

ATEROGÊNESE: NOVOS CONCEITOS

SÉRGIO DIOGO GIANNINI, JAYME DIAMENT, JOSÉ MARCOS DE GÓIS

A aterosclerose inicia-se pela formação das chamadas estrias gordurosas, lesões que se formam na íntima das artérias e que se caracterizam por aumento do número de células musculares lisas, presença de macrófagos e acúmulo de gorduras intra e extracelulares. Inúmeras teorias foram propostas para explicar a gênese dessas lesões. Ross e Glomset¹, em 1976, baseados em dados obtidos por vários pesquisadores e nas próprias investigações, enfatizaram que a injúria ao endotélio representa pré-requisito indispensável e que o desencadeamento da proliferação das células musculares lisas é a chave do processo. A destruição das células endoteliais por agentes agressores e o contato das estruturas subendoteliais com as plaquetas circulantes seriam condições fundamentais na seqüência de eventos que levariam à formação da estria gordurosa. Dados experimentais e de biologia celular acumulados na última década acrescentaram elementos novos que justificariam recente revisão do tema pelo próprio Ross² e novos mecanismos patogênicos foram aventados. A seguir, teceremos considerações sobre a gênese do ateroma, bem como procuraremos sistematizar os vários mecanismos patogênicos admitidos atualmente.

CONSIDERAÇÕES PRELIMINARES

É indispensável rever preliminarmente as mais importantes peculiaridades biológicas das células envolvidas na aterogênese.

Sabe-se que, por estímulos diversos, células endoteliais, plaquetas, monócitos/macrófagos e células musculares lisas (CML) produzem diferentes substâncias—fatores celulares—capazes de determinar proliferação (fatores mitogênicos ou proliferativos), migração (fatores quimiotáticos) e aderência (fatores de aderência) celulares. Além disso, nessas células foram identificados receptores específicos—receptores celulares—para diferentes substâncias presentes no meio interno. Analisemos separadamente as principais características desses fatores e receptores celulares.

Fatores Celulares

Fatores proliferativos ou mitogênicos—O primeiro fator mitogênico foi identificado por Ross e col³ e tem origem plaquetária. Verificaram que CML se mul-

tiplicavam pela presença de plaquetas no meio de cultura e designaram o fator responsável pela sigla PDGF (“platelet derived growth factor”). Estudos subseqüentes⁴⁻¹¹ demonstraram estar o PDGF presente nos grânulos alfa das plaquetas e algumas de suas propriedades físico-químicas foram estabelecidas: peso molecular de 30.000; diâmetro de 28 a 32.000 dalton; vida média aproximada de dois minutos; fácil e rápida inativação por proteínas plasmáticas.

Outros fatores com estrutura molecular muito semelhante à do PDGF foram identificados em macrófagos^{12,13} (MDGF “macrophage derived growth factor”) e em células endoteliais^{14,15} (EGDF “endotelial derived growth factor”). Assinale-se que a arquitetura molecular da PDGF mimetiza a de proteínas de alguns vírus, fato cuja importância analisaremos adiante.

Fatores quimiotáticos—O próprio PDGF é um desses fatores. Investigações demonstraram que ele determina migração de células musculares da camada média para a região subendotelial¹⁶⁻¹⁸. Os macrófagos também produzem um fator quimiotático muito potente, que recebeu o nome de leucotriene B₄, formado no sistema lipoxigenase a partir do ácido araquidônico¹⁹. Os fatores quimiotáticos determinam migração de células, a qual tem participação na gênese do ateroma.

Fatores de aderência celular—A atividade desses fatores estabelece o contato entre células homólogas ou heterólogas, facilitando a recomposição da arquitetura de tecidos lesados por diferentes mecanismos. Dentre esses fatores, citamos o fator Von Willebrand (fator VIII) que medeia a ligação das plaquetas com estruturas subendoteliais²⁰. Suínos com a doença de Von Willebrand (ausência de fator VIII) mostraram-se resistentes à aterosclerose induzida por hipercolesterolemia experimental. Em locais da parede arterial com alterações da íntima, não foi observada aderência das plaquetas, comprovando a importante participação do fator VIII²¹.

Recentemente, Endeman e col²² demonstraram que alterações de lipoproteínas plasmáticas (LDL-oxidadas) facilitam a aderência de monócitos às células endoteliais.

A fibronectina (glicoproteína) é também importante fator de aderência de células endoteliais do tecido

Trabalho realizado no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

conectivo e de plaquetas à fibrina²³. Esta substância exerce importante papel na formação de trombos normais e patológicos.

Receptores Celulares

Está sobejamente demonstrado que células endoteliais, CML, monócitos-macrófagos e fibroblastos dispõem de formações (receptores) que fixam a parte proteica (apoproteína) das lipoproteínas de baixa (LDL) e de alta (HDL) densidades. Em outras palavras, existem células receptoras que fixam a apoproteína B e também reconhecem a apoproteína E, presentes respectivamente nas LDL e nas HDL. Através da interiorização celular dessas proteínas há degradação lisossômica e regulação do metabolismo do colesterol^{24 25}. Especula-se se mutação na molécula das apoproteínas poderia afetar a interação dessas lipoproteínas com monócitos/macrófagos e células da parede arterial, facilitando a aterogênese²⁵.

Receptores para PDGF e PDGF-símile foram identificados em CML, fibroblastos e outras derivadas do mesênquima, mas as células endoteliais não dispõem de receptores para esses fatores²⁷.

LESÕES ATEROSCLERÓTICAS INICIAIS

Apresentados os elementos básicos, vamos analisar os mais prováveis mecanismos envolvidos na formação da lesão inicial da aterosclerose. Três possibilidades patogênicas em relação à participação das plaquetas devem ser consideradas: 1) imediata e direta; 2) mediata ou tardia; 3) ausente.

As duas primeiras possibilidades envolvem rotura de células endoteliais e conseqüente contato das estruturas subendoteliais com o sangue circulante; na última, há apenas alterações funcionais das células endoteliais, mantendo-se sua integridade morfológica, não havendo

interação entre sangue circulante e endotélio, mas ocorrendo, por diversos mecanismos, sucessão de eventos na íntima que levam à formação da estria lipídica. Analisaremos separadamente essas possibilidades.

Participação imediata das plaquetas

Todas as vezes que agentes injuriantes destroem células endoteliais da íntima arterial, expondo a camada subendotelial ao sangue circulante, ocorre adesão imediata de plaquetas ao local lesado e uma sucessão de eventos que tendem a reparar a parede² (fig. 1). Esse fato pode ser demonstrado experimentalmente ao provocar-se desnudação do endotélio de uma artéria através de cateter-balão. Nessas condições, há presença imediata de plaquetas, que se dirigem ao local por ação de substâncias quimiotáticas liberadas e que aderem às estruturas subendoteliais graças à atividade do fator VIII (fator Von Willebrand). As plaquetas assim aderidas liberam PDGF que se liga aos receptores específicos presentes nas CML e, através dele, dois fenômenos ocorrem: proliferação de CML, e migração destas da camada média para a região subendotelial. Se não houver rápida recomposição do endotélio, há possibilidade de penetração não seletiva de macromoléculas na íntima, sendo a entrada de LDL particularmente deletéria. As CML dispõem de receptores para internar essas moléculas, mas sua capacidade é limitada, podendo resultar excesso delas na parede arterial. Como o colesterol é o principal componente das LDL, tem estrutura molecular complexa e catabolização difícil, passa a comportar-se como substância estranha, desencadeando ação fagocitária dos macrófagos, os quais não têm mecanismos enzimáticos básicos capazes de limitar a entrada do colesterol. Do excesso de LDL no subendotélio resulta a presença de grandes células abarrotadas de gorduras e que eventualmente se rompem, estimulando a proliferação de fibroblastos, com fibrose conseqüente.

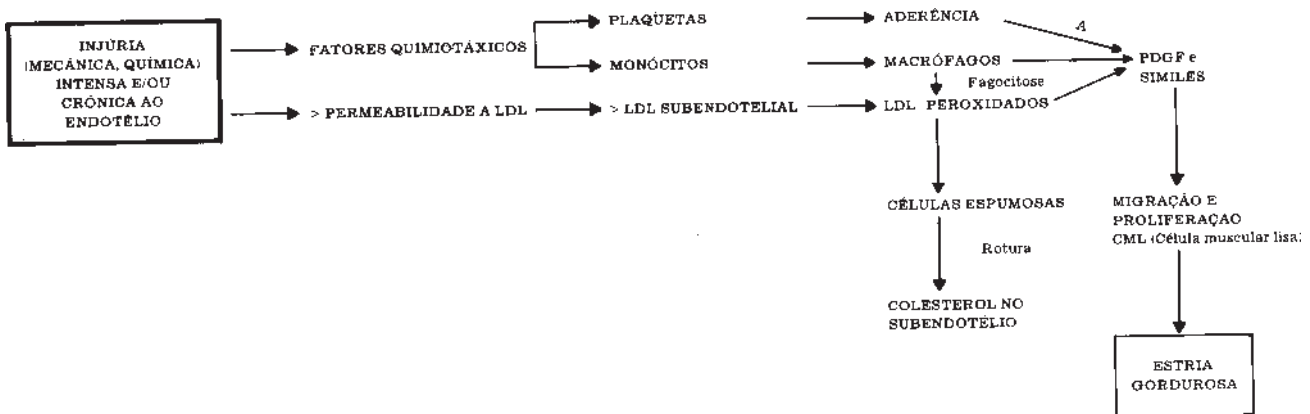


Fig. 1—Aterogênese: participação plaquetária imediata. LDL—lipoproteína de baixa densidade; PDGF—fator mitogênico de origem plaquetária; CML—célula muscular lisa.

Vale destacar que, paralelamente a esses fatos, as plaquetas aderidas determinam ativação do metabolismo do ácido araquidônico e produção de endoperóxidos cíclicos, que levam à formação de tromboxane A2 (TXA2), cuja atividade determina contração da musculatura lisa das artérias²⁸. Em sentido oposto, substâncias formadas a partir das células endoteliais inibem a ação vasomotora constritiva do TXA2 (PGI2 ou prostaciclina, e EDRF—endothelial derived relaxing factor^{29,30}. Ambas provocam diminuição do tônus do vaso, levando à sua dilatação. Obviamente a destruição endotelial e a agregação plaquetária com-correm para vasoconstrição importante, facilitando a formação de trombo.

Quais dos diferentes fatores de risco envolvidos na aterogênese poderiam determinar prolongada desnudação endotelial capaz de permitir a seqüência de eventos acima expostos? É provável que pressão de fluxo elevada em locais de brusca modificação do fluxo arterial (tortuosidades, bifurcações) determine diminuição da pressão lateral e sucção importante da camada íntima, fato observado por estudos experimentais³¹.

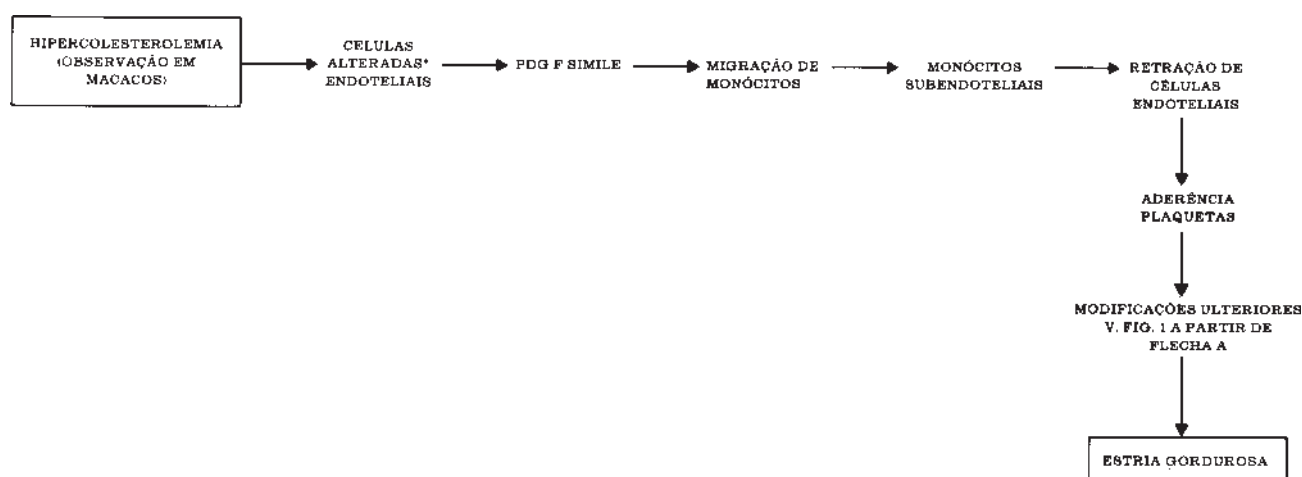


Fig. 2—Aterogênese: participação plaquetária tardia. PDGF—fator mitogênico de origem plaquetária. * (Membrana celular modificada + aumento da viscosidade intracelular).

jam estimuladas a liberar substâncias com propriedades quimiotáticas que atuam sobre os monócitos. Gerrity e col³⁴ observaram, em porcos, que “monócitos hipercolesterolêmicos” são estimulados a migrar e penetrar em pontos alterados da superfície endotelial de artérias; nesses locais de permeabilidade aumentada foi possível a identificação de fatores com propriedades quimiotáticas, fato não observado naqueles em que o endotélio era normal.

Deve ser lembrado que em cultura de células, “monócitos hipercolesterolêmicos” são tóxicos para fibroblastos, segundo observaram Cathcart e col³⁵. Pode-se admitir que também o sejam para células endoteliais, embora tal fato não tenha sido demonstrado.

Participação mediata ou tardia das plaquetas

A microscopia eletrônica de varredura demonstrou que hipercolesterolemia induzida em primatas não humanos se acompanha de uma seqüência de fenômenos com participação das plaquetas em fase tardia e que resultam na formação da estria gordurosa. Assim, Faggiotto e col^{32,33} observaram que a primeira reação à elevação de LDL na circulação é a migração de monócitos circulantes para locais aleatórios da superfície endotelial das artérias. Esse fenômeno pode ser observado após 12 dias, com penetração dos monócitos através das junções intercelulares endoteliais, atingindo a camada subendotelial. Aproximadamente ao redor do quinto mês, há progressiva retração das células endoteliais e as estruturas do subendotélio entram em contato com o sangue circulante, havendo pois condições para a aderência plaquetária e a seqüência de eventos indicados na hipótese anterior (fig. 2).

Não se conhecem os mecanismos íntimos que determinam a migração dos monócitos para a superfície endotelial na hipercolesterolemia. É possível que células endoteliais submetidas a níveis elevados de LDL se-

Outra possibilidade é que as próprias células endoteliais, submetidas à ação constante de altos níveis de LDL, sofram alterações de sua membrana e modificações da viscosidade intracelular³⁵, podendo resultar liberação de substâncias quimiotáticas e mitogênicas.

Seja através das células endoteliais, seja dos monócitos, ou de ambos, há liberação de substâncias PDGF-símile que estimulam a proliferação e migração das CML, precedendo a participação plaquetária que ocorre apenas tardiamente.

Dessa maneira vemos que, em relação aos fatores de risco reconhecidos, a hipercolesterolemia representa por si estímulo capaz de levar às reações antes apontadas. Isso explica porque em condições de hipercolesterolemia muito precoce (forma homocigótica de

hipercolesterolemia familiar ou seu equivalente genético em animais de laboratório—coelhos Watanabe —), mesmo em ausência de quaisquer outros fatores adicionais, há desenvolvimento prematuro de lesões ateroscleróticas^{37,38}.

Sem participação plaquetária

Alguns achados parecem justificar a hipótese de que as lesões evolutivas seqüenciais da aterosclerose (até a fase de placa fibrosa) possam desenvolver-se sem exposição do subendotélio ao sangue circulante; assim não haveria aderência das plaquetas às estruturas subendoteliais em nenhuma fase. Essa eventualidade ocorreria em função de uma das possibilidades indicadas a seguir (fig. 3).

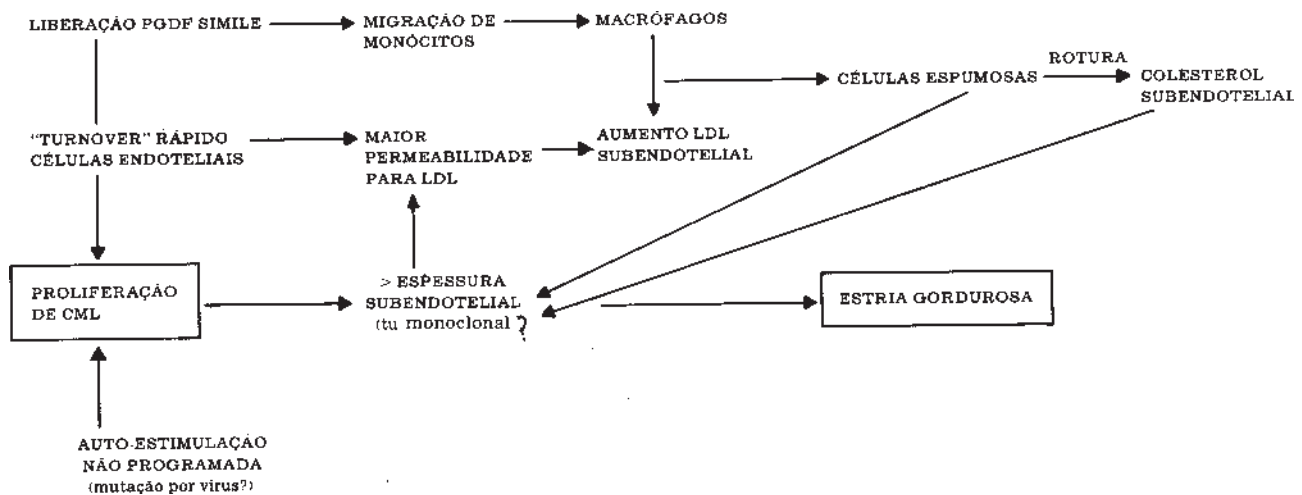


Fig. 3—Aterogênese: sem participação de plaquetas. PDGF—fator mitogênico de origem plaquetária; CML—célula muscular lisa; LDL—lipoproteína de baixa densidade.

que ocorre nos leiomiomas. Algumas pesquisas⁴⁰⁻⁴² parecem fundamentar a hipótese e é possível que mutação celular seja responsável por multiplicação monoclonal. Benditt⁴⁰ admite que CML matrizes possam sofrer transformação por ação de agentes químicos ou biológicos (vírus, por exemplo). Nesse sentido, é importante ressaltar que algumas investigações⁴³⁻⁴⁶ demonstraram estreita semelhança entre seqüência de aminoácidos das moléculas de PDGF e as identificadas em proteínas derivadas de células que sofreram ação oncogênica de vírus (sarcoma obtido experimentalmente em símios). Além disso, pesquisas mostraram que células lesadas por retrovírus e células de tumores humanos secretam moléculas muito semelhantes às do PDGF^{47,48}.

Outros estudos também valorizam essa hipótese, pois aterosclerose foi obtida em frangos por Fabricant e col⁴⁹, pela inoculação de vírus do tipo herpes, enquanto que Barret e col⁵⁰ identificaram RNA de vírus de herpes em artérias de pacientes revascularizados.

Feitas essas considerações poder-se-ia aceitar a aterosclerose como doença fundamentalmente leio-

A primeira possibilidade decorre da extrema rapidez de reposição de células endoteliais injuriadas por células novas, com manutenção da integridade da camada endotelial². Esse rápido “turnover” responde pela formação de fatores mitogênicos e quimiotáticos (PDGF-simile), de que resulta a seqüência de fenômenos já expostos (multiplicação e migração de CML).

Outra possibilidade admitida por Ross² é que as CML possam multiplicar-se por auto-estimulação não programada. Essa hipótese parece enquadrar-se na teoria monoclonal para a aterogênese, proposta por Benditt e Benditt³⁹. Segundo esses pesquisadores, a lesão inicial seria resultado da multiplicação de CML com caráter tumoral a partir de uma célula matriz, à semelhança do

mioproliferativa das artérias de médio e grande calibre que se inicia em geral pela atuação de potentes fatores mitogênicos, derivados de plaquetas, células endoteliais, monócitos ou das próprias CML. Na grande maioria dos casos, a proliferação das CML deve iniciar-se em razão das alterações endoteliais (injúria), mas são bastante prováveis situações em que ela represente o fenômeno primário (espontâneo? mutação secundária a vírus?).

Aspectos críticos do problema é definir a base genética que condiciona maior ou menor suscetibilidade das pessoas à doença. É lícito suspeitar que as CML disponham de número variável de receptores para fatores mitogênicos e quimiotáticos, para cada indivíduo, o que lhes conferiria suscetibilidade diversa diante de mesmos fatores injuriantes endoteliais.

LESÕES ATROSCLERÓTICAS COMPLICADAS

As considerações anteriores limitaram-se apenas a descrever mecanismos possivelmente envolvidos na gênese da lesão inicial (estria gordurosa) e na sua evolu-

ção para a etapa seguinte de formação da placa fibrosa.

Alterações subseqüentes nesta placa (hemorragia, fissura, necrose, calcificação) correspondem à terceira fase do processo. Nesta, há formação de trombo, também por ativação plaquetária, pois há condições (endotélio danificado) de exposição do subendotélio ao sangue circulante.

As plaquetas podem, portanto, ter relevância em duas fases críticas da aterosclerose, ou seja, no início da formação do ateroma e, pela formação de trombo, na eclosão dos eventos clínicos. Este último papel é objeto de intensa investigação, sobretudo no que se refere aos episódios isquêmicos miocárdicos agudos. Observações de Muller e col^{51,52} relacionaram ocorrência de infarto do miocárdio agudo não fatal e morte súbita no período matutino, correspondente à fase em que as plaquetas são mais agregáveis. Nessa oportunidade, elas acumular-se-iam em locais de lesões ateroscleróticas e precipitariam oclusão sub total ou to-tal, com as conseqüências conhecidas. Nesse sentido, é compreensível que antiagregantes plaquetários, como o ácido acetilsalicílico tenham se mostrado úteis na prevenção de infarto do miocárdio e de morte súbita, em portadores de angina instável⁵³.

Outro detalhe envolvido na evolução da doença aterosclerótica e que vem merecendo atenção dos pesquisadores diz respeito à neoformação vascular presente na placa. Barger e seu grupo^{54,55} constataram que a mesma provém da adventícia, atravessa a média e atinge o ateroma; essa neovascularização não está presente na parede arterial normal. Como esses vasos não formados têm paredes frágeis, rompem-se facilmente. Hemorragias no interior da placa podem ser causa de sua rotura.

A gênese dessa neoformação vascular é discutida, mas se admite que resulte da ação de substâncias específicas designadas "fatores angiogênicos", dentre as quais se destaca a angiogenina, com acentuada atividade em concentrações extremamente baixas (10-12 a 10-15 gramas). Esses fatores estão presentes em várias situações clínicas, tendo sido isoladas inicialmente a partir de experiências com tecidos tumorais, nos quais a vascularização é fenômeno marcante⁵⁵⁻⁵⁸.

A angiogênese na parede das artérias coronárias poderia ser responsável por hemorragia na placa, aumento de seu volume e oclusão do vaso, com conseqüente infarto do miocárdio. Não é improvável que, no futuro, através da inibição da atividade dos fatores angiogênicos, se disponha de mais um recurso para evitar a obstrução da luz arterial.

REFERÊNCIAS

- Ross R, Glomset JA—The pathogenesis of atherosclerosis. *N. Engl J Med.* 295: 420,1976.
- Ross R—The pathogenesis of atherosclerosis—an update *N Engl J Med.* 314: 488,1986.
- Ross R, Glomset JA, Kariya B, Harker L—A platelet dependent serum factor that stimulates proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro- *Proc Natl Acad Sci USA* 71: 107, 1974
- Heldin CH, Westermark B, Wastesan A—Platelet-derived growth factor: purification and partial characterization- *Proc Natl Acad Sci USA*, 76: 3722, 1979.
- Deuel TF, Huang JS, Proffitt RR, Baenziget JV, Chang D, Kennedy BB—Human platelet derived growth factor: purification and resolution into two active protein fractions *J. Biol- Chem*, 256: 8896, 1981.
- Antoniades HN—Human platelet-derived growth factor (PDGF): Purification of PDGF I and PDGF-II and separation of their reduced subunits- *Proc Natl Acad Sei USA*, 73: 7314, 1981.
- Raines EW, Ross R—Platelet derived growth factor. I High yield purification and evidence for multiple forms. *J Biol Chem*, 275: 5154, 1982
- Kaplan KL, Broekman MJ, Chernoff A, Lesznik GR, Drillings M—Platelet d-gramites proteins: studies on release and subcellular localization. *Blood*, 53: 604,1079.
- Brown-Popoe DF, Malpass TW, Boss R—Platelet-derived growth factor in vivo: levels, activity and rate of clearance. *Blood*, 64: 458, 1984.
- Raines EW, Bowen-Pope DF, Ross R—Plasma binding proteins for platelet derived growth factor that inhibit its binding to cell-surface receptors. *Proc. Natl Acad USA*, 81: 3424, 1984.
- Huang JS, Huang SS, Deuel RF,— Specific covalent binding of platelet-derived growth factor to human plasma 2-macroglobulin- *Proc Natl Acad USA*, 81: 342,1984.
- Shimakado K, Raines EW, Madtes DK, Barrett TB, Benditt EP, Ross R.—A significant part of macrophage derived growth factor consists at least two forms of PDGF *Cell*, 43: 277,1986.
- Bitterman PB, Rennard ST, Getzel EJ—Human alveolar macrophage growth factor for fibroblasts: regulation and partial characterization. *J Clin Invest*, 70: 806,1982.
- GaJdusek CM, Di Corleto P, Ross R, Schwartz SM—An endothelial cell derived growth factor- *J Cell Biol*, 85: 467,1980.
- Di Corleto PE, Bowen-Pope DF—Cultured endothelial cell produced a platelet derived growth factor like protein. *Proe Nath Acad Sei USA*, 80: 1919, 1983.
- Grotensdorst GR, Chang T, Seppa HEJ, Kleinman HK, Metin GR— Platelet-derived growth factor is a chemoattractant for vascular smooth muscle cells- *J Cell Physiol*, 113: 261,1982.
- Seppa H, Grotendorst GR, Seppä S, Schiffmann E, Martin GR — Platelet-derived growth factor is chemotactic for fibroblasts. *J Cell Biol*, 92: 584, 1982.
- Deuel TF, Senior RM, Huang JS, Griffin CL—Chemotaxis of monocytes and neutrophils to platelet-derived grow factor- *J Clin Invest*, 69: 1046,1982.
- Martin RR, Altman LC, Albert RK, Henderson WR—Leukotriene B⁴ production by human alveolar macrophage: a potencial mechanism for amplifying inflammation in the lung- *Am Rev Respir Dis*, 129: 106,1984.
- Legrand YJ, Fauvel F, Gutman N et al.—Microfibrils (M. F.) — platelet interactions. *Throm Res*, 19: 737, 1980.
- Fuster W, Bowie EJW, Lewis JC et al—Resistance to arteriosclerosis in pigs with von Willebrand's disease Spontaneous and high cholesterol diet induced arteriosclerosis. *J Clin Invest*, 61: 722, 1983.
- Endemann G, Pronzeuk A, Friedman G, Lindsey S, Alderson L, Hayes KC—Monocytes adherence to endothelial in cells in vitro is increased by VIDL *Am J Path*, 126: IM987.
- Hynes RO—Fibronectins. *Sci Am*, 254: 442, 1986.
- Brown MS, Goldstein JL—A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*, 232: 34,1986.
- Mahley RW—Atherogenic lipoproteins and coronary artery disease: concepts derived from advances in cellular and molecular biology. *Circulation*, 72: 943,1985.
- Goldstein JL, Brown MS—Genetics and cardiovascular disease. In Braunwald E. (ed): *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*, 3 ed. Philadelphia WB, Saunders 1988, p. 1617.
- Pike LJ, Bowen-Pope DF, Ross R, Krebs EG—Characterization of platelet derived growth factor—stimulated phosphorylation in eells membrane. *J Biol Chem*. 258: 9383, 1983.
- Moncada S, Gryglewsky R, Bunting S, Vand JR—An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to

- an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature*, 263: 663,1976.
29. Samuelson B, Hamberg M, Malmsten C, Syenansson J—The role of prostaglandin endoperoxides and tromboxanes in platelet aggregation. *Adv Prostaglandin Tromboxane Res*, 2: 737,1976.
 30. Luseher TF, Cooke JP, Houston DS, Neves RJ, Vanhoute PM — Endothelium dependent relaxation in human arterioles. *Mayo Clin Provc*, 62: 601,1987.
 31. Texon M—Atherosclerosis: its hemodynamic basis and implications. *Med Clin N Amer*, 58: 257, 1974.
 32. Faggiotto A, Ross R, Harter L—Studies of hypercholesterolemia in the nonhuman primate. I. Changes that lead to fatty streak formation. *Arteriosclerosis*, 4: 232,1984.
 33. Faggiotto A, Ross R—Studies of hypercholesterolemia in the nonhuman primate II. Fatty streak conversion to fibrous plaque. *Arteriosclerosis*, 4: 341,1984.
 34. Gerrity RG, Goss JA, Soby L—Control of monocyte recruitment by chemotactic factor (s) in lesion prone areas of swine aorta. *Arteriosclerosis*, 5: 55, 1985.
 35. Cathcart MK, Morel DW, Chisolm GM—III. Monocytes and neutrophils oxidize low-density lipoprotein making it cytotoxic. *J Leuk Biol*. 38: 341,1985.
 36. Jackson RL, Gotto Jr AM—Hypothesis concerning membrane structure, cholesterol, and atherosclerosis. In Paoletti R, Gotto AMJ (ed), *Atherosclerosis Reviews*. vol 1 New York, Raven Press, 1976. p. 1.
 37. Goldstein JL, Brown MS—Lipoprotein receptors: genetic defense against atherosclerosis. *Clin Res*, 30: 417,1982.
 38. Rosenfeld ME, Faggiotto A, Ross R—The role of mononuclear phagocyte in primate and rabbit models of atherosclerosis. *Proceedings of the Fourth Leiden Conference on Mononuclear Phagocytes* (citado por Ross⁹).
 39. Benditt EP, Benditt JM—Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. *Proc Natl Acad Sci USA*, 70: 1753, 1973.
 40. Benditt EP—Implications of the monoclonal character of human atherosclerotic plaque. *Beitr Pathol*, 158: 405,1976.
 41. Fialkow PJ—The origin and development of human tumors studied with cells markers. *N Engl J Med*. 291: 16,1974.
 42. Thomas WA, Reiner JM, Janekideri K, Florentin RA, Lee KT — Population dynamics of arterial cells during atherogenesis. Study of monotypism in atherosclerotic lesions of black women heterozygous for glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD). *Exp Mol Path*, 31: 367,1979.
 43. Waterheld MD, Serace GT, Whittle N et al—Platelet derived growth factor is structurally related to the putative transforming protein p 28 of simian sarcoma virus. *Nature*, 304: 35, 1983.
 44. Doolittle RF, Hunkapiller MW, Hood LE et al—Simian sarcoma virus one gene, v-sis, is derived from gene (or genes) encoding a platelet-derived growth factor. *Science*. 221: 257, 1983.
 45. Devare SG, Shatzman A, Robbins KC, Rosenberg M, Aaronson SA— Expression of the PDGF related transforming protein of simian sarcoma virus in *E. coli*. *Cell*, 36: 43,1984.
 46. Deuel TF, Huang JS, Huang SS, Stroobant P, Waterfield MD — Expression of a platelet-derived growth factor like protein in simian sarcoma virus transformed cells. *Science*. 221: 1348,1983.
 47. Heldin CH, Westermark KB, Wasterson A—Chemical and biological properties of a growth factor human-cultured osteosarcoma cells: resemblance with platelet-derived growth factor. *J Cell Physiol*, 105: 235, 1980.
 48. Bowen-Pope DF, Vogel A, Ross R—Production of platelet derived growth factor-like molecules and reduced expression of platelet-derived growth factor receptors accompany transformation by a wide spectrum of agents. *Proc Natl Acad Sci*, 81: 2396, 284.
 49. Fabricant CG, Fabricant J, Litrenta MM, Minick CR —Virus induced atherosclerosis. *J Exp Med*. 148: 335, 1978.
 50. Barret T, McDougall JK, Benditt EP—Herpes virus and atherosclerotic lesions in humans. *Fed Proc*, 45: 501A, 1983.
 51. Muller JE, Stone PH, Turi ZG, Rugherford J D, Czeisler CA, Parker C, Poole WK, Roberts R, Robertson R, Sobel BE, Willerson JT, Baunwald E—Milis Study Group: Circadian variation in the frequency of onset of acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 313: 1315, 1985.
 52. Muller JE, Ludmer PL, Willich SN, Totler GH, Aylmer G, Klangos I, Stone PH—Circadian variation in the frequency of sudden cardiac death. *Circulation*, 75: 131,1987.
 53. Lewis Jr HD, Davis JW, Archibald DG, Steinke WE, Smitherman TC, Doherty JE III, Sehnaper HW, Le Winter MM, Linares E, Poget JM, Sbarwal SC, Chesler E, DeMots H—Protective effects of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina. *N Engl J Med*, 309: 396, 1983.
 54. Barger AC, Beenwkes R, Lainey LL, Silverman KJ—Hypothesis: vasasorum and vasasorum and neovascularization of human coronary arteries. *N Engl J Med*, 310: 175,1984.
 55. Beewkes R, Barges AC, Silverman KJ, Lainley LL— Cinemicrographic studies of the vasasorum of human coronary arteries. In Glaco S. ed—*Evolution of the Human Atherosclerotic Plaque*. New York, Springer Verlag, 1988.
 56. Folkman J—How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue? *Cancer Res*, 46: 467, 1986.
 57. Folkman J, Klagsbrum M—Angiogenic factors. *Science*, 235: 442. 2987.
 58. Fett JW, Strydom DS, Lobb RR, Bethune JL, Aldreman EM, Riordan JF, Vallec BL—Isolation and characterization of angiogenin, an angiogenic protein from human carcinoma cells. *Biochemistry*, 24: 5480, 1985.