

## Asociación entre Marcadores Inflamatorios y Factores de Riesgo Cardiovascular en Mujeres de Kolkata, W.B, India

Debdutta Ganguli<sup>1</sup>, Nilanjan Das<sup>1</sup>, Indranil Saha<sup>1,4</sup>, Krishna Rao Sanapala<sup>2</sup>, Debnath Chaudhuri<sup>3</sup>, Saurabh Ghosh<sup>2</sup>, Sanjit Dey<sup>1</sup>

Department of Physiology, University College of Science and Technology, University of Calcutta, West Bengal, India<sup>1</sup>; Human Genetics Unit, Indian Statistical Institute, Kolkata, India<sup>2</sup>; Department of Biochemistry and Nutrition, All India Institute of Hygiene and Public Health, West Bengal, India<sup>3</sup>; Present Address: Department of Community Medicine, RG Kar Medical College and Hospital, Kolkata, India<sup>4</sup>

### Resumen

**Fundamento:** Recientes investigaciones se han concentrado en el uso de biomarcadores inflamatorios en la previsión de riesgo cardiovascular. Entre tanto, la información es escasa en relación a la asociación entre esos marcadores inflamatorios con otros factores de riesgo cardiovasculares en indios asiáticos, particularmente en mujeres.

**Objetivo:** Explorar la asociación entre marcadores inflamatorios tales como proteína C-reactiva de alta sensibilidad (PCR-as) y recuento de leucocitos (LEU) y factores de riesgo cardiovascular tales como adiposidad general y central, presión arterial, variables lipídicas y lipoproteicas y glucemia de ayuno.

**Métodos:** Condujimos un análisis transversal de 100 mujeres con edad entre 35-80 años. Las participantes fueron seleccionadas a través de la metodología de muestreo por cluster, de 12 distritos urbanos seleccionadas al azar en la Corporación Municipal de Kolkata, India.

**Resultados:** La PCR-as presentó una asociación significativa con el índice de masa corporal (IMC) ( $r=0,373$ ,  $p<0,001$ ) y circunferencia de la cintura (CCI) ( $r=0,301$ ,  $p=0,002$ ). Asociaciones significativas inversas fueron observadas entre la lipoproteína de alta densidad colesterol (HDL-c) y ambos marcadores inflamatorios ( $r= -0,220$ ,  $p=0,031$  y  $r= -0,247$ ,  $p=0,014$  para PCR-as y LEU, respectivamente). La apo-lipoproteína A1 (Apo A1) también estaba negativamente asociada con la PCR-as ( $r= -0,237$ ,  $p=0,031$ ). El recuento de leucocitos presentó una correlación significativa con la glucemia de ayuno ( $r=0,253$ ,  $p=0,011$ ) y la razón colesterol total (CT) /HDL-C ( $r=0,284$ ,  $p=0,004$ ). Usando regresión logística ajustada para edad, IMC (odds ratio/OR, 1,186; intervalo de confianza/IC, 1,046-1,345;  $p=0,008$ ) y LEU (OR, 1,045; IC, 1,005-1,087;  $p=0,027$ ) fueron las covariantes significativamente asociadas con la PCR-as.

**Conclusión:** En el presente estudio, los factores de riesgo tales como IMC, CCI y HDL-c y Apo-A1 mostraron una asociación significativa con PCR-as. El recuento de leucocitos estaba significativamente asociado a los niveles de HDL-c, glucemia de ayuno, razón CT/HDL-c en mujeres. (Arq Bras Cardiol 2011; 96(1): 38-46)

**Palabras clave:** Inflamación, IMC, HDL-C, adiposidad, proteína C-reactiva de alta sensibilidad.

### Introducción

Recientes estudios epidemiológicos han relatado una fuerte y consistente asociación entre factores de riesgo para enfermedad cardiovascular (ECV) e inflamación<sup>1,2</sup> y esta ha sido identificada como un factor de riesgo independiente para ECV<sup>3,4</sup>. De los nuevos marcadores inflamatorios actualmente investigados, la proteína C-reactiva de alta sensibilidad (PCR-as) y el recuento de leucocitos o leucograma (LEU) son los más promisorios. Un número de estudios epidemiológicos prospectivos han demostrado consistentemente que la PCR-as<sup>5,6</sup>, así como el recuento de leucocitos<sup>7</sup> pueden predecir de

forma independiente el riesgo vascular en hombres y mujeres aparentemente sanos, asintomáticos para los tradicionales factores de riesgo para ECV. Además de eso, ambos marcadores<sup>1,2</sup> también adicionan información pronóstica en pacientes con señales clínicas de ECV, además de aquella disponible con base en la evaluación lipídica estándar. Un número sustancial de estudios transversales ya estableció el hecho de que la PCR-as y el recuento de leucocitos se correlacionan de forma significativa con componentes del síndrome metabólico<sup>8-10</sup>.

En la India, los datos son escasos en relación a la asociación de esos biomarcadores inflamatorios con otros factores de riesgo para ECV en adultos, particularmente en mujeres. Así, los objetivos del presente estudio fueron investigar la asociación entre la PCR-as y el recuento de leucocitos con factores de riesgo tales como índice de masa corporal, circunferencia de la cintura, razón cintura-cadera, presión arterial, variables lipídicas y lipoproteicas y glucemia de ayuno.

### Correspondencia: Sanjit Dey •

Department of Physiology, University College of Science and Technology, University of Calcutta, 92, APC Road, Kolkata- 700 009, West Bengal - India  
E-mail: sanjitedey2003@yahoo.com  
Artículo recibido en 11/02/10; revisado recibido en 11/02/10; aceptado en 28/05/10.

## Materiales y Método

### Participantes del estudio

Seleccionamos randómicamente una población de 100 mujeres con edad de 35-80 años a partir de un estudio epidemiológico existente sobre evaluación de riesgo cardiovascular, envolviendo 701 mujeres residentes (con edad de 35 años o más) de distritos urbanos que estaban hace 29,8 años, en media, en Kolkata. El estudio fue realizado de acuerdo con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para estudios utilizando la metodología de muestreo por cluster<sup>11</sup>, en 12 diferentes distritos de 141 distritos de la Corporación Municipal de Kolkata, de acuerdo con los datos del censo más reciente. Los distritos o clusters fueron incluidos en el estudio a través de muestreo randómico simple sin sustitución. De acuerdo con la estrategia de muestreo por cluster, en cada uno de los distritos o clusters, un local cerca del centro del distrito era elegido como el punto de inicio y una dirección era seleccionada al azar. Entonces los domicilios eran elegidos de forma randómica a lo largo de la dirección, después de la verificación de adecuación a los criterios de inclusión - mujeres de 35 años o más, independientemente de su estado civil, pero no grávidas. Los criterios de exclusión fueron enfermedad aguda o cualquier tratamiento para enfermedad infecciosa crónica o inflamatoria, antes o en la época de la investigación. Individuos no dispuestos a participar del estudio fueron excluidos durante la investigación. Individuos que utilizaban aspirina como medicación crónica también fueron excluidos. Ninguno de los individuos relató que estaba utilizando medicación hipolipemiente. Entre las mujeres elegibles, 57 fueron identificados como post-menopáusicas y las restantes 43 mujeres estaban en la premenopausia.

Las mujeres dieron su consentimiento libre e informado para participar del estudio, que fue aprobado por el Comité de Ética Humana del Departamento de Fisiología Humana de la Universidad de Calcuta.

### Cuestionario

Una entrevista basada en un cuestionario fue utilizada para coleccionar informaciones sobre el hábito de fumar, uso de tabaco de mascar, consumo de alcohol, historial médico familiar y personal de hipertensión, diabetes e infarto del miocardio. Las participantes fueron entrevistadas sobre su estado menopáusico e historia de cualquier intervención quirúrgica, como histerectomía. Las mujeres fueron consideradas premenopáusicas que habían tenido uno o más episodios de sangrado regulares en los 12 meses anteriores. Las mujeres fueron consideradas postmenopáusicas si la menstruación hubiese cesado naturalmente o quirúrgicamente (por ex., histerectomía), por al menos 12 meses continuos. Las participantes también fueron entrevistadas sobre su historia de dislipidemia, uso corriente de medicación antihipertensiva o hipoglicémica o medicamentos hipolipemiantes y uso de terapia de reposición hormonal postmenopausia. La validez de las respuestas a las preguntas sobre el uso de medicamentos fue confirmada a través de la verificación de los registros médicos.

### Medidas antropométricas y bioquímicas

La altura fue medida con una precisión de 0,5 cm, con las participantes descalzas, utilizando un antropómetro. El peso fue medido con las participantes vistiendo ropas livianas después de la remoción de los zapatos, con una precisión de 0,1 kg. La circunferencia de la cintura (CCI) fue medida utilizando una cinta métrica no elástica en el punto medio entre la última costilla y la cresta ilíaca en el plano horizontal. La circunferencia máxima de la cadera (CCA) fue medida horizontalmente al nivel de la extensión máxima de los glúteos. Para cada medida de la circunferencia de la cintura y de la cadera, dos medidas eran tomadas, con una precisión de 0,5 cm. La media de las dos medidas más próximas fue calculada. La razón cintura-cadera (RCC) fue calculada a través de la ecuación estándar:  $RCC = CCI \text{ (cm)} / CCA \text{ (cm)}$ .

El IMC fue calculado como peso/altura<sup>2</sup> (kg/m<sup>2</sup>). La presión arterial fue medida en el brazo derecho de las participantes en la posición sentada, relajada y con el brazo apoyado al nivel del corazón utilizando un esfigmomanómetro de mercurio estándar. Las presiones sistólica y diastólica fueron registradas como el inicio del primer y quinto sonidos de Korotkoff, respectivamente. Para cada una de las medidas, fueron hechas dos lecturas con 5 minutos de intervalo entre ellas y la media de las dos lecturas fue calculada para obtener la presión arterial final. Las participantes fueron orientadas a evitar el tabaco, bebidas cafeinadas y ejercicio por al menos 30 minutos antes de la medida de la presión arterial. Fue pedido a las participantes que se mantengan en ayuno por al menos 10 horas antes de recoger las muestras la mañana del día siguiente. La venopunción fue realizada por un médico entrenado con las participantes en la posición sentada. La glucemia de ayuno fue medida a través del método de glucosa-oxidasa/peroxidasa<sup>12</sup>, colesterol total sérico fue medido a través del método colesterol oxidasa/peroxidasa-amidopirina<sup>13</sup> y los triglicéridos (TG) séricos fueron medidos por el método glicerol fosfato oxidasa/peroxidasa-amidopirina<sup>14</sup> utilizando kits de ensayo provistos por Randox Laboratories Ltd (Crumlin, Co. Antrim, Reino Unido) en un espectrofotómetro (Bio-rad, Hercules, California, EUA). El HDL-C también fue determinado por el mismo método después de precipitación de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) y la lipoproteína de baja densidad (LDL) por el polietileno-glicol PEG 6000. El LDL-colesterol (LDL-C) fue calculado utilizando la fórmula:  $LDL-C = \text{colesterol total} - HDL-C - (TG/5)$ <sup>15</sup>. Lipoproteína (a) (Lp(a)), apolipoproteína A1 y B fueron medidas por método de inmunoensayo automatizado turbidimétrico<sup>16,17</sup> con kits de reactivos provistos por Randox Laboratories Ltd en un Randox RX Daytona Sistema Autoanalizador (Crumlin, Co. Antrim, Reino Unido).

### Criterios de definiciones y diagnósticos

La obesidad fue definida como un IMC > 25 kg/m<sup>2</sup><sup>18</sup>. De acuerdo con el Séptimo Informe del Joint National Committee (JNC) sobre Prevención, Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipertensión Arterial<sup>19</sup>, individuos fueron considerados hipertensos cuando la presión arterial sistólica era  $\geq 140$  mmHg, la presión arterial diastólica era  $\geq 90$  mmHg o ambos, o si las participantes estuviesen tomando medicación antihipertensiva. Diabetes fue definida como

niveles glicémicos de ayuno de 7,0 mmol/l o más ( $\geq 126$  mg/dl) o si estuviesen tomando medicación para diabetes por los criterios establecidos por el Programa Educativo Nacional del Colesterol (NCEP), Panel de Tratamiento del Adulto III (ATP III)<sup>20</sup>. Los siguientes puntos de corte fueron usados para definir dislipidemia como (i) Hipercolesterolemia: nivel de colesterol total de 5,18 mmol/l o más ( $\geq 200$  mg/dl) (ii) Hipertrigliceridemia: niveles de triglicéridos de 1,69 mmol/l o más ( $\geq 150$  mg/dl) (iii) Bajos niveles de HDL-C: niveles de HDL-colesterol  $< 1,03$  mmol/l ( $< 40$  mg/dl) y (iv) Altos niveles de LDL-C: Niveles de LDL-colesterol de 3,36 mmol/l o más ( $\geq 130$  mg/dl) de acuerdo con los criterios diagnósticos de las directrices del NCEP, ATP III.

### Medida de la PCR-as y leucograma

Las concentraciones en el plasma de la PCR-as fueron medidas utilizando un ensayo inmunoturbidimétrico exaltado con partículas de látex<sup>4</sup>, con kits provistos por Spinreact, Santa Coloma, España. El ensayo fue realizado en un sistema auto-analizador (Microlab-300, Merck, Alemania). De acuerdo con las instrucciones del fabricante, los coeficientes de variación (CV) intraensayo y interensayo para la PCR-as fueron 4,3% y 8,4%, respectivamente y el límite mínimo de detección fue 0,05 mg/l. Los leucogramas fueron realizados manualmente con la ayuda del hemocitómetro de Neubauer, bajo el microscopio, en hasta 24 horas después de la colecta de la sangre por venopunción<sup>21</sup>. Para mantener la uniformidad en el proceso de recuento, la misma persona entrenada fue encargada durante todo el proceso investigativo. El procedimiento fue repetido por al menos tres veces para cada espécimen.

### Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos fueron conducidos en paralelo para PCR-as y leucograma, que fueron divididos en respectivos terciles, con base en la distribución en 100 participantes del estudio. ANOVA one-way (con comparación múltiple (*pairwise*) de Tukey) fue utilizado para comparar las medias de los grupos para variables continuas por los terciles; el Test de Suma de Puestos o Wilcoxon Rank Sum Test fue usado para comparación de las medianas y el test  $\chi^2$  fue usado para comparar proporciones. Antes de los tests estadísticos, los datos fueron verificados para normalidad. Debido al hecho de que la distribución de la PCR-as y Lp(a) era asimétrica, las variables fueron transformadas en logaritmo natural para todos los análisis. El análisis de correlación de Pearson fue ejecutado para determinar la asociación de los marcadores inflamatorios con factores de riesgo cardiovascular. Una comparación entre grupos de mujeres pre y postmenopausia fue realizada con análisis de covarianza (ANCOVA) después de ajuste de otras covariantes. Los niveles séricos de PCR-as fueron divididos en dos categorías (abajo y encima), con base en el valor mediano de la PCR-as considerada como punto de corte (1,31 mg/l). Modelos de regresión logística no condicionada fueron utilizados para calcular el odds ratio (OR), o razón de posibilidades, para evaluar la asociación entre la PCR-as y otras variables. Todos los análisis fueron realizados utilizando los softwares SPSS para Windows (versión 10.0, Chicago) y MedCalc (versión 10.1.6) y valores de  $p < 0,05$  fueron considerados significativos.

## Resultados

Las prevalencias de algunas características basales son mostradas en la Tabla 1. La edad media de los sujetos del estudio era  $48,3 \pm 9,8$  años. Un total de 35% de las mujeres mascaba tabaco con frecuencia regular o semanalmente. Ninguna de las participantes relató fumar cigarrillos industrializados o caseros o consumir alcohol. La prevalencia de las mujeres postmenopausia en la población era de 57,0%, pero ninguna estaba recibiendo terapia de reposición hormonal. La prevalencia general de obesidad era de 51,5% en la población del estudio, determinado por el IMC apenas. La prevalencia de la hipertensión e historia familiar positiva de hipertensión era de 36,0% y 25,0%, respectivamente. Diabetes fue identificada en 12,0% de las mujeres y 16,0% de los sujetos del estudio relataron una historia familiar positiva para diabetes. En general, un total de 3,1% de las mujeres presentó una historia de infarto de miocardio. Hipercolesterolemia fue observada en 32,0% de los sujetos. Entretanto, hipertrigliceridemia fue observada en 44,0% de los sujetos y un porcentaje casi similar (45,0%) presentaba bajos niveles de HDL-C. Además de eso, 29,0% de las mujeres presentaban altos niveles de LDL-C.

La Tabla 2 muestra la relación entre los niveles de PCR-as y varias variables de riesgo entre los sujetos del estudio. El IMC y la CCI eran significativamente más altos ( $p = 0,001$  y  $p = 0,021$  para IMC y CCI, respectivamente) en los terciles crecientes de los niveles de PCR-as sérica. Las mujeres que presentaban los terciles más altos parecían tener una tendencia

Tabla 1 - Prevalencia (%) de algunas características basales en 100 mujeres

Características	
Edad (años), media $\pm$ DP	48,3 $\pm$ 9,8
Tabaquismo (%)	0
Hábito de mascar tabaco (%)	35,0
Etilismo (%)	0
Post-menopausia (%)	57,0
Terapia hormonal (%)	
Actual	0
Anterior	0
Obesidad (%)	51,5
Hipertensión (%)	36,0
Historia familiar positiva de hipertensión (%)	25,0
Historia de infarto de miocardio (%)	3,1
Diabetes (%)	12,0
Historia familiar positiva de diabetes (%)	16,0
Hipercolesterolemia (%)	32,0
Hipertrigliceridemia (%)	44,0
Bajo nivel de HDL-C (%)	45,0
Alto nivel de LDL-C (%)	29,0

Tabla 2 - Distribución de factores de riesgo de acuerdo con los terciles de las concentraciones de proteína-C reactiva de alta sensibilidad (PCR-as)

Factores de riesgo	Terciles de PCR-as sérica			valor de p'
	1°	2°	3°	
PCR-as, mediana, mg/l	0,606	1,314	5,317	
Variación intercuartil	(0,21-0,70)	(1,00-1,86)	(3,06-6,02)	
Edad	50,4±12,2	46,8±8,5	45,7±7,1	0,142
Postmenopausia	57,5	54,5	58,8	0,723
IMC, kg/m <sup>2</sup>	23,1±3,3	25,3±3,3	26,8±4,5 <sup>†</sup>	0,001
Obesidad, %	30,3	53,1	73,5	0,001
Circunferencia de la cintura, cm	88,6±9,1	92,2±11,1	96,2±12,5 <sup>†</sup>	0,021
Razón cintura/cadera	0,90±0,03	0,90±0,03	0,89±0,03	0,921
Presión arterial sistólica, mmHg	124,0±19,0	131,9±20,4	124,3±20,6	0,198
Presión arterial diastólica, mmHg	75,9±7,1	81,0±9,5	77,8±8,3	0,050
Historia de hipertensión	27,2	42,4	38,2	0,415
Glucemia de ayuno, mmol/l (mg/dl)	5,52±2,28	5,11±1,51	5,90±2,24	0,290
Historia de diabetes, %	12,1	6,0	21,4	0,344
Colesterol total, mmol/l (mg/dl)	4,63±1,24	4,86±1,27	4,57±0,97	0,570
H/EL Hipercolesterolemia, %	36,6	36,6	23,5	0,427
Triglicéridos, mmol/l (mg/dl)	1,58±0,72	1,68±0,71	1,78±0,79	0,555
H/EL Hipertrigliceridemia, %	36,6	45,5	50,0	0,520
HDL-colesterol, mmol/l (mg/dl)	1,17±0,34	1,00±0,34	1,02±0,24	0,072
Bajo nivel de HDL-C, %	36,5	57,5	41,1	0,191
LDL-colesterol, mmol/l (mg/dl)	2,67±1,21	3,07±1,31	2,73±1,02	0,340
Alto nivel de LDL-C, %	24,2	39,3	23,5	0,274
Razón CT / HDL-colesterol	4,30±1,78	5,32±2,16	4,76±1,72	0,098
Lipoproteína (a), μmol/l (mg/dl)**	0,31	0,36	0,34	0,899
Apo lipoproteína A1, g/l (mg/dl)	1,50±0,28	1,44±0,22	1,39±0,17	0,183
Apo lipoproteína B, g/l (mg/dl)	0,93±0,21	0,95±0,22	0,88±0,16	0,397

Todos los valores son expresados en media±DP excepto para las variables categóricas y asimétricas. <sup>†</sup>Para variables con distribución normal, los valores de p fueron computados a través de one-way ANOVA; para variables asimétricas, los valores de p fueron computados a través del Test de la suma de los puestos de Wilcoxon (Wilcoxon's rank sum test) para la diferencia en las medianas y para variables categóricas, los valores de p fueron computados a través del Test de Qui-cuadrado. <sup>\*\*</sup>Valores son medianas. <sup>†</sup>Significativamente diferente del 1° tercil (p<0,05).

a mayor incidencia de diabetes, así como niveles mayores de TG y niveles menores de apolipoproteína A1, aunque las diferencias no hubiesen sido significativas.

Subsecuentemente evaluamos (Tabla 3) la relación entre el recuento de los leucocitos y otras variables de riesgo en la población del estudio. La razón CT/HDL-C aumentó significativamente (p= 0,007) en los terciles de recuento de leucocitos, mientras que otras variables, como glucemia de ayuno, triglicéridos, HDL-colesterol y apolipoproteína A1, fueron no significativamente más altas en los terciles

superiores. El IMC y la CCI fueron más altos en los terciles superiores del recuento de leucocitos, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Las presiones sistólica y diastólica también fueron no significativamente más altas en los terciles superiores. Mujeres en los terciles superiores presentaban mayor incidencia de diabetes. El valor medio de la PCR-as era mayor en los terciles crecientes del recuento de leucocitos, pero no presentaba significancia estadística.

La proteína C-reactiva de alta sensibilidad (PCR-as) estaba significativamente asociada con medidas de obesidad

Tabla 3 - Distribución de los varios factores de riesgo de acuerdo con los terciles de las concentraciones de leucocitos

Factores de riesgo	Terciles de las concentraciones de leucocitos			valor de p*
	1°	2°	3°	
Leucocitos, [x 10 <sup>9</sup> /l]	4,7±0,4	6,3±0,5	8,6±0,7	
Edad, años	48,5±10,0	48,0±8,8	46,4±10,1	0,663
Postmenopausia, %	57,5	54,5	58,8	0,723
IMC, kg/m <sup>2</sup>	24,3±3,8	24,7±3,7	26,2±4,4	0,147
Obesidad, %	43,7	60,6	52,9	0,395
Circunferencia de la cintura, cm	91,0±11,1	92,0±10,4	94,0±12,4	0,539
Razón cintura/cadera	0,89±0,03	0,90±0,03	0,90±0,03	0,355
Presión arterial sistólica, mmHg	124,1±18,3	127,9±21,1	128,1±21,2	0,673
Presión arterial diastólica, mmHg	77,1±8,1	78,6±10,1	79,0±7,3	0,642
Historia de hipertensión, %	36,3	30,3	41,1	0,649
Glucemia de ayuno, mmol/l	4,91±1,07	5,63±2,22	5,98±2,46	0,091
Historia de diabetes, %	6,0	9,0	20,5	0,154
Colesterol total, mmol/l	4,34±1,1	4,98±1,25	4,74±1,05	0,077
H/EL Hipertrigliceridemia, %	21,1	45,5	29,4	0,099
Triglicéridos, mmol/l	1,63±0,69	1,68±0,78	1,74±0,76	0,555
H/EL Hipertrigliceridemia, %	39,9	48,4	44,1	0,758
HDL-colesterol, mmol/l	1,15±0,28	1,06±0,30	0,99±0,34	0,096
Bajo nivel de HDL-C, %	33,3	45,4	55,8	0,178
LDL-colesterol, mmol/l	2,45±1,20	3,09±1,25	2,94±1,05	0,069
Alto nivel de LDL-C, %	18,1	33,3	35,2	0,242
Razón CT / HDL-colesterol	3,94±1,34	5,12±1,96†	5,31±2,13†	0,007
Lipoproteína (a), μmol/l**	0,34	0,40	0,22	0,085
Apo lipoproteína A1, g/l	1,46±0,23	1,45±0,23	1,43±0,22	0,183
Apo lipoproteína B, g/l	0,91±0,21	0,95±0,22	0,88±0,15	0,350
PCR-as, mediana, mg/l**	0,94	1,81	1,87	0,064

Todos los valores son expresados en media±DP excepto para las variables categóricas y asimétricas. \*Para variables con distribución normal, los valores de p fueron computados a través de one-way ANOVA; para variables asimétricas, los valores de p fueron computados a través del Test de la suma de los puestos de Wilcoxon (Wilcoxon's rank sum test) para la diferencia en las medianas y para variables categóricas, los valores de p fueron computados a través del Test de Qui-cuadrado. \*\*Valores son medianas. †Significativamente diferente del 1° tercil (p<0,05).

como IMC (r=0,373, p<0,001) y CCI (r=0,301, p=0,002) después de ajuste para edad (Tabla 4), mientras que ninguna correlación significativa fue observada con la RCC (r=0,004, p=0,966). Entre tanto, el recuento de leucocitos estaba no significativamente asociado con el IMC, CCI y RCC después de ajuste para edad. El análisis del coeficiente de correlación parcial reveló una correlación negativa significativa entre el HDL-c y la PCR-as (r= -0,220, p=0,031) y entre el HDL-C y el recuento de leucocitos (r= -0,247, p=0,014). La apolipoproteína A1 también estaba inversamente asociada (r=-0,237, p=0,031) con la PCR-as en mujeres. Las asociaciones con el recuento de leucocitos fueron significativas para variables bioquímicas, tales como glucemia de ayuno (r=0,253, p=0,011), razón CT/HDL-C (r=0,284, p=0,004) y PCR-as (r=0,252, p=0,012). Como fuertes asociaciones fueron observadas entre la PCR-as y la medidas de obesidad como el IMC y la CCI, ajustamos esas variables junto con edad para el cálculo de coeficientes de correlación parcial entre

la PCR-as y otras variables en todos los modelos encima. Las asociaciones del recuento de leucocitos con otras variables fueron computadas después de ajuste para edad.

Una comparación de los niveles de los marcadores inflamatorios en mujeres premenopausia y postmenopausia es mostrada en la Tabla 5. Ambos niveles de PCR-as y el recuento de leucocitos no difirieron significativamente entre las mujeres en la pre y postmenopausia. Las medias geométricas ajustadas fueron 1,68 y 2,66 mg/l respectivamente para PCR-as (aumento de 1,58 veces con la menopausia). Debido al hecho de que la menopausia está asociada a alteraciones en las medidas de obesidad y otros perfiles bioquímicos, ajustamos las medias para variables como IMC, CCI y HDL-C, además de la edad.

El análisis de regresión logística fue conducido en variables que se correlacionaban significativamente con la PCR-as (Tabla 6). El IMC (OR, 1,186; IC, 1,046-1,345; p=0,008) y CCI (OR,

**Tabla 4 - Coeficientes de correlación para PCR-as y concentraciones de leucocitos con variables antropométricas y bioquímicas en 100 mujeres**

	PCR-as		Leucocitos	
	Pearson, r	valor de p	Pearson, r	valor de p
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>†</sup>	0,373	<0,001	0,197	0,051
Circunferencia de la cintura (cm) <sup>†</sup>	0,301	0,002	0,128	0,208
Razón cintura/cadera <sup>†</sup>	0,004	0,966	0,120	0,236
Presión arterial sistólica (mmHg) <sup>‡</sup>	0,043	0,672	0,080	0,431
Presión arterial diastólica (mmHg) <sup>‡</sup>	0,068	0,510	0,109	0,279
Glucemia de ayuno (mmol/l) <sup>‡</sup>	0,087	0,398	0,253	0,011
Colesterol total (mmol/l) <sup>‡</sup>	0,023	0,817	0,127	0,207
Triglicéridos (mmol/l) <sup>‡</sup>	0,152	0,139	0,072	0,476
HDL-colesterol (mmol/l) <sup>‡</sup>	-0,220	0,031	-0,247	0,014
LDL-colesterol (mmol/l) <sup>‡</sup>	0,053	0,607	0,152	0,133
Razón CT/HDL-C <sup>‡</sup>	0,130	0,206	0,284	0,004
Lipoproteína (a) (μmol/l) <sup>‡</sup>	-0,025	0,824	-0,203	0,062
Apo-lipoproteína A1 (g/l) <sup>‡</sup>	-0,237	0,031	-0,190	0,153
Apo-lipoproteína B (g/l) <sup>‡</sup>	-0,063	0,569	-0,064	0,631
PCR-as (mg/l) <sup>‡</sup>	-	-	0,252	0,012

<sup>†</sup>Coefficientes de correlación parciales controlados para edad. <sup>‡</sup>Coefficientes de correlación parciales controlados para edad, IMC y circunferencia de la cintura.

1,045; IC, 1,005-1,087; p=0,027) fueron las covariantes que presentaron una asociación significativa y positiva con la PCR-as después del ajuste para edad. Entre tanto, ninguna asociación independiente fue observada entre el HDL-C y la PCR-as.

## Discusión

Hay un consenso emergente de que la ECV tiene una etiología multifactorial, incluyendo componentes ateroscleróticos, protrombóticos e inflamatorios. Siendo así, además de la evaluación de los factores de riesgo convencionales, nuevos marcadores ha sido explorados en estudios observacionales prospectivos con la esperanza de

**Tabla 5 - Comparación de los biomarcadores inflamatorios en mujeres en la premenopausia y menopausia**

	Premenopausia (n = 43)		Postmenopausia (n = 57)	
	Media	EP	Media	EP
Edad, años	39,6	3,37	53,7	8,28
PCR-as, mg/l <sup>†‡</sup>	1,68	0,88 a 2,47	2,66	2,00 a 3,32
Leucocitos [x 10 <sup>9</sup> /l] <sup>‡</sup>	6,43	0,32	6,74	0,27

<sup>†</sup>Ajustado para edad, IMC, circunferencia de la cintura y niveles de HDL-colesterol. <sup>‡</sup>Medias geométricas (IC95%) son mostradas para PCR-as, pues su distribución es asimétrica.

que puedan mejorar la capacidad de predecir el riesgo de desarrollo de eventos cardiovasculares.

En el presente estudio, encontramos asociaciones significativas entre los niveles de PCR-as y medidas de adiposidad, como IMC y CCI. Esos resultados son consistentes con los hallazgos experimentales, sugiriendo que el tejido adiposo es una gran fuente de citoquinas, incluyendo IL-6, que es un importante determinante de síntesis de PCR hepática<sup>8, 22-24</sup>. Entre tanto, en adultos, asociaciones más fuertes entre grasa corporal y valores de PCR ha sido relatadas para mujeres, cuando fueron comparadas a hombres<sup>25</sup>. El estudio *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) realizado en los Estados Unidos, que incluye hombres y mujeres con edad ≥ 20 años, reveló que el IMC más alto está asociado con concentraciones más altas de PCR, aun en adultos más jóvenes<sup>26</sup>. Una relación significativa entre los niveles de PCR con el IMC también fue relatada entre hombres y mujeres añosos en el estudio *Cardiovascular Health Study*<sup>22</sup> así como por Mendall y su group<sup>23</sup>. Lemieux y colegas<sup>27</sup> observaron que a pesar del hecho de que la cantidad de grasa corporal (medida como IMC) presente la mejor correlación con los niveles de PCR, las mayores concentraciones de PCR en el plasma fueron observadas en individuos que presentaban aumentos paralelos en la adiposidad visceral (medida como CCI) y grasa total corporal. Apoyo adicional a esa observación fue provisto por el estudio de Hak y colaboradores<sup>24</sup>, que relataron que la PCR estaba fuertemente asociada con la CCI, aun después del ajuste del IMC. La relativa contribución del tejido adiposo intraabdominal y subcutáneo en la generación de la PCR aun no es clara. Entre tanto, en el presente estudio, la CCI mostró una asociación significativa con la PCR-as, aunque la asociación desaparezca después del control del IMC (datos no mostrados).

**Tabla 6 - Análisis por regresión logística múltiple teniendo PCR-as<sup>†</sup> como la variable dependiente y otros factores de riesgo como variables independientes en 100 mujeres**

	Ajustado para edad			Ajustado para edad + IMC + CCI		
	β <sup>*</sup>	OR (IC95%) <sup>†</sup>	valor de p	β <sup>*</sup>	OR (IC95%) <sup>†</sup>	valor de p
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	0,171	1,186(1,046, 1,345)	0,008	-	-	-
Circunferencia de la cintura (cm)	0,044	1,045(1,005, 1,087)	0,027	-	-	-
HDL-colesterol (mmol/l)	-	-	-	-0,023	0,977(0,943, 1,012)	0,202

<sup>†</sup>Un dato dicotómico, la proteína C-reactiva de alta sensibilidad (PCR-as ≤1,31/PCR-as>1,31), fue la variable dependiente. <sup>\*</sup>β indica coeficiente de regresión. <sup>†</sup>OR, odds ratio; IC, intervalo de confianza. Aquí, el odds ratio o e<sup>β</sup> es el aumento en la posibilidad asociada con el aumento de la unidad en la variable independiente.

Ese fenómeno puede ser explicado por la fuerte colinealidad de la CCI e IMC en los sujetos del estudio.

En el presente estudio, fue observado que la PCR-as presentó una asociación inversa con el HDL-C y la apolipoproteína LA-1. Además de eso, hubo una asociación inversa entre el recuento de leucocitos y los niveles de HDL-C. Los niveles de HDL-C consistentemente muestran una asociación inversa con marcadores sistémicos de inflamación en varios estudios prospectivos<sup>5, 24, 28</sup>. Un estudio reciente por Birjmohun y colegas<sup>29</sup> demostró que individuos aparentemente sanos con niveles bajos aislados genéticamente determinados de HDL-C eran más susceptibles a test de sensibilidad con endotoxina de baja dosis en comparación con individuos con niveles normales o altos de HDL-C. El estudio reveló una fuerte asociación inversa entre los niveles de HDL-C y apo A-1 con la respuesta de los leucocitos y niveles de PCR en el plasma, apoyando un efecto antiinflamatorio del HDL-C. En el presente estudio, ha sido mostrado que la asociación entre los niveles de PCR en el plasma y valores bajos de HDL-C persiste aun después del ajuste para IMC y CCI, sugiriendo una asociación independiente entre esas variables en los individuos. Evidencias recientes apoyan una serie de efectos antiaterogénicos del HDL-C, incluyendo efectos antiinflamatorios<sup>30</sup>.

En el presente estudio, el recuento de leucocitos mostró una correlación positiva significativa con los niveles de PCR-as en el plasma y variables como glucemia de ayuno y razón CT/HDL-C. El estudio transversal ARIC con individuos jóvenes y de mediana edad<sup>31</sup> mostró que el recuento de leucocitos estaba asociado con los niveles de insulina y glucemia de ayuno en un análisis no estratificado por sexo. Un estudio reciente en la población asiática de la India, conducido por Gokulakrishan y colegas<sup>32</sup> mostró que el recuento de leucocitos tenía una asociación positiva con glucemia de ayuno y resistencia a la insulina. Siendo así, es posible que la inflamación y la función endotelial estén entre varios antecedentes comunes para diabetes y enfermedad cardíaca coronaria<sup>33</sup>. La asociación entre concentraciones de PCR plasmática y recuento de leucocitos ha sido también consistentemente relatada en muchos hallazgos clínicos<sup>2, 34</sup>.

No observamos una influencia clara del estado menopáusico en los niveles de biomarcadores inflamatorios. Observaciones similares fueron relatadas por el estudio de Hak y su grupo<sup>24</sup> donde los niveles de PCR ajustados para edad y para la edad y IMC eran levemente más altos en las mujeres en la premenopausia, pero la diferencia no era estadísticamente significativa. En un estudio comparativo de mujeres en la premenopausia vs mujeres en la postmenopausia, conducido por Sites et al<sup>35</sup>, niveles aumentados de PCR estaban asociados con aumento en la grasa corporal, pero no al estado menopáusico. Entre tanto, numerosos tests clínicos ha demostrado que terapias de reposición hormonal exógena, así como los niveles de hormona endógena están asociados con aumento en los niveles de PCR, junto con otros marcadores de inflamación, como fibrinógeno y recuento de leucocitos, en mujeres en la postmenopausia<sup>36, 37</sup>. Estudios adicionales son necesarios para estudiar la asociación entre inflamación y menopausia.

La inflamación tiene un papel fundamental en la aterosclerosis<sup>38</sup>. La PCR-as, una medida de la inflamación, es un mediador así como un marcador de aterosclerosis. Aunque varios otros marcadores inflamatorios hayan sido investigados, la PCR-as tiene más estabilidad, precisión en el ensayo y disponibilidad. La PCR-as obtuvo reconocimiento oficial como test cardíaco del *Centers for Disease Control and Prevention* (Centro de Control y Prevención de Enfermedades - CDC) y de la *American Heart Association* (AHA)<sup>4</sup>. La utilidad del test de la PCR en pacientes con infarto de miocardio, angina estable o inestable, ha sido bien establecida<sup>39</sup>. Niveles altos de PCR-as en esas situaciones clínicas identifican pacientes con cargas inflamatorias más altas, que presentan mayor riesgo de eventos isquémicos futuros. Además de eso, un nivel alto de PCR provee valor pronóstico adicional a los factores de riesgo tradicionales. Así, en un individuo con alto riesgo, un nivel elevado de PCR-as debería alertar al médico y al individuo sobre la necesidad de establecer estrategias agresivas de disminución de riesgos.

Hasta el límite de nuestro conocimiento, el presente estudio es el primero que examina la asociación entre marcadores inflamatorios sistémicos, tales como la PCR-as y el recuento de leucocitos y otros factores de riesgo cardiovascular en una muestra basada en la población general en la India, con foco particularmente en las mujeres. Un punto fuerte adicional del estudio fue la calidad de la colecta de la muestra y la precisión en la medida en la PCR y otros biomarcadores asociados. Entre tanto, algunas cuestiones precisan ser discutidas. Ese estudio fue conducido en una población aparentemente sana con baja o ninguna exposición actual a factores de ECV clínicamente establecida, como infarto de miocardio y tabaco, respectivamente. Los factores encima son fuertes determinantes de los niveles de PCR y así, la elección de nuestra población facilitó la investigación de confundidores asociados con la PCR. Así, estudios adicionales son necesarios para verificar los hallazgos en situaciones clínicas y epidemiológicas en esa población. Según, ese estudio incluye el uso de una única medida de marcadores inflamatorios, los cuales pueden no reflejar de forma precisa el estado inflamatorio de largo plazo. Múltiples medidas con el pasar del tiempo y alteraciones en esas medidas pueden proveer un mecanismo más preciso para predecir el riesgo en los individuos.

En conclusión, nuestros resultados indican que en una población aparentemente sana de mujeres con baja tasa de fumadoras y enfermedad cardiovascular clínicamente establecida, el IMC y la CCI estaban asociados con niveles de biomarcadores sistémicos tales como la PCR-as y la concentración de leucocitos. Considerando que los mediadores inflamatorios están directamente envueltos con la aterosclerosis, esos resultados sugieren un importante mecanismo a través del cual la obesidad puede afectar el riesgo de enfermedad cardiovascular. También observamos una importante asociación entre marcadores inflamatorios y variables de lipoproteínas tales como el HDL-c y la Apo-A1, que fue independiente de las medidas de adiposidad. Esos hallazgos se agregan a un creciente conjunto de evidencias de que el HDL-c y la Apo-A1 protegen contra la enfermedad

cardiovascular a través de mecanismos que se extienden más allá de su participación en el transporte de colesterol. Los presentes hallazgos así refuerzan la importancia de esos biomarcadores inflamatorios en la creación de algoritmos de previsión de riesgo cardiovascular junto con las herramientas de evaluación estándar, especialmente en mujeres.

## Agradecimientos

Este trabajo recibió apoyo del Departamento de Ciencia y Tecnología, Gobierno de la India, [Beneficio en el SSD/WS/059/2004].

## Referencias

1. Koenig W, Sund M, Frohlich M, Fischer HG, Lowel H, Doring A, et al. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men. Results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation*. 1999; 99 (2): 237-42.
2. Madjid M, Awan I, Willerson JT, Casscells SW. Leukocyte count and coronary heart disease: implications for risk assessment. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 44 (10): 1945-56.
3. Yarnell JW, Baker IA, Sweetnam PM, Bainton D, O'Brien JR, Whitehead PJ, et al. Fibrinogen, viscosity, and white blood cell count are major risk factors for ischemic heart disease: The Caerphilly and Speedwell collaborative heart disease studies. *Circulation*. 1991; 83 (3): 836-44.
4. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003; 107 (3): 499-511.
5. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens JS. C-reactive protein adds to the predictive value total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation*. 1998; 97 (20): 2007-11.
6. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14,719 initially healthy American women. *Circulation*. 2003; 107 (3): 391-7.
7. Brown DW, Giles WH, Croft JB. White blood cell count: an independent predictor of coronary heart disease mortality among national cohort. *J Clin Epidemiol*. 2001; 54 (3): 316-22.
8. Yudkin JS, Stehouwer CDA, Erneis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19 (4): 972-8.
9. Vikram NK, Misra A, Dwivedi M, Sharma R, Pandey RM, Luthra K, et al. Correlations of C-reactive protein levels with anthropometric profile, percentage of body fat and lipids in healthy adolescents and young adults in urban North India. *Atherosclerosis*. 2003; 168 (2): 305-13.
10. Oliveira AC, Oliveira AM, Adan LF, Oliveira NF, Silva AM, Ladeia AM. C-reactive protein and metabolic syndrome in youth: a strong relationship? *Obesity*. 2008; 16 (5): 1094-8.
11. Lemeshow S, Stroh G Jr. Sampling techniques for evaluating health parameters in developing countries. Washington DC: National Academy Press; 1988.
12. Barham D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *Analyst*. 1972; 97 (151): 142-5.
13. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann Clin Biochem*. 1969; 6: 24-7.
14. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1990. p. 554-6.
15. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972; 18 (6): 499-502.
16. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests. Philadelphia: WB Saunders Company; 1995. p. 442-4.
17. Kronenberg F, Lobentanz EM, König P, Utermann G, Dieplinger H. Effect of sample storage on the measurement of lipoprotein[a], apolipoproteins B and A-IV, total and high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides. *J Lipid Res*. 1994; 35 (7): 1318-28.
18. World Health Organization. The Asia-Pacific perspective: redefining obesity and its treatment. International diabetes Institute. Geneva; 2000.
19. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. The seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 Report. *JAMA*. 2003; 289 (19): 2560-72.
20. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *JAMA*. 2001; 285 (19): 2486-97.
21. Mukherjee LK. Medical laboratory technology: a procedure manual for routine diagnostic tests. 3rd ed. New Delhi: McGraw Hill Publication; 1990.
22. Tracy RP, Psaty BM, Macy E, Bovill EG, Cushman M, Cornell ES, et al. Lifetime smoking exposure affects the association of C-reactive protein with cardiovascular disease risk factors and subclinical disease in healthy elderly subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997; 17 (10): 2167-76.
23. Mendall MA, Patel P, Asante M, Ballam L, Morris J, Strachan DP, et al. Relation of serum cytokine concentrations to cardiovascular risk factors and coronary heart disease. *Heart*. 1997; 78 (3): 273-7.
24. Hak AE, Stehouwer CDA, Blots ML, Polderman KH, Schalkwijk CG, Westendorp ICD, et al. Associations of C-reactive protein with measures of obesity, insulin resistance, and subclinical atherosclerosis in healthy, middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19 (8): 1986-91.
25. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA*. 1999; 282 (22): 2131-5.
26. Ford ES. Body mass index, diabetes and C-reactive protein among US adults. *Diabetes Care*. 1999; 22 (12): 1071-7.
27. Lemieux I, Pascot A, Prud'homme D, Almeras N, Bogaty P, Nadeau A, et al. Elevated C-reactive protein: another component of the atherothrombotic profile of abdominal obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21 (6): 961-7.
28. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ*. 1996; 312 (7038): 1061-5.

## Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

## Fuentes de Financiación

Department of Science and Technology Government of India financió el presente estudio.

## Vinculación Académica

Este artículo forma parte de tesis de Doctorado de Debdutta Ganguli, por University of Calcuta.



## Artículo Original

29. Birjmohun RS, Leuven SI, Levels JHM, Veer CV, Kuivenhoven JA, Meijers JCM, et al. High-density lipoprotein attenuates inflammation and coagulation response on endotoxin challenge in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27 (5): 1153-8.
30. Rye KA, Barter PJ. Antiinflammatory actions of HDL: a new insight. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28 (11): 1890-1.
31. Nieto FJ, Szklo M, Folsom AR, Rock R, Mercuri M. Leukocyte count correlates in middle-aged adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Epidemiol.* 1992; 136 (5): 525-37.
32. Gokulakrishnan K, Deepa R, Sampathkumar R, Balasubramanyam M, Mohan V. Association of leukocyte count and hs-CRP with metabolic abnormalities in subjects with normal glucose tolerance (CURES-64). *J Assoc Physicians India.* 2009; 57: 27-32.
33. Saito I, Folsom AR, Brancati FL, Duncan BB, Chambless LE, McGovern PG. Nontraditional risk factors for coronary heart disease incidence among persons with diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Ann Intern Med.* 2000; 133 (2): 81-91.
34. Ryu SY, Kim KS, Park J, Kang MG, Han MA. The association between circulating inflammatory markers and metabolic syndrome in Korean rural adults. *J Prev Med Public Health.* 2008; 41 (6): 413-8.
35. Sites CK, Toth MJ, Cushman M, L'Hommedieu GD, Tchernof A, Tracy RP, et al. Menopause-related differences in inflammation markers and their relationship to body fat distribution and insulin-stimulated glucose disposal. *Fertil Steril.* 2002; 77 (1): 128-35.
36. Folsom AR, Golden SH, Boland LL, Szklo M. Association of endogenous hormones with C-reactive protein, fibrinogen, and white blood count in post-menopausal women. *Eur J Epidemiol.* 2005; 20 (12): 1015-22.
37. Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE, Siscovick DS, Mouton CP, Rifai N, et al. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative Observational Study. *JAMA.* 2002; 288 (8): 980-7.
38. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2002; 105 (9): 1135-43.
39. Patel VB, Robbins MA, Topol EJ. C-reactive protein: a 'golden marker' for inflammation and coronary artery disease. *Cleve Clin J Med* 2001; 68: 521-34.