

Estudio enzimático de venas arterializadas por fístula arteriovenosa

Enzymatic study of veins with arterial pressure because of arteriovenous fistula

V. García Róspide - R. Sánchez Navarro - J. Martínez Gámez - C. López Espada -
L. M. Salmerón Febres - J. P. Linares Palomino - J. Moreno Escobar - J. J. Jiménez Ruano -
R. Peñafiel Marfil - E. Ros Díe

Servicio de Angiología y Cirugía Vascular
(Jefe de Servicio: Prof. E. Ros Díe)
Hospital Clínico Universitario
Granada (España)

– El estudio enzimático de venas arterializadas puede servir para evaluar venas protésicas y predecir su permeabilidad.

Palabras clave: LDH; CK; AST; venas arterializadas.

RESUMEN

Objetivos: Estudiar los cambios enzimáticos que se producen en las venas con presión arterial (venas arterializadas por fístula arteriovenosa –FAV–) a lo largo de 8 años.

Métodos: Se estudia la actividad enzimática en U/l gr. de proteína ($x \pm SD$) de las enzimas musculares Lactodeshidrogenasa (LDH), Creatin-kinasa (CK) y Aspartato aminotransferasa (AST) en 20 venas arterializadas del antebrazo extraídas de pacientes con I.R.C. a los que se les realizó una FAV para hemodiálisis. Las muestras se extraían cuando ésta se trombosa. La actividad enzimática de las venas arterializadas se comparó con venas normales de diferentes regiones del organismo, así como con arterias normales y arterioscleróticas.

Resultados: En las venas arterializadas se produce una disminución de LDH y CK respecto a las venas normales, a diferencia de la AST que aumenta en los primeros meses. A partir de 4 años ésta también disminuye. La LDH y CK se comportan de forma similar en venas arterializadas y en arterias normales. La AST en cambio tiene una actividad aumentada en aquellas.

Conclusiones:

- La AST venosa es la única de las enzimas estudiadas por nosotros que aumenta en venas arterializadas, pudiendo ser un marcador de alteraciones estructurales iniciales de la pared venosa.
- La actividad enzimática en venas arterializadas desciende de forma significativa a partir de 4 años.

SUMMARY

Objectives: To study changes in enzyme activities in veins with arterial pressure (arterialized veins caused by arteriovenous fistula – AVF) during an 8-year period.

Methods: Activities were measured in U/g protein ($x \pm SD$) for muscle enzymes Lactodehidrogenase (LDH), Creatin-kinase (CK) and Aspartate aminotransferase (AST) in 20 veins with arterial pressure in the forearm of patients with chronic renal insufficiency in whom AVF was created for hemodialysis. Samples were taken when a thrombus formed in the fistula. Enzyme activities in veins with arterial pressure were compared with activities in normal veins in different parts of the body, normal arteries and arteriosclerotic arteries.

Results: In veins with arterial pressure, LDH and CK were lower than in normal veins, whereas AST was higher during the first months of study. After 4 years AST was also reduced. Activities of LDH and CK showed a similar behavior in veins with arterial pressure and normal arteries. In contrast, AST activity was increased in veins with arterial pressure.

Conclusions: Venous AST was the only enzyme with increased activity in arterIALIZED veins, and may be useful as a marker of initial structural alterations in the vein wall. Enzyme activities in veins with arterial pressure was significantly decreased after 4 years. Measurements of enzyme activities in veins with arterial pressure may in the future be an aid to evaluating autologous venous prostheses.

Key words: LDH; CK; AST; arterIALIZED veins.

Introducción

La actividad enzimática venosa de las enzimas musculares Lactodeshidrogenasa (LDH) y Creatin-Kinasa (CK) es similar en diferentes regiones del organismo (1) (Fig. 1).

Por otra parte, las enzimas musculares LDH y CK en venas de miembros inferiores, también normales desde el punto de vista histológico, se encuentran significativamente elevadas con respecto a la actividad de estas enzimas a nivel arterial lo que expresa el importante desarrollo de las fibras musculares de aquéllas (2). (Fig. 2).

Como objetivo nos propusimos estudiar los cambios enzimáticos que se producen en las venas con presión arterial (venas arterializadas por fístula arteriovenosa (F.A.V.)) a lo largo de 8 años con el fin de poder evaluar el comportamiento de venas protésicas.



Fig. 1



Fig. 2

Material y métodos

Estudiamos la actividad enzimática en U/gr. de proteína ($x \pm SD$) de LDH (método espectrofotométrico de Bergmeyer) (3), CK (método de Szass) (4) y AST (método de Bergmeyer) (5) de 20 venas arterializadas del antebrazo, extraídas de pacientes con una edad comprendida entre 42 y 68 años ($x=46,3 \pm 12,8$), afectados de I.R.C. y a los que se les realizó una F.A.V. para hemodiálisis. Las muestras se extraían y estudiaban cuando ésta se trombosa.

Dicha actividad se compara en primer lugar con venas normales desde el punto de vista histológico de diferentes regiones del organismo:

- 8 venas de antebrazo extraídas de pacientes intervenidos de F.A.V. previa a la realización de la misma.
- 20 del abdomen extraídas de pacientes intervenidos de hernia inguinal.
- Y 51 de extremidades inferiores de paciente intervenidos de cirugía arterial directa.

En segundo lugar se compara con la actividad enzimática de:

- 50 arterias pudendas normales extraídas de pacientes intervenidos de varices.
- Y 51 arterias arterioscleróticas de extremidades inferiores extraídas de pacientes intervenidos de cirugía arterial directa.

Para el estudio histológico se emplearon las tinciones de Hematoxilina-eosina, Orceína y Tricrómico de Masson.

Método de determinación de proteínas (6-7):

Test Quan T rojo basado en la interacción de proteínas con el complejo Pyrogallol rojo/Molybdeno. El Pyrogallol rojo se combina con el Molybdeno formando un complejo de color rojo con una absorbancia máxima de 470 nm. En las condiciones del test y en presencia de proteínas cambia a un color púrpura y la absorbancia máxima de la tinción cambia de 470 a 604 nm.

La concentración de la proteína total en la muestra se puede medir al leer la absorbancia de la muestra a 600 nm. La respuesta del color es lineal y permite una determinación de proteínas segura.

Método estadístico:

t de Student para comparación de muestras independientes.

Resultados

1.º Venas normales del antebrazo vs venas normales del abdomen vs venas normales de extremidades inferiores (Fig. 3).

	V. antebrazo	V. abdomen	V. MM. II.
LDH	2543±1841	2257±667	2795±2807 (U/gr. prot.)
CK	4877±2878	4306±1058	4606±5302 (U/gr. prot.)
AST	182±193 (n:8)	190±77 (n:20)	239±200 (U/gr. prot.) (n:51)

Los resultados son similares, excepto la AST venosa de extremidades inferiores que aumenta ligeramente de forma no significativa ($p=0,23$).

2.º Venas normales del antebrazo vs venas arterializadas (Fig. 4).

	V. arterializadas	V. normales antebrazo
LDH	1145±1089 (U/gr. prot.)	2543±1841 $p<0,001$
CK	1334±1064 (U/gr. prot.)	4877±2878 $p<0,001$
AST	609±878 (U/gr. prot.) (n:20)	182±193 $p<0,01$ (n:8)

Se observa una disminución estadísticamente significativa de enzimas musculares LDH y CK en venas arterializadas respecto a venas normales ($p<0,001$).

En este caso la AST también aumenta en venas arterializadas ($p<0,01$).

3.º Venas arterializadas de <6 meses vs venas arterializadas de > de 4 años (Fig. 5).



Fig. 3

	V. arterializadas <6 m.	V. arterializadas >4 a.
LDH	1747±1194 (U/gr. prot.)	543±578 (U/gr. prot.)
CK	2081±1335 (U/gr. prot.)	587±658 (U/gr. prot.)
AST	951±1021 (U/gr. prot.) (n:8)	267±163 (U/gr. prot.) (n:8)

Significativa disminución de actividad de las tres enzimas estudiadas en venas arterializadas de más de 4 años ($p<0,001$). Se puede observar que la AST, que aumenta mucho en los primeros meses, disminuye también con los años en estas venas.

4.º Arterias normales de extremidades inferiores vs venas arterializadas (Fig. 6).

	V. arterializadas	Arterias normales MM. II.
LDH	1145±1089 (U/gr. prot.)	1063±697 (U/gr. prot.)
CK	1334±1064 (U/gr. prot.)	1352±874 (U/gr. prot.)
AST	609±878 (U/gr. prot.) (n:20)	254±398 (U/gr. prot.) (n:50)



Fig. 4



Fig. 5

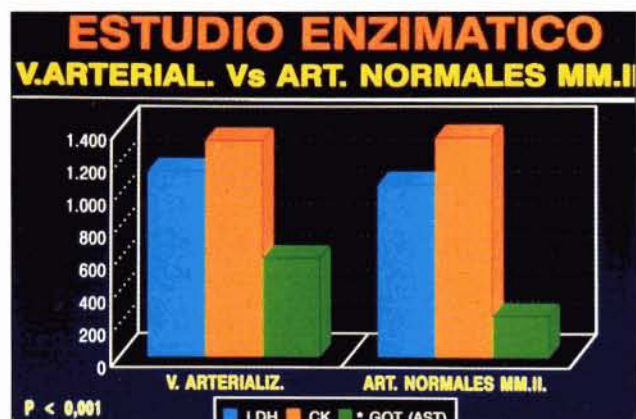


Fig. 6

Las venas arterializadas se igualan enzimáticamente con arterias normales, excepto la AST que curiosamente aumenta ($p < 0,001$).

5.º Arterias calcificadas vs venas arterializadas de más de 4 años (Fig. 7).

	V. arterializadas >4 años	Arterias calcificadas
LDH	543±578 (U/gr. prot.)	817±450 (U/gr. prot.)
CK	587±658 (U/gr. prot.)	763±1548 (U/gr. prot.)
AST	267±163 (U/gr. prot.)	174±146 (U/gr. prot.)
	(n:8)	(n:17)

Se produce una disminución mayor de actividad LDH y CK en venas arterializadas de más de 4 años que en las arterias calcificadas, que están ya de por sí muy disminuidas respecto a arterias normales (9). La AST aumenta en venas arterializadas en los primeros meses (951±1021 U/gr. de prot. [Fig. 5]), pero después de 6 meses también disminuye hasta llegar a 267±163 U/gr. prot. a partir de 4 años ($p < 0,001$).

Discusión

En trabajos anteriores (2) demostramos que la actividad enzimática de la pared venosa, LDH y CK, se encuentra significativamente elevada respecto a la actividad de dichas enzimas a nivel de la pared arterial.

Hemos estudiado en este trabajo cómo se comportan, desde el punto de vista enzimático, las venas que soportan presión arterial después de realizar una FAV para hemodiálisis. De todos es conocido que en la evolución de la arteriosclerosis y en la hipertensión arterial se producen cambios en las células musculares lisas



Fig. 7

(hipertrofia y migración de las mismas a la íntima). Por este motivo decidimos estudiar las enzimas musculares de la pared de estas venas. Comprobamos en primer lugar que las venas del antebrazo se comportan enzimáticamente igual que las del resto del organismo (Fig. 3). Sin embargo la actividad AST en las venas de las extremidades inferiores está aumentada aunque no de forma significativa. Esto se demostró también en trabajos anteriores en humanos (1) como a nivel experimental (8) donde se observó que las venas de animales con importante arteriosclerosis, provocada por alimentación hipercolesteromante, presentaban graves alteraciones histológicas y la actividad AST era elevada. Creemos que el motivo de esta elevación en humanos se debe a que las venas de las extremidades inferiores, aunque el estudio histológico era normal, debían tener alteraciones microestructurales ya que se extrajeron de pacientes con grave arteriosclerosis. Por lo tanto, pensamos que, aunque una vena sea normal desde el punto de vista histológico, no debería emplearse como prótesis arterial si la actividad enzimática AST es superior a 250 U/gr. prot. (Figs. 3 y 4), ya que eso significa que existen alteraciones estructurales que podrían hacer peligrar la permeabilidad.

Al comparar la actividad enzimática de las venas normales del antebrazo con las venas arterializadas (Fig. 4) se observa una disminución estadísticamente significativa de las enzimas musculares LDH y CK en estas últimas ($p < 0,000,1$) lo que se corresponde con una disminución progresiva de la capa muscular en el estudio histológico, lo contrario de lo que sucede en la arteriosclerosis e HTA que cursan con un aumento de las fibras musculares lisas y un aumento proporcional de la actividad enzimática en la pared arterial (9). Sin em-

bargo, la AST aumenta ($p<0,001$), lo que demuestra una vez más que esta enzima se eleva ante alteraciones estructurales en la pared venosa, por lo que podría considerarse como un marcador precoz de las mismas ya que su elevación se produce en fases iniciales como hemos visto anteriormente.

En la literatura no existe ningún estudio específico sobre alteraciones enzimáticas en venas arterializadas, pero sí los hay que han estudiado alteraciones enzimáticas que sirvan como marcadores de lesión venosa. *Vanbourdolle M.* y col. (10) demostraron un aumento de CK y AST séricas después de 60 minutos de oclusión del pedículo hepático de la rata sugiriendo que podrían servir como marcadores de lesión de los sinusoides hepáticos, y *Chazouilleres O.* y col. (11) demostraron lo mismo después de un trasplante hepático. De todas formas estos trabajos no son comparables al nuestro, porque no se estudia la actividad enzimática en los sinusoides y la lesión de los mismos se debe a una isquemia

aguda. *Valen G.* y col. (12) también demostraron un aumento de la isoenzima CK-MB durante un by-pass coronario, elevándose aún más en el seno coronario después del clampaje sugiriendo que se debía a lesión endotelial. Tampoco este trabajo es comparable al nuestro porque no se estudia la actividad enzimática en pared vascular y la lesión de la misma se debe a un síndrome de isquemia-reperfusión.

La comparación entre la actividad enzimática de venas con presión arterial de menos de 6 meses y venas arterializadas de más de 4 años (Fig. 5) muestra una significativa disminución en las últimas ($p<0,001$). Incluso la AST, que aumenta en los primeros meses, también disminuye a partir de 4 años debido a la pérdida de fibras musculares y a una colagenización total de la pared venosa según el estudio histológico. Este nunca mostró leucocitos adheridos al endotelio, como demostró *Aliev* y col. (13) en las lesiones endoteliales de extremidades de conejos después de 6 horas de isquemia, y *Beuk R. J.* (14) en las venas del mesenterio de rata después de 1/2 hora de isquemia. Este autor considera la aparición de leucocitos expresión de un proceso inflamatorio, algo que no sucede nunca en las venas arterializadas.

En la Fig. 6 se observa que las venas arterializadas se comportan desde el punto de vista enzimático como arterias normales, aunque en este caso de nuevo aumenta la actividad AST, que nos recuerda que una vena arterializada nunca será una arteria normal.

Las arterias calcificadas son tubos rígidos e inertes que tienen una actividad enzimática LDH y CK muy disminuida respecto a las arterias normales debido a la pérdida de fibras musculares ($p<0,001$) (9). En la Fig. 7 se observa una disminución de la actividad enzimática LDH y CK en venas arterializadas de más de 4 años, todavía más acentuada que en arterias calcificadas, creemos que como expresión del proceso de colagenización que aquéllas han sufrido.

Como conclusiones podemos decir que:

- La actividad enzimática venosa (LDH, CK y AST) es similar en diferentes regiones del organismo.
- La actividad enzimática LDH y CK desciende en venas arterializadas respecto a la de venas normales.
- La AST venosa es la única de las enzimas estudiadas por nosotros que aumenta en las venas arterializadas, pudiendo ser un marcador de alteraciones estructurales iniciales de la pared venosa.



Fig. 8

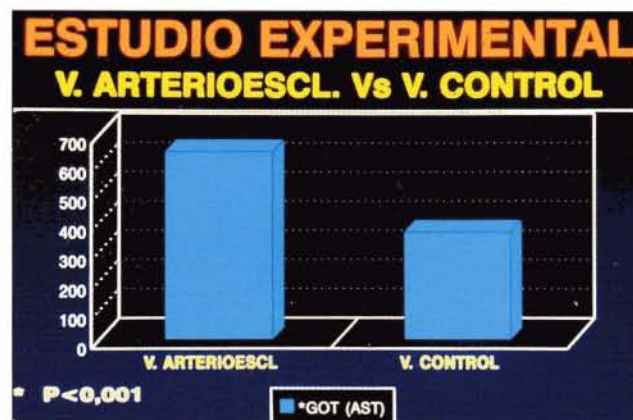


Fig. 9

- Las venas arterializadas presentan una actividad enzimática similar a la de las arterias normales.
- A partir de 3-4 años las venas arterializadas sufren una colagenización, descendiendo en esta fase la actividad enzimática de forma significativa.
- Creemos haber conseguido un buen método para valorar el comportamiento de las venas sometidas a presión arterial y que nos podrá servir para evaluar las venas protésicas, ya que no deberían implantarse si la enzima AST de su pared es superior a 250 U/gr. prot.

BIBLIOGRAFIA

1. GARCÍA RÓSPIDE, V.; PEÑAFIEL MARFIL, F.; MORENO PADILLA; GONZÁLEZ RÍOS, J.; RAMOS BRUNO, J. J.; ROS DÍE, E.: Enzymatic and isoenzymatic study of varicose veins. *Phlebology*, 1991; 6:187-198.
2. GARCÍA RÓSPIDE, V.: Valoración enzimática e isoenzimática, arterial y venosa, de pacientes con patología vascular periférica. Tesis Doctoral editada por el Servicio de Publicaciones de la Universidad de Granada. ISBN: 84-338-1136-3. Dep. Leg. 844/1990.
3. BERGMAYER, H. U.: Methods of enzymatic analysis. Academic Press. New York. 1974; 2:574-589.
4. SZASZ, G.; GRUBER, W.; BERUT, E.: *Clin. Chem.*, 1976; 22:650.
5. BERGMAYER, H. U.: *Clin. Chem.*, 1978; 24:58.
6. FUJITA, Y.; MORI, I.; KITANO, S.: Bunseki Kagaku, 1983; 32:379.
7. LIEVENS, M. M.; CELIS, P. J.: Drug interference in turbidimetry and colorimetry of proteins in urine. *Clin. Chem.*, 1982; 28:2328.
8. SALMERÓN FEBRES, L. M.: Estudio enzimático e isoenzimático de la pared vascular en un modelo de arteriosclerosis experimental. Tesis Doctoral presentada en la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada. 1994.
9. GARCÍA RÓSPIDE, V.; JIMÉNEZ ALONSO, J.; SALMERÓN FEBRES, L.; PEÑAFIEL MARFIL, R.; GONZÁLEZ RÍOS, J.; ROS DÍE, E.: Actividad enzimática e isoenzimática en la pared arterial de pacientes con arteriosclerosis. *Angiología*, 1995; 2:101-106.
10. VAUBOURDOLLE, M.; CHAZOUILERES, O.; POUPON, R.; BALLE, F.; BRAUNWALD, J.; LEGENDRE, G.: Creatine kinase-BB: a marker of liver sinusoidal damage in ischemia-reperfusion. *Hepatology*, 1993; 17(3):423-428.
11. CHAZOUILERES, O.; VAUBOURDOLLE, M.; ROBERT, A.; FOUREL, V.: Serum levels of endothelial injury markers creatine kinase-BB and soluble thrombomodulin during human liver transplantation. *Liver*, 1996; 16(4):237-240.
12. VALEN, G.; OWALL, A.; ERIKSSON, E.; KALLNER, A.; RISBERG, B.; VAAGE, J.: Release of creatine kinase, troponin-T, and tissue plasminogen activator in arterial and coronary venous blood during coronary artery by-pass surgery. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1997; 57(1):85-93.
13. ALIEV, G.; CIRILLO, R.; SALVATICO, E.; PARO, M.; PROSDOCIMI, J.: Changes in vessel ultrastructure during ischemia and reperfusion of rabbit hindlimb: implications for therapeutic intervention. *Microvasc. Res.*, 1993; 46(1):65-76.
14. BEUK, R. J.; OUDE EGBRINK, M. G.; KURVERS, H. A.; BONKE, H. J.; TANGELDER, G. J.; HEINEMAN, E.: Ischemia-reperfusion injury in rat mesenteric venules: red blood cell velocity and leukocyte rolling. *J. Pediatr. Surg.*, 1996; 31(4):512-515.