children with Crohn's disease and coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987; 8: 535-7.
36. Wheeler PG, Menzies IS, Cremer B. Effect of hyperosmolar stimuli and coeliac disease on the permeability of the human gastrointestinal tract. *Clin Sci Mol Med* 1978; 54: 495-501.
37. Lifschitz CH, Shulman RJ, Langiton C, Gopalakrishna GS, Comparison of the D-xylose and polyethylene glycol absorption tests as indicators of mucosal damage in infants with chronic diarrhoea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988; 8: 47-50.
38. Armas RH, Fariña EJ, Ortigosa DCL, Peña QL, Oliva MA. Permeabilidad intestinal en niños celíacos canarios valorada mediante polímeros de polietilenglicol (PEG 400). *Premios Nestlé de Nutrición Infantil* 1991: 247-65.
39. Mezies IS. Transmucosal passage of inert molecules in health and disease. En: Skadhause E, Heintze K eds. Intestinal absorption and secretion. London. MTP Press, 1983; 527-43.

40. Casellas F. Intestinal permeability to macromolecular and inflammatory bowel disease. *J Clin Nutr Gastroenterol* 1988; 3: 33-6.
41. Krugliak P, Hollander D, Ma TY. Mechanisms of polyethyleneglycol 400 permeability of perfused rat intestine. *Gastroenterology* 1989; 97: 1164-70.
42. Ma TY, Hollander D, Kruglak P, Katz K. PEG 400 a hydrophilic molecular probe for measuring intestinal permeability. *Gastroenterology* 1990; 98: 39-46.
43. Ma TY, Hollander D, Riga R, Bhalla D. Autoradiographic determination of permeation pathway of permeability probes across intestinal and tracheal epithelia. *J Lab Clin Med* 1993; 122: 590-600.
44. Sokoloski TD. Soluciones y equilibrio de fases. En: Gennaro A eds. Remington's Pharmaceutical Sciences. *The Philadelphia College of Pharmacy and Science*, 1985; 1770-1.
45. Burnham NL. Polymers for delivering peptides and proteins. *Am J Hosp Pharm* 1994; 51: 210-18.
46. Fuertges F, Abuchon-ski A. The clinical efficacy of polyethylene glycol modified proteins. *J of Controlled Release* 1990; 11: 139-48.
47. Chadwick VS, Phillips F, Hofmann AF. Measurements of intestinal permeability using low-molecular weight polyethylene glycols and biological properties of PEG 400. *Gastroenterology* 1977; 73: 241-6.
48. Delahunty T, Hollander D. New liquid chromatographic method for measuring polyethylene glycol in urine. *Clin Chem* 1986; 32: 351-3.
49. Heumaman R, Sjudahl R, Tagesson C. Passage of molecules through the wall of the gastrointestinal tract intestinal permeability to polyethylene glycol 1000 in patients with Crohn's disease. *Acta Chir Scand* 1982; 148: 281-4.
50. Fälth-Magnusson K, Jansson G, Stenhammar L, Sundqvist T, Magnusson KE. Intestinal permeability assessed with different sized polyethylene glycols in children undergoing small intestinal biopsy for suspected coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24: 40-6.
51. Oliva A, Armas H, Fariña JB. HPLC determination of polyethylene glycol 400 in urine: oligomeric profile in healthy and coeliac disease subjects. *Clin Chem* 1994; 40: 1571-4.
52. Khin Maung U, Bolin TD, Duncombe VM, Pereira SP, Myo Khin, Nyunt Nyunt Wai, Linklater JM. Effect of short-term intermittent antibiotic treatment on growth of Burmese (Myanmar) village children. *Lancet* 1990; 336: 1090-3.
53. Weaver LT, Laker MF, Nelson R. Intestinal permeability on newborn. *Arch Dis Child* 1984; 59: 236-41.
54. Bell EF, Neidich GA, Cashre WJ, Oh W. Combined effect radiant warmer and phototherapy on insensible water loss in low birth weight infants. *J Pediatr* 1979; 94: 810-3.
55. Wu PYK, Moosa A. Effect of phototherapy in nitrogen and electrolyte level and water balance in jaundice preterm infants. *Pediatrics* 1978; 61: 193-7.

56. De Curtis M, Guandalini P, Fasano A, Saitta F, Ciccimarra F. Diarrhoea in jaundiced neonates treated with phototherapy: role of intestinal secretion. *Arch Dis Child* 1989; 64: 1161-4.
57. Jaehrig K, Ballke EH, Koenig A, Meisel P. Transepithelial electric potential difference in newborns undergoing phototherapy. *Pediatr Res* 1987; 21: 283-4.
58. Westrom B, Svendsen J, Tagesson C. Intestinal permeability to polyethylene glycol 600 in relation to macromolecular closure in the neonatal pig. *Gut* 1984; 25: 520-5.
59. Robertson DM, Paganelli R, Dinwiddie R et al. Milk antigen absorption in the preterm and term neonate. *Arch Dis Child* 1982; 57: 369-72.