

Cartas al Director

Milei y colaboradores formulan críticas al trabajo en el que describimos vénulas poscapilares de endotelio alto (VEA) en la cardiomiopatía crónica chagásica (CCCh) y en el que postulamos que su función en la inmunopatogenia de las lesiones sería la de facilitar un intenso pasaje de linfocitos que infiltran el corazón (1).

Según Milei y colaboradores nuestro hallazgo —por lo que conocemos, la primera comunicación de VEA en cardiopatías— “es cuestionable por deficiencias e insuficiencias metodológicas que invalidan las conclusiones” (*sic*). Afirman, en base a una comunicación personal que les hiciera Ferrans en 1993, que “el endotelio alto cúbico puede ser un artificio en corazones fijados inadecuadamente” porque “no fueron fijados con una presión cercana a la fisiológica”.

Si nos atuviéramos a tal requisito no habiéramos podido comunicar nuestros hallazgos de VEA en corazones con CCCh, ni tampoco quienes nos precedieron en la descripción de dichos vasos en los ganglios y tejidos linfáticos normales o en algunas otras condiciones patológicas en que también han sido hallados. (2-8)

Lo mismo vale para la crítica que nos hacen por describir las VEA en la CCCh utilizando “sólo microscopía óptica, sin valerse de la microscopía electrónica ni de la inmunohistoquímica” (*sic*). Bailey y Weiss, quienes hicieron un detallado estudio sobre las VEA en ganglios linfáticos fetales humanos con microscopía óptica y electrónica, expresan textualmente: “*Electron microscopic observations alone cannot demonstrate that any particular vessel is a PCV*” (PCV = VEA). (9)

Sobre la fijación deseamos comentar que si bien nos preocupó la posibilidad de artificios de fijación, tenemos controles de corazones sanos, fijados en las mismas condiciones, que no poseen VEA. Además, parte de nuestro estudio se realizó en tejidos cardíacos obtenidos *in vivo* mediante excisión quirúrgica de aneurisma ventricular, material que fue fijado en el momento, y del que fue obtenida la fotomicrografía número 2 que ilustra nuestro trabajo. Su original enviado a la Revista es muy demostrativo, y quisiéramos la estudiaran porque tiene detalles como algún linfocito que parece estar atravesando la pared del vaso. Por morfometría el diámetro medio de las vénulas fue de 30 μm . (1)

Creemos interesante ampliar el estudio de las VEA intracardíacas con microscopía electrónica e inmunohistoquímica (de hecho, tenemos proyectos presentados), pero al utilizar algunas técnicas recientes hay que ser cuidadosos en su interpretación. Los mismos autores que nos critican descubrieron con microscopía electrónica el engrosamiento de las membranas basales en la CCCh y emitieron hipótesis sobre su causa y efectos, basados en sus interpretaciones de técnicas inmunohistoquímicas, pero más tarde se retractaron de algunas de sus afirmaciones. (10-12)

No entendemos qué quieren decir Milei y colaboradores cuando expresan: “En fin, repiten con igual metodología lo que fuera descripto magistralmente por otros hace ya varias décadas...”. En realidad, nuestro hallazgo de VEA en CCCh acontece en un área de trabajo que abordamos desde hace muchos años. Creemos estar entre los primeros que exploraron experimentalmente la hipótesis que existen mecanismos autoinmunes en la patogenia de los daños tisulares del Chagas y obtuvimos algunas de las primeras evidencias sobre la participación humoral y celular en los mismos. (13, 14) Un análisis detallado de esa temática de Cabral en 1969 se basa en parte en los trabajos pioneros y magistrales de G. Vianna, de C. Magarinos Torres y de M. E. Jörg. (15) De esa misma década son las valiosas publicaciones de Z. Andrade, de E. Reis Lopes y E. Chapadeiro y las primeras nuestras.

Milei y colaboradores afirman que algunas de las preguntas que planteamos ya han sido contestadas y pasan a referir trabajos de Molina y Kierszbaum sobre eosinófilos (16, 17) y las suyas sobre cuantificación del infiltrado en la CCCh. Creemos que dichos informes contienen datos de mucho interés, pero de ninguna manera despejan los temas que nos preocupan. Los eosinófilos que describen los primeros podrían estar relacionados con nuestros hallazgos de incremento en el número de mastocitos en corazones con CCCh grados III y IV (3 a 10 veces más que lo normal), ya que una de las secreciones mastocitarias es un factor que atrae eosinófilos. (18, 19)

En cuanto a los linfocitos T PASPLS-productores que describimos en sangre y tejidos de chagásicos, con CCCh, considerando los datos expe-

rimentales, postulamos la hipótesis de que sean T-linfoquinas con actividad de atraer y activar macrófagos y linfocitos citotóxicos. (20-22) Dicha hipótesis coincidiría en parte con el hallazgo de Milei y colaboradores de gran número de macrófagos en los infiltrados en CCCh. En un trabajo experimental estudiamos el efecto del suero de chagásicos obtenido de sangre rica en linfocitos T productores de PASPLS, inyectándolo en ratones, logrando una hipertrofia precoz del bazo con aumento del número de monocito-macrófagos y linfocitos. (24) Iosa y colaboradores estudiaron el efecto de los gangliosidos sobre los linfocitos T productores de PASPLS en cardiopatas chagásicos con neuropatía autonómica y observaron disminución de esa actividad coincidente con mejoría. (23)

Nos preguntamos si cuando Milei y colaboradores hacen referencia a un trabajo suyo en prensa (ver referencia número 4 de su carta) quieren decir que ellos también estarían reconociendo endotelio alto en la CCCh. Como lo expresamos en nuestro trabajo, es posible que las VEA aparezcan no sólo en los corazones con CCCh sino también en otras afecciones de fisiopatología similar.

Dr. Humberto R. A. Cabral
Dra. Ivón Novak
Dra. Gabriela B. Robert

BIBLIOGRAFIA

1. Cabral HRA, Novak I, Robert GB. Comprobación de vénulas de endotelio alto en corazones de pacientes chagásicos con cardiomiopatía crónica grave. *Rev Arg Cardiol* 1993; 61: 463-465.
2. Thomé R. Endotelien als Phagocyten. *Arch Mikrosk Anat Entwicklunsmech* 1898; 52: 820-842.
3. Schulze W. Untersuchungen über die capillären und postcapillären Venen Lymphatischer Organe. *Z Ges Anat* 1925; 76: 421-462.
4. Maximov AA, Bloom WA. *Textbook of Histology* (1ª ed). Philadelphia, WB Saunders Co, 1931: 381-382.
5. Smith C, Henon BK. Histological and histochemical study of high endothelium of postcapillary veins of the lymph node. *Anat Rec* 1959; 135: 207-213.
6. Gowans JL, Knight EJ. The route of recirculation of lymphocytes in the rat. *Proc Roy Soc Brit* 1964; 159: 257-282.
7. Soderstrom N, Azzelson JA, Hagelvist E. Postcapillary venules of the lymph node type in the tymus in myasthenia. *Lab Invest* 1970; 23: 451-458.
8. Jalkanen S, Steere AC, Fox RI, Butcher EC. A distinct endothelial cell recognition system that controls lymphocyte traffic into inflamed synovium. *Science* 1986; 233: 556-558.
9. Bailey RP, Woise L. Light and electron microscopic studies of postcapillary venules in developing human fetal lymph nodes. *Am J Anat* 1975; 143: 43-58.
10. Storino R, Beigelman R, Milei J, Ferrans V. Enfermedad de Chagas: evidencia de engrosamiento de las membranas basales (¿antilaminina?) en miocitos y capilares miocárdicos con microscopía electrónica. *Rev Arg Cardiol* 1990; 58: 135-144.
11. Storino R, Milei J, Beigelman R, Ferrans V. Enfermedad de Chagas: doce años de seguimiento en área urbana. *Rev Arg Cardiol* 1992; 60: 205-216.
12. Milei J, Storino R. La biopsia endomiocárdica en la miocardiopatía chagásica. *En: Madoery RJ, Madoery C, Cámara MI (eds). Actualizaciones en la Enfermedad de Chagas.* Buenos Aires, 1993: 201-213.
13. Cabral HRA, Segura-Seco EL, Paolasso EW, Castoldi F, Veloso M, Cichero J. Enfermedad de Chagas aguda y autoinmunidad (hipótesis sobre la patogenia de la injuria tisular e intento de verificación experimental). *Rev Fac Cienc Méd Córdoba* 1967; 25: 419-431.
14. Cabral HRA. PAS-positive substance in lymphocytes of patients with Chagas' disease. *Lancet* 1971; 1: 1356-1357.
15. Cabral HRA. Los mecanismos patogénicos del daño tisular en la enfermedad de Chagas. *Rev Fac Cienc Méd Córdoba* 1969; 27: 287-309.
16. Molina HA, Kierszbaum F. A study of human myocardial tissue in Chagas' disease. Distribution and frequency of inflammatory cell types. *Int J Parasitol* 1987; 17: 1297-1305.
17. Molina HA, Kierszbaum F. Immunohistochemical detection of deposits of eosinophyl-derived neurotoxin and eosinophyl peroxidase in the myocardium of patients with Chagas' disease. *Immunology* 1988; 64: 725-731.
18. Cabral HRA. Mastocitos en contacto con fibras musculares cardíacas en miocardio de pacientes con cardiopatía de Chagas severa. *Pren Méd Argent* 1988; 75: 490-492.
19. Cabral HRA, Novak ITC, Robert GB. Mastocitos en miocardio de pacientes con cardiomiopatía crónica chagásica. *Rev Arg Cardiol* 1990; edición especial Nº 2, 58: R 172.
20. Cabral HRA, Braxs J. Producción de una glicoproteína por linfocitos T en la cardiopatía chagásica. *Medicina (Buenos Aires)* 1982; 42: 415-421.
21. Cabral HRA, Robert GB, Novak ITC. Presencia numerosa de linfocitos productores de glicoproteína en torno a miocitos cardíacos en cardiomiopatía de Chagas. *Rev Arg Cardiol* 1990; edic especial Nº 2, Res Nº 48.
22. Cabral HRA. Los Linfocitos en la Enfermedad de Chagas (1ª ed). Córdoba, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, 1984: 160-161.
23. Iosa D, Casadei Masari D, Dorsey F. Chagas' cardioneuropathy: effect of ganglioside treatment in chronic dysautonomic patients. A randomized, double blind, parallel, placebo controlled study. *Am Heart J* 1991; 122: 775-785.
24. Cabral HRA. Comunicación al VI Congreso de la Sociedad Argentina de Ciencias Morfológicas. Río Cuarto, Córdoba, 1994: 199.

La respuesta de Cabral y colaboradores a nuestras críticas a su trabajo demuestra que dichos autores no las han entendido. (1)

Decíamos: "Los autores utilizan sólo microscopía óptica, sin valerse de la microscopía electrónica ni de la inmunohistoquímica; tampoco realizaron estudios morfométricos para estudiar las vénulas capilares del endotelio alto (VEA) en la cardiopatía chagásica". Responden citando textualmente a Bailey y Weiss: "*Electron microscopic observations alone cannot demonstrate that any particular vessel is a PVC (VEA)*". (2)

Lo que les estamos diciendo Bailey y Weiss y nosotros es que, en la década de la cadena de la polimerasa, de la sonda de ADN y de las sofisticadas mediciones morfométricas no se puede seriamente utilizar métodos únicos y poco precisos. (3) Además la morfometría (técnica no utilizada por Cabral y colaboradores) es indispensable en patología ("cuando la descripción es reemplazada por la medida, el cálculo supera al debate"). (4) En cambio Cabral y colaboradores dicen que en su fotografía (poco convincente para nosotros), "algún linfocito parece estar atravesando pared". Esta descripción, meritoria por estar hecha sólo con microscopía de luz, no deja de ser audaz, por lo poco documentada.

Tanto es así que nosotros, a pesar de utilizar, en métodos inmunohistoquímicos el *Ulex Europaeus* y el CD31 y de haber observado una tinción uniforme y constante de los endotelios (sugestivos de VEA) y linfocitos en sus paredes sugiriendo su pasaje, no lo hemos publicado por no tener confirmada la observación. (5)

Con respecto a la crítica, fuera de contexto, que hacen a nuestra "hipótesis" sobre la importancia del anticuerpo antilaminina, no se trata de que nos hayamos retractado en posteriores trabajos. (6-8) Nadie se retracta de una hipótesis. En todo caso la descarta, pues "hipótesis" es simplemente "suposición de una cosa posible".

Consideramos desafortunada la mención de Cabral de la utilidad de los gangliosidos en cardiopatías chagásicas con neuropatía autonómica, habida cuenta de que las "neuronas perdidas" no pueden regenerarse y los probados trastornos secundarios que ocasionan estos glicosfingolípidos. (9) En efecto, se han descrito varios casos de neuropatía motora multifocal y síndrome de Guillain-Barré, con autoanticuerpos contra gangliosidos. (10-12)

Además, el método de obtención de los gangliosidos a partir de cerebros de bovinos, muchos de ellos probables portadores del prión, una proteína similar virus causante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, una forma de encefalopatía esponjosa de estos animales, sugiere la probabilidad de su transmisión al humano. (13)

En Italia, Francia e Inglaterra se ha suspendido preventivamente la producción y venta de gangliosidos teniendo en cuenta los múltiples casos con efectos perjudiciales. (14, 15)

Con respecto a la sustancia PASPLS que se

observó en los citoplasmas de los linfocitos T, dijimos que era admisible pensar que fueran mediadores segregados por los linfocitos. (1)

Ciertamente desde 1971 Cabral y colaboradores han desarrollado esa línea de investigación; es hora de que los métodos sofisticados contribuyan a aclarar el papel del infiltrado en la fisiopatología de la cardiopatía chagásica crónica. Y ya que Cabral y colaboradores gustan de citar idiomas extranjeros, les recordamos que "*una rondine non fa primavera...*".

Dr. Rubén Storino

Dr. José Milei

BIBLIOGRAFIA

1. Cabral RA, Novak I, Robert GB. Comprobación de vénulas de endotelio alto en corazones de pacientes chagásicos con cardiomiopatía crónica grave. *Rev Arg Cardiol* 1993; 61: 463-465.
2. Bailey RP, Weiss L. Light and electron microscopic studies of postcapillary venules in developing human fetal lymph nodes. *Am J Anat* 1975; 143: 43-58.
3. Milei J, Storino R, Vanzulli S. Carta al Director. *Rev Arg Cardiol* 1994; 62 (3): 303-304.
4. Stevens SS. En: Stevens SS (ed). *Handbook of Experimental Psychology*. New York, Wiley, 1951. Citado en *Medicina (Bs As)* 1991; 51: 314.
5. Storino R, Milei J. *Enfermedad de Chagas*. Barcelona-Buenos Aires, Edit Doyma, 1994.
6. Ferrans VJ, Milei J, Tomita Y, Storino RA. Basement membrane, thickening in cardiac myocytes and capillaries in chronic Chagas disease. *Am J Cardiol* 1988; 61: 1137.
7. Sánchez J, Milei J, Yu Z, Storino R, Wenthold R, Ferrans VJ. Immunohistochemical localization of laminin in the hearts of patients with chronic chagasic cardiomyopathy. Relationship to thickening of basement membranes. *Am Heart J* 1993; 126: 1932.
8. Milei J, Sánchez J, Storino R, Yu ZX, Denduchis B, Ferrans VJ. Antibodies to laminin and immunohistochemical localization of laminin in chronic chagasic cardiomyopathy: a review. *Mol Cell Biochem* 1993; 129: 161-170.
9. Rossi L, Storino R, Milei J, Maturri L. Depleción neuronal en la enfermedad de Chagas; todo debería reverse. *Rev Arg Cardiol* 1994; 62: 239-246.
10. García AG, Berciano J, Horca JF, López Pousá S, Martínez Lae JM, Matías Guiu J. Gangliosides adverse effects. Polyradiculoneuritis chemically-induced. *Brit Med J* 1993; 308: 656.
11. Yuki N, Sato S, Miyatake T, Sugiyama K, Katagiri T, Sasaki H. Motoneuron-disease-like disorder after ganglioside therapy. *Lancet* 1991; 337: 1109.
12. Raschetti R, Maggini M, Popoli P. Guillain-Barré syndrome and ganglioside therapy in Italy. *Lancet* 1992; 340: 60.
13. Beltramini A. Caccia al prione. Un misterioso agente infettante provoca malattie rare e spesso mortali tra gli animali. E nell'uomo. *Rev Panorama (Italia)* 1992; 178.
14. Editorial: Gangliosides suspended in Italy. *Rev SCRIP* 1993; 1804; 25.
15. Editorial: Vaches folles. Spécialités supprimées ou modifiées et préparations magistrales à base de tissus bovins interdites. *Rev Prescri* 1992; 121: 412.