

TRABAJOS DE INVESTIGACION

ACTIVIDAD DE CREATIN-FOSFOQUINASA EN SUERO: ANALISIS DE LA INFORMACION SUMINISTRADA POR DIFERENTES FORMAS DE EXPRESION DE LOS RESULTADOS¹

Nelda E. Marcilla de Parada, María E. Río² y Juan C. Sanahuja

RESUMEN

La utilidad de la determinación de CPK en suero para el diagnóstico y evaluación de la malnutrición humana se estudió mediante un modelo experimental con ratas subnutridas alimentadas con dietas de bajo contenido proteico o desequilibradas en su composición de aminoácidos. El estudio sistemático de las variaciones de CPK en suero de rata en relación con la dieta, se llevó a cabo poniendo un énfasis especial en la calidad de la información suministrada por cuatro formas distintas de expresión de la actividad enzimática. Los resultados obtenidos se expresaron como: 1) Actividad específica, 2) Actividad por ml de suero, 3) Actividad total circulante y 4) Actividad total por 100 g de peso corporal. El análisis estadístico de los resultados demostró: a) La actividad expresada por mg de proteína o por ml de suero no guarda concordancia con los fenómenos fisiológicos que se sabe son inducidos por la ingestión de las dietas experimentales a nivel del músculo; por lo tanto, estas dos formas de expresión deben ser descartadas en estudios de malnutrición. b) Cuando se expresan los datos como actividad total en suero, la información aportada es similar a la que provee el índice Creatinina/Talla de más fácil realización. c) La expresión a peso constante demostró ser la más adecuada para proporcionar información acerca de la masa muscular de animales bajo condiciones controladas de experimentación. La necesidad de conocer: volumen plasmático, edad, peso real e historia previa del paciente, la hacen inaplicable a estudios en humanos.

INTRODUCCION

El músculo es uno de los tejidos que se ve más afectado por la malnutrición proteica. Se han propuesto varios métodos para

1 Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, ARGENTINA.

2 Miembro de la Carrera de Investigador Científico. CONICET. Argentina.
Recibido: 29-10-1975.

evaluar el estado nutricional de los individuos midiendo el desarrollo muscular, ya sea por métodos físicos^{1, 2} o bioquímicos; así, la excreción urinaria de creatinina, expresada como "índice creatinina/talla"³, ha demostrado guardar una buena correlación con el grado de depleción muscular.

La creatin-fosfoquinasa (CPK)-ATP: creatina fosfotransferasa (E.C. 2.7.3.2.), localizada en músculo es la enzima responsable de la captación y almacenamiento de la energía utilizable en la contracción muscular. Los niveles enzimáticos normales en suero son muy bajos y sólo aumentan notablemente cuando el músculo se destruye en forma masiva, como por ej., en la distrofia muscular y en el infarto cardíaco. En esos casos su determinación provee un dato específico y altamente sensible.

Distintos autores han intentado evaluar los cambios que se producen en la actividad de esta enzima en suero como consecuencia de factores nutricionales, pero los datos obtenidos no resultan coherentes y sus interpretaciones son contradictorias^{4,5,6}. Las discrepancias mencionadas podrían deberse a que las formas en que fueron expresados los resultados no son las más adecuadas para las características de una enzima que se está midiendo en un lugar diferente de aquél en el que cumple una función conocida.

El presente trabajo fue diseñado con el objeto de llevar a cabo un estudio sistemático de las variaciones de la actividad de CPK en suero en relación con la dieta, con un énfasis especial en la calidad de la información suministrada por las distintas formas en que los resultados de actividad enzimática pueden ser expresados.

Para realizarlo se utilizó un modelo experimental con ratas subnutridas realimentadas con dos tipos de dietas: de bajo contenido proteico y desequilibradas en su composición de aminoácidos. Trabajos anteriores utilizando estas dietas, demostraron que las mismas inducen alteraciones en los procesos de maduración tisular en las ratas que las ingieren; por ejemplo, se han observado cambios en la composición corporal⁷ y particularmente una disminución en la excreción de creatinina por efecto de las dietas desequilibradas⁸. Puede decirse que utilizando estos tipos de dietas se mimetizan algunas características bioquímicas presentes en los cuadros de malnutrición humana^{7,8,9} y presuntamente la actividad de la CPK podría verse modificada por la ingestión de este tipo de dietas.

MATERIALES Y METODOS

En todos los experimentos se usaron ratas de la cepa Wistar alimentadas "*ad libitum*" desde el destete (25 días). Los animales que ingirieron las dietas experimentales fueron llevados previamente a un estado de subnutrición, mediante el procedimiento de duplicación de la camada durante el período de lactancia¹⁰.

Paralelamente se utilizaron grupos controles constituidos por ratas normales (6 a 8 crías por madre) alimentadas durante el transcurso de la experiencia con la dieta stock¹ de nuestro vivero, que contiene 24,6 g % de proteína (N × 6,25) y 0,8 g % de lisina disponible.

Las ratas se alojaron en grupos de tres por jaula con fondo cribado. Los animales se sacrificaron a los 25 (tiempo 0), 40 y 60 días de edad por decapitación, después de un período de 4 horas de ayuno.

La actividad de CPK en suero se determinó siguiendo el método general de Hughes¹¹. Se expresó: 1) como actividad específica mmoles de creatina formada/mg de proteína sérica; 2) como mmoles de creatina formada/ml de suero; 3) como actividad total, mmoles de creatina formada por volumen sérico total del animal y 4) como actividad total/100 g de peso corporal de la rata.

Las proteínas séricas se determinaron por la reacción de Biruet según el método de Weichselbaum modificado por Dittebrandt¹², al solo efecto de expresar los resultados como actividad específica de la enzima. En lotes apareados por dieta, edad y peso, se llevaron a cabo las determinaciones de volumen plasmático según el método de L. Wang¹³, usando azul de Evans y bajo anestesia de uretano (1 g/kg de peso corporal).

Dietas

En el Cuadro 1 se detalla la composición de las dietas experimentales utilizadas, así como también el contenido en proteínas y en lisina disponible de las fuentes proteicas utilizadas: yema de huevo desgrasada, lactoalbúmina y gluten de trigo.

La dieta EY contenía yema de huevo desgrasada en cantidad suficiente para aportar 4,38 g % de proteínas y fue suplementada con L-lisina hasta una concentración de 0,4 g % de lisina disponible. La dieta LA contenía lactoalbúmina hasta una concentración de 4,00 g % de proteína y 0,2 g % de lisina disponible.

1. Forramez. Molinos Río de la Plata.

CUADRO 1
COMPOSICION DE LAS DIETAS

DIETAS	EY (g %)	LA (g %)	LG (g %)	YG (g %)
Yema de huevo desengrasada ¹	6.12	—	—	3.06
Lactoalbúmina ²	—	5.00	2.50	—
Gluten de trigo ³	—	—	13.90	13.90
L-lisina ⁴	0.18	—	—	0.09
Minerales ⁵	5.00	5.00	5.00	5.00
Mezcla de vitaminas ⁵	0.25	0.25	0.25	0.25
Clorhidrato de colina	0.15	0.15	0.15	0.15
Aceite de maíz	5.00	5.00	5.00	5.00
Dextrina	83.30	84.60	73.20	72.55
Lisina disponible total ⁶	0.40	0.20	0.30	0.40
Contenido de proteína total	4.38	4.00	11.50	11.75
Contenido de "proteína completa" ⁷	4.40	2.20	3.30	4.40
% de proteína completa con respecto a proteína total	100	55	29	37

1. Contiene 71.8% (N × 6.25) y 5.02 g % de lisina disponible.

2. Contiene 78.8% (N × 6.25) y 4.20 g % de lisina disponible.

3. Contiene 69.0% (N × 6.25) y 1.44 g % de lisina disponible.

4. Como Clorhidrato de L-lisina.

5. Según Harper, A. E. ¹⁷.

6. Se utilizan los valores de lisina disponible en lugar de los de lisina total, debido a la reacción de Maillard que se produce durante el proceso de obtención de yema de huevo desengrasada y del gluten de trigo. La disponibilidad de los otros aminoácidos no se ve alterada.

7. Según Munro y Allison ¹⁸.

La dieta *LG* contenía lactoalbúmina aportando 0,1 g % de lisina disponible y gluten de trigo, aportando 0,2 g % del mismo aminoácido con un contenido total de 11,50 g % de proteínas.

La dieta *YG* contenía yema de huevo desgrasada aportando 0,2 g % de lisina disponible y gluten de trigo aportando 0,2 g % del mismo aminoácido con un contenido total de 11,50 g % de proteínas. En las dietas *LG* e *YG* el desequilibrio se logró por el agregado de gluten de trigo cuya proteína es pobre en el aminoácido esencial lisina con respecto al contenido en los otros aminoácidos y se verificó de acuerdo al criterio de Río y Sanahuja por el método de las curvas de consumo¹⁴. La dieta *LG* se comportó como menos desequilibrada que la dieta *YG*, aun cuando el contenido de lisina y el porcentaje de proteína completa de la dieta *LG* fue menor que el de la dieta *YG*.

El contenido de nitrógeno se determinó por el método de Kjeldhal¹⁵ y la lisina disponible por el método de Carpenter modificado por Ragabendar Rao et al.¹⁶.

RESULTADOS Y DISCUSION

Efectos de las dietas experimentales sobre la ganancia de peso en los animales:

En la Figura 1 se muestran las curvas de crecimiento de los animales controles y experimentales; el aumento de peso de los animales que ingirieron las dietas en estudio fue significativamente menor ($p < 0,05$) que el de las ratas controles a lo largo de todo el período experimental.

Los grupos alimentados con las dietas *LG* e *YG* aumentaron significativamente más ($p < 0,01$) que los que ingirieron las dietas *LA* y *EY* respectivamente. Comparando el efecto producido por las dos últimas dietas nombradas, se observó que la dieta *EY* indujo un aumento de peso, mientras que la *LA* se comportó como dieta de mantenimiento, ya que el peso final de los animales no fue significativamente distinto del peso al destete.

Todas estas diferencias en la ganancia de peso se observaron independientemente de que en forma similar a experiencias previas⁷, el consumo total de las dietas no mostró diferencias significativas.

Efecto de las dietas experimentales sobre la actividad de CPK:

En clínica médica los cambios de actividad de CPK en suero se expresan habitualmente como unidades de producto formado

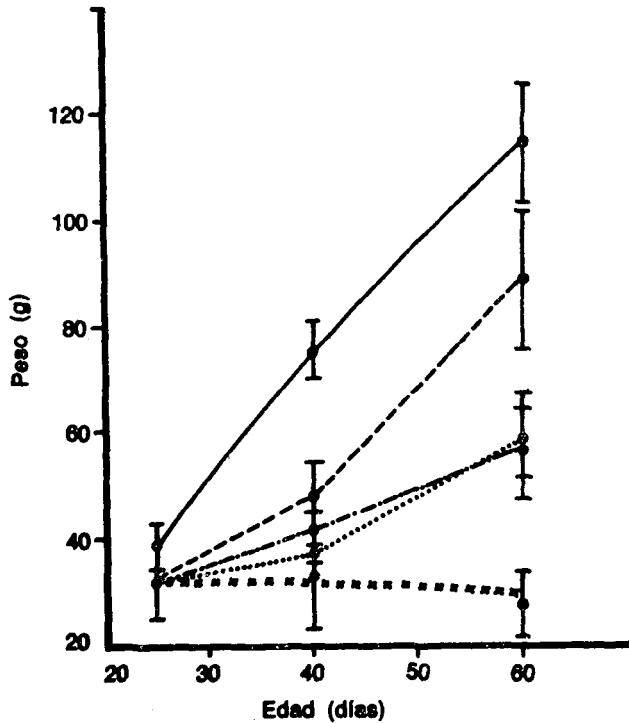


Figura 1. Curva de crecimiento de los animales alimentados con las dietas control (—) y experimentales: EY (.-.-.); LA (xxxxx); LG (.....) e YG (-----).

en la unidad de tiempo, por mg de proteína o por ml de suero. Estas formas de expresión resultan de utilidad en casos de destrucción de masa muscular en que los valores de CPK en suero aumentan en forma notable.

En las Figuras 2A y B se muestran los resultados obtenidos en este trabajo expresados en las formas antes mencionadas. En ellas se ve que ni el estado de subnutrición previo ni las dietas utilizadas indujeron cambios de magnitud en la actividad enzimática. Esto se debería a que no hubo en ningún caso destrucción masiva de tejido muscular, sino una pérdida paulatina de la masa muscular funcionante; esta pérdida se produciría concomitantemente con otras alteraciones fisiológicas y bioquímicas, tal el caso de los cambios de volumen plasmático que se han observado en los animales alimentados con las mismas dietas

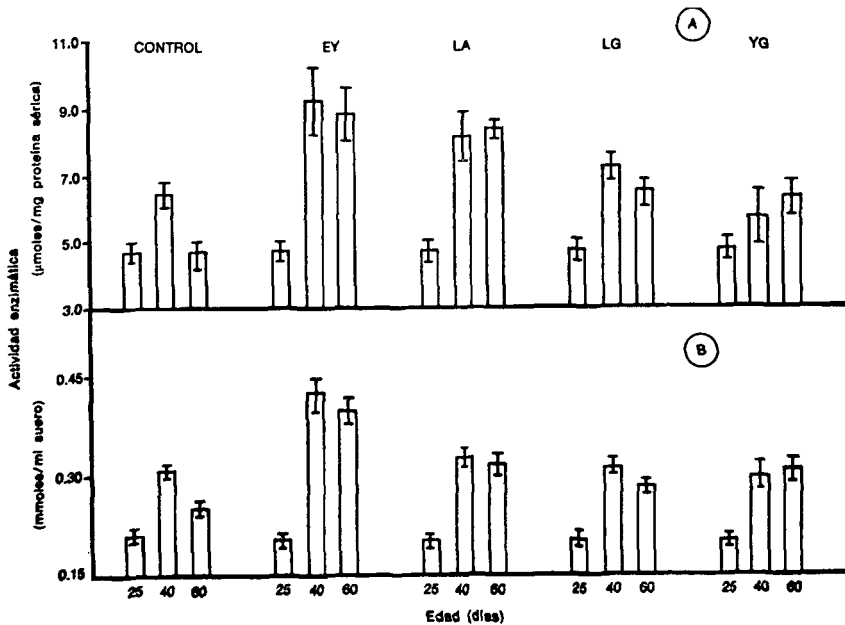


Figura 2. Actividad de CPK en suero de rata en función de la edad: A) μ moles de creatina/mg de proteína sérica; B) mmoles de creatina/ml de suero.

empleadas en este trabajo ¹⁹, así como también en otros casos de malnutrición experimental ²⁰ y humana ^{21, 12} que aparecen en la literatura.

Por esta razón es de interés ensayar la validez de la expresión como actividad total de CPK en suero, es decir teniendo en cuenta el volumen plasmático.

Los datos expresados como actividad total circulante en función de la edad y del peso así como los valores del volumen plasmático, se muestran en el Cuadro 2. Los resultados permiten detectar un marcado efecto de la subnutrición inicial sobre la actividad de la enzima, ya que los animales subnutridos presentaban a los 25 días de vida (tiempo 0) una actividad total significativamente menor ($p < 0,05$) que los respectivos controles. Además, en todos los animales que ingirieron las dietas experimentales los valores de CPK total fueron significativamente menores ($p < 0,05$) que los de los respectivos controles a cualquiera de las edades estudiadas.

CUADRO 2

EDAD, PESO, VOLUMEN PLASMÁTICO Y ACTIVIDAD TOTAL DE CPK DE LOS ANIMALES
CONTROLES Y EXPERIMENTALES

DIETAS	Edad (días)	Peso (g)	Volumen plasmático (ml)	Actividad total (mmoles)
Controles ²		1	1	1
Tiempo "0"	25	39.3 ± 4.5	2.96 ± 0.27	0.58 ± 0.03
	40	75.7 ± 5.2	4.76 ± 0.59	1.25 ± 0.08
	60	114.8 ± 10.8	6.24 ± 0.44	1.35 ± 0.07
Subnutridas				
Tiempo "0"	25	32.3 ± 7.0	2.05 ± 0.05 ^a	0.42 ± 0.02 ^a
EY (6.12% yema de huevo desengrasada + 0.18% lisina)	40	42.1 ± 3.6 ^a	1.66 ± 0.10 ^a	0.67 ± 0.10 ^a
	60	57.8 ± 6.8 ^a	1.24 ± 0.01 ^a	0.64 ± 0.07 ^a
LA (5.00% lactoalbúmina)	40	34.1 ± 11.0 ^a	1.24 ± 0.06 ^a	0.46 ± 0.05 ^a
	60	27.6 ± 6.1 ^a	1.26 ± 0.05 ^a	0.40 ± 0.02 ^a
LG (2.50% lactoalbúmina + 13.9% gluten de trigo)	40	37.8 ± 3.8 ^a	1.70 ± 0.09 ^{a b}	0.59 ± 0.03 ^a
	60	58.1 ± 10.4 ^{a b}	1.62 ± 0.07 ^{a b}	0.45 ± 0.04 ^{a c}
YG (3.06% yema de huevo desengrasada + 0.09% lisina + 13.9% gluten de trigo)	40	47.6 ± 7.5 ^a	1.68 ± 0.09 ^a	0.50 ± 0.06 ^a
	60	88.9 ± 13.0 ^{a d}	1.69 ± 0.06 ^{a d}	0.52 ± 0.06 ^a

1. Media ± Error estándar de la media.

2. Dieta stock de nuestro vivero: Forramez.

Significación estadística de las comparaciones pareadas analizadas por la prueba "t" de Student.

a. Diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al control de la misma edad.

b. Diferencia significativa ($p < 0.001$) con respecto al lote LA de la misma edad.

c. Diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al lote EY de la misma edad.

d. Diferencia significativa ($p < 0.01$) con respecto al lote EY de la misma edad.

En los animales que ingirieron la dieta control la actividad enzimática aumentó al aumentar el peso hasta alcanzar un valor que permaneció constante a partir de los 40 días de vida.

Los lotes alimentados con la dieta *EY* se apartaron de lo normal a partir de los 40 días de vida en que la actividad total no continuó ligada al incremento de peso. Los alimentados con la dieta de bajo contenido proteico *LA* se mantuvieron con una actividad relacionada al peso, por supuesto por debajo de lo normal para la edad. Los lotes que recibieron las dos dietas desequilibradas mostraron a los 40 días de vida, actividades que no fueron significativamente diferentes entre sí a pesar de la gran diferencia de peso observada, y muy por debajo de la actividad de las ratas normales del mismo peso. Además, pese a que a los 60 días de vida los lotes *EY* y *LG* tenían pesos similares, la actividad total de CPK circulante en el lote *LG* fue significativamente menor que en el *EY* ($p < 0,05$).

Estos resultados ponen de manifiesto la falta de correlación entre la actividad total de CPK y el peso de los animales experimentales; por lo tanto, se consideró oportuno eliminar la variable peso y expresar la actividad de CPK circulante por 100 g de peso corporal en función de la edad, como se muestra en la Figura 3.

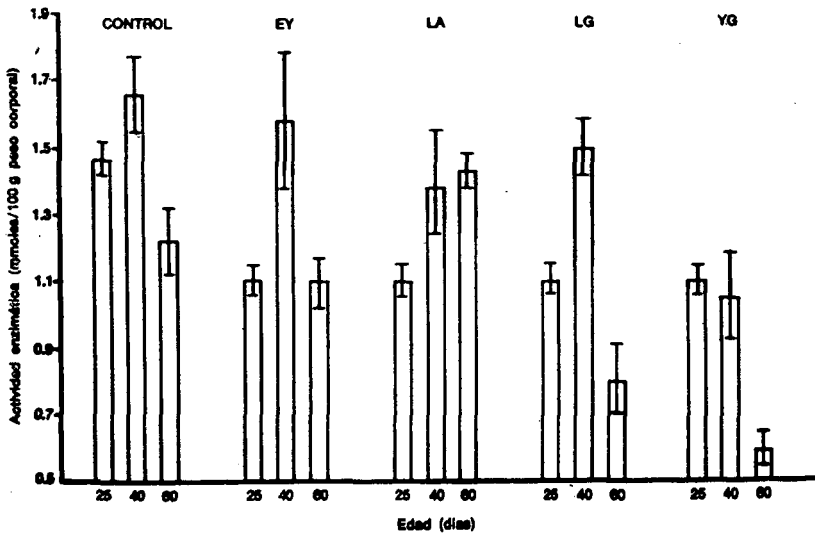


Figura 3. Actividad de CPK en suero de rata en función de la edad: nmoles totales/100 g de peso corporal.

Del análisis de esta figura se desprende que la disminución en la actividad de CPK observada en los animales subnutridos no sería atribuible únicamente al menor peso de los animales a los 25 días de vida, ya que al expresar los resultados a peso constante se mantuvieron las diferencias entre ambos lotes, control y subnutrido. Por otra parte, cuando se analizan los valores de la actividad de CPK en los distintos lotes se aprecian diferencias en los perfiles delineados por los extremos de las barras que no pueden explicarse mediante un análisis matemático sencillo. Esto podría deberse a la incidencia en el modelo experimental, de una serie de variables: dieta, edad, peso y estado nutricional previo. Ello hace necesario un análisis estadístico complejo de los datos obtenidos, que considere sus influencias individuales, así como también sus posibles interacciones.

Análisis estadístico:

La disposición de los datos es la de un diseño incompleto no ortogonal que puede analizarse mediante los parámetros del siguiente modelo lineal no aditivo y de efectos fijos:

$$Y_{ijk}^{(m)} = \mu^{(m)} + \alpha_i^{(m)} + \beta_j^{(m)} + (\alpha\beta)_{ij}^{(m)} + e_{ijk}^{(m)}, \text{ donde}$$

$$(1 \leq i \leq 3; 1 \leq j \leq 6; \phi \leq k \leq K_{ij})$$

que desglosa la "respuesta" (m-ésima forma de expresión N^o m de la actividad enzimática) $Y_{ijk}^{(m)}$ correspondiente a la k-ésima rata de edad i que se somete a la dieta j . Esta descomposición contiene cuatro términos constantes y uno aleatorio; $Y^{(m)}$ se escribe como la suma de un nivel "basal" inespecífico $\mu_{ijk}^{(m)}$ que sólo depende de la respuesta $Y^{(m)}$; en un *efecto principal de la edad* $\alpha_i^{(m)}$; en un *efecto principal de la dieta* $\beta_j^{(m)}$; en un término de *interacción* $(\alpha\beta)_{ij}^{(m)}$ (que será distinto de cero si el efecto de la acción de uno de los factores depende de los niveles del factor restante) y en el término aleatorio $e_{ijk}^{(m)}$ normalmente distribuido, con una media nula y varianza Δ_m^2 constante para cada respuesta $Y^{(m)}$.

En nuestro experimento observamos la "respuesta" $Y^{(m)}$ (para $m=1$ en μ moles/mg de proteína, para $m=2$ en mmoles/ml de suero, para $m=3$ en mmoles totales y para $m=4$ en mmoles por 100 g de peso corporal de la rata) que cada unidad experimental produce ante una determinada combinación de los factores A (edad) y B (dieta). El primer factor tiene tres niveles (que

llamamos i ; para $i=1$ tenemos la edad del destete, para $i=2$ los 40 días y para $i=3$ los 60 días de vida), el segundo factor tiene cinco niveles (que llamaremos j ; para $j=1$ tendremos la dieta control Forramez, para $j=2$ la dieta *EY*; para $j=3$ la dieta *LA*; para $j=4$ la dieta *LG* y para $j=5$ la dieta *YG*) y en cada combinación particular (i, j) de niveles de ambos factores se recoge una cantidad variable $K_{ij}=0,4,5,6,7,8,10$ de observaciones.

Para detectar la significatividad de las diferencias entre los efectos principales de dieta y edad se utilizó el método de Scheffé²³, con coeficiente de confianza 0,95; las relaciones no explicadas no resultaron significativas al nivel $p<0,05$.

Se debe tener en cuenta que en este diseño estadístico los efectos de un factor se deben promediar sobre los niveles del otro cuando las interacciones de ambos no puedan despreciarse, y que la dieta stock se considerará como otra dieta experimental más, ya que su carácter de control es irrelevante para los propósitos del presente análisis.

Los resultados del análisis estadístico muestran que en cualquiera de las cuatro formas en que se expresaron los resultados, la actividad de CPK varió significativamente con la edad ($p<0,0005$). Promediando los datos obtenidos con todas las dietas, a la edad del destete las actividades fueron significativamente menores que a los 40 días de vida. Todas las formas de expresión de los resultados utilizadas muestran interacciones significativas entre edad y dieta ($p<0,0005$); esto implica que el modelo estadístico no puede considerarse aditivo en ningún caso y que no basta superponer un efecto de dieta a otro de edad para explicar las observaciones experimentales; por consiguiente, la acción de una dieta depende esencialmente de la edad y recíprocamente la actividad enzimática a una determinada edad depende de la dieta ingerida. Esta existencia de efectos recíprocos entre edad y dieta se manifiesta geoméricamente en la falta de paralelismo entre los cinco perfiles representados por los extremos de las barras que se muestran en las Figuras 2 y 3, correspondientes a las cinco dietas en estudio.

Con respecto a cada forma de expresión utilizada, el análisis dio los siguientes resultados:

- 1) y 2) *Expresión de actividad por mg de proteína y por ml de suero: (Figura 2A y B)*

Para cada dieta, los cambios de actividad enzimática expresados por mg de proteína o por ml de suero en función de la edad, fueron similares; en ambos casos la dieta *EY* provocó un cambio

en la actividad que fue significativamente mayor que los inducidos por las dietas control *LG* e *YG*, mientras que el efecto de la dieta *LA* resultó significativamente superior a los de las dietas control e *YG*.

Las inferencias que resultan del análisis de estas formas de expresión no son coherentes desde el punto de vista fisiológico, ya que indicarían que la actividad enzimática de los animales alimentados con las dietas desequilibradas se encuentran más cerca del comportamiento observado con la dieta control que la de los animales alimentados con las dietas de bajo contenido proteico. Este hecho se halla en contradicción con lo observado en trabajos previos^{7,8,9} donde se demostró que las dietas desequilibradas en aminoácidos producen alteraciones mucho más severas en la maduración tisular y cambios en la composición corporal de los animales que las ingieren.

3) *Expresión como actividad total:*

Esta forma de expresión de la actividad, como mmoles totales, exhibe diferencias entre los animales alimentados con cualquiera de las dietas experimentales y la dieta stock, aunque no permite discriminar entre dietas experimentales. Sin embargo, el análisis estadístico realizado sobre los datos obtenidos en las condiciones controladas de este experimento, permitió detectar diferencias significativas entre las respuestas a las dietas *EY* y *LA*.

Los datos obtenidos con los animales controles sugieren que la actividad total de CPK es proporcional a su masa muscular funcionante. Las diferencias de actividad observadas entre los animales controles y experimentales, estarían en concordancia con las diferencias previstas entre sus masas musculares. Los resultados obtenidos con los lotes experimentales indicarían que en ellos la masa muscular es semejante independientemente de la diferencia de peso.

4) *Expresión como actividad total/100g de peso corporal:*

Al estudiar el efecto de la edad, expresando los resultados a peso constante, observamos que esta forma de expresión fue la única que mostró diferencias significativas entre las actividades a los 40 y 60 días de vida, y además que, al promediar los datos obtenidos con cualquiera de las dietas la media al destete fue significativamente superior a la media obtenida a los 60 días de vida.

Al analizar los datos desde el punto de vista de la influencia de las dietas observamos que los efectos de la *EY*, *LA* y control

no fueron significativamente diferentes; además, estadísticamente se pudo discriminar entre el efecto de las dietas de bajo contenido proteico y la dieta YG, que es la más desequilibrada de las dos estudiadas.

Estas observaciones son concordantes con estudios anteriores de composición corporal⁹; las dietas de bajo contenido proteico tienen un efecto primario sobre el crecimiento, pero el proceso de maduración corporal no difiere significativamente del de los animales alimentados con la dieta stock, y esa sería la razón por la cual la actividad de CPK, expresada a peso constante, no difiere de la de aquéllos. En cambio, los animales que ingieren dietas desequilibradas crecen sin que la relación N/H₂O de su tejido muscular siga los patrones normales de maduración y ello se exterioriza mediante la disminución de la excreción de creatinina cuando se la expresa por unidad de peso. Trabajos previos⁸ demostraron que en los animales que ingirieron la dieta YG la creatinina urinaria disminuye de 37,0 mg/kg de peso al destete, a 19,0 mg/kg de peso a los 45 días de vida, siendo este comportamiento similar al observado en la actividad de CPK por 100 g de peso corporal.

Esta última forma de expresión, por lo tanto, sería la de mayor capacidad de discriminación en la comparación mutua de dietas experimentales.

Conclusiones

Haciendo una comparación de la información aportada por cada una de las cuatro formas de expresión analizadas en este trabajo, resulta evidente. a) que cuando se expresa la actividad de CPK por mg de proteína y/o por ml de suero, no guarda concordancia con los fenómenos fisiológicos inducidos por la ingestión de las dietas experimentales. Valores absolutos de actividad bajos o altos, no indican ni estado nutricional deficitario ni recuperación del mismo, porque la actividad enzimática no es sólo dependiente del grado de nutrición sino también de la edad y además porque edad y dietas presentan interacciones significativas. Por lo tanto, aun conocidas todas las variables que afectan la actividad de la CPK en suero, resultaría imposible interpretar una determinación individual. De esto se deduce que ninguna de estas expresiones es la adecuada cuando se pretende utilizar esta enzima para evaluar estados nutricionales. Estos resultados confirmarían la hipótesis previa de que la incoherencia de los datos existentes en la literatura deriva de que

éstas son las formas en que habitualmente se los expresa.

b) que cuando se expresan los datos como actividad total en suero, es posible distinguir el efecto de la malnutrición pero no los grados de la misma. Conocida la volemia, esta forma de expresión tal vez permitiría el seguimiento longitudinal durante la recuperación si se contara con los estándares normales. Sin embargo, no aportaría otra información que la que surgiría de la evaluación antropométrica o de la determinación de otros índices bioquímicos de más fácil realización como, por ejemplo, el "Índice creatinina/talla"³.

c) que la expresión a peso constante, que demostró ser la más adecuada bajo condiciones experimentales, quedaría limitada a este campo, ya que para su interpretación también sería necesario conocer el volumen plasmático, la edad, el peso real no afectado por cuadros de desequilibrio hídrico, así como la historia previa del paciente.

La información aportada por este modelo experimental nos permite concluir que la determinación de CPK en suero no presenta valor real para la detección y evaluación de la malnutrición humana, aun cuando bajo condiciones muy controladas puede proporcionar información sobre la masa muscular funcionante de los animales de experimentación.

SUMMARY

"SERUM CREATIN-PHOSPHOKINASE ACTIVITY: ANALYSIS OF INFORMATION PROVIDED BY DIFFERENT WAYS OF EXPRESSING THE DATA"

An experimental model with undernourished rats fed experimental diets containing either imbalanced proteins or low amount of well balanced proteins was used to evaluate the utility of serum CPK activity determination in human malnutrition. Special attention was given on the information provided by four ways of expression of the enzymatic activity. CPK activity was expressed as: 1) Specific activity, 2) Activity per ml serum, 3) Total activity per rat and 4) Total activity per 100 g body weight. Statistical analysis showed: a) Activity expressed per mg serum protein or per ml serum did not agree with the known physiological phenomena induced on muscle by the experimental diets: CPK activity values expressed in these ways are not useful in malnutrition studies. b) Serum total activity of CPK per rat provides a similar information to the creatinin/height index, which is easier to perform. c) Total CPK activity per 100 g body weight demonstrated to be adequate to provide information about muscle mass in rats under controlled experimental conditions. However, it is not possible to use this form of expressing CPK activity in human malnutrition, because it would be also necessary to know: plasma volumen, age, actual body weight, clinical and the nutritional background, etc., of the patient for an accurate interpretation of results.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Lic. Armando Infante el asesoramiento y el estudio estadístico de los datos presentados en este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. Jelliffe, D. B. *Evaluación del estado nutricional de la comunidad*. Ginebra. Ed. W.H.O. N° 53, 1968, p. 81.
2. McFie, J. and H. F. Welbourn. Effects of malnutrition in infancy on the development of bone, muscle and fat. *J. Nutr.* 76: 97-105, 1962.
3. Viteri, F. and J. Alvarado. The creatinine height index: its use in the estimation of the degree of protein depletion and repletion in protein-calorie malnourished children. *Pediatrics* 46: 696-706, 1970.
4. Reindorp, S. and R. G. Whitehead. Changes in serum creatine kinase and other biological measurements associated with musculature in children recovering from kwashiorkor. *Brit. J. Nutr.* 25: 273-283, 1971.
5. Puga, T. S. and L. G. Fernández. Study of some enzymatic systems related to sucklings malnutrition. *XIII Congreso Internacional de Pediatría*. Viena. 1971.
6. Balmer, S. E. and I. H. E. Rutishauser. Serum creatine kinase in malnutrition. *Trop. Pediat.* 73: 783-787, 1968.
7. Closa, S. J., M. E. Río y J. C. Sanahuja. Composición corporal de ratas adultas alimentadas desde el destete con proteínas desequilibradas en sus aminoácidos. *Arch. Lat. Nutr.* 21: 69-86, 1971.
8. Río, M. E. Estudio experimental de los efectos producidos por la ingestión de dietas desequilibradas en aminoácidos: su interpretación bioquímica. Tesis para optar al grado de doctor en Bioquímica. Fac. Farm. y Bioq. Univ. de Buenos Aires. Argentina. 1969.
9. Sanahuja, J. C. y M. E. Río. Desequilibrio de aminoácidos y maduración química en la rata. *Arch. Lat. Nutr.* 22: 133-146, 1972.
10. Widdowson, E. M. and R. A. McCance. Some effects of accelerating growth. I. General somatic development. *Proc. Roy. Soc. B*, 152: 188, 1960.
11. Hughes, B. P. A method for the estimation of serum creatine kinase and its use in comparing creatine kinase and aldolase activity in normal and pathological sera. *Clin. Chim. Acta* 7: 597-603, 1962.
12. Dittebrandt, M. Application of the Weichselbaum biuret reaction to the determination of spinal fluid protein. *Am. J. Clin. Path.* 18: 439-442, 1948.
13. Wang, L. Plasma volume, cell volume, total blood volume and F_{cells} factor in the normal and splenectomized Sherman rat. *Amer. J. Physiol.* 196: 188-192, 1958.
14. Sanahuja, J. C. and M. E. Río. Effect of imbalanced diets containing natural proteins on appetite and body composition in the rat. *J. Nutr.* 95: 295-302, 1968.

15. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 7th. Ed. Washington D. C. 1950. p. 745.
16. Ragabendar Rao, S., F. L. Carter and V. L. Framton. Determination of available lysine in oilseed meal proteins. *Anal. Chem.* 35: 1927-1930, 1963.
17. Harper, A. E. Amino acid balance and imbalance. I. Dietary level of protein on amino acid imbalance. *J. Nutr.* 68: 405-418, 1959.
18. Munro, H. N. and J. B. Allison. *Mammalian Protein Metabolism*. Vol. 2, Ed. Academic Press, N. Y. 1964, p. 63.
19. Marcilla, N. E., M. E. Rio, J. C. Sanahuja and A. Martínez-Seeber. Amino acid imbalance and body composition: Effect of natural imbalanced diets on plasma volume of rats. *Nutr. Rep. Int.*, 12: 185, 1975.
20. Deo, M. G., A. K. Bhan and V. Ramalingas Wami. Metabolism of albumin and body fluid compartments in protein deficiency. An experimental study in the rhesus monkey. *J. Nutr.* 104: 858-864, 1964.
21. Golan, F. Blood and extracellular fluid in chronic malnutrition in infancy. *J. Clin. Invest.* 27: 352-363, 1948.
22. Alleyne, G. A. O. Plasma and blood volumes in severely malnourished Jamaican children. *Arch. Dis. Child.* 41: 313-319, 1966.
23. Scheffé, H. *The analysis of variance*. Ed. Wiley, N. Y. Chap. IV, 1959.