

Original

El salbutamol mejora la contractilidad diafragmática en la obstrucción crónica de la vía aérea

Martín Angulo, Eliseo Taranto*, Juan Pablo Soto, Leonel Malacrida, Nicolás Nin, F. Javier Hurtado y Héctor Píriz

Departamento de Fisiopatología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 22 de mayo de 2008

Aceptado el 15 de septiembre de 2008

On-line el 16 de abril de 2009

Palabras clave:

Diafragma

Obstrucción traqueal extrínseca

EPOC

Salbutamol

RESUMEN

Introducción: Las enfermedades con obstrucción crónica de la vía aérea, como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asocian alteraciones funcionales de los músculos respiratorios. Los agonistas adrenérgicos β_2 mejoran la fuerza muscular en condiciones fisiológicas y patológicas. Nuestro objetivo ha sido estudiar los efectos del salbutamol sobre la contractilidad diafragmática en un modelo animal de obstrucción crónica de la vía aérea lograda por obstrucción traqueal (OT) extrínseca.

Materiales y métodos: Se aleatorizaron 24 ratas Sprague-Dawley en 4 grupos: a) control; b) OT; c) OT+salbutamol agudo, y d) OT+salbutamol crónico. Se estudiaron los gases sanguíneos, el equilibrio ácido-base y la fuerza diafragmática in vitro, a través de las siguientes medidas: tensión máxima ($T_{m\acute{a}x}$), tiempo de contracción (TC), velocidad de contracción ($dT/dt_{m\acute{a}x}$), tiempo de relajación media ($TR_{1/2}$), velocidad de relajación ($-dT/dt_{m\acute{a}x}$) y curvas fuerza-frecuencia.

Resultados: Los 3 grupos sometidos a OT presentaron una disminución significativa del pH y un incremento de la presión arterial de anhídrido carbónico y del bicarbonato en sangre arterial ($p < 0,05$). El grupo OT experimentó una disminución significativa de $T_{m\acute{a}x}$, de $dT/dt_{m\acute{a}x}$ y de la curva fuerza-frecuencia en comparación con los otros grupos ($p < 0,05$). La $-dT/dt_{m\acute{a}x}$ fue mayor en el grupo OT+salbutamol crónico comparado con el grupo OT ($p < 0,05$). Los valores medios (\pm error estándar) de $T_{m\acute{a}x}$ fueron: control, $6,46 \pm 0,90$ N/cm²; OT, $3,28 \pm 0,55$ N/cm²; OT+salbutamol agudo, $6,18 \pm 0,71$ N/cm²; OT+salbutamol crónico, $7,09 \pm 0,59$ N/cm².

Conclusiones: La disfunción diafragmática asociada a obstrucción crónica de la vía aérea mejora con salbutamol administrado tanto en forma aguda como crónica. Los mecanismos involucrados en la disfunción muscular deben analizarse más profundamente.

© 2008 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Salbutamol Improves Diaphragmatic Contractility in Chronic Airway Obstruction

ABSTRACT

Keywords:

Diaphragm

Tracheal banding

COPD

Salbutamol

Introduction: Chronic airflow obstruction in conditions such as chronic obstructive pulmonary disease is associated with respiratory muscle dysfunction. Our aim was to study the effects of salbutamol—a β -adrenergic agonist known to improve muscle strength in physiologic and pathologic conditions—on diaphragm contractility in an animal model of chronic airway obstruction achieved by tracheal banding.

Materials and Methods: Twenty-four Sprague-Dawley rats were randomized into a control group and 3 tracheal banding groups, 1 that received acute salbutamol treatment, 1 that received chronic salbutamol treatment, and 1 that received nothing. Arterial blood gases, acid-base balance, and in vitro diaphragmatic contractility were evaluated by measuring peak twitch tension, contraction time, contraction velocity, half-relaxation time, relaxation velocity, and force-frequency curves.

Results: The 3 study groups had significantly reduced arterial pH and increased PaCO₂ and bicarbonate levels compared to the control group ($P < .05$). The untreated tracheal banding group had significantly reduced peak twitch tension and contraction velocity, and a significantly lower force-frequency curve in comparison with the other groups ($P < .05$). The chronic treatment group had a higher relaxation velocity than the untreated study group ($P < .05$). The mean (SE) peak twitch tension values were 6.46 (0.90) N/cm² for the control group, 3.28 (0.55) N/cm² for the untreated tracheal banding group, 6.18 (0.71) N/cm² for the acute treatment group, and 7.09 (0.59) N/cm² for the chronic treatment group.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: etaranto@hc.edu.uy (E. Taranto).

Conclusions: Diaphragmatic dysfunction associated with chronic airflow obstruction improves with both the acute and chronic administration of salbutamol. The mechanisms involved in respiratory muscle dysfunction warrant further study.

© 2008 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Los músculos respiratorios son los encargados de generar la fuerza necesaria para una adecuada ventilación, siendo el diafragma el principal músculo inspiratorio. La disfunción diafragmática puede agravar o determinar insuficiencia respiratoria. En la obstrucción crónica de la vía aérea se desarrollan graves alteraciones estructurales y funcionales en el diafragma¹⁻⁵, hecho de gran relevancia en la fisiopatología de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Se ha demostrado que el diafragma de los pacientes con EPOC presenta importantes alteraciones estructurales, bioquímicas y metabólicas, así como una reducción de la fuerza contráctil⁶⁻¹². No obstante, poco se sabe acerca de la posibilidad de prevenir o revertir esta disfunción. Los agonistas adrenérgicos β_2 como el salbutamol poseen la capacidad de aumentar la contractilidad diafragmática tanto en circunstancias fisiológicas como patológicas¹³⁻¹⁶. Esto se ha vinculado fundamentalmente a un efecto inotrópico positivo de estos fármacos, si bien también pueden desempeñar un papel sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, anabólicas y antiproteolíticas. Algunos investigadores han demostrado que el tratamiento con salbutamol inhalado en pacientes con EPOC mejora la función del diafragma. Estos efectos se han atribuido a la mejoría de las condiciones de carga del diafragma y no a un incremento de su contractilidad¹⁷. Así pues, los efectos del salbutamol sobre la contractilidad diafragmática merecen evaluarse con mayor profundidad.

El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar los efectos del salbutamol sobre la contractilidad del diafragma en un modelo animal de obstrucción crónica de la vía aérea, mediante la técnica de la obstrucción traqueal (OT) extrínseca por ligadura. Nuestra hipótesis era que el salbutamol incrementa la fuerza diafragmática en la limitación crónica al flujo aéreo.

Materiales y métodos

Animales y grupos

Se estudiaron 24 ratas Sprague-Dawley macho con un peso medio (\pm error estándar) de 306 ± 30 g, en un modelo experimental de obstrucción de la vía aérea por medio de ligadura traqueal de 7 días de evolución. Los animales se aleatorizaron en 4 grupos: a) grupo control, sin OT ($n = 6$); b) grupo con OT sin tratamiento ($n = 6$); c) grupo OT+salbutamol agudo, en el que se administró tratamiento agudo con salbutamol ($n = 6$) inmediatamente antes de la evaluación de la función muscular, y d) grupo OT+salbutamol crónico, en el que se administró el salbutamol de forma crónica ($n = 6$), desde el comienzo de la obstrucción de la vía aérea y durante 7 días con implantes de minibombas de liberación continua.

Protocolo experimental

El protocolo experimental respetó las recomendaciones de la Comisión Honoraria de Experimentación Animal, de la Universidad de la República. El día 1, se anestesió a todos los animales con pentobarbital sódico (50 mg/kg, vía intraperitoneal) 30 min después de que se les hubiera administrado atropina (0,04 mg, vía

intraperitoneal) con el fin de minimizar las secreciones de la vía aérea y prevenir arritmias cardíacas por la manipulación traqueal. Todos los procedimientos se realizaron en condiciones de esterilidad sobre mesa térmica y con los animales respirando espontáneamente con aporte de oxígeno por mascarilla, con una fracción inspiratoria de oxígeno de 1. Se practicó una incisión cervical anterior mediana (previas asepsia y anestesia local con lidocaína al 2%) y se procedió al abordaje de la tráquea extratorácica. En los 3 grupos sometidos a obstrucción de la vía aérea se colocó una banda de polietileno (4×8 mm) alrededor de la tráquea, entre el tercer y sexto anillos cartilagosos. Se midió la presión esofágica, como medida indirecta de la presión pleural, con un catéter de polietileno lleno de agua colocado en el tercio inferior del esófago y conectado a un transductor de presión (9731 P23BC, Statham, Hato Rey, Puerto Rico). La banda de polietileno se ajustó hasta que la presión esofágica inspiratoria en esfuerzos ventilatorios a volumen corriente fuera un 50% mayor del valor basal. De esta forma se obtuvo un aumento significativo de las resistencias de la vía aérea, tal como puede observarse en diferentes situaciones patológicas, tales como las agudizaciones graves del asma, la EPOC o la apnea obstructiva del sueño. En el grupo control se disecó la tráquea y se midió la presión esofágica, tras lo cual se procedió a cerrar la incisión quirúrgica. A los animales del grupo OT+salbutamol crónico se les implantó, de forma subcutánea en la región interescapular, una minibomba de liberación osmótica (Alzet modelo 2001, San Diego, CA, EE.UU.) para asegurar una infusión continua de salbutamol de 1 mg/kg/día. Esta dosis se ha considerado clínicamente relevante en estudios experimentales¹⁸. Todos los animales se recuperaron de la anestesia sobre la mesa térmica, con aporte de oxígeno, en un plazo de 30 min, tras lo cual permanecieron en jaulas individuales con agua y comida ad libitum durante 7 días. Pasado ese período se anestesió de nuevo a las ratas con la misma técnica y se abordó la región cervical anterior para colocar un catéter en la arteria carótida izquierda. En el grupo OT+salbutamol agudo se administró salbutamol a dosis de 25 μ g/kg por vía intravenosa¹⁵. Pasados 5 min de estabilización se tomaron las muestras de sangre para gasometría arterial y se procedió a la eutanasia mediante exanguinación.

Propiedades contráctiles

Para el estudio de la fuerza muscular diafragmática se extrajeron tiras de tejido del hemidiafragma izquierdo de entre 3 y 5 mm de ancho, y se conservaron las inserciones costal y tendinosa. El diafragma se conservó en solución de Krebs-Ringer bicarbonato —pH = $7,40 \pm 0,02$; contenido (mM): glucosa, 11,5; NaCl, 138; KCl, 5,9; CaCl₂, 1,4; MgSO₄, 0,9; NaH₂PO₄, 1,2; NaHCO₃, 25— a 37 °C y una mezcla del 95% de oxígeno y el 5% de anhídrido carbónico para oxigenar y mantener el pH de la solución. Los fragmentos diafragmáticos se colocaron en un dispositivo diseñado para medir la fuerza muscular (Myobath-2, World Precision Instruments Inc., Sarasota, FL, EE.UU.), bajo perfusión de baño (Krebs-Ringer bicarbonato en iguales condiciones), con control termostático de temperatura a 37 °C y flujo continuo que permite el recambio completo del baño cada 15 min. En el grupo OT+salbutamol agudo se agregó salbutamol al baño a una concentración de 20 μ g/l. Este valor se corresponde con las concentraciones plasmáticas alcanzadas en humanos después

de una dosis oral de 4 mg de salbutamol¹⁵. Las tiras musculares se colocaron verticalmente, con el extremo tendinoso hacia arriba ajustado a un transductor de tensión (Fort 100, World Precision Instruments Inc., Sarasota, FL, EE.UU.) y montado en un soporte móvil para el registro de la tensión muscular. Las señales se adquirieron con un amplificador (TBM4M, World Precision Instruments Inc., Sarasota, FL, EE.UU.) y un sistema computarizado para adquisición y procesamiento de señales (Anadat 5.2, RHT-InfoDat Inc., Montreal, Quebec, Canadá). Las fibras musculares se estimularon de forma indirecta a través de 2 electrodos de platino situados a ambos lados de las mismas (Somatosensory Stimulator S10DSCMA, Grass Instrument Co., Quincy, MA, EE.UU.).

Una vez colocadas las tiras en el sistema de registro, se determinaron el voltaje máximo de estimulación y la relación fuerza-longitud óptima (L_0). La fuerza muscular se estudió para todos los estímulos con L_0 y voltaje supramáximo. Después de un período de 15 min de estabilización, se aplicaron estímulos eléctricos aislados para estudiar la contracción simple. Las características de ésta se evaluaron midiendo el pico de tensión máxima de la contracción ($T_{m\acute{a}x}$), el tiempo de contracción (TC, tiempo al pico de tensión) y el tiempo de relajación media ($TR_{1/2}$), definido como aquel en que la $T_{m\acute{a}x}$ alcanzada cae a la mitad de su valor. También se analizaron la relación $dT/dt_{m\acute{a}x}$ (máxima pendiente de ascenso del $T_{m\acute{a}x}$) y $-dT/dt_{m\acute{a}x}$ (máxima pendiente de descenso del $T_{m\acute{a}x}$) como parámetros de velocidad de contracción y relajación, respectivamente. Con posterioridad se aplicó una serie de estimulaciones tetánicas a frecuencias de 10, 20, 50 y 100 Hz, con trenes de estímulo de 1 s de duración y con un intervalo de 5 s entre cada uno de ellos para construir la curva fuerza-frecuencia.

Finalizado el protocolo de estimulación, se midieron la longitud y el peso de la tira diafragmática para L_0 . El área de sección transversal del músculo se estimó con la siguiente fórmula: área de sección transversal = masa músculo (g)/ L_0 (cm) \times 1,056 (g/cm³). El valor 1,056 corresponde a la densidad del músculo expresada en g/cm³. El área de sección transversal se utilizó entonces para calcular la tensión —es decir, la relación fuerza/área— de cada segmento muscular, expresada en N/cm².

Análisis estadístico

Todas las variables analizadas mostraron una distribución normal. Se realizó el test de homogeneidad de Levene, que mostró varianzas sin diferencias entre los grupos. Las curvas fuerza-frecuencia se compararon por análisis de la varianza para medidas repetidas, mientras que el análisis de la contracción simple y de los parámetros gasométricos se realizó por ANOVA de una vía. Posteriormente se llevó a cabo un análisis post hoc (Student-Newman-Keuls) para determinar la diferencia entre los distintos grupos. Los datos se expresaron como media \pm error estándar. Los resultados se consideraron significativos cuando el valor de $p < 0,05$. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 11.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, EE.UU.).

Resultados

Parámetros gasométricos

Los 3 grupos de animales sometidos a OT presentaron una disminución del pH y un aumento de la presión arterial de anhídrido carbónico, de la concentración arterial de bicarbonato y del exceso de bases en sangre arterial, en comparación con los animales sin obstrucción extrínseca de la vía aérea ($p < 0,05$). El valor de exceso de bases en el grupo OT+salbutamol crónico fue

mayor que en los otros grupos ($p < 0,05$). No hubo diferencias estadísticamente significativas en los valores de presión arterial de oxígeno entre los 4 grupos. En la tabla 1 se detallan los valores gasométricos obtenidos en los diferentes grupos.

Función diafragmática

Como se observa en la tabla 2, los animales sometidos a OT extrínseca sin tratamiento adicional (grupo OT) presentaron una reducción significativa del $T_{m\acute{a}x}$ y de $dT/dt_{m\acute{a}x}$ respecto al grupo control ($p < 0,05$). La administración de salbutamol tanto aguda

Tabla 1
Análisis de gases sanguíneos y del equilibrio ácido-base

	Control	OT	OT+SLB agudo	OT+SLB crónico
pH	7,35 \pm 0,02 ^a	7,12 \pm 0,06	7,09 \pm 0,06	7,15 \pm 0,04
PaO ₂ (torr)	231 \pm 36	350 \pm 30	316 \pm 34	273 \pm 70
PaCO ₂ (torr)	51,4 \pm 3,3 ^a	127,5 \pm 20,1	140,8 \pm 18,7	134,4 \pm 18,1
HCO ₃ ⁻ (mEq/l)	27,2 \pm 0,6 ^a	37,2 \pm 1,3	38,0 \pm 1,5	38,1 \pm 1,9
EB (mEq/l)	2,1 \pm 0,5 ^a	7,8 \pm 1,8	9,4 \pm 1,4	14,1 \pm 1,9 ^b

EB: exceso de bases; HCO₃⁻: concentración arterial de bicarbonato; OT: obstrucción traqueal; PaCO₂: presión parcial arterial de anhídrido carbónico; PaO₂: presión parcial arterial de oxígeno; SLB: salbutamol.

Datos expresados en media \pm error estándar.

^a $p < 0,05$ comparado con los otros grupos.

^b $p < 0,05$ comparado con grupos OT y OT+SLB agudo.

Tabla 2
Análisis de los parámetros de la contracción simple

	Control	OT	OT+SLB agudo	OT+SLB crónico
$T_{m\acute{a}x}$ (N/cm ²)	6,46 \pm 0,90	3,28 \pm 0,55 ^a	6,18 \pm 0,71	7,09 \pm 0,59
TC (ms)	30,0 \pm 2,1	27,0 \pm 1,5	27,0 \pm 1,7	30,7 \pm 1,7
$TR_{1/2}$ (ms)	30,0 \pm 3,0	27,8 \pm 3,6	27,5 \pm 1,8	28,2 \pm 1,6
$dT/dt_{m\acute{a}x}$ (N · s/cm ²)	818,3 \pm 98,4	368,4 \pm 40,7 ^a	807,5 \pm 102,3	1007,3 \pm 155,8
$-dT/dt_{m\acute{a}x}$ (N · s/cm ²)	408,3 \pm 72,0	206,7 \pm 18,7	411,3 \pm 62,9	481,0 \pm 83,4 ^b

$dT/dt_{m\acute{a}x}$: velocidad de contracción; $-dT/dt_{m\acute{a}x}$: velocidad de relajación; OT: obstrucción traqueal; SLB: salbutamol; TC: tiempo de contracción; $T_{m\acute{a}x}$: tensión máxima de la contracción; $TR_{1/2}$: tiempo de relajación media.

Datos expresados en media \pm error estándar.

^a $p < 0,05$ comparado con los otros grupos.

^b $p < 0,05$ comparado con grupo OT.

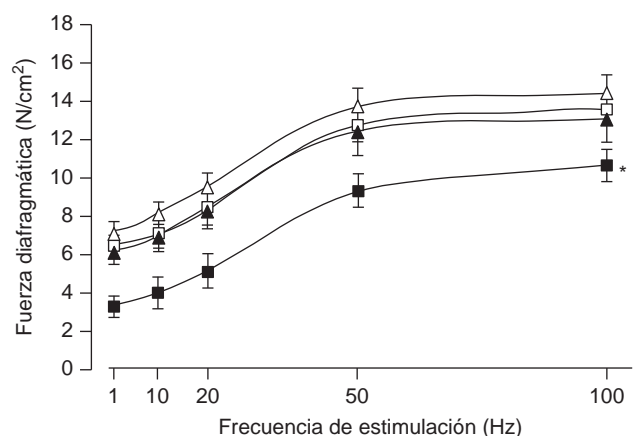


Figura 1. Comparación de la relación fuerza-frecuencia entre los grupos. □ grupo control; ■ grupo de obstrucción traqueal (OT); ▲ grupo de OT+salbutamol agudo; △ grupo OT+salbutamol crónico. Datos expresados en media \pm error estándar. * $p < 0,05$ comparado con los otros grupos.

como crónica determinó una mejoría significativa de dichos parámetros cuando se comparó con el grupo OT ($p < 0,05$). La $-dT/dt_{\text{máx}}$ del grupo OT+salbutamol crónico fue significativamente mayor que la del grupo OT ($p < 0,05$). En el análisis de las curvas fuerza-frecuencia (fig. 1) se objetivó un descenso de la fuerza diafragmática en el grupo OT con respecto al grupo control ($p < 0,05$). Los grupos OT+salbutamol agudo y OT+salbutamol crónico presentaron una mejora significativa de la fuerza diafragmática comparados con el grupo OT ($p < 0,05$), y mostraron valores comparables a los del grupo control.

Discusión

El modelo de compresión traqueal extrínseca durante 7 días determina una obstrucción crónica de la vía aérea que reproduce las alteraciones diafragmáticas histológicas, bioquímicas y contráctiles observadas en la EPOC^{3-5,19}. La alteración de la contracción muscular se objetivó básicamente por los valores de $T_{\text{máx}}$, $dT/dt_{\text{máx}}$ y el deterioro de la curva fuerza-frecuencia del grupo OT^{2,4}. Sin embargo, hemos demostrado que estas alteraciones pueden prevenirse o revertirse farmacológicamente. Los agentes adrenérgicos β_2 se utilizan a menudo en las enfermedades con limitación al flujo aéreo para mejorar las condiciones de carga de los músculos respiratorios, principalmente por sus efectos broncodilatadores. En nuestro modelo experimental, donde la obstrucción de la vía aérea es crónica e irreversible, la administración de salbutamol se asoció con una mejoría significativa de las propiedades contráctiles del diafragma in vitro. Este resultado se produjo en los 2 grupos tratados con salbutamol, tanto tras la administración aguda como en los animales que lo recibieron de forma crónica y continua a lo largo de toda la duración del modelo. Sin embargo, todos los animales con OT presentaron hipercapnia con acidosis respiratoria crónica, cuya evolución fue independiente de que hubieran recibido el fármaco, lo que demuestra la intensidad y persistencia de la carga resistiva. Esta alteración del intercambio gaseoso se debe probablemente a más de un mecanismo, y debe de estar vinculada sobre todo al acusado aumento de la carga resistiva, con el consecuente incremento del trabajo respiratorio y desarrollo de fatiga muscular. Respecto a la oxigenación arterial, otros autores han demostrado que el modelo de OT extrínseca cursa con hipoxemia durante la ventilación espontánea al aire^{3,5,19}. Si bien la utilización de una fracción inspiratoria de oxígeno de 1 podría favorecer la producción de atelectasias secundarias a desnitrógenación, esto no se tradujo en cambios significativos de la presión arterial de oxígeno en los distintos grupos de estudio.

En cuanto a los posibles mecanismos involucrados en la disfunción muscular, es necesario mencionar que la propia hipercapnia puede contribuir al deterioro contráctil^{12,20}. Este hecho se ha mencionado como uno de los determinantes de la disfunción muscular en la EPOC²¹. Estudios in vitro en condiciones de hipoxia e hipercapnia han demostrado que las alteraciones de la contractilidad pueden revertirse con salmeterol²². En nuestro estudio, la hipercapnia pudo haber contribuido a un mayor deterioro de la fuerza muscular en el grupo OT. Sin embargo, de forma similar a lo observado en el trabajo mencionado, se logró una mejoría contráctil con la administración de salbutamol.

Por otra parte, se ha comunicado un aumento del infiltrado inflamatorio y de producción de citocinas proinflamatorias en el diafragma frente a sobrecargas mecánicas^{3,23}. Se ha observado, por ejemplo, que el factor de necrosis tumoral alfa disminuye la contractilidad diafragmática in vitro²⁴. En modelos como el nuestro, también se ha observado una asociación entre la disminución de la fuerza diafragmática y la oxidación proteica mediada por especies reactivas de oxígeno⁴. En este sentido,

Barreiro et al comunicaron que en pacientes con EPOC se observa un incremento de la oxidación proteica en el diafragma que se relaciona con la gravedad de la obstrucción de la vía aérea⁹. Estudios realizados en diafragmas de afectados de EPOC han comprobado una disminución de la contractilidad in vitro, menor contenido de cadenas pesadas de miosina por fibra muscular y aumento de la actividad del complejo ubicuitina-proteasoma, comparados con sujetos control^{10,11}.

Si bien se ha demostrado previamente que diversos fármacos adrenérgicos β_2 incrementan la fuerza diafragmática in vitro tanto en situación basal como en diversas situaciones patológicas^{13-16,22}, en nuestro conocimiento éste es el primer trabajo que demuestra que el salbutamol mejora la contractilidad diafragmática en un modelo de obstrucción crónica de la vía aérea. Se ha referido que el efecto inotrópico del salbutamol se asocia a aumento de las concentraciones de adenosinmonofosfato cíclico y salida de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico, mejorando el acoplamiento excitación-contracción^{14,15}. Podemos conjeturar que nuestros resultados se explican básicamente por este mecanismo, posible tanto en el modelo agudo como en el crónico. Con la administración crónica de salbutamol podrían desarrollarse otros mecanismos de protección muscular. En este sentido, se ha demostrado que el salbutamol disminuye la producción de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa^{25,26} y tiene efectos antioxidantes in vitro, con capacidad de actuar como atrapador de radicales libres y disminuir la producción de especies reactivas de oxígeno²⁷⁻²⁹. Por otra parte, se ha identificado un efecto anabólico del salbutamol¹⁸. Los fármacos agonistas β_2 han mostrado cierta capacidad de disminuir la actividad del complejo ubicuitina-proteasoma, inhibiendo el catabolismo proteico que se asocia a la sobrecarga mecánica³⁰⁻³². A partir de estos conocimientos también conjeturamos que, si bien la administración crónica de salbutamol pudo haber contribuido a mejorar la función muscular por estímulo anabólico y por disminución de la actividad proteolítica, estos mecanismos tendrían poca posibilidad de desarrollo en el modelo agudo.

En conclusión, nuestro trabajo demuestra que el salbutamol mejora la pérdida de la contractilidad diafragmática determinada por la sobrecarga resistiva crónica sobre los músculos respiratorios. Los mecanismos responsables tanto de la disfunción diafragmática como de la recuperación asociada al uso de salbutamol son múltiples y deberán estudiarse con mayor profundidad.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. José Boggia su permanente dedicación y apoyo, sin los cuales no hubiera sido posible realizar este trabajo.

Financiación

Investigación parcialmente financiada por la Comisión Sectorial de Investigación Científica, Universidad de la República, y por GlaxoSmithKline a través de la Ley de Fundaciones, Universidad de la República.

Bibliografía

- Keens T, Chen V, Patel V, O'Brien P, Levison H, Ianuzzo C. Cellular adaptations of the ventilatory muscles to a chronic increased respiratory load. *J Appl Physiol.* 1978;44:905-8.
- Prezant D, Aldrich T, Richner B, Gentry E, Valentine D, Nagashima H, et al. Effects of long-term continuous respiratory resistive loading on rat diaphragm function and structure. *J Appl Physiol.* 1993;74:1212-9.

3. Reid W, Huang J, Bryson S, Walker D, Belcastro A. Diaphragm injury and myofibrillar structure induced by resistive loading. *J Appl Physiol*. 1994;76:176-84.
4. Supinski G, Nethery D, Stofan D, Hirschfield W, DiMarco A. Diaphragmatic lipid peroxidation in chronically loaded rats. *J Appl Physiol*. 1999;86:651-8.
5. Reid W, Belcastro A. Time course of diaphragm injury calpain activity during resistive loading. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:1801-6.
6. Levine S, Kaiser L, Leferovich J, Tikunov B. Cellular adaptations in the diaphragm in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 1997;337:1799-806.
7. Macgowan N, Evans K, Road J, Reid D. Diaphragm injury in individuals with airflow obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:1654-9.
8. Wijnhover J, Janssen AJ, Van Kuppevelt T, Rodenburg R, Dekhuijzen P. Metabolic capacity of the diaphragm in patients with COPD. *Respir Med*. 2006;100:1064-71.
9. Barreiro E, De la Puente B, Minguella J, Corominas J, Serrano S, Hussain S, et al. Oxidative stress and respiratory muscle dysfunction in severe chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:1116-24.
10. Ottenheijm C, Heunks L, Li Y, Jin B, Minnaard R, Van Hees H, Dekhuijzen P. Activation of the ubiquitin-proteasome pathway in the diaphragm in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174:997-1002.
11. Ottenheijm C, Heunks L, Sieck G, Zhan W, Jansen S, Degens H, et al. Diaphragm dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172:200-5.
12. Gea J, Barreiro E. Actualización en los mecanismos de disfunción muscular en la EPOC. *Arch Bronconeumol*. 2008;44:328-37.
13. Van der Heijden H, Van Balkom R, Folgering H, Van Herwaarden C, Dekhuijzen P. Effects of salbutamol on rat diaphragm contractility. *J Appl Physiol*. 1996;81:1103-10.
14. Van der Heijden H, Dekhuijzen P, Folgering H, Van Herwaarden C. Inotropic effects of salbutamol on rat diaphragm contractility are potentiated by foreshortening. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;155:1072-9.
15. Van der Heijden H, Zhan W, Prakash Y, Dekhuijzen P, Sieck G. Salbutamol enhances isotonic contractile properties of rat diaphragm muscle. *J Appl Physiol*. 1998;85:525-9.
16. Píriz H, Nin N, Boggia J, Angulo M, Hurtado FJ. El salbutamol mejora la fuerza diafragmática en la sepsis experimental. *Arch Bronconeumol*. 2008;44:135-9.
17. Hatipoglu U, Laghi F, Tobin M. Does inhaled albuterol improve diaphragmatic contractility in patients with chronic obstructive pulmonary disease? *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:1916-21.
18. Carter W, Lynch M. Comparison of the effects of salbutamol and clenbuterol on skeletal muscle mass and carcass composition in senescent rats. *Metabolism*. 1994;43:1119-25.
19. Reid W, Noonan J, Chung F, Tesler-Mabe C. Ventilatory failure induced by tracheal banding in the hamster. *J Appl Physiol*. 1992;73:1671-5.
20. Barranco MJ, Cortijo J, Ciscar MA, Ramón M, Juan G. Efecto del CO₂ sobre el diafragma de rata *in vitro*. *Arch Bronconeumol*. 1994;30:445-8.
21. Statement of the American Thoracic Society and European Respiratory Society. Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159:S1-S40.
22. Xu X, Zhou J, Yang Q, Fang L, Xie Q, Shen Y. An in vitro rat diaphragmatic fatigue model induced by combined hypoxic and hypercapnic acidosis and de effect of salmeterol. *Pharmacol Res*. 2006;53:171-6.
23. Vassilakopoulos T, Divangahi M, Rallis G, Kishta O, Petrof B, Comtois A, et al. Differential cytokine gene expression in the diaphragm in response to strenuous resistive breathing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:154-61.
24. Reid M, Lannergren J, Westerblad H. Respiratory and limb muscle weakness induced by tumor necrosis factor- α : involvement of muscle myofilaments. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166:479-84.
25. Takahashi H, Morichika T, Iwagaki H, Yoshino T, Tamura R, Saito S, et al. Effect of beta 2-adrenergic receptor stimulation on interleukin-18-induced intercellular adhesion molecule-1 expression and cytokine production. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;304:634-42.
26. Kuroki K, Takahashi H, Iwagaki H, Murakami T, Kuinose M, Hamanaka S, et al. β_2 -adrenergic receptor stimulation-induced immunosuppressive effects possibly through down-regulation of co-stimulatory molecules, ICAM-1, CD40 and CD14 on monocytes. *J Int Med Res*. 2004;32:465-83.
27. Gillissen A, Jaworska M, Scharling B, Van Zwoll D, Schultze-Werninghaus G. β_2 -agonists have antioxidant function in vitro. 1. Inhibition of superoxide anion, hydrogen peroxide, hypochlorous acid and hydroxyl radical. *Respiration*. 1997;64:16-22.
28. Zwicker K, Damerou W, Dikalov S, Scholtyssek H, Schimke I, Zimmer G. Superoxide radical scavenging by phenolic bronchodilators under aprotic and aqueous conditions. *Biochem Pharmacol*. 1998;56:301-5.
29. Nazir Mirza Z, Kato M, Kimura H, Tachibana A, Fujii T, Suzuki M, et al. Fenoterol inhibits superoxide anion generation by human polymorphonuclear leukocytes via Beta-2-adrenoceptor-dependent and -independent mechanisms. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2002;88:494-500.
30. Choo J, Horan M, Little A, Rothwell N. Anabolic effects of clenbuterol on skeletal muscle are mediated by beta 2 adrenoceptor activation. *Am J Physiol*. 1992;263:E50-6.
31. Yimlamai T, Dodd S, Borst S, Park S. Clenbuterol induces muscle-specific attenuation of atrophy through effects on the ubiquitin-proteasome pathway. *J Appl Physiol*. 2005;99:71-80.
32. Busquets S, Figueras M, Fuster G, Almendro V, Moore-Carrasco R, Ametller E, et al. Anticachectic effects of formoterol: a drug for potential treatment of muscle wasting. *Cancer Res*. 2004;64:6725-31.