

Cuantificación de Vasos Linfáticos en la Cardiomiopatía Dilatada y Chagásica Crónica

Luiz Alberto Benvenuti, Ana Maria Gonçalves da Silva, Vera Demarchi Aiello

Instituto do Coração do Hospital das Clínicas (InCor) - FMUSP, Instituto de Medicina Tropical (LIM 06) - FMUSP, São Paulo, SP - Brasil

Introducción

El reciente desarrollo de anticuerpos específicos para el endotelio linfático ha permitido su detección por técnica inmunohistoquímica¹. Pese a este avance metodológico, no se viene tratando con la debida atención el estudio morfológico de los vasos linfáticos del miocardio y muy poco se sabe sobre esto en las diferentes cardiopatías.

La insuficiencia cardíaca congestiva conlleva edema intersticial en diferentes órganos y tejidos, incluido el miocardio, con el drenaje de este exceso de fluido por el sistema linfático. El edema del miocardio está implicado en el desarrollo de fibrosis intersticial y perjudica el desempeño cardíaco².

El objetivo de este estudio es comparar los vasos linfáticos del miocardio de pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva secundaria en la cardiomiopatía dilatada idiopática o la cardiomiopatía chagásica crónica, con los vasos linfáticos del miocardio normal.

Métodos

Se evaluaron previamente algunas características morfológicas de biopsias endomiocárdicas de pacientes portadores de insuficiencia cardíaca congestiva clase funcional III ó IV, secundaria a la cardiomiopatía dilatada idiopática (CDI) o cardiomiopatía chagásica crónica (CCC), ésta última caracterizada por pruebas serológicas positivas para la enfermedad de Chagas y por la presencia de miocarditis linfocitocitaria crónica^{3,4}. En este estudio se reevaluaron las biopsias de 31 pacientes con CDI (promedio de edad: 40,65 ± 12,14 años; 22 del sexo masculino) y 24 pacientes con CCC (promedio de edad: 43,71 ± 9,29 años; 21 del sexo masculino), en que fue posible obtener nuevos cortes histológicos que presentaran como mínimo 1,25 mm² de área analizable (cinco campos microscópicos de 400^x). Como grupo-control, recolectamos pequeñas

Palabras clave

Cardiomiopatía chagásica, cardiomiopatía dilatada, vasos linfáticos.

muestras del endomiocardio del ventrículo derecho normal de 11 individuos muertos por causas no cardiovasculares y sometidos a necropsia (promedio de edad: 50,82 ± 15,39; 3 del sexo masculino). Estas muestras se procesaron rutinariamente y las incluyeron en parafina. Cortes seriados a 4 mm se colorearon con hematoxilina-eosina, tricómico de Mason o sometieron a la técnica inmunohistoquímica para detección de vasos linfáticos.

Inmunohistoquímica

Cortes histológicos se incubaron con anticuerpo monoclonal D2-40 (Dako Corporation, CA) diluido 1:100, overnight, a 4° C. Las reacciones se desarrollaron con el polímero marcado con peroxidasa EnVision (Dako Corporation, CA) por 30 minutos a temperatura ambiente y las visualizaron con 3,3' diaminobenzidina. Cortes histológicos de piel normal se utilizaron como controles positivos y negativos, omitiéndose el anticuerpo primario en los últimos.

Histopatología y morfometría

Se evaluaron el diámetro promedio de los miocitos, el área fraccional de colágeno, el área fraccional de los vasos linfáticos y el diámetro del vaso linfático de mayor calibre de cada muestra. Miocarditis se caracterizó por la presencia de infiltrado inflamatorio mononuclear asociado a degeneración y/o necrosis de los miocitos, de acuerdo al criterio de Dallas⁵. El diámetro de los miocitos y el área fraccional de colágeno se evaluaron de conformidad a lo previamente descrito^{3,4}. El área total ocupada por el corte histológico, el área total ocupada por los vasos linfáticos y el diámetro del vaso linfático de mayor calibre se midieron con ayuda de sistema computarizado de análisis de imágenes. El área fraccional de los linfáticos se calculó por medio de la razón entre el área total ocupada por los vasos linfáticos y el área total ocupada por el corte histológico, multiplicada por 100.

Análisis estadístico

Los datos morfométricos de los tres grupos se compararon utilizando la prueba de análisis de varianza de puestos de Kruskal-Wallis. El valor de p £ 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

Resultados

Los vasos linfáticos estaban presentes entre los miocitos, alrededor de los vasos sanguíneos o, de modo más escaso, en el endocardio. Los vasos linfáticos se hallaban esparcidos,

Correspondencia: Luiz Alberto Benvenuti •

Rua Madalena, 477/31 - Vila Madalena - 05434-090 - São Paulo, SP - Brasil

E-mail: anpluiz@incor.usp.br

Artículo recibido el 15/05/09; revisado recibido el 25/07/09; aceptado el 07/10/09.

en un número mucho menor que los vasos sanguíneos, y su densidad varió grandemente de muestra para muestra y aun en diferentes áreas de la misma muestra. Ocasionalmente había numerosos vasos linfáticos colapsados, ramificados y agrupados, particularmente alrededor de arteriolas (fig. 1). Pacientes de los grupos CDI y CCC presentaron mayor diámetro de los miocitos ($p < 0,001$) y mayor área fraccional de colágeno ($p < 0,001$) que los individuos del grupo control, sin diferencias entre los dos primeros grupos. No hubo diferencia estadística entre los grupos en cuanto el área fraccional de vasos linfáticos ($p = 0,075$), teniendo en cuenta que la mediana del grupo control fue la más elevada de los tres grupos. El diámetro del vaso linfático de mayor calibre fue menor en el grupo CDI comparado al grupo control, sin embargo no al grupo CCC ($p = 0,035$), sin diferencias entre estos dos últimos grupos (fig. 2). La miocarditis linfocítica estuvo presente en 20/24 (83%) pacientes del grupo CCC y en ningún paciente de los grupos CDI o control.

Discusión

No se viene prestando la debida atención a la investigación de los vasos linfáticos en las diversas cardiopatías humanas. Esto se debe en gran parte a la dificultad en distinguir estos vasos de los sanguíneos, lo que hasta hace poco tiempo sólo era posible a partir del examen por la microscopía electrónica. No obstante, el reciente desarrollo de anticuerpos monoclonales capaces de reconocer específicamente el endotelio linfático¹ ha cambiado este panorama, y se relataron^{6,7} algunos estudios

morfológicos sobre las alteraciones de los vasos linfáticos en la enfermedad isquémica del corazón y en el trasplante cardiaco.

El corazón de los mamíferos presenta un plexo linfático subendocárdico, vasos linfáticos en el miocardio (en un número mucho menor que los capilares sanguíneos) y un plexo linfático subepicárdico, éste último con vasos recolectores de mayor calibre que acompañan las ramas epicárdicas de las arterias coronarias^{2,8}.

En nuestras muestras los vasos linfáticos aparecieron focalmente colapsados, ramificados y agrupados, impidiendo su conteo fiable. Así, optamos por evaluar su área fraccional, que, al contrario del número absoluto, sufre influencia del estado de distensión vascular.

Sabemos que hay al menos un relato que abarca los vasos linfáticos del miocardio en cardiomiopatías: al analizar por microscopía electrónica muestras de corazón de pacientes con CDI, los autores relataron dilatación de los linfáticos en áreas de edema intersticial y rarefacción e irregularidad de los mismos en áreas de fibrosis intersticial⁹. El presente estudio es el primer a llevar a cabo el examen inmunohistoquímico morfométrico de los vasos linfáticos del miocardio en cardiomiopatías. A pesar de esperar el aumento de su área fraccional, condicionadas por la insuficiencia cardiaca congestiva de los pacientes y también por el proceso inflamatorio crónico (miocarditis linfocítica) en el grupo CCC, las mediciones morfométricas no confirmaron esta hipótesis. Por lo contrario, a pesar de estadísticamente no significativo, pacientes de los grupos CDI y CCC presentaron

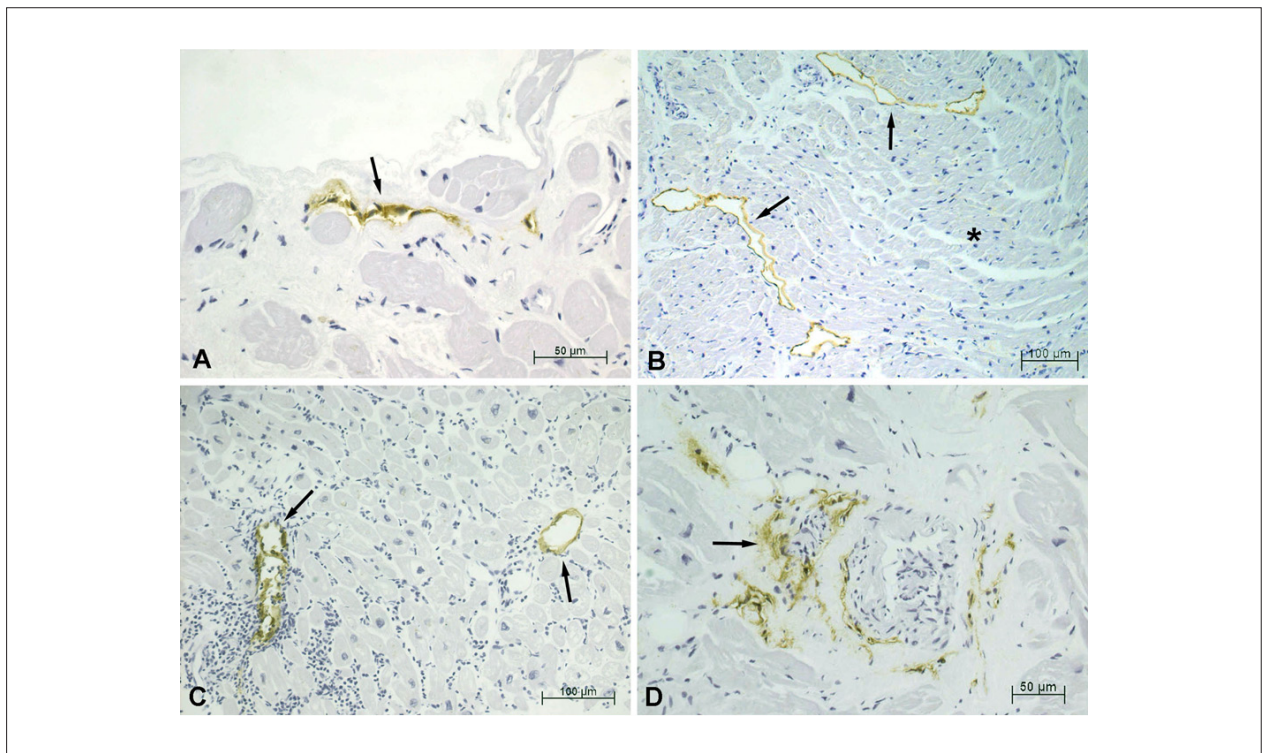


Fig. 1 - Vasos linfáticos del miocardio (flechas) detectados por técnica inmunohistoquímica, ubicados en el endocardio (panel A, grupo CDI), intersticio del miocardio por entre los miocitos (paneles B y C, grupos control y CCC, respectivamente) y alrededor de arteriola (panel D, grupo CDI). Se nota la presencia de áreas destituidas de linfáticos (asterisco, panel B) y el aspecto colapsado, ramificado y agrupado de los vasos en el panel D.

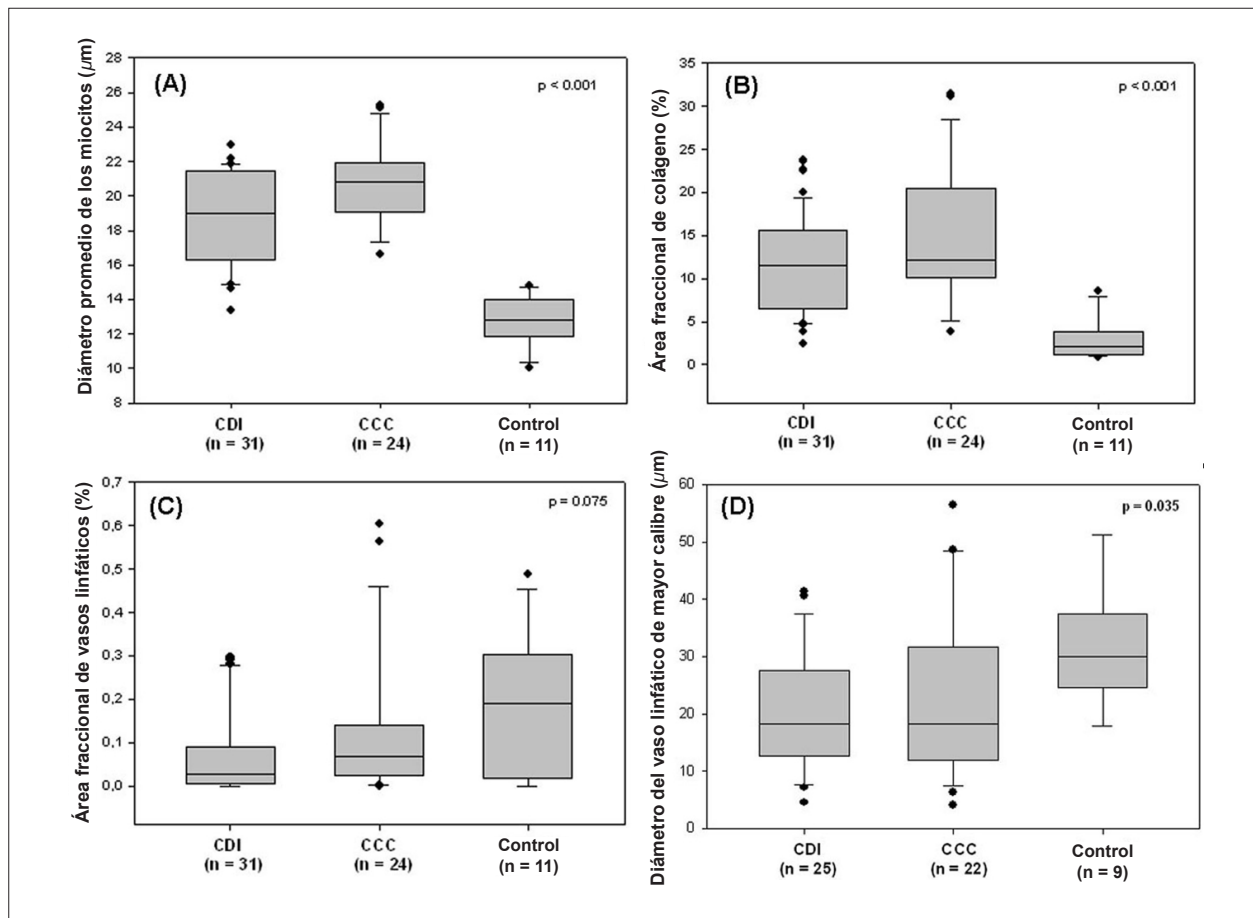


Fig. 2 - Diámetro promedio de los miocitos (A), área fraccional de colágeno (B), área fraccional de vasos linfáticos (C) y diámetro del vaso linfático de mayor calibre (D) de los grupos CDI, CCC y control (box-plots).

menor área fraccional de linfáticos que el grupo control. Además de esto, pacientes del grupo CDI presentaron menor diámetro del vaso linfático de mayor calibre comparado a los individuos del grupo control. Es posible que tales resultados inesperados puedan estar relacionados a la mayor área fraccional de colágeno (fibrosis) de los grupos CDI y CCC, lo que conllevaría la rarefacción y atrofia de los vasos linfáticos, según se ha relatado anteriormente⁹.

Los resultados de este estudio son preliminares, ya que la relativa escasez y la gran variabilidad regional de los vasos linfáticos del miocardio hacen difícil la interpretación conclusiva de datos obtenidos por la evaluación de muestras pequeñas, como la biopsia endomiocárdica. Nuestros resultados deben ser confirmados por estudios posteriores, con la utilización de muestras amplias de corazones de pacientes sometidos a trasplante cardíaco o necropsia.

Agradecimientos

Al Prof. Dr. Thales de Brito, que gentilmente nos cedió el anticuerpo D2-40.

Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de Financiación

El presente estudio no tuvo fuentes de financiación externas.

Vinculación Académica

No hay vinculación de este estudio a programas de postgrado.

Referencias

1. Ordóñez NG. Podoplanin: a novel diagnostic immunohistochemical marker. *Adv Anat Pathol.* 2006; 13: 83-8.
2. Mehlhorn U, Geissler HJ, Laine GA, Allen SJ. Myocardial fluid balance. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2001; 20: 1220-30.

3. Benvenuti LA, Freitas HFG, Mansur AJ, Higuchi ML. Myocyte diameter and fractional area of collagen are not associated with survival time of outpatients with idiopathic dilated cardiomyopathy: a study based on right ventricular endomyocardial biopsies. *Int J Cardiol.* 2007; 116: 279-80.
4. Benvenuti LA, Roggério A, Freitas HFG, Mansur AJ, Fiorelli A, Higuchi ML. Chronic American trypanosomiasis: parasite persistence in endomyocardial biopsies is associated with high-grade myocarditis. *Ann Trop Med Parasitol.* 2008; 102: 481-7.
5. Aretz HT. Myocarditis: the Dallas criteria. *Human Pathol.* 1987; 18: 619-24.
6. Ishikawa Y, Akishima-Fukasawa Y, Ito K, Akasaka Y, Tanaka M, Shimokawa R, et al. Lymphangiogenesis in myocardial remodelling after infarction. *Histopathology.* 2007; 51: 345-53.
7. Geissler HJ, Dashkevich A, Fischer UM, Fries JW, Kuhn-Régnier F, Addicks K, et al. First year changes of myocardial lymphatic endothelial markers in heart transplant recipients. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2006; 29: 767-71.
8. Shimada T, Morita T, Oya M, Kitamura H. Morphological studies of the cardiac lymphatic system. *Arch Histol Cytol.* 1990; 53 (Suppl): 115-26.
9. Marchetti C, Poggi P, Calligaro A, Arbustini E. Lymphatic system in human dilated cardiomyopathy. *J Submicrosc Cytol Pathol.* 1988; 20: 701-8.