

## Madres fumadoras y aterosclerosis prenatal

LUIGI MATTURRI<sup>1</sup>, GIULIA OTTAVIANI<sup>1</sup>, ANNA MARIA LAVEZZI<sup>1</sup>, DANIEL GRANA<sup>2</sup>, JOSÉ MILEI<sup>2\*</sup>

La hipercolesterolemia y el tabaquismo son factores de riesgo exógenos reconocidos para el desarrollo de aterosclerosis. La historia natural de la aterosclerosis se basa principalmente en estudios experimentales en animales mantenidos con una dieta alta en colesterol. (1, 2) La lesión fundamental es la infiltración lipídica del tejido conectivo subendotelial de la íntima y la subsecuente infiltración de células con funciones reparadoras, principalmente monocitos y células musculares lisas (CML).

Sobre la base de estudios epidemiológicos se sabe que el tabaquismo es uno de los factores de riesgo cardiovascular. (3, 4) El fumar se relacionó tanto con la infiltración como con la progresión de las lesiones ateroscleróticas. Sin embargo, el mecanismo preciso por el cual el humo del tabaco interviene en la aterogénesis todavía no se ha establecido por completo. En los seres humanos existen sólo unas pocas observaciones morfológicas sobre los efectos aterogénicos del tabaquismo. (5)

La progresión natural de las lesiones ateroscleróticas provocadas por el tabaquismo pasivo se puede seguir a través de nuestros trabajos recientes sobre fetos y lactantes de padres fumadores, especialmente de madres fumadoras. (5-8)

En nuestra casuística examinamos 22 muertes fatales inesperadas recientes y 36 víctimas del síndrome de muerte súbita infantil (SMSI). En el 47% de los casos, las madres fumaron antes del embarazo y durante él.

Nuestros estudios nos han permitido individualizar alteraciones preateroscleróticas iniciales en arterias de fetos y demostrar la formación y la progresión de placas ateroscleróticas en lactantes. En el 55% de los fetos y en el 67% de los lactantes de madres fumadoras se detectaron lesiones ateroscleróticas coronarias multifocales de variadas características. Las alteraciones iban desde placas focales con engrosamiento miointimal leve en la etapa prenatal hasta placas blandas juveniles que reducían la luz arterial en los lactantes.

En las Tablas 1 y 2 se muestran las relaciones entre los resultados morfológicos obtenidos de las arte-

rias coronarias de las 58 víctimas, los hábitos tabáquicos maternos y los marcadores biológicos.

En el estudio histológico en 12 fetos desde la semana 38 de gestación y en 2 lactantes, de 1-2 meses de edad, las lesiones eran preateroscleróticas (Figura 1), principalmente localizadas en la rama descendente anterior de la arteria coronaria izquierda, mientras que en 16 víctimas de SMSI se observaron placas blandas juveniles en todo el árbol coronario, con disminución de la luz de hasta el 30-40% (Figura 2).

Las lesiones preateroscleróticas se caracterizaron por una alteración de la arquitectura de la túnica media, que aparecía fragmentada focalmente y presentaba columnas de CML que se disponían perpendicularmente al eje de la capa media. Estos elementos, junto con escasos monocitos y linfocitos B, infiltraban la túnica íntima que tendía a estar engrosada, también debido al depósito inicial de mucopolisacáridos.

Asimismo, se detectaron alteraciones focales del sistema de fibras elásticas que mostraron separación y fragmentación.

En lactantes mayores de 2 meses se observó una progresión de dichas lesiones coronarias. Las placas blandas juveniles se caracterizan por una formación de placa inicial que aumenta de tamaño en forma gradual, en especial luego de los primeros 6 meses, con CML abundantes y con la luz coronaria pronunciadamente reducida, hasta en un 40%.

Encontramos una correlación significativa ( $p < 0,05$ ) entre lesiones ateroscleróticas y tabaquismo materno en el embarazo en 27 casos (47%). Sólo en 5 casos (Tabla 1: N° 3 y N° 13 y Tabla 2: N° 20, N° 21 y N° 25) se observaron lesiones arteriales en lactantes de madres no fumadoras. Estas lesiones podrían deberse a otros factores que merecen ser estudiados con mayor profundidad, como por ejemplo la alimentación con leches maternizadas. (9) En una reunión reciente de la OMS se ha criticado el uso de alimentación artificial y a pesar de que el amamantamiento se promueve muy activamente, según la OMS y el UNICEF se producen 1,5 millón de muertes al año en lactantes alimentados con dichos productos. En el 40% de estos casos se observó engrosamiento de la pared de las cuatro ramas

Recibido: 02/01/2005

Aceptado: 20/04/2005

Dirección para separatas: Prof. Dr. José Milei - ININCA - Marcelo T de Alvear 2270, (1122) Ciudad Autónoma de Buenos Aires  
Tel-Fax 54 11 4508-3836. ininca@fmed.uba.ar

Parte de este trabajo corresponde a una conferencia dictada por el Prof. Dr. Luigi Maturri por invitación en el XXXI Congreso Argentino de Cardiología; Buenos Aires; 8-11/10/2004

<sup>1</sup> Instituto di Patologia. Università degli Studi di Milano

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Cardiológicas "Prof. Dr. Alberto C. Taquini" UBA - CONICET

\* Miembro Titular SAC

‡ Miembro Honorario SAC

TABLA 1

Caso N°	Patrones morfológicos y biológicos de las lesiones coronarias en fetos				Marcadores biológicos Inmunohistoquímica		
	Edad (sg)	Género	Madre fumadora	Lesiones ateroscleróticas	c-fos	PCNA	Apoptosis
1	38	F	+	A1	+	-	-
2	39	M	-	-	-	-	-
3	39	M	-	A2	++	-	+
4	40	F	+	A1	+	-	+
5	40	M	+	A2	+++	-	-
6	36	F	-	-	-	-	-
7	38	F	-	-	-	-	+
8	32	F	-	-	-	-	-
9	36	M	-	-	-	-	-
10	36	F	+	A1	+++	-	++
11	34	M	-	-	-	-	-
12	38	M	+	A1	+-	-	-
13	39	M	-	A1	-	-	-
14	38	M	+	A2	++	-	-
15	33	F	-	-	-	-	-
16	32	M	+	-	-	-	-
17	38	M	+	A2	+++	-	+
18	39	M	+	A1	-	-	-
19	40	F	-	-	-	-	-
20	35	M	+	A2	++	+	-
21	36	M	+	A1	+	-	-
22	40	F	+	-	-	-	-

(p &lt; 0,05)

sg = semana gestacional. A = lesión preaterosclerótica (A1 = alteraciones de la túnica media; A2 = alteraciones de la túnica media y engrosamiento miointimal). Inmunohistoquímica: - = negativa; + = positividad leve; ++ = positividad moderada; +++ = positividad alta.

coronarias, infiltración de células musculares lisas, lesión de la membrana elástica interna e incremento de mucopolisacáridos en el tejido conectivo de la íntima y la media. (9)

Los engrosamientos miointimales en los primeros meses de vida de lactantes de madres fumadoras muestran una prevalencia de CML con una cantidad reducida de monocitos y depósitos lipídicos escasos o ausentes. Estas lesiones son más severas si la madre fumadora amamanta a su hijo. De hecho, los bebés de 4 meses o más de edad, a los cuales sus madres fumadoras les dan el pecho, están expuestos pasivamente no sólo a los productos de combustión del tabaco sino también por la ingestión de los metabolitos de la nicotina en la leche materna.

Sobre la base del estudio biológico de estas lesiones (Tablas 1 y 2), se puede afirmar que el inicio de la aterosclerosis humana se caracteriza por la activación del gen c-fos en las CML de la túnica media.

El proto-oncogén c-fos pertenece a la familia de los genes tempranos inmediatos, definidos así por activarse rápidamente en presencia de noxas, en situaciones de estrés y en neoplasias en una variedad de células tanto vasculares como no vasculares, ya que no requieren la síntesis proteica *de novo*. (10, 11)

En algunas de estas lesiones primarias también se observó positividad para apoptosis de las CML,

visualizadas por el método TUNEL (*TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling*). (12) Este hallazgo puede interpretarse como intentos fisiológicos para prevenir la evolución del proceso aterogénico y para preservar la estructura de la pared en condiciones normales al eliminarse por el mecanismo apoptótico las células implicadas en la génesis de la aterosclerosis. (12, 13)

A su vez, la progresión de las lesiones ateroscleróticas, estudiada por nosotros en placas carotídeas estables e inestables de adultos, se pone de manifiesto con la variación en la expresión de distintos marcadores biológicos. (14)

En las paredes coronarias de lactantes de pocos meses se observa un número moderado a alto de CML positivas para el antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA) y en escasas células, la activación del c-fos y de la apoptosis. Esto sugiere que la sobreexpresión del c-fos podría promover un proceso proliferativo, indicado por la positividad del PCNA. De hecho, éste se expresa principalmente durante la fase S del ciclo celular, si bien es un marcador inespecífico de la replicación celular e interviene en la replicación del ADN, en su reparación y en el control del ciclo celular. (15)

Sugerimos que los oxidantes presentes en la fase gaseosa del humo del cigarrillo podrían determinar la

TABLA 2

Caso N°	Patrones morfológicos y biológicos de las lesiones coronarias en infantes				Marcadores biológicos Inmunohistoquímica		
	Edad (meses)	Género	Madre fumadora	Lesiones ateroscleróticas	c-fos	PCNA	Apoptosis
1	1	M	+	A1	++	-	-
2	1	M	-	-	-	-	-
3	1	F	-	-	-	-	-
4	1	M	+	B1	+	-	+
5	2	F	+	A1	+++	-	+
6	2	F	-	-	-	-	-
7	2	M	+	B1	+	-	-
8	3	M	-	-	-	-	-
9	2	M	-	-	-	-	-
10	3	M	+	B1	+	+	+
11	3	F	+	B1	-	+	-
12	3	M	+	B1	-	-	-
13	3	F	-	-	-	-	-
14	3	M	+	B2	-	+	-
15	3	F	-	-	-	-	-
16	4	M	+	B2	-	++	-
17	4	F	-	-	-	-	-
18	4	M	-	-	-	-	-
19	4	M	+	B2	-	++	+
20	4	M	-	B1	+	-	-
21	5	F	-	B1	-	-	-
22	5	F	-	-	-	-	-
23	6	M	+	B2	-	+	-
24	7	M	-	-	-	-	-
25	7	F	-	B2	-	-	-
26	8	M	+	B2	-	++	-
27	8	M	-	-	-	-	-
28	8	F	-	-	-	-	-
29	10	M	-	-	-	-	-
30	10	F	+	B1	+	+++	+
31	11	M	-	-	-	-	-
32	11	F	+	B2	-	+	-
33	12	M	-	-	-	-	-
34	12	F	+	B2	-	++	-

( $p < 0,05$ )

A = lesión preaterosclerótica (A1 = alteraciones de la túnica media; A2 = alteraciones de la túnica media y engrosamiento miointimal). B = placa blanda juvenil (B1 = placa inicial; B2 = placa avanzada).

Inmunohistoquímica: - = negativa + = positividad leve; ++ = positividad moderada; +++ = positividad alta.

secuencia de eventos biológicos en las paredes arteriales observadas en este estudio. Los oxidantes primero atravesarían el endotelio sin causar alteraciones morfológicamente identificables, e inducirían una estimulación intensa e inmediata del gen c-fos en las CML de la media. Estas células, así activadas, readquirirían características primitivas, como movimientos ameboides y dejarían la media emigrando hacia la íntima. Subsecuentemente, también por el efecto oxidativo del humo del cigarrillo, el c-fos ejerce su efecto mitogénico. Esto se confirma por la presencia de CML PCNA+ en las arterias coronarias de los lactantes.

Por ello, y según nuestros hallazgos, se podría afirmar que el tabaquismo de los padres se asocia con un aumento en el riesgo de aterogénesis coronaria que comienza muy precozmente en la vida fetal y progre-

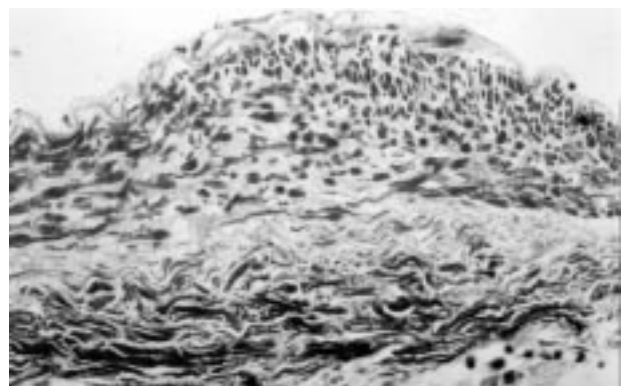


Fig. 1. Lesión preaterosclerótica en una arteria coronaria epicárdica (rama izquierda descendente anterior) de un feto de 38 semanas de gestación. El engrosamiento focal consiste en CML mediales orientadas perpendicularmente. Tricrómico de Azán.  $\times 200$ .

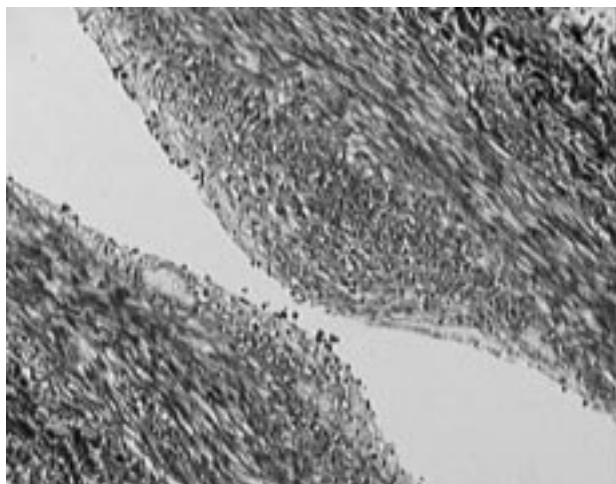


Fig. 2. Placas blandas juveniles en una arteria coronaria epicárdica (rama circunfleja izquierda) de un lactante de 10 meses. El engrosamiento miointimal muestra numerosas CML y gran cantidad de sustancia fundamental mucoide. Tricrómico de Azán.  $\times 100$ .

sa a través de estadios secuenciales morfológicos y biológicos definidos hacia verdaderas placas ateroscleróticas, las cuales pueden observarse aun en los primeros meses de vida.

Los hallazgos aquí presentados delinean el grave efecto aterogénico del humo del cigarrillo y la necesidad de prevenir las enfermedades cardiovasculares, aun durante la vida prenatal.

#### Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministero degli Affari Esteri, Italia (joined project of particular relevance n° 269/P/0085087 "Anatomopathologic and genetic study of the unexplained perinatal death and SIDS").

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Weller RO, Clark RA, Oswald WB. Stages in the formation and metabolism in intracellular lipid droplets in atherosclerosis. An electron microscopical and biochemical study. *J Atheroscler Res* 1968;8:249-63.
2. Nolte CJ, Tercyak AM, Wu HM, Small DM. Chemical and physicochemical comparison of advanced atherosclerotic lesions of similar size and cholesterol content in cholesterol-fed New Zealand White and Watanabe Heritable Hyperlipidemic rabbits. *Lab Invest* 1990;62:213-22.
3. Leone A. Relationship between cigarette smoking and other coronary risk factors in atherosclerosis: risk of cardiovascular disease and preventive measures. *Curr Pharm Des* 2003;9:2417-23.
4. Annual smoking-attributable mortality, years of potential life lost, and economic costs— United States, 1995-1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51:300-3.
5. Maturri L, Ottaviani G, Corti G, Lavezzi AM. Pathogenesis of early atherosclerotic lesions in infants. *Pathol Res Pract* 2004;200:403-10.
6. 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.
7. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM, Rossi L. Early atherosclerotic lesions of the cardiac conduction system arteries in infants. *Cardiovasc Pathol* 2004;13:276-81.
8. Lavezzi AM, Ottaviani G, Maturri L. Biology of the smooth muscle cells in human atherosclerosis. *APMIS* 2004; in press.
9. Maturri L, Ottaviani G, Corti G, Lavezzi AM. Pathogenesis of early atherosclerotic lesions in infants. *Pathol Res Pract* 2004;200:403-10.
10. Rao GN, Berk BC. Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogene expression. *Circ Res* 1992; 70:593-9.
11. Dony C, Gruss P. Proto-oncogene c-fos expression in growth regions of fetal bone and mesodermal web tissue. *Nature* 1987;328:711-4.
12. Maturri L, Cazzullo A, Turconi P, Roncoroni L, Grana D, Milei J. Inflammatory cells, apoptosis and Chlamydia pneumoniae infection in atherosclerosis. *Int J Cardiol* 2000;75:23-33.
13. Hasdai D, Sangiorgi G, Spagnoli LG, Simari RD, Holmes DR Jr, Kwon HM, et al. Coronary artery apoptosis in experimental hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1999;142:317-25.
14. 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.
15. Maga G, Hubscher U. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a dancer with many partners. *J Cell Sci* 2003;116:3051-60.