

Actividad metabólica del músculo intercostal externo en pacientes con EPOC

M. Pastó, J. Gea, M.L. Blanco, M. Orozco-Levi, O. Pallás, M.J. Masdeu y J. Broquetas

Servei de Pneumologia. Hospital del Mar. IMIM. Universitat Pompeu Fabra. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.

INTRODUCCIÓN: El músculo intercostal externo (IE) contribuye de forma relevante al esfuerzo ventilatorio en situaciones de sobrecarga. Como otros músculos respiratorios, el IE parece participar en un proceso de remodelación estructural, para adaptarse a una situación funcional desventajosa. Sin embargo, los estudios morfológicos publicados ofrecen resultados hasta cierto punto divergentes. Por un lado, aumenta la proporción de fibras de metabolismo anaerobio, mientras que por otro se incrementa el número de capilares, lo que facilitaría el uso de un metabolismo de tipo aerobio.

OBJETIVO: Este estudio se diseñó para analizar la actividad de diferentes enzimas clave, correspondientes a las principales vías metabólicas, en el IE de pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

METODOLOGÍA: Se estudiaron 6 pacientes con EPOC (65 ± 8 años; índice de masa corporal [IMC]: 23 ± 3 kg/m²; FEV₁: $51 \pm 9\%$ ref., volumen residual [RV]: $184 \pm 38\%$ ref.; PaO₂: 81 ± 10 mmHg) y 6 sujetos control, apareados por edad y características antropométricas, pero con función pulmonar normal. En todos ellos se procedió a la toma de muestras del IE (quinto espacio intercostal, lado no dominante), que fueron procesadas para la determinación de las siguientes actividades enzimáticas por espectrofotometría convencional: citratosintetasa (CS, ciclo de Krebs), fosfofructocinasa (PFK, vía glucolítica común), lactodeshidrogenasa (LDH, glucólisis anaerobia) y creatinfosfocinasa (CPK, uso de reservas energéticas).

RESULTADOS: Los pacientes con EPOC presentaron mayor actividad de las enzimas PFK (93 ± 25 frente a 44 ± 9 µmol/min/g de peso en fresco; $p = 0,001$) y LDH (308 ± 42 frente a 231 ± 29 µmol/min/g; $p < 0,01$) que los sujetos control. Por el contrario, las actividades de CS y CPK fueron similares (82 ± 31 frente a 90 ± 20 µmol/min/g, y 4.017 ± 1.734 frente a 3.048 ± 464 µmol/min/g, respectivamente), aunque la segunda presentaba una dispersión muy notable de valores en los pacientes con EPOC, que en algunos casos triplicaban a los de los controles. El RV se correlacionó directamente con la actividad de las enzimas glucolíticas (con PFK, $r = 0,716$, $p < 0,01$; con LDH, $r = 0,697$, $p < 0,05$), que también se correlacionaban entre sí ($r = 0,737$, $p < 0,01$).

CONCLUSIONES: A tenor de las actividades enzimáticas estudiadas, la actividad oxidativa parece conservada en el IE de sujetos con EPOC. Por su parte, la actividad de la vía glucolítica parece hallarse aumentada, y este aumento es proporcional a la gravedad de la EPOC. Estos resultados son probablemente la expresión del efecto combinado de diversos factores estructurales de carácter adaptativo.

Palabras clave: Músculo intercostal. Metabolismo. EPOC.

(Arch Bronconeumol 2001; 37: 108-114)

Metabolic activity of the external intercostal muscle of patients with COPD

INTRODUCTION: The external intercostal muscle is a relevant contributor to ventilatory work in situations of overloading. Like other respiratory muscles, the external intercostal muscle seems to undergo a process of structural remodeling to adapt to a situation of functional disadvantage. However, findings from published studies of morphology have differed to a certain degree. On the one hand, the proportion of fibers involved in anaerobic metabolism increases; on the other hand, the number of capillaries also increases, an occurrence that would facilitate aerobic metabolism.

OBJECTIVE: This study was designed to analyze the activity of several key enzymes involved in the principal metabolic pathways in the external intercostal muscles of patients with COPD.

METHODOLOGY: We studied 6 patients with COPD (65 ± 8 years, BMI 23 ± 3 kg/m², FEV₁ $51 \pm 9\%$ ref, RV $184 \pm 38\%$ ref, PaO₂ 81 ± 10 mmHg) and 6 control subjects matched for age and anthropometric variables but with normal lung function. External intercostal muscle samples were taken from each patient (fifth intercostal space, non-dominant side). The samples were treated by conventional spectrophotometry to determine enzyme activity as follows: citrate synthase (CS, Krebs cycle), phosphofructokinase (PFK, by common glycolysis), lactate dehydrogenase (LDH, anaerobic glycolysis) and creatine phosphokinase (CPK, use of energy reserves).

RESULTS: Patients with COPD showed greater PFK enzyme activity (93 ± 25 versus 44 ± 9 µmol/min/g of fresh weight; $p = 0.001$) and LDH (308 ± 42 versus 231 ± 29 µmol/min/g; $p < 0.01$) than did control subjects. However, CS and CPK activity was similar in both groups (82 ± 31 versus 90 ± 20 µmol/min/g and 4017 ± 1734 versus 3048 ± 464 µmol/min/g,

M. Pastó, M.J. Masdeu y M.L. Blanco fueron beneficiarias de una Beca Predoctoral para Residentes del Hospital del Mar (IMAS).

Estudio subvencionado por BIOMED (UE), ASTRA-BIOMED, SIBEL-BIOMED y ARMAR.

Correspondencia: Dr. J. Gea.
Servei de Pneumologia. Hospital del Mar. IMIM.
Passeig Marítim, 27. 08003 Barcelona.
Correo electrónico: jgea@imim.es

Recibido: 10-7-00; aceptado para su publicación: 19-12-2000

respectively), although the latter displayed noteworthy dispersion of values among COPD patients, with levels in some patients being three-fold greater than in controls. RV was directly related to glycolytic enzyme activity (with PFK, $r = 0.716$, $p < 0.01$; with LDH $r = 0.697$, $p < 0.05$) and PFK and LDH also correlated with each other ($r = 0.737$, $p < 0.01$).

CONCLUSIONS: Based on the enzyme activity studied, oxidative activity seems to be conserved in the external intercostal muscle of patients with COPD. Activity in the glycolytic pathway seems to increase and the increase is proportional to the severity of COPD. These findings are probably the expression of a combination of adaptive structural factors.

Key words: *Intercostal muscle. Metabolism. COPD.*

Introducción

Los músculos intercostales contribuyen al esfuerzo ventilatorio complementando la acción del diafragma¹. Los intercostales externos (IE) y los intercostales parasternales participan en la inspiración², mientras que el resto de los intercostales internos intervienen en la espiración. Cuando aumentan las cargas o el trabajo respiratorio, estos músculos desempeñan un papel progresivamente más activo^{1,3,4}. Éste es el caso de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), donde los IE cumplen una función determinante en el llenado del pulmón en presencia de hiperinsuflación pulmonar, ya que casi toda la fuerza del diafragma se “malgasta” en vencer los efectos deletéreos de la presión positiva al fin de la espiración (PEEPi)⁵. Al igual que otros músculos respiratorios, los IE se hallan sometidos a un proceso de adaptación al trabajo bajo cargas. Esta adaptación funcional comporta unos cambios estructurales, conocidos como remodelación muscular^{6,7}. Es interesante destacar que la remodelación del IE parece ir en dirección diferente, aunque complementaria, a la del diafragma. En concreto, los IE de pacientes con EPOC presentan un predominio de fibras rápidas⁶, cuyo metabolismo sería de tipo anaerobio y cuya contracción añadiría sobre todo fuerza al sistema muscular ventilatorio. Sin embargo, la presencia de una mayor densidad capilar en estos músculos⁷ hace pensar que también pueda haber una facilitación de su metabolismo oxidativo, lo que proporcionaría resistencia al sistema. El presente trabajo fue diseñado para evaluar la actividad de dichas enzimas clave en las principales vías metabólicas de pacientes con EPOC.

Población y métodos

Sujetos del estudio

Se incluyeron 6 pacientes con EPOC moderada o grave y 6 sujetos control, cuyas características de edad y antropométricas eran similares a las de los primeros (65 ± 8 frente a 68 ± 6 años, índice de masa corporal [IMC] de 23 ± 3 frente a 25 ± 4 kg/m², respectivamente). El diagnóstico de EPOC se estableció según la historia de hábito tabáquico, criterios clínicos de bronquitis crónica y/o radiológicos de enfisema, y espirometría simple que objetivase obstrucción no reversible al flujo aéreo⁸. Todos los enfermos se hallaban en fase estable, con

ausencia de descompensaciones en los 3 meses anteriores a su inclusión en el estudio, y fueron seleccionados a partir de la consulta externa de neumología de nuestro hospital. Con el fin de evitar sesgos debidos a factores de índole hormonal, sólo se excluyó a pacientes varones. Para evitar otras causas potenciales de sesgo, se excluyó a los sujetos con asma bronquial, enfermedades neuromusculares, endocrinológicas o cardiovasculares, insuficiencia respiratoria crónica (PaO₂ < 60 mmHg en fase estable), desnutrición (IMC < 20 kg/m²), proteínas totales inferiores a 6,5 g/dl, enolismo (ingestión superior a 80 g/día) o tratamientos con fármacos que potencialmente pudieran afectar la estructura o función musculares (fundamentalmente esteroides o betaagonistas sistémicos, esteroides inhalados a altas dosis, teofilina, antagonistas del calcio y diuréticos), o que incluyesen programas de rehabilitación. Los sujetos control fueron escogidos entre la población general que acudió al hospital para un examen oftalmológico habitual. El estudio fue aprobado por el comité de ética y ensayos clínicos de nuestro hospital, y todos los participantes firmaron la hoja de consentimiento informado tras serles explicados los objetivos del estudio y sus potenciales riesgos.

Diseño

Fue de tipo transversal, con estudio funcional y del metabolismo muscular, realizado durante un período de año y medio. La evaluación de los pacientes y la obtención de las muestras llevaba 3 días, efectuándose el análisis de la actividad enzimática posteriormente.

Primer día. Los pacientes eran interrogados y examinados, tras lo cual se procedía a la evaluación nutricional y antropométrica para su inclusión definitiva en el estudio. Posteriormente, se llevaba a cabo la evaluación de su función pulmonar convencional.

Segundo día. Se procedía a determinar la fuerza, resistencia y reserva ante la fatiga de los músculos respiratorios.

Tercer día. Se tomaban las muestras del IE, que se guardaban en las condiciones adecuadas hasta el análisis de la actividad enzimática.

Técnicas

1. Función pulmonar convencional y función muscular respiratoria. Los pacientes realizaron una espirometría forzada con prueba broncodilatadora (espirómetro Datospir 92, Sibel, Barcelona), y se determinaron los volúmenes pulmonares estáticos y la resistencia de las vías aéreas mediante pletisografía corporal (Masterlab, Jaegger, Würzburg, Alemania). La transferencia del monóxido de carbono fue evaluada con un medidor de gases incorporado al mismo equipo. Se emplearon valores de referencia para la población de nuestra área geográfica⁹⁻¹¹. También se obtuvo una muestra de sangre arterial para la determinación de gases respiratorios en sangre (ABL 330 analyzer, Radiometer, Copenhagen, Dinamarca).

Por otra parte, se evaluó la función de los músculos respiratorios, en sus vertientes de fuerza, resistencia y reserva ante el fracaso mecánico. Para la fuerza, se empleó la determinación de la presión inspiratoria máxima en boca (IP_{máx}-m), utilizando un manómetro con pieza bucal ocluíble (Sibelmed-163, Sibel, Barcelona), y de la presión máxima intratorácica (IP_{máx}-t), mediante sonda-balón posicionada en el esófago. La primera se realizó durante una maniobra estática desde el volumen residual (RV), mientras que la segunda se determinó desde capacidad residual funcional (FRC) mediante maniobra dinámica de inhalación brusca (*sniff*). En ambos casos se utilizaron transductores de presión (Transpac II, Abbott, Chicago, IL, EE.UU.), conec-

TABLA I
Valores individuales y medios de filiación, antropometría y función pulmonar en los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Paciente	Edad (años)	IMC (kg/m ²)	FEV ₁ (% ref)	FEV ₁ /FVC (%)	FRC (% ref.)	RV (% ref.)	PaO ₂ (mmHg)
1	53	28	60	62	157	174	83
2	74	24	59	59	144	148	76
3	73	22	50	53	161	234	91
4	63	21	50	49	120	160	92
5	58	21	35	50	146	231	65
6	69	23	49	60	106	159	77
$\bar{X} \pm DE$	65 ± 8	23 ± 3	51 ± 9	56 ± 6	139 ± 22	184 ± 38	81 ± 10

IMC: índice de masa corporal; RV: volumen residual; DE: desviación estándar.

TABLA II
Valores individuales y medios de función muscular respiratoria en los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Paciente	IP _{máx-m} (% rel)	IP _{máx-t} (cm H ₂ O)	IP-t/IP _{máx-t}	TTmr	MSIP (cmH ₂ O)	Tlim (min)
1	96	77	0,03	0,04	100	15,3
2	132	104	0,04	0,01	70	5,6
3	70	74	0,09	0,06	40	6,4
4	68	46	0,10	0,06	40	7,7
5	37	ND	ND	ND	10	6,3
6	92	82	0,03	0,01	40	8,2
$\bar{X} \pm DE$	83 ± 32	77 ± 21	0,06 ± 0,03	0,04 ± 0,03	50 ± 31	8,3 ± 3,7

IP_{máx-m}: presión inspiratoria máxima en boca; IP_{máx-t}: presión inspiratoria máxima intratorácica; IP-t: presión media en el tórax durante la inspiración; TTmr: índice de tensión-tiempo para los músculos respiratorios; MSIP: presión máxima sostenible; Tlim: tiempo de aguante de la carga; ND: no determinado.

tados a un polígrafo digital (BIOPAC SYSTEMS Inc., Santa Bárbara, CA, EE.UU.). Para la IP_{máx-m} se emplearon los valores de referencia descritos por Morales et al para la población mediterránea.

La resistencia de los músculos respiratorios se evaluó mediante una modificación de la prueba de Martyn¹³, utilizando una válvula umbral (tipo Nickerson), diseñada en nuestro propio laboratorio. La prueba estaba dividida en dos partes. En la primera, los pacientes respiraban bajo cargas incrementales de 50 g (correspondientes a -10 cmH₂O) cada 2 min, hasta el fracaso mecánico (imposibilidad de abrir las válvulas en tres esfuerzos inspiratorios consecutivos). La variable recogida en esta fase fue la "presión máxima sostenible" (MSIP), definida como la presión más alta sostenida durante al menos 60 s. En la segunda parte, los pacientes respiraron bajo una carga constante submáxima, equivalente al 80% de la MSIP, también hasta el fracaso. En esta ocasión se determinó el tiempo de aguante de la citada carga (Tlim).

Por último, la reserva desde la fatiga se determinó a través del índice de tensión-tiempo para los músculos respiratorios (TTmr):

$$TTmr = (T_i/T_{TOT}) \cdot (\overline{IP-t}/IP_{máx-t}),$$

donde T_i es el tiempo inspiratorio; T_{TOT}, el tiempo total del ciclo ventilatorio; $\overline{IP-t}$, la presión media en el tórax durante la inspiración, y IP_{máx-t} la presión inspiratoria intratorácica máxima.

2. *Biopsia y procesamiento de la muestra muscular.* Tras el uso de la anestesia local (lidocaína al 5%), se tomaron muestras a cielo abierto¹⁴. Éstas fueron obtenidas en el quinto espacio intercostal, línea medio-axilar anterior del lado no dominante. Se procedió a la incisión cutánea, con disección por

planos hasta localizar el músculo IE. En ese momento se instalaba lidocaína al 2%, y se procedía a tomar la muestra en sentido paralelo al eje de orientación fibrilar. La longitud de la muestra fue de entre 0,5 y 1 cm.

A continuación, la muestra se colocó en un criovial y fue inmediatamente congelada en nitrógeno líquido, almacenándose a -70 °C hasta su utilización para las determinaciones enzimáticas. Para éstas, las muestras fueron homogeneizadas (Teflón/glass) en una solución tampón (Tris-HCl, 50 mM; EDTA, 4 mM; KF, 30 mM, y β-mercaptoetanol, 30 mM; pH: 7,0) y mantenidas en baño de hielo. Posteriormente se procedió al centrifugado, y se obtuvieron diversas alícuotas, que fueron utilizadas en las determinaciones de actividad de la fosfofructocinasa (PFK, enzima implicada en la parte común de la glucólisis), lactodeshidrogenasa (LDH, que actúa en la primera parte de la fase anaerobia de la glucólisis), citratosintetasa (CS, implicada en el ciclo de Krebs o del ácido cítrico), y creatinfosfoquinasa (CPK, que actúa en la vía de utilización de la energía almacenada en forma de fosfocreatinina). Las actividades se midieron a 25 °C utilizando técnicas espectrofotométricas convencionales, cuyos detalles pueden encontrarse fácilmente en la bibliografía científica específica¹⁵⁻¹⁸. Cada determinación se realizó por duplicado, dándose como resultado la media entre ambas determinaciones, expresada en μmol/min/g de peso muscular húmedo.

Análisis estadístico

Los datos se expresan como media y desviación estándar de ésta ($\bar{X} \pm DE$). La comparación entre sujetos con EPOC e individuos sanos se ha realizado con la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. El coeficiente de Pearson se utilizó para evaluar las correlaciones entre diferentes variables, empleándose la regresión lineal cuando era adecuado. Un valor de p inferior a 0,05 se consideró como límite de significación estadística.

Resultados

Los valores individuales y medios correspondientes a edad, función pulmonar y función muscular de los pacientes con EPOC aparecen en las tablas I y II. En general, se trataba de enfermos con obstrucción al flujo aéreo entre grave y moderada, con atrapamiento aéreo pero con un intercambio de gases aceptable en reposo. La función de sus músculos respiratorios se hallaba ligeramente alterada, aunque uno de los pacientes (el más grave) presentaba una fuerza y resistencia notablemente disminuidas.

La actividad de las diferentes enzimas se recoge en la figura 1. Brevemente, los pacientes con EPOC presentaron una mayor actividad en las enzimas correspondientes a la vía glucolítica. Así, la PFK era de 93 ± 25 μmol/min/g de peso en fresco (por 44 ± 9 μmol/min/g en el grupo control; p = 0,001), y la LDH de 308 ± 42 μmol/min/g (por 231 ± 29 μmol/min/g en los controles; p < 0,01). Por el contrario, la actividad de la CS, enzima clave correspondiente a la vía oxidativa, fue similar en ambos grupos (82 ± 31 μmol/min/g en pacientes con EPOC frente a 90 ± 20 μmol/min/g en los controles). Lo mismo sucedió con la CPK (4.017 ± 1.734 y 3.048 ± 464 μmol/min/g, respectivamente). Es interesante señalar que esta enzima presentaba una amplia dispersión de valores en los sujetos con EPOC, algunos de los cuales tenían cifras similares a las de los sanos, mientras que otros triplicaban los valores de estos últimos. Por otra parte, la actividad de las dos enzimas glucolíticas era proporcional tanto al grado de obstrucción como a los volúmenes pulmonares estáticos (PFK con RV, r = 0,716, p < 0,01; con RV/TLC, r = 0,589, p < 0,05;

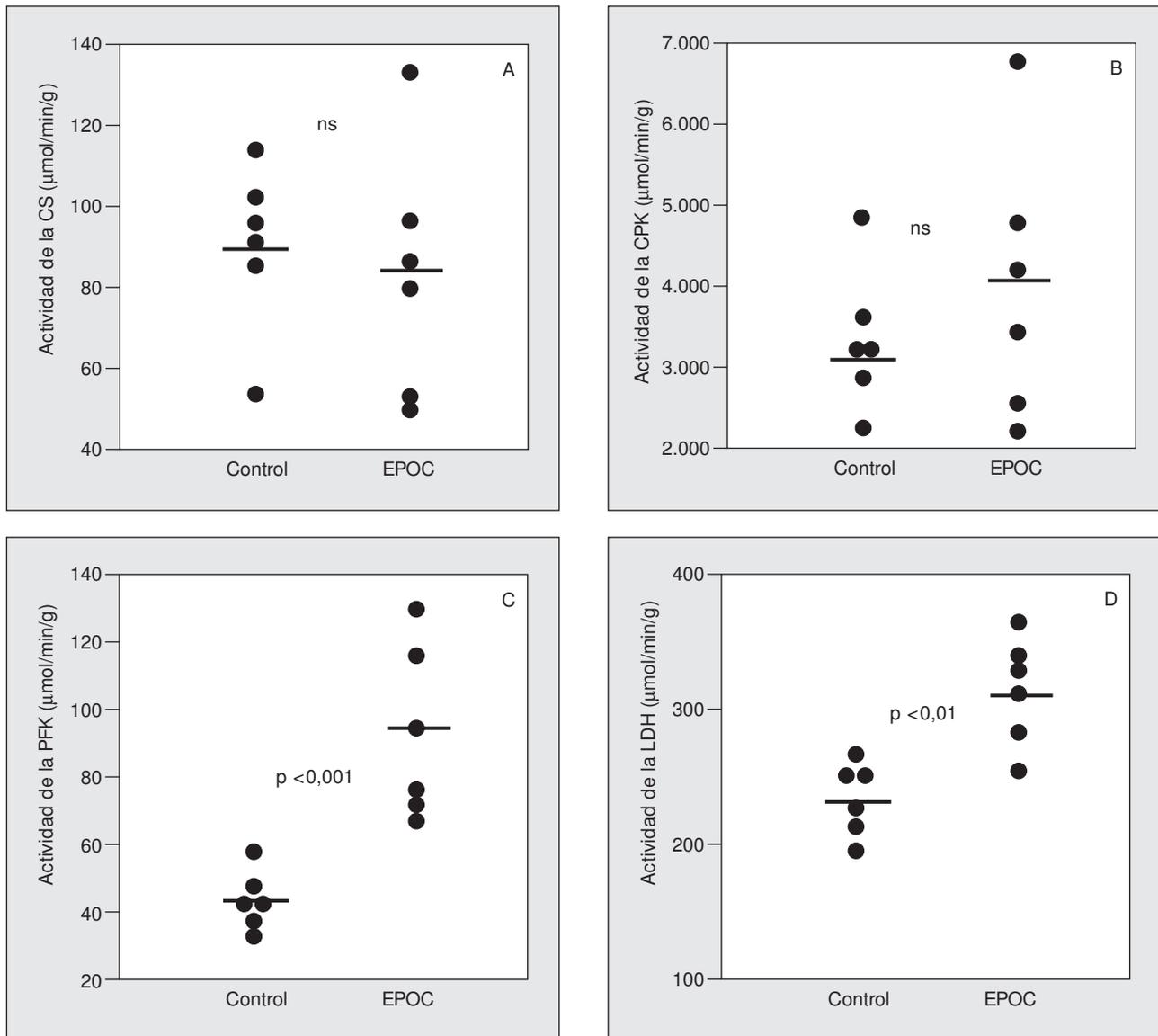


Fig. 1. Valores individuales y medios de las actividades enzimáticas. Comparación entre pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y sujetos control para: a) citratosintetasa (CS); b) creatinfosfocinasa (CPK); c) fosfofructocinasa (PFK), y d) lactodeshidrogenasa (LDH); NS: no significativa.

LDH con RV, $r = 0,697$, $p < 0,05$; con RV/TLC, $r = 0,647$, $p < 0,05$) (figs. 2a y b). La actividad oxidativa no presentó relación alguna con el grado de afección funcional (fig. 2c). Finalmente, la actividad de las dos enzimas de la glucólisis se correlacionaba entre sí de forma directa ($r = 0,747$; $p < 0,01$) (fig. 2d).

Discusión

El hallazgo más relevante de este estudio es la presencia de una actividad glucolítica aumentada en los pacientes con EPOC. Este aumento afectaría tanto a la parte común de la glucólisis (PFK) como a su fase anaerobia (LDH), y sería proporcional a la gravedad de la enfermedad. Estos hallazgos concuerdan con el aumento descrito de la proporción y tamaño de las fibras de

metabolismo predominantemente glucolítico y anaerobio⁶. Por el contrario, la actividad oxidativa parece hallarse conservada. Esto podría ser el resultado de los efectos contrapuestos de adaptaciones estructurales diversas, moduladas en cada caso por factores específicos.

Como se ha mencionado anteriormente, los IE son músculos accesorios de la inspiración. Sin embargo, su actuación es progresivamente más importante en situaciones que implican aumento de cargas. Probablemente esa acción específica explique que su adaptación estructural sea también algo diferenciada de la que se produce en el diafragma de pacientes con EPOC. Este último músculo presenta un aumento de la proporción de fibras oxidativas y resistentes a la fatiga, un incremento en las isoformas de miosina correspondientes (fundamental-

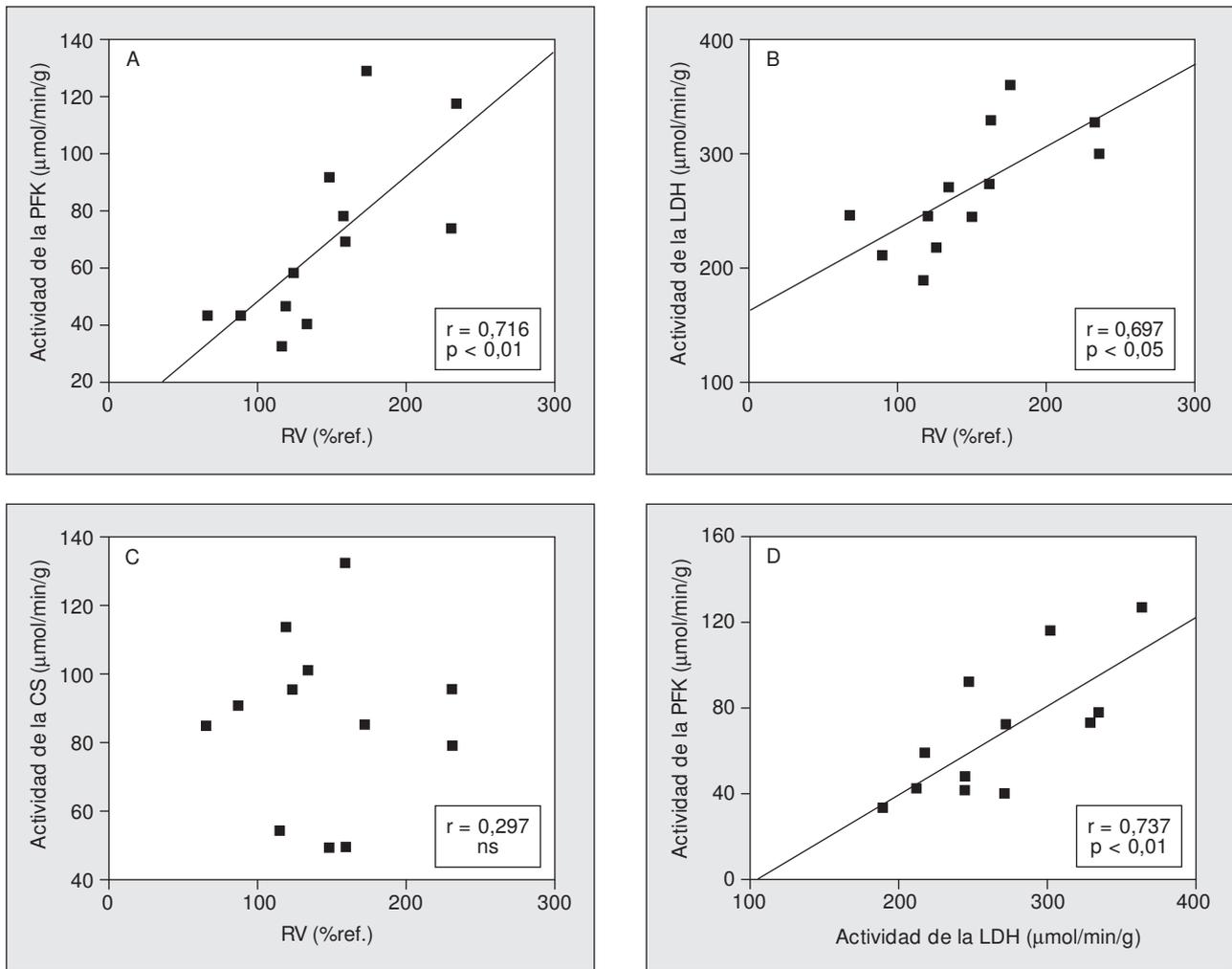


Fig. 2. Relaciones entre actividades enzimáticas entre sí y con los valores de función pulmonar: a) fosfofructocinasa (PFK) y volumen residual (RV); b) lactodeshidrogenasa (LDH) y RV; c) citratosintetasa (CS) y RV, y d) PFK con LDH.

mente las de cadenas pesadas tipo I, MyHC-I), menor tamaño en sus sarcómeros, mayor densidad mitocondrial en las áreas subsarcólicas y mayor densidad capilar¹⁹⁻²². Algunos de estos cambios parecen relacionarse con los episodios de daño celular secundarios a la sobrecarga mecánica. Así, en modelos animales se ha demostrado que respirar bajo cargas produce daño de membrana y aumento en la expresión de los genes que codifican las isoformas de miosina más resistentes a la fatiga (MyHC-I)^{23,24}. Recientemente se ha observado un fenómeno similar en pacientes con EPOC, en los cuales haber respirado contra cargas resistivas durante un corto período de tiempo parece producir daño sarcómico y cambios en la expresión de los genes de las MyHC-I en sus diafragmas costales^{25,26}. Sin embargo, los cambios descritos hasta la fecha en los IE de pacientes con EPOC son algo diferentes. Por un lado, se ha observado que aumentan sus fibras de tipo glucolítico-anaerobio (contracción rápida, potentes pero poco resistentes a la fatiga), que además se hacen mayores⁶. Esto se ha interpretado en clave de complementariedad del sistema

muscular respiratorio ante situaciones de sobrecarga. Por otro lado, se ha comprobado que se incrementa la densidad capilar de estos músculos, lo que favorecería un mejor uso de su capacidad anaerobia⁷. Probablemente la diferencia entre los factores moduladores de la expresión de proteínas contráctiles (fundamentalmente mecánicos)²⁷ y de la angiogénesis (relacionados con el microambiente metabólico celular)²⁸ puede explicar esta aparente divergencia adaptativa. Hasta la fecha se desconoce el comportamiento estructural de otros elementos de interés para el metabolismo oxidativo, como la densidad mitocondrial o la expresión genética de diversas proteínas de interés (mioglobina, o las propias MyHC). Por otra parte, estudios en modelos animales sometidos a cargas resistivas han ofrecido resultados contrapuestos. Ante cargas de alta intensidad se han observado un daño de la membrana y un aumento de la proporción de MyHC correspondientes a las fibras oxidativas y resistentes a la fatiga^{23,24}. Ante cargas menores (similares a las de un paciente con EPOC), aunque se produce daño de membrana, los cambios en las proteí-

nas contráctiles son poco relevantes²⁹. El presente estudio fue diseñado para intentar aportar información metabólica en las controversias suscitadas respecto de la remodelación de los IE.

A tenor de los resultados podemos afirmar que el tipo resultante de fibras observadas previamente por nuestro grupo concuerda perfectamente con los aumentos de las enzimas de la vía glucolítica, tanto de la que actúa en su parte común (PKF) como de la que lo hace en la fase más puramente anaerobia (LDH). En este sentido, la capacidad del músculo para actuar en condiciones anaerobias y para producir contracciones potentes pero en esfuerzos de corta duración estaría aumentada. De todos modos, es interesante señalar que la LDH también tiene el potencial inverso, es decir, la capacidad de reconvertir el lactato en piruvato, que a su vez podría reentrar en la vía aerobia, lo que no deja de ser un interesante punto de reflexión. Respecto de la actividad oxidativa, que estaba conservada en nuestros pacientes, nuestra explicación es que esto probablemente se deba a la actuación simultánea de diversos factores. Así, aunque el tipo de fibras haría pensar en una menor actividad oxidativa, ésta podría muy bien verse compensada por componentes celulares cuyo comportamiento fuera paralelo al aumento de la densidad capilar. En este sentido, sería interesante diseñar estudios dirigidos al análisis de otros elementos de interés, como la densidad mitocondrial y su capacidad funcional. También sería de interés el análisis de otros puntos de la vía oxidativa, como la cadena respiratoria mitocondrial, que se han hallado alterados en otros músculos (p. ej., el *vastus lateralis* del cuádriceps) de este tipo de pacientes³⁰.

Respecto de la CPK, se trata de una enzima implicada en el uso de la energía almacenada en el músculo en forma de fosfocreatina. En teoría, el aumento de su capacidad metabólica permitiría incrementar la efectividad muscular en situación de sobrecarga. Si analizamos nuestra población con EPOC de forma global, puede observarse que su actividad era similar a la de los sujetos control. Sin embargo, algunos pacientes presentaban actividades muy elevadas. Dado lo limitado de nuestra serie, cualquier interpretación al respecto sería de índole meramente especulativa.

Limitaciones del estudio

Existen una serie de limitaciones que son inherentes al diseño. Así, resulta difícil obtener una población mayor en un estudio cuya invasividad podemos considerar relativamente alta. También está limitado por razones técnicas y éticas el tamaño de la muestra a analizar y, por tanto, el número de enzimas susceptibles de estudio. En esta ocasión se ha escogido una serie de enzimas clave de las diferentes vías metabólicas. Tras este primer "mapa" de la actividad metabólica del IE, es de desear el diseño de estudios centrados en preguntas más específicas.

Otro potencial punto de críticas es el uso de correlaciones que incluyan tanto a pacientes con EPOC como a sujetos con función pulmonar normal. Aceptamos esta crítica respecto de la FEV₁, pues su condición de crite-

rio diagnóstico de la EPOC la somete a limitaciones. Sin embargo, la matizaríamos en el sentido del espectro de gravedad de los pacientes, pues no todos ellos tenían un EPOC muy grave, lo que hubiera facilitado enormemente el hallazgo de correlaciones. Una situación diferente es la de los volúmenes pulmonares, donde la dispersión de los valores era total, y la ausencia de *clusters* validaba el estudio de correlación.

En resumen, la actividad metabólica del músculo IE presenta cambios específicos en los pacientes con EPOC. Estos cambios son fundamentalmente un aumento de la actividad glucolítica, tanto en la parte común como anaerobia, coexistiendo con una preservación de la actividad oxidativa.

Agradecimiento

A Núria Soler y Ángela Roig por su inestimable ayuda en la realización de las pruebas funcionales respiratorias. A M.^a Àngels Carmona por su colaboración en las determinaciones de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Koepke GH, Smith EM, Murphy AJ, Dickinson DG. Sequence of action of the diaphragm and intercostal muscles during respiration. I. Inspiration. *Arch Phys Med Rehabil* 1959; 40: 337-342.
2. Buzinska K, Supinski G, Di Marco AF. Inspiratory action of separate external and paraesternal intercostal muscle contraction. *J Appl Physiol* 1989; 67: 1395-1400.
3. De Troyer A, Kelly S, Macklem PT. Mechanic of intercostal space and action of external and internal intercostal muscles. *J Clin Invest* 1985; 75: 850-895.
4. Sampson MG, De Troyer A. Role of intercostal muscles in the rib cage distortions produced by inspiratory loads. *J Appl Physiol* 1982; 52: 517-523.
5. Yan S, Kayser B. Differential inspiratory muscle pressure contributions to breathing during dynamic hyperinflation. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 497-503.
6. Aguar MC, Gea J, Orozco-Levi M, Pastó M, Minguella J, Corominas J et al. Structural changes and function of intercostal muscles in COPD patients. An outpatient model of biopsy. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151 (Supl): A806.
7. Jiménez-Fuentes MA, Gea J, Aguar MC, Minguella J, Lloreta J, Félez M et al. Densidad capilar y función respiratoria en el músculo intercostal externo. *Arch Bronconeumol* 1999; 35: 471-476.
8. Pride NB, Vermeire P. Definition and differential diagnosis. En: Postma DS, Siafakas NM, editores. *Management of chronic obstructive pulmonary disease*. Sheffield: Eur Resp Soc J Ltd., 1998; 2-5.
9. Roca J, Sanchís J, Agustí-Vidal A, Segarra F, Navajas D, Rodríguez-Roisin R et al. Spirometric reference values for a mediterranean population. *Bull Eur Physiopathol Resp* 1986; 22: 217-224.
10. Roca J, Burgos F, Barberá JA, Sunyer J, Rodríguez-Roisin R, Castellsagué J et al. Prediction equations of plethysmographic lung volumes. *Respir Med* 1998; 92: 454-460.
11. Roca J, Rodríguez-Roisin R, Cobo E, Burgos F, Pérez J, Clausen JL. Single-breath carbon monoxide diffusing capacity (DLco) prediction equations for a mediterranean population. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 1026-1032.
12. Morales P, Sanchís J, Cordero PJ, Díez JL. Presiones respiratorias estáticas máximas en adultos. Valores de referencia para población mediterránea caucásica. *Arch Bronconeumol* 1997; 33: 213-219.
13. Martyn JB, Moreno RH, Paré PD, Pardy RL. Measurement of inspiratory muscle performance with incremental threshold loading. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 919-923.
14. Jiménez-Fuentes MA, Gea J, Pallás O, Gallego F, Félez M, Broquetas J. Morfometría fibrilar del músculo intercostal externo. Comparación entre los datos dominante y no dominante en pacientes con EPOC severa. *Arch Bronconeumol* 1998; 4: 189-193.

15. Zammit VA, Newsholme EA. The maximum activities of hexokinase, phosphorylase, phosphofructokinase, glycerol phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, octopine, dehydrogenase, phosphoenolpyruvate, carboxykinase, nucleoside diphosphatekinase, glutamate-oxalate transaminase and arginine kinase in relation of carbohydrate utilisation in muscle from invertebrates. *Biochem J* 1976; 160: 447-462.
16. Opie LH, Newsholme EA. The activities of fructose 1,6-diphosphatase, phosphofructokinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in white muscle and red muscle. *Biochem J* 1967; 103: 391-399.
17. Srere PA. Citrate synthase. *Methods Enzymol* 1969; 13: 3-11.
18. Tesch PA, Thorsson A, Gustavsson BE. Enzyme activities of FT and ST muscle fibers in heavy resistance trained athletes. *J Appl Physiol* 1989; 67: 83-87.
19. Orozco-Levi M, Gea J, Loreta J, Félez M, Minguella J, Serrano S et al. Subcellular adaptation of the human diaphragm in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999; 13: 371-378.
20. Levine S, Kaiser L, Leferovich J, Tikunov B. Cellular adaptations in the diaphragm in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 1799-1806.
21. Sauleda J, Gea J, Orozco-Levi M, Corominas J, Minguella J, Aguar C et al. Structure and function relationships of the respiratory muscles. *Eur Respir J* 1998; 11: 906-911.
22. Orozco-Levi M, Gea J, Aguar MC, Broquetas JM. Changes in the capillary content in the diaphragm of COPD patients: a sort of muscle remodelling? *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153 (Supl): A298.
23. Zhu E, Petroff B, Gea J, Comtois N, Grassino A. Diaphragm muscle injury after inspiratory resistive breathing. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1110-1116.
24. Gea J, Hamid Q, Czaika G, Zhu E, Mohan-Ram V, Goldspink G et al. Expression of myosin heavy chain isoforms in the respiratory muscles following resistive breathing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1274-1278.
25. Orozco-Levi M, Gea J, Loreta J, Minguella J, Serrano S, Broquetas JM. Evidence of diaphragm damage induced by inspiratory loading in both healthy subjects and COPD patients. *Am J Crit Care Med* 2000; 161 (Supl): A752.
26. Gea J, Pastó M, Ennion S, Goldspink G, Broquetas JM. Expression of the genes corresponding to myosin heavy chain isoforms (MyHC I, IIa and IIx) in the diaphragm of patients of suffering from COPD. *Eur Respir J* 1998; 12 (Supl 28): 267.
27. Gea J. Myosin gene expression in the respiratory muscles. *Eur Resp J* 1997; 10: 2404-2410.
28. Tamm M, Roth M, Bihl M, Eickelberg P, Stulz P, Perruchoud S et al. Hypoxia-induced IL-6, IL-8 and VEGF production is mediated by platelet-activating factor (PAF). *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153 (Supl): 636.
29. Palacio J, Gáldiz JB, Orozco-Levi M, Mariñán M, Hernández N, Gea J. Changes in the structure of diaphragm induced by subacute inspiratory loading. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161 (Supl): A19.
30. Sauleda J, García-Palmer F, Wiester RJ, Tarraga S, Harting I, Tomás P et al. Cytochrome oxidase activity and mitochondrial gene expression in skeletal muscle of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1413-1417.