

Utilización de isótopos estables en los países en desarrollo: Trazadores seguros para medir el estado nutricional del ser humano

Los "trazadores silenciosos" pueden ayudar a los profesionales de la salud a dar respuesta a algunas preguntas importantes

por Peter D. Klein y E. Roseland Klein

¿Cuántas calorías utiliza una madre cuando amamanta a su hijo? ¿Qué cantidad de leche recibe un lactante en una semana? ¿Qué efecto tiene el medio ambiente en las necesidades energéticas de los niños? ¿Hasta qué punto ayuda la proteína incorporada por vía dietaria a sintetizar las sustancias orgánicas? ¿Cuáles son los alimentos que nutren mejor a un niño convaleciente de una enfermedad intestinal como la diarrea?

Mediante la utilización de trazadores isotópicos no radiactivos estables se puede dar a las preguntas de este tipo respuestas cuantitativas que son importantes para evaluar el estado nutricional de lactantes, niños, embarazadas y madres lactantes, así como de personas que subsisten con una alimentación marginal. Debido a que los trazadores isotópicos estables son completamente seguros e inocuos, es posible utilizarlos ampliamente en investigaciones sobre la salud, la nutrición y la agricultura en todas las poblaciones.

¿Cuáles son los isótopos estables que se utilizan?

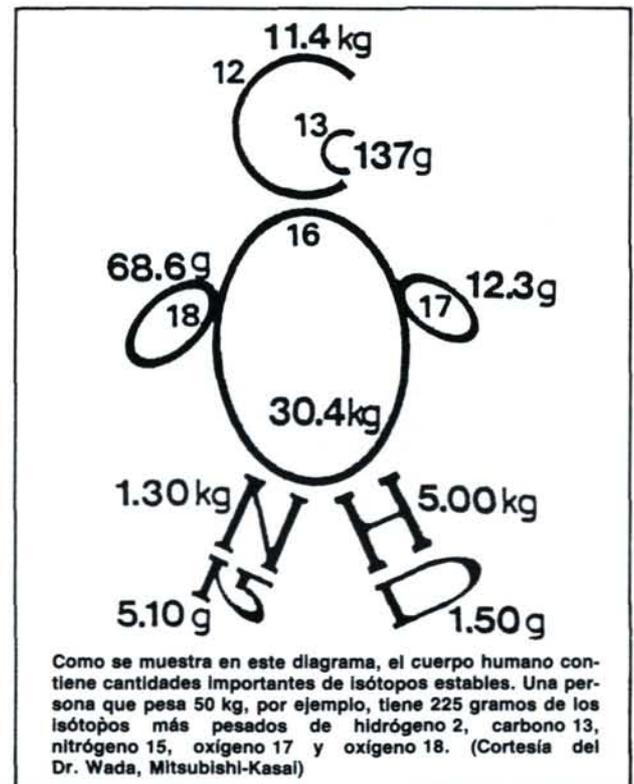
Los estudios sobre procesos biológicos se centran en el comportamiento de un número limitado de elementos, a saber, el hidrógeno (H), el carbono (C), el nitrógeno (N) y el oxígeno (O). Cada uno de estos elementos existe en la naturaleza en dos o más formas estables que sólo se diferencian por el número de neutrones que contiene su núcleo. En cada caso, el isótopo ligero principal (hidrógeno 1, carbono 12, nitrógeno 14 y oxígeno 16) está acompañado de una proporción constante de uno o más isótopos secundarios más pesados cuya abundancia respectiva oscila entre 0,02% y 1,11%. El inventario del organismo humano muestra que una persona de 50 kilogramos de peso tiene un agregado de 225 gramos de hidrógeno 2, carbono 13, nitrógeno 15, oxígeno 17 y oxígeno 18. (Véase el diagrama adjunto.)

Si bien existen variaciones en las proporciones entre el hidrógeno 2 y el hidrógeno 1, el carbono 13 y el carbono 12, el nitrógeno 15 y el nitrógeno 14, y entre el oxígeno 18 y el oxígeno 16, cada uno tiene una abundancia característica conocida que sirve de referencia al efectuar mediciones con trazadores. Para efectuar estudios con trazadores se puede enriquecer cada elemento

hasta el 99% o más en la proporción del isótopo más pesado. Estos procedimientos aprovechan las ligeras diferencias de velocidad en los procesos de intercambio (por ejemplo, el deuterio), o la destilación criogénica del monóxido de carbono o del óxido nítrico para separar el isótopo más ligero y concentrar los más pesados. Puede utilizarse directamente la forma enriquecida (por ejemplo, $^2\text{H}_2\text{O}$ ó H_2^{18}O), puede incorporarse $^{13}\text{CO}_2$ a las plantas mediante procedimientos de biosíntesis, o mediante la síntesis orgánica se puede transformar el isótopo en grasas, carbohidratos o aminoácidos marcados.

¿De qué modo se emplean isótopos estables en los estudios sobre nutrición?

A raíz del descubrimiento del deuterio en 1932, Schoenheimer y Rittenberg realizaron el primer estudio sobre nutrición utilizando un trazador isotópico estable. Administraron aceite de linaza parcialmente hidrogenado (deuterizado) a dos ratones y previeron que



El Dr. Peter D. Klein es Director del Laboratorio de Isótopos Estables, y E. Roseland Klein es Editor Científico del US Department of Agriculture/Agricultural Research Service Children's Nutrition Research Center, Department of Pediatrics, Baylor College of Medicine and Texas Children's Hospital, Houston, Texas 77030, EE.UU.

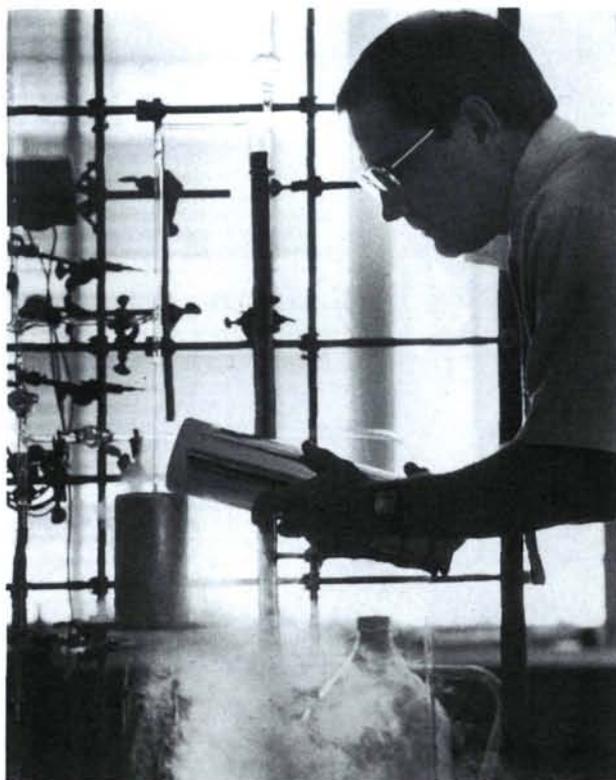
el deuterio sería liberado rápidamente en virtud de la oxidación de la grasa hasta dióxido de carbono y agua. No obstante, recuperaron en la orina menos de la mitad de la cantidad de trazador esperada, y descubrieron que el resto se había incorporado en las reservas de grasa del organismo. Así, Schoenheimer y Rittenberg demostraron por primera vez la naturaleza dinámica de las sustancias orgánicas.

En la actualidad se considera que una de las ventajas de los trazadores isotópicos estables radica en que, además de ser inocuos, se pueden administrar por vía oral y obtenerse muestras de los productos metabólicos en que penetran (por ejemplo, los líquidos corporales, el dióxido de carbono de la respiración, la urea) a partir del aliento, la saliva, la leche, la orina y las heces fecales. La utilización de procedimientos de muestreo no invasivos simplifica los estudios en el terreno y facilita la búsqueda de personas con quienes realizarlos y la cooperación de éstas.

¿Cómo se miden los trazadores isotópicos estables?

A los isótopos estables se les suele denominar "trazadores silenciosos" porque no emiten una radiación que pueda medirse externamente y porque sólo es posible detectar su presencia en niveles superiores al natural mediante los cambios en la relación entre isótopos secundarios y principales. Durante muchos años las mediciones de esas relaciones requirieron el empleo de espectrómetros de masa de relación isotópica, en los cuales las formas pesadas y ligeras de la misma molécula se separan y cuantifican. En esos instrumentos se introduce una muestra purificada de gas de hidrógeno, dióxido de carbono o nitrógeno a través de una abertura sumamente restringida en una fuente de iones al vacío. Las moléculas de gas se bombardean con una corriente de electrones para que adquieran una carga positiva y se aceleren hacia un campo magnético, en el cual las moléculas de gas ionizado se segregan según la masa y chocan contra placas colectoras individuales. De esa manera, los iones generan corrientes que son proporcionales a sus números y permiten su cuantificación.

La espectrometría de masa de la relación isotópica proporciona valores muy precisos y exactos de las abundancias isotópicas, pero requiere grandes inversiones de capital e instalaciones de apoyo sustanciales para la



Los materiales sólidos se pueden someter a combustión para obtener dióxido de carbono y agua, y luego purificar éstos para realizar análisis isotópicos en una línea al vacío. (Cortesía de Jack Dykinga USDA/ARS)

preparación, purificación y análisis de las muestras. Por ello se están estudiando otras técnicas espectroscópicas ópticas que se prestan para análisis más sencillos, menos costosos y más fáciles. Mediante la espectrometría de emisión se han realizado ya miles de análisis de muestras de nitrógeno 15 generadas en estudios agrícolas, y se está aplicando también en estudios sobre nutrición en que se utiliza el nitrógeno 15. Las mediciones de absorción infrarroja se están empleando para determinar la concentración de deuterio en los fluidos corporales, y recientemente se describió un nuevo principio de heterodinación infrarroja que proporcionará valores de la relación isotópica (carbono 13/carbono 12) del dióxido de carbono de la respiración. De este modo se está creando un conjunto de instrumentos de bajo costo para la determinación de isótopos estables que deberá ampliar y facilitar su uso en los países en desarrollo.

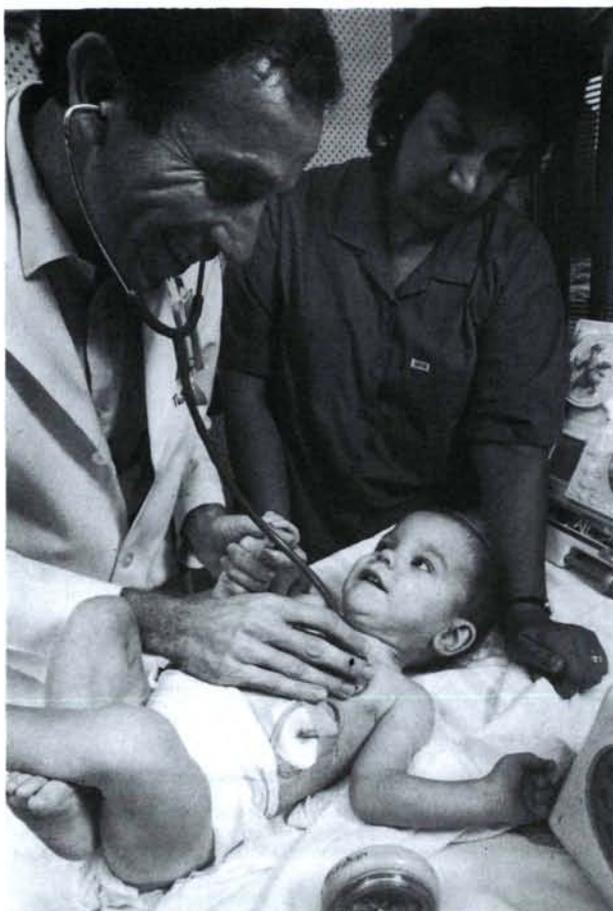
Protocolos genéricos

En todos los países el estado nutricional de determinados segmentos de la población o grupos de edades constituye una preocupación constante para los profesionales de la esfera de la salud. En este contexto, debería aplicarse universalmente una serie de mediciones genéricas de isótopos estables que requieren poca o ninguna adaptación a las condiciones locales. Entre los consultores del OIEA se ha llegado al consenso de que en esos protocolos deberían incluirse estudios con trazadores que persiguieran los siguientes objetivos:

- Estimar el gasto total de energía de la persona.
- Determinar la masa corporal magra, y, por ese medio, el porcentaje de grasa corporal.



Es fácil obtener muestras del aliento para medir la relación isotópica del dióxido de carbono, incluso en el caso de sujetos jóvenes. Las muestras se conservan en recipientes al vacío hasta el momento del análisis.



La evaluación de la composición corporal mediante isótopos de agua revela la proporción de energía dietaria depositada con masa corporal magra o como reserva de grasa. (Cortesía de Jack Dykinga, USDA/ARS)

- Proporcionar una medición general sencilla del flujo de nitrógeno.
- Medir el mejoramiento de la absorción y utilización de los nutrientes después de una enfermedad diarreica.

Estimación del gasto total de energía. El gasto calórico de una persona sufre grandes variaciones a lo largo de un día; los niveles más bajos ocurren durante el sueño y los más altos durante los períodos de esfuerzo, como cuando trabaja o realiza ejercicios. Las estimaciones convencionales del gasto de energía se basan en las tasas individuales de consumo de oxígeno y producción de dióxido de carbono, que por lo general se miden cuando la persona está en estado de reposo. Resulta difícil, restrictivo y engorroso medir en el terreno el gasto de energía de una persona analizando el gas respiratorio durante toda su actividad. Además, la integración a largo plazo de la duración de las actividades con sus diferentes intensidades plantea muchos problemas.

Existe una técnica recién validada (basada en la utilización de $^2\text{H}_2\text{O}$ y H_2^{18}O) que promete obviar estas dificultades. Cuando a un individuo se le administra agua marcada doblemente, ambos isótopos se mezclan con el líquido corporal y se eliminan en los fluidos orgánicos durante varios días. La producción de líquido corporal puede estimarse a partir de mediciones diarias de la concentración de hidrógeno 2 en muestras de orina

o saliva. Cuando las muestras se analizan para descubrir oxígeno 18, los valores reflejarán una tasa de excreción más rápida que en el caso del deuterio porque el oxígeno 18 está incorporado también en el dióxido de carbono que se exhala. La diferencia entre las tasas de excreción de los trazadores de oxígeno 18 e hidrógeno 2 indica así el volumen de dióxido de carbono producido durante el período de observación. Este parámetro se puede utilizar para calcular el gasto total de energía del individuo.

Según las condiciones climáticas y los niveles de actividad metabólica, la técnica del agua marcada doblemente cuantificará con exactitud el gasto de energía durante 5 a 18 días. Esas mediciones indicarán, por ejemplo, si existen entre las poblaciones diferencias significativas en cuanto a la energía necesaria para realizar actividades físicas análogas.

Determinación de la masa corporal magra. Frecuentemente se utilizan mediciones antropométricas de estatura, peso y grosor de la piel para estimar la proporción de masa corporal magra y grasa corporal total de las personas. Estas estimaciones se basan en valores específicos de la población que se consideran adecuados para una persona y se han validado relacionándolos con mediciones directas del líquido corporal total efectuadas mediante la dilución de isótopos. Se administra una dosis trazadora de agua marcada con hidrógeno 2 y oxígeno 18, y se espera de 4 a 6 horas para permitir que se equilibre. La concentración de isótopos en la saliva o la orina reflejará la dilución experimentada por el isótopo. En el caso de personas normales y saludables, este espacio —que representa el líquido corporal total— comprende un 73% de la masa corporal magra, pero puede ser mayor en personas malnutridas. Una vez calculada la masa corporal magra, la diferencia entre ésta y el peso corporal es la cantidad de tejido adiposo (graso). La evaluación de los cambios que se operan en la composición corporal es fundamental a raíz de períodos de inanición y durante la recuperación del ritmo normal de crecimiento y la maduración, así como durante el embarazo y la lactancia.

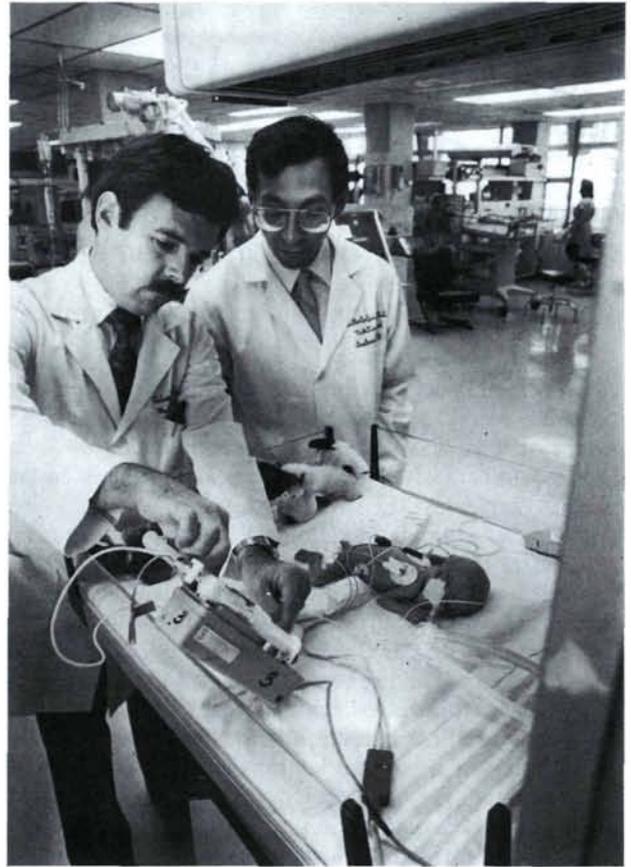
Medición sencilla del flujo general de nitrógeno. El nitrógeno dietario (proteína) se descompone en distintos aminoácidos que participan en la síntesis de proteínas en todo el organismo y que, a su vez, se catabolizan hasta urea y amoníaco. Durante períodos de tensión, los procesos catabólicos que actúan sobre la proteína orgánica predominan sobre los procesos de síntesis y se establece un equilibrio negativo entre la ingestión de alimentos y las pérdidas catabólicas. Si bien los análisis y registros cuidadosos de la ingestión de nitrógeno por vía dietaria y su excreción pueden revelar tendencias a largo plazo en el equilibrio de nitrógeno, es preciso efectuar una medición operacional que indique la producción de proteína en todo el organismo. Una medición de ese tipo se obtiene mediante la administración por vía oral de una dosis única de un aminoácido o, preferentemente, de una proteína, marcada con nitrógeno 15. Valga como ejemplo la levadura cultivada en un medio que contenga $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Se recoge orina durante un intervalo de 9 a 12 horas y se determinan las cantidades de nitrógeno trazador en el NH_3 de la orina y en la urea. El promedio tanto aritmético como armónico de estos dos valores proporciona una estimación confiable de la producción

de proteína en todo el organismo, que es insensible a los cambios en el metabolismo del nitrógeno no proteínico. El ensayo se realiza fácilmente, la recogida de la muestra es sencilla, y los requisitos analíticos son modestos. De ahí que el método sea ideal para realizar estudios sobre la idoneidad de la ingestión de proteína por vía dietaria en la realimentación después del kwashiorkor u otra forma de malnutrición.

Absorción y utilización de nutrientes después de una enfermedad diarreica. Los niños nacidos en países en desarrollo que se alimentan con leche materna suelen sufrir reiterados episodios de diarrea después del destete. Estos episodios de diarrea provocan deshidratación e interrumpen la absorción de nutrientes como consecuencia del daño ocasionado a la mucosa intestinal por el organismo infectante. Durante el período de infección, la asimilación de los nutrientes es insuficiente para mantener el crecimiento y desarrollo del lactante. Para que se toleren los alimentos sólidos, se absorban los nutrientes, y se produzca una aceleración del crecimiento y luego su normalización, es preciso que se regenere la capacidad del intestino delgado. Se ha sugerido el atole o el agua de arroz como sustituto de otros fluidos rehidratantes porque los carbohidratos o almidones necesarios se administrarían de una forma fácil de asimilar. La prueba de la eficacia de ese régimen de alimentación está apoyada por la producción de arroz marcado con carbono 13 (mediante la exposición a $^{13}\text{CO}_2$ durante períodos de fotosíntesis). La planta incorpora eficazmente el dióxido de carbono marcado en el grano de arroz, en forma de almidón, proteína y grasa. Una vez que el arroz se cuece y posteriormente se administra como alimento, es posible detectar (y medir) la digestión y absorción del almidón a partir de la presencia de dióxido de carbono marcado en las muestras del aliento. El grado de malabsorción puede estimarse a partir del carbono trazador que se recupera en el contenido de carbono total de la deposición. Ambas mediciones pueden servir de pauta para la formulación de prácticas de realimentación basadas en alimentos autóctonos.

Importancia de la planificación en los programas de nutrición

En todos los países, los profesionales de la esfera de la salud procuran reducir la mortalidad infantil y vencer la malnutrición y la atrofia del crecimiento de los niños. También tratan de asegurar que las mujeres embarazadas y lactantes ingieran dosis de nutrientes adecuadas, y de determinar la ingesta de nutrientes recomendada para las actividades cotidianas de la población en general. La magnitud de los recursos agrícolas que se requieren para atender estos objetivos y la manera en que éstos se asigne sólo pueden determinarse después de una evaluación precisa de las necesidades existentes. Teniendo en cuenta la diversidad de condiciones de terreno, niveles de capacitación técnica y disponibilidad de instrumentos, el progreso futuro exige la creación de técnicas seguras, sencillas y confiables para efectuar estas mediciones. A medida que aumente la experiencia con los trazadores isotópicos estables, su utilización podrá dar respuesta a las principales preguntas que se formulan en materia de nutrición a escala internacional.



Utilización de trazadores no radiactivos para determinar las necesidades de nutrientes de niños prematuros. (Cortesía de Jack Dykinga, USDA/ARS)

Próximo programa coordinado de investigación del OIEA

A veces la preocupación que suscitan las dosis de radiación limita el empleo de radisótopos trazadores en los estudios nutricionales y médicos, aun cuando la dosis utilizada sea muy pequeña. En muchos países adelantados se está desviando la atención hacia la posible aplicación de isótopos estables, los cuales son intrínsecamente tan seguros que incluso pueden utilizarse en estudios con lactantes, niños y mujeres embarazadas o lactantes.

Como parte del trabajo en esta esfera, el OIEA prevé un nuevo programa coordinado de investigación sobre aplicaciones de isótopos estables en los estudios acerca de la nutrición humana y de las enfermedades relacionadas con la nutrición. Se espera que este programa se dedique en particular a efectuar mediciones de la producción de proteínas y el gasto de energía en grupos de población seleccionados, principalmente en países en desarrollo. Se prevé también la posibilidad de que el Organismo apoye esta labor mediante proyectos de cooperación técnica y becas de estudio.

En general, el objetivo de estas actividades del OIEA y otras conexas en la esfera de la nutrición y la salud es aprovechar al máximo las posibilidades de las técnicas analíticas nucleares y los estudios de trazadores isotópicos en la vigilancia y evaluación del estado nutricional de la población humana y su exposición a contaminantes tóxicos.

Para obtener más información puede dirigirse a la División de Ciencias Biológicas del OIEA.