

MEDICION DE INGESTA DE LIQUIDOS EN BASE A LA DILUCION DEL DEUTERIO¹

*Carlos Infante B.,² Waldo Lara C.,³ Francisco Mardones S.,⁴
Pedro Rosso R.⁵ y Fernando Vio del R.⁴*

Universidad de Chile, Santiago, Chile
Universidad de São Paulo, Brasil, y
Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

RESUMEN

Se estudiaron aspectos metodológicos y la validación del método de dilución con deuterio, el cual ha sido propuesto para medir la ingesta de leche materna. Una experiencia realizada en niños de 2 a 3 meses de edad, con estado nutricional normal, indicó que el equilibrio isotópico se alcanza de 6 a 8 horas después de administrar inicialmente una solución de deuterio al 16.5⁰/o.

Las mediciones de líquido ingerido, efectuadas en el grupo de niños en período de recuperación de desnutrición marásmica, permitieron comparar los resultados de la dilución isotópica con el registro directo de leche administrada con biberón. Esta comparación reveló una buena correlación entre los valores respectivos al estimar el agua corporal total con la fórmula de Friis-Hansen.

Los resultados sugieren que la técnica de dilución con deuterio es una valiosa alternativa frente a los métodos habituales que se utilizan para medir la ingesta de leche humana.

Manuscrito modificado recibido: 19-7-88.

- ¹ Los autores se citan en orden alfabético, dado el reconocimiento equivalente en la labor realizada.
- ² Departamento de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile.
- ³ Comisión Chilena de Energía Nuclear. Centro de Energía Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Caixa Postal 96, CEP 13400, Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- ⁴ Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.
- ⁵ Departamento de Pediatría, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica, Santiago, Chile.

INTRODUCCION

Coward *et al.* (1) describieron una técnica de dilución isotópica con deuterio para medir la ingestión de leche humana. Esta se basa en el enriquecimiento del agua corporal del niño mediante una dosis conocida de isótopo, y la medición del cambio en la concentración de deuterio en el transcurso del tiempo, según la técnica de medición de deuterio por espectroscopía de masas de Halliday y Miller (2). Las muestras representativas del enriquecimiento del agua corporal se obtienen midiendo el contenido de deuterio en la saliva del niño.

No obstante, la literatura no ha comunicado resultados de estudios relacionados con tres aspectos metodológicos fundamentales para un manejo adecuado de la técnica. Estos son: a) la determinación de la dosis inicial de deuterio que debe suministrarse al niño para obtener posteriormente muestras de saliva suficientemente enriquecidas para medir por espectrometría de masas; b) la determinación de la vida biológica del isótopo en el organismo del niño, de lo cual depende la duración óptima del experimento, y c) el tiempo de dilución homogénea del deuterio en el agua corporal. Por otra parte, parece evidente la necesidad de validar este método a través de experimentos controlados en que sus resultados se comparen con la medición directa del volumen de líquidos ingeridos por los niños. Nuestros hallazgos en cuanto a este último punto fueron publicados parcialmente (3). En el artículo que ahora nos ocupa se dan a conocer los resultados de dos experimentos en que se abordaron los cuatro temas señalados.

MATERIAL Y METODOS

Los tres primeros aspectos fueron estudiados en forma ambulatoria en tres niños de dos a tres meses de edad, a los que se les suministró una dosis enriquecida de D_2O después de haber tomado una muestra de saliva para determinar el nivel basal de deuterio. En las ocho horas siguientes se tomaron muestras de saliva a intervalos de aproximadamente 1.5 horas y, posteriormente, cada dos días durante los 14 días siguientes. La dosis inicial de deuterio fue suministrada de acuerdo al peso corporal, entregando 2 ml de una solución al 16.5^o/o a niños cuyo peso era entre 3 y 3.99 kg, y luego 0.5 ml por cada kg de peso adicional.

La validez del método fue sometida a estudio en un segundo experimento, el cual se llevó a cabo en 10 niños internados en un centro de recuperación nutricional y alimentados exclusivamente con leche artificial, de manera que se podía medir todo el líquido ingerido. Estos niños —que estaban en la fase final de recuperación de desnutrición marásmica— llevaban al menos un mes internados con sobrealimentación y no tenían infecciones concomitantes. Sus edades fluctuaban entre 86 y 269 días y pesaban entre 3,270 y 5,950 g. El experimento se efectuó durante 14 días, tomando la primera muestra de saliva a las 9 hr de la dosis inicial (1 ml por kg de peso de una solución de D_2O al 16.5^o/o), y luego cada dos días. En este período se pudo comparar la ingesta diaria de líquido medida en forma directa de los biberones graduados, con los valores

determinados por el método de dilución de deuterio. Los hallazgos de este estudio también sirvieron para complementar los datos del primero.

Las muestras de saliva con volúmenes aproximados de 1 ml, y tomadas con una jeringa de tuberculina sin aguja, fueron procesadas en la Comisión Chilena de Energía Nuclear, destilándolas en vacío para separar la fracción acuosa, y reduciendo ésta a H_2 gaseoso y UO_2 en el interior de un horno con uranio metálico a $750^\circ C$. La fracción de deuterio a hidrógeno en el gas liberado se analizó por espectrometría de masas en un instrumento Micromass 602 C (Vg Isotopes Ltd.), calibrado contra un patrón VIENNA-SMOW de la Agencia Internacional de Energía Atómica.

La ingesta diaria de líquidos fue calculada de la fórmula

$$F(l/d) = TBW(1/kg) W(kg) m(d^{-1})$$

donde F es la ingesta diaria de líquido promediada durante la duración del experimento. TBW es la fracción de agua corporal (total body water), W el peso del niño, y m la pendiente de la curva que da la variación logarítmica de enriquecimiento con el tiempo. El inverso de m es T , la vida media biológica del isótopo.

RESULTADOS Y DISCUSION

El primer conjunto de experiencias intentó determinar las condiciones óptimas para medir ingesta de líquido por dilución isotópica. Los resultados revelaron tres etapas bien definidas en la variación temporal de la concentración isotópica (Figura 1).

- a) Primero, un período de homogeneización del isótopo en el agua corporal del niño hasta alcanzar una distribución de equilibrio.
- b) Un período en el que el enriquecimiento E del isótopo en el agua corporal del niño, disminuye exponencialmente de acuerdo a

$$E = E_0 \exp(-t/T)$$

donde t es el tiempo desde que se administró la dosis de deuterio, E_0 es el enriquecimiento inicial y T es la vida media biológica del isótopo. T es un parámetro experimental importante del cual depende la precisión con la que se puede medir la ingesta de líquido F .

- c) Finalmente, un período en el que el enriquecimiento del isótopo sobre el nivel basal se hace tan pequeño que se pierde el comportamiento exponencial, y las mediciones se acercan en forma errática al nivel basal.

De acuerdo a resultados obtenidos en tres niños a quienes se les midió el enriquecimiento de deuterio en la saliva a intervalos regulares durante las ocho primeras horas, la distribución isotópica de equilibrio se alcanza entre las 6 y 8 horas de administrada la dosis inicial, cuando los enriquecimientos isotópicos entran a un régimen de disminución exponencial. Ello lo ilustra la Figura 2, donde se comparan los enriquecimientos observados con los enriquecimientos obtenidos por extrapolación del régimen exponencial a las primeras horas de la experiencia. Estos últimos se han

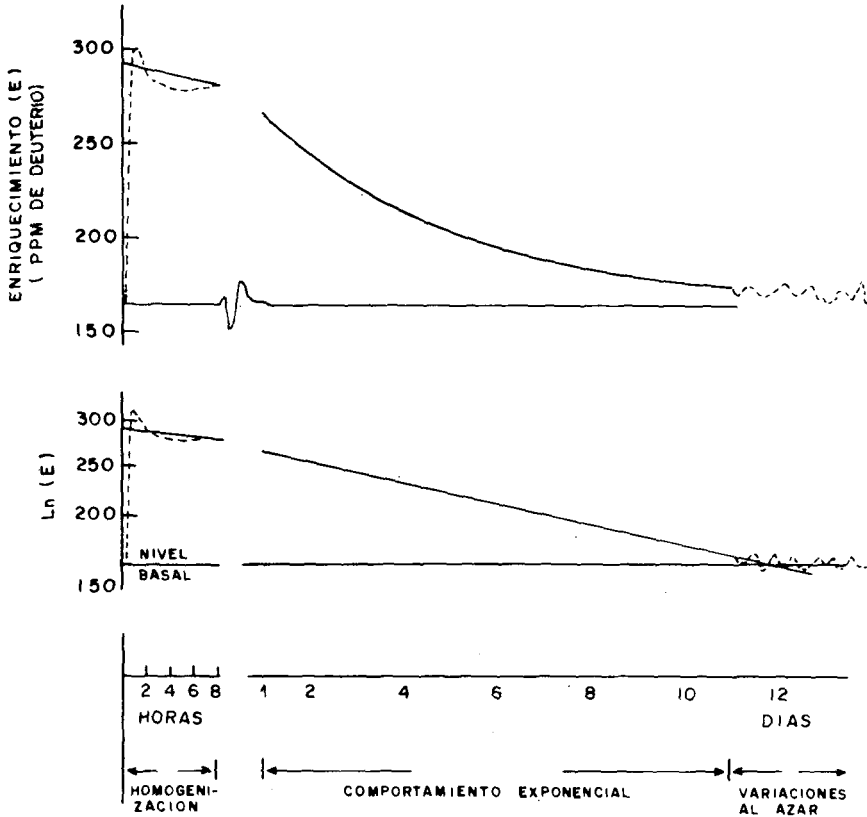


FIGURA 1

Las tres etapas de un experimento de dilución isotópica. Datos típicos para un lactante a los tres meses. Arriba se muestra la curva exponencial en escala aritmética, y abajo la recta que resulta al usar una escala logarítmica; la línea punteada ilustra el comportamiento real, y la línea continua el modelo teórico, coincidiendo ambas en la zona de comportamiento exponencial

normalizado —o sea que el enriquecimiento medido se muestra como fracción del extrapolado— para permitir la comparación entre las mediciones para los tres niños. El plazo en que se logra el equilibrio es inferior al de 24 hr encontrado por Mac Lennan *et al.* (4). El resultado también contradice la hipótesis de trabajo usada por Coward *et al.* (1) y Butte *et al.* (5), quienes suponen equilibrio entre 1.5 y 2 horas después de la dosis inicial, y

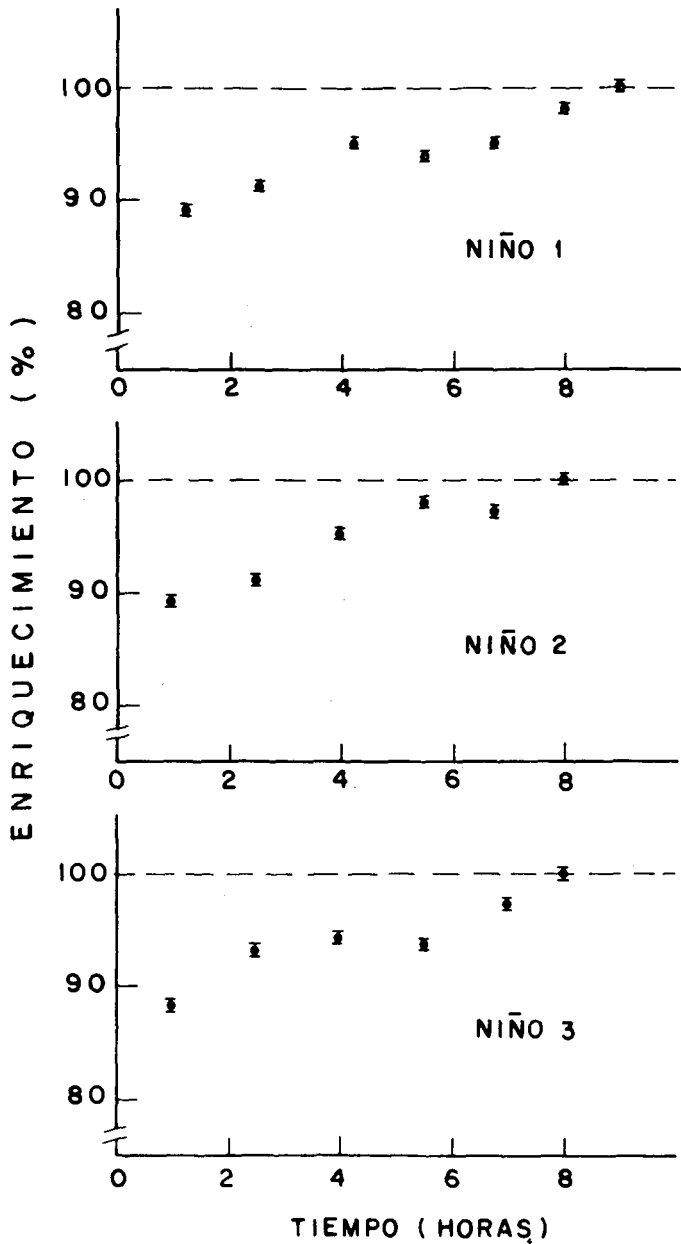


FIGURA 2

Acercamiento a la concentración homogénea. Para cada niño se muestra el enriquecimiento medido (puntos experimentales) expresado como porcentaje del enriquecimiento extrapolado del régimen exponencial a las primeras horas de la experiencia (línea de trazos).

probablemente explique en parte los pobres acuerdos que ellos obtuvieron al intentar la validación del método. La longitud del período de homogeneización implica que la concentración inicial E_0 sólo puede obtenerse por extrapolación del comportamiento exponencial a $t = 0$.

El período exponencial se encontró ajustando por cuadrados mínimos los puntos experimentales a la recta de la fórmula

$$\ln E = \ln E_0 - t/T.$$

Según se determinó, se observa buena linearidad hasta enriquecimientos de 5 ppm de deuterio sobre el nivel basal; por lo tanto, se puede suponer en forma conservadora, que hay un comportamiento exponencial entre las 8 horas de la dosis inicial y un enriquecimiento de 10 ppm de deuterio sobre el nivel basal. Los ajustes en esta región son excelentes, con factores de acuerdo superiores a 0.99 (Tabla 1), demostrando así la bondad del modelo simple de un compartimiento utilizado para la dilución isotópica en el cuerpo del niño. La vida biológica media del isótopo en el organismo de los niños también se determinó experimentalmente, encontrándose valores que fluctuaban entre 4 y 6 días (Tabla 1).

En sus experimentos con animales, Coward *et al.* (6) mostraron que al aumentar los intervalos de medición por encima de 1.5 veces la vida media biológica del isótopo, la precisión del método mejoraba considerablemente. Por este motivo, en el presente estudio se eligió el doble de la vida biológica media como período óptimo de observación.

Esto implica que las experiencias de dilución en niños lactantes deben durar alrededor de 10 - 12 días. De acuerdo a este criterio, las dosis de deuterio administradas en el primer experimento resultan ser algo bajas, ya que se alcanzaron valores cercanos a 10 ppm sobre el nivel basal justo a los 10 días. Para evitar imprecisiones debido a bajas concentraciones de deuterio en los días finales del período útil de observación, en los experimentos siguientes se incrementó la dosis inicial a 1 ml de solución deuterada al 16.5% por kg de peso.

En el segundo experimento se buscó comparar las ingestas de líquido medidas por dilución isotópica, con el volumen de líquido medido directamente en niños alimentados con biberón. Los resultados obtenidos al usar el proceso de medición sugerido originalmente por Coward *et al.* (1) demostraron la necesidad de efectuar algunos cambios en este procedimiento. En primer término, se tuvo cuidado en no obtener muestras durante el período de homogeneización, ni de extender las medidas a niveles menores de 10 ppm respecto al nivel basal. También se extendió el tiempo de medición a períodos mayores que dos vidas medias biológicas del deuterio en el organismo de un niño. Sin embargo, el cambio más importante se refiere al cálculo del agua corporal total (TBW) de los lactantes. Originalmente, Coward *et al.* (1) propusieron obtener TBW a partir de la cantidad de deuterio administrado, del nivel basal de deuterio en la saliva, y del enriquecimiento en deuterio en la primera muestra post-dosis de saliva, la cual se suponía que representaba una distribución de equilibrio. No obstante, todos los intentos realizados en este estudio por obtener valores realistas de TBW a partir del enriquecimiento inicial E_0 , ya fuese a través de la medición directa o por extrapolación de la curva de concentración de deuterio vs. tiempo a $t = 0$, dieron, en 5 de los 10 casos

TABLA 1

ENRIQUECIMIENTOS INICIALES SOBRE EL NIVEL BASAL DE 165 ppm,
TIEMPO UTIL DE OBSERVACION, VIDAS MEDIAS BIOLÓGICAS, Y
PARAMETROS DE AJUSTE OBTENIDOS DURANTE EL EXPERIMENTO.
(LAS DESVIACIONES ESTANDAR CONSTAN ENTRE PARENTESIS)

Niño	Enriquecimiento inicial menos nivel basal de deuterio (ppm)	Vidas medias biológicas (horas)	Tiempo útil de observación (días)	Parámetro de ajuste R ^o /o
1	110.2 (1.0)	142.2 (2.3)	12	-0.9977
2	145.2 (4.1)	80.6 (2.2)	8	-0.9952
3	130.5 (1.2)	80.8 (1.4)	8	-0.9937
4	127.6 (1.0)	102.1 (1.5)	11	-0.9993
5	132.6 (1.0)	112.1 (1.5)	11	-0.9996
6	88.8 (1.0)	118.8 (2.5)	11	-0.9980
7	126.4 (1.0)	105.0 (1.5)	13	-0.9992
8	107.3 (1.0)	108.2 (1.9)	11	-0.9990
9	139.8 (1.0)	122.0 (1.5)	13	-0.9988
10	62.1 (1.0)	103.8 (3.1)	9	-0.9998
11	128.1 (0.9)	108.2 (1.5)	12	-0.9997
12	158.7 (1.01)	99.1 (1.2)	12	-0.9997
13	157.1 (0.9)	111.4 (1.2)	14	-0.9986

estudiados; valores inaceptablemente altos. Esto ocurre probablemente debido a pérdidas de deuterio por salivación cuando la concentración bucal es aún alta durante la etapa inicial de una experiencia (3). Finalmente, el agua corporal total fue estimada usando una fórmula empírica obtenida a partir de estudios de dilución isotópica por Friis-Hansen (7). Esta fórmula da el agua corporal en función del peso y la talla del lactante, con una desviación estándar de 8.2^o/o, permitiendo corregir las deficiencias en la medición de TBW sin aumentar excesivamente el error experimental. Los valores de la ingesta diaria promedio de líquido calculados con este procedimiento se exponen en la Tabla 2 y en la Figura 3, las que muestran que existe una alta correlación con las cantidades de líquido obtenidos por medición directa.

La comparación con la medición directa indica que los resultados que se obtuvieron por dilución isotópica, son similares a los medidos directamente. La mayor diferencia observada entre ambos métodos es de 7.8^o/o, que es consistente con la desviación estándar de 8.2^o/o en el TBW calculado mediante la fórmula de Friis-Hansen. La alta correlación entre las estimaciones directas e indirectas de la ingesta de líquidos, apoya la validez de la técnica isotópica. Esta presenta claras ventajas en comparación con los métodos tradicionales de medición de volumen de leche en lactantes, ya que obtiene la cantidad de leche ingerida sobre períodos largos de

TABLA 2

PROMEDIO DIARIO DE INGESTA DE LIQUIDO MEDIDO DIRECTAMENTE DEL BIBERON Y CALCULADA CON EL METODO DE DILUCION CON DEUTERIO EN UN GRUPO DE NIÑOS INTERNADOS

Lactante No.	Medición directa (ml)	Método del deuterio (ml)	Diferencia entre métodos (o/o)
1	1.002	963	-3.9
2	762	720	-5.5
3	728	694	-4.7
4	739	715	-3.2
5	877	809	-7.8
6	622	648	+4.1
7	531	519	-2.3
8	640	656	+7.5
9	600	616	+2.7
10	636	634	-0.3

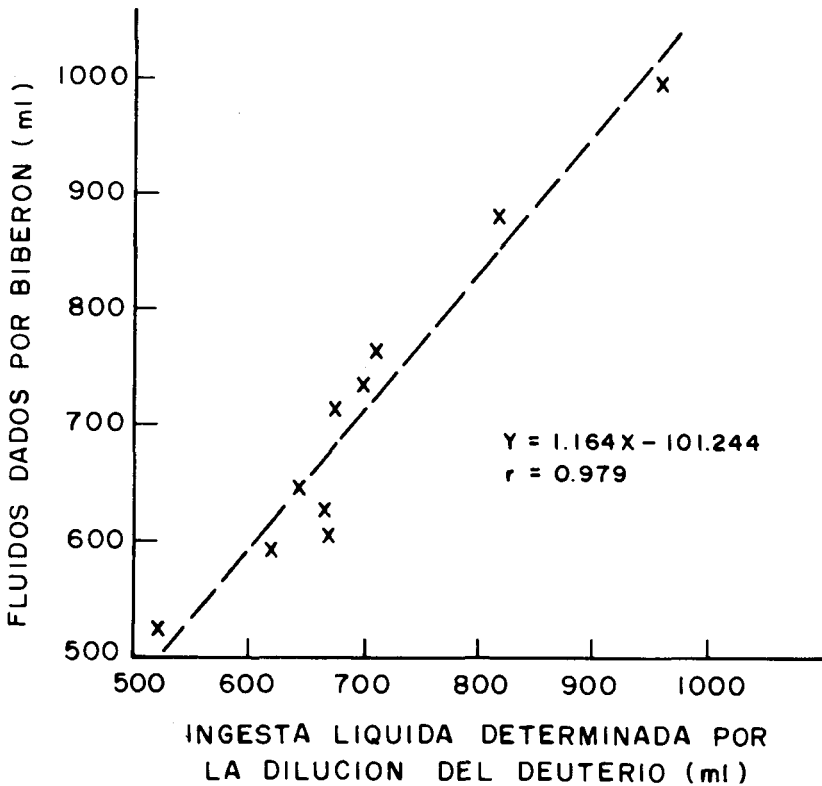


FIGURA 3

Ecuación de regresión entre la ingesta de líquido medida directamente del biberón, y la calculada por la dilución del deuterio.

tiempo. Evita así, las distorsiones introducidas por fluctuaciones de corto plazo y, además, no interfiere con la lactancia ni el estilo de vida materno.

El fácil uso de esta técnica en estudios de campo, hace importante investigar su aplicación en Latinoamérica. En particular, debería evaluarse la posibilidad de usar espectrometría infrarroja como una alternativa de análisis del enriquecimiento isotópico pues, aunque ello requiere trabajar con concentraciones de deuterio de un orden de magnitud mayor, pondría el método al alcance de numerosos laboratorios que no disponen de espectrómetro de masas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Coronel Victor Aguilera, de la Comisión Chilena de Energía Nuclear, las facilidades que tuvo a bien prestar para la realización de este estudio, y a don Alberto Pollastri, del Departamento de Hidrología Isotópica de la misma Comisión, por su valiosa ayuda en las mediciones. Estas últimas fueron realizadas por la Srta. Mirta Buneder, a quien se reconoce su destacada colaboración.

SUMMARY

LIQUID INTAKE MEASUREMENT BASED ON DEUTERIUM DILUTION

Studies were carried out to ascertain methodological aspects and the validity of the deuterium dilution technique to determine maternal milk intake.

Our study, conducted in 2-3 months-old normal infants, indicated that isotopic equilibrium is reached 6-8 hours after administration of an initial dose of 16.50/o deuterium solution.

Comparisons of liquid intake measured on a group of infants recovering from marasmic undernutrition, by the isotopic method and by direct recording of bottled milk, revealed a good correlation of the respective values when the infants' body water was estimated using the Friis-Hansen formula.

These findings suggest that the deuterium dilution technique is a valuable alternative to the current methods used to the measurement of maternal milk intake.

REFERENCIAS

1. Coward, W. A., R. G. Whitehead, M. B. Sawyer, A. M. Prentice & J. Evans. New method for measuring milk intake in breast-fed babies. *Lancet*, **11**: 13-14, 1979.
2. Halliday, D. & A. G. Miller. Precise measurement of total body water using trace quantities of deuterium oxide. *Biomed. Mass Spectrum*, **4**: 82-87, 1977.
3. Vio, F., C. Infante, W. Lara, S. F. Mardones & P. Rosso. Validation of the deuterium dilution technique for the measurement of breast milk intake. *Human Nutrition: Clinical Nutrition*, **40**(c): 327-332, 1985.
4. Mac Lennan, A. H., G. Millington, A. Grieve, J. E. A. McIntosh, R. F. Seamark & L. W. Cox. Neonatal body water turnover: A putative index of perinatal morbidity. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **139**: 948-952, 1981.

5. Butte, N. F., C. Garza, E. O. Smith & B. L. Nichols. Evaluation of the deuterium dilution technique against the test-weighing procedure for the determination of breast milk intake. **Am. J. Clin. Nutr.**, **37**: 996-1003, 1983.
6. Coward, W. A., T. J. Cole, H. Gerber, S. B. Roberts & I. Fleet. Water turnover and the measurement of milk intake. **Pflugers Archiv.**, **393**: 344-347, 1982.
7. Friis-Hansen, B. Body water compartments in children: Changes during growth and related changes in body composition. **Pediatrics**, **28**: 169-181, 1961.