



Desarrollo de un biosensor enzimático para la determinación de los iones Na^+ y K^+ en sudor

Montoya, A., Senent, E. J., Alvear, I., Martínez, N., Campos, J., y March, C.

I. Introducción

El golpe de calor es un grave accidente, provocado por un desorden térmico y electrolítico, que a menudo afecta a las personas sometidas a la práctica del deporte o actividad física intensa. Con el objetivo de proporcionar una nueva herramienta para prevenir el golpe de calor, se ha desarrollado un biosensor para determinar los iones alcalinos Na^+ y K^+ en el sudor de las personas expuestas. Las concentraciones de estos iones cambian como consecuencia del ejercicio físico, por lo que su balance podría ser utilizado como un indicador precoz de un esfuerzo excesivo y por lo tanto de la proximidad de un golpe de calor.

II. Material y métodos

El biosensor desarrollado para Na^+ y K^+ utiliza reacciones enzimáticas como sistemas de reconocimiento bioespecífico, junto con un mecanismo de transducción óptico. El ion Na^+ se determina mediante una reacción catalizada por la enzima beta-galactosidasa. El producto de esta reacción, el o-nitrofenol, es proporcional a la concentración de Na^+ en la muestra. El o-nitrofenol se determina ópticamente midiendo la absorbancia en el rango visible (420 nm). El ion K^+ se determina por medio de dos reacciones acopladas, catalizadas por las enzimas piruvato-quinasa y lactato-deshidrogenasa, respectivamente. Cuando estas reacciones tienen lugar de forma consecutiva, se produce un consumo neto de nicotin-adenin-dinucleótido reducido (NADH), proporcionalmente a la concentración de K^+ en la muestra. El NADH se determina ópticamente midiendo la absorbancia en el rango ultravioleta cercano (340 nm).

Como elemento transductor del biosensor, se diseñó un pequeño dispositivo óptico portátil para medidas de absorbancia. El sistema incluye las fuentes de emisión de luz, los elementos de detección (sensores), y la electrónica necesaria para la captura, el acondicionamiento y el procesamiento de las señales producidas por las reacciones enzimáticas. De esta manera, permite el seguimiento directo e *in situ* de las reacciones enzimáticas que ocurren en su interior, y por lo tanto la cuantificación de los analitos.

Como fuentes de luz se escogieron LEDs ("Light Emitting Diodes") que emiten en el rango de longitud de onda adecuado para el compuesto ópticamente activo de cada reacción enzimática. Los LEDs son prácticamente monocromáticos, con un bajo consumo, larga vida y gran robustez mecánica. Como elementos sensores se incorporaron fotodiodos, también ajustados a la longitud de onda específica para cada procedimiento enzimático.

III. Resultados y discusión

Utilizando los métodos enzimáticos, la curva de calibración de Na^+ proporciona un rango de trabajo entre 1.0 y 5.0 mM, que permite la determinación de las concentraciones fisiológicas de Na^+ en el sudor, simplemente mediante la dilución apropiada de las muestras. La curva de calibración de K^+ proporciona un rango de trabajo entre 0.1 y 0.5 mM, que también permite la determinación de K^+ en el sudor a concentraciones fisiológicas.

Cuando decenas de muestras de sudor conteniendo diferentes concentraciones de Na^+ y K^+ se analizaron mediante los métodos enzimáticos y por fotometría de llama como técnica de referencia, se obtuvieron excelentes correlaciones entre métodos.

En base a las determinaciones realizadas en muestras reales de sudor, obtenidas en situaciones de ejercicio físico intenso y controlado, puede concluirse que la concentración de K^+ no posee valor predictivo en la prevención del golpe de calor. Por el contrario, la concentración de Na^+ sí que parece tener un cierto valor predictivo: con todas las reservas derivadas de la enorme variabilidad de los resultados obtenidos, una concentración de Na^+ en sudor igual o superior a 150 mM (3500 mg/l) puede considerarse como un nivel de alarma de esfuerzo excesivo.

Palabras clave (máximo 3): Golpe de calor. Biosensor.