

Lesiones ateroscleróticas tempranas en el síndrome de muerte súbita infantil

JOSÉ MILEI^{MTSAC}, DANIEL R. GRANA, RICARDO PÉREZ, CARLOS NAVARI, FRANCISCO AZZATO

Recibido: 27/09/2007

Aceptado: 15/01/2008

Dirección para separatas:

Dr. José Milei
Instituto de Investigaciones
Cardiológicas
Marcelo T. de Alvear 2270
(C1122AAJ) Buenos Aires,
Argentina
e-mail: ininca@fmed.uba.ar

RESUMEN

Objetivo

El presente estudio se llevó a cabo con el propósito de caracterizar morfológicamente lesiones ateroscleróticas precoces en arterias coronarias de víctimas del "síndrome de muerte súbita infantil" (SMSI) para conocer los mecanismos aterogénicos.

Material y métodos

Se efectuó el examen de 52 víctimas de SMSI y de 16 casos controles fallecidos de causas conocidas. Las principales arterias coronarias se cortaron serialmente y se tiñeron con hematoxilina-eosina, Azán, azul alciano, orceína acética, CD68, CD34 y α -SM-actina y se realizó histomorfometría de las lesiones.

Resultados

Se encontraron lesiones preateroscleróticas en el 44,2% del grupo SMSI (23/52) y en sólo el 6,3% del grupo control (1/16) ($p = 0,0062$). Las células musculares lisas perdieron la polaridad, infiltrándose en el subendotelio, en gran parte de los casos con rotura de la membrana elástica interna (MEI). No se observó neoangiogénesis. En el grupo SMSI con engrosamiento musculolástico intimal, el espesor neointimal fue de $58,3 \pm 17,8$ μ m, el perímetro de la MEI afectado fue del 45,6%, el área de proliferación neointimal fue de $0,03 \pm 0,01$ mm^2 y el área luminal fue de $0,21 \pm 0,1$ mm^2 con $13,8\% \pm 5\%$ de estenosis luminal.

Conclusiones

Las lesiones preateroscleróticas se desarrollan temprano en víctimas del SMSI y son significativamente más frecuentes que en los controles. Las células musculares lisas tienen un papel fundamental en su génesis.

REV ARGENT CARDIOL 2008;76:100-105.

Palabras clave > Aterosclerosis - Muerte súbita del lactante - Vasos coronarios

Abreviaturas >

CML Células musculares lisas	PCNA Antígeno nuclear de proliferación celular
MEI Membrana elástica interna	SMSI Síndrome de muerte súbita infantil

INTRODUCCIÓN

En 1955, Enos, Holmes y Byer sorprendieron a la comunidad médica cuando describieron una frecuencia alta de lesiones macroscópicas en las arterias coronarias de jóvenes soldados norteamericanos muertos en la guerra de Corea. (1) Sin embargo, en 1930, Zeek ya había concluido que la arteriosclerosis podía ocurrir a cualquier edad. (2)

Más tarde, Rapola y Pesonen comunicaron lesiones que semejaban cambios preateroscleróticos en la rama principal de las arterias coronarias izquierdas en autopsias de 14 neonatos. Estos autores describieron cambios intimales y mediales con proliferación de

las células musculares lisas (CML) que llevaban al engrosamiento de la pared arterial (3).

A pesar de estos hallazgos, las comunicaciones sobre lesiones en fetos y lactantes de las arterias coronarias son raras y controversiales. Existe un consenso relativo acerca de que el nivel de lípidos en los niños determina, en gran medida, el grado de enfermedad coronaria en la adultez. (4)

Tradicionalmente, las estrías grasas se consideraron las manifestaciones más tempranas de la aterosclerosis. Consisten en lípidos extracelulares con algunos macrófagos, que difieren de las lesiones encontradas en los xantelasmas de la hipercolesterolemia familiar o en los conejos hipercolesterolémicos. (5)

Sin embargo, para algunos autores, las lesiones ateroscleróticas iniciales de las arterias coronarias son reconocibles desde la infancia (6-12) como una proliferación intimal de CML que precede a la deposición lipídica visible que causa engrosamiento intimal. (5, 13)

Según Virmani y colaboradores, (14) existe un engrosamiento intimal adaptativo que ocurre en la mayoría de las arterias cuando comienza el flujo en el útero o luego de nacer y consiste, principalmente, de CML α -actina positivas rodeadas de una matriz rica en proteoglicanos. Raramente se detectan macrófagos. Estas lesiones son más importantes en los puntos de bifurcación vascular y se consideran los precursores de las lesiones ateroscleróticas.

Nuestro equipo describió el escenario encontrado en las lesiones ateroscleróticas adultas (15-18) y recientemente comunicamos que las alteraciones intimales preateroscleróticas coronarias son detectables en la vida prenatal y en la infancia. (19) En hijos de mujeres fumadoras encontramos lesiones multifocales que iban de áreas focales en fetos hasta placas blandas juveniles en lactantes. Estas lesiones mostraron activación del gen c-fos de las CML que promovería su proliferación, hecho corroborado por la positividad al antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA). (19)

En este trabajo, el objetivo es caracterizar morfológicamente lesiones ateroscleróticas precoces en arterias coronarias provenientes de víctimas del síndrome de muerte súbita infantil (SMSI; en inglés *sudden infant death syndrome* [SIDS]), a fin de conocer los mecanismos involucrados en la aterogénesis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Examinamos a 52 víctimas de SMSI de entre 1 día y 1 año de edad (133,85 \pm 100,02 días de edad). El grupo control estuvo constituido por 16 casos de pacientes fallecidos por causas no cardíacas de 164,19 \pm 183,23 días de edad: 7 de encefalopatía anóxica, 3 traumatismos craneoencefálicos, 2 anencefalías, 2 neumonitis y 2 meningitis.

En todos los casos, los embarazos cursaron sin particularidades, no se comunicó consumo de alcohol o drogas y se registró el tabaquismo materno.

Las autopsias se realizaron entre las 6 y las 18 horas de producida la muerte. Los corazones se fijaron en formol

tamponado al 10% durante 48 horas. Se aislaron las cuatro arterias coronarias epicárdicas mayores (arterias coronarias izquierda, descendente anterior, circunfleja y derecha) y se cortaron transversalmente a lo largo de su eje en segmentos de aproximadamente 3-4 mm de longitud. Cada segmento se marcó en forma secuencial, según el caso, desde el *ostium* aórtico o desde su origen de la coronaria izquierda. Las piezas se deshidrataron, se incluyeron en parafina y se cortaron en forma seriada. Los cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina, con tricrómico de Heidenhain (Azán), azul alciano (pH 0,5 y 2,5) para detectar mucopolisacáridos, orceína acética para fibras elásticas y además se efectuaron estudios inmunohistoquímicos.

Inmunohistoquímica

La inmunotipificación de las células presentes en las lesiones tempranas se hizo con anticuerpos monoclonales para identificar linfocitos (células T, CD45RO, Biogenex; B-cells; CD20, Dako Co.; citotóxico/supresor, CD8, Dako Co.; helper/inductor, OPD4, Biogenex), macrófagos (CD68, Dako Co.), células endoteliales (CD31, CD34, Biogenex, Factor VIII, Ylem-Milano) y CML (α -SM-Actina, MU128-UC clon 1A4 Biogenex).

Como sistemas de detección se utilizaron: 1) estrep-tavidina biotina peroxidasa y/o fosfatasa alcalina (Biogenex, San Ramón, Ca) y 2) EPOS (Dakopatts, Carpintería, Ca). Cuando se requirió doble marcación, se efectuó con EPOS, una marcación con anticuerpos primarios conjugados con peroxidasa, seguido de una segunda marcación con estrep-tavidina biotina - fosfatasa alcalina. El revelado de la peroxidasa se realizó con 3,3 diaminobenzidina y el *fast red* sirvió para visualizar las reacciones con fosfatasa alcalina; el primer antígeno quedó marrón y el segundo, rojo brillante. Se corrieron controles negativos a la par con anticuerpos irrelevantes del mismo isotipo.

Estudio morfométrico

Todos los cortes histológicos se magnificaron y digitalizaron con el observador a ciegas del grupo de pertenencia. El análisis histomorfométrico y la planimetría se realizaron con un microscopio Nikon Eclipse E400 y un sistema de análisis de imágenes (Image Pro Plus for Windows, versión 3). Se midieron las áreas luminal y de la placa y se calculó el porcentaje de estenosis luminal. También se midieron el engrosamiento neointimal, el perímetro de la membrana elástica interna y el perímetro afectado de la membrana por la proliferación neointimal (Tabla 1 y Figura 1). Se consideraron con engrosamiento intimal aquellos casos que presentaron un espesor mayor de 25 μ m.

Siguiendo a Angelini y colaboradores, (20) las proliferaciones intimales se definieron como engrosamientos mus-

Tabla 1. Morfometría de las lesiones coronarias encontradas

Engrosamiento neointimal (mm)	Perímetro afectado de la MEI (mm)	Perímetro MEI (mm)	% afectado del perímetro MEI	Área de proliferación neointimal (mm ²)	Área luminal (mm ²)	% de estenosis	
58,33 \pm 17,8	915,6 \pm 351,9	2.008,3 \pm 585,9	45,6%	0,029 \pm 0,01	0,21 \pm 0,1	13,8%	SMSI Engrosamiento intimal musculoelástico sin placa blanda estenótica
217,76 \pm 26,4	910,1 \pm 25,9	2.092 \pm 28,9	43,5%	0,10 \pm 0,01	0,20 \pm 0,02	50%	SMSI Placa blanda estenótica
84,95 \pm 8,2	1131,6 \pm 26,0	2.570,5 \pm 18,7	44,0%	0,052 \pm 0,05	0,21 \pm 0,1	24,8%	Único control afectado

MEI: Membrana elástica interna.

culoelásticos, caracterizadas por proliferación intimal focal o difusa de CML con la membrana interna fragmentada o duplicada y con posterior deposición de colágeno y elastina. Se consideraron placas fibrosas las lesiones focales elevadas formadas por proliferación de CML intimales entremezcladas en una matriz conectiva con presencia de lípidos o sin ella.

Analisis estadístico

Los principales resultados histológicos se compararon con la prueba de la *t* de dos colas. La estadística no paramétrica se realizó por medio de la prueba de Mann-Whitney. Se consideraron significativos valores de $p < 0,05$. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico Statistic versión 7 y los valores se expresan como media \pm desviación estándar.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se detallan los datos morfométricos. En el 44,2% del grupo SMSI se detectaron lesiones preateroscleróticas contra el 6,3% del grupo control ($p = 0,0062$).

Se observaron lesiones coronarias multifocales de diverso grado, que iban desde áreas focales con leve engrosamiento miointimal hasta, en un caso, una placa blanda que reducía parcialmente la luz en un 50%. La arteria coronaria descendente anterior siempre estuvo afectada.

Las lesiones preateroscleróticas se clasificaron en dos categorías:

1. *Engrosamiento musculoelástico intimal*. Estas lesiones mostraron un engrosamiento miointimal focal de leve a moderado (Figura 2). En algunos casos, éste estaba localizado como una almohadilla. El tejido conectivo subendotelial estaba infiltrado con CML, monocitos, escasos linfocitos y depósitos amorfos. Las CML presentaron pérdida de la polaridad y formaban columnas perpendiculares al eje de la media e infiltraban el tejido conectivo subendotelial, la mayor parte de las veces con rotura de la membrana elástica interna (Figuras 3 y 4). También se observaron grandes cantidades de sustancia fundamental mucoide. Los macrófagos se detectaron en el borde intimal, penetrando el endotelio, pero no en el interior de las lesiones. No se demostró neoangiogénesis y los monocitos/células espumosas estaban presentes en un número muy bajo y los linfocitos B fueron de rara observación. El endotelio estaba morfológicamente intacto y las superficies endoteliales limpias y sin trombos.

2. *Placas blandas* (Figura 3). Estas placas eran muy celulares debido a la gran infiltración de CML asociada con leve infiltración monocitaria/células espumosas, escasos linfocitos y gran cantidad de sustancia fundamental mucoide. Había una evidente fragmentación de la membrana elástica interna y de las fibras elásticas de la media, la cual estaba adelgazada focalmente, en especial en las zonas de gran proliferación. Las CML perdieron su polaridad con el eje perpendicular de la media y migraron al espacio subendotelial. El endotelio

estaba preservado morfológicamente y no se observaron trombos.

Dado que el hallazgo de lesiones intermedias con componentes de ambas categorías fue frecuente, para el estudio morfométrico se consideraron engrosamientos musculoelásticos (Tabla 1). En estos casos, el porcentaje de estenosis varió del 9,5% al 24,6% (13,8

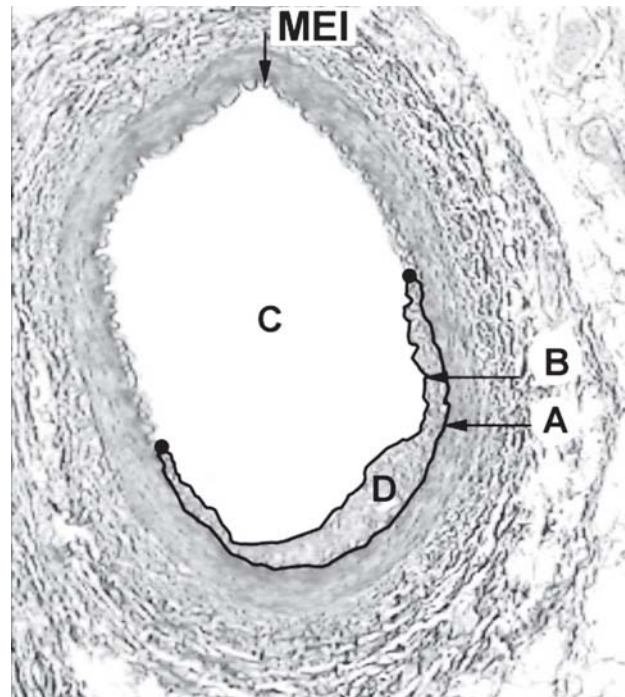


Fig. 1. Arteria coronaria epicárdica (rama izquierda descendente anterior) con engrosamiento musculoelástico. MEI: Membrana elástica interna. A: Perímetro afectado de la MEI. Separación máxima A-B: Engrosamiento neointimal. C: Área luminal. D: Área de proliferación neointimal. Tricrómico de Mallory 40x.

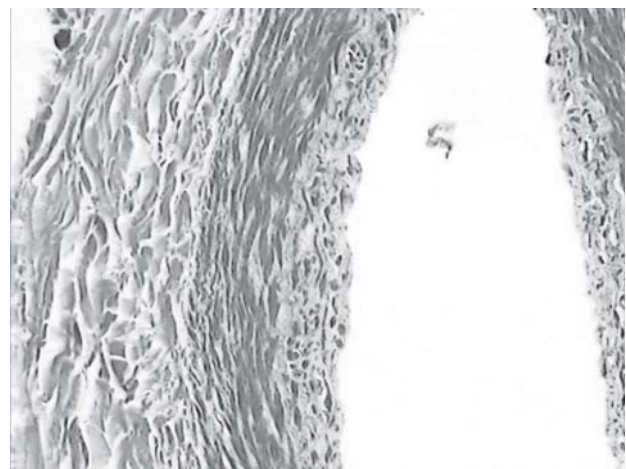


Fig. 2. Engrosamiento íntima-media con proliferación subendotelial de CML en una arteria coronaria epicárdica de un paciente con SMSI. Tricrómico de Azán 40x.



Fig. 3. Arteria coronaria epicárdica que muestra una placa blanda con tejido subendotelial laxo infiltrado por CML proliferantes positivas para α -actina. Anti-SMA 100x.

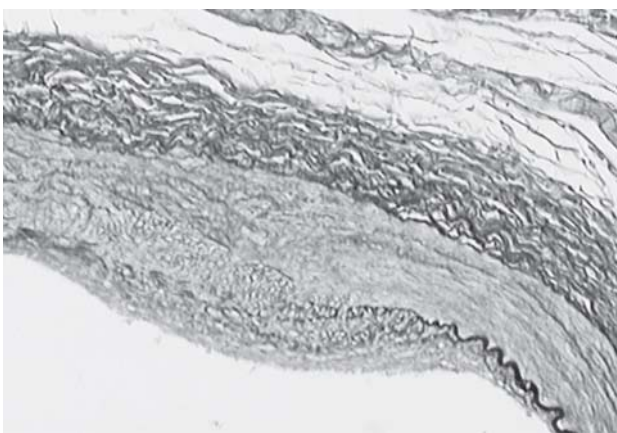


Fig. 4. Arteria coronaria izquierda descendente anterior con engrosamiento musculoelástico. Se observa la membrana elástica interna fragmentada y duplicada. Orceína 100x.

$\pm 5\%$) y el perímetro de la membrana elástica interna estaba afectado en el 45,6% de su extensión. Sólo una placa blanda (considerada aparte) tuvo el 50% de estenosis luminal, con un perímetro afectado del 43,5% y un área de proliferación neointimal de 0,10 mm².

De los 68 casos, 31 madres eran fumadoras y 37 no eran fumadoras. De los casos provenientes de madres fumadoras, en 29/31 (43% de todos los casos) se encontraron lesiones; mientras que sólo en 5/37 (7% de todos los casos) de los casos de madres no fumadoras se hallaron lesiones ($p < 0,0001$; prueba exacta de Fisher).

DISCUSIÓN

En este trabajo se demuestra que las alteraciones ateroscleróticas precoces son detectables en la infan-

cia. Estas lesiones variaron desde engrosamientos musculoelásticos de hasta el 24,6% del lumen hasta un caso de estenosis coronaria del 50%. No se pudo establecer una relación entre estas lesiones y el SMSI, salvo por su frecuencia en comparación con el grupo control. Es importante señalar que no fue el objetivo de este estudio evaluar una relación causal entre SMSI y lesiones preateroscleróticas, sino que aprovechamos el material de autopsia disponible teniendo en cuenta la dificultad para obtener este tipo de especímenes provenientes de lactantes. Como hallazgo, no esperado, se observó una incidencia mayor de estas lesiones en el grupo SMSI [44,2% del grupo SMSI *versus* 6,3% del grupo control ($p = 0,0062$)]. También se debe destacar que estas lesiones no fueron causa de muerte en ningún caso.

En trabajos clásicos se muestra que un tercio de los lactantes en los primeros 6 meses de vida tienen pequeñas colecciones de macrófagos repletos de gotas lipídicas (células espumosas) en segmentos susceptibles de las arterias coronarias. (21) En los años subsiguientes, menos niños tienen acumulaciones de células espumosas más extensas que las encontradas en lactantes. Luego, estas lesiones se encuentran en el 69% de los adolescentes de entre 12 y 15 años. (12)

También se ha señalado que la íntima coronaria soporta una secuencia de cambios luego de una noxa antes de la aparición de las acumulaciones de células espumosas. A partir de estudios sobre la cronodinamia de la patología coronaria en corazones humanos trasplantados, se definió que el primer paso es la hiperplasia intimal y la ruptura de la membrana elástica interna, el segundo paso es la migración a la íntima engrosada de las CML mediales y el tercero es el depósito de lípidos, que da por resultado un ateroma. (22)

Esta secuencia de eventos, supuestos como cambios benignos del desarrollo y el crecimiento, pareciera que son los precursores de la aterosclerosis, ya que sin ellos la posterior deposición lipídica nunca ocurriría. (12)

Estas lesiones, que podrían representar el eslabón perdido entre normalidad y acumulación de células espumosas y ateromas, se encontraron en localizaciones muy susceptibles, como las principales bifurcaciones arteriales. (21)

Estos “segmentos gruesos” (*thick segments*) contendrán, subsecuentemente, pequeñas cantidades de gotitas lipídicas y detritos celulares que se sumarán a las células espumosas. (21) Los “segmentos gruesos” se desarrollan en la vida fetal (23) y se encuentran, en grado variable, en todos los niños al nacimiento. (24) Un “segmento grueso” puede encontrarse en las bifurcaciones arteriales y cerca de ellas y de los *ostia* de aun pequeños vasos, donde la lesión es focal y excéntrica. También se encuentra una íntima engrosada en algunos sitios, no necesariamente cerca de una ramificación vascular, donde son más difusas. Estos “segmentos gruesos” recibieron distintas denominaciones: engrosamiento intimal adaptativo, (14) cojinete intimal,

placa fibromuscular mucoide, hiperplasia intimal focal, engrosamiento intimal musculoelástico, etc. (24)

Algunos autores consideran lesiones preateroscleróticas a los "segmentos gruesos" porque se localizan donde suelen encontrarse las placas en la edad adulta, por ejemplo en la arteria descendente anterior, porque son circunscriptas y excéntricas y se proyectan dentro de la luz arterial cuando se colapsan luego de la muerte. (21) Los engrosamientos intimales musculoelásticos hallados en el presente estudio parecen apoyar a estos autores.

Por lo tanto, si bien el engrosamiento adaptativo no es una lesión en sí misma, es un prerrequisito para la retención y la acumulación lipídica y, por ende, para la aterogénesis. (21)

De todas formas, hay que tener en cuenta que cuando la lipoproteinemia es muy alta se pueden encontrar acumulaciones de células espumosas y lípidos que forman placas en cualquier sitio, sin la presencia previa de engrosamiento adaptativo.

Tomando en cuenta que la vida media de las células espumosas es de 6 meses, (21) es posible que los cambios intimales hallados en el primer semestre de vida en los fetos reflejen factores de riesgo de la madre, como tabaquismo, alteraciones lipídicas, etc.

Clínicamente, la manifestación de las lesiones ateroscleróticas podría desarrollarse a través de una secuencia que comienza como engrosamientos intimales. Estas lesiones pueden alcanzar un equilibrio y estabilizarse sin progresar. Cuando los factores de riesgo cambian favorablemente, estas lesiones podrían regresar y desaparecer (21) o ser minimizadas funcionalmente a través de la remodelación arterial y la apoptosis. (25)

Las proliferaciones intimales coronarias se observaron en el 95,3% de los niños de entre 1 y 5 años, fallecidos por causas no cardiovasculares, y el sitio más afectado fue el segmento proximal de la arteria coronaria descendente anterior. (20)

Punto central: la célula muscular lisa

Las CML tienen un papel protagónico en la aterosclerosis temprana y establecida; (16, 17) representan el 50% de los componentes celulares de las placas crónicas y cerca del 90% en placas precoces. (26) Estas células tienen una diversidad fenotípica y un crecimiento rápido durante el desarrollo embrionario, pero se mantienen quiescentes, en un estado diferenciado en el adulto. La migración, la proliferación y la diferenciación de estas células son respuestas patológicas a diferentes lesiones (p. ej., el tabaquismo) que pueden contribuir al desarrollo y la progresión de las lesiones ateroscleróticas precoces, (19) posiblemente volviendo a expresar genes que estaban activos en la vida embrionaria. (27, 28)

Recientemente comunicamos que las lesiones ateroscleróticas tempranas en las paredes coronarias

de fetos y lactantes estaban posiblemente relacionadas con el tabaquismo materno. En algunas de estas lesiones primarias encontramos activación del gen c-fos de las CML que promovería su proliferación, hecho corroborado tanto por la positividad al PCNA como a la apoptosis, esta última interpretada como un intento fisiológico para prevenir la evolución aterogénica. (19) Posiblemente, los oxidantes presentes en la fase gaseosa del humo del cigarrillo determinan una secuencia de eventos biológicos en las paredes arteriales. Primero, los oxidantes provocarían disfunción endotelial sin causar alteraciones morfológicas identificables e inducirían una estimulación inmediata e intensa del gen c-fos de las CML de la media, que promovería un proceso proliferativo. (29) Luego, se puede teorizar que diferentes moléculas (PDGF, EGF, IL-1 β , TNF α , etc.) activarían factores de transcripción como el factor nuclear kappa B (NF- κ B) o protooncogenes como c-fos y c-myc, los cuales regularían la expresión de los genes involucrados en la respuesta inflamatoria/proliferativa de las lesiones preateroscleróticas. (30)

En la íntima, las CML muestran cambios fenotípicos, ya que en la media son células contráctiles, caracterizadas por contener proteínas típicas de este proceso como la α -actina, mientras que en la íntima son células sintetizadoras, con pérdida de su función contráctil, y se observa un cambio en la expresión de la actina de la forma α a la β con grandes capacidades proliferativas. (27, 28)

Además, en un estudio previo, en un alto porcentaje de placas ateroscleróticas inestables encontramos positividad para PCNA (75% de los casos) y c-fos (40%) en las CML con respecto a las placas estables, (18) lo que resalta la importancia de estas células en la inestabilidad de la placa.

Limitaciones del estudio

Dado que los especímenes fueron tomados en autopsias forenses, no fue posible perfundir y fijar las arterias a presión fisiológica para preservarlas del colapso y la contracción *post mortem*. Por la misma razón, no fue posible obtener en todos los casos la historia clínica completa de enfermedades familiares o antecedentes genéticos.

CONCLUSIÓN

Las lesiones preateroscleróticas se desarrollan precozmente en víctimas de SMSI. A partir de nuestros datos, señalamos que las células musculares lisas tienen un papel protagónico en estas lesiones. Su proliferación y migración a la íntima es la piedra de toque del proceso. La relación entre aterosclerosis y SMSI, cuyo significado se desconoce, merece mayores estudios para profundizar los hallazgos.

SUMMARY**Early Atherosclerotic Lesions in Sudden Infant Death Syndrome****Objective**

The aim of the present study was to assess the morphology of early atherosclerotic lesions in coronary arteries from sudden infant death syndrome (SIDS) victims in order to recognize atherogenic mechanisms.

Material and Methods

We examined 52 victims of SIDS and 16 controls with known causes of infant death. The principal coronary arteries were serially cut and stained with hematoxylin-eosin, Azan, Alcian blue, acetic orcein, CD68, CD34 and α -SM actin, with subsequent histomorphometric analysis of the lesions.

Results

Preatherosclerotic lesions were found in 44.2% in SIDS group (23/52) and only in 6.3% in controls (1/16) ($p=0.0062$). Smooth muscle cells lost polarity, infiltrating the subendothelium, with rupture of the internal elastic membrane (IEM) in most cases. Angiogenesis was not observed. When muscular and elastic intimal thickening was present in the SIDS group, the results were as follows: neointimal thickness, 58.3 ± 17.8 mm; affected perimeter of the EIM, 45.6%; area of neointimal proliferation, 0.03 ± 0.01 mm²; and luminal area, 0.21 ± 0.1 mm² with a luminal stenosis of $13.8 \pm 5\%$.

Conclusions

Preatherosclerotic lesions develop early in SIDS victims, and they are significantly more frequent than in controls. Smooth muscle cells are fundamental in its genesis.

Key words > Atherosclerosis - Sudden Infant Death - Coronary Vessels

BIBLIOGRAFÍA

- Enos WF, Holmes RH, Beyer J. Coronary disease among United States soldiers killed in action in Korea; preliminary report. *J Am Med Assoc* 1953;152:1090-3.
- Zeek P. Juvenile arteriosclerosis. *Arch Pathol* 1930;10:417-46.
- Rapola J, Pesonen E. Coronary artery changes in newborn babies. A histological and electron microscopical study. *Acta Pathol Microbiol Scand [A]* 1977;85:286-96.
- Wynder EL. Introductory remarks. En: Williams CL, Wynder EL, editors. *Hyperlipidemia in childhood and the development of atherosclerosis*. Ann NY Acad Sci 1991;623:1.
- Stehbens WE. The pathogenesis of atherosclerosis: A critical evaluation of the evidence. *Cardiovasc Pathol* 1997;6:123-53.
- Minkowsky WL. The coronary arteries of infants. *Am J Med Sci* 1947;214:623-9.
- Schornagel HE. Intimal thickening in the coronary arteries in infants. *AMA Arch Pathol* 1956;62:427-32.
- Giordano A, Maturri L. Le role des mucopolysaccharides dans l'athérosclérose. *Acta Cardiol* 1966;11:109-29.
- Velican D, Velican S. Study of fibrous plaques occurring in the coronary arteries of children. *Atherosclerosis* 1979;3:201-15.
- Meyer WW, Lind J, Yao AC, Kauffman SL. Early arterial lesions in infancy and childhood and ways of prevention. *Paediatrician* 1982;11:136-56.
- Pesonen E. Preliminary and early stages of atherosclerosis in childhood. *Zentralbl Allg Pathol* 1989;135:545-8.
- Davies H. Atherogenesis and the coronary arteries of childhood. *Int J Cardiol* 1990;28:283-91.
- Maturri L, Lavezzi AM, Ottaviani G, Rossi L. Intimal preatherosclerotic thickening of the coronary arteries in human fetuses of smoker mothers. *J Thromb Haemost* 2003;1:2234-8.
- Virmani R, Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, Finn AV, Gold H. Pathology and pathophysiology of coronary atherosclerotic plaques. En: Schoepf UJ, editor. *CT of the heart. Principles and applications*. New Jersey: Humana Press; 2005. Chapter 33.
- Fernández Alonso G, Grana DR, Turconi P, Colombo B, Lavezzi AM, Milei J, et al. Proliferative activity and chromosomal alterations of smooth muscle cells in atherosclerosis. *Medicina (Buenos Aires)* 2000;60:595-601.
- Milei J, Parodi JC, Alonso GF, Barone A, Grana D, Maturri L. Carotid rupture and intraplaque hemorrhage: immunophenotype and role of cells involved. *Am Heart J* 1998;136:1096-105.
- Maturri L, Cazzullo A, Turconi P, Lavezzi AM, Vandone PL, Gabrielli L, et al. Chromosomal alterations in atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis* 2001;154:755-61.
- Lavezzi AM, Milei J, Grana DR, Flenda F, Basellini A, Maturri L. Expression of c-fos, p53 and PCNA in the unstable atherosclerotic carotid plaque. *Int J Cardiol* 2003;92:59-63.
- Milei J, Ottaviani G, Lavezzi AM, Grana DR, Stella I, Maturri L. Perinatal and infant early atherosclerotic coronary lesions. *Can J Cardiol* 2007 (in press).
- Stary HC. Lipid and macrophage accumulations in arteries of children and the development of atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* 2000;72:1297S-1306S.
- Davies H, al-Tikriti S. Coronary arterial pathology in the transplanted human heart. *Int J Cardiol* 1989;25:99-117.
- Robertson JH. Stress zones in foetal arteries. *J Clin Pathol* 1960;13:133-9.
- Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, Glagov S, Insull W Jr, Richardson M, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1992;85:391-405.
- Glagov S, Zarins C, Giddens DP, Ku DN. Hemodynamics and atherosclerosis. Insights and perspectives gained from studies of human arteries. *Arch Pathol Lab Med* 1988;112:1018-31.
- Angelini A, Thiene G, Frescura C, Baroldi G. Coronary arterial wall and atherosclerosis in youth (1-20 years): a histologic study in a northern Italian population. *Int J Cardiol* 1990;28:361-70.
- Katsuda S, Boyd HC, Fligner C, Ross R, Gown AM. Human atherosclerosis. III. Immunocytochemical analysis of the cell composition of lesions of young adults. *Am J Pathol* 1992;140:907-14.
- Thyberg J, Blomgren K, Hedin U, Dryjski M. Phenotypic modulation of smooth muscle cells during the formation of neointimal thickenings in the rat carotid artery after balloon injury: an electron-microscopic and stereological study. *Cell Tissue Res* 1995;281:421-33.
- Bochaton-Piallat ML, Ropraz P, Gabbiani F, Gabbiani G. Phenotypic heterogeneity of rat arterial smooth muscle cell clones. Implications for the development of experimental intimal thickening. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:815-20.
- Rao GN, Berk BC. Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogene expression. *Circ Res* 1992;70:593-9.
- Martínez-González J, Llorente-Cortés V, Badimon L. Cellular and molecular biology of atherosclerotic lesions. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:218-31.

Agradecimientos

Por el apoyo financiero recibido del PIP 6549, CONICET y UBACYT, Universidad de Buenos Aires, Argentina.