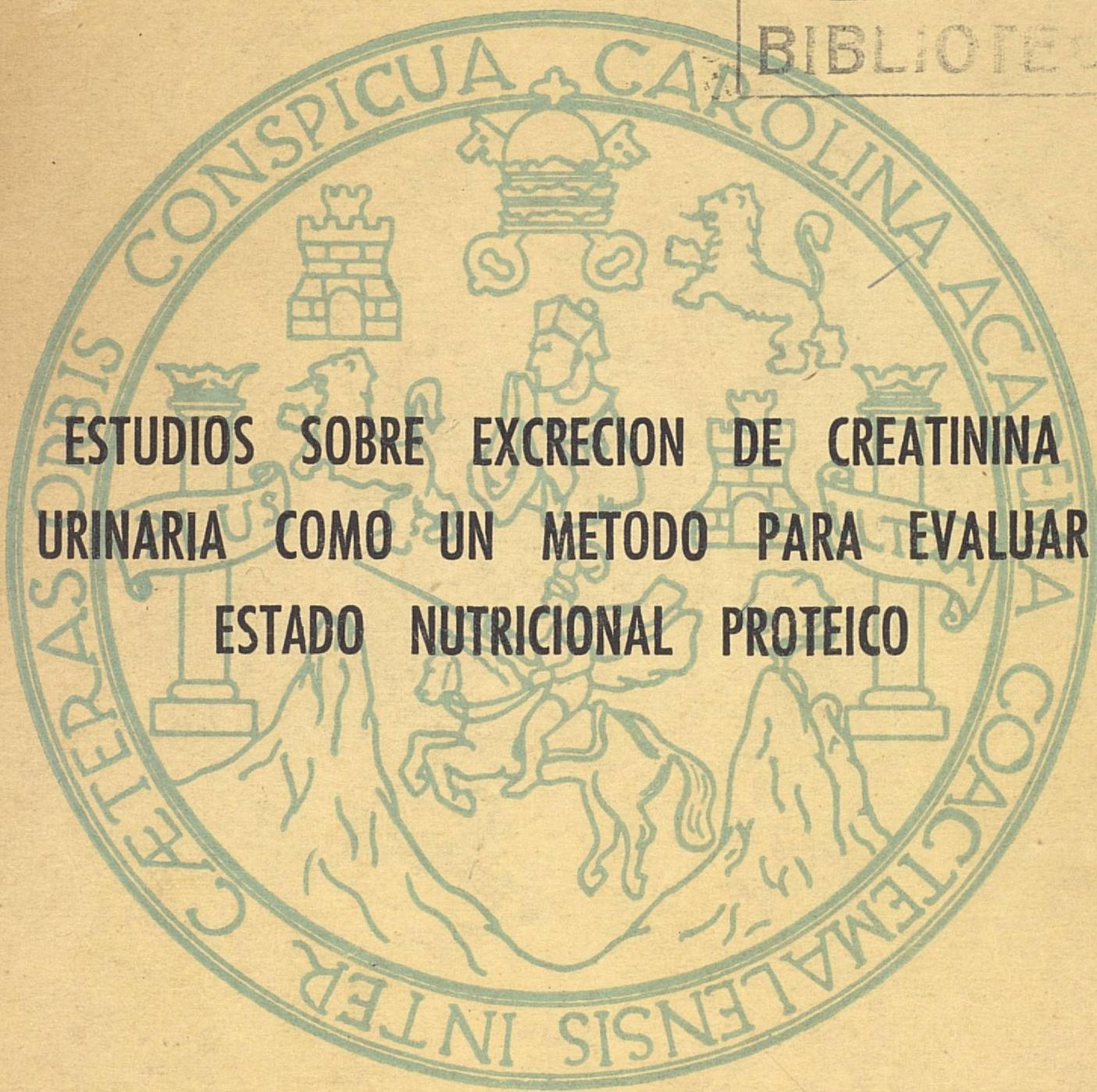


CELINA MOSCOSO DE ARROYAVE

INSTITUTO DE NUTRICION DE  
 CENTRO AMERICA Y PANAMA  
 GUATEMALA, G. A.

BIBLIOTECA



**ESTUDIOS SOBRE EXCRECION DE CREATININA  
 URINARIA COMO UN METODO PARA EVALUAR  
 ESTADO NUTRICIONAL PROTEICO**

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 1960.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

República de Guatemala, C. A.

**ESTUDIOS SOBRE EXCRECION DE CREATININA  
URINARIA COMO UN METODO PARA EVALUAR  
ESTADO NUTRICIONAL PROTEICO**

T E S I S

presentada a la Junta Directiva de la Facultad de Ciencias  
Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos  
de Guatemala,

por

**CELINA MOSCOSO DE ARROYAVE**

en el acto de su investidura de

**QUIMICO BIOLOGO**

Guatemala, Noviembre de 1960.

JUNTA DIRECTIVA  
DE LA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA  
DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

<i>Decano</i> .....	Lic. Luis A. Carrillo
<i>Vocal 1o.</i> .....	Lic. Mario A. Villanueva
<i>Vocal 2o.</i> .....	Ing. Gustavo R. Monzón
<i>Vocal 3o.</i> .....	Lic. Rafael Cazali
<i>Vocal 4o.</i> .....	Br. Mario Antonio Rosales
<i>Vocal 5o.</i> .....	Br. Walter Almengor
<i>Secretario</i> .....	Lic. Roberto Letona

<i>Decano</i> .....	Lic. Luis A. Carrillo
<i>Vocal 1o.</i> .....	Lic. Mario A. Villanueva
<i>Examinador</i> .....	Lic. Raúl Bonilla
<i>Examinador</i> .....	Lic. Domingo Rivera
<i>Secretario</i> .....	Lic. Roberto Letona

DEDICO ESTE ACTO:

*A mis padres*

*A mi esposo*

*A mis hijos*

*A mis hermanos*

*A mis padres políticos*

*DEDICO ESTA TESIS*

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Al Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá  
(INCAP),

en especial a los doctores:

*Guillermo Arroyave B.*

*José Méndez de la Vega*

*Miguel A. Guzmán*

## *Honorable Tribunal Examinador:*

*Presento a vuestra consideración este trabajo de "Tesis" como último requisito para obtener el título de Químico Biólogo.*

*Este trabajo se realizó en los Laboratorios del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Ciudad de Guatemala, bajo la dirección del Dr. Guillermo Arroyave, Jefe de la División de Química Fisiológica. El Dr. Miguel A. Guzmán, Jefe de la División de Estadística y Documentación, orientó y supervisó el trabajo estadístico y el Dr. José Méndez de la Vega, Jefe Asociado de la División de Química Fisiológica y Director de Programas de Enseñanza, contribuyó con valiosas sugerencias durante el desarrollo del trabajo.*

*A ellos, mis sinceros agradecimientos.*

# *INDICE:*

- I. INTRODUCCION
- II. MATERIAL Y METODOS
  - A. Plan Experimental
    - 1. Comprobación del Método
    - 2. Aplicación del Método
  - B. Método de Laboratorio
- III. RESULTADOS
- IV. DISCUSION
- V. RESUMEN
- VI. RECONOCIMIENTOS
- VII. REFERENCIAS

## I. INTRODUCCION

En Guatemala, como en los demás países de la América Central, existen graves problemas de desnutrición que sin duda alguna son el resultado del grado de desarrollo cultural y económico deficiente en nuestras áreas rurales. Como parte de esos problemas, figuran en forma predominante: las deficiencias de proteínas, de vitamina A y de riboflavina, y no menos importante, la prevalencia de bocio endémico. Con respecto a este último se ha logrado ya, afortunadamente, la yodización de la sal, medida ésta que se espera solucione efectivamente el problema. Sin embargo, en lo que a la desnutrición proteica y vitamínica se refiere, la solución es más compleja, ya que ello implica el mejoramiento de las condiciones económico-culturales del país (1). Según Frenk (2) y Ramos Galván y Cravioto (3), los factores responsables del estado nutricional de los miembros integrantes de una comunidad son: la disponibilidad del alimento a través de la producción, transporte y almacenamiento; el consumo del alimento que involucre aspectos económicos, culturales y psicológicos; y finalmente los factores determinantes de la utilización del alimento como son los de orden fisiológico, patológico y los estados nutricionales previos.

La evaluación del estado nutricional de los habitantes de una región determinada requiere el concurso de una unidad funcional completa de trabajo, valiéndose de investigaciones dietéticas, clínicas y bioquímicas.

El desarrollo de las primeras, las encuestas dietéticas (4), requiere la utilización de métodos para obtener la historia de la dieta, cuestionarios que permitan hacer una estimación de los alimentos consumidos, el peso exacto de los alimentos ingeridos y la investigación de los hábitos dietéticos de la familia.

El examen clínico, por su parte, incluye mediciones de peso y talla y observación de signos o lesiones físicas (5-9). En relación con estas últimas, Frenk (2) y Ramos Galván y Cravioto (3) agrupan los signos en las tres clases siguientes: a)

universales —síntomas caracterizados por dilución, hipofunción o atrofia que a su vez pueden clasificarse según su intensidad o apariencia; b) circunstanciales—síntomas universales modificados por factores individuales o ambientales, y c) agregados—síntomas que no son propios de la desnutrición, sino de otras enfermedades tales como infecciones agudas y desequilibrio electrolítico.

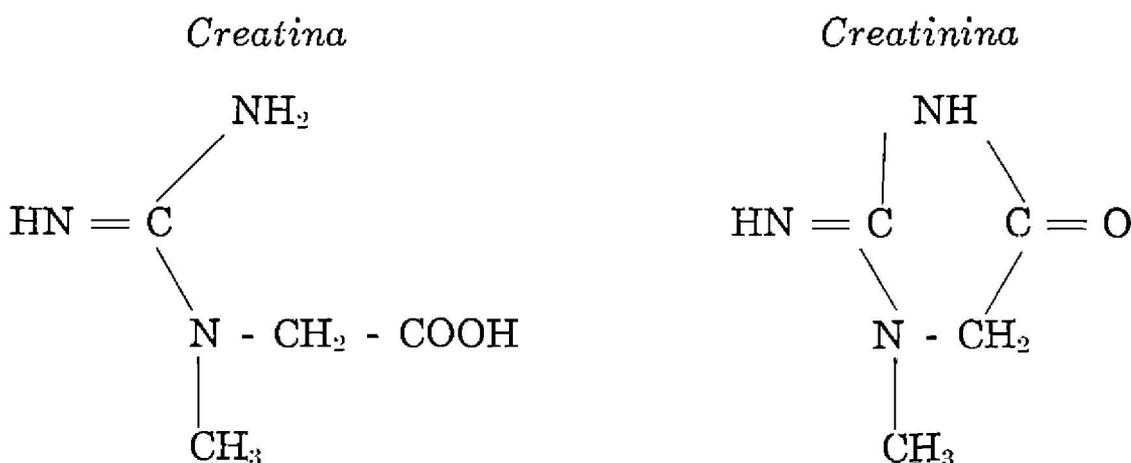
Como pruebas bioquímicas para la evaluación del estado nutricional, se ha usado la determinación de los niveles de ciertos nutrientes y metabolitos en la sangre, en el suero o en otros flúidos. Sin embargo, en el caso de la evaluación nutricional proteica, los niveles séricos de proteínas totales y albúmina, no han demostrado ser índices sensibles de desnutrición proteica moderada debido a que estos niveles séricos tienden a mantenerse de otras fuentes endógenas de proteína, principalmente a expensas de la masa muscular. Cuando la deficiencia es suficientemente severa, no sólo se hace clínicamente evidente, sino también ocurren ciertos cambios bioquímicos marcados. Además de una disminución notable de las proteínas séricas, principalmente en la fracción proteica correspondiente a la albúmina, se observa un descenso de la actividad de ciertas enzimas plasmáticas como la pseudocolinesterasa, la amilasa y la fosfatasa alcalina. Este es precisamente el caso de los niños que sufren del cuadro agudo del Síndrome Pluricarencial de la Infancia (SPI).

Sin embargo, antes de que este cuadro se manifieste, los cambios bioquímicos mencionados en relación con la evaluación de la desnutrición proteica no son apreciables, a pesar de que posiblemente ya exista una condición de deficiencia proteica. Una consecuencia de esto es la búsqueda de métodos bioquímicos prácticos aplicables a los trabajos de campo para la determinación de la deficiencia proteica subclínica.

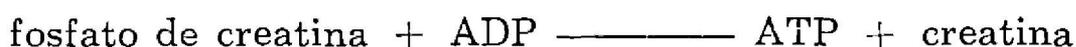
Algunos metabolitos nitrogenados han sido estudiados en relación con el estado nutricional proteico (10). Holmes et al. (11) en un trabajo determinaron el estado nutricional de adultos africanos por la excreción de nitrógeno total obteniendo resultados de acuerdo a las dietas de los individuos estudiados. Hodgson y Lewis (12) en su estudio llevado a cabo en mujeres, encontraron que la excreción de creatina era proporcional al tejido muscular. McLaughlin y Blunt (13) por su parte, encontraron que esta excreción era constante en las mujeres y Wang et al. (14) en un estudio sobre nitrógeno urinario demostraron que los niños excretaban la creatinina en forma

constante. Ramachandran et al. (15) encontraron constancia en la excreción de creatinina en hombres sanos (16).

La creatinina es el anhídrido interno de la creatina.



La creatina se presenta en los tejidos generalmente como fosfato de creatina, en el que la unión - N-P es rica en energía. Durante la contracción muscular el fosfato de creatina se hidroliza en creatina y fosfato inorgánico, liberando así una considerable cantidad de energía que asciende a más o menos 10,000 calorías por molécula gramo. Las reacciones se suceden de la siguiente manera:



La reacción de desfosforilación de la creatina es reversible y se conoce como reacción de Lohmann.

La hidrólisis del ATP proporciona la energía necesaria para la contracción muscular, siendo así el fosfato de creatina una reserva de energía que mantiene la concentración del ATP, forma única ésta de energía utilizable por el organismo.

La creatina se encuentra distribuida en la mayoría de los tejidos, principalmente en el tejido muscular (en un 98% más o menos de la creatina total).

A pesar de los numerosos trabajos que hasta la fecha se han llevado a cabo sobre el metabolismo de las proteínas, únicamente se tiene conocimiento parcial del mecanismo mediante el cual se integran las complicadas estructuras proteicas para la formación de tejidos.

Antiguamente la teoría de Folin sostenía que, en condiciones de equilibrio, la biosíntesis de proteínas en un animal adulto se efectuaba sólo en pequeña escala y que las proteínas estructurales del organismo estaban sujetas a catabolismo y reparación mínimos, fase ésta a la que llamó de "metabolismo endógeno". En estas condiciones las proteínas de los alimentos no se necesitarían, sufriendo hidrólisis y oxidación a productos que se excretaban finalmente como urea, ácido úrico y otros metabolitos menores. Folin denominó esta fase como "metabolismo proteico exógeno".

Todo esto tuvo lugar antes de 1935, año en que Borsook y Dubnoff (16) con su postulado establecieron el "estado dinámico de las proteínas", bajo el cual se mantenían en constante catabolismo y síntesis. Bloch y Schoenheimer (17) con sus experimentos confirmaron dichos conceptos. Estos investigadores demostraron que aun en un animal adulto en balance nitrogenado el sistema de reacciones: proteínas  $\rightleftharpoons$  aminoácidos  $\rightleftharpoons$  productos catabólicos, se mantiene en función constante, porque las reacciones son reversibles, dependiendo del pH y del substrato presente (18). Para que esto ocurra, las uniones peptídicas (-CO-NH-) de las cadenas proteicas, tienen que ser constantemente hidrolizadas y sintetizadas.

Bloch y Schoenheimer también demostraron que la síntesis proteica ocurría tanto cuando el animal recibía abundante cantidad de aminoácidos en la dieta como cuando no consumía éstos. Tales estudios fueron hechos con la ayuda de isótopos radioactivos y pesados como el  $N^{15}$ ,  $C^{14}$  y  $H^3$ .

El ciclo dinámico de las proteínas parece ser un proceso rápido, siendo rápidas también la hidrólisis y la síntesis de las uniones peptídicas. La vida media de las proteínas totales en el hombre es de 80 días.

La reacción entre el grupo carboxilo de un aminoácido con el grupo amino de otro para formar una unión peptídica, implica el aporte de energía, ya que la reacción no ocurre espontáneamente. La energía necesaria para formar un dipéptido es de 3,000 a 4,000 calorías, lo que en términos de energía consumida significa que la síntesis proteica con el consiguiente crecimiento, es un proceso costoso para el organismo. Esta es la razón del por qué se debe proporcionar cerca del 50% de los requerimientos calóricos mínimos de un animal, en forma de carbohidratos, y alrededor de un 30% en forma de grasas. La administración por vía oral o parenteral de creatinina en las personas adultas resulta sólo en la excreción de una fracción mínima de la misma en la orina. Una sola dosis

de creatina no produce ningún aumento en la creatinina urinaria. Sin embargo, la administración prolongada de cantidades grandes de creatina dan por resultado la excreción de cantidades extra de creatinina, que continúa varias semanas después de que la administración de creatina se interrumpe. Esto sucede porque durante la administración la creatina del músculo, del hígado y de los riñones aumenta en un día, permaneciendo constante a este nivel. Al interrumpir la administración, el exceso de creatina desaparece rápidamente de todos los tejidos, con "excepción del músculo" que la retiene en grandes cantidades por algún tiempo. Block y Schoenheimer (19), administrando creatina marcada con  $N^{15}$  a ratas, observaron que ésta se depositaba en los tejidos. Al analizar la creatinina urinaria se observó alta concentración del isótopo, indicando su origen en la creatina administrada. Los mismos investigadores (19) administraron creatinina marcada con  $N^{15}$  a ratas, pudiendo comprobar la pronta recuperación de la mayor parte de la misma en la orina. En este último experimento la "creatina" de los tejidos no contenía  $N^{15}$ , lo que también demostró que la reacción creatina  $\rightarrow$  creatinina es irreversible. Es un hecho que durante los primeros meses de vida tanto la cantidad de creatina como la de creatinina, aumentan gradualmente (20); esta última disminuye en el período de la adolescencia hasta desaparecer por completo en el adulto masculino. Algunas veces existe en mujeres en estado de gravidez.

Folin (21), en el curso de un trabajo, citado por Stearns y colaboradores (22), informa que la cantidad de creatinina excretada en 24 horas constituye una medida excelente del esqueleto muscular de una persona. Precisamente una de las condiciones que priva en los casos de deficiencia proteica, es la reducción del tejido muscular o masa activa de un individuo y como consecuencia de ello, en estos casos la excreción de creatinina urinaria disminuye. Según establecen Peters y Van Slyke (23), la excreción de creatinina de una persona es el reflejo de su masa activa, es constante, muy propia de cada sujeto sano, no es afectada en mayor grado por la dieta (24) o por variaciones en el volumen de la orina y está determinada por el tamaño corporal. Estudios realizados a este particular en la India por Ramachandran y coinvestigadores (15), y en Guatemala por Arroyave (25), y por Arroyave y Wilson (26), demuestran que en los estados de deficiencia nutricional proteica la excreción de creatinina se reduce considerablemente (27-29). Las investigaciones en cuestión se hicie-

ron en muestras de orina recolectadas en un período de 24 horas, método éste que por la larga duración del período de colecta lo ha hecho inaplicable a las pruebas de campo.

Vestergaard y Leverett (30), refiriéndose a la excreta en períodos cortos, llegan a la conclusión de que dentro de las mismas 24 horas hay también variabilidad. Por este motivo consideran necesario que para determinar la excreta en períodos cortos, se efectúe un estudio previo de la variabilidad de excreción de creatinina de las personas. Shaffer (31), por otra parte, en sus trabajos sobre excreción de creatinina determinada en períodos cortos de tiempo, encontró que había variabilidad mínima dentro de las 24 horas, pero que ésta es propia de cada persona sana como lo es la variabilidad que existe de un día a otro. En vista del escaso número de datos proporcionados por Vestergaard y Leverett (30) en sus informes a este particular, no es posible desechar las conclusiones de Shaffer (31).

Con base en los antecedentes expuestos, se llevó a cabo el estudio que constituye el tema de este Trabajo de Tesis, cuyo objetivo fue investigar el grado hasta donde las colecciones de orina por períodos cortos de tiempo, de 3 horas aproximadamente, son suficientes para obtener información sobre la excreción característica diaria de personas.

## II. MATERIAL Y METODOS

### A. PLAN EXPERIMENTAL

Con el propósito de simplificar la descripción del material utilizado en el estudio, éste se presenta dividido en dos partes: 1) comprobación del método estudiado y 2) aplicación del método.

#### 1. *Comprobación del Método:*

El estudio se inició con la selección de 3 grupos de personas para comprobar si la excreción de creatinina en un término aproximado de 3 horas representa un dato con el cual se puede calcular la excreción en 24 horas. Las personas que integraron esta parte del estudio colaboraron espontáneamente y recogieron las muestras de orina según las indicaciones estipuladas especialmente para este propósito (véase hoja de indicaciones No. 1).

El primero de estos grupos lo constituían 9 hombres adultos comprendidos entre los 23 y los 39 años de edad, todos ellos miembros del personal del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), quienes fueron instruidos para que siguieran estrictamente las indicaciones.

El segundo grupo lo formaban 12 mujeres adultas, once de las cuales prestan servicios también en la misma Institución (INCAP), con las edades que oscilaban entre los 19 y los 57 años.

El tercero y último grupo lo integraban 15 niños del sexo masculino, 7 de ellos hijos de personas que trabajaban en el INCAP y los 8 restantes de una Institución benéfica de Guatemala (El Hogar del Niño Convaleciente). En este grupo la recolección de las muestras fue supervisada por uno de los padres de los niños o bien por enfermeras.

Ninguna de las personas que integraban los 3 grupos mencionados fueron sometidas a limitaciones en su dieta habitual. Sin embargo, el día anterior al de la colecta se les previno de no ingerir riñón, hígado o carne en exceso.

*Procedimiento segundo para la recolección de muestras:*

Se tomó una muestra de 3 horas aproximadamente y a continuación una de 21 horas, anotando exactamente el número de minutos entre el vaciamiento inicial de la vejiga y la última micción recolectada. En ninguno de los casos se usó el cateterismo sino excreción espontánea.

## HOJA DE INDICACIONES No. 1

*Indicaciones a seguir para la obtención  
de muestras de orina de 3 y de 21 horas*

*Toma de muestra en el frasco identificado con la letra "A"*

1. Recibir sus recipientes "A" y "B" en la mañana, del laboratorio de Química Fisiológica.
2. Vaciar la vejiga descartando su orina y anotando en la etiqueta del frasco la hora exacta del descarte.
3. Recoger en el frasco "A" toda la orina excretada dentro de las siguientes 3 horas (lo más aproximado posible), y anotar la hora exacta de la última micción.

*Toma de muestra en el frasco identificado con la letra "B"*

4. Recolectar la demás orina excretada durante las 21 horas restantes en el frasco "B".
5. Anotar la hora exacta de la última micción, que debe ser aproximadamente a la hora del día siguiente en que se inicia la obtención.

NOTA: Consúmase la dieta corriente, sin excederse en la ingestión de carne, y no se ingiera hígado ni riñones el día anterior de la obtención de la muestra.

## 2. *Aplicación del Método:*

En este caso se seleccionaron dos grupos de escolares del sexo masculino de 6 a 14 años de edad y de niveles socio-económicos diferentes. Uno de ellos incluyó 95 niños de la escuela matutina de la Colonia Bethania, situada en el área urbana de la Ciudad de Guatemala en representación del grupo urbano de bajo nivel socio-económico, y el otro, formado por 108 escolares del Colegio Americano de Guatemala, como representantes del grupo urbano de alto nivel socio-económico. Para cada niño se calculó el índice de muscularidad (32) y la excreción de creatinina se determinó en una muestra de orina de 3 horas, expresándola en miligramos por centímetro de talla. En el Cuadro 2, se presenta un detalle de las dietas consumidas por cada uno de los grupos, de acuerdo con los resultados de las encuestas realizadas en julio de 1959 y en febrero de 1960 por la Sección de Encuestas Dietéticas del INCAP (33). Según se puede observar, la ingesta proteica es bastante satisfactoria en ambos grupos, pero en los escolares de la Colonia Bethania ésta fue considerablemente baja en lo que se refiere a vitaminas A y C.

### *Procedimiento seguido para la recolección de muestras:*

La colecta de las muestras de orina en estos grupos estuvo directamente a cargo de los responsables del estudio, habiéndose instruido a los niños, previa colecta, mediante la hoja de indicaciones No. 2, incluida en este trabajo.

Los niños fueron medidos y pesados. Además, se tomaron medidas de la circunferencia del brazo, a la mitad del brazo izquierdo en los niños que utilizan con mayor habilidad el brazo derecho, y a la mitad del brazo derecho en los niños zurdos. En la parte dorsal del brazo, a la misma altura y en el mismo brazo se midió el grosor de la piel y del tejido adiposo subcutáneo (32, 34 y 35). Estas dos últimas medidas se hicieron para determinar el índice de muscularidad, usándose la fórmula de Brozek (32):

$$D = \frac{C}{\pi} - S$$

Esta fórmula se interpreta según el detalle siguiente:

D=diámetro de la circunferencia muscular del brazo.

C=circunferencia externa del brazo.

S=2 veces el grosor de la piel y tejido adiposo subcutáneo.

Jelliffe y Jelliffe (35), interpretan esta fórmula como sigue:

$D_2 = \frac{C_2}{\pi} - S$ , en que la circunferencia muscular del brazo ( $C_2$ ) es igual a la circunferencia externa del brazo ( $C_1$ ) menos 2 veces el grosor del tejido adiposo y de la piel (S).

$$S = D_1 - D_2$$

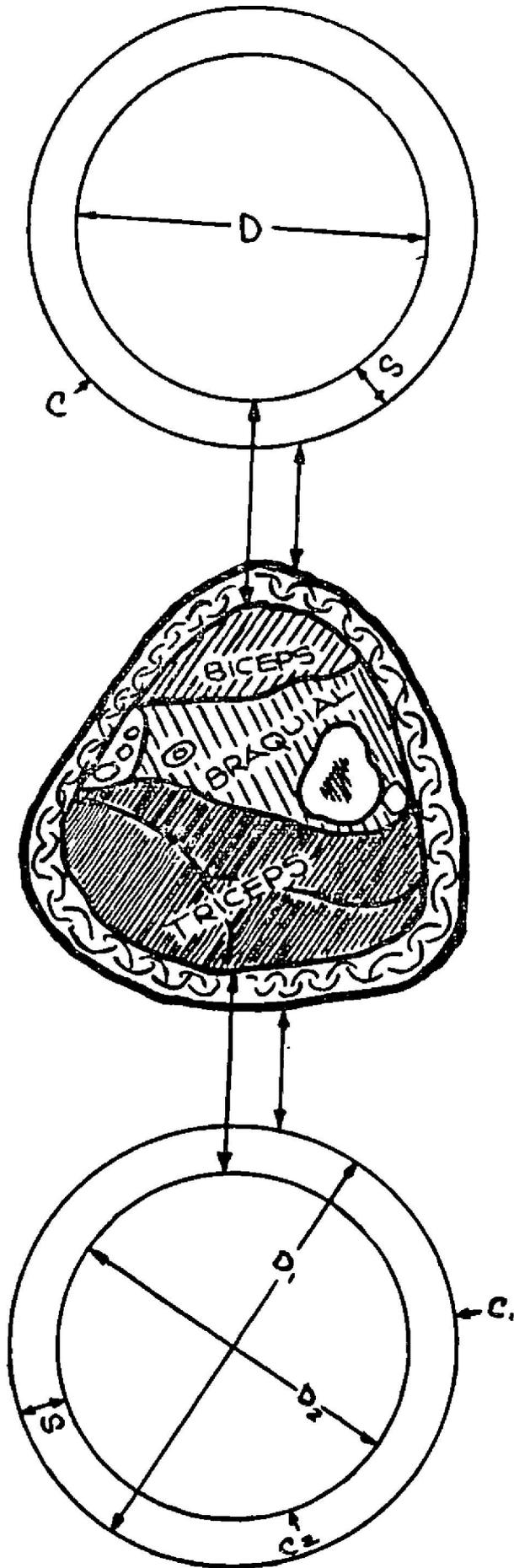
$$C_1 = \pi D_1$$

$$C_2 = \pi D_1 - (\pi D_1 - \pi D_2)$$

$$C_2 = \pi D_2 = C_1 - \pi (D_1 - D_2)$$

$$= C_1 - \pi S$$

Ya sea que se use una u otra forma para determinar el índice de muscularidad, se asume que el hueso es constante y que el músculo del brazo es representativo de la masa muscular del cuerpo.



## HOJA DE INDICACIONES No. 2

### *Indicaciones para la colecta de orina de más o menos tres horas*

El niño debe:

1. Ir al inodoro y vaciar la vejiga; la encargada deberá apuntar la hora exacta.
2. Tomar agua.
3. Las siguientes emisiones de orina dentro de las próximas tres horas deberán hacerse en el frasco que se les dará con su nombre.
4. La encargada apuntará la hora exacta de la última emisión de orina.

NOTA: Cada niño debe ser pesado y medido.

Todas las muestras de orina fueron recogidas usando tolueno como preservativo y luego almacenadas, libres del tolueno, a  $-20^{\circ}$  C hasta el momento de llevar a cabo la determinación (29).

### B. METODO DE LABORATORIO PARA LA DETERMINACION DE CREATININA EN LA ORINA

El método usado para la determinación de creatinina en la orina de las personas que integraron este estudio, fue el de Clark y Thompson (36) adaptado a microescala, y utilizando la reacción de picrato alcalino de Jaffé en la que debe usarse ácido pícrico purificado. No se estimó necesario realizar análisis cualitativo de las muestras por considerarse que todos los sujetos eran "normales".

La purificación del ácido pícrico (37) se hace disolviéndolo en agua caliente con carbonato de sodio, filtrando la so-

lución y dejándola enfriar. Una vez formados los cristales, éstos se lavan con una solución fría de cloruro de sodio al 10%. Luego se resuspenden los cristales en poca agua y la suspensión se acidifica con ácido clorhídrico frío al 10%. Los cristales de ácido pícrico liberados de la forma de picrato por el agregado de ácido clorhídrico, se lavan con agua fría y se secan entre papel filtro en un horno al vacío a la temperatura de 72° C. El ácido pícrico así purificado se guarda en frascos oscuros.

### 1. *Reactivos Usados:*

- a) Acido pícrico purificado al 1.17% en solución acuosa con un pH de  $2 \pm 0.05$ .
- b) Solución acuosa de hidróxido de sodio al 10%.
- c) Agua destilada.
- d) Solución madre de creatinina que contiene 1 miligramo por cc. en ácido clorhídrico 0.1 N.
- e) Solución tipo de creatinina preparada de la solución madre para que contenga 0.1 miligramo de creatinina por cc. (Esto se prepara al momento de correr las muestras).

### 2. *Muestras:*

Las muestras deben ser filtradas antes de la dilución y, de éstas se toma 1 cc. de orina que se diluye según la concentración esperada de creatinina con 4, 9 ó 19 cc. de agua destilada, dando diluciones de 1:5, 1:10 ó 1:20, respectivamente. La reacción se lleva a cabo de acuerdo con el procedimiento que a continuación se detalla. En tubos de 10 cc., en duplicado, se colocan, usando una pipeta de constricción, 100 lambdas (38) de agua, 100 de la solución tipo y 100 de la dilución de cada muestra para 1 blanco, 1 tipo y cada una de las muestras, respectivamente. Luego se agregan 400 lambdas (38) de la solución de ácido pícrico al 1.17% (también con una pipeta de constricción) y se mezcla bien. Utilizando esa misma clase de pipeta se agregan 30 lambdas de hidróxido de sodio al 10%, fase ésta del proceso en que la mezcla se agita constantemente mientras se añade la soda. La mezcla se deja reposar durante un período de 20 minutos exactos y se añade 1.5 cc. de agua destilada.

### III. RESULTADOS

#### A. COMPROBACION DEL METODO.

Las muestras obtenidas de los grupos de adultos de ambos sexos, así como de los niños, proporcionaron los datos que se presentan en el Cuadro 1. En él puede apreciarse que la excreta, medida en miligramos de creatinina urinaria por minuto, fue prácticamente la misma en los períodos de recolección de orina de 3, 21 y 24 horas. Las excretas de creatinina, por minuto, revelaron diferencias para cada grupo, siendo ésta mayor en el caso de los hombres (1.13 mg.;  $s=0.13$ ), intermedia en las mujeres (.67 mg.;  $s=0.10$ ) y menor en los niños (0.22 mg.;  $s=0.12$ ).

En la gráfica No. 1 se compara la excreción de creatinina por minuto de una muestra de 3 horas, con la excreción por minuto de una muestra de 21 horas. Según se puede observar, existe una tendencia muy significativa de correlación lineal ( $r=0.97$  g.l.=36), lo que indica que la excreta de creatinina de 21 horas puede predecirse a partir de la excreta de creatinina en el término de 3 horas, utilizando la ecuación: .....  
 $y=0.0429+0.935x$ . Donde "y" es igual a miligramos de creatinina por minuto en muestras de 21 horas y, "x" es igual a miligramos de creatinina por minuto en muestra de 3 horas.

Las predicciones son más efectivas en el caso de un promedio de un grupo de individuos, que en el caso de valores individuales.

La gráfica No. 2 muestra también la correlación entre miligramos de creatinina excretados por minuto, de una muestra de 3 horas, y los excretados por minuto de una muestra de 24 horas ( $r=0.976$ ; g.l.=36). Como era de esperar esta relación gráfica es esencialmente igual a la descrita en el párrafo anterior, referente a la gráfica No. 1.

La excreta de 24 horas puede, pues, predecirse utilizando la ecuación:  $y=0.0376+0.943x$ . Donde "y" es igual a miligramos de creatinina por minuto en muestra de 24 horas y, "x" es igual a miligramos por minuto en muestra de 3 horas.

## CUADRO 1

Comparación de la Excreción de Creatinina Urinaria en  
Muestras Recogidas en Períodos Continuos de  
Diferente Duración.

Grupos	No.	Muestra de $\pm 3$ horas mg./minuto (A)		Muestra de $\pm 21$ horas mg./minuto (B)		Muestra de $\pm 24$ horas mg./minuto (A + B)	
		$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Adultos	12	1.14	0.16	1.13	0.12	1.13	0.12
Adultos	12	0.66	0.10	0.68	0.10	0.68	0.09
Niños	15	0.26	0.12	0.27	0.12	0.27	0.12

$\bar{x}$  = promedio aritmético; s = desviación estándar.

CUADRO 2

Promedios de Peso y Talla de los Grupos de Nivel Socio-económico Diferentes Incluidos en el Estudio

	Alto Nivel Socio-económico									Bajo Nivel Socio-económico							
Edad (años)	6	7	8	9	10	11	12	13	14	7	8	9	10	11	12	13	14
Peso lbs.)	50.9	56.9	55.2	65.3	71.9	79.3	84.1	95.7	73.2	39.9	42.8	44.8	48.7	58.1	60.0	68.4	83.6
Talla (cms.)	117.6	123.6	126.1	130.9	137.9	141.8	145.8	150.8	142.4	113.9	117.1	120.2	122.2	129.5	132.4	139.2	145.4
No. Casos	9	14	20	19	10	15	9	12	1	11	20	14	15	15	8	8	4

## 2. Aplicación del Método:

Los promedios de peso y talla correspondientes a los niños del Colegio Americano, por cada grupo de edad, son mayores que los promedios de peso y talla de los escolares en la Colonia Bethania (Cuadro 2).

La ingesta de estos últimos, por una parte, acusa un consumo de proteína total que satisface el 79% de los requerimientos establecidos, mientras que, por otra parte, la ingesta de los niños del Colegio Americano sobrepasa los requerimientos de la mayor parte de los nutrientes (véase Cuadro 3).

La comparación de los dos grupos de nivel socio-económico diferente, usando las muestras recogidas en el término de 3 horas, dió por resultado los datos promedio de mg. de creatinina/cm. de talla que se presentan en el Cuadro 4, y en la gráfica No. 3 en comparación con la curva de Stearns y colaboradores (22).

Según puede verse en la Gráfica No. 4 los índices de muscularidad y miligramos de creatinina por centímetro de talla, aumentan con la edad en ambos grupos, siendo diferentes para los 2 grupos socio-económicos estudiados. Se obtuvo un promedio de diferencia ( $\bar{D}$ )<sup>1</sup> ajustado para la desproporción en los grupos, de 0.55 para miligramos de creatinina por centímetro de talla y de 0.62 unidades en el índice de muscularidad a favor del grupo de nivel socio-económico alto en ambos casos.

La ausencia de una interacción significativa entre grupo socio-económico y edad, indica que las diferencias para los grupos socio-económicos son constantes en todas las edades o bien que las diferencias en edades son constantes en ambos grupos socio-económicos (véanse Cuadros 5 y 6).

Para la evaluación de estos índices se hizo un análisis preliminar de varianza que luego se ajustó para la desproporción del número de casos en las distintas edades. Los resultados de ambos análisis se detallan en el cuadro 5 para el índice de muscularidad y, en el cuadro 6 para la excreta de creatinina, expresada en miligramos por centímetro de talla. Las conclusiones sugeridas por las diferencias significativas que reveló el aná-

---

1

$\bar{D}$  —La mejor estima para la diferencia entre el grupo socio económico alto y el grupo socio económico bajo.

lisis preliminar fueron confirmadas por el ajuste realizado. Las diferencias en miligramos de creatinina por centímetro de talla, fueron estadísticamente significativas al nivel del 5% para los grupos socio-económicos y, al nivel del 1% en el caso de las edades. En lo que respecta al índice de muscularidad, la diferencia fue significativa al nivel del 1%, tanto en los grupos socio-económicos estudiados, como para las edades.

### CUADRO 3

#### Comparación Dietética de los 2 Grupos Estudiados.

Promedio de consumo diario de nutrientes por alumno en el Colegio Americano. Total de 19 alumnos, Julio de 1959.

<i>Nutrientes</i>		<i>Consumo</i>	<i>Requerimiento</i>	<i>% de Requerimiento</i>
Calorías		2080	2466	84
Proteínas totales	grs.	78.18	80.26	97
Proteína animal	grs.	52.79	---	--
Grasa	grs.	77.3	---	--
Carbohidratos	grs.	276.4	---	--
Calcio	mgs.	1342	1311	102
Fósforo	mgs.	1317	---	--
Hierro	mgs.	24 3	14.8	164
Vitamina A	U.I.	5443	4974	109
Tiamina	mgs.	0.97	1.23	79
Riboflavina	mgs.	2.13	2.01	103
Niacina	mgs.	13.81	12.65	109
Vitamina C	mgs.	130	81	160

Promedio de consumo diario de nutrientes por alumno de la Colonia Beithania. Total 11 alumnos, Febrero de 1960.

<i>Nutrientes</i>		<i>Consumo</i>	<i>Requerimiento</i>	<i>% de Requerimiento</i>
Calorías		1583	2020	78
Proteínas totales	grs.	49.79	62.73	79
Proteína animal	grs.	16.48	---	--
Grasa	grs.	25.0	---	--
Carbohidratos	grs.	296.2	---	--
Calcio	mgs.	898	1073	84
Fósforo	mgs.	1044	---	--
Hierro	mgs.	9.3	10 5	89
Vitamina A	U.I.	633	3773	17
Tiamina	mgs.	0.70	1.05	67
Riboflavina	mgs.	0.95	1.58	60
Niacina	mgs.	8.40	10 26	82
Vitamina C	mgs.	27	65	42

## CUADRO 4

Indice de Muscularidad y Excreción de Creatinina en Escolares  
Guatemaltecos de Dos Grupos Socio-económicos Diferentes.

		<i>Indice de Muscularidad</i>								<i>mg. de Creatinina por cm. de Talla</i>							
Edad (años)		7	8	9	10	11	12	13	Total	7	8	9	10	11	12	13	Total
Alto Nivel	N	14	20	19	10	15	9	12	99	14	20	19	10	15	9	12	99
Socio-económico	$\bar{X}$	5.60	5.32	5.73	6.01	6.04	6.45	6.67	5.97	4.14	4.95	5.12	5.28	4.90	6.43	5.51	5.19
Bajo Nivel	N	11	20	14	15	15	8	8	91	11	20	14	15	15	8	8	91
Socio-económico	$\bar{X}$	4.73	5.00	5.23	5.21	5.48	5.56	5.89	5.30	3.62	4.13	3.90	4.38	4.94	6.99	5.16	4.73

N=Número de casos en cada grupo de edad;  $\bar{X}$ =Promedio aritmético.

CUADRO 5

Análisis de la Excreción de Creatinina (mg./cm.)  
en Escolares Guatemaltecos

Análisis preliminar:

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>
Grupos socio-económicos	1	13.8758	13.8758 °
Edades	6	91.3395	15.2232 °°
Edades por grupos socio-económicos	6	13.3965	2.2327
Error experimental	176	449.5041	2.55

Ajuste para la desproporción en las subclases (grupos de edad)

<i>Edad</i>	<i>Alto nivel socio-económico</i>	<i>Bajo nivel socio-económico</i>	$K_1$	$K_2$	$\frac{K_1}{K_1+K_2}$	$\frac{K_2}{K_1+K_2}$	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$		
	$K_1$	$\bar{X}_1$	$K_2$	$\bar{X}_2$	$W$	$D$	$WD$	$WD^2$	
7	14	4.14	11	3.62	6.1600	0.52	3.2032	1.6657	
8	20	4.95	20	4.13	10.0000	0.82	8.2000	6.7240	
9	19	5.12	14	3.90	8.0606	1.22	9.8339	11.9974	
10	10	5.28	15	4.38	6.0000	0.90	5.4000	4.8600	
11	15	4.90	15	4.94	7.5000	-0.04	-0.3000	0.0120	
12	9	6.43	8	6.99	4.2353	-0.56	-2.3718	1.3282	
13	12	5.51	8	5.16	4.8000	0.35	1.6800	0.5880	
Total					46.7559		25.6453	27.1752	

Nivel socio-económico =  $(\sum WD)^2 / \sum WD = 14.0663$

Interacción =  $\sum WD^2 - (\sum WD) / \sum W = 13.1089$ ;

Corrección para la desproporción =  $13.8758 - (\sum WD)^2 / \sum W^2 = -0.1905$

Edades =  $91.3395 - (-) 0.1905 = 91.5300$ ;

K = número de casos en cada grupo;

$\bar{D} = \sum WD / \sum W = 0.55$

Análisis final:

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>
Grupos socio-económicos	1	14.0663	14.0663 °
Edades	6	91.5300	15.4217 °°
Edades por grupos socio-económicos	6	13.1089	2.1848
Error experimental	176	449.5041	2.55

° Denota diferencia significativa al nivel del 5%

°° Denota diferencia significativa al nivel del 1%

CUADRO 6

Análisis de los índices de Muscularidad en Escolares Guatemaltecos.

Análisis preliminar:

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>
Grupos socio-económicos	1	19.3470	19.3470 **
Edades	6	27.2530	4.5421 **
Edades por grupos sociales	6	0.7808	0.1301
Error experimental	176	33.9632	0.1929

Ajuste para la desproporción en las subclases (grupos de edad)

<i>Edad</i>	<i>Bajo nivel socio-económico</i>	<i>Alto nivel socio-económico</i>	$\frac{K_1}{K_1 + K_2}$	$\frac{K_2}{K_1 + K_2}$	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$			
	$K_1$	$\bar{X}_1$	$K_2$	$\bar{X}_2$	W	D	WD	$WD_2$
7	11	4.73	14	5.60	6.1600	-0.87	-5.2592	4.662504
8	20	5.00	20	5.32	10.0000	-0.32	-3.2000	1.024000
9	14	5.23	19	5.73	8.0606	-0.50	-4.0303	2.015150
10	15	5.21	10	6.01	6.0000	-0.80	-4.8000	3.840000
11	15	5.48	15	6.04	7.5000	-0.56	-4.2000	2.352000
12	8	5.56	9	6.45	4.2353	-0.89	-3.7694	3.354766
13	8	5.89	12	6.67	4.8000	-0.78	-3.7440	2.920320
Total					46.7559		-29.1029	20.168740

Nivel socio-económico =  $(\sum WD)^2 / \sum W = 18.1149$

Interacción =  $\sum WD^2 - (\sum WD)^2 / \sum W = 2.05384$ ;

Corrección para la desproporción =  $19.3470 - (\sum WD) / \sum W = 1.2321$

Edades =  $27.2530 - 1.2321 = 26.0209$ ;

K = Número de casos en cada grupo;

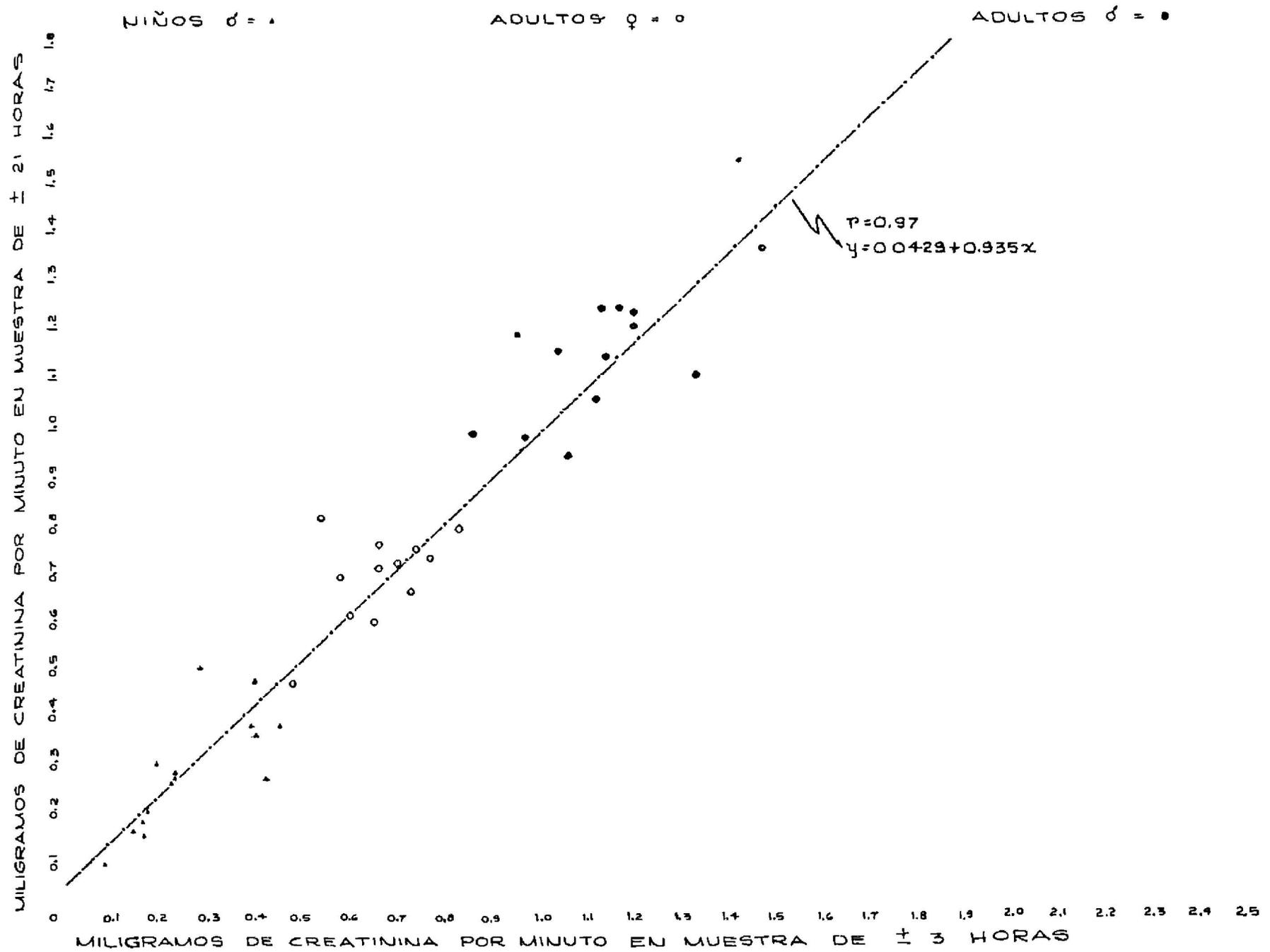
$\bar{D} = \sum WD / \sum W = 0.62$

Análisis final:

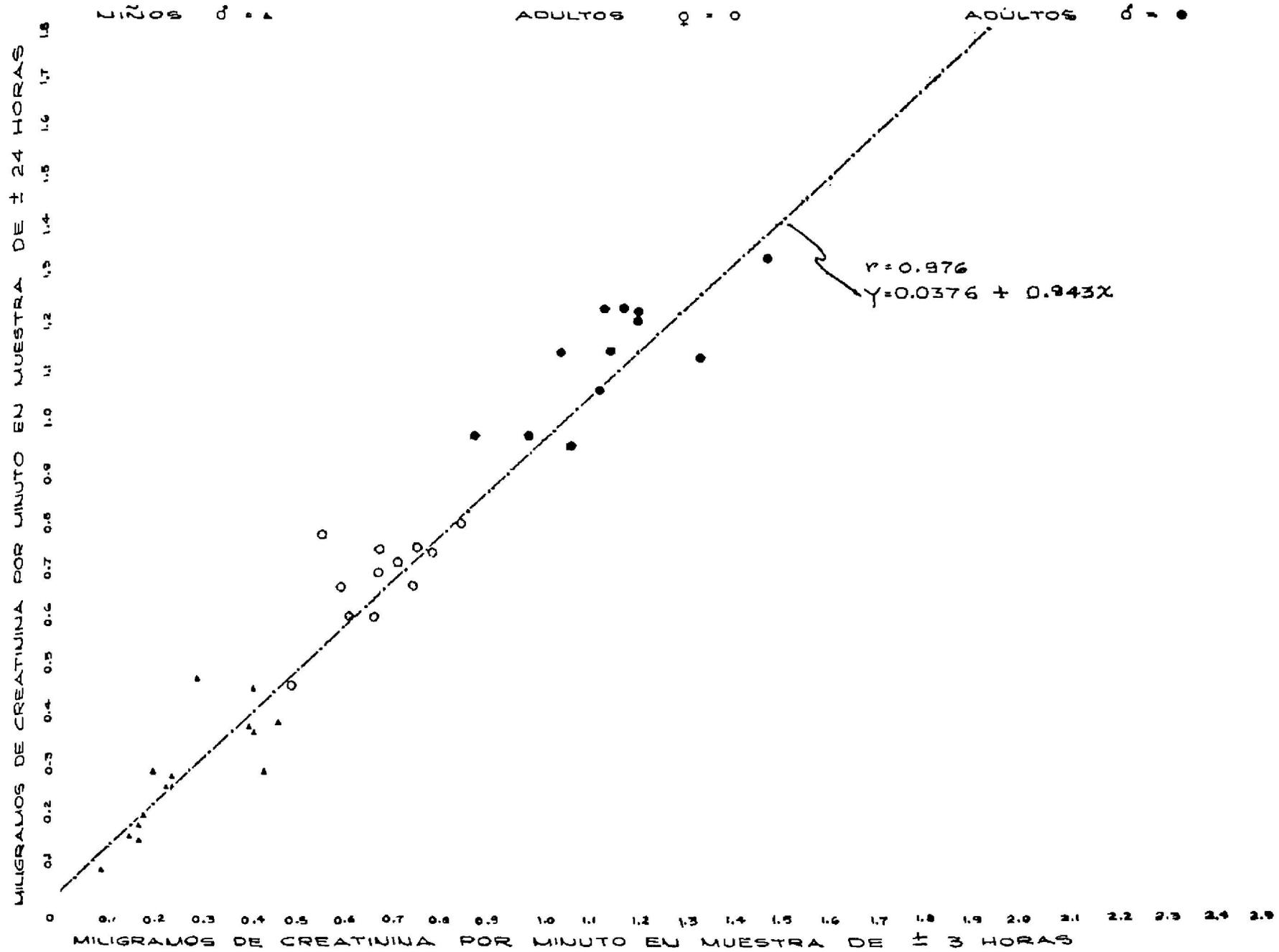
<i>Fuente de variación</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>
Grupos socio-económicos	1	18.1149	18.1149 **
Edades	6	26.0209	4.3368 **
Edades por grupos sociales	6	2.0538	0.3423
Error experimental	176	33.9632	0.1929

\*\* Denota diferencia significativa al nivel del 1%.

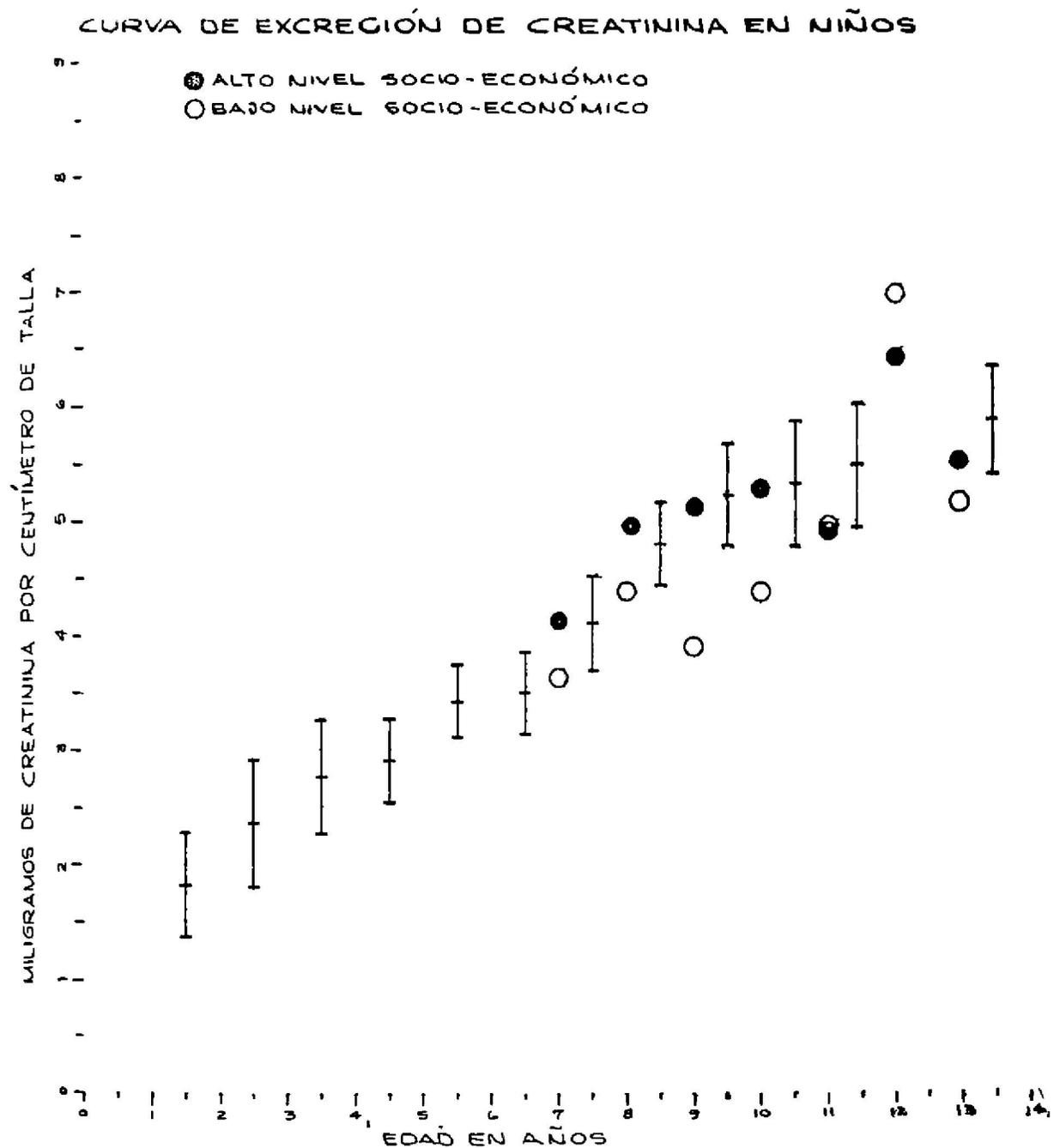
GRAFICA No. 1.—Comparación entre la excreción de creatinina por minuto, en muestras de 3 horas y en muestras de 21 horas.



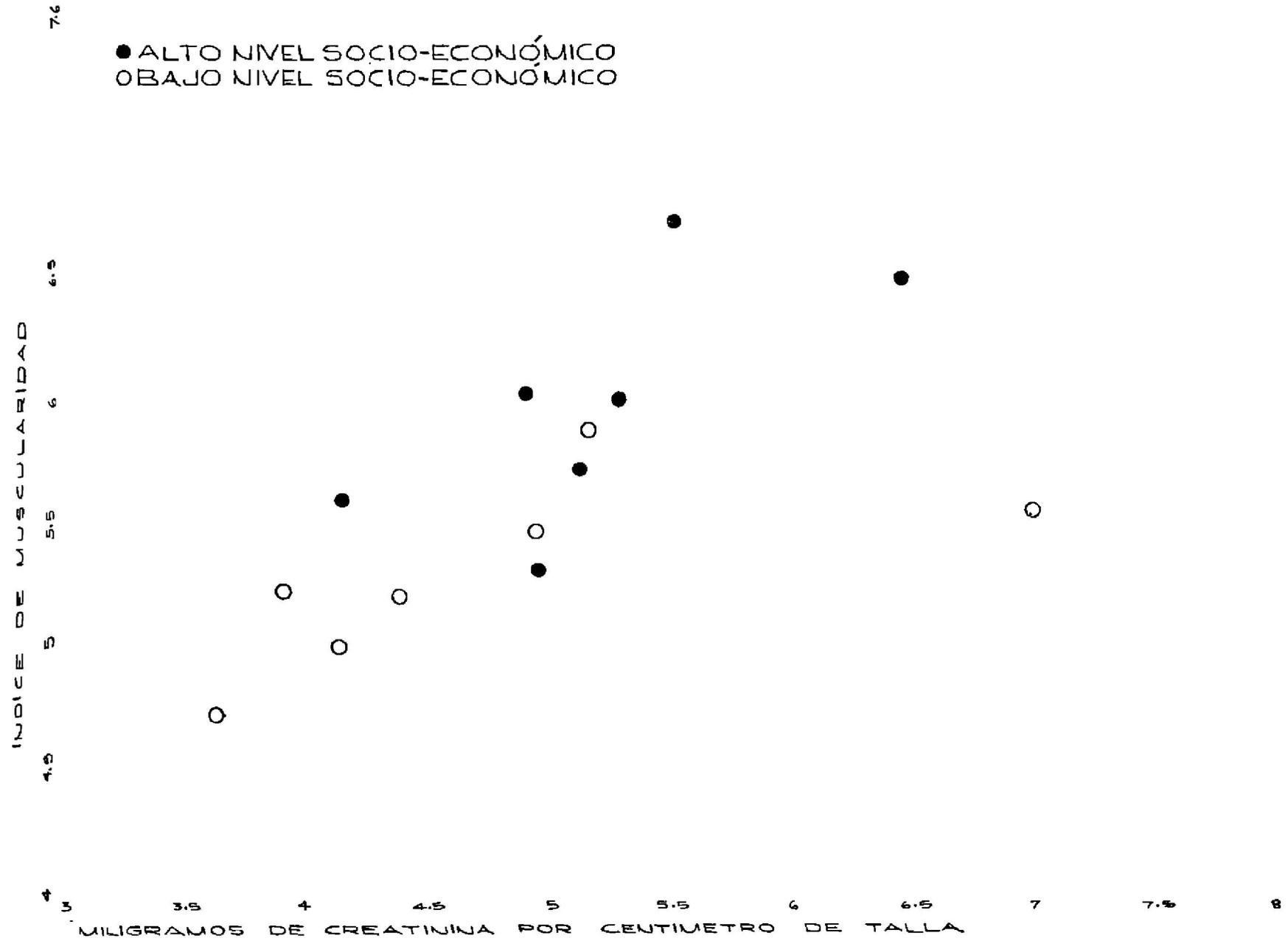
GRAFICA No. 2.—Comparación de la excreción en miligramos de creatinina por minuto en muestras de 3 horas y excreción en miligramos por minuto en muestras de 24 horas.



GRAFICA No. 3.—Datos promedios de miligramos de creatinina por centímetro de talla de los grupos estudiados en comparación con datos obtenidos en niños sanos en Estados Unidos (22).



GRAFICA No. 4.—Relación entre el "índice de muscularidad" y la excreción de creatinina por centímetro de talla en niños escolares de los grupos estudiados. Los puntos corresponden a los promedios encontrados para cada grupo de edad entre 7 y 13 años.



## IV. DISCUSION

Como base para estudios nutricionales en grupos de población, es importante para el investigador conocer las características físicas, fisiológicas y bioquímicas de los individuos. Muchos factores son determinantes de estas características, incluyendo fundamentalmente factores genéticos y ambientales. Entre estos últimos está la nutrición. Es interés bioquímico-nutricional investigar aquellas características bioquímicas de los individuos que estén relacionadas con su estado nutricional, ya que estas características bioquímicas son métodos potenciales para evaluar dicho estado nutricional.

Se dice "potenciales" porque para que una característica bioquímica sea aplicable en la práctica, se requiere que el procedimiento y método para su medida o determinación sean suficientemente fáciles para poder ser usados en investigaciones de campo. Si se trata, por ejemplo, de determinaciones en sangre o suero sanguíneo, es muy recomendable usar micrométodos, principalmente cuando se trabaja con niños. Un ejemplo es la batería de métodos para determinaciones bioquímico-nutricionales usadas en los laboratorios bioquímicos del INCAP, la cual permite hacer de 6 a 10 determinaciones de diferentes sustancias en una muestra de sangre del dedo.

Los estudios bioquímico-nutricionales basados en la excreción en 24 horas de metabolitos o nutrientes en la orina son un ejemplo de impracticabilidad para estudios de campo. Aun contando con facilidades de clínica en el lugar donde se hace el estudio, la supervisión requerida para asegurarse que no hay pérdida de orina durante las 24 horas, hace que estos estudios, aunque posibles, sean muy difíciles.

Es por esto que los resultados obtenidos en el presente trabajo además de su importancia teórica, son de particular interés práctico. La demostración de que la estima de la excreción de creatinina representativa de 24 horas, puede hacerse en grupos de individuos, usando períodos tan cortos como 3 horas, permite aplicar esta medida a niños, inclusive en áreas rurales apartadas. La prueba es particularmente fácil en escuelas, ya que se puede hacer durante el período escolar de la

mañana que es por lo general de 8 a 12 am. Sin embargo, también es posible aplicarla a niños preescolares haciéndoles llegar a la clínica o centro de salud y en adultos en fábricas, cuarteles, fincas, etc.

La selección del período de la mañana tiene la ventaja de ser después de la comida más liviana del día, como lo es el desayuno, evitándose así la influencia que pueda tener la ingesta previa inmediata de órganos y carnes ricas en creatinina, alimentos que en general no se consumen en el desayuno.

La equivalencia de los datos obtenidos en este trabajo, usando períodos de 3 horas, recolectadas por la mañana (8 a 11 am., aproximadamente) y de 21 ó 24 horas, confirma los hallazgos de Miller y Blyth (39), que indican que la excreción de creatinina entre las 6 am. y 10 am., es la más representativa para estudiar el total en 24 horas.

El interés en determinar la excreción de creatinina urinaria en el presente trabajo, se deriva, como ya se mencionó antes, de su utilidad para estimar el desarrollo relativo de la masa muscular.

La relación entre ésta y la excreción de creatinina, ha sido discutida ya en el capítulo de INTRODUCCION, pero no está de más insistir sobre las dos razones por las cuales es lógico esperar que la estima del desarrollo relativo del músculo esquelético sea un índice sensible de nutrición proteica. La primera razón se basa en el hecho de que bajo condiciones de restricción de proteínas, cantidades considerables de músculos son sacrificadas para suplir aminoácidos para mantener la síntesis proteica y por ende la integridad de tejidos más esenciales. Y, la segunda es que el músculo es individualmente el tejido relativamente más abundante del cuerpo.

Con relación a los resultados comparativos obtenidos en los dos grupos de niños escolares a los cuales se aplicó el método propuesto en este trabajo, resulta el hecho de que, a pesar de haberse encontrado una diferencia significativa al nivel del 5%; el contraste no es tan grande como el encontrado por Arroyave y Wilson (26) entre un grupo de niños de la población rural de Santa María Cauqué y otro de edad comparable de alto nivel socio-económico. Esto puede atribuirse, sin embargo, a la ingesta relativamente adecuada de proteínas que caracterizó a los niños de la Escuela de la Colonia Bethania (grupo urbano de bajo nivel socio-económico).

Es además interesante notar que la excreción de creatinina por centímetro de talla en los niños del grupo urbano de alto nivel socio-económico coincide con los encontrados por Stearns y colaboradores (22) para niños adecuadamente nutridos en los Estados Unidos.

## V. RESUMEN

La excreción urinaria de creatinina en 3 y 21 horas fue estudiada en un grupo de adultos y niños de Guatemala: 12 mujeres, 9 hombres y 15 niños. La excreta por minuto en 3 horas fue igual a la excreta por minuto en 21 horas e igual a la excreta por minuto en 24 horas. El método fue probado en 2 grupos de niños guatemaltecos de diferentes niveles socio-económicos, 99 casos el nivel superior y 91 el inferior. El método prestó buena sensibilidad, detectada con métodos estadísticos analíticos.

## VI. RECONOCIMIENTOS

Este trabajo de Tesis lo llevé a cabo en carácter de beca-  
da en la División de Bioquímica Fisiológica del Instituto de  
Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP).

Expreso el testimonio de mi agradecimiento al Dr. Nevin  
S. Scrimshaw, Director del INCAP, así como al personal de es-  
ta institución que puso a mi alcance todas las facilidades de  
laboratorio y biblioteca necesarias para el desempeño de mi  
trabajo. Al Dr. Guillermo Arroyave B., Jefe de la División de  
Química Fisiológica del INCAP, por haberme sugerido la rea-  
lización de este estudio y haberme proporcionado la oportu-  
nidad de llevarlo a cabo en el laboratorio a su cargo; al Dr.  
José Méndez de la Vega, Jefe Asociado de la misma División  
y Director de Programas de Enseñanza; y al Dr. Miguel A.  
Guzmán, Jefe de la División de Estadística y Documentación,  
por la acertada guía y dirección que en todo momento tuvie-  
ron a bien dispensarme en el desarrollo de esta investigación.

Deseo, asimismo, manifestar mi agradecimiento al Comi-  
té de Publicaciones y al Comité Editorial del INCAP por las  
sugerencias que tuvieron a bien hacer en cuanto a la elabora-  
ción del informe correspondiente.

*Celina M. de Arroyave.*

*G. Arroyave.*

Imprímase.

Vo. Bo.

*Lic. Luis A. Carrillo,*

Decano.

## VII. REFERENCIAS

1. Scrimshaw, N. S. ¿A quién corresponde la solución de los problemas de la nutrición? (Editorial). *Bol. Of. San Pan.*, 32: 353-355, 1952.
2. Frenk, S. Some aspects of protein malnutrition in childhood. Fifth International Congress on Nutrition. Washington, D. C., September 1-7. 1960. Panel II, Proteins and amino acids in nutrition. *Fed. Proc.* (en prensa).
3. Ramos Galván, R. y Cravioto, J. Desnutrición en el niño. Concepto y ensayo de sistematización. *Bol. med. Hosp. Infantil* (México), 15: 763-788, 1958.
4. Flores, M. y Reh., E. Estudios de hábitos dietéticos en poblaciones de Guatemala. I Magdalena Milpas Altas. *Suplemento No. 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, Publicaciones Científicas del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. p. 90-128 1955.
5. Muñoz, J. A. y Pérez A., C. El examen clínico-nutricional. I. Signos físicos. *Rev. col. méd. Guatemala*, 5: 117-127, 1954.
6. Pérez, C. y Pedreschi, C. Estudios clínicos nutricionales en poblaciones de Panamá. II. Barrio El Chorrillo, Ciudad de Panamá. *Suplemento No. 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, Publicaciones Científicas del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. p. 33-37, 1955.
7. Pérez, C., Arce Paiz, A. y Maza, E. Estudios clínicos nutricionales en poblaciones de El Salvador. I. Cantón Platanillos, Municipio de Quezaltepeque, Departamento de La Libertad. *Suplemento No. 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, Publicaciones Científicas del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. p. 22-26, 1955.
8. Reverte, J. M. y Pérez, C. Estudios clínicos nutricionales en poblaciones de Panamá. I. La Mesa, Provincia de Veraguas. *Suplemento No. 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, Publicaciones Científicas del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. p. 27-32, 1955.
9. U. S. Interdepartmental Committee on Nutrition for National Defense. Manual for nutrition surveys. Washington, D. C. Government Printing Office, 1957, p. 20-24.
10. Daniels, A. L. y Hejinian, L. M. Growth in infants from the standpoint of physical measurements and nitrogen metabolism. I. Creatinine, *Am. J. Dis. Child.*, 37: 1128-1134, 1929.

11. Holmes, E. G., Jones, E. R. y Stainer, M. W. Malnutrition in African adults. 2. Protein storage. *Brit. J. Nutrition*, 8: 173-193, 1954.
12. Hodgson, P. y Lewis, H. B. Physical development and the excretion of creatine and creatinine by women. *Am. J. Physiol.*, 87: 288-292, 1928.
13. McLaughlin, L. y Blunt, K. Some observations on the creatinine excretion of women. *J. Biol. Chem.*, 58: 285-290, 1923-24.
14. Wang, C. C., Frank, M., Kern, R. y Hays, B. Metabolism of undernourished children. III, Urinary nitrogen with special reference to creatinine. *Am. J. Dis. Child.*, 32: 360-366, 1926.
15. Ramachandran, M., Venkatachalam, P. S. y Gopalan, C. Urinary excretion of 17-keto steroids in normal and undernourished subjects. *Indian J. Med. Research*, 44: 227-230, 1956.
16. Borsook, H. y Dubnoff, J. W. The formation of creatine from glycoxyamine in the the liver. *J. Biol. Chem.*, 132: 559, 1940. (Citado de: *Chem. Abs.*, 34: 2048<sup>r</sup>, 1940).
17. Bloch, K. y Schoenheimer, R. The biological formation of creatine. *J. Biol. Chem.* 133: 633, 1940. (Citado de *Chem. Abs.*, 34: 4437<sup>2</sup>, 1940).
18. Baldwin, E. Dynamic aspects of biochemistry. The nature of the catalytic process. The union of the enzyme with its substrate. 2nd. ed. Cambridge, University Press, 1953, p. 25-52.
19. Bloch, K. y Schoenheimer, R. Studies on protein metabolism. XI. The metabolic relation of creatine and creatinine studied with isotopic nitrogen. *J. Biol. Chem.*, 131: 11, 1939. (Citado de *Chem. Abs.*, 34: 141, 1940).
20. Clark, L. C., Jr., Thompson, H. L., Beck, E. I. y Jacobson, W. Excretion of creatine and creatinine by children. *Am. J. Dis. Child.*, 81: 774-783, 1951.
21. Folin, O. *Am. J. Physiol.*, 13: 45, 1905 (Citado por Stearns, ref. 22).
22. Stearns, G., Newman, K. J. McKinely, J. B. y Jeans, P. C. The protein requirements of children from one to ten years of age. *Ann. New York Acad. Sc.*, 69: 857-868, 1958.
23. Peters, J. P. y Van Slyke, D. D. Quantitative clinical chemistry: Interpretations. V. I. 2nd. ed. Baltimore, The Williams and Wilkins Co., 1946. p. 907-908.
24. Wolf, C. G. L. y Shaffer, P. A. Protein metabolism in cystinuria. *J. Biol. Chem.*, 4: 439-472, 1908.

25. Arroyave, G. Biochemical evaluation of nutritional status in man. Fifth International Congress on Nutrition, Washington, D. C., September 1-7, 1960. Panel I. Evaluation of nutritional status in man. *Fed. Proc.* (en prensa).
26. Arroyave, G. y Wilson, D. Urinary excretion of creatinine of children under different nutritional conditions. *Am. J. Clin. Nutrition.* (en prensa).
27. Mendel, L. B. y Rose, W. C. Experimental studies on creatine and creatinine. I. The role of the carbohydrates in creatine-creatinine metabolism. *J. Biol. Chem.*, 10: 213-253, 1911-12.
28. Mendel, L. B. y Rose, W. C. Experimental studies on creatine and creatinine. II. Inanition and the creatine content of muscle. *J. Biol. Chem.*, 10: 255-264, 1911-12.
29. Rose, W. C. Experimental studies on creatine and creatinine. III. Excretion of creatine in infancy and childhood. *J. Biol. Chem.*, 10: 265-270, 1911-12.
30. Vestergaard, P. y Leverett, R. Constancy of urinary creatinine excretion. *J. Lab. Clin. Med.*, 51: 211-218, 1958.
31. Shaffer, P. A. The excretion of kreatin and kreatinin in health and disease. *Am. J. Physiol.*, 23: 1, 1908 (Citado por Vestergaard, ref. 30).
32. Brozek, J. Physique and nutritional status of adult men. (*En: Body measurements and nutrition*, edited by J. Brozek, Detroit, Michigan, Wayne University Press, 1956. p. 14-30).
33. Datos inéditos.
34. Pascale, L. R., Grossman, M. I., Sloane, H. S. y Frankel, T. Correlations between thickness of skinfolds and body density in 88 soldiers. (*En: Body measurements and human nutrition*, edited by J. Brozek, Detroit, Michigan, Wayne University Press, 1956. p. 55-66).
35. Jelliffe, D. B. y Jelliffe, E. P. P. Prevalence of protein-calorie malnutrition in Haitian preschool children. *Am. J. Pub. Health*, 50: 1355-1366, 1960.
36. Clark, L. C. y Thompson, H. L. Determination of creatin and creatinine in urine. *Ann. Chem.*, 21: 1218-1221, 1947.
37. Koch, F. C. y Hanke, M. E. Practical methods in biochemistry. Baltimore, The Williams and Wilkins Co., 1953, p. 501.
38. Bessey, O. A., Lowry, O. H. y Brock, M. J. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J. Biol. Chem.*, 164: 321-329, 1946.
39. Miller, A. T. y Blyth, C. S. Estimation of lean body mass and body fat from basal oxygen consumption and creatinine excretion. *J. Appl. Physiol.*, 5: 73-78, 1952-53.