Padronização de metodologia para a avaliação de permeabilidade intestinal em ratos

Jacqueline Nakau Mendonça[1]* (IC), Nilian Carla Silva Souza[2] (IC), Guilherme Vannucchi Portari[2] (TC), Paula Garcia Chiarello[2] (PQ), Alceu Afonso Jordão Júnior[2] (PQ).

1. *Universidade de São Paulo – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Departamento de Química.*
2. *Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Departamento da Clínica Médica.*

Palavras Chave: *padronização, permeabilidade intestinal, manitol, lactulose.*

Introdução

A verificação da permeabilidade intestinal vem sendo estudada com o objetivo de auxiliar na prevenção de doenças com cirrose, câncer de cólon, doença celíaca, pancreatite aguda, reações adversas a alimentos, entre outras. Estas doenças apresentam alterações na parede intestinal e consequentemente, mudanças na permeabilidade de nutrientes.

O epitélio intestinal é composto por dois tipos de poros que permite o transporte passivo de moléculas pequenas (monossacarídeos) e grandes (dissacarídeos) por caminhos transcelular e paracelular, respectivamente. Devido a este fato e sabendo que dependendo do estado da mucosa intestinal a absorção de moléculas será diferente, portanto o emprego do teste de permeabilidade intestinal utilizando dose oral de manitol e lactulose torna-se viável e de grande interesse na área clínica, uma vez que não proporciona danos ao organismo.

O teste de permeabilidade intestinal se fundamenta na administração oral de manitol e lactulose e posterior avaliação da concentração excretada, principalmente na urina, dos açúcares de interesse; e finalmente, a razão de lactulose/manitol obtida informará se a mucosa intestinal apresenta-se normal ou alterada[1].

O presente estudo tem o objetivo de padronizar a metodologia de permeabilidade intestinal por meio de análise de amostras biológicas (urina, fezes e soro) de ratos saudáveis, utilizando a técnica de cromatografia gasosa.

Resultados e Discussão

Para a padronização do método de permeabilidade intestinal utilizando cromatografia gasosa foi realizada a validação do método seguindo os parâmetros analíticos de seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez[2].

Os resultados foram obtidos utilizando a coluna capilar DB-1, que possibilitou a separação eficientes dos picos dos analitos de interesse inclusive com relação aos padrões interno mio-inositol e β-fenil-D-glucosídeo, fornecendo uma boa seletividade (figura 1).

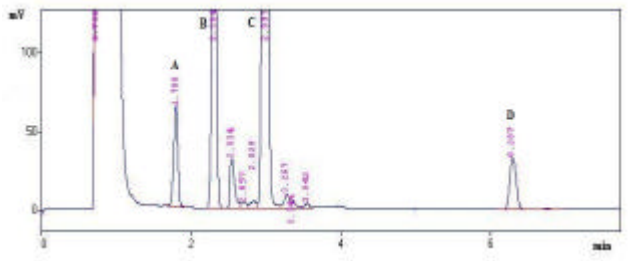

Figura 1. Cromatograma referente à amostra padrão. **A** – manitol, **B** – mio-inositol, **C** – β-fenil-D-gliosídeo e **D** – lactulose.

As curvas padrões apresentaram faixa de linearidade que varia de 0,01 – 20 mg/mL de manitol e 0,001 – 2,0 mg/mL de lactulose, com r^2 igual a 0,9997 e 0,9995, respectivamente. O limite de detecção apresentou-se 10 vezes mais diluído da menor concentração da curva padrão e o limite de quantificação 5 vezes mais diluído, para ambos os analitos. A precisão do método foi constatada com um coeficiente de variação de 0,44% para o manitol e 0,25% para a lactulose. Com relação à experimentação animal a razão L/M excretada foi de 0,12 ± 0,04, comprovando absorção intestinal normal para os ratos experimentais, quando comparado com dados da literatura.

Conclusões

O desenvolvimento do método para separação e quantificação do manitol e da lactulose mostrou-se eficiente, confirmando ser a cromatografia gasosa uma excelente ferramenta na análise de açúcares. Conclui-se que a permeabilidade intestinal pode ser verificada por meio do teste de manitol e lactulose, sendo este menos evasivo quando comparado com outros métodos já existente.

Agradecimentos

Agradeço a FAPESP pelo apoio financeiro.

---

[1] A. Farhadi, A. Keshavarzian, *et al. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, *v.836, n.1-2, May 19, p.63-8. 2006.*

[2] M. Ribani, C. B. G. Bottoli, *et al.* Química Nova, v.27, n.5, p.771-780. 2004