

Les isotopes stables dans les pays en développement: des indicateurs sûrs pour mesurer l'état nutritionnel de l'être humain

Les «indicateurs silencieux» non radioactifs donnent la réponse à d'importantes questions

par Peter D. Klein et E. Roseland Klein

Combien de calories sont utilisées lorsqu'une femme allaite son enfant? Quelle est la quantité de lait absorbée par un bébé en une semaine? Quels sont les effets de l'environnement sur les besoins énergétiques des enfants? Dans quelle mesure les protéines permettent-elles la synthèse des éléments constitutifs du corps? Quels sont les aliments les plus nutritifs pour un enfant relevant d'une maladie intestinale, telle la diarrhée?

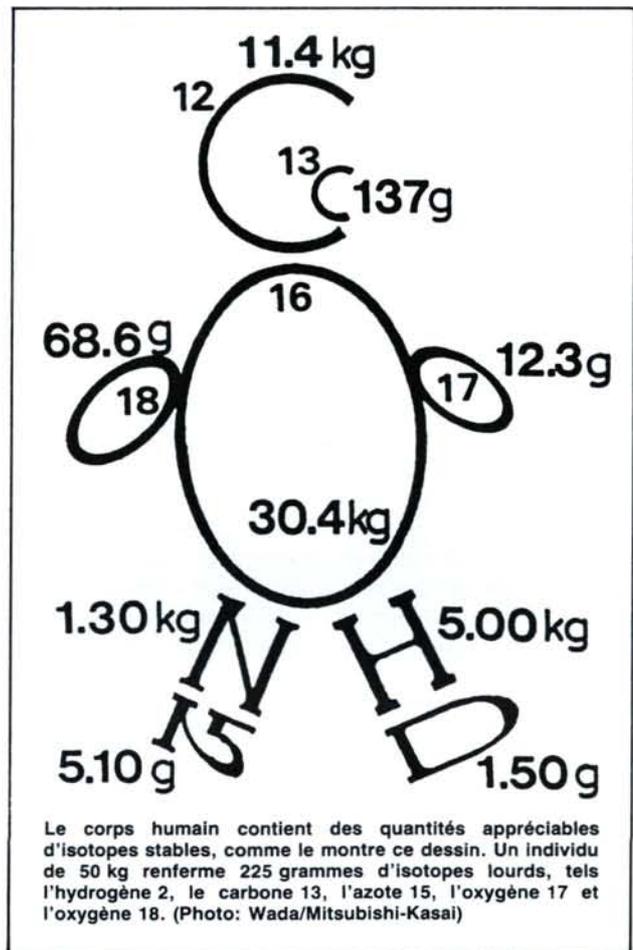
On peut trouver des réponses quantitatives à ces questions en utilisant des traceurs (indicateurs, marqueurs) isotopiques non radioactifs. Ces réponses sont importantes pour évaluer l'état nutritionnel des bébés, des enfants, des femmes enceintes ou qui allaitent, ainsi que des gens qui subsistent avec un régime alimentaire marginal. Les isotopes stables ne présentent aucun risque; on peut donc les utiliser librement comme indicateurs dans des études intéressant la santé, la nutrition et l'agriculture, et ce dans toutes les populations.

Quels sont ces isotopes stables?

Les études sur les processus vitaux portent sur le comportement d'un nombre limité d'éléments: l'hydrogène (H), le carbone (C), l'azote (N) et l'oxygène (O). Chacun de ces éléments existe à l'état naturel sous deux formes stables ou plus qui ne diffèrent que par le nombre de neutrons de leur noyau. Pour chacun d'eux, le principal isotope léger (l'hydrogène 1, le carbone 12, l'azote 14 ou l'oxygène 16) est accompagné d'un ou de plusieurs isotopes mineurs plus lourds présents dans des proportions constantes variant de 0,02% à 1,11%, selon l'élément. Une personne pesant 50 kg possède un total de 225 grammes d'hydrogène 2, de carbone 13, d'azote 15, d'oxygène 17 et d'oxygène 18 (voir le dessin).

Bien que le rapport de l'hydrogène 2 à l'hydrogène 1, du carbone 13 au carbone 12, de l'azote 15 à

l'azote 14 et de l'oxygène 18 à l'oxygène 16 puisse néanmoins varier, chaque isotope se rencontre dans une proportion caractéristique à laquelle les mesures effectuées sur les marqueurs sont rapportées. Pour ces études, chaque élément peut être enrichi à 99% ou plus en isotope lourd. Les techniques utilisent de légères variations de taux dans les processus d'échange (par exemple, pour le deutérium) ou la distillation cryo-



M. Peter D. Klein est directeur du Laboratoire des isotopes stables et Mme E. Roseland Klein est rédactrice scientifique du Centre de recherche sur la nutrition des enfants, Département de l'agriculture des Etats-Unis, service de la recherche agricole, et de la Division de pédiatrie, Baylor College of Medicine et Texas Children's Hospital, Houston, Texas 77030 (Etats-Unis).



génique pour l'oxyde de carbone ou l'oxyde azoteux, qui élimine l'isotope le plus léger et concentre les plus lourds. La forme enrichie (par exemple, $^2\text{H}_2\text{O}$ ou H_2^{18}O) peut être utilisée directement, $^{13}\text{CO}_2$ peut être incorporé dans des végétaux par des techniques de biosynthèse, ou l'isotope peut passer, par l'intermédiaire d'une synthèse organique, dans une matière grasse, un hydrate de carbone ou un acide aminé qui sont ainsi marqués.

Comment utilise-t-on les isotopes stables dans les études sur la nutrition?

Peu après la découverte du deutérium, en 1932, Schoenheimer et Rittenberg ont effectué la première étude sur la nutrition en utilisant cet isotope stable comme indicateur. Ils ont nourri deux souris avec de l'huile de lin partiellement hydrogénée (par le deutérium) et s'attendaient à voir le deutérium rapidement éliminé par oxydation des matières grasses en gaz carbonique et en eau. Or, ils ont récupéré moins de la moitié de la quantité prévue du marqueur dans l'urine et découvert que la quantité restante avait été incorporée dans les réserves de graisse du corps des souris. C'est ainsi qu'ils démontrèrent pour la première fois la nature dynamique des éléments constitutifs du corps.

A l'heure actuelle, le grand attrait des traceurs isotopiques stables, en plus de leur sûreté, réside dans le fait qu'on peut les administrer oralement et que les produits métaboliques qui les contiennent (par exemple, l'eau corporelle, le gaz carbonique de la respiration, l'urée) peuvent être mesurés dans l'air expiré, la salive, le lait, l'urine et les selles. Le recours à des techniques de prélèvement qui n'agressent pas le corps simplifie les études et facilite le recrutement et la coopération des sujets.

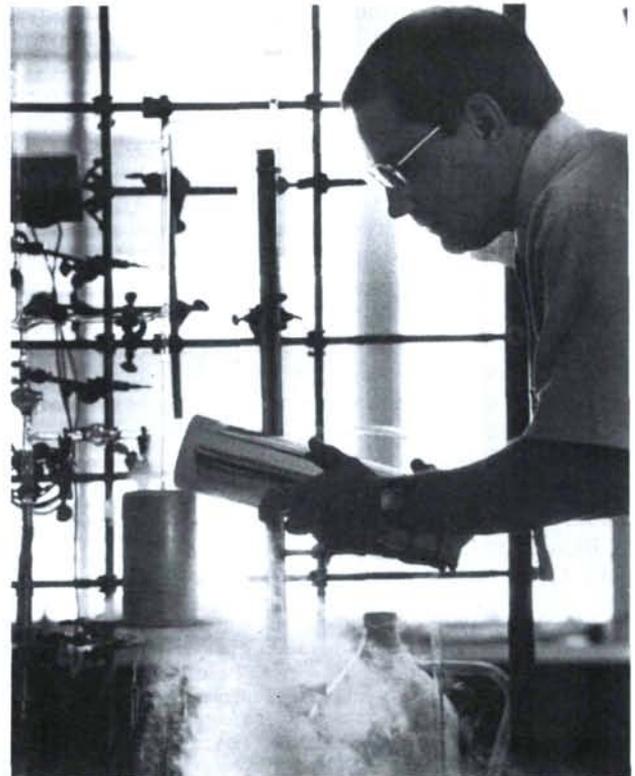
Comment mesure-t-on les marqueurs isotopiques stables?

On appelle souvent les isotopes stables «marqueurs silencieux», car ils n'émettent aucun rayonnement mesurable de l'extérieur et leur présence en quantité

supérieure aux teneurs naturelles ne se détecte que par la variation du rapport de l'isotope mineur à l'isotope majeur. Pendant de nombreuses années, la mesure de ce rapport a exigé l'emploi de spectromètres de masse qui permettaient de séparer et de quantifier les formes légères et lourdes de la même molécule. Dans ces appareils, un échantillon purifié du gaz à étudier est introduit par un orifice très étroit dans une source d'ions sous vide. Les molécules gazeuses sont bombardées par un faisceau d'électrons; elles acquièrent ainsi une charge positive et sont ensuite accélérées dans un champ magnétique pour se séparer en fonction de leur masse et être recueillies par des collecteurs séparés. Ce faisant, les ions créent des courants proportionnels à leur nombre, ce qui permet de quantifier.

La spectrométrie de masse fournit des mesures très justes et très précises des teneurs isotopiques, mais exige de gros investissements et des installations auxiliaires considérables pour la préparation, la purification et l'analyse des échantillons. C'est pourquoi on étudie d'autres techniques, notamment celle de spectroscopie optique, par exemple, qui permettent des analyses plus simples et moins onéreuses. La spectrométrie d'émission a déjà permis des milliers d'analyses d'échantillons d'azote 15 recueillis pour la recherche agronomique et sert également aux études sur la nutrition qui utilisent ce même isotope. Les mesures de l'absorption infrarouge servent à déterminer la concentration en deutérium des fluides corporels, et on a récemment rendu compte d'un nouveau principe hétérodyne dans l'infrarouge, qui permettra de mesurer les rapports isotopiques (carbone 13/carbone 12) du gaz carbonique expiré.

Les matières solides peuvent être réduites, par combustion, en gaz carbonique et en eau, puis purifiées en vue de leur analyse isotopique sous vide. (Photo: Jack Dykinga, USDA/ARS)



Ainsi, un ensemble d'appareils peu coûteux et d'emploi simplifié se prépare et devrait intéresser les pays en développement.

Protocoles génériques

Les spécialistes de la santé publique de tous les pays se soucient périodiquement de l'état nutritionnel de secteurs ou de groupes d'âge spécifiques d'une population donnée. Dans ce contexte, une série de dosages génériques d'isotopes stables ne nécessitant pratiquement aucune adaptation aux conditions locales devrait pouvoir s'appliquer universellement. Les consultants auprès de l'AIEA sont convenus que ces protocoles devraient comprendre des études par marqueur pour:

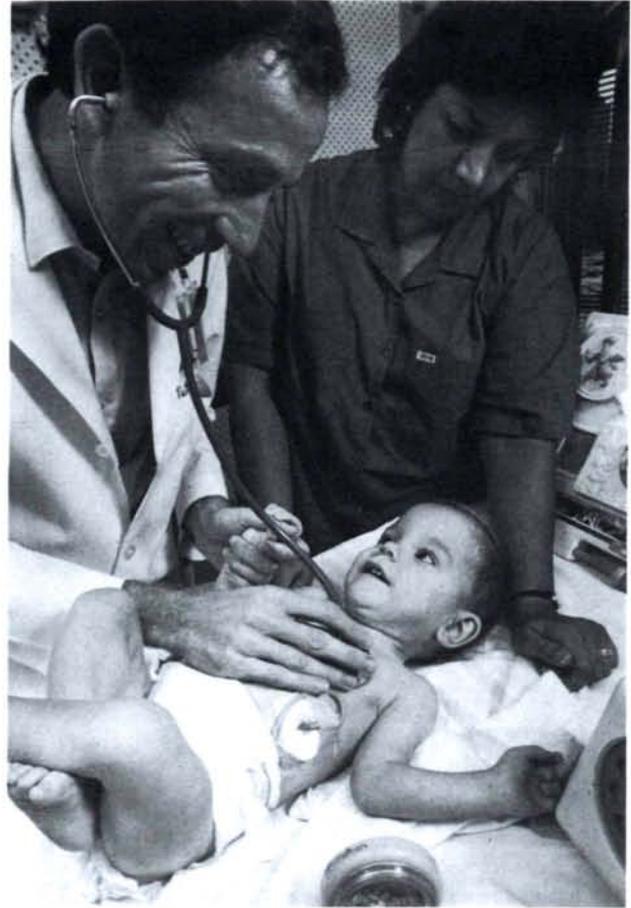
- Evaluer la dépense totale d'énergie de l'individu
- Déterminer la masse corporelle maigre et, donc, le pourcentage de graisse
- Fournir une mesure globale simple du flux d'azote
- Mesurer l'amélioration de l'absorption et de l'assimilation des éléments nutritifs après une diarrhée

Evaluation de la dépense totale d'énergie. La dépense de calories d'un individu varie beaucoup au cours d'une même journée; la consommation est minimale au cours du sommeil et maximale pendant les périodes d'effort, par exemple pendant le travail ou les exercices sportifs. Les mesures classiques de la dépense d'énergie se fondent en général sur le rythme de consommation d'oxygène et la production de gaz carbonique; elles se font habituellement à l'état de repos, car l'analyse de la respiration tout au long d'une gamme d'activités est difficile, restrictive et incommode. En outre, l'intégration à long terme de la durée d'activités d'intensités diverses pose de nombreux problèmes.

Une nouvelle technique (s'appuyant sur $^2\text{H}_2\text{O}$ et H_2^{18}O) permet de tourner ces difficultés. Lorsqu'on administre de l'eau doublement marquée à un sujet, les deux isotopes se mélangent à l'eau du corps et sont éliminés dans les fluides corporels en quelques jours. Le renouvellement de l'eau corporelle peut être estimé à partir de mesures quotidiennes de la concentration d'hydrogène 2 dans les spécimens d'urine ou de salive. Quant à l'oxygène 18, les valeurs témoignent d'un rythme d'excrétion plus rapide que celui du deutérium, car l'oxygène 18 passe également dans le gaz carbonique expiré. La différence des taux d'excrétion des deux marqueurs permet de déduire le volume de gaz carbonique produit pendant la période d'observation. Ce paramètre peut servir à calculer la dépense totale d'énergie du sujet.

En fonction des conditions climatiques et de l'activité métabolique, la technique de l'eau doublement marquée permet de mesurer les dépenses d'énergie avec précision sur une période de 5 à 18 jours. Ces mesures indiqueront, par exemple, s'il existe des différences nettes, entre populations, en ce qui concerne l'énergie requise pour des activités physiques analogues.

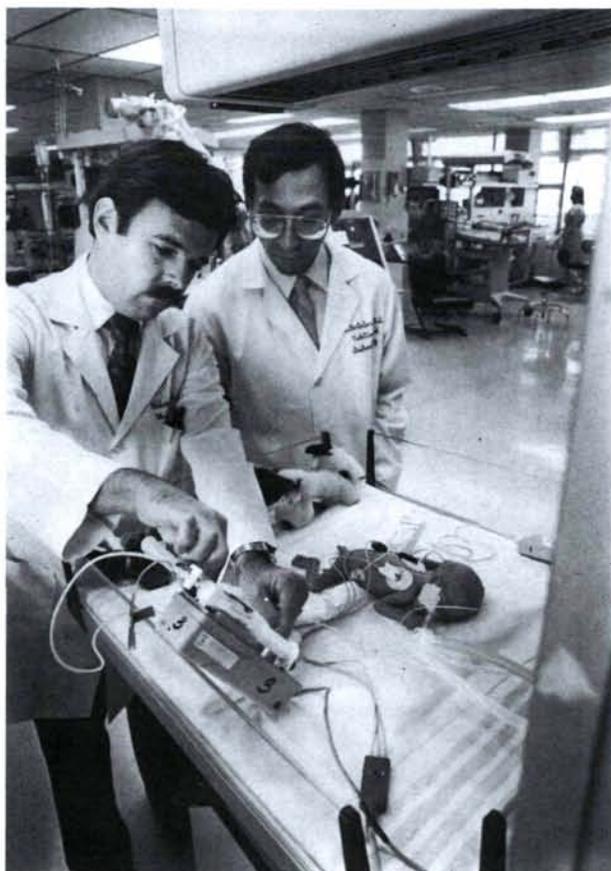
Détermination de la masse corporelle maigre. On fait souvent des mesures anthropométriques de la taille, du poids et de l'épaisseur des plis de la peau pour évaluer la proportion de masse maigre et de graisse chez un sujet. Ces évaluations se fondent sur des valeurs propres à une population donnée, censées convenir à un individu; elles ont été validées par comparaison avec des



La mesure des éléments constitutifs du corps à l'aide d'eau marquée à l'hydrogène ou à l'oxygène lourds montre que l'énergie ingérée se transforme en masse maigre et en réserves de graisse. (Photo: Jack Dykinga, USDA/ARS)

mesures directes de l'eau du corps par dilution isotopique. Une dose d'eau marquée à l'hydrogène 2 ou à l'oxygène 18 est administrée; l'état d'équilibre est atteint en 4 à 6 heures. La concentration de l'isotope dans la salive ou l'urine rend compte de la dilution de l'isotope. Chez un individu normal en bonne santé, cet espace — qui représente la totalité de l'eau du corps — correspond à environ 73% de la masse maigre, mais quelquefois plus chez les personnes souffrant de malnutrition. Une fois la masse maigre calculée, la différence par rapport au poids total correspond à la quantité de tissu adipeux. L'évaluation des modifications de cette répartition est essentielle après des états d'inanition dus à la malnutrition, pendant les périodes de croissance de rattrapage, ainsi que pendant la grossesse et l'allaitement.

Mesure simple du flux global d'azote. L'azote apporté par les aliments (les protéines) se répartit entre les différents acides aminés, qui ont un rôle dans la synthèse des protéines du corps et se transformant, par catabolisme, en urée et en ammoniacque. En période de tension, les processus de catabolisme qui agissent sur les protéines du corps l'emportent sur les processus synthétiques, ce qui entraîne un déséquilibre entre l'apport par les aliments et les pertes par catabolisme. S'il est vrai que des analyses bien faites et le calcul de l'azote absorbé et rejeté permettent de détecter les tendances à



Les traceurs non radioactifs servent à évaluer les besoins alimentaires des enfants prématurés. (Photo: Jack Dykinga, USDA/ARS)

long terme de l'équilibre en azote, il faut une mesure opérationnelle qui rende compte du renouvellement des protéines du corps. Cette mesure est possible par l'administration orale d'une dose unique d'un acide aminé ou, de préférence, d'une protéine, marquée à l'azote 15, par exemple, la levure d'une culture contenant $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. On recueille les urines pendant 9 à 12 heures et l'on détermine les quantités du marqueur dans le NH_3 urinaire et dans l'urée. Une moyenne arithmétique ou harmonique de ces deux valeurs donnent une estimation fiable du renouvellement des protéines du corps, indépendamment des variations du métabolisme de l'azote non protéique. Ce test est facile à administrer, la collecte des échantillons est simple, et l'analyse ne présente pas de difficultés. Cette méthode est donc idéale pour le calcul de l'apport de protéines dans le cas d'une réalimentation après un kwashiorkor ou d'autres formes de malnutrition.

Absorption et assimilation d'éléments nutritifs après la diarrhée. Les enfants des pays en développement qui sont allaités souffrent souvent de diarrhée après le sevrage. Ces épisodes provoquent la déshydratation et interdisent l'assimilation en raison de l'irritation de la muqueuse intestinale par l'organisme cause de l'infection. Pendant la période d'infection, l'ingestion d'éléments nutritifs est insuffisante pour soutenir la croissance et le développement de l'enfant. Le rétablissement de la fonction de l'intestin grêle est indispensable avant que l'enfant puisse tolérer des aliments solides, assimiler les éléments nutritifs, rattraper le

retard de croissance et reprendre une croissance normale. On a proposé l'eau de riz ou la bouillie de riz, de préférence aux autres fluides réhydratants, car elles contiennent des hydrates de carbone ou de l'amidon sous une forme facile à assimiler. L'efficacité de ce régime est renforcée par la production de riz marqué au carbone 13 (en l'exposant à $^{13}\text{CO}_2$ pendant les périodes de photosynthèse). La plante incorpore le gaz carbonique marqué dans le grain de riz, sous forme d'amidon, de protéine, de matières grasses. Lorsqu'on donne le riz cuit à l'enfant, on peut suivre (et mesurer) la digestion et l'absorption de l'amidon d'après la teneur en gaz carbonique marqué des échantillons d'air expiré. Le défaut d'assimilation peut être évalué d'après le carbone marqueur présent dans le carbone des selles. Ensemble, ces mesures peuvent améliorer les pratiques de réalimentation à l'aide de produits alimentaires locaux.

Importance de la planification des programmes de nutrition

Les services de la santé publique du monde entier cherchent à faire baisser la mortalité infantile, surmonter la malnutrition et favoriser la croissance des enfants. Ils s'efforcent également de fournir une alimentation suffisante aux femmes enceintes ou qui allaitent, et de déterminer les éléments nutritifs qu'il faut aux populations pour leurs activités courantes. Les ressources agricoles nécessaires pour atteindre ces objectifs, et leur répartition, ne peuvent être déterminées que si les besoins sont évalués avec précision. Etant donné la diversité des conditions, des niveaux de formation technique et des matériels, il faut, pour progresser, disposer de techniques sûres, simples et fiables. A mesure que l'usage des marqueurs isotopiques stables se répand, les possibilités de résoudre les grands problèmes nutritionnels du monde se multiplient.

Le programme de recherche coordonnée de l'AIEA

L'inquiétude que suscitent les rayonnements limite quelquefois le recours aux radio-indicateurs dans les études sur la nutrition et la santé, bien que les doses utilisées soient infimes. Dans de nombreux pays développés, on s'intéresse de plus en plus à l'application d'isotopes stables qui, de par leur nature, peuvent être administrés sans le moindre risque aux bébés, aux enfants et aux femmes enceintes ou qui allaitent.

Suivant ce mouvement, l'AIEA étudie un nouveau programme de recherche coordonnée sur l'application des isotopes stables aux études de la nutrition et des maladies associées, dont l'objet sera de mesurer le renouvellement des protéines et la dépense d'énergie chez certaines populations, notamment de pays en développement. On prévoit également que l'Agence pourra appuyer ce genre de travaux en proposant des projets de coopération technique et des bourses de formation.

De manière générale, les activités de l'AIEA dans ce domaine visent à exploiter le potentiel des techniques nucléaires d'analyse et des applications des indicateurs isotopiques pour suivre et évaluer l'état nutritionnel de populations humaines et leur exposition aux polluants toxiques.

On pourra se procurer un complément d'information auprès de la Division des sciences biologiques de l'AIEA.