

Disfunción muscular esquelética de la EPOC. Mecanismos celulares

A.G.N. Agustí, J. Sauleda, M. Morlá*, C. Miralles* y X. Busquets*

Servicio de Neumología. *Unidad de Investigación. Hospital Universitari Son Dureta. Palma de Mallorca.

Introducción

Los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) presentan con frecuencia disfunción muscular esquelética (DME)¹. La prevalencia de la DME en enfermos con EPOC grave y/o insuficiencia respiratoria crónica se acerca al 50%². La DME tiene implicaciones clínicas importantes porque: *a*) contribuye a limitar la capacidad de ejercicio (y la calidad de vida) de estos enfermos²; *b*) tiene valor pronóstico (independientemente del grado de alteración de la función pulmonar)², y *c*) es reversible (al menos parcialmente) mediante una terapéutica adecuada².

La DME de la EPOC se caracteriza por dos fenómenos diferentes (aunque posiblemente relacionados): *a*) pérdida neta de masa muscular, y *b*) disfunción (función anormal) de la masa muscular restante. El primero (pérdida de masa) es un fenómeno intrínsecamente muscular, mientras que el segundo (disfunción) puede deberse a alteraciones propias del músculo (pérdida de proteínas contráctiles, alteraciones del metabolismo bioenergético mitocondrial, etc.) o a alteraciones externas del mismo (que se ve obligado a contraerse en un "microambiente tisular" alterado -hipoxia, hipercapnia, acidosis, etc.- debido a la EPOC).

Este artículo revisa, en primer lugar, los mecanismos que regulan la masa y la función muscular esquelética en condiciones normales. A continuación, y en el contexto del marco conceptual previo, se discute la relevancia de aquellos factores etiopatogénicos potencialmente relacionados con el desarrollo de DME en la EPOC.

Regulación fisiológica de la masa (volumen) muscular

El tejido muscular es un tejido extraordinariamente

plástico: el ejercicio físico produce hipertrofia muscular, y su falta de uso (inmovilización, yeso, etc.), atrofia^{3,4}. En condiciones normales, el volumen muscular depende de: *a*) el equilibrio entre la síntesis y degradación de proteínas (estructurales y funcionales), y *b*) el control de la muerte celular programada (apoptosis).

Síntesis y degradación proteica

Todas las proteínas celulares (en cualquier tipo de célula, también la muscular) son continuamente sintetizadas y degradadas a través de una serie de mecanismos sometidos a estrecho control. Este intercambio proteico varía en los distintos tejidos del organismo y entre proteínas diferentes. Por ejemplo, en los hepatocitos la vida media de una proteína es de pocos días, mientras que en el músculo algunas proteínas tienen una vida media de varias semanas⁵. El control de la vida media de las proteínas es tan preciso que pequeñas alteraciones en su síntesis o degradación causan pérdida de masa muscular en pacientes con sida o cáncer^{6,7}.

1. Síntesis proteica. La síntesis proteica depende de: *a*) el aporte y la utilización de los sustratos metabólicos necesarios; *b*) el control hormonal, y *c*) el aporte de oxígeno y bioenergética mitocondrial.

– *Aporte y utilización de sustratos metabólicos.* Las células musculares pueden metabolizar hidratos de carbono, ácidos grasos o proteínas (todos ellos aportados por la dieta). Los ácidos grasos son la fuente energética fundamental del músculo en reposo. Durante el ejercicio, inicialmente se estimula el consumo de hidratos de carbono, almacenados en forma de glucógeno. A medida que el ejercicio continúa, se emplean tanto la glucosa como los triglicéridos extraídos de la sangre. Finalmente, en fases extenuantes de ejercicio (superior a 2 h) se activa el catabolismo muscular, utilizándose las propias proteínas musculares como fuente energética⁸.

– *Control hormonal.* Al igual que otros tejidos, el músculo está sujeto a un control hormonal muy preciso (insulina, glucagón, adrenalina, noradrenalina, cortisol, hormona del crecimiento y factores de crecimiento). Este control hormonal regula la utilización de los sustratos metabólicos y el grado de síntesis y degradación proteica⁵. Las bases moleculares de la hipertrofia (o

Subvencionado, en parte, por ABEMAR, Fundación Barceló, FIS 00/347 y CICYT PB98/1084.

Correspondencia: Dr. A.G.N. Agustí.
Servei de Pneumologia. Hospital Universitari Son Dureta.
Andrea Doria, 55. 07014 Palma de Mallorca.
Correo electrónico: aagusti@hsd.es

Recibido: 12-12-00; aceptado para su publicación: 12-12-00.

(Arch Bronconeumol 2001; 37: 197-205)

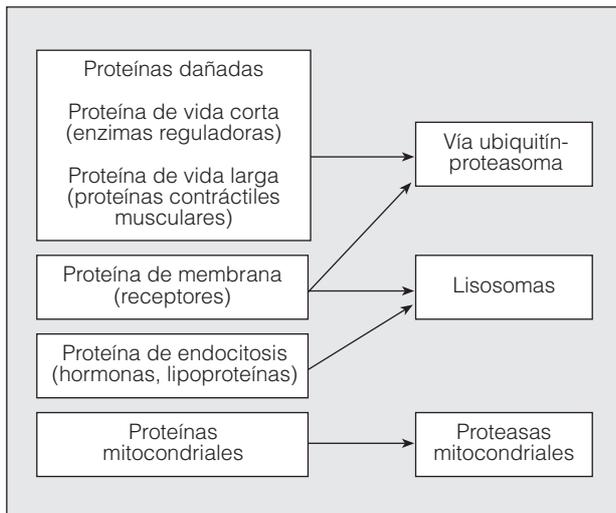


Fig. 1. Principales vías de proteólisis celular (modificada de Mitch y Goldberg²).

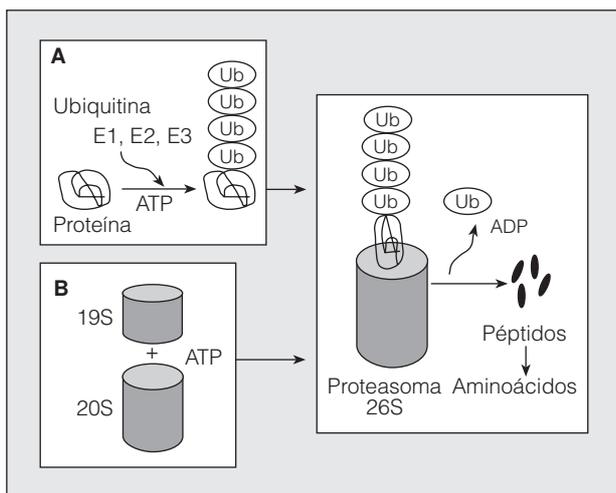


Fig. 2. Degradación de proteínas mediante el sistema ubiquitín-proteasoma (U/P). A. Las proteínas a degradar se conjugan a ubiquitininas hasta formar una cadena mediante la acción de las enzimas E1, E2 y E3 y gasto de ATP. B. Los complejos 16S y 20S del proteasoma se acoplan con gasto de ATP en una unidad funcional denominada complejo proteasoma 26S. C. Las proteínas conjugadas a la cadena de ubiquitina son reconocidas por el complejo 16S que libera la cadena de ubiquitina y cataliza su entrada al complejo 20S, donde son degradadas.

atrofia) muscular son poco conocidas pero, en general, se acepta que el incremento de factores de crecimiento (IGF-I, IGF-II)⁹, de la hormona del crecimiento y de la testosterona¹⁰ asociado al ejercicio físico^{11,12} supone un estímulo anabólico que causa hipertrofia muscular.

– *Aporte de oxígeno y bioenergética mitocondrial.* La síntesis de proteínas es un proceso celular complejo (requiere la participación de multitud de moléculas, reacciones químicas y estructuras celulares) que consume energía (ATP)¹³. Por ello, la síntesis proteica precisa de un aporte continuo y adecuado de oxígeno, así como de una bioenergética mitocondrial efectiva¹⁴. De hecho, uno de los primeros mecanismos celulares de defensa

frente a la hipoxia es, precisamente, la inhibición de la síntesis de proteínas¹⁵. En cultivos celulares de hepatocitos se ha demostrado que esta inhibición en respuesta a la hipoxia se realiza en el ámbito transcripcional (síntesis de ARN)^{14,15}. En organismos enteros (embriones de la gamba *Artemia franciscana*), cuya masa total está formada mayoritariamente por tejido muscular, la inhibición de la síntesis proteica en condiciones hipóxicas puede prolongarse varios años¹⁶.

2. *Proteólisis.* La degradación proteica (proteólisis) también contribuye a mantener la concentración de proteínas de una célula^{6,7}. Al igual que la síntesis de proteínas, la proteólisis es un proceso complejo, muy regulado y de alto gasto energético. Existen tres vías fundamentales de degradación de proteínas (fig. 1): a) proteólisis lisosomal; b) proteasas mitocondriales, y c) vía ubiquitín-proteasoma.

– *Proteólisis lisosomal.* Las proteínas extracelulares (hormonas, lipoproteínas, etc.), junto a los receptores que las han fijado, se degradan selectivamente en el interior de los lisosomas. Mediante esta vía, el músculo degrada los receptores y factores de crecimiento, receptores a la insulina, receptor a la acetilcolina, etc. Sin embargo, la proteólisis lisosomal no es cuantitativamente importante, por lo que es posible que no desempeñe un papel relevante en la patogenia de la DME de la EPOC.

– *Proteasas mitocondriales.* Las mitocondrias poseen su propio sistema de degradación de proteínas por medio de proteasas específicas. La actividad de estas proteasas tan sólo afecta a determinadas proteínas mitocondriales y no tiene importancia cuantitativa en los procesos de degradación de proteínas en las células.

– *Vía ubiquitín-proteasoma (U/P).* La mayoría de las proteínas celulares son degradadas a través de esta vía (que consume ATP). Su discusión pormenorizada excede el ámbito de esta revisión, por lo que se remite al lector interesado a revisiones recientes sobre el tema⁵. La degradación proteica a través de la vía U/P es un proceso muy regulado, en el que se pueden diferenciar varias fases (fig. 2): a) *fase de marcado.* Las proteínas a degradar son “marcadas” mediante su unión covalente a otra proteína (de bajo peso molecular) denominada ubiquitina. Para ello, el extremo carboxilo de la ubiquitina es activado por una enzima denominada E1. La ubiquitina activada se transfiere a una familia de proteínas transportadoras denominadas E2, al tiempo que el grupo carboxilo de la ubiquitina se une mediante una ligasa (denominada E3) a los residuos de lisina en la proteína sustrato a degradar. Este ciclo se repite formando una cadena de 50 o más ubiquitininas; b) *fase de degradación.* La “ubiquitinación” de la proteína sustrato es la señal molecular para que dicha proteína sea reconocida por un complejo proteico (proteasoma 26S) que lleva a cabo su degradación activa (consume ATP). El proteasoma tiene dos sistemas para prevenir la digestión accidental de proteínas. El primero de ellos se basa en que es absolutamente necesario el marcaje específico de la proteína por la ubiquitina para que ésta sea degradada. Además, la especificidad del proteasoma para cada pro-

teína radica en la especificidad del marcado con E2 y E3. El segundo sistema de seguridad radica en que los sitios activos del proteasoma (el lugar físico donde se degradan las proteínas) están aislados en su estructura central, de tal manera que, incluso estando “desubiquinizadas”, sólo las proteínas desnaturalizadas, inactivas o deterioradas pueden acceder a él. En el contexto de la EPOC, estas alteraciones proteicas podrían estar producidas por estrés oxidativo, hipoxia, inflamación, etc. (véase más adelante), y *c) fase de reciclado*. Formando parte del proteasoma, existe otro complejo proteico (complejo 19S) cuya función es liberar (reciclar) la ubiquitina de las proteínas marcadas, una vez empezado el proceso de degradación. De esta forma, la ubiquitina “liberada” puede volver a ser utilizada de nuevo.

Muerte celular programada (apoptosis)

En un organismo multicelular, el control del número y tipo celular está determinado por el equilibrio entre la proliferación y muerte celular¹⁷. La apoptosis o “muerte celular programada” es un complejo mecanismo celular por el cual la célula muere de forma “fisiológica”. A diferencia de la muerte “accidental” (necrosis), la apoptosis es un proceso celular finamente regulado, cuyos elementos activados (sistemas de transducción de señales) son comunes para todos los tipos celulares y están muy conservados en la escala evolutiva¹⁸. El estudio del proceso de apoptosis en el músculo esquelético es reciente. Se ha descrito apoptosis muscular tras lesión mecánica de las fibras debida a ejercicio intenso o a procesos inflamatorios^{19,20}.

Regulación fisiológica de la función muscular esquelética

La función del músculo esquelético es contraerse en respuesta a un estímulo nervioso. Esta contracción muscular tiene por objeto generar fuerza (de una intensidad determinada) durante un período de tiempo determinado (resistencia a la fatiga). El proceso de contracción depende de la capacidad del músculo para convertir energía química (ATP) en energía mecánica (trabajo) y calor²¹. La contracción muscular efectiva precisa de la coexistencia de diversos elementos, como la presencia de proteínas citoplasmáticas contráctiles (en cantidad y calidad adecuadas), el equilibrio entre la producción y el consumo de ATP y la existencia de una placa neuromuscular adecuada.

1. Proteínas citoplasmáticas contráctiles. Estas proteínas (fundamentalmente miosina, actina y tropomiosina) se asocian en dos tipos de filamentos: filamentos gruesos (miosina) y filamentos finos (actina fibrilar, actina globular, troponina y tropomiosina). Los filamentos gruesos y finos se asocian en miofibrillas (una célula muscular dispone de miles de ellas). Las miofibrillas, a su vez, se subdividen por la *línea Z*, que delimita la unidad funcional de una célula muscular (sarcómero).

2. Equilibrio entre la producción y el consumo de ATP. El ATP es la fuente de energía imprescindible para

la contracción muscular. Cabe recordar aquí que, en condiciones aerobias, la fosforilación oxidativa mitocondrial produce 36 moléculas de ATP por molécula de glucosa oxidada, mientras que en condiciones anaerobias sólo se producen 2 moléculas de ATP por molécula de glucosa oxidada.

3. Placa neuromuscular. Para que se produzca contracción muscular se requiere la llegada de un potencial de acción. La unidad estructural es la placa motora, que consta, fundamentalmente, del terminal nervioso motor y la depresión sináptica (invaginación en el músculo esquelético). En esta última se produce la liberación de acetilcolina (por el terminal nervioso) y su interacción con el receptor a la acetilcolina (en el músculo). Esta interacción aumentará la permeabilidad al sodio en el músculo y producirá el potencial de acción muscular y la consiguiente contracción²¹. Para una explicación pormenorizada de los mecanismos moleculares de la contracción muscular se remite al lector interesado a revisiones sobre el tema²¹.

Mecanismos celulares de disfunción muscular esquelética en la EPOC

Se ha propuesto una serie amplia de mecanismos potenciales de DME en la EPOC (tabla I). Algunos de ellos inciden sobre los mecanismos que controlan el volumen muscular y causan pérdida de masa (fig. 3). Entre éstos cabe citar los fenómenos de proteólisis y apoptosis muscular. Otros inciden sobre la función de la masa muscular restante, como la hipoxia tisular o las alteraciones electrolíticas, y pueden ser causa de disfunción muscular (fig. 3). Finalmente, existe un tercer grupo de mecanismos (sedentarismo, fármacos, entre otros) que pueden afectar tanto a la masa muscular total como a la función de la masa muscular restante (fig. 3).

Sedentarismo

La disnea de esfuerzo es un síntoma muy frecuente en pacientes con EPOC. Debido a ello, muchos enfermos adoptan un estilo de vida sedentario²². Las consecuencias estructurales y funcionales de la inactividad física sobre el músculo esquelético son bien conocidas, e incluyen insensibilidad a la insulina²³, disminución de la

TABLA I
Posibles mecanismos patogénicos de la disfunción muscular esquelética (DME) en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)

Sedentarismo
Alteraciones nutricionales/caquexia
Hipoxia tisular
Alteraciones hormonales
Inflamación sistémica/proteólisis
Estrés oxidativo
Alteraciones del metabolismo del óxido nítrico
Apoptosis muscular excesiva
Alteraciones electrolíticas
Tabaco
Efectos secundarios del tratamiento farmacológico
Susceptibilidad genética

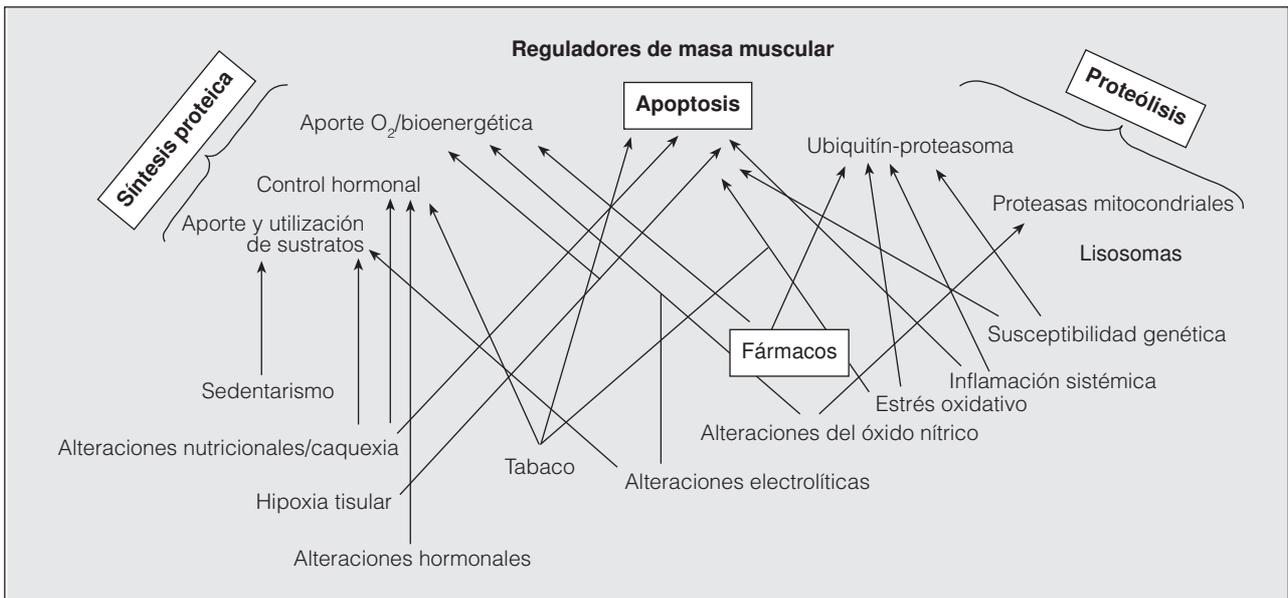


Fig. 3. Posibles lugares de acción de diversos mecanismos patogénicos de disfunción muscular esquelética (DME) en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). En el músculo sano, la combinación adecuada de ejercicio (estimula la síntesis de factores de crecimiento), alimentación (sustancias anabólicas), control hormonal (regulación de la expresión de proteínas musculares) y aporte de oxígeno (ATP, energía para la contracción y crecimiento muscular) supone que el metabolismo muscular se dirija, fundamentalmente, al crecimiento y desarrollo del músculo (proliferación y crecimiento de fibras musculares). En el músculo del paciente con EPOC, el sedentarismo, la desnutrición, la disregulación hormonal y la hipoxia tisular causan la activación patológica de los mecanismos celulares catabólicos produciendo atrofia tisular caracterizada por la pérdida de proteínas estructurales, pérdida de fibras musculares y activación de la apoptosis, entre otros efectos.

actividad de diversas enzimas metabólicas²⁴, pérdida de la capacidad de síntesis de proteínas²⁵, pérdida del área contráctil²⁶ y pérdida selectiva de fibras tipo I^{24,25}. Todo esto produce atrofia (es decir, pérdida de masa muscular), reducción de la fuerza máxima generada y disminución de la resistencia a la fatiga. Los programas de rehabilitación mejoran la función muscular esquelética (y la capacidad de ejercicio) de los pacientes con EPOC^{27,28}. Estas observaciones apoyan la importancia etiopatogénica del sedentarismo en la DME de estos enfermos. Sin embargo, la persistencia de algunas anomalías funcionales tras rehabilitación física^{29,30} apunta a la existencia de otros mecanismos etiopatogénicos de DME, además de los producidos por la inactividad física.

Alteraciones nutricionales/caquexia

Aunque presentan características semejantes, los términos “desnutrición” y “caquexia” no son sinónimos (tabla II). Ambas se caracterizan por pérdida muy importante de reservas grasas y proteínas musculares. Sin embargo, la primera se debe a la falta de ingestión (o absorción intestinal) y la segunda es de origen incierto (posiblemente inflamatorio) (tabla II). Los enfermos con EPOC, cáncer o insuficiencia cardíaca avanzada presentan con frecuencia pérdida de peso (por pérdida de reserva grasa y de masa muscular)^{31,32}. Las causas de este fenómeno son poco conocidas, pero posiblemente se encuadren más en el contexto de la caquexia que en el de la desnutrición. De hecho, la ingestión calórica de estos enfermos suele ser normal (o superior a la normal), el consumo de oxígeno basal suele estar eleva-

do^{33,34} (y no disminuido, como es habitual en la desnutrición) y la respuesta al soporte nutricional suele ser pobre³⁵. Por ello, actualmente se considera que la caquexia de la EPOC no es el resultado de un “déficit” nutricional, sino la consecuencia de diversos factores que se comentan a continuación (hipoxia, inflamación sistémica, apoptosis, etc.).

Hipoxia tisular

La DME es particularmente frecuente en pacientes con EPOC e insuficiencia respiratoria crónica (IRC)³¹. Es posible, además, que se produzca hipoxia celular en ausencia de hipoxemia arterial (por alteración en algún otro elemento del sistema de transporte de oxígeno, como el flujo sanguíneo, la distribución capilar o la concentración de hemoglobina). Diversas evidencias experimentales apuntan a que la hipoxia tisular puede ser un factor causal de DME en la EPOC³⁶. Entre ellas, cabe destacar que: a) la hipoxia crónica suprime la síntesis de proteínas en el músculo esquelético y causa

TABLA II
Diferencias conceptuales entre desnutrición y caquexia

	Desnutrición	Caquexia
Depósitos grasos	↓↓	↓↓
Proteínas musculares	↓↓	↓↓
Consumo energético	↓	↑
Causa	Déficit de ingestión	Inflamación sistémica (?)
Respuesta al soporte nutricional	Buena	Mala

pérdida neta de aminoácidos y fibras musculares^{15,37; b)} en modelos experimentales de músculo esquelético sometido a hipoxia³⁸ se han identificado cambios estructurales en el músculo, como disminución del área de sección transversal de las fibras musculares y disminución de la expresión de la cadena pesada de la miosina³⁹; *c)* individuos sanos sometidos a hipoxia (altitud) pierden masa muscular^{40,41}, y *d)* en el *quadriceps femoris* de pacientes con EPOC e IRC se han observado alteraciones estructurales y funcionales (como disminución de la proporción de fibras de tipo I⁴²⁻⁴⁴ y sobreactividad de la enzima mitocondrial citocromo oxidasa⁴⁵) en proporción directa al grado de hipoxemia arterial presente.

Alteraciones hormonales

El exceso o déficit de peso corporal es lesivo para el organismo⁴⁶. Por ello existen complejos mecanismos bioquímicos de control del peso corporal que incluyen, entre otros, la regulación de la expresión de hormonas anabolizantes y neuropéptidos implicados en el control central del apetito⁴⁷. En relación con la DME de la EPOC, cabe señalar que se ha descrito disminución de las concentraciones de testosterona y hormona del crecimiento^{10,48} en pacientes con EPOC, lo que indica que la alteración en la expresión de estas hormonas puede estar potencialmente implicada en la patogenia de la DME. La leptina (y su receptor) son neuropéptidos descubiertos recientemente que regulan el control central (hipotalámico) de la ingestión dietética⁴⁹ e intervienen en la regulación del metabolismo energético de los tejidos y de la distribución de la grasa corporal^{50,51}. En pacientes con EPOC y pérdida de peso se han descrito valores plasmáticos reducidos de leptina^{50,52}. Dado que la leptina se sintetiza en los adipocitos, estos resultados pudieran ser consecuencia de la disminución de tejido adiposo, no su causa. Sin embargo, también es posible que indiquen la participación del sistema nervioso central de la DME de la EPOC.

Inflamación sistémica/proteólisis

Estudios recientes demuestran la presencia de inflamación sistémica (extrapulmonar) en la EPOC^{53,54} caracterizada por estrés oxidativo⁵⁵, valores elevados de diversas citocinas proinflamatorias –factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina (IL)-6, IL-8–^{56,57} y presencia de células inflamatorias (neutrófilos y linfocitos) circulantes activadas^{58,59}. Esta inflamación sistémica puede constituir un factor patogénico importante de DME por sus efectos sobre la proteólisis muscular⁶⁰. Por ejemplo, en cultivos de miocitos diferenciados, el TNF- α degrada proteínas musculares fundamentales, como la cadena pesada de la miosina (MHC)⁶¹, a través de la activación del factor de transcripción NF κ B que, a su vez, regula la unión de MHC al complejo ubiquitín-proteasoma (U/P)⁶². Como ya se ha comentado, el complejo U/P es fundamental en el control de la degradación de proteínas celulares⁵ (fig. 2). Estudios experimentales en ratas indican que la desregulación del sistema U/P contribuye a la pérdida de masa muscular causada por sepsis o tu-

mores⁵. Por otra parte, en condiciones de aumento de la proteólisis muscular, se observa un incremento en la expresión (ARNm) de distintas subunidades de proteasoma. De igual forma, también se producen incrementos en la expresión de la ubiquitina y del proteasoma en el músculo esquelético durante la atrofia por ayuno prolongado y en situaciones de denervación⁶³. Por todo ello, es posible que la desregulación del sistema U/P pueda desempeñar un papel patogénico importante en la DME de la EPOC⁶⁴, aunque ésta es una posibilidad que tendrá que ser investigada en futuros estudios.

Estrés oxidativo (EO)

Estudios recientes han presentado evidencia de EO sistémico⁶⁵ y muscular⁶⁶ en pacientes con EPOC. El término estrés oxidativo indica la presencia de proteínas, lípidos y/o ácidos nucleicos oxidados por radicales libres (RL)^{67,68}. Un RL es una molécula que dispone de un electrón no apareado en su órbita externa, electrón que puede ser transferido con gran facilidad (oxidar) a otra molécula vecina⁶⁷. Aunque se puede producir EO a partir de RL exógenos al organismo (tabaco), existen diversas fuentes endógenas (intracelulares) de producción de RL. La más importante es el metabolismo mitocondrial. En condiciones normales, el 98% del oxígeno (O₂) consumido por la célula se utiliza en la producción de ATP, mientras que un 2% (aproximadamente) del mismo acaba convertido en RL –ion superóxido (O₂•), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y radical hidroxilo (OH•)–. En general, las moléculas oxidadas funcionan defectuosamente y/o son rápidamente degradadas por el complejo U/P (fig. 2). Por ello, existe una serie de antioxidantes naturales –catalasa, superóxido dismutasa (SOD), glutatión (GSH)– que intentan evitar el EO. Cuando la producción de RL es excesiva (disfunción mitocondrial, hipoxia, inflamación sistémica [TNF α])⁶⁸ y/o la concentración de antioxidantes disminuye de forma significativa (alteración en la síntesis proteica, consumo excesivo de los mismos), se produce EO⁶⁹⁻⁷¹. El EO provoca fatiga muscular, estimula la respuesta inflamatoria⁷²⁻⁷⁴ y activa los mecanismos de proteólisis muscular⁶².

Alteraciones en el metabolismo del óxido nítrico (NO)

El NO también es un RL (basado en la molécula de nitrógeno). El NO se sintetiza a partir del aminoácido L-arginina mediante la acción de la enzima NO-sintasa (NOS). Se han descrito tres isoformas diferentes de NOS (tipos I, II y III)⁷⁵. La isoforma tipo I –también llamada neuronal (nNOS) o cerebral (*brain*) (bNOS)– y la tipo III –o endotelial (eNOS)– se expresan de forma constitutiva en el músculo humano⁷⁶⁻⁷⁹. La isoforma II –o inducible (iNOS)– sólo se expresa en respuesta a diversos estímulos (hiperoxia, inflamación)^{75,80}. El NO es una molécula que, a concentraciones bajas, participa en la regulación de numerosos procesos fisiológicos (control del tono vascular, inhibición de la adhesión de neutrófilos, transporte de la glucosa, control de la glucólisis, consumo de oxígeno mitocondrial, actividad de la creatinasa y contracción muscular)⁷⁹ mientras que,

en concentraciones elevadas, tiene gran capacidad oxidante⁸¹ y es capaz de producir lesión celular.

El papel del NO en la DME de la EPOC es desconocido, pero existen diversos mecanismos potenciales a través de los cuales el NO podría desempeñar un papel relevante. Por ejemplo, el número de capilares musculares en pacientes con EPOC es inferior al normal⁸². Cabe suponer, por tanto, que la expresión de eNOS (ubicada en las células endoteliales) también está reducida. En estas condiciones, el control microvascular sería deficiente y podría producirse un déficit de aporte de oxígeno al músculo esquelético, con las consecuencias celulares discutidas anteriormente (véase "Hipoxia tisular"). Por otra parte, la sobreexpresión muscular de iNOS (por hipoxia, inflamación, etc.) podría producir un exceso de NO intramuscular. En estas condiciones, el NO puede reaccionar con el ion superóxido y formar peroxinitrito (ONOO⁻), sustancia altamente reactiva capaz de alterar los grupos sulfidril de una variedad de proteínas potencialmente relevantes en la patogenia de la DME de la EPOC^{81,83}. Esta alteración proteica podría facilitar su degradación por el sistema U/P.

Apoptosis muscular excesiva

La apoptosis es un mecanismo fisiológico de control del volumen tisular^{18,84,85}. La desregulación de este programa puede contribuir a la pérdida de masa muscular que se observa en diversas enfermedades crónicas. Muy recientemente se ha demostrado apoptosis excesiva en el músculo esquelético de pacientes con fallo cardíaco y pérdida de peso⁸⁶. En nuestro laboratorio hemos investigado el grado de apoptosis existente en el músculo esquelético de pacientes con EPOC que pierden peso (comparados con sujetos inactivos y otros pacientes con EPOC que no pierden peso). Los resultados de este estudio, todavía preliminares, indican que, efectivamente, los pacientes con EPOC que pierden peso presentan un grado de apoptosis muscular esquelética muy elevado⁸⁷.

Alteraciones electrolíticas

Los pacientes con EPOC pueden presentar disminución de la concentración plasmática de potasio, fósforo, calcio y magnesio⁸⁸. Estas alteraciones pueden ser secundarias a la comorbilidad que asocian estos pacientes (desnutrición, infecciones de repetición) y/o a los efectos adversos del tratamiento médico (diuréticos y betaadrenérgicos)⁸⁸. Estos iones son necesarios en concentraciones adecuadas para la correcta contracción muscular. En condiciones de hipopotasemia, hipofosfatemia, hipocalcemia y/o hipomagnesemia puede haber disfunción contráctil y debilidad muscular^{89,91}. La corrección de estos trastornos mediante la administración de suplementos iónicos puede ser importante desde un punto de vista clínico, porque puede contribuir a mejorar la función muscular¹.

Tabaco

El humo del tabaco contiene muchas sustancias potencialmente dañinas para el músculo esquelético (oxi-

dantes, nicotina, etc.). Estudios *in vitro* han demostrado que la nicotina altera la expresión de factores de crecimiento importantes para el mantenimiento de la masa muscular, como bFGF y TGF- β 1 en células musculares⁹². Por otra parte, la 5-hidroxicotina (un derivado de la nicotina) incrementa el transporte de glucosa y la actividad de la glucógeno sintasa (GS) en el músculo⁹³. Estas alteraciones pueden modificar el metabolismo energético del músculo y contribuir, en parte, al fenómeno de pérdida de masa muscular. Finalmente, la nicotina compite con la acetilcolina por su receptor en la unión neuromuscular, lo que puede alterar el acoplamiento fisiológico en este nivel⁹⁴.

Aunque no sea una estructura muscular propiamente dicha, el aporte continuo de oxígeno al músculo requiere el normal funcionamiento de la microcirculación periférica. El humo del tabaco produce (incluso en fumadores pasivos) disfunción endotelial⁹⁵. Esta alteración puede contribuir a aumentar el déficit de oxigenación celular presentado anteriormente como mecanismo patogénico de DME (véase "Hipoxia tisular").

Efectos secundarios del tratamiento farmacológico

Muchos de los fármacos habitualmente empleados en el tratamiento de la EPOC pueden interferir con la estructura y función muscular esquelética. Los fármacos β 2-adrenérgicos aumentan el consumo de oxígeno basal⁹⁶, lo que puede aumentar la producción de RLO y producir EO. El tratamiento con corticoides orales causa miopatía⁹⁷. Los mecanismos celulares de esta miopatía corticoide parecen relacionarse con la disminución de la proporción y tamaño de fibras tipo IIB^{98,99}. Finalmente, en pacientes sometidos a trasplante pulmonar por EPOC, se ha observado que la función muscular esquelética no retorna a la normalidad¹⁰⁰. Este fenómeno se ha atribuido a los efectos depresores del metabolismo mitocondrial producidos por la ciclosporina A¹⁰¹.

Susceptibilidad individual (genética)

No todos los pacientes con EPOC pierden masa muscular. Esta observación indica la existencia de un componente de susceptibilidad individual, posiblemente relacionado con la dotación genética de cada enfermo. Algunas miopatías esqueléticas se han asociado con polimorfismos y mutaciones genéticas concretas. Por ejemplo, alteraciones en el metabolismo de la glucosa en el músculo esquelético se han asociado a polimorfismos del receptor de la insulina y a polimorfismos del gen de la calpaína-10^{102,103}. En atletas sometidos a un programa de entrenamiento físico, se ha observado que la presencia del polimorfismo II (inserción-inserción) del gen de la enzima conversiva de la angiotensina (ECA) se asocia a un mayor desarrollo de masa muscular¹⁰⁴. La posible base genética de la DME de la EPOC es totalmente desconocida. Sin embargo, se ha observado que el genotipo DD de la ECA evita el desarrollo de hipertrofia ventricular derecha en pacientes con EPOC e hipertensión pulmonar¹⁰⁵. En nuestro laboratorio estamos estudiando actualmente el papel de este polimorfis-

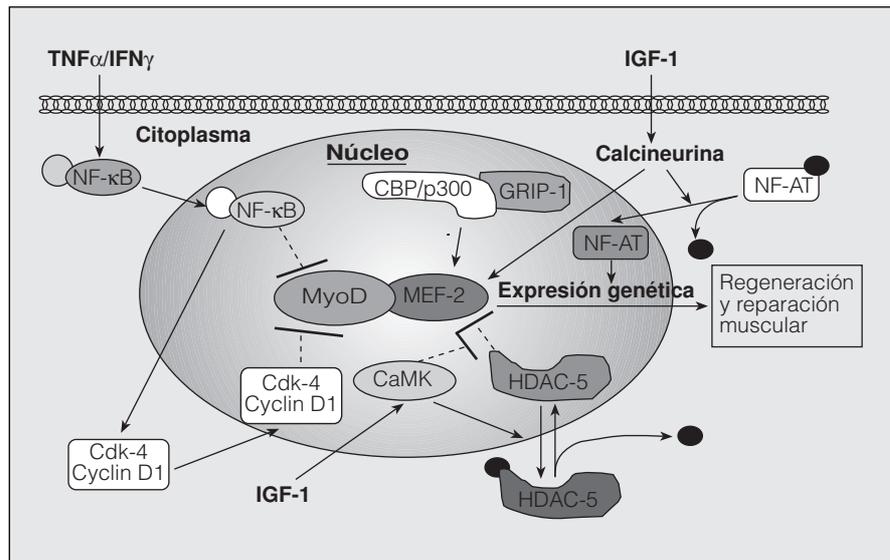


Fig. 4. Sistema de transducción de señales que regulan la miogénesis y reparación muscular (modificada de Muscat y Dresel¹⁰⁷).

mo en la DME de la EPOC (resultados no publicados). Finalmente, recientemente se han descrito alteraciones (fig. 4) en diversos factores de transcripción (MyoD, MEF-2), así como en el grado de acetilación-desacetilación de las histonas (CBP/p300; HDAC-5) que protegen la molécula de ADN, que pueden desempeñar un papel fundamental en la falta de regeneración muscular en enfermos con caquexia neoplásica^{106,107}. El posible papel patogénico de todas estas alteraciones genéticas en el desarrollo de DME en la EPOC deberá investigarse en futuros estudios.

Resumen y conclusiones

Los mecanismos celulares de la DME en la EPOC son desconocidos en su mayor parte. Posiblemente son complejos, multifactoriales e interrelacionados (tabla I). Es posible, además, que muchos de estos mecanismos no sean exclusivos en la EPOC, sino que puedan darse también en otras enfermedades crónicas (insuficiencia cardíaca/renal, cáncer, sida)¹⁶. En líneas generales, como posibles mecanismos de la DME en la EPOC deben diferenciarse los factores exógenos al músculo (aporte de oxígeno, tabaco, nutrición o fármacos) de los factores musculares propios. Entre estos últimos, las alteraciones en la regulación de la proteólisis celular y las alteraciones en la fisiología mitocondrial parecen desempeñar un papel importante, tanto en la producción de RLO (y EO), como en la iniciación del programa de apoptosis muscular o la presencia de un cierto déficit bioenergético. La identificación precisa de estos factores puede ser de gran relevancia clínica para el desarrollo futuro de nuevas alternativas terapéuticas.

Agradecimiento

M. Morlá es colaboradora del IMEDEA (Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados), y C. Miralles es becaria de la Fundación Barceló.

BIBLIOGRAFÍA

- Statement of the American Thoracic Society and European Respiratory Society. Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *AJRCCM* 1999; 159: S1-S40.
- Schols AMWJ, Slangen J, Volovics L, Wouters EFM. Weight loss is a reversible factor in the prognosis of chronic obstructive pulmonary disease. *AJRCCM* 1998; 157: 1791-1797.
- Cullen MI, Johnson MA, Mastaglia FL. Pathological reactions of skeletal muscle. En: Mastaglia FL, Lord Watson of Detchant, editores. *Skeletal muscle pathology*. Edimburgo: Churchill Livingstone, 1992; 123-184.
- Jennekens FGI. Disuse, cachexia and aging. En: Mastaglia FL, Lord Walton of Detchant, editores. *Skeletal muscle pathology*. Edimburgo: Churchill Livingstone, 1992; 753-768.
- Mitch WE, Goldberg AL. Mechanisms of muscle wasting. The role of the ubiquitin-proteasome pathway. *N Engl J Med* 1996; 335: 1897-1905.
- Goldberg RM, Loprimzi CL. Cancer anorexia/cachexia. En: Von Gunten CF, editor. *Palliative care and rehabilitation of cancer patients*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1999; 31-41.
- Emery PW. Cachexia in experimental models. *Nutrition* 1999; 15: 600-603.
- Calles-Escandon J, Felig P. Fuel-hormone metabolism during exercise and after physical training. *Clin Chest Med* 1984; 5: 3-11.
- DeVol DL, Rotwein P, Sadow JL, Novakofski J, Bechtel PJ. Activation of insulin-like growth factors gene expression during Work-induced skeletal muscle growth. *Am J Physiol* 1990; 259: E89-E95.
- Kamischke A, Kemper DE, Castel MA, Luthke M, Rolf C, Behre H et al. Testosterone levels in men with chronic obstructive pulmonary disease with or without glucocorticoid therapy. *Eur Respir J* 1998; 11: 41-45.
- Van Helder WP, Casey K, Goode RC, Radomski WM. Growth hormone regulation in two types of aerobic exercise of equal oxygen uptake. *Eur J Appl Physiol* 1986; 55: 236-239.
- Van Helder WP, Casey K, Radomski WM. Regulation of growth hormone during exercise by oxygen demand and availability. *Eur J Appl Physiol* 1987; 56: 628-632.
- Busquets X, Agustí AGN. La biología molecular en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades respiratorias. *Arch Bronconeumol* 1998; 34: 256-265.
- Schumacker PT, Chandel N, Agustí AGN. Oxygen conformance of cellular respiration in hepatocytes. *Am J Physiol* 1993; 265: L395-L402.
- Hochachka PW, Buck LT, Doll DJ Land SC. Unifying theory of hypoxia tolerance: molecular metabolic defense and rescue mechanisms for surviving oxygen lack. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9493-9498.

16. Hand SC. Quiescence in *Artemia franciscana* embryos: reversible arrest of metabolic and gene expression at low oxygen levels. *J Exp Biol* 1998; 201: 1233-1242.
17. Kroemer G, Reed JC: Mitochondrial control of cell death. *Nature Med* 2000; 6: 513-519.
18. Webb JS, Harrison DJ, Wyllie AH. Apoptosis: an overview of the process and its relevance in disease. En: Kaufmann SH, editor. *Apoptosis. Pharmacological implications and therapeutic opportunities*. San Diego: Academic Press, 1997; 1-34.
19. Sandri M, Carraro U, Podhorska-Okolov M, Rizzi C, Arslan P, Monti D et al. Apoptosis, DNA damage and ubiquitin expression in normal and mdx muscle fibers after exercise. *FEBS Lett* 1995; 373: 291-295.
20. Meadows KA, Holly JM, Stewart CE. Tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis is associated with suppression of insulin-like growth factor binding protein-5 secretion in differentiating murine skeletal myoblasts. *J Cell Physiol* 2000; 183: 330-337.
21. Delpon E, Tamargo J. Fisiología del músculo. En: Tresguerras JAF, editor. *Fisiología humana*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, 1999; 14-35.
22. Agustí AGN, Cotes J, Wagner PD. Responses to exercise in lung diseases. *Eur Respir Mon* 1998; 6: 32-50.
23. Van Baak MA, Borghouts LB. Relationships with physical activity. *Nutr Rev* 2000; 58: S16-S18.
24. Brevetti G, Fanin M, De Amicis V, Carrozzo R, Di Lello F, Martone VD et al. Changes in skeletal muscle histology and metabolism in patients undergoing exercise deconditioning: effect of propionyl-L-carnitine. *Muscle Nerve* 1997; 20: 1115-1120.
25. Gibson JN, Halliday D, Morrison WL, Stoward PJ, Hornsby GA, Watt PW et al. Decrease in human quadriceps muscle protein turnover consequent upon leg immobilization. *Clin Sci* 1987; 72: 503-509.
26. Kent-Braun JA, Ng AV, Young K. Skeletal muscle contractile and noncontractile components in young and older women and men. *J Appl Physiol* 2000; 88: 662-668.
27. Casaburi R, Patessio A, Ioli F, Zanaboni S, Donner CF, Wasserman K. Reductions in exercise lactic acidosis and ventilation as a result of exercise training in patients with obstructive lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 9-18.
28. Casaburi R, Porszasz J, Burns M, Caithers ER, Chang RSY, Cooper CB. Physiologic benefits of exercise training in rehabilitation of patients with severe chronic obstructive pulmonary disease. *AJRCCM* 1997; 155: 1541-1551.
29. Roca J, Agustí AGN, Alonso A, Barberá JA, Rodríguez-Roisín R, Wagner PD. Effects of training on muscle O₂ transport at VO₂ max. *J Appl Physiol* 1992; 73: 1067-1076.
30. Sala E, Roca J, Marrades RM, Alonso J, González de Suso JM, Moreno A et al. Effects of endurance training on skeletal muscle bioenergetics in chronic obstructive pulmonary disease. *AJRCCM* 1999; 1726-1734.
31. Schols AMWJ, Soeters PB, Dingerms AMC, Mostert R, Frantzen PJ, Wouters EFM. Prevalence and characteristics of nutritional depletion in patients with stable COPD eligible for pulmonary rehabilitation. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 1151-1156.
32. Palmer RM, Thompson MG. Potential intracellular targets for anabolic/anticatabolic therapies. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1999; 2: 213-218.
33. Baarends EM, Schols AM, Westerterp KR, Wouters EF. Total daily energy expenditure. Relative to resting energy expenditure in clinically stable patients with COPD. *Thorax* 1997; 52: 780-785.
34. Schols AMW, Soeters PB, Mostert R, Saris WHM, Wouters EFM. Energy balance in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 1248-1252.
35. Ferreira IM, Brooks D, Lacasse Y, Goldstein RS. Nutritional support for individuals with COPD: a meta-analysis. *Chest* 2000; 117: 672-678.
36. Sridhar MK. Why do patients with emphysema lose weight? *Lancet* 1995; 345: 1190-1191.
37. Rennie MJ, Edwards RH, Emery PW, Halliday D, Lundholm K, Millward DJ. Depressed protein synthesis is the dominant characteristics of muscle wasting and cachexia. *Clin Physiol* 1983; 3: 387-398.
38. Sieck GC, Johnson BB. Metabolic and structural alterations in skeletal muscle with hypoxia. En: Haddad G, Fister G, editores. *Tissue oxygen respiration*. Minnesota: Marcel Dekker, 1996; 779-827.
39. Bigard AX, Sánchez H, Birot O, Serrurier B. Myosin heavy chain composition of skeletal muscle in young rats growing under hypobaric hypoxia conditions. *J Appl Physiol* 2000; 88: 479-486.
40. Green HJ, Sutton JR, Cymerman A, Young PM, Houston CS. Operation Everest II: adaptations in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1989; 66: 2454-2461.
41. Bigard AX, Brunet A, Guezennec C-Y, Monod H. Skeletal muscle changes after endurance training at high altitude. *J Appl Physiol* 1991; 2114-2121.
42. Wuyam B, Payen JF, Levy P, Bensaidane H, Reutenauer H, Le Bas JF et al. Metabolism and aerobic capacity of skeletal muscle in chronic respiratory failure related to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1992; 5: 157-162.
43. Hughes RL, Katz H, Sahgal V, Campbell JA, Hartz R, Shields TW. Fiber size and energy metabolites in five separate muscle from patients with chronic obstructive lung disease. *Respiration* 1983; 44: 321-328.
44. Jakobsson P, Jorfeldt L, Brundin A. Skeletal muscle metabolites and fibre types in patients with advanced chronic obstructive pulmonary disease (COPD), with and without chronic respiratory failure. *Eur Respir J* 1990; 3: 192-196.
45. Saulea J, García-Palmer F, Wiesner RJ, Tarraga S, Harting I, Tomas P et al. Cytochrome oxidase activity and mitochondrial gene expression in skeletal muscle of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *AJRCCM* 1998; 157: 1413-1417.
46. Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Rodríguez C, Heath CW. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 1999; 341: 1097-1105.
47. Bessesen DH, Faggioni R. Recently identified peptides involved in the regulation of body weight. *Semin Oncol* 1998; 2: 28-32.
48. Casaburi R. Rationale for anabolic therapy to facilitate rehabilitation in obstructive pulmonary disease. *Baillieres Clin Endocrinol Metabol* 1998; 12: 871-880.
49. Van Heek M, Compton DS, France CF. Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. *J Clin Invest* 1997; 99: 385-390.
50. Schols AM, Creutzberg EC, Buurman WA, Campfield LA. Plasma leptin is related to proinflammatory status and dietary intake in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *AJRCCM* 1999; 160: 1220-1226.
51. Rosenbaum M, Leibel RL. The role of leptin in human physiology. *N Engl J Med* 1999; 341: 913-915.
52. Takabatake N, Nakamura H, Abe S, Hino T, Saito H, Yuki H et al. Circulating leptin in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *AJRCCM* 1999; 159: 1215-1219.
53. Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2000; 343: 269-280.
54. Agustí AGN, Noguera A, Saulea J, Miralles C, Batle S, Busquets X. Systemic inflammation in chronic respiratory diseases. *Eur Respir Mon* 2000. En prensa.
55. Rahman I, MacNee W. Role of oxidants/antioxidants in smoking-induced lung diseases. *Free Radic Biol Med* 1996; 21: 669-681.
56. Schols AMWJ, Buurman WA, Staal-Van den Brekel AJ, Dentener MA, Wouters EFM. Evidence for a relation between metabolic derangements and increased levels of inflammatory mediators in a subgroup of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1996; 51: 819-824.
57. Di Francia M, Barbier D, Mege JL, Orehek J. Tumor necrosis factor-alpha levels and weight loss in chronic obstructive pulmonary disease. *AJRCCM* 1994; 150: 1453-1455.
58. Noguera A, Busquets X, Saulea J, Villaverde JM, MacNee W, Agustí AGN. Altered expression of adhesion molecules and G-proteins in circulating neutrophils in COPD. *AJRCCM* 1998; 158: 1664-1668.
59. Saulea J, García-Palmer FJ, González G, Palou A, Agustí AG. The activity of cytochrome oxidase is increased in circulating lymphocytes patients with chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and chronic arthritis. *AJRCCM* 2000; 161: 32-35.
60. Espot NJ, Copeland EM, Moldawer LL. Tumor necrosis factor and cachexia: a current perspective. *Surg Oncol* 1994; 3: 255-262.
61. Ahmad S, Karlstad MD, Choudhry MA, Sayeed MM. Sepsis-induced myofibrillar protein catabolism in rat skeletal muscle. *Life Sci* 1994; 55: 1383-1391.

62. Li Y, Schwartz RJ, Waddell IA, Holloway BR, Reid MB. Skeletal muscle myocytes undergo protein loss and reactive oxygen-mediated NF- κ B activation in response to tumor necrosis factor α . *FASEB J* 1998; 122: 871-880.
63. Medina R, Wing SS, Goldberg AC. Increase in levels of polyubiquitin and proteasome mRNA in skeletal muscle during starvation and denervation atrophy. *Biochem J* 1995; 307: 631-637.
64. Mitch WE, Medina R, Griebler S, May RC, England BK, Price SR et al. Metabolic acidosis stimulates muscle protein degradation by activating the adenosine triphosphate-dependent pathway involving ubiquitin and proteasomes. *J Clin Invest* 1994; 93: 2127-2133.
65. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, MacNee, W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *AJRCCM* 1996; 154: 1055-1060.
66. Rabinovich RA, Ardite E, Vilaró J, Capitán A, Fernández-Checa JC, Roca J. Limb muscle glutathione status after endurance training in COPD patients. *AJRCCM* 2000; 161: A753.
67. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *AJRCCM* 1997; 156: 341-357.
68. Schulze-Osthoff K, Bakker AC, Vanhaesebroeck B, Beyaert R, Jacob WA, Fiers. Cytotoxic activity of tumor necrosis factor is mediated by early damage of mitochondrial function. Evidence for the involvement of mitochondrial radical generation. *J Biol Chem* 1992; 267: 5317-5323.
69. Jensen PK. Antimycin insensitive oxidation of succinate and NADPH in electron transport particles I. pH dependency and hydrogen peroxide formation. *Biochim Biophys Acta* 1966; 122: 157-166.
70. Reid MB, Haack Ke, Franchek KM, Valberg PA, Kobzik L, West MS. Reactive oxygen in skeletal muscle. I. Intracellular oxidant kinetics and fatigue in vitro. *J Appl Physiol* 1992; 73: 1797-1804.
71. Reid MB, Shoji T, Moody MR, Entman ML. Reactive oxygen in skeletal muscle II. Extracellular release of free radicals. *J Appl Physiol* 1992; 73: 1805-1809.
72. Sjodin B, Westing YH, Appel FS. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Med* 1990; 10: 236-254.
73. Choudhury O, Sakaguchi S, Koyano K, Martin AFM, Muro H. Free radical injury in skeletal muscle ischemia and reperfusion. *J Surg Res* 1991; 1: 392-398.
74. Reikeras O, Ytrehus K. Oxygen radicals scavenger enzymes in ischaemia-reperfusion injury of skeletal muscle. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; 52: 113-118.
75. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-2012.
76. Nakane M, Schmidt HH, Pollock JS, Forsterman U, Murad F. Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle. *FEBS Lett* 1993; 316: 175-180.
77. Kobzik L, Reid MB, Bredt DS, Stamler JS. Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature* 1994; 372: 546-548.
78. Frandsen U, López-Figueroa M, Hellsten Y. Localization of nitric oxide synthase in human skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 227: 88-93.
79. Reid MB. Role of nitric oxide in skeletal muscle: synthesis, distribution and functional importance. *Acta Physiol Scand* 1998; 162: 401-409.
80. Miralles C, Busquets X, Santos C, Togores B, Hussain S, Rahman I. Regulation of iNOS expression and glutathione levels in rat liver by oxygen tension. *FEBS Lett* 2000; 476: 253-257.
81. Ji LL, Stratman FW, Lardy HA. Enzymatic down regulation with exercise in rat skeletal muscle. *Arch Biochem Biophys* 1988; 263: 137-149.
82. Whittom F, Jobin J, Simard P, Leblanc P, Simard C, Bernard S. Histochemical and morphological characteristics of the vastus lateralis muscle in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30: 1467-1474.
83. Gilbert HF. Biological disulfides: the third messenger? Modulation of phosphofructose kinase activity by the thiol/disulfide exchange. *J Biol Chem* 1982; 257: 12086-12091.
84. Solary M, Dubrez L, Eymyn B. The role of apoptosis in the pathogenesis and treatment of diseases. *Eur Respir J* 1996; 9: 1293-1305.
85. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med* 1999; 27: 1230-1251.
86. Adams V, Jiang H, Yu J, Mobius-Winkler S, Fiehn E, Linke A et al. Apoptosis in skeletal myocytes of patients with chronic heart failure is associated with exercise intolerance. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 959-965.
87. Agustí AGN, Sauleda J, Batlle S, Miralles C, Gómez C, Togores B et al. Skeletal muscle apoptosis in COPD. *Eur Respir J* 2000; 16: 575.
88. Ebashi S, Endo M. Calcium ion and muscle contraction. *Prog Biophys Mol Biol* 1968; 18: 123-183.
89. Fiaccadori E, Coffrini E, Fracchia C, Rampulla C, Montagna T, Borghetti A. Hypophosphatemia and phosphorus depletion in respiratory and peripheral muscles of patients with respiratory failure due to COPD. *Chest* 1994; 105: 1392-1398.
90. Molloy DW, Dhingra S, Solven F, Willson A, McCarthy DS. Hypomagnesemia and respiratory muscle power. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129: 497-498.
91. Brown RS. Potassium homeostasis and clinical implications. *Am J Med* 1984; 77: 3-9.
92. Cucina A, Sapienza P, Corvino V, Borrelli V, Mariani V, Randonne B et al. Nicotine-induced smooth muscle cell proliferation is mediated through bFGF and TGF- β 1. *Surgery* 2000; 127: 316-322.
93. Rincon J, Galuska D, Ryder JW, Kawano Y, Wallberg-Henriksson H, Gorrod JW et al. Effect of the nicotine metabolite 5'-hydroxycotinine on glucose transport and glycogen synthase activity in rat skeletal muscle. *Pfugers Arch* 1999; 439: 130-133.
94. Broal P. Main features of structure and function. En: Broal P, editor. *The central nervous system. Estructure and function*. Nueva York: Oxford University Press, 1992; 5-50.
95. Celermajer DS, Adams MR, Clarkson P, Robinson J, McCredie R, Donald A et al. Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. *N Engl J Med* 1996; 334: 150-154.
96. Amoroso P, Wilson SR, Moxham J, Ponte J. Acute effects of inhaled salbutamol on the metabolic rate of normal subjects. *Thorax* 1993; 48: 882-885.
97. Decramer M, Lacquet LM, Fagard R, Rogiers P. Corticosteroids contribute to muscle weakness in chronic airflow obstruction. *AJRCCM* 1994; 150: 11-16.
98. Nava S, Gayán-Ramírez G, Rollier H, Bisschop A, Dom R, De Bock V et al. Effects of acute steroid administration on ventilatory and peripheral muscles in rats. *AJRCCM* 1996; 153: 1888-1896.
99. Dekhuijzen PN, Gayán-Ramírez G, Bisschop A, de Bock V, Dom R, Decramer M. Corticosteroid treatment and nutritional deprivation cause a different pattern of atrophy in rat diaphragm. *J Appl Physiol* 1995; 78: 629-637.
100. Evans AB, Al-Himyari AJ, Hrovat MI, Pappagianopoulos P, Wain JC, Ginns LC et al. Abnormal skeletal muscle oxidative capacity after lung transplantation by P-MRS. *AJRCCM* 1997; 155: 615-621.
101. Hokanson JF, Mercier JR, Brooks GA. Cyclosporin A decreases rat skeletal muscle respiration *in vitro*. *AJRCCM* 1995; 151: 1849-1851.
102. Baier LJ, Permana PA, Yang X, Pratley RE, Hanson RL, Shen CQ et al. A calpain-10 gene polymorphism is associated with reduced muscle mRNA levels and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000; 106: R69-R73.
103. Hribal ML, Federici M, Porcizio O, Lauro D, Bordoni P, Accili D et al. The Gly-Arg972 aminoacid polymorphism in insulin receptor substrate affects glucose metabolism in skeletal muscle cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2004-2013.
104. Williams AG, Rayson MP, Jubbs M, World M, Woods DR, Hayward M et al. The ACE gene and muscle performance. *Nature* 2000; 403: 614.
105. Van Suylen RJ, Wouters EF, Pennings HJ et al. The DD genotype of the angiotensin converting enzyme gene is negatively associated with right ventricular hypertrophy in male patients with chronic obstructive pulmonary disease. *AJRCCM* 1999; 159: 1791-1795.
106. Guttridge DC, Mayo MW, Madrid LV et al. NF- κ B-induced loss of MyoD messenger RNA: possible role in muscle decay and cachexia. *Science* 2000; 289: 2363-2366.
107. Muscat GEO, Dressel U. Not a minute to waste. *Nature Med* 2000; 11: 1216-1217.