

Utilidad de la medición de concentración másica de creatina cinasa 2 (CK MB) y de la actividad de los isomorfos de creatina cinasa 3 (ck mm) como marcadores bioquímicos de la lesión muscular

J. ORDÓÑEZ I LLANOS^{1,2}, O. JORBA I CASTANY¹, R. ROIG I MARTÍNEZ¹, R. SERRA I GRIMA^{3,4}.

¹Servicio de Bioquímica, ²Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, ³Departamento de Cardiología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universitat Autònoma de Barcelona, ⁴CEARE. Secretaria General de l'Esport. Generalitat de Catalunya.

AGRAÏMENTS. Este trabajo ha sido posible gracias a una ayuda para la investigación del Programa de Docència i Ciències aplicades a l'Esport de la Direcció General de l'Esport, Secretaria General de l'Esport, Generalitat de Catalunya, a JOLI.

ABSTRACT. Measurement of total activity or isoenzyme 2 (CKMB) of creatin kinase (CK) are most widely used biological markers used with muscular injury. However, athletes present increases in these enzymes which look like myocardial disorders. Measurement of the mass concentration of CKMM and its relation to total CK helps to distinguish between myocardial and muscular-skeletal problems. In the case of the isoforms of the CKMM isoenzyme it has been shown that the relation between the tissue isoform and the modified mass of the plasma (CKMM/CKMM) is a good early indicator of muscular injury. After physical exercise, increased can be detected even without parallel increases in CK. The combined measurement of mass CKMM and the CKMM isoforms allows recent muscular injuries (< 24 hours) to be distinguished from older ones (> 24 hours), something impossible to detect using normal biological markers.

KEY WORDS: Athlete, muscular injury, CK, CK isoforms.

RESUMEN: Las medidas de la actividad total o de la isoenzima 2 (CKMM) de la creatina cinasa (CK) constituyen los marcadores biológicos más empleados de lesión muscular. Pero, en los atletas se pueden encontrar aumentos de estas enzimas que simulan alteraciones miocárdicas. La medida de la concentración másica de CKMM y su razón sobre el CK total ayudan a distinguir entre alteraciones de origen miocárdico o músculo-esquelético. En el caso de las isoformas de la isoenzima CKMM se ha demostrado que la razón entre la isoforma del tejido y la masa modificada del plasma (CKMM/CKMM) es un indicador muy precoz de lesión muscular y, después de practicar ejercicio físico, se pueden detectar aumentos incluso sin aumentos paralelos de CK. La medida combinada de CKMM másica y las isoformas CKMM permite distinguir lesiones musculares recientes (<24 h) o tardías (>24 h), indetectables para los marcadores biológicos habituales.

PALABRAS CLAVE: Atleta, lesión muscular, CK, isoformas de CK.

INTRODUCCIÓN

La práctica regular de ejercicio físico modifica la morfología y el metabolismo del músculo esquelético. Los cambios morfológicos¹ van desde el simple cambio de tamaño del poro de la membrana celular hasta alteraciones severas como la rotura del sarcolema muscular y las alteraciones del disco Z. Estas alteraciones se pueden asociar a disminuciones del rendimiento atlético²; por este motivo, es preciso conocer con exactitud y precocidad su existencia para evitar que aparezcan lesiones musculares.

La evaluación de la lesión se ha efectuado tradicionalmente mediante exámenes histológicos, con observación directa de las células o con tinciones histoquímicas del músculo obtenido por punción-biopsia³. Esta técnica es, sin embargo, cruenta cosa que ha estimulado la búsqueda de métodos alternativos que permitan evaluar igualmente la lesión muscular.

La lesión muscular se puede manifestar por la aparición de proteínas típicas del músculo⁴ en el plasma. Entre ellas hay que significar las relacionadas con el aparato contráctil de la célula como la miosina y las diferentes troponinas, las de transporte de oxígeno como la mioglobina y, sobre todo, las enzimáticas. Remmers⁵ asoció por primera vez la lesión muscular con los aumentos en plasma de la actividad catalítica de la enzima aspartato aminotransferasa (AST). Con posterioridad se han descrito aumentos, relacionados con el ejercicio físico, de las actividades catalíticas de aldolasa, alanina aminotransferasa (ALT), anhidrasa carbónica III, malato dehidrogenasa (MDH) o piruvato cinasa (PK). Pero las enzimas más utilizadas como marcadores de lesión muscular son la lactato dehidrogenasa (LD) y la creatina cinasa (CK). Ambos son marcadores sensibles de lesiones musculares, pero no presentan la misma especificidad diagnóstica. Mientras que la LD se encuentra repartida entre el músculo esquelético y miocárdico, eritrocitos o hígado, la CK se localiza en el músculo esquelético y miocárdico; lógicamente las elevaciones de CK señalarán la lesión muscular con más especificidad que las de LD.

La medición de la actividad catalítica de la CK señala con mucha precocidad la lesión muscular. Algunos cambios de permeabilidad de la membrana celular provocados por la hipoxia que acompaña algunos ejercicios ya pronostican la aparición de CK en la circulación. Puesto que su medición está al alcance de cualquier laboratorio que disponga de un mínimo equipo, se usa de forma rutinaria como indicador bioquímico del daño muscular producido por el ejercicio. Pero la medición de CK puede interferirse metodológicamente por otras enzimas plasmáticas del tipo cinasa⁶, lo cual provoca una disminución de su eficiencia diagnóstica.

Más específica resulta la determinación de las isoenzimas de la CK. Tanto la CK3 (CKMM), por su predominante localización en el músculo esquelético, como la CK2 (CKMB), que aumenta su concentración catalítica en el músculo entrenado en resistencia⁷, serían indicadores más específicos de lesión muscular que la misma CK. A pesar de este planteamiento teórico, en la práctica, la medición de la actividad catalítica de las isoenzimas de la CK no resulta de gran utilidad para las numerosas interferencias que presentan sus métodos de medición⁸. En el caso de la CKMB, para obviar esas interferencias se han desarrollado métodos inmunológicos que permiten medir su concentración, no la actividad catalítica. Con estos métodos se han podido diferenciar mejor, aunque no en su totalidad, aquellos aumentos de CKMB debidos a traumatismos esqueléticos, de los debidos a infartos de miocardio; esta circunstancia es una causa muy importante de inespecificidad de la CKMB como detectora del daño muscular esquelético⁹. Muy recientemente, diferentes trabajos^{10,11} han demostrado que la medida de las concentraciones plasmáticas de Troponina T (TnT) o Troponina I cardíacas, resulta absolutamente específica para distinguir las alteraciones miocárdicas de las músculo-esqueléticas. Algunos autores¹² han demostrado que en algunos atletas se pueden encontrar valores aumentados de TnT, aunque esto sería atribuible a reacciones inespecíficas de los métodos de inmunoensayo usados para su medición. Muy recientemente se han descrito dos nuevos inmunoensayos para TnT que parecen obviar el problema de las relaciones inespecíficas^{13,14}. A pesar de ello, no se dispone de suficiente experiencia en el valor semiológico de la medida de TnT en los atletas al igual que ocurre con la utilidad diagnóstica de la medición de concentración de masa de CKMB.

La eficiencia diagnóstica de la medición de la isoenzima CKMM puede mejorarse midiendo sus isoformas, modificaciones postraduccionales de la isoenzima. La isoforma de los tejidos CKMM3 aparece aumentada en plasma después de toda lesión, como por ejemplo la provocada por el ejercicio. Hasta ahora, sólo un trabajo ha aplicado la medición de las isoformas de CKMM, las más abundantes en plasma, como marcadores de lesión muscular esquelética¹⁵. Los autores demostraron durante un ejercicio excéntrico, localizado en una extremidad superior, que no aumentaba la actividad catalítica de la CK total, que las isoformas de CKMM constituyen el marcador bioquímico más precoz de lesión muscular. Esta conclusión hay que confirmarla estudiando a más atletas y a otros deportistas con la intervención de más masas musculares que las del citado trabajo.

El objetivo del presente trabajo es el estudio de la utilidad de las nuevas medidas de proteínas enzimáticas y contráctiles del

músculo esquelético, como marcadores de las alteraciones que en el mismo pueda inducir la práctica del ejercicio físico. El grupo estudiado estaba compuesto por un amplio número de atletas, predominantemente corredores de fondo y gran fondo cuya homogeneidad se aseguró obteniendo las muestras para analizar, a intervalos fijos de tiempo después de los entrenamientos y/o las competiciones y mediante la valoración de un marcador bioquímico del esfuerzo muscular: la osteocalcina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras analíticas

Se obtuvieron un total de 187 muestras para análisis en 155 atletas, 58 mujeres y 95 hombres, en su mayoría corredores de fondo en carretera y pista y de medio fondo; un 13% de las muestras procedían de atletas velocistas. Las muestras en situación basal se obtuvieron un mínimo de 12 horas después de la última sesión de entrenamiento con sobrecargas de peso (pesas), series rápidas en pista o largas distancias en circuitos con fuertes subidas y bajadas. Las muestras obtenidas después de competiciones se obtuvieron después de un período de reposo de 24 a 48 horas. Se clasificaron a los corredores de larga distancia como de alto y medio rendimiento dependiendo de las marcas atléticas que acreditaban en sus respectivas pruebas. Todas las muestras se obtuvieron durante períodos de actividad atlética representativa de la habitualmente desarrollada, según consideración del propio atleta y/o de sus entrenadores. No se estableció ningún subgrupo con las muestras obtenidas de los/las atletas velocistas.

MÉTODOS ANALÍTICOS

La actividad catalítica de CK se midió mediante métodos standard, a 37 °C, en un analizador automático Hitachi 747 (Boehringer Mannheim GmbH, Germany); los valores de referencia son menos de 180 UI/L para los hombres y menos de 150 UI/L para las mujeres. La concentración de masa de CKMB por fluoroinmunoanálisis de partición radial (Dade Baxter, Miami, FL, USA), con este método los valores de referencia son inferiores a 6 µg/L tanto en los hombres como en las mujeres. Con estas dos medidas se calculó la razón CKMB/CK total como $[\text{CK MB } (\mu\text{g/L})/\text{CK total (UI/L)}] \times 100$; los valores de referencia calculados en nuestro laboratorio para grupos numerosos de atletas son de hasta 3.3.¹⁶ La actividad de las isoformas de creatina cinasa se detectó con un sistema de electroforesis de alto voltaje (Helena Laboratories, Beaumont, TX, USA), utilizando placas de agarosa para la separación; con los resultados obtenidos se calculó la razón CKMM3/CKMM1, sus valores de referencia son inferiores a

0.3¹⁷. La Troponina T se valoró mediante un método de enzimoinmunoanálisis en fase sólida usando como marcaje de la reacción inmunológica estreptavidina-biotina; el análisis se desarrolló con un sistema de inmunoanálisis automatizado ES-300 (Boehringer Mannheim GmbH, Germany); los valores de referencia son inferiores a 0.1 µg/L. La osteocalcina se valoró mediante radioinmunoensayo (CIS, Italia).

El índice de masa corporal se calculó como la razón existente entre el peso, expresado en kilogramos, y el cuadrado de la altura, expresada en metros.

Los análisis correspondientes a los exámenes básicos de salud, incluyendo la medida de la actividad catalítica de lactato dehidrogenasa (LD), se realizaron mediante metodologías standard aplicadas a multianalizadores automatizados.

MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Para todos los resultados de los análisis estadísticos se aceptó como significativa una probabilidad igual o inferior a 0.05. Las diferencias entre poblaciones se analizaron con la prueba de Kolmogorov-Smirnov en dos muestras, las asociaciones se analizaron con el coeficiente ordinal de Spearman. Las asociaciones entre diferentes variables se analizaron mediante el análisis de regresión múltiple, las influencias que sobre cada uno de los parámetros ejercían los otros se estudió mediante el análisis de variancia. Las diferencias estadísticas entre proporciones fueron comparadas mediante prueba estadística de comparación de porcentajes observados en muestras con gran número de efectivos¹⁸.

Tabla I

Niveles de concentración de masa de osteocalcina observados en la población de atletas evaluados (resultados expresados como mediana ± desviación estándar).

	µg/L
Hombres alto rendimiento	6.30 ± 3.40
Hombres rendimiento medio	5.75 ± 4.04
Mujeres alto rendimiento	7.21 ± 3.71
Mujeres rendimiento medio	6.57 ± 3.64

RESULTADOS

Los niveles de concentración másica de osteocalcina (Tabla I) no se diferenciaron entre los hombres de nivel alto o medio de rendimiento, lo mismo que ocurrió en las mujeres. Así pues se interpretó que el nivel de ejercicio alto y medio se podía asumir como similar a efectos de su clasificación biológica. No se observaron diferencias en el nivel de osteocalcina del subgrupo de muestras de los/las atletas velocistas en referencia a los/las atletas de medio fondo y fondo (resultados no mostrados).

Tabla 2 Valores medios encontrados en una subpoblación de los atletas del estudio.

	Grupo total	Hombres	Mujeres
CK total (UI/L)	206 ± 143	265 ± 161	134 ± 71 ^a
CKMB (µg/L)	3.7 ± 3.1	4.8 ± 3.3	2.4 ± 2.2 ^a
Razón CKMB / CK total	1.87 ± 1.04	1.95 ± 1.05	1.76 ± 1.06
LD (UI/L)	340 ± 67	360 ± 74	316 ± 50 ^b
Índice de masa corporal	20.5 ± 1.65	20.9 ± 1.63	20.0 ± 1.58
Km semanal	93.9 ± 40	108.8 ± 39.9	76.6 ± 33.2 ^a

^ap < 0.001 i ^b p < 0,01 respecto a los valores de los hombres.

En una primera subpoblación de 58 pruebas analíticas, procedentes únicamente de los atletas corredores de medio fondo y fondo, se valoró la relación de los parámetros biológicos y las variables como índice de masa corporal o el kilometraje semanal recorrido. Los resultados se recogen en la Tabla II.

Se observó que tanto la CK total, como la concentración de masa de CKMB, la lactato hidrogenasa (LD) y el kilometraje semanal eran significativamente superiores (p<0.01 hasta p<0.001) en los hombres que en las mujeres. La única variable que no mostró diferencias entre hombres y mujeres fue la razón entre la masa de CKMB i la CK total.

Mediante el análisis de variancia (Tabla III), se objetivó que los valores de CK total dependían del sexo, del índice de masa corporal y del kilometraje semanal; la CKMB dependió del sexo y del kilometraje y la LD sólo del sexo. El único marcador independiente de las variables analizadas fue la razón CKMB/CK total. El análisis de regresión múltiple puso de manifiesto que la variable que dependía más del kilometraje semanal era la CKMB (p<0.002), demostrando la conocida relación de la isoenzima CKMB y las cargas de ejercicio de resistencia. En la regresión múltiple, la razón de CKMB / CK total apareció como el parámetro más independiente de las variables analizadas.

Los análisis de isoformas de CKMM, concentración másica de CKMB, actividad catalítica de CK y cálculo de la razón

CKMB/CK total, se aplicaron a la población total de 187 muestras analíticas. Al igual que en el caso de la subpoblación anteriormente considerada, se observaron diferencias entre sexos por la CK total (p<0.001), CKMB (p<0.001), razón de isoformas de CKMM (p<0.01); mientras que la razón de CKMB / CK total apareció como independiente del sexo de los individuos analizados.

La razón de isoformas de CKMM se mostró como un parámetro independiente, no asociado significativamente al resto de marcadores bioquímicos del músculo esquelético. Sus coeficientes de correlación ordinal de Spearman fueron de 0.0949 con la CK total, 0.1512 con la CKMB y 0.2205 con la relación CKMB/CK total.

Cuando se exploró la proporción de resultados anormalmente aumentados con relación a los respectivos límites de referencia, se observó (Tabla IV) que tanto la CK total (p<0.02) como la razón de isoformas CKMM (p<0.05) mostraron una proporción de valores anormales superiores en los hombre que en las mujeres.

Al igual que en el caso de la anterior subpoblación, la razón CKMB/CK total es la que presentó un menor número de resultados anormales y sin diferencias significativas por sexo, mientras que la CK total como la razón de isoformas de CKMM mostraron un elevado número de (más del 45% de los casos) valores por encima de los respectivos límites de

Tabla 3 Resultados del análisis de variancia de los parámetros estudiados

	Sexo	Índice de masa corporal	Km semanal
CK Total	0.0003	0.004	0.011
CKMB	0.003	n.s.	0.0004
Razón CKMB / CK Total	n.s.	n.s.	n.s.
LD	0.02	n.s.	n.s.

Se representan las significaciones de los coeficientes de correlación entre los diferentes parámetros; n.s. indica falta de significación estadística de la asociación.

Tabla 4 Proporción de valores por encima del límite de referencia* [180 UI/L i 150 UI/L para la CK total en hombres y mujeres, respectivamente; 6 µg/L para la CKMB, 3,3 per a la razón de CKMB total y 0,29 para la razón CKMM3/ CKMM1 y <0.1 µg/L para Troponina T].

	Grupo total	Hombres	Mujeres
CK total	0.0003	0.004	0.011
CKMB	0.003	n.s.	0.0004
Razón CKMB / CK total	n.s.	n.s.	n.s.
Razón CKMM3/CKMM1	0.02	n.s.	n.s.
Troponina T cardíaca	0.0	0.0	0.0

* ^a p < 0.02 i ^b p < 0.05 respecto a la proporción observada en los hombres.

referencia, siendo estos casos significativamente más frecuentes en los hombres que en las mujeres. La procedencia músculo-esquelética de estos resultados por encima del límite de referencia se aseguró al no existir ningún valor detectable de troponina T cardíaca en las muestras analizadas.

Dado que la CK total y que la razón de isoformas CKMM aparecieron como los marcadores con el número más elevado de anormalidades, se estudió cual era el grado de concordancia de los resultados entre uno y otro marcador, estudiando esta concordancia por sexos. Los resultados se recogen en la Tabla V. Se pudo observar que existía una mayor proporción de hombres (37,9%) que de mujeres (5,6%) que mostraban valores aumentados de CK y razón de isoformas de CKMM; esta diferencia fue estadísticamente significativa (p<0.001). No existieron otras diferencias significativas por sexos entre las restantes proporciones analizadas.

DISCUSIÓN

Es sabido que el ejercicio físico induce a modificaciones metabólicas¹⁹ y morfológicas de los músculos que intervienen en su práctica. Las modificaciones morfológicas pueden ser desde ligeras, que provocan únicamente cambios de permeabilidad de la membrana celular, hasta severas como rupturas del sarcolema²⁰. Estas modificaciones morfológicas pueden disminuir el rendimiento atlético, predisponer a las lesiones muscu-

lares más importantes y, en casos extremos, provocar miopatías severas²¹. Ello justifica la necesidad de disponer de marcadores de la lesión muscular.

Estas lesiones se pueden detectar mediante métodos cruentos como la biopsia, pero se recomienda la investigación en marcadores biológicos con la misma eficiencia que la biopsia, pero sin sus inconvenientes. El músculo contiene numerosas proteínas implicadas en la contracción que, por efecto del ejercicio llegan con facilidad al plasma; los cambios de concentración plasmática de estas proteínas son útiles para valorar la lesión muscular. Incluso se puede graduar el alcance de esta lesión. Las proteínas disueltas en el citoplasma celular (mioglobina y algunas enzimáticas) llegan al plasma como respuesta a cambios reversibles de la permeabilidad de la membrana, las proteínas estructurales (miosina, troponinas) sólo lo hacen como respuesta a daños severos y necrosis celular.

La creatina cinasa (CK) y sus isoenzimas son los marcadores bioquímicos más utilizados para valorar la lesión muscular. La medición de la actividad catalítica de CK es un indicador sensible pero poco específico del origen de la lesión muscular (esquelético o miocárdico); la medición de la actividad de su isoenzima 2 (CKMB) es más específica para detectar el origen de los aumentos en plasma. Sin embargo, en los atletas, esta especificidad queda menoscabada porque la degeneración-regeneración de fibras musculares típicas del ejercicio lleva a

Tabla 5 Correspondencia entre valores normales y anormales de CK total y de la razón de isoformas CKMM en la población de atletas estudiados (resultados expresados como % de casos observados sobre el total de casos evaluados).

	Hombres		Mujeres	
	CK total normal	CK total anormal	CK total normal	CK total anormal
Raó MM3/MM1 normal	17,7%	26,6%	40,7%	22,2%
Raó MM3/MM1 anormal	17,7%	37,9%	31,5%	5,6% ^a

^a < 0.001 respecto a la misma proporción observada en hombres

un aumento del contenido de CKMB en el músculo esquelético²² y, después del ejercicio físico, se pueden encontrar grandes aumentos de CKMB en el plasma, sin que se detecten alteraciones miocárdicas que lo expliquen^{23,24}. Por ello, y por las numerosas interferencias que presenta la medición de la actividad de CKMB²⁵, prosigue la búsqueda de marcadores bioquímicos más sensibles y específicos de la lesión muscular.

En este trabajo se ha valorado la eficiencia diagnóstica de diferentes marcadores bioquímicos para la detección de la lesión muscular asociada al ejercicio. La población de atletas evaluada ha sido heterogénea, formada por corredores de resistencia de diferente nivel atlético (alto y medio) y algunos velocistas de quienes se han obtenido muestras en situación de entreno activo y/o durante los períodos de recuperación de competiciones. El conocimiento de la dinámica plásmica de la CK y de sus isoenzimas e isoformas permite afirmar que las muestras obtenidas 12 horas después del entrenamiento o entre 24 y 48 horas después de la competición tienen que representar cifras normales de estos marcadores en el caso que exista un proceso normal de recuperación muscular post-ejercicio. Puesto que es un hecho demostrado que los marcadores bioquímicos de la lesión muscular están relacionados con el nivel atlético de los sujetos²⁶ se ha utilizado un parámetro que permitiera homogeneizar a los diferentes grupos de atletas evaluados. Para ello se han escogido la osteocalcina, que es un marcador metabólico óseo conocido por aumentar directamente en relación con el grado de esfuerzo físico practicado²⁷. Se ha podido observar que no existen diferencias de osteocalcina entre los diferentes niveles de entrenamiento tanto en hombres como en mujeres; por lo que las poblaciones analizadas pueden considerarse como homogéneas. Las diferencias existentes entre sexos en algunos de los marcadores evaluados se corrigen al tomar valores diferentes para cada sexo.

Una primera subpoblación obtenida únicamente en los atletas de fondo y medio fondo ha permitido conocer el efecto del sexo, índice de masa corporal y cantidad de entrenamiento en aquellos valores bioquímicos que se han descrito como relacionados con estas variables²⁸. Como ya se ha descrito, se observaron diferencias por sexo entre CK total y LD, pero se apreciaron valores más bajos de concentración de CKMB en las mujeres, cosa que la literatura no había descrito hasta ahora^{29,30}. Esta diferencia se explicará al observar que la CKMB aparecía como la variable más significativamente relacionada con el kilometraje semanal corrido por los atletas. Ya que los atletas (hombres) corrían un promedio de 109 km/semana contra los 77 corridos por las atletas (mujeres), y es sabido el aumento del contenido muscular de CKMB cuanto más ruptura-reparación de fibras provoque el ejercicio,

resulta fácil deducir que la CKMB aparece como un parámetro indicador de la "cantidad" de entrenamiento y que se espera que cuanto más alto sea el nivel de entrenamiento, más alta sea la cifra de concentración plásmica de CKMB. Esta conclusión confirma resultados obtenidos al valorar la actividad catalítica de CKMB⁷.

Resulta significativo que al valorar la razón de la concentración de masa de CKMB sobre el total de actividad CK no se observen diferencias por sexos ni que esta razón aparezca relacionada con el sexo, el índice de masa corporal o el kilometraje recorrido. Ya se ha mencionado que la CKMB y la CK total aumentan en los atletas después de practicar ejercicio. A pesar de que no se haya demostrado que esto se acompañe de alteraciones miocárdicas^{23,24}, en los atletas y, especialmente en los veteranos, pueden existir fenómenos de isquemia y/o necrosis miocárdica que queden bioquímicamente enmascarados por los aumentos de los marcadores bioquímicos originales en el músculo esquelético. La razón de la masa de CKMB sobre CK total ha demostrado su capacidad de distinguir específicamente el origen miocárdico o músculo-esquelético de los aumentos de CKMB en atletas, ya sea en reposo o post-competición³¹ e incluso durante competiciones atléticas de larga duración^{32,33}. Como también hemos descrito, esta especificidad se consigue con el uso de un límite de referencia superior al descrito en la literatura¹⁶. Los presentes resultados ayudan a confirmar estas afirmaciones. En este contexto, el valor de la razón CKMB / CK total como marcadora de lesiones musculares quedaría reservado para detectar casos de gran afectación muscular o en los que hubiera importantes procesos de rotura-regeneración muscular con un gran aumento de la proporción de CKMB músculo-esquelética.

En una población más numerosa (187 muestras) que la anterior se evaluó el papel de las isomorfias de la isoenzima CK 3 (CKMM) como marcadores de la lesión muscular. Las isomorfias de las isoenzimas de la CK son modificaciones proteolíticas en el plasma de las enzimas de los tejidos (los productos "puros" producidos por el gen que los codifica)³⁴. En el caso de la CKMM existen 3 isoformas: la de los tejidos (CKMM3) y dos típicas del plasma (CKMM2 y CKMM1). Se ha demostrado que la razón entre la isoforma del tejido y la más modificada del plasma (CKMM3/CKMM1) es un indicador muy fiable de lesión celular¹⁷. Igualmente se ha demostrado que, después de la práctica de ejercicio físico, se pueden detectar aumentos de la razón MM3/MM1 sin aumentos paralelos de CK, indicativos de lesión celular no detectada por los marcadores bioquímicos "clásicos"¹⁵.

El presente trabajo ha fijado la sensibilidad diagnóstica de las isoformas de CKMM para detectar lesiones musculares

esqueléticas. Para asegurar que en los atletas evaluados no existe lesión miocárdica alguna que pudiera alterar los valores de isoformas de CKMM, se determinó la Troponina T cardíaca (TnT) que es reconocida como una de las moléculas más cardiospecíficas de las actualmente disponibles¹¹. Pero se ha descrito que la Troponina T cardíaca se expresa durante el desarrollo embrionario en el músculo esquelético y que se puede reexpresar en la edad adulta cuando existen miopatías degenerativas de dicho músculo esquelético o en músculos muy activos en la contracción, como el diafragma³⁵. Así pues, detectar Troponina T cardíaca en atletas podría confundir sobre la existencia de lesión músculo-esquelética o miocárdica. Estudios posteriores al inicio del presente trabajo han demostrado que la medición de troponina I cardíaca satisface totalmente los requisitos de especificidad necesarios para diferenciar entre lesiones músculo-esqueléticas y miocárdicas³⁶. Pero ningún atleta presentaba valores detectables (anormales) de TnT cardíaca. Este hecho aseguraba que los incrementos de isoformas en el plasma eran debidos únicamente a las isoformas que provenían del músculo esquelético. Un 48.5% de atletas presentaban aumentos de CK total y un 45.6% de isoformas de CKMM; en ambos casos existen más hombres (62.3% y 51.8% respectivamente) que mujeres (26.4% y 35.8% respectivamente) con valores alterados. Esta diferencia por sexos se ha descrito en el caso de la CK y se ha atribuido, entre otros, a un efecto protector de los estrógenos sobre las fibras musculares de las mujeres³⁷. Todas las muestras analíticas de los atletas se obtuvieron por lo menos 12 horas después de la última sesión de trabajo físico; transcurrido este tiempo se puede asegurar que las isoformas segregadas en el plasma por efecto del último ejercicio practicado ya han tenido que ser eliminadas¹⁷. Por esto, una razón de isoformas de CKMM anormal en los

atletas del estudio resulta indicativa de un mecanismo continuado de lesión muscular.

En el 17.7% de los atletas hombres y en el 40.7% de las mujeres, los resultados de CK total e isoformas CKMM mostraron concordancia dentro de la normalidad; en el 37.9% de los hombres y el 5.6% de las mujeres la concordancia estuvo en la anormalidad. El resto de los casos, un 44.3% de los hombres y un 53.7% de las mujeres mostraban resultados de CK e isoformas de CKMM discordantes. Cuando la CK total apareció anormal y las isoformas de CKMM normales, la explicación fue la diferente dinámica de liberación de estas dos formas enzimáticas; la CK se mantiene aumentada en plasma hasta 24-36 horas de su liberación desde las células, mientras que las isoformas no más de 12 horas. así pues la discordancia es temporal y estos atletas no presentan un mecanismo activo de lesión celular muscular, sino que reflejan la más lenta aclaración plasmática de la CK total normal. En este caso el aumento de las isoformas en el plasma sólo se puede explicar por su liberación continua desde el tejido muscular esquelético, indicando grados variables de lesión muscular no reconocida por los marcadores clásicos. Así pues, entre los evaluados, las isoformas de CKMM aparecen como el marcador bioquímico más sensible de la lesión músculo-esquelética y esta es la conclusión más importante de este estudio. En el futuro habría que correlacionar este descubrimiento bioquímico con exploraciones directas del estado funcional de la musculatura como las obtenidas mediante resonancia magnética y/o biopsia, así como evaluar el efecto sobre estos nuevos marcadores de otros tipos de ejercicio físico diferentes a los evaluados en este trabajo, y finalmente, estudiar el valor predictivo de futuras lesiones musculares que tiene la detección de alteración de isoformas de CKMM en el plasma de individuos que practican ejercicio físico.

Bibliografía

1. ARMSTRONG, R.B.; OGILVIE, R.W.; SCHWANE, J.A. "Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle". *J. Appl. Physiol.*, 1983; 54:80-93.
2. HOWELL, J.N.; CHILA, A. G.; FORD, G.; DAVID, D.; GATES, T. "An electromyographic study of elbow motion during postexercise muscle soreness". *J. Appl. Physiol.*, 1985; 58:1713-8.
3. BÈRGSTROMM J. "Muscle electrolytes in man". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1963; Suppl. 14:1-11.
4. NOAKES, T.D. "Effect of exercise on serum enzyme activities in humans". *Sports Medicine*, 1987; 4:245-67.
5. REMMERS, A.R.; KALJOT, V. "Serum transaminase levels". *J. Am. Med. Assoc.*, 1963; 185:148-50.
6. SZASZ, G.; GERHARDT, W.; GRUBER, W.; BERNT, E. "Creatine kinase in serum: 2. Interference of adenylate kinase with the assay". *Clin. Chem.*, 1976; 22:1806-11.
7. APPLE, F.S.; ROGERS, M.A.; CASAL, D.C.; SHERMAN, W.M.; IVY, J.L. "Creatine kinase-MB isoenzyme adaptation in stressed human skeletal muscle of marathon runners". *J. Appl. Physiol.*, 1985; 59:149-53.
8. SCHWARTZ, J.G.; BROWN, R.V.; MCMAHAN, C.A.; CAGE, C.L.; HERBER, S.A. "Clinical and analytical evaluation of different methods for measurement of creatine kinase MB". *Clin. Chem.*, 1989; 35:130-4.
9. EL ALLAF, M.; CHAPELLE, J.P.; EL ALLAF, D. ET AL. "Differentiating muscle damage from myocardial injury by

- means of the serum creatine (CK) isoenzyme MB mass measurement/total CK activity ratio". *Clin. Chem.*, 1986; 32:291-5.
10. ADAMS, J.E. III; BODOR, G.S.; DÁVILA-ROMÁN, V.G.; DELMEZ, J.A.; APPLE, F.S.; LADENSON, J.H. ET AL. "Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury". *Circulation*, 1993; 88:101-6.
 11. KATUS, H.A.; SCHOEPPENTHAU, M.; TANZEEM, A.; BAUER, H.G.; SAGAAN, W.; DIEDERICH, K.W. ET AL. "Non-invasive assessment of perioperative myocardial cell damage by circulating cardiac troponin T". *Br. Heart J.*, 1991; 65:259-64.
 12. MAIR, J.; WOHLFARTER, T.; KOLLER, A.; MAYR, M.; ARTNER-DWORZAK, E.; PUSCHENDORF, B. "Serum cardiac troponin T after extraordinary endurance exercise". *Lancet*, 1992; 340:1048 [Letter].
 13. MUELLER-BARDOFF, M.; HALLERMAYER, K.; SCHRÖDER, A. ET AL. "Improved troponin T ELISA specific for cardiac troponin T isoform: assay development and analytical and clinical validation". *Clin. Chem.*, 1997; 43:458-66.
 14. KAMPMANN, M.; RAUSCHER, T.; MUELLER-BARDOFF, M. ET AL. "Clinical evaluation of the cardiac markers troponin T and CK-MB in the Elecsys® 2010 system". *Clin. Chem.*, 1997; 43:S159-60 [Abstract].
 15. APPLE, F.S.; HELLSTEN, Y.; CLARKSON, P.M. "Early detection of skeletal muscle injury by assay of creatine kinase MM isoforms after acute exercise". *Clin. Chem.*, 1988; 34:1102-4.
 16. ORDÓÑEZ-LLANOS, J.; SERRA-GRIMA, R.; GONZÁLEZ-SASTRE, F. "Diagnostic specificity of creatine kinase MB isoenzyme (CKMB) in physically active subjects". *Circulation*, 1994; 89:1447-8 [Letter].
 17. WU, AHB.; GORNET, T.G.; WU, VH.; BROCKIE, R.E.; NISHIKAWA, A. "Early diagnosis of acute myocardial infarction by rapid analysis of creatine kinase isoenzyme-3 (CKMM) sub-types". *Clin. Chem.*, 1987; 33:358-62.
 18. SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. *Eds. Biometría, 1ª edición española*. H. Blume ediciones. Madrid, 1979; 663.
 19. IRINTCHEV, A.; WERNIG, A. "Muscle damage and repair in voluntary running mice: strain and muscle differences". *Cell Tissue Res*, 1987; 249:509-21.
 20. EBBELLING, C.B.; CLARKSON, P.M. "Exercise-induced muscle damage and adaptation". *Sports Med.*, 1989; 7:207-34.
 21. LONKA, P.; PEDERSEN, A. "Fatal rhabdomyolysis in marathon runners". *Lancet*, 1987; i:85 [Letter].
 22. APPLE, F.S.; ROGERS, M.A.; SHERMAN, W.M. "Profile of creatine kinase isoenzymes in skeletal muscle of marathon runners". *Clin. Chem.*, 1984; 30:413-6.
 23. SIEGEL, A.J.; SILVERMAN, L.M.; HOLMAN, B.L. "Normal results of post-race thallium-201 myocardial perfusing imaging in marathon runners with elevated serum creatine kinase levels". *Am. J. Med.*, 1985; 79:431-4.
 24. CARRIÓ, I.; SERRA-GRIMA, J.R.; BERN, L.; ESTORCH, M.; MARTÍNEZ-DUNCKER, C.; ORDÓÑEZ, J. "Transient alterations in cardiac performance after a six-hour race". *Am. J. Cardiol.*, 1990; 65:1471-4.
 25. ORDÓÑEZ, J.; JORBA, O.; MERCÉ, J.; GONZÁLEZ, S.F. "Utilidad de la medida de la concentración de masa de creatin kinasa 2". *Medicina Clínica (Barc.)*, 1992; 99:397-8 [Carta].
 26. KIELBLOCH, A.J.; MANJOO, M.; BOOYENS, J.; KATZEFF, I.E. "Creatine phosphokinase and lactate dehydrogenase levels after ultra-long distance running". *S. Afr. Med. J.*, 1979; 5:1061-5.
 27. NISHIYAMA, S.; TOMOEDA, S.; OHTA, T.; HIGUCHI, A.; MATSUDA, I. "Differences in basal and postexercise osteocalcin levels in athletic and nonathletic humans". *Calcif. Tissue Int.*, 1988; 43:150-4.
 28. HORTOBÁGYI, T.; DENAHAN, T. "Variability in creatine kinase: Methodological, exercise and clinically related factors". *Int. J. Sports Med.*, 1989; 10:69-80.
 29. CHAPELLE, J.P.; EL ALLAF, M. "Automated quantification of creatine kinase MB isoenzyme in serum by radial partition immunoassay with the use of the Stratus analyzer". *Clin. Chem.*, 1990; 36:99-101.
 30. JORGESSEN, P.L.; HORDER, M.; SELMER, J.; BOTKER, H.E. "Analytical evaluation of a sensitive enzyme immunoassay for determinations of creatine kinase isoenzyme MB". *Clin. Chem.*, 1990; 36:1502-5.
 31. ORDÓÑEZ-LLANOS, J.; SERRA-GRIMA, J.R.; MERCÉ-MUNTAÑOLA, J.; GONZÁLEZ-SASTRE, F. "Ratio of creatine kinase 2 mass concentration to total creatine kinase activity not altered by heavy physical exercise". *Clin. Chem.*, 1992; 38:2224-7.
 32. ORDÓÑEZ, J.; WU, AHB.; GORNET, T.G.; JORBA, O.; MERCÉ, J.; SERRA, J.R. "MB2/MB1 isoforms ratio is elevated during heavy physical exercise". *Clin. Chem.*, 1993; 39:1160 [Abstract].
 33. WU, AHB.; XUE-MING WANG, GORNET, T.G.; ORDÓÑEZ-LLANOS, J. "Creatine kinase MB isoforms in patients with skeletal muscle injury: Ramifications for early detection of acute myocardial infarction". *Clin. Chem.*, 1992; 38:2396-400.
 34. PERRYCAM, B.M.; KNELL, J.D.; ROBERTS, R. "Carboxypeptidase-catalyzed hydrolysis of C-terminal lysine: Mechanism for in vivo production of multiple forms of creatine kinase in plasma". *Clin. Chem.*, 1984; 30:662-4.
 35. BODOR, G.S.; SURVANT, L.; VOSS, E.M. ET AL. "Cardiac troponin T composition in normal and regenerating human skeletal muscle". *Clin. Chem.*, 1997; 43:476-84.
 36. MCLAURIN, M.D.; APPLE, F.S.; VOSS, E.M. ET AL. "Cardiac troponin I, cardiac troponin T, and creatine kinase MB in dialysis patients without ischemic heart disease: evidence of cardiac troponin T expression in skeletal muscle". *Clin. Chem.*, 1997; 43:976-82.
 37. SHUMATE, J.B.; BROOKE, M.H.; CARROLL, J.E.; DAVIS, J.E. "Increased creatine kinase after exercise: A sex-linked phenomenon". *Neurology*, 1979; 29:902-4.