

Associação entre Marcadores Inflamatórios e Fatores de Risco Cardiovascular em Mulheres de Kolkata, W.B, Índia

Association between Inflammatory Markers and Cardiovascular Risk Factors in Women from Kolkata, W.B, India

Debdutta Ganguli¹, Nilanjan Das¹, Indranil Saha^{1,4}, Krishna Rao Sanapala², Debnath Chaudhuri³, Saurabh Ghosh², Sanjit Dey¹

Department of Physiology, University College of Science and Technology, University of Calcutta, West Bengal, India¹; Human Genetics Unit, Indian Statistical Institute, Kolkata, India²; Department of Biochemistry and Nutrition, All India Institute of Hygiene and Public Health, West Bengal, India³; Present Address: Department of Community Medicine, RG Kar Medical College and Hospital, Kolkata, India⁴

Resumo

Fundamento: Recentes pesquisas tem se concentrado no uso de biomarcadores inflamatórios na previsão de risco cardiovascular. Entretanto, a informação é escassa em relação à associação entre esses marcadores inflamatórios e outros fatores de risco cardiovasculares em indianos asiáticos, particularmente em mulheres.

Objetivo: Explorar a associação entre marcadores inflamatórios tais como proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-as) e contagem de leucócitos (LEU) e fatores de risco cardiovascular tais como adiposidade geral e central, pressão arterial, variáveis lipídicas e lipoproteicas e glicemia de jejum.

Métodos: Conduzimos uma análise transversal de 100 mulheres com idade entre 35 e 80 anos. As participantes foram selecionadas através da metodologia de amostragem por *cluster*, de 12 distritos urbanos selecionadas ao acaso na Corporação Municipal de Kolkata, Índia.

Resultados: A PCR-as apresentou uma associação significativa com o índice de massa corporal (IMC) ($p < 0,001$) e circunferência da cintura (CC) ($p = 0,002$). Associações significantes inversas foram observadas entre a lipoproteína de alta densidade colesterol (HDL-c) e ambos marcadores inflamatórios PCR-as ($p = 0,031$) e LEU ($p = 0,014$). A apolipoproteína A1 (Apo A1) também estava negativamente associada com a PCR-as. A contagem de leucócitos apresentou uma correlação significativa com a glicemia de jejum e a razão colesterol total (CT) /HDL-C. Usando regressão logística ajustada para idade, IMC (odds ratio/OR, 1,186; intervalo de confiança/IC, 1,046-1,345; $p=0,008$) e LEU (OR, 1,045; IC, 1,005-1,087; $p=0,027$) foram as covariantes significativamente associadas com a PCR-as.

Conclusão: No presente estudo, os fatores de risco tais como IMC, CC e HDL-c e Apo-A1 mostraram uma associação significativa com PCR-as. A contagem de leucócitos estava significativamente associada com os níveis de HDL-c, glicemia de jejum, razão CT/HDL-c em mulheres. (Arq Bras Cardiol 2011; 96(1): 38-46)

Palavras-chave: Inflamação, proteína C-reativa, fatores de risco, contagem de leucócitos, adiposidade, dislipidemias, mulheres, Índia.

Abstract

Background: Recent research has focused on the use of inflammatory biomarkers in the prediction of cardiovascular risk. However, information is scant regarding the association between these inflammatory markers with other cardiovascular risk factors in Asian Indians, particularly in women.

Objective: To explore the association between inflammatory markers such as high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and white blood cell (WBC) count and cardiovascular risk factors such as overall and central adiposity, blood pressure, lipid and lipoprotein variables and fasting glucose.

Methods: We conducted a cross-sectional analysis on 100 women aged 35 to 80 years. Participants were selected following cluster sampling methodology from 12 different randomly selected urban wards of Kolkata Municipal Corporation.

Results: Hs-CRP has a significant association with body mass index (BMI) ($p < 0.001$) and waist circumference (WC) ($p = 0.002$). Significant inverse associations were observed between high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and both inflammatory markers, hs-CRP ($p = 0.031$) and WBC count, ($p = 0.014$). Apolipoprotein A1 (Apo A1) was also negatively associated with hs-CRP. WBC count has significant correlation with fasting glucose and total cholesterol (TC) /HDL-C ratio. Using logistic regression, adjusting for age, BMI (odds ratio/OR, 1.186; confidence interval/CI, 1.046-1.345; $p=0.008$) and WC (OR, 1.045; CI, 1.005-1.087; $p=0.027$) were the covariates significantly associated with hs-CRP.

Conclusion: In the present study, risk factors like BMI, WC, and HDL-C and apo A1 show significant association with hs-CRP. WBC count was significantly correlated with HDL-C, fasting glucose, TC/HDL-C ratio in women. (Arq Bras Cardiol 2011; 96(1): 38-46)

Keywords: Inflammation; reactive protein C; risk factors; leukocyte count; adiposity; dyslipidemias; women: India.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: 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

Artigo recebido em 11/02/10; revisado recebido em 11/02/10; aceito em 28/05/10.

Introdução

Recentes estudos epidemiológicos tem relatado uma forte e consistente associação entre fatores de risco para doença cardiovascular (DCV) e inflamação^{1,2} e esta tem sido identificada como um fator de risco independente para DCV^{3,4}. Dos novos marcadores inflamatórios atualmente sendo investigados, a proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-as) e a contagem de leucócitos ou leucograma (LEU) são os mais promissores. Um número de estudos epidemiológicos prospectivos tem consistentemente demonstrado que a PCR-as^{5,6}, bem como a contagem de leucócitos⁷ podem predizer de forma independente o risco vascular em homens e mulheres aparentemente saudáveis, assintomáticos para os tradicionais fatores de risco para DCV. Além disso, ambos os marcadores^{1,2} também adicionam informação prognóstica em pacientes com sinais clínicos de DCV, além daquela disponível com base na avaliação lipídica padrão. Um número substancial de estudos transversais já estabeleceu o fato de que a PCR-as e a contagem de leucócitos correlacionam-se de forma significativa com componentes da síndrome metabólica⁸⁻¹⁰.

Na Índia, os dados são escassos em relação à associação desses biomarcadores inflamatórios com outros fatores de risco para DCV em adultos, particularmente em mulheres. Assim, os objetivos do presente estudo foram investigar a associação entre a PCR-as e a contagem de leucócitos com fatores de risco tais como índice de massa corporal, circunferência da cintura, razão cintura-quadril, pressão arterial, variáveis lipídicas e lipoproteicas e glicemia de jejum.

Materiais e Método

Participantes do estudo

Selecionamos randomicamente uma população de 100 mulheres com idade entre 35 e 80 anos a partir de um estudo epidemiológico existente sobre avaliação de risco cardiovascular, envolvendo 701 mulheres residentes de distritos urbanos que estavam há 29,8 anos, em média, em Kolkata. O estudo foi realizado de acordo com as recomendações da organização Mundial da Saúde (OMS) para estudos utilizando a metodologia de amostragem por *cluster*¹¹, em 12 diferentes distritos de 141 distritos da Corporação Municipal de Kolkata, de acordo com os dados do censo mais recente. Os distritos ou *clusters* foram incluídos no estudo através de amostragem randômica simples sem substituição. De acordo com a estratégia de amostragem por *cluster*, em cada um dos distritos ou *clusters*, um local perto do centro do distrito era escolhido como o ponto de início e uma direção era selecionada ao acaso. Então os domicílios eram escolhidos de forma randômica ao longo da direção, após a verificação de adequação aos critérios de inclusão – mulheres de 35 anos ou mais, independentemente de seu estado civil, mas não grávidas. Os critérios de exclusão foram doença aguda ou qualquer tratamento para doença infecciosa crônica ou inflamatória, antes ou na época da investigação. Indivíduos não dispostos a participar do estudo foram excluídos durante a investigação. Indivíduos que utilizavam aspirina como medicação crônica também foram excluídos. Nenhum dos indivíduos relatou estar utilizando medicação hipolipemiante.

Entre as mulheres elegíveis, 57 foram identificados como pós-menopausadas e as restantes 43 mulheres estavam na pré-menopausa.

As mulheres deram seu consentimento livre e informado para participar do estudo, que foi aprovado pelo Comitê de Ética Humana do Departamento de Fisiologia Humana da Universidade de Calcutá.

Questionário

Uma entrevista baseada em um questionário foi utilizada para coletar informações sobre o hábito de fumar, uso de tabaco de mascar, consumo de álcool, histórico médico familiar e pessoal de hipertensão, diabetes e infarto do miocárdio. As participantes foram entrevistadas sobre seu estado menopausal e histórico de qualquer intervenção cirúrgica, como histerectomia. As mulheres foram consideradas pré-menopausais se haviam tido um ou mais episódios de sangramento regulares nos 12 meses anteriores. As mulheres foram consideradas pós-menopausais se a menstruação houvesse cessado naturalmente ou cirurgicamente (por ex., histerectomia), por pelo menos 12 meses contínuos. As participantes também foram entrevistadas sobre seu histórico de dislipidemia, uso corrente de medicação anti-hipertensiva ou hipoglicêmica ou medicamentos hipolipemiantes e uso de terapia de reposição hormonal pós-menopausa. A validade das respostas às perguntas sobre o uso de medicamentos foi confirmada através da verificação dos registros médicos.

Medidas antropométricas e bioquímicas

A altura foi medida com uma precisão de 0,5 cm, com as participantes descalças, utilizando um antropômetro. O peso foi medido com as participantes vestindo roupas leves após a remoção dos sapatos, com uma precisão de 0,1 kg. A circunferência da cintura (CC) foi medida utilizando uma fita métrica inelástica no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca no plano horizontal. A circunferência máxima do quadril (CQ) foi medida horizontalmente ao nível da extensão máxima dos glúteos. Para cada medida da circunferência da cintura e do quadril, duas medidas eram tomadas, com uma precisão de 0,5 cm. A média das duas medidas mais próximas foi calculada. A razão cintura-quadril (RCQ) foi calculada através da equação padrão: $RCQ = CC \text{ (cm)} / CQ \text{ (cm)}$.

O índice de massa corpórea (IMC) foi calculado como $\text{peso}/\text{altura}^2 \text{ (kg/m}^2\text{)}$. A pressão arterial foi medida no braço direito das participantes na posição sentada, relaxada e com o braço apoiado ao nível do coração utilizando um esfigmomanômetro de mercúrio padrão. As pressões sistólica e diastólica foram registradas como o início do primeiro e quinto sons de Korotkoff, respectivamente. Para cada uma das medidas, foram feitas duas leituras com 5 minutos de intervalo entre elas e a média das duas leituras foi calculada para obter a pressão arterial final. As participantes foram orientadas a evitar o fumo, bebidas cafeinadas e exercício por pelo menos 30 minutos antes da medida da pressão arterial. Foi pedido às participantes para se manterem em jejum por pelo menos 10 horas antes das amostras serem colhidas na manhã do dia seguinte. A venopunção foi realizada por um médico treinado com as participantes na posição sentada. A

glicemia de jejum foi medida através do método de glicose-oxidase/peroxidase¹², colesterol total sérico foi medido através do método colesterol oxidase/peroxidase-amidopirina¹³ e os triglicérides (TG) séricos foram medidos pelo método glicerol fosfato oxidase/peroxidase-amidopirina¹⁴ utilizando kits de ensaio fornecidos por Randox Laboratories Ltd (Crumlin, Co. Antrim, Reino Unido) em um espectrofotômetro (Bio-rad, Hercules, Califórnia, EUA). O HDL-C também foi determinado pelo mesmo método após precipitação de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e a lipoproteína de baixa densidade (LDL) pelo polietileno-glicol PEG 6000. O LDL-colesterol (LDL-C) foi calculado utilizando-se a fórmula: LDL-C = colesterol total - HDL-C - (TG/5)¹⁵. Lipoproteína (a) (Lp(a)), apolipoproteína A1 e B foram medidas por método de imunensaio automatizado turbidimétrico^{16,17} com kits de reagentes fornecidos por Randox Laboratories Ltd em um Randox RX Daytona Sistema Autoanalisador (Crumlin, Co. Antrim, Reino Unido).

Critérios de definições e diagnósticos

A obesidade foi definida como um IMC > 25 kg/m²¹⁸. De acordo com o Sétimo Relatório do *Joint National Committee* (JNC) sobre Prevenção, Detecção, Avaliação e Tratamento da Hipertensão Arterial¹⁹, indivíduos foram considerados hipertensos quando a pressão arterial sistólica era ≥ 140 mmHg, a pressão arterial diastólica era ≥ 90 mmHg ou ambos, ou se as participantes estivessem tomando medicação anti-hipertensiva. Diabetes foi definida como níveis glicêmicos de jejum de 7,0 mmol/l ou mais (≥ 126 mg/dl) ou se estivessem tomando medicação para diabetes pelos critérios estabelecidos pelo Programa Educacional Nacional do Colesterol (NCEP), Painel de Tratamento do Adulto III (ATP III)²⁰. Os seguintes pontos de corte foram usados para definir dislipidemia como (i) Hipercolesterolemia: nível de colesterol total de 5,18 mmol/l ou mais (≥ 200 mg/dl) (ii) Hipertrigliceridemia: níveis de triglicérides de 1,69 mmol/l ou mais (≥ 150 mg/dl) (iii) Baixos níveis de HDL-C: níveis de HDL-colesterol < 1,03 mmol/l (<40 mg/dl) e (iv) Altos níveis de LDL-C: Níveis de LDL-colesterol de 3,36 mmol/l ou mais (≥ 130 mg/dl) de acordo com os critérios diagnósticos das diretrizes do NCEP, ATP III.

Medida da PCR-as e leucograma

As concentrações no plasma da PCR-as foram medidas utilizando um ensaio imunoturbidimétrico exaltado com partículas de látex⁴, com kits fornecidos por Spinreact, Santa Coloma, Espanha. O ensaio foi realizado em um sistema auto-analisador (Microlab-300, Merck, Alemanha). De acordo com as instruções do fabricante, os coeficientes de variação (CV) intra-ensaio e inter-ensaio para a PCR-as foram 4,3% e 8,4%, respectivamente e o limite mínimo de detecção foi 0,05 mg/l. Os leucogramas foram realizados manualmente com a ajuda do hemocitômetro de Neubauer, sob o microscópio, em até 24 horas após a coleta do sangue por venopuntura²¹. Para manter a uniformidade no processo de contagem, a mesma pessoa treinada foi encarregada durante todo o processo investigativo. O procedimento foi repetido por pelo menos três vezes para cada espécime.

Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram conduzidas em paralelo para PCR-as e leucograma, que foram divididos em respectivos tercís, com base na distribuição em 100 participantes do estudo. ANOVA one-way (com comparação múltipla (*pairwise*) de Tukey) foi utilizado para comparar as médias dos grupos para variáveis contínuas pelos tercís; o Teste de Soma de Postos ou Wilcoxon Rank Sum Test foi usado para comparação das medianas e o teste χ^2 foi usado para comparar proporções. Antes dos testes estatísticos, os dados foram verificados para normalidade. Devido ao fato de a distribuição da PCR-as e Lp(a) ser assimétrica, as variáveis foram transformadas em logaritmo natural para todas as análises. A análise de correlação de Pearson foi executada para determinar a associação dos marcadores inflamatórios com fatores de risco cardiovascular. Uma comparação entre grupos de mulheres pré e pós-menopausa foi realizada com análise de covariância (ANCOVA) após ajuste de outras covariantes. Os níveis séricos de PCR-as foram divididos em duas categorias (abaixo e acima), com base no valor mediano da PCR-as considerada como ponto de corte (1,31 mg/l). Modelos de regressão logística não-condicionada foram utilizadas para calcular o *odds ratio* (OR), ou razão de chances, para avaliar a associação entre a PCR-as e outras variáveis. Todas as análises foram realizadas utilizando-se os softwares SPSS para Windows (versão 10.0, Chicago) e MedCalc (versão 10.1.6) e valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

Resultados

As prevalências de algumas características basais são mostradas na Tabela 1. A idade média dos sujeitos do estudo era $48,3 \pm 9,8$ anos. Um total de 35% das mulheres mascava tabaco com frequência regular ou semanalmente. Nenhuma das participantes relatou fumar cigarros industrializados ou caseiros ou consumir álcool. A prevalência das mulheres pós-menopausa na população era de 57,0%, mas nenhuma estava recebendo terapia de reposição hormonal. A prevalência geral de obesidade era de 51,5% na população do estudo, determinado pelo IMC apenas. A prevalência da hipertensão e histórico familiar positivo de hipertensão era de 36,0% e 25,0%, respectivamente. Diabetes foi identificada em 12,0% das mulheres e 16,0% dos sujeitos do estudo relataram um histórico familiar positivo para diabetes. No geral, um total de 3,1% das mulheres apresentou um histórico de infarto do miocárdio. A hipercolesterolemia foi observada em 32,0% dos sujeitos. Entretanto, a hipertrigliceridemia foi observada em 44,0% dos sujeitos e uma porcentagem quase similar (45,0%) apresentava baixos níveis de HDL-C. Além disso, 29,0% das mulheres apresentavam altos níveis de LDL-C.

A Tabela 2 mostra a relação entre os níveis de PCR-as e várias variáveis de risco entre os sujeitos do estudo. O IMC e a CC eram significativamente mais altos ($p = 0,001$ e $p = 0,021$ para IMC e CC, respectivamente) nos tercís crescentes dos níveis de PCR-as sérica. As mulheres que apresentavam os tercís mais altos pareciam ter uma tendência à maior incidência de diabetes, bem como níveis maiores de TG e níveis menores de apolipoproteína A1, embora as diferenças não tivessem sido significantes.

Tabela 1 - Prevalência (%) de algumas características basais em 100 mulheres

Características	
Idade (anos), média ± DP	48,3 ± 9,8
Tabagismo (%)	0
Hábito de mascar tabaco (%)	35,0
Etilismo (%)	0
Pós-menopausa (%)	57,0
Terapia hormonal (%)	
Atual	0
Anterior	0
Obesidade (%)	51,5
Hipertensão (%)	36,0
História familiar positiva de hipertensão (%)	25,0
História de infarto do miocárdio (%)	3,1
Diabete (%)	12,0
História familiar positiva de diabete (%)	16,0
Hipercolesterolemia (%)	32,0
Hipertrigliceridemia (%)	44,0
Baixo nível de HDL-C (%)	45,0
Alto nível de LDL-C (%)	29,0

Subseqüentemente avaliamos (Tabela 3) a relação entre a contagem dos leucócitos e outras variáveis de risco na população do estudo. A razão CT/HDL-C aumentou significativamente ($p=0,007$) nos tercís de contagem de leucócitos, enquanto outras variáveis, como glicemia de jejum, triglicérides, HDL-colesterol e apolipoproteína A1, foram não-significativamente mais altas nos tercís superiores. O IMC e a CC foram mais altos nos tercís superiores da contagem de leucócitos, mas as diferenças não foram estatisticamente significantes. As pressões sistólica e diastólica também foram não-significativamente mais altas nos tercís superiores. Mulheres nos tercís superiores apresentavam maior incidência de diabete. O valor médio da PCR-as era maior nos tercís crescentes da contagem de leucócitos, mas não apresentava significância estatística.

A proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-as) estava significativamente associada com medidas de obesidade como IMC ($r=0,373$, $p<0,001$) e CC ($r=0,301$, $p=0,002$) após ajuste para idade (Tabela 4), enquanto nenhuma correlação significativa foi observada com a RCQ ($r=0,004$, $p=0,966$). Entretanto, a contagem de leucócitos estava não-significativamente associada com o IMC, CC e RCQ após ajuste para idade. A análise do coeficiente de correlação parcial revelou uma correlação negativa significativa entre o HDL-c e a PCR-as ($r=-0,220$, $p=0,031$) e entre o HDL-C e a contagem de leucócitos ($r=-0,247$, $p=0,014$). A apolipoproteína A1 também estava inversamente associada ($r=-0,237$, $p=0,031$) com a PCR-as em mulheres. As associações com a contagem de leucócitos foram significantes para variáveis bioquímicas, tais como glicemia de jejum ($r=0,253$, $p=0,011$), razão CT/

HDL-C ($r=0,284$, $p=0,004$) e PCR-as ($r=0,252$, $p=0,012$). Como fortes associações foram observadas entre a PCR-as e a medidas de obesidade como o IMC e a CC, nós ajustamos essas variáveis junto com idade para o cálculo de coeficientes de correlação parcial entre a PCR-as e outras variáveis em todos os modelos acima. As associações da contagem de leucócitos com outras variáveis foram computados após ajuste para idade.

Uma comparação dos níveis dos marcadores inflamatórios em mulheres pré-menopausa e pós-menopausa é mostrada na Tabela 5. Ambos os níveis de PCR-as e a contagem de leucócitos não diferiram significativamente entre as mulheres na pré e na pós-menopausa. As médias geométricas ajustadas foram 1,68 e 2,66 mg/l respectivamente para PCR-as (aumento de 1,58 vezes com a menopausa). Devido ao fato de a menopausa estar associada com alterações nas medidas de obesidade e outros perfis bioquímicos, ajustamos as médias para variáveis como IMC, CC e HDL-C, além da idade.

A análise de regressão logística foi conduzida em variáveis que se correlacionavam significativamente com a PCR-as (Tabela 6). O IMC (OR, 1,186; IC, 1,046-1,345; $p=0,008$) e CC (OR, 1,045; IC, 1,005-1,087; $p=0,027$) foram as covariantes que apresentaram uma associação significativa e positiva com a PCR-as após o ajuste para idade. Entretanto, nenhuma associação independente foi observada entre o HDL-C e a PCR-as.

Discussão

Há um consenso emergente de que a DCV tem uma etiologia multifatorial, incluindo componentes ateroscleróticos, pró-trombóticos e inflamatórios. Sendo assim, além da avaliação dos fatores de risco convencionais, novos marcadores tem sido explorados em estudos observacionais prospectivos na esperança de que eles possam melhorar a capacidade de prever o risco de desenvolvimento de eventos cardiovasculares.

No presente estudo, encontramos associações significantes entre os níveis de PCR-as e medidas de adiposidade, como IMC e CC. Esses resultados são consistentes com os achados experimentais, sugerindo que o tecido adiposo é uma grande fonte de citocinas, incluindo IL-6, que é um importante determinante de síntese de PCR hepática^{8,22-24}. Entretanto, em adultos, associações mais fortes entre gordura corporal e valores de PCR tem sido relatadas para mulheres, quando comparadas com homens²⁵. O estudo *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) realizado nos Estados Unidos, que incluiu homens e mulheres com idade ≥ 20 anos, revelou que o IMC mais alto está associado com concentrações mais altas de PCR, mesmo em adultos mais jovens²⁶. Uma relação significativa entre os níveis de PCR com o IMC também foi relatada entre homens e mulheres idosos no estudo *Cardiovascular Health Study*²² bem como por Mendall e cols.²³. Lemieux e cols.²⁷ observaram que apesar do fato da quantidade de gordura corporal (medida como IMC) apresentar a melhor correlação com os níveis de PCR, as maiores concentrações de PCR no plasma foram observadas em indivíduos que apresentavam aumentos paralelos na adiposidade visceral (medida como CC) e

Tabela 2 - Distribuição de fatores de risco de acordo com os tercís das concentrações de proteína-C reativa de alta sensibilidade (PCR-as)

Fatores de risco	Tercís de PCR-as sérica			p value*
	1º	2º	3º	
PCR-as, mediana, mg/l	0,606	1,314	5,317	
Varição interquartil	(0,21-0,70)	(1,00-1,86)	(3,06-6,02)	
Idade, anos	50,4±12,2	46,8±8,5	45,7±7,1	0,142
Pós-menopausa, %	57,5	54,5	58,8	0,723
IMC, kg/m ²	23,1±3,3	25,3±3,3	26,8±4,5†	0,001
Obesidade, %	30,3	53,1	73,5	0,001
Circunferência da cintura, cm	88,6±9,1	92,2±11,1	96,2±12,5†	0,021
Razão cintura/quadril	0,90±0,03	0,90±0,03	0,89±0,03	0,921
Pressão arterial sistólica, mmHg	124,0±19,0	131,9±20,4	124,3±20,6	0,198
Pressão arterial diastólica, mmHg	75,9±7,1	81,0±9,5	77,8±8,3	0,050
História de hipertensão, %	27,2	42,4	38,2	0,415
Glicemia de jejum, mmol/l (mg/dl)	5,52±2,28	5,11±1,51	5,90±2,24	0,290
História de diabete, %	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/O Hipercolesterolemia, %	36,6	36,6	23,5	0,427
Triglicérides, mmol/l (mg/dl)	1,58±0,72	1,68±0,71	1,78±0,79	0,555
H/O 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
Baixo nível 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 nível de LDL-C, %	24,2	39,3	23,5	0,274
Razão 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

Todo os valores são expressos em média ± DP exceto para as variáveis categóricas e assimétricas. *Para variáveis com distribuição normal, os valores de p foram computados através de one-way ANOVA; para variáveis assimétricas, os valores de p foram computados através do Teste da soma dos postos de Wilcoxon (Wilcoxon's rank sum test) para a diferença nas medianas e para variáveis categóricas, os valores de p foram computados através do Teste de Qui-quadrado. **Valores são medianas. †Significativamente diferente do 1º tercíl (p<0,05).

gordura total corporal. Apoio adicional à essa observação foi fornecido pelo estudo de Hak e cols.²⁴, que relataram que a PCR estava fortemente associada com a CC, mesmo após o ajuste do IMC. A relativa contribuição do tecido adiposo intra-abdominal e subcutâneo na geração da PCR ainda não é clara. Entretanto, no presente estudo, a CC mostrou uma associação significativa com a PCR-as, embora a associação desapareça após o controle do IMC (dados não mostrados). Esse fenômeno pode ser explicado pela forte colinearidade da CC e IMC nos sujeitos do estudo.

No presente estudo, foi observado que a PCR-as apresentou uma associação inversa com o HDL-C e a apolipoproteína A-1. Além disso, houve uma associação inversa entre a contagem de leucócitos e os níveis de HDL-C. Os níveis de HDL-C consistentemente mostram uma associação inversa com marcadores sistêmicos de inflamação em vários estudos prospectivos^{5,24,28}. Um estudo recente por Birjmohun e

cols.²⁹ demonstrou que indivíduos aparentemente saudáveis com níveis baixos isolados geneticamente determinados de HDL-C eram mais suscetíveis a teste de sensibilidade com endotoxina de baixa dose em comparação com indivíduos com níveis normais ou altos de HDL-C. O estudo revelou uma forte associação inversa entre os níveis de HDL-C e apo A-1 com a resposta dos leucócitos e níveis de PCR no plasma, apoiando um efeito anti-inflamatório do HDL-C. No presente estudo, tem sido mostrado que a associação entre os níveis de PCR no plasma e valores baixos de HDL-C persiste mesmo após o ajuste para IMC e CC, sugerindo uma associação independente entre essas variáveis nos indivíduos. Evidências recentes apóiam uma série de efeitos antiaterogênicos do HDL-C, incluindo efeitos antiinflamatórios³⁰.

No presente estudo, a contagem de leucócitos mostrou uma correlação positiva significativa com os níveis de PCR-as no plasma e variáveis como glicemia de jejum e razão CT/

Tabela 3 - Distribuição dos vários fatores de risco de acordo com os tercis das concentrações de leucócitos

Fatores de risco	Tercis das concentrações de leucócitos			valor de p*
	1º	2º	3º	
Leucócitos, [x 10 ⁹ /l]	4,7±0,4	6,3±0,5	8,6±0,7	
Idade, anos	48,5±10,0	48,0±8,8	46,4±10,1	0,663
Pós-menopausa, %	57,5	54,5	58,8	0,723
IMC, kg/m ²	24,3±3,8	24,7±3,7	26,2±4,4	0,147
Obesidade, %	43,7	60,6	52,9	0,395
Circunferência da cintura, cm	91,0±11,1	92,0±10,4	94,0±12,4	0,539
Razão cintura/quadril	0,89±0,03	0,90±0,03	0,90±0,03	0,355
Pressão arterial sistólica, mmHg	124,1±18,3	127,9±21,1	128,1±21,2	0,673
Pressão arterial diastólica, mmHg	77,1±8,1	78,6±10,1	79,0±7,3	0,642
História de hipertensão, %	36,3	30,3	41,1	0,649
Glicemia de jejum, mmol/l	4,91±1,07	5,63±2,22	5,98±2,46	0,091
História 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/O Hipercolesterolemia, %	21,1	45,5	29,4	0,099
Triglicérides, mmol/l	1,63±0,69	1,68±0,78	1,74±0,76	0,555
H/O 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
Baixo nível 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 nível de LDL-C, %	18,1	33,3	35,2	0,242
Razão 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

Todo os valores são expressos em média ± DP exceto para as variáveis categóricas e assimétricas. *Para variáveis com distribuição normal, os valores de p foram computados através de one-way ANOVA; para variáveis assimétricas, os valores de p foram computados através do Teste da soma dos postos de Wilcoxon (Wilcoxon's rank sum test) para a diferença nas medianas e para variáveis categóricas, os valores de p foram computados através do Teste de Qui-quadrado. **Valores são medianas. †Significativamente diferente do 1º tercil (p<0,05).

HDL-C. O estudo transversal ARIC com indivíduos jovens e de meia-idade³¹ mostrou que a contagem de leucócitos estava associada com os níveis de insulina e glicemia de jejum em uma análise não-estratificada por sexo. Um estudo recente na população asiática da Índia, conduzido por Gokulkrishan e cols.³² mostrou que a contagem de leucócitos tinha uma associação positiva com glicemia de jejum e resistência à insulina. Sendo assim, é possível que a inflamação e a função endotelial estejam entre vários antecedentes comuns para diabetes e doença cardíaca coronariana³³. A associação entre concentrações de PCR plasmática e contagem de leucócitos tem sido também consistentemente relatadas em muitos achados clínicos^{2,34}.

Não observamos uma influência clara do estado menopausal nos níveis de biomarcadores inflamatórios. Observações similares foram relatadas pelo estudo de Hak e seu grupo²⁴ onde os níveis de PCR ajustados para idade e para a idade e IMC

eram levemente mais altos nas mulheres na pré-menopausa, mas a diferença não era estatisticamente significativa. Em um estudo comparativo de mulheres na pré-menopausa vs. mulheres na pós-menopausa, conduzido por Sites e cols.³⁵, níveis aumentados de PCR estavam associados com aumento na gordura corporal, mas não ao estado menopausal. Entretanto, numerosos testes clínicos tem demonstrado que terapias de reposição hormonal exógena, bem como os níveis de hormônio endógenos estão associados com aumento nos níveis de PCR, junto com outros marcadores de inflamação, como fibrinogênio e contagem de leucócitos, em mulheres na pós-menopausa^{36,37}. Estudos adicionais são necessários para estudar a associação entre inflamação e menopausa.

A inflamação tem um papel fundamental na aterosclerose³⁸. A PCR-as, uma medida da inflamação, é um mediador bem como um marcador de aterosclerose. Embora vários outros marcadores inflamatórios tenham sido investigados, a PCR-

Tabela 4 - Coeficientes de correlação para PCR-as e concentrações de leucócitos com variáveis antropométricas e bioquímicas em 100 mulheres

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

[†]Coefficientes de correlação parciais controlados para idade. [‡]Coefficientes de correlação parciais controlados para idade, IMC e circunferência da cintura.

as tem mais estabilidade, precisão no ensaio, acurácia e disponibilidade. A PCR-as obteve reconhecimento oficial como teste cardíaco do *Centers for Disease Control and Prevention* (Centro de Controle e Prevenção de Doenças - CDC) e da *American Heart Association* (AHA)⁴. A utilidade do teste da PCR em pacientes com infarto do miocárdio, angina estável ou instável, tem sido bem estabelecida³⁹. Níveis altos de PCR-as nessas situações clínicas identificam pacientes com cargas inflamatórias mais altas, que apresentam maior risco de eventos isquêmicos futuros. Além disso, um nível alto de PCR fornece valor prognóstico adicional aos fatores de risco tradicionais. Assim, em um indivíduo com alto risco, um nível

Tabela 5 - Comparação dos biomarcadores inflamatórios em mulheres na pré-menopausa e menopausa

	Pré-menopausa (n = 43)		Pós-menopausa (n = 57)	
	Média	EP	Média	EP
Idade, anos	39,6	3,37	53,7	8,28
PCR-as, mg/l ^{†‡}	1,68	0,88 a 2,47	2,66	2,00 a 3,32
Leucócitos [x 10 ⁹ /l] [*]	6,43	0,32	6,74	0,27

^{*}Ajustado para idade, IMC, circunferência da cintura e níveis de HDL-colesterol. [†]Médias geométricas (IC95%) são mostradas para for PCR-as, pois sua distribuição é assimétrica.

elevado de PCR-as deveria alertar o médico e o indivíduo para a necessidade de estabelecer estratégias agressivas de diminuição de riscos.

Até o limite de nosso conhecimento, o presente estudo é o primeiro a examinar a associação entre marcadores inflamatórios sistêmicos, tais como a PCR-as e a contagem de leucócitos e outros fatores de risco cardiovascular em uma amostra baseada na população geral na Índia, com foco particularmente nas mulheres. Um ponto forte adicional do estudo foi a qualidade da coleta da amostra e a precisão na medida na PCR e outros biomarcadores associados. Entretanto, algumas questões precisam ser discutidas. Esse estudo foi conduzido em uma população aparentemente saudável com baixa ou nenhuma exposição atual à fatores de DCV clinicamente estabelecida, como infarto do miocárdio e fumo, respectivamente. Os fatores acima são fortes determinantes dos níveis de PCR e assim, a escolha de nossa população facilitou a investigação de confundidores associados com a PCR. Assim, estudos adicionais são necessários para verificar os achados em situações clínicas e epidemiológicas nessa população. Segundo, esse estudo inclui o uso de uma única medida de marcadores inflamatórios, os quais podem não refletir de forma acurada o estado inflamatório de longo prazo. Múltiplas medidas com o passar do tempo e alterações nessas medidas podem fornecer um mecanismo mais preciso para predizer o risco nos indivíduos.

Conclusão

Nossos resultados indicam que em uma população aparentemente saudável de mulheres com baixa taxa de

Tabela 6 - Análise por regressão logística múltipla tendo PCR-as[‡] como a variável dependente e outros fatores de risco como variáveis independentes em 100 mulheres

	Ajustado para idade			Ajustado para idade + IMC + CC		
	β [†]	OR (IC95%) [†]	valor de p	β [†]	OR (IC95%) [†]	valor de p
IMC (kg/m ²)	0,171	1,186(1,046, 1,345)	0,008	-	-	-
Circunferência da 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

[†]Um dado dicotômico, a proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-as ≤1,31/PCR-as >1,31), foi a variável dependente. [†]β indica coeficiente de regressão. [†]OR, odds ratio; IC, intervalo de confiança. Aqui, o odds ratio ou e^β é o aumento na chance associada com o aumento da unidade na variável independente.

fumantes e doença cardiovascular clinicamente estabelecida, o IMC e a CC estavam associados com níveis de biomarcadores sistêmicos tais como a PCR-as e a concentração de leucócitos. Considerando que os mediadores inflamatórios estão diretamente envolvidos com a aterogênese, esses resultados sugerem um importante mecanismo através do qual a obesidade pode afetar o risco de doença cardiovascular. Também observamos uma importante associação entre marcadores inflamatórios e variáveis de lipoproteínas tais como o HDL-c e a Apo-A1, que foi independente das medidas de adiposidade. Esses achados adicionam a um crescente conjunto de evidências que o HDL-c e a Apo-A1 protegem contra a doença cardiovascular através de mecanismos que se estendem bem além de seu envolvimento no transporte de colesterol. Os presentes achados assim reforçam a importância desses biomarcadores inflamatórios na criação de algoritmos de previsão de risco cardiovascular junto com as ferramentas de avaliação padrão, especialmente em mulheres.

Referências

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-

Agradecimentos

Esse trabalho recebeu apoio do Departamento de Ciência e Tecnologia, Governo da Índia, [Benefício nº SSD/WS/059/2004].

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pelo Department of Science and Technology Government of India.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Debdutta Ganguli pela University of Calcuta.

Artigo Original

- 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.
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.