

Uso del análisis por activación neutrónica de gammas inmediatos para la determinación del nivel proteico corporal

Marco Munive ^a mmunive@ipen.gob.pe, José Solís ^{a,b} jsolis@ipen.gob.pe,
Angel Revilla ^c arevilla@ipen.gob.pe

^a Dirección General de Promoción y Desarrollo Tecnológico, Instituto Peruano de Energía Nuclear, Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

^b Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Tupac Amaru 210, Lima, Perú

^c Dirección General de Instalaciones, Instituto Peruano de Energía Nuclear, Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

Resumen

El análisis por activación neutrónica de gammas inmediatos (PGNAA), es una técnica que puede usarse para el análisis en línea en aplicaciones médicas. Este sistema se vuelve más viable si la fuente de neutrones es portátil. Se ha implementado un sistema PGNAA usando una fuente radiactiva de neutrones ($Cf-252$) para la detección de nitrógeno a cuerpo completo. Se ha logrado medir la variación de nitrógeno corporal en grupos de ratones de laboratorio, que fueron alimentados con dietas de diferente concentración de proteína, usando el sistema in-vivo PGNAA. Las dosis de neutrones y gamma dadas en cada colección de espectro no superan los 2,5 mSv.

1 Introducción

El análisis por activación neutrónica (AAN) es una técnica que puede emplearse para estudios con fines cualitativos y cuantitativos. El propósito es generalmente la identificación de los elementos contenidos en una muestra y el porcentaje en peso de cada una de ellas. El análisis de activación neutrónica por gammas inmediatos (PGNAA) se basa en la detección de los fotones gamma producidos por la interacción de los neutrones con la materia y que tienen una vida media del orden de los 10^{-15} s, lo que implica que no produce residuo radiactivo. Los fotones gammas inmediatos poseen energías típicas para cada elemento; por ejemplo, en el caso del hidrógeno y nitrógeno emiten fotones característicos de 2,24 MeV y 10,8 MeV, respectivamente [1,2,3,4]. La intensidad de los picos en el espectro gamma está relacionado con la concentración del elemento en una muestra.

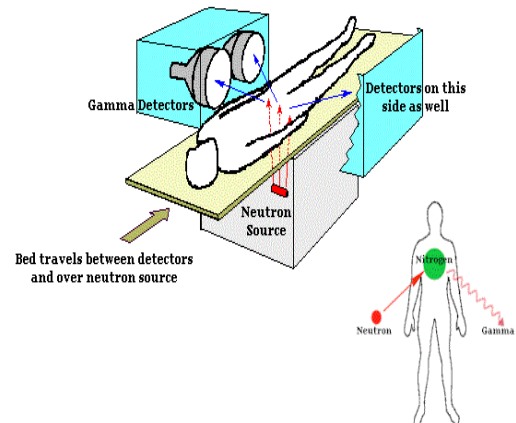


Figura 1. PGNAA y su aplicación médica.

La cuantificación de fotones gammas inmediatos, producto de la captura de neutrones en seres vivos es una posibilidad de medición no invasiva de determinados elementos componentes de la estructura humana, conocida como análisis por activación neutrónica en seres vivos (IVNAA); por ejemplo, nitrógeno, cloro, calcio, fósforo, cadmio, etc. siendo una técnica de diagnóstico y hasta de terapia para aplicaciones médicas.

Modelo de Composición Corporal

El cuerpo humano está formado principalmente por 11 elementos que son responsables del 99% de su peso total. Estos son la base para la reconstrucción a nivel molecular, celular y sistemas o tejidos. A cuerpo completo se tiene la concentración porcentual mayoritaria de los siguientes elementos, Figura 2 [5].

ATÓMICO	MOLECULAR	CELULAR	TEJIDOS-SISTEMAS	CUERPO TOTAL
N, Ca, P, K, Na, Cl	Lípidos	Masa celular	Adipocitos	H O M B R E
H	Agua	Células	T Tejido adiposo	
C		Músculo esquelético		
O	F	Líquido extracelular	Órganos y residuos	
	F			
	M	Sólidos extracelulares	Esqueleto	

Figura 2. Esquema de composición corporal humana.

Los 11 elementos principales y los elementos traza adicionales que se encuentran en escasa cantidad se combinan para formar compuestos químicos que se agrupan en las categorías que definen el nivel molecular.

Los principales componentes de este nivel son: agua, lípidos, proteínas, minerales y carbohidratos. Estos componentes se agrupan en compuestos mayores como la masa magra (que incluye agua, proteínas, minerales) y otros no grasos que están presentes.

$$TBH = 0,11TBW + 0,12TBF + 0,07TBPr \quad (1)$$

$$TBC = 0,77TBF + 0,55TBPr + 0,05TBCa \quad (2)$$

$$TBPr = 6,25TBN = 6,25 (N/H)TBH \quad (3)$$

$$BW = TBW + TBPr + TBF + 2,94xTBCa \quad (4)$$

donde TBH es hidrógeno a cuerpo completo, TBW es agua a cuerpo completo, TBF es grasa a cuerpo completo, TBPr es proteína a cuerpo completo, TBC es carbono a cuerpo completo, TBCa es Calcio a cuerpo completo, TBN es nitrógeno a cuerpo completo y BW peso corporal [6].

Según la ecuación (3) la determinación de nitrógeno corporal, nos daría la concentración de proteínas a cuerpo completo. Así mismo, la cantidad de nitrógeno esta relacionada con la concentración de hidrógeno corporal.

2 Materiales y Métodos

La descripción del sistema implementado se puede resumir en la geometría fuente detector, el blindaje correspondiente, la fluencia de neutrones medida y el mapeo dosimétrico.

En relación a la geometría fuente receptor, se utilizó una fuente de Cf-252 con actividad de 0,1 GBq [7] y para la detección de los fotones gamma inmediatos se utilizó una cadena de espectrometría gamma con detector de centelleo tipo NaI (TI) de 3"x3".

2.1 Diseño de del sistema

Para lograr una mejor eficiencia en el diseño del blindaje se utilizó el código de simulación MCNP-4b, determinándose la mejor distribución de los materiales de blindaje y lograr que la tasa de dosis se encuentre dentro de los límites establecidos por la normativa (<7,50 µS/h) para personal ocupacionalmente expuesto.

La fuente de Cf-252 esta ubicada dentro de un recipiente de polietileno borado, y esta a su vez, dentro de un cilindro de parafina. El cilindro posee un colimador cilíndrico concéntrico, con una pared de 20 cm y una altura 55 cm rodeados de parafina, plomo y concreto. A una altura de 80 cm sobre la fuente se ubica el recinto porta muestra y a 15 cm a la derecha del eje se ha construido un ambiente de paredes de polietileno y polietileno dopado con LiF de 2,5 cm de espesor y rodeada con plomo de 5 cm a excepción de la pared colindante al recinto. Este ambiente servirá de blindaje para los detectores de fotones gamma, los cuales están conectados a una cadena de medición gamma.

2.2 Monitoreo de neutrones y fotones

Según los resultados dados por la simulación y los datos colectados por un monitoreo experimental, se determina que el diseño del blindaje es el óptimo para la experiencia, la tasa de dosis para neutrones promedio alrededor del blindaje es menor 1 mrem/h para neutrones y para fotones no es mayor a 7,5 Sv/h valores que se encuentran dentro de lo permitido reglamentariamente.

2.3 Mapeo de dosimetría en posición de muestra

La dosis se midió usando monitores de radiación, obteniéndose las siguientes tasas de dosis de neutrones (detector NRC) y de gamma fue 6,52 mrem/h y 9,0 mSv/h, respectivamente. Esto nos lleva a determinar que la dosis para cinco minutos de irradiación de la muestra será 1,2 mrem y 0,9 mSv, entonces la dosis equivalente será menor a 2.5 mSv por irradiación.

2.4 Muestras biológicas

Las muestras biológicas irradiadas fueron ratones albinos con un peso promedio de 26,8 gr reunidos en cuatro grupos de cinco miembros cada uno (Figura 3). Cada grupo fue sometido a diferentes regímenes alimentarios (Tabla 1). La irradiación de los mismos se realizó cada semana, durante un período de cinco semanas, cada ratón fue irradiado por cinco minutos.



Figura 3. Muestra biológicas, ratones albinos grupo de prueba online 5 muestras.

La dosis aplicada a cada animal fueron menores a 1,25 mrem y 0,9 mSv de dosis

neutrónica y gamma, respectivamente. Valores bajos según la normativa, los niveles orientativos de algunas aplicaciones médicas poseen valores superiores a los calculados. Por ejemplo, rayos-x de tórax 0,4 mSv, rayos-x dental por toma 7 mSv, examen de cráneo por TAC 50 mSv.

Tabla 1. Régimen alimentario de los roedores.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Alimentación normal (g/día)	5	5	5	5
Complemento	leche	leche	-	carne de res
Cantidad de suplemento	25 ml	25 ml	--	5 gr
Frecuencia días/semana	4	3	--	4
Semanas de alimentación	5	4	4	5
Total adicional	500 ml	300 ml	-	100 gr

2.5 Alimento de las muestras

La Tabla 1 detalla la alimentación suministrada a los grupos, basada en varios niveles proteicos para cada grupo.

Normal: Alimentos para ratones de laboratorio (crecimiento/reproducción): contienen metabolizante, 17% de proteínas, 0,92 % de lizina, 6% de grasa, 4 % de fibras.

Complemento: Leche de 100 gr 75% agua, 3,9gr proteínas, 7,9 gr de grasas, lactosa 9,7 gr. Carne magra de 100 gr. 66,7 gr agua, 18,9 gr proteína grasa 13,5 gr. Se estima que durante el período de prueba a los grupos se les ha dado un total de adicional proteico de:

Grupo 1	500 gr leche	19,5 gr de proteínas
Grupo 2	300 gr leche	11,7 gr de proteínas
Grupo 4	100 gr carne	18,9 gr de proteínas

3 Resultados

3.1 Obtención de espectro de fotones o gammas inmediatos

Para nuestro interés, la determinación de nitrógeno corporal parte de tener la señal de gamma inmediatos provenientes de elemento ^{15}N el cual nos da una señal en energía de 10,8 MeV y que se relaciona con al señal de ^2H que posee una energía de 2,24 MeV [7].

Previamente se debe contar con un maniquí de calibración, donde se conozca la concentración de cada elemento (N,H) en su composición y se expone a neutrones logrando la relación de señales. La relación o masa de cada elemento (N,H) en el maniquí deberá tener el orden de la concentración de nitrógeno corporal que tiene el ser humano (2,59% de BW). Para determinar la TBN de una muestra biológica, se parte de la señal obtenida al irradiar el maniquí y que se puede detallar en la siguiente formula:

$$TBN = (N/H)_f \times (H/N)_m \times (MN/MH)_f \times MH_m$$

$$TBN = (N/H)_f \times (H/N)_m \times (MN/MH)_f \times 0.12 \text{ BW}_m \quad (5)$$

Donde $(N/H)_f$ es la relación de señales de fotones gamma inmediatos de nitrógeno hidrógeno en fantoma o maniquí, $(H/N)_m$ es la relación de señales de fotones gamma inmediatos de hidrógeno-nitrógeno en muestra, $(MN/MH)_f$ es la relación de masas de nitrógeno-hidrógeno en fantoma y MH_m es la masa de hidrógeno en la muestra que según las referencia [9] es de 12% del peso corporal de la muestra BW_m .

En relación al fantoma o maniquí se buscó una muestra de fácil disolución en agua, empleando KNO_3 , logrando una concentración de 0,38 mg/l de KNO_3 o 0,052 mg/l de nitrógeno, partiendo con 20 ml de volumen de dicha concentración añadiendo 6 ml de volumen por vez hasta llegar a 41 ml de mezcla (Figura 4 y 5). La respuesta del sistema de medida de gammas inmediatos colecta los espectros y se asocia con las zonas de interés del hidrógeno (2000-2500 keV) y la zona de nitrógeno (7500-10000 keV), los espectros fueron colectados por períodos de 300 s y obtener el valor $(N/H)_f$ requerido en la ecuación 5.

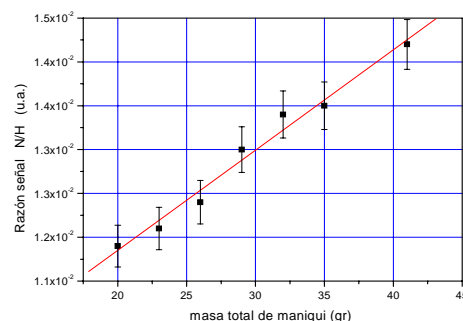


Figura 4. Relación señal N/H de maniquí.

Teniendo en cuenta lo detallado en la ecuación (5) el cálculo de la concentración de nitrógeno a cuerpo completo de la muestra biológica, esta relacionado con el peso corporal de la mismas y la relación de la señales nitrógeno/hidrógeno(N/H) y al mismo tiempo tendríamos la cantidad de proteína a cuerpo completo o TBPr.

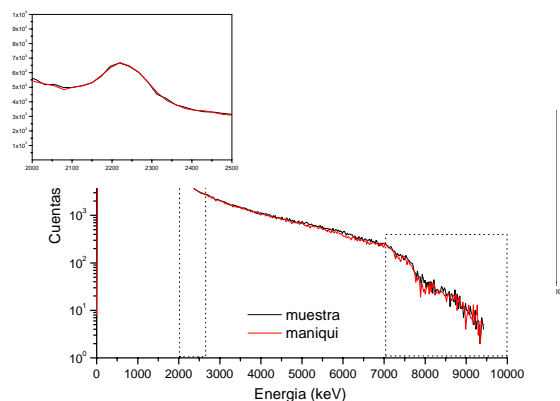


Figura 5. Espectros de gammas inmediatos de maniquí y de muestra biológica, se representa las zona de hidrogeno y la zona de nitrógeno, período de toma de espectro 300 s.

En la figura 6 y 7 se detalla el aumento de TBN o TBPr en las muestras biológicas, la figura 7 relaciona la respuesta o variación de nitrógeno corporal de cada grupo según su alimentación, comparándolo con un maniquí al cual lo podemos determinar como medio de control. Ya que en este no varía la concertación de nitrógeno.

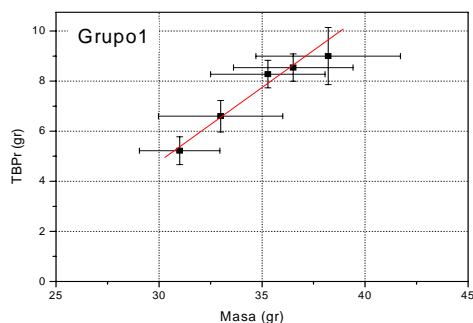


Figura 6. Variación lineal de la concentración de TBPr para el grupo 1 en relación al aumento de masa corporal.

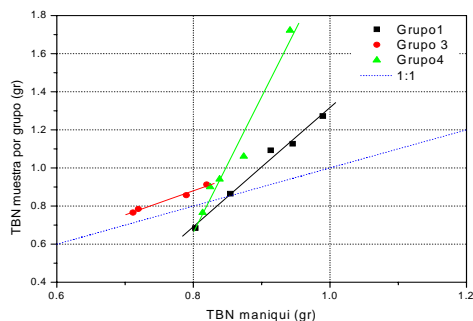


Figura 7. Relación de TBN calculado para cada grupo por semana de alimentación en relación al TBN de maniquí.

4 Discusiones

Cabe recordar que cada grupo posee diferentes dietas, con diversa concentración de proteínas, lo cual quiere decir que al final de cinco semanas, los pesos promedios de cada grupo tendrán diferentes contribuciones en cantidades proteicas, la cual podemos diferenciar en la tabla 2.

Según lo detallado en la Tabla 2, el aumento de masa corporal de los grupos 1 y 4 es más del 50% a las proteínas dadas por la leche. Para el grupo 4 se tiene un valor de 84 % de proteínas como contribución al aumento de la masa. Esto se puede explicar debido a que la leche dota de menos cantidad proteica que la carne magra.

Para contrastar lo logrado por la técnica podemos detallar lo mencionado en la referencia 5. Son varios los métodos que se

usan para medir nivel proteico, entre ellos tenemos: La RNM, la TAC, densitometría, Métodos de dilución, Absorciometría de rayos X con doble energía (DEXA) Conductancia eléctrica corporal total (TOBEC), cada una con su determinada complejidad y exactitud, pero todas detallan relación entre grasas, proteínas y masa libre grasa del cuerpo humano etc., no hay una medida directa de nitrógeno, así la activación de gammas inmediatos posee la mejor exactitud de medida del nivel proteico ya que mide directamente nitrógeno, el problema podría estar en que no serviría como un método rutinario, ya que produce daño biológico o dosis por radiación, así que sería más aplicable a procesos de investigación en casos específicos de varias proteica corpórea.

Tabla 2. Resultados por grupo de muestra biológicas aumentos por señal N/H para cada grupo.

	Grupo 3 (referencia)	Grupo 1	Grupo 4
Variación de peso (g)	2,09	7,21	7,02
Señal N/H inicio x 10 ⁻²	1,130 +- 0,004	1,010 +- 0,004	0,988 +- 0,005
Señal N/H final x 10 ⁻²	1,273 +- 0,003	1,501 +- 0,003	1,560 +- 0,004
Variación de TBN ¹ (g)	0,14	0,586	0,938
Variación TBPr (g)	0,875	3,663	5,86
Razón % TBPr/ peso	42	51	84

¹ calculado por la ecuación (5)

5 Conclusiones

- La técnica de *in vivo* PGNAA ayuda a determinar la variación de nitrógeno corporal en muestras biológicas. De esta forma, se determina la cantidad proteica corporal que se refleja en la medida de TBN a grupos de animales de laboratorio, con regímenes alimentarios diferentes, irradiados con una fuente de neutrones.
- La aplicación médica de la técnica es viable. Con períodos cortos de irradiación y aplicando a la muestra biológica dosis menores a 2,5 mSv se puede determinar la variación proteica (TNPr o TBN) y

concentración de elementos corporales como C, Ca, K, Cl, pero se acentúa su viabilidad específicamente en casos de investigación médica, por la exactitud y la poca frecuencia de exposición, ya que para lograr aplicarlos en muestreo rutinario presenta el inconveniente de la dosis por radiaciones a producir en los pacientes.

6 Referencias

- [1]. East BW, In vivo Nitrogen Analysis using ^{242}Am Be neutrons – a feasibility Study for mobile facility. Clin. Phys. Physiol. Meas. 1983; 4(2): 217-221.
- [2]. Munive M, Solís J. Análisis por Activación Neutrónica de Gammas inmediatos usando una fuente de neutrones de Am-Be. En: Instituto Peruano de Energía Nuclear. Informe Científico Tecnológico 2005; Lima, Peru; 2006. p. 15-19.
- [3]. Thompson MN, Rassool RP. Application of Neutron-capture to Elemental Analysis. The School of Physics, The University of Melbourne, Parkville Vic. Australia.
- [4]. Martin RC, Knauer JB, Balo PA. Production, distribution, and applications of Californium-252 neutron sources. Chemical Technology Division, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN 3783 1-6385 U.S.A.
- [5]. Casanova Román M. Técnicas de valoración del estado nutricional. Servicio de Pediatría. Hospital del SAS de La Línea. Cádiz. Vox Paediatrica. 2003; 11(1): 26-35.
- [6]. Ruimei M, Dilmanian A, Rarback H. Recent upgrade of the *in vivo* neutron activation facility at Brookhaven National Laboratory. BNL-49461.
- [7]. Haiying Wang, Waana CM. Investigation of factors affecting the background in the measurement of nitrogen IVNAA. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. 1991; 151(2): 293-299.