

FERNANDO ARAÚJO

**Concentração sérica da proteína C-reativa e seu  
polimorfismo genético em indivíduos sem evidências  
de cardiopatia**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutor em Medicina

Área de Concentração: Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Alfredo José Mansur

SÃO PAULO  
2002

**FICHA CATALOGRÁFICA**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Araújo, Fernando

**Concentração sérica da proteína C-reativa e seu polimorfismo genético em indivíduos sem evidências de cardiopatia** / Fernando Araújo. -- São Paulo, 2002.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Cardio-Pneumologia.  
Área de concentração: Cardiologia.  
Orientador: Alfredo José Mansur.

Descritores: 1.PROTEÍNA C-REATIVA/análise 2.PROTEÍNA C-REATIVA/genética 3.DOENÇAS CARDIOVASCULARES/diagnóstico 4.PROTEÍNA C-REATIVA/uso diagnóstico 5.FATORES DE RISCO 6.POLIMORFISMO (GENÉTICA)/genética 7.REAÇÃO EM CADEIA POR POLIMERASE/métodos

USP/FM/SBD-249/02

Aos meus pais,  
Hermógenes e Iolanda,  
pelos exemplos de vida, trabalho  
e carinho.

A minha esposa,  
Marinalva,  
pela compreensão e  
companheirismo.

Aos filhos,  
Fernando e Arthur,  
frutos de nosso amor.

Aos irmãos,  
Márcia e Ricardo,  
exemplo de trabalho em suas áreas.

## **Agradecimentos**

Ao Prof. Dr. José Antonio Franchini Ramires, pela oportunidade da Pós-graduação e estímulo ao crescimento científico.

Ao Prof. Dr. Alfredo José Mansur, pela orientação e empenho para exercermos a dimensão científica da atividade assistencial.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Krieger, pela confiança e estímulo decisivos para perseguirmos o ideal científico.

Ao Dr. Alexandre da Costa Pereira, pelo auxílio constante e enriquecedor para o desenvolvimento desta linha de investigação.

Aos colegas da Unidade Clínica de Ambulatório Geral do Instituto do Coração, que se empenham no cuidar de pacientes e se harmonizam na tarefa de conciliar o atendimento médico, o ensino e contribuir para a pesquisa científica Institucional.

As biólogas Glória de Fátima A. da Costa e Daniela L. Jardim, pelo auxílio na genotipagem da proteína C-reativa.

A Profa. Dra. Maria do Rosário Dias de Oliveira Latorre, do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da USP, pela assessoria estatística.

À Profa. Maria Nilce Pereira pela dedicada revisão ortográfica.

À Sra. Sandra Miranda Souza e à Sra. Marlene Aguiar, pela colaboração constante no decorrer do trabalho.



## Sumário

Lista de abreviaturas	
Lista de tabelas	
Resumo	
Summary	
Introdução.....	01
Objetivos .....	06
Casuística e Métodos .....	07
Delineamento do estudo.....	07
Amostra e população de origem.....	07
Critérios de inclusão.....	08
Critérios de exclusão.....	08
Casuística.....	09
Avaliação cardiológica.....	09
Dosagem da Proteína C-reativa pelo método hipersensível.....	10
Determinação do polimorfismo G1059C do gene da proteína C-reativa.....	11
Variáveis a serem estudadas.....	13
Análise Estatística.....	13
Aspectos éticos.....	15
Financiamento.....	16
Resultados.....	17
Características basais dos indivíduos participantes do estudo .....	17
Correlação da concentração sérica da PCR com características clínicas e laboratoriais.....	20
Correlação do Polimorfismo G1059C da Proteína C-reativa com variáveis clínicas, laboratoriais e PCRhs.....	25
Discussão.....	29
Aspectos metodológicos .....	29
Concentração sérica da PCRhs em relação a variáveis clínicas e laboratoriais.....	34
Polimorfismo genético G1059C da PCR.....	39
Limitações do estudo.....	41
Implicações clínicas.....	42
Conclusões.....	43
Referências Bibliográficas.....	44

## Lista de abreviaturas

CoIT/HDL-C	Razão colesterol total/ <i>High density lipoprotein cholesterol</i>
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EDTA	Conservante Etileno diamina tetracético
FC	Frequência cardíaca (batimentos/minutos)
HDL-C	<i>High density lipoprotein cholesterol</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia Estatística
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corpórea (Kg/m <sup>2</sup> )
LDL-C	<i>Low density lipoprotein cholesterol</i>
LDL-C/HDL-C	Razão <i>Low density lipoprotein cholesterol</i> / <i>High density lipoprotein cholesterol</i>
pb	pares de base
PCR	Proteína C-reativa
PCRhs	Proteína C-reativa dosada pelo método hipersensível
VLDL	<i>Very low density lipoprotein</i>

## Lista de tabelas

TABELA 1	Número e percentagem de indivíduos segundo algumas variáveis qualitativas.....	17
TABELA 2	Estatística descritiva das variáveis quantitativas.....	18
TABELA 3	Concentração sérica da proteína C-reativa hipersensível por quartis.....	19
TABELA 4	Estatística descritiva dos dados ecocardiográficos.....	20
TABELA 5	Número e percentagem de indivíduos, segundo sexo, raça e tabagismo, distribuídos por quartis da concentração sérica da proteína C-reativa.....	21
TABELA 6	Comparação de médias das variáveis quantitativas por quartis da concentração sérica da proteína C-reativa hipersensível.....	22
TABELA 7	Coefficientes de correlação de Spearman entre log PCRhs e as variáveis quantitativas do estudo.....	23
TABELA 8	Análise de regressão linear múltipla.....	24
TABELA 9	Modelo de regressão múltipla, segundo subgrupos de sexo e tabagismo.....	25
TABELA 10	Número e percentagem de indivíduos, segundo sexo, raça e tabagismo, distribuídos por gene da proteína C-reativa.....	26
TABELA 11	Comparação de médias das variáveis quantitativas distribuídas por genótipos do gene da proteína C-reativa.....	27
TABELA 12	Distribuição dos genótipos da PCR por quartil da concentração sérica da PCRhs.....	28



## Resumo

**ARAÚJO, F. Concentração sérica da proteína C-reativa e seu polimorfismo genético em indivíduos sem evidências de cardiopatia.**

São Paulo, 2002. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Dados epidemiológicos documentaram a associação entre elevação moderada dos níveis séricos da proteína C-reativa (PCR) pela técnica hipersensível (PCRhs), dentro da variação normal, e risco cardiovascular em indivíduos sem doença clínica vascular. A potencial aplicação da PCRhs, como uma ferramenta auxiliar na avaliação global, de risco requer conhecimento de sua distribuição na população e das características clínicas envolvidas. Há carência de dados sobre a influência genética na concentração da PCR. Formulamos a hipótese de que variações alélicas (polimorfismo) no gene que codifica a PCR poderiam interferir na sua concentração sérica. Avaliamos a distribuição da concentração sérica da proteína C-reativa determinada pela técnica hipersensível em indivíduos de uma população brasileira sem evidências clínica e laboratorial de cardiopatia, e as variações desta concentração em relação às características clínicas, variáveis laboratoriais e ao polimorfismo G1059C do gene da PCR. Realizamos um estudo de coorte, de indivíduos assintomáticos com exames clínico e cardiológico normais, atendidos na Unidade Clínica de Ambulatório Geral do Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, no período de julho de 1998 a julho de 2001. Critérios de inclusão: indivíduos assintomáticos com exame físico normal, eletrocardiograma de repouso e esforço normais e radiografia do tórax normal. Foram excluídos aqueles com glicemia superior a 125 mg/dl, alterações na concentração sérica do hormônio tireoestimulante (TSH) e sorologia positiva para doença de Chagas. Foram

elegíveis 684 indivíduos: 295 (43,1%) do sexo masculino e 389 (56,9%) do feminino. Suas idades variaram entre 14 e 74 anos (média 40,6; desvio-padrão 11,5); 513 (75,0%) eram brancos, 117 (17,1%) mulatos, 32 (4,7%) amarelos e 22 (3,2%) negros. O tabagismo foi relatado por 160 (23,4%) indivíduos e 524 (76,6%) não eram tabagistas. A avaliação laboratorial incluiu a dosagem de glicemia, colesterol total e frações, triglicérides e ácido úrico. Foram colhidas amostras de sangue para dosagem sérica da PCRhs e genotipagem da PCR. A ecocardiografia bidimensional com doppler foi realizada em 634 indivíduos, com resultado normal. A concentração sérica da PCRhs foi distribuída por quartis da população em estudo, os valores mínimo e máximo por quartil foram: 1º quartil 0,014-0,037 mg/dl; 2º quartil 0,038-0,078 mg/dl; 3º quartil 0,080-0,187 mg/dl e 4º quartil 0,188-1,31 mg/dl. Num modelo de regressão múltipla as variáveis independentes correlacionadas ao log da PCRhs foram: idade ( $p=0,03$ ), índice de massa corpórea (IMC) ( $p<0,01$ ), razão colesterol total/HDL colesterol (CoIT/HDL-C) ( $p<0,01$ ) e frequência cardíaca ( $p<0,01$ ). Para avaliar o comportamento das variáveis significativas deste modelo de regressão, a amostra foi estratificada em quatro grupos, segundo sexo e tabagismo, e foram estimados quatro modelos múltiplos. Nos homens tabagistas foram variáveis significativas a idade ( $p=0,04$ ) e a razão CoIT/HDL-C ( $p<0,01$ ); nos homens não tabagistas foram o IMC ( $p<0,01$ ) e a razão CoIT/HDL-C ( $p<0,01$ ); nas mulheres tabagistas o IMC ( $p<0,01$ ) e nas mulheres não tabagistas foram o IMC ( $p<0,01$ ), a razão CoIT/HDL-C ( $p=0,01$ ) e a frequência cardíaca ( $p=0,02$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa ( $p<0,05$ ) na concentração da PCRhs entre os diferentes genótipos do gene da PCR. Portanto as variáveis idade, IMC, razão CoIT/HDL-C e frequência cardíaca, não se relacionam com a concentração sérica da PCRhs de maneira homogênea, mas sim de acordo com o subgrupo analisado, referente ao sexo e tabagismo; e as concentrações da PCRhs não diferiram quanto a presença ou ausência do polimorfismo G1059C do gene da PCR.



## Summary

ARAÚJO, F. **Serum concentration of C-reactive protein and its genetic polymorphism in individuals without heart disease.** São Paulo, 2002.

Thesis (Doctorate) – University of São Paulo Medical School.

Epidemiologic data have documented the association between moderate elevation, within the normal range, of the C-reactive protein (CPR) serum levels measured by high-sensitivity assays (hs-CRP), and cardiovascular risk among individuals without clinical evidence of vascular disease. The potential use of hs-CRP as a new auxiliary tool in the assessment of overall risk requires that its distribution in the population and the related clinical characteristics are known. There is few data about the influence of genetics upon CRP concentration. The hypothesis that allele variations in the gene responsible for coding CRP (polymorphism) could interfere with CRP serum concentration has been posed. The aim of this study was to assess the distribution of C-reactive protein (CRP) serum concentration measured by high-sensitivity assay (hs-CRP), in a Brazilian population of individuals without heart disease, as well as the association of variations of that concentration with clinical characteristics and laboratory variables, and with the CRP gene G1059C polymorphism. A cohort of asymptomatic patients visiting the Outpatient Clinic of the Heart Institute (InCor) of the University of São Paulo Medical School between July 1998 and July 2001, all with normal results in the clinical and cardiological evaluations, was studied. The inclusion criteria were: asymptomatic individuals with normal results in the physical evaluation, normal electrocardiography and stress test, and normal chest X-ray examination. Individuals with glucose level above 125mg/dl, changes in the thyroid-stimulating hormone (TSH) serum concentration, and positive serology for Chagas' disease, were excluded. Thus, 684 individuals, 295 men (43.1%) and 389 women (56.9%), ages 14 to 74 (mean 40.6, SD

11.5) years, were eligible. White people in the cohort were 513 (75.0%), mulatto 117 (17.1%), eastern people 32 (4.7%) and 22 of black color (3.2%). 160 individuals (23.4%) reported as currently smoking, while 524 (76.6%) were non-smokers. Laboratory screening consisted of dosing of glucose, total and partial cholesterol, triglycerides and uric acid plasma levels. Doppler two-dimensional echocardiography was performed in 636 individuals, all with normal results. Serum hs-CRP concentration of the study population was distributed in quartiles, with minimum and maximum values per quartile as follows: 1<sup>st</sup> quartil, 0.014-0.037mg/dl; 2<sup>nd</sup> quartile: 0.038-0.078mg/dl; 3<sup>rd</sup> quartile: 0.080-0.187mg/dl; and 4<sup>th</sup> quartile: 0.188-1,31mg/dl. Multiple regression analysis has shown that the independent variables correlating with hs-CRP-log were age ( $p=0.03$ ), body mass index ( $p<0.01$ ), total/HDL cholesterol ratio ( $p<0.01$ ) and heart rate ( $p<0.01$ ). The study population was stratified in 4 groups according to gender and smoking status, to verify the behavior of the significant variables in this regression model, with estimation of 4 multiple models. Significant variables were: among currently smoking men, age ( $p=0.04$ ) and Total/HDL cholesterol ratio ( $p<0.01$ ); among non-smoking men, BMI ( $p<0.01$ ) and Total/HDL cholesterol ratio ( $p<0.01$ ). Among currently smoking women, only BMI ( $p<0.01$ ) was significant, and among non-smoking women, BMI ( $p<0.01$ ), Total/HDL cholesterol ratio ( $p=0.01$ ) and heart rate ( $p=0.02$ ) were significant. There was no statistically significant difference ( $p<0.05$ ) of the hs-CRP serum concentration in the groups with GG genotypes or the CRP gene G1059C polymorphism. Our findings led to the conclusion that the variables age, BMI, Total/HDL cholesterol ratio and heart rate do not correlate homogeneously with the hs-CRP serum concentration in this study population, but according to the specific gender or smoking status subgroup being studied this is verified. Additionally, hs-CRP concentrations did not differ according to the presence or the absence of the CRP gene G1059C polymorphism.



## Introdução

Resposta de fase aguda é a denominação de um conjunto de alterações nas concentrações de proteínas plasmáticas que acompanham diferentes formas de inflamação (PEPYS; BALTZ, 1983). A medição das proteínas de fase aguda no sangue, entre elas a proteína C-reativa (PCR), permite avaliar a atividade inflamatória sistêmica (ERNST, 1993).

O estudo da PCR ganhou importância, pois esta proteína pode ser componente na predição de risco cardiovascular (LIBBY *et al*, 2002). A infiltração celular inflamatória é evidente nas placas ateroscleróticas, em praticamente todos os estágios da doença, do filamento de gordura às lesões ateromatosas avançadas, com rompimento da placa e trombose; de tal forma que a aterosclerose pode ser considerada uma doença inflamatória (ROSS, 1999).

A proteína C-reativa, assim denominada porque reage com o polissacarídeo somático C da *Streptococcus pneumonia* (TILLET; FRANCIS, 1930), tem várias características que a tornam um marcador útil de inflamação. É uma proteína produzida pelo fígado em resposta à interleucina-6 (IL-6) na vigência de inflamação e infecção (PEPYS; BALTZ, 1983). A IL-6 é, por sua vez, uma citocina cuja produção é induzida pela interleucina-1 e o fator de necrose tumoral  $\alpha$ . A concentração da PCR é

estável por longo tempo na ausência de novos estímulos inflamatórios, e dependente quase inteiramente da taxa de produção hepática e não de fatores que influenciam a depuração de proteínas (MACY *et al*, 1997). Foi descrita uma técnica hipersensível que viabilizou a automação e o seu uso em larga escala (RIFAI *et al*, 1999).

Os mecanismos pelos quais a PCR participa na doença cardiovascular são objeto de ativas pesquisas atuais (DANESH *et al*, 1998). A aterosclerose em suas fases iniciais aumenta discretamente os níveis séricos de PCR e necessita de técnicas de alta sensibilidade para ser detectada. Os ensaios tradicionais medem concentrações entre 3 e 200 mg/l, e não apresentam sensibilidade apropriada para o nível requerido na determinação do risco cardiovascular em indivíduos aparentemente saudáveis. Ultimamente, com a utilização de métodos mais sensíveis, dentre os quais se destaca a nefelometria, foi possível detectar a PCR em baixos níveis de concentração (YU; RIFAI, 2000). A utilização da nefelometria apresenta um limite de detecção de até 0,015 mg/dl, razão pela qual é denominado de PCR ultra-sensível ou hipersensível (PCRhs), e para avaliação do risco cardiovascular o limite de referência superior é até 1,5 mg/dl (RIDKER *et al.*, 2001a). Recentemente, foi possível estabelecer a inexistência de variações diurnas de sua concentração, quando foram avaliadas dosagens hora a hora, durante 24 horas, em indivíduos saudáveis (MEIER-EWERT *et al.*, 2001).

A Proteína C-reativa dosada pelo método hipersensível permite detectar a elevação moderada de PCR dentro da faixa considerada normal (WILKINS *et al*, 1998). Com a aplicação desse teste, tem-se verificado nos

últimos anos um acúmulo de dados epidemiológicos que documentaram as associações entre elevação moderada de PCRhs e risco cardiovascular em pessoas sem doença clínica vascular (DANESH *et al*, 2000), bem como naqueles para quem o foco coloca-se na prevenção secundária (LIUZZO *et al*, 1994; THOMPSON *et al*, 1995; HAVERKATE *et al*, 1997).

O Estudo Intervencional de Fator de Risco Múltiplo (MRFIT) (KULLER *et al*, 1996), que documentou a relação entre PCR e mortalidade por doença arterial coronariana, foi o pioneiro estudo prospectivo da proteína C-reativa, com indivíduos saudáveis à época da inclusão no estudo, contudo com vários fatores de risco cardiovascular,.

Depois, outras pesquisas demonstraram que a PCR tem forte valor preditivo para doença aterosclerótica tanto em homens (RIDKER *et al*, 1997; KOENIG *et al*, 1999; ROIVAINEN *et al*, 2000), como em mulheres saudáveis (RIDKER *et al*, 1998a; RIDKER *et al*, 2000), e idosos sem doença cardiovascular aparente (TRACY *et al*, 1997a) . Nessas pesquisas, indivíduos com níveis de proteína C-reativa, detectados pela técnica hipersensível (PCRhs), no quartil superior tiveram riscos relativos de eventos vasculares futuros três ou quatro vezes mais altos do que indivíduos com níveis mais baixos; efeitos esses que independeram de quaisquer outros fatores de risco tradicionais (RIDKER *et al*, 2001a). Assim , o uso clínico deste marcador de inflamação pode ajudar a identificar indivíduos com maior risco de infarto do miocárdio, apesar de não atingirem os critérios para tratamento de hipercolesterolemia tradicionais; além disso, níveis plasmáticos de PCRhs parecem contribuir para o valor preditivo de medições



de lipídeos do plasma, e assim constituírem-se num método aprimorado de determinação de risco vascular futuro (RIDKER *et al*, 1998b).

Alguns autores sugeriram que a PCR pode ser considerada como um novo fator de risco para aterosclerose (LAGRAND *et al*, 1999; RIFAI; RIDKER, 2001). A concentração sérica encontra-se aumentada com: tabagismo (DAS, 1985), obesidade e resistência à insulina (HAK *et al*, 1999), maior índice de massa corpórea (MENDALL *et al*, 1996) e terapia de reposição hormonal (RIDKER *et al*, 1999; CUSHMAN *et al*, 1999). Não obstante essas associações, análises multivariadas demonstram claramente uma contribuição independente da PCR na predição de futuros eventos ateroscleróticos.

A proteína C-reativa hipersensível, como uma ferramenta auxiliar na avaliação de risco global, requer conhecimento de sua distribuição na população, e das características clínicas que a influenciam (RIDKER *et al*, 2001a). Estas características clínicas na avaliação da PCRhs da população brasileira, que apresenta alto grau de miscigenação (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 1997), podem não ser semelhantes às aquelas descritas em estudos com populações europeias ou norte-americanas. Identificamos apenas um estudo com determinação da PCRhs em população brasileira (RIBEIRO, 1997). Neste estudo foram selecionados 165 indivíduos doadores de sangue, assintomáticos, contudo sem avaliações clínicas e laboratoriais que permitissem classificá-los como sem evidências de cardiopatia.

A síntese e atividade da PCR são moduladas tanto por fatores ambientais como genéticos. Há carência de dados sobre a influência genética na concentração da PCR. Existe a hipótese de que diferenças genéticas permitiriam explicar as variações na concentração da PCR entre diferentes indivíduos, e num mesmo indivíduo no decorrer do tempo ( MAAT *et al*, 1996).

Em particular, variações alélicas (polimorfismo) do gene que codifica a PCR poderiam explicar tais diferenças. Polimorfismos genéticos influem na concentração sérica de algumas substâncias, tais como a enzima conversora da angiotensina I, o receptor AT1 da angiotensina II, angiotensinogênio, fibrinogênio (PEREIRA; KRIEGER, 1998). Já foi encontrado polimorfismo no gene da PCR (CAO *et al*, 2000a), mas sua repercussão funcional no nível sérico da PCR não é conhecida.

## **Objetivos**

Avaliar os níveis séricos de Proteína C-reativa, em indivíduos sem evidências de cardiopatia, em relação às características clínicas e laboratoriais;

Estudar o nível sérico da Proteína C-reativa em relação ao polimorfismo G1059C de seu gene.

## **Casuística e Métodos**

### **Delineamento do estudo**

Foi constituída uma coorte. Nesta coorte foi feito um estudo seccional ou de corte transversal, sendo sua designação mais precisa estudo individuado-observacional-seccional (ROUQUAYROL; ALMEIDA FILHO, 1999), com indivíduos assintomáticos, sem evidências clínicas ou laboratoriais de cardiopatia, para avaliação das interações de variáveis clínicas, laboratoriais e genéticas com a concentração sérica da Proteína C-reativa.

### **Amostra e população de origem**

No período de julho de 1998 a julho de 2001 foram avaliados indivíduos assintomáticos, submetidos à avaliação médica cardiológica para avaliação de saúde, na Unidade Clínica de Ambulatório Geral do Instituto do Coração (InCor) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).



#### Critérios de inclusão

- a) indivíduos de ambos os sexos, de qualquer raça, e com idade  $\geq 14$  anos, assintomáticos do ponto de vista cardiológico e sem antecedentes de cardiopatia;
- b) exames físicos geral e especial normais;
- c) eletrocardiograma normal;
- d) radiografia do tórax com área cardíaca e campos pleuropulmonares normais.

#### Critérios de exclusão

- a) história pregressa ou atual de doença cardiovascular ou sintomas cardiológicos;
- b) antecedentes de: Hipertensão Arterial Sistêmica, Doença de Chagas, Diabetes Mellitus, Hipertireoidismo ou Hipotireodismo, Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, Asma, Insuficiência Renal, Doenças Inflamatórias Crônicas, Doenças Osteoarticulares, Anemias crônicas e Neoplasias;
- c) exames laboratoriais compatíveis com Diabetes mellitus, Insuficiência renal, Hipotireoidismo ou Hipertireoidismo, Doença de Chagas e Anemia;
- d) teste ergométrico com isquemia miocárdia e/ou comportamento hipertensivo da pressão arterial;
- e) ecocardiografia com dilatação das câmaras cardíacas, disfunção sistólica e/ou diastólica e valvopatias;
- f) nível sérico de Proteína C-Reativa igual ou superior a 1,5 mg/dl.

## Casuística

Constituíram-na 684 indivíduos elegíveis: 389 (56,9%) eram do sexo feminino, e 295 (43,1%) do masculino. Suas idades variavam de 14 a 74 anos (média 40,6 anos); 516 (75,0%) eram brancos, 117 (17,1%) mulatos, 32 (4,7%) amarelos e 22 (3,2%) eram negros.

## Avaliação cardiológica

Esta avaliação incluiu anamnese e interrogatório sobre os diferentes aparelhos e sistemas, pesquisa de sintomas cardiovasculares, antecedentes familiares e pessoais, hábitos e condições de vida e exame físico, dividido em exame físico geral e exame físico especial. Em seguida os indivíduos foram submetidos ao eletrocardiograma e à radiografia do tórax em posição pósterio-anterior. Aqueles com exames clínico e cardiológico normais, eletrocardiograma e radiografia de tórax normais foram convidados a participar de um protocolo de pesquisa médica cardiológica, que incluía exames laboratoriais, exames para genotipagem, teste ergométrico e ecocardiograma. Obtida anuência ao convite para participar da pesquisa, assinaram termo de consentimento e prosseguiram no protocolo.

Os indivíduos participantes foram submetidos a exames de laboratório com dosagem das taxas séricas de glicose, colesterol total e frações, triglicérides, ácido úrico, hormônio tireo-estimulante, creatinina; hemograma;

análise de caracteres de urina, parasitológico de fezes, sorologia para Doença de Chagas, dosagem da Proteína C-Reativa pelo método hipersensível e amostra de sangue para genotipagem da Proteína C-reativa.

Todos os indivíduos realizaram o teste ergométrico em esteira pelo protocolo de Ellestad. Dos 684 participantes, 634 submeteram-se ao ecocardiograma bidimensional com doppler.

#### Dosagem da Proteína C-reativa pelo método Hipersensível

A amostra sangüínea foi colhida por punção venosa periférica em tubo de ensaio com EDTA. Extraído o soro, a amostra foi armazenada sob congelação, à temperatura de  $-80^{\circ}$  C ou inferior, no Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular do InCor para futura dosagem quantitativa.

O reagente para dosagem da proteína C-reativa pela técnica hipersensível consiste de uma suspensão de partículas de poliestireno, revestidas de anticorpo monoclonal antiproteína C-reativa, que se aglutinam ao serem colocadas em solução com amostra contendo proteína C-reativa. A técnica de determinação quantitativa da proteína C-reativa é realizada com o emprego da imunonefelometria por concentração de partículas. A intensidade da luz difusa no nefelômetro depende da concentração da proteína C-reativa da amostra, de forma que, por comparação com diluições de um padrão de concentrações conhecidas, é possível determinar a concentração da proteína C-reativa da amostra.



A sensibilidade é definida pelo limite inferior da curva de referência e depende da concentração da proteína C-reativa do *standard*. Seu limite de detecção mínimo é de 0,014 mg/dl, no caso de medição de uma diluição da amostra de 1:20. A determinação é específica para a PCR.

#### Determinação do polimorfismo G1059C do gene da proteína C-reativa

Após a coleta de sangue, conforme citado anteriormente, foi enviado ao Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular do InCor onde foi realizada a extração de DNA genômico dos linfócitos presentes na amostra, que foi posteriormente armazenado a 4 graus Celsius.

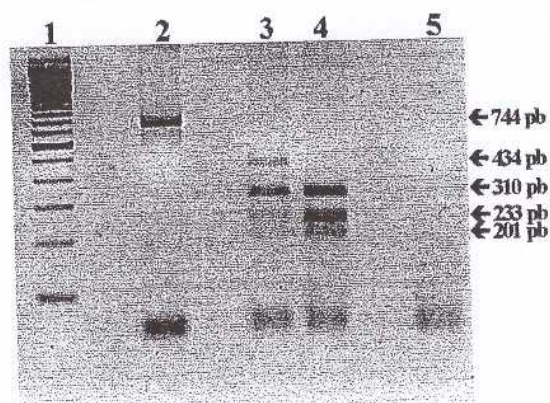
A análise do polimorfismo G1059C do gene da proteína C-reativa foi realizada por meio de amplificação das regiões polimórficas com primers específicos através da reação de polimerase em cadeia e posterior digestão do produto destas amplificações com o uso da enzima de restrição MaeIII. Em seguida, o produto desta reação foi visualizado através do gel de agarose e armazenado em formato digital para futuras consultas.

Resumidamente, o produto da amplificação é de 744 pares de bases (pb). A digestão do alelo 1059C produz dois fragmentos, com tamanhos de 434 e 310 pb. A digestão do alelo 1059G produz três fragmentos, com tamanhos de 310, 233 e 210 pb. Através da resolução destes produtos em gel de agarose a 3,5% é possível, por meio do padrão de bandamento,

identificar indivíduos isentos ou portadores de uma ou duas cópias de cada alelo.

Testamos os genótipos pelo Equilíbrio de Hardy Weinberg para comparação com a população.

Abaixo mostramos placa de identificação dos genótipos.



**FIGURA 1** - Determinação dos genótipos 1059GC do gene da Proteína C-reativa por reação de polimerase em cadeia. Gel de Agarose 3% corado com brometo de etídeo.

- 1: marcador de peso molecular (100 pb DNA ladder);
- 2: produto de amplificação por PCR (744pb);
- 3: genótipo GC, após digestão com Mae III (434, 310, 233 e 201 pb);
- 4: genótipo GG, após digestão com Mae III (310, 233 e 201 pb);
- 5: Controle negativo.

### Variáveis estudadas

- a) dados da história e do exame físico: idade, sexo, raça, tabagismo, índice de massa corpórea, frequência cardíaca, pressão arterial;
- b) dados da avaliação laboratorial: Dosagens séricas de glicose, colesterol total e frações, triglicérides, ácido úrico, hormônio tireo-estimulante;
- c) nível sérico da proteína C reativa pelo método hipersensível;
- c) polimorfismo G1059C do gene da proteína C-reativa;
- d) dados ecocardiográficos: diâmetros das cavidades cardíacas, volume sistólico final, fração de ejeção e massa ventricular esquerda.

### Análise Estatística

Primeiramente os dados foram analisados descritivamente por meio de porcentagens, médias, desvios-padrão e valores mínimos e máximos.

A aderência à curva normal foi avaliada pelo teste de Komolgorov-Smirnov. As múltiplas comparações das médias foram feitas pelo teste de *Tukey Honest Significant Differences* (Tukey-HSD). Os mesmos procedimentos foram adotados na análise das médias de idade, pressão arterial, índice de massa corpórea, glicemia, triglicérides, colesterol total e frações.



Foi avaliada a distribuição dos quartis de PCR, segundo sexo, raça e tabagismo, utilizando o teste de associação pelo qui-quadrado, o mesmo aconteceu em relação aos genótipos.

A comparação das médias de idade, pressão arterial, índice de massa corpórea, glicemia, triglicérides, colesterol total e frações, e dados ecocardiográficos, segundo genótipos, foi feita pelo teste de Mann-Whitney.

Foram elaborados gráficos das médias e respectivos intervalos de 95% de confiança.

Foi feita a análise de correlação entre a PCR e as demais variáveis quantitativas de análise (idade, pressão arterial, índice de massa corpórea, glicemia, triglicérides, colesterol total e frações), utilizando o coeficiente de correlação de Spearman. Nesta análise foi feita a transformação da PCR em logarítmica (logPCR).

Por último foi feito o modelo de regressão linear múltipla, tendo como variável dependente o logPCR. Esta análise teve por objetivo estimar quais os fatores independentes correlacionados ao logPCR. Foram selecionadas para o modelo múltiplo todas as variáveis com  $p < 0,20$  na análise univariada. Iniciou-se o processo de modelagem múltipla pela variável mais significativa do ponto de vista estatístico e, a seguir, foram acrescentadas as outras, uma a uma. A variável permanecia no modelo múltiplo se fosse significativa do ponto de vista estatístico, ou seja, se  $p < 0,05$ . Esse processo de modelagem denomina-se *stepwise forward selection*.

Após a definição do modelo múltiplo final, a amostra foi estratificada em quatro sub-grupos: homens tabagistas, homens não tabagistas,



mulheres tabagistas e mulheres não tabagistas. Foi estimado, então, um modelo de regressão linear múltipla para cada um destes subgrupos, utilizando-se as variáveis que foram significativas na amostra total. O objetivo desta análise foi verificar se havia interação entre as variáveis correlacionadas ao logPCR, tabagismo e sexo.

Em todas as análises foi utilizado o nível significativo de 5%.

A análise estatística foi realizada pelo pacote estatístico SPSS para Windows (versão 10.0).

#### Aspectos éticos

O projeto em questão é de natureza observacional; não serão instituídas quaisquer modificações na orientação médica recomendada ou medidas clínicas em decorrência da participação no estudo. Todas as informações clínicas e genéticas serão analisadas de maneira cega pelos pesquisadores e nenhum teste genético diferente dos já especificados será realizado sem aprovação prévia da Comissão de Ética em Pesquisa e, quando necessário, do paciente em questão. Será facultado ao paciente sua exclusão do estudo a qualquer momento. Ainda, todo participante pode requisitar a destruição do material biológico armazenado (DNA) em qualquer momento durante a realização deste estudo.

O protocolo foi aprovado junto à comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo nº 1533/99/88.

#### Financiamento

O projeto contou com o auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – processo 2001/03454-5.

## Resultados

### Características basais dos indivíduos participantes do estudo

Durante o período de 01 de julho de 1998 a 01 de julho de 2001, 684 indivíduos preencheram os critérios de elegibilidade para o presente estudo. Destes, 389 (56,9%) eram do sexo feminino, com predomínio da raça branca (75%). A maioria não era tabagista (76,6%). As variáveis qualitativas da população em estudo estão relacionadas na tabela 1.

TABELA 1 – NÚMERO E PORCENTAGEM DE INDIVÍDUOS SEGUNDO ALGUMAS VARIÁVEIS QUALITATIVAS

VARIÁVEIS	CATEGORIAS	n	%
Sexo	Masculino	295	43,1
	Feminino	389	56,9
Raça	Branca	513	75,0
	Mulata	117	17,1
	Amarela	32	4,7
	Negra	22	3,2
Tabagismo	Não	524	76,6
	Sim	160	23,4
TOTAL		684	100

A média de idade foi de 40,6 (14-74) anos. Os indivíduos deste estudo apresentaram índice de massa corpórea médio de 26,2 Kg/m<sup>2</sup>. A média da frequência cardíaca foi de 69,3 batimentos/minuto e as médias das pressões arteriais sistólica e diastólica foram 123,9 e 79,4 mm Hg respectivamente. Outras variáveis quantitativas desta população estão relacionadas na tabela 2.

TABELA 2 – ESTATÍSTICA DESCRITIVA DAS VARIÁVEIS QUANTITATIVAS

VARIÁVEIS	MÉDIA(Desvio-padrão)		MÍNIMO - MÁXIMO	
Idade (anos)	40,6	(11,5)	14	74
Índice de massa corpórea (kg/m <sup>2</sup> )	26,2	(4,4)	14,9	43,9
Frequência cardíaca(batimentos/min)	69,3	(7,7)	50	100
Pressão arterial sistólica (mm Hg)	123,9	(11,5)	72	140
Pressão arterial diastólica (mm Hg)	79,4	(7,2)	60	90
Glicemia (mg/dl)	92,4	(25,8)	60	125
Triglicérides (mg/dl)	116,4	(84,6)	12	1221
Colesterol total (mg/dl)	197,4	(39,3)	98	347
HDL-colesterol (mg/dl)	48,5	(13,6)	21	111
LDL-colesterol (mg/dl)	125,8	(34,3)	8	247
VLDL-colesterol (mg/dl)	22,7	(13,5)	5	98
Razão colesterol total/HDL-colesterol	4,4	(1,5)	1,8	11,7
Razão LDL-colesterol/HDL-colesterol	2,8	(1,1)	0,2	7,8
Ácido Úrico sérico (mg/dl)	4,6	(1,4)	0,1	9,8
Hormônio Tíreo-estimulante (mg/dl)	2,2	(2,5)	0,03	8,0



Nos 684 indivíduos a dosagem sérica da Proteína C-reativa foi realizada pelo método hipersensível. A concentração sérica foi distribuída por quartis, e os valores mínimo, máximo e médio de cada quartil estão relacionados na tabela 3. Quatro indivíduos tiveram PCRhs com concentração superior a 1,5 mg/d e foram excluídos da casuística.

TABELA 3 – CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA PROTEÍNA C-REATIVA HIPERSENSÍVEL POR QUARTIS

	1º QUARTIL	2º QUARTIL	3º QUARTIL	4º QUARTIL
Indivíduos – n (%)	171 (25)	170 (24,9)	172 (25,1)	171 (25)
Concentração Mínima (mg/dl)	0,014	0,038	0,08	0,188
Concentração Máxima (mg/dl)	0,037	0,078	0,187	1,31
Concentração Média (mg/dl)	0,022	0,058	0,124	0,407

Dos 684 participantes deste estudo, o genótipo "GG" do gene da Proteína C-reativa foi encontrado em 622 indivíduos (90,9%). O polimorfismo é caracterizado pelos genótipos "GC" e "CC". O genótipo GC foi encontrado em 62 (9,1%) indivíduos; nenhum indivíduo da amostra apresentou o genótipo CC. Esta distribuição encontra-se em Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p=0,56$  - teste de associação pelo qui-quadrado).

O exame Ecocardiográfico bidimensional com doppler foi realizado em 634 indivíduos participantes deste estudo. A tabela 4 relaciona as médias e desvio-padrão dos dados ecocardiográficos.

TABELA 4 – ESTATÍSTICA DESCRITIVA DOS DADOS  
ECOCARDIOGRÁFICOS

DADOS DO ECOCARDIOGRAMA	MÉDIA (Desvio padrão)	
Septo Interventricular (cm)	0,8	(0,1)
Parede posterior do ventrículo esquerdo (cm)	0,8	(0,1)
Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (cm)	4,8	(0,3)
Diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo (cm)	3,1	(0,3)
Volume sistólico final do ventrículo esquerdo (ml)	30,3	(8,4)
Fração de ejeção do ventrículo esquerdo	0,72	(0,04)
Diâmetro da aorta (cm)	3,2	(0,3)
Diâmetro do átrio esquerdo (cm)	3,2	(0,3)
Massa do ventrículo esquerdo (g/m <sup>2</sup> )	89,6	(18,7)

Correlação da concentração sérica da Proteína C-reativa com características clínicas e laboratoriais

Houve diferença estatisticamente significativa quanto ao sexo ( $p=0,01$ ). A porcentagem de mulheres foi maior do que a dos homens em todos os quartis, tendo maior porcentagem no 4º quartil. As variáveis raça e tabagismo não tiveram associação estatisticamente significativa com o quartil de proteína C-reativa hipersensível. Os resultados estão relacionados na tabela 5.

TABELA 5 – NÚMERO E PORCENTAGEM DE INDIVÍDUOS, SEGUNDO SEXO, RAÇA E TABAGISMO DISTRIBUÍDOS POR QUARTIS DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA PROTEÍNA C-REATIVA HIPERSENSÍVEL

VARIÁVEIS		CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA PROTEÍNA C-REATIVA HIPERSENSÍVEL				p <sup>(1)</sup>
		1º Quartil n (%)	2º Quartil n (%)	3º Quartil n (%)	4º Quartil n (%)	
Sexo	Masculino	79 (46,2)	83 (48,8)	74 (43,0)	59 (34,5)	0,01
	Feminino	92 (53,8)	87 (51,2)	98 (57,0)	112 (65,5)	
Raça	Branca	121 (70,8)	126 (74,1)	131 (76,2)	135 (78,9)	0,08
	Mulata	32 (18,7)	32 (27,4)	28 (16,3)	25 (14,6)	
	Negra	6 (3,5)	6 (3,5)	6 (3,5)	4 (2,3)	
	Amarela	12 (7,0)	6 (3,5)	7 (4,1)	7 (4,1)	
Tabagismo	Não	127 (74,3)	131 (77,1)	140 (81,4)	126 (73,7)	0,85
	Sim	44 (25,7)	39 (24,9)	32 (18,6)	45 (26,3)	
TOTAL		171 (100)	170 (100)	172 (100)	171 (100)	

<sup>(1)</sup> Teste de associação pelo qui-quadrado

A tabela 6 relaciona as médias das variáveis quantitativas distribuídas por quartis da concentração sérica da Proteína C-reativa hipersensível.

Relacionamos as médias por quartis e apresentamos quais as médias que apresentaram diferença estatisticamente significativa.



TABELA 6 – COMPARAÇÃO DE MÉDIAS DAS VARIÁVEIS QUANTITATIVAS DISTRIBUÍDAS POR QUARTIS DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA PROTEÍNA C-REATIVA HIPERSENSÍVEL

VARIÁVEIS	CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA PROTEÍNA C-REATIVA HIPERSENSÍVEL				p <sup>(2)</sup>	DIFERENÇA ESTATÍSTICA
	1° Quartil Média (dp) <sup>(1)</sup>	2° Quartil Média (dp)	3° Quartil Média (dp)	4° Quartil Média (dp)		
Idade (anos)	38,2 (11,5)	39,5 (11,5)	42,1 (12,1)	42,6 (10,8)	0,04	1° quartil < 3° e 4° quartis
Frequência cardíaca (batimentos/min)	68,1 (6,7)	68,8 (8,2)	70,0 (8,5)	70,0 (7,4)	0,08	
Pressão arterial sistólica (mmHg)	121,4 (10,7)	123,2 (12,4)	127,0 (11,4)	124,1 (10,9)	<0,01	1° e 2° quartis < 3° quartil
Pressão arterial diastólica (mmHg)	78,2 (7,3)	78,8 (7,3)	80,8 (7,0)	79,6 (7,0)	<0,01	1° e 2° quartis < 3° quartil
Índice de massa corpórea (kg/m <sup>2</sup> )	23,9 (3,6)	25,7 (4,0)	27,1 (4,2)	28,3 (4,7)	<0,01	1° quartil < 2°, 3° e 4° quartis 2° quartil < 3° e 4° quartis 3° quartil < 4° quartis
Glicemia (mg/dl)	89,1 (11,8)	91,3 (20,1)	93,0 (17,6)	96,2 (42,3)	0,03	1° quartil < 4° quartil
Triglicídeos (mg/dl)	89,4 (50,3)	113,1 (70,0)	121,3 (77,1)	141,9 (118,3)	<0,01	1° quartil < 2°, 3° e 4° quartis 2° quartil < 4° quartil
Colesterol total (mg/dl)	185,3 (37,8)	198,3 (37,6)	198,6 (37,0)	207,0 (42,0)	<0,01	1° quartil < 2°, 3° e 4° quartis
HDL colesterol (mg/dl)	51,9 (13,9)	47,7 (13,1)	47,8 (14,2)	46,4 (12,4)	<0,01	1° quartil > 2°, 3° e 4° quartis
LDL colesterol (mg/dl)	115,3 (32,3)	128,2 (33,2)	126,3 (33,0)	133,6 (36,4)	<0,01	1° quartil < 2°, 3° e 4° quartis
VLDL colesterol (mg/dl)	18,6 (11,9)	22,4 (12,8)	23,6 (14,0)	26,2 (14,1)	<0,01	1° quartil < 2°, 3° e 4° quartis 2° quartil < 4° quartil
Colesterol total/HDL colesterol	3,8 (1,2)	4,4 (1,4)	4,5 (1,5)	4,7 (1,5)	<0,01	1° quartil < 2°, 3° e 4° quartis
LDL colesterol/HDL colesterol	2,4 (1,0)	2,9 (1,1)	2,9 (1,1)	3,0 (1,1)	<0,01	1° quartil < 2°, 3° e 4° quartis
Ácido úrico (mg/dl)	4,4 (1,3)	4,6 (1,5)	4,7 (1,5)	4,8 (1,3)	0,13	
Hormônio Tireo-estimulante (mg/dl)	1,9 (1,3)	2,4 (2,7)	2,0 (1,4)	2,5 (3,7)	0,14	

<sup>(1)</sup> Desvio-padrão

<sup>(2)</sup> Teste de Kruskal Wallis

A tabela 7 apresenta uma análise univariada entre variáveis quantitativas e o logaritmo da concentração sérica da proteína C-reativa hipersensível (Log PCRhs)

TABELA 7 - COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE Log PCRhs E AS VARIÁVEIS QUANTITATIVAS DO ESTUDO

VARIÁVEIS	r	p
Idade (anos)	0,13	<0,01
Índice de massa corpórea (Kg/m <sup>2</sup> )	0,39	<0,01
Frequência cardíaca (batimentos/minuto)	0,10	<0,01
Pressão arterial sistólica (mm Hg)	0,12	<0,01
Pressão arterial diastólica (mm Hg)	0,09	0,02
Glicemia (mg/dl)	0,07	0,06
Triglicérides	0,25	<0,01
Colesterol total (mg/dl)	0,19	<0,01
HDL colesterol (mg/dl)	-0,15	<0,01
LDL colesterol (mg/dl)	0,18	<0,01
VLDL colesterol (mg/dl)	0,23	<0,01
Razão colesterol total/HDL colesterol	0,24	<0,01
Razão LDL colesterol/HDL colesterol	0,22	<0,01
Ácido úrico (mg/dl)	0,11	0,02

Para a análise de regressão linear múltipla, tendo como variável dependente o log PCRhs, foram selecionadas todas as variáveis com  $p < 0,20$  da análise univariada .

A tabela 8 apresenta o modelo final de regressão múltipla. Os fatores independentes correlacionados ao aumento do log PCRhs foram: idade,

índice de massa corpórea, razão colesterol total/HDL colesterol e frequência cardíaca.

TABELA 8 - ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR MÚLTIPLA

VARIÁVEIS	$\beta$ (coeficiente de regressão)	INTERVALO DE CONFIANÇA IC <sub>95%</sub> ( $\beta$ )	p
Idade (anos)	0,003	[0,001 ; 0,006]	0,03
Índice de massa corpórea (kg/m <sup>2</sup> )	0,004	[0,027 ; 0,043]	<0,01
Razão Colesterol total/HDL colesterol	0,042	[0,019 ; 0,065]	<0,01
Frequência cardíaca (batimentos/min)	0,006	[0,002 ; 0,010]	<0,01
	constante	-2,720	

p (modelo final) < 0,001 ; r<sup>2</sup><sub>aj</sub>=0,17

Para avaliar o comportamento das variáveis significativas do modelo final para o banco de dados total, a amostra foi estratificada em quatro grupos, segundo sexo e tabagismo, e foram estimados quatro modelos múltiplos. A tabela 9 apresenta seus resultados.

A idade foi independentemente relacionada à PCRhs, apenas entre os homens tabagistas. Já o IMC teve correlação significativa para todos os grupos, exceto para os homens tabagistas. A razão colesterol total/HDL colesterol não teve relação significativa apenas nas mulheres tabagistas. A frequência cardíaca correlacionou-se apenas com o grupo de mulheres não tabagistas.



TABELA 9 – MODELO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA, SEGUNDO SUB-GRUPOS DE SEXO E TABAGISMO

VARIÁVEIS	SEXO MASCULINO		SEXO FEMININO	
	Tabagista	Não tabagista	Tabagista	Não tabagista
	$\beta^*$ (p)	$\beta^*$ (p)	$\beta^*$ (p)	$\beta^*$ (p)
Idade (anos)	<b>1,0236</b> <b>(0,04)</b>	1,0012 (0,83)	1,0074 (0,54)	1,0056 (0,24)
Índice de massa corpórea (Kg/m <sup>2</sup> )	1,0320 (0,31)	<b>1,0786</b> <b>(&lt;0,01)</b>	<b>1,1006</b> <b>(0,03)</b>	<b>1,0873</b> <b>(&lt;0,01)</b>
Razão Colesterol Total/HDL colesterol	<b>1,2065</b> <b>(&lt;0,01)</b>	<b>1,1397</b> <b>(&lt;0,01)</b>	1,1198 (0,21)	<b>1,1405</b> <b>(0,01)</b>
Frequência cardíaca (batimentos/min)	1,0041 (0,79)	1,0090 (0,32)	1,0050 (0,74)	<b>1,0165</b> <b>(0,02)</b>
constante	-2,35	-2,58	-2,36	-2,78
$r^2_{aj}$	0,193	0,146	0,103	0,228
p (modelo)	0,001	<0,001	0,013	<0,001

\* Para facilidade da interpretação clínica, os resultados de  $\beta$ , em base logarítmica, foram transformados em  $10^{\beta}$ .

Correlação do Polimorfismo G1059C da Proteína C-reativa com características clínicas, laboratoriais e PCRhs.

Não houve associação estatisticamente significativa entre o tipo de genótipo e as variáveis sexo, raça ou tabagismo (tabela 10).

TABELA 10 – NÚMERO E PORCENTAGEM DE INDIVÍDUOS, SEGUNDO SEXO, RAÇA E TABAGISMO, DISTRIBUIDOS POR GENÓTIPOS DO GENE DA PROTEÍNA C-REATIVA

VARIÁVEIS		GENÓTIPOS				p <sup>(1)</sup>
		GG		GC		
		n	(%)	n	(%)	
Sexo	Masculino	265	(42,6)	30	(48,4)	0,38
	Feminino	357	(57,4)	32	(51,6)	
Raça	Branca	466	(74,9)	47	(75,8)	0,82
	Mulata	107	(17,2)	10	(16,1)	
	Negra	19	(3,1)	3	(4,8)	
	Amarela	30	(4,8)	2	(3,2)	
Tabagismo	Não	477	(76,7)	47	(75,8)	0,87
	Sim	145	(23,3)	15	(24,2)	
TOTAL		622	(100)	62	(100)	

(1) Teste de associação pelo qui-quadrado

Não houve diferença entre as médias de idade, pressão arterial sistólica e diastólica, índice de massa corpórea e variáveis laboratoriais, segundo o tipo de genótipo (Tabela 11)

TABELA 11 – COMPARAÇÃO DE MÉDIAS DAS VARIÁVEIS QUANTITATIVAS DISTRIBUÍDAS POR GENÓTIPOS DO GENE DA PROTEÍNA C-REATIVA

VARIÁVEIS	GENÓTIPOS				p <sup>(2)</sup>
	GG		GC		
	Média	(dp) <sup>(1)</sup>	Média	(dp)	
Idade (anos)	40,8	(11,4)	39,0	(12,8)	0,21
Pressão arterial sistólica (mm Hg)	124,0	(11,7)	123,2	(10,1)	0,39
Pressão arterial diastólica (mm Hg)	79,5	(7,2)	78,2	(7,0)	0,13
Índice de massa corpórea (Kg/m <sup>2</sup> )	26,3	(4,5)	25,3	(3,9)	0,07
Glicemia (mg/dl)	92,2	(22,2)	94,2	(49,1)	0,16
Triglicérides (mg/dl)	116,3	(85,9)	116,5	(70,1)	0,78
Colesterol total (mg/dl)	197,7	(39,7)	192,9	(35,5)	0,63
HDL colesterol (mg/dl)	48,7	(13,6)	46,1	(13,2)	0,08
LDL colesterol (mg/dl)	126,0	(34,7)	123,7	(30,3)	0,80
VLDL colesterol (mg/dl)	22,6	(13,4)	23,2	(14,0)	0,85
Colesterol total/HDL colesterol	4,4	(1,5)	4,4	(1,3)	0,41
LDL colesterol/HDL colesterol	2,8	(1,1)	2,9	(1,0)	0,39
Ácido úrico (mg/dl)	4,6	(1,4)	4,7	(1,4)	0,79
Hormônio Tíreo-estimulante (mg/dl)	2,3	(2,6)	1,9	(0,9)	0,89

<sup>(1)</sup> Desvio-padrão

(2) Teste de Mann-Whitney

A concentração da PCRhs não diferiu entre os indivíduos com a ausência ou presença do alelo C (polimorfismo), conforme mostra a tabela 12.



TABELA 12 – DISTRIBUIÇÃO DOS GENÓTIPOS DA PCR POR QUARTIL DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA PCRhs

QUARTIL DA PCRhs	GENÓTIPOS			
	GG		GC (polimorfismo)	
	n	(%)	n	(%)
01	154	(24,8)	16	(25,8)
02	153	(24,6)	18	(29,0)
03	158	(25,4)	15	(24,2)
04	157	(25,2)	13	(21,0)
TOTAL	622	(100)	62	(100)

p=0,94 (teste de associação pelo qui-quadrado)

## Discussão

Examinaremos de início aspectos metodológicos e, em seguida, abordaremos as correlações das variáveis clínicas, laboratoriais e do polimorfismo genético com a Proteína C-reativa hipersensível.

*Aspectos metodológicos* - Foi demonstrado em estudos epidemiológicos que o nível sérico da Proteína C-reativa hipersensível (PCRhs) é um preditor independente de risco de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença arterial periférica, entre indivíduos sem doença cardiovascular conhecida (RIDKER *et al.*, 2000; MENDALL *et al.*, 2000).

A avaliação da PCRhs, como uma ferramenta auxiliar na avaliação global de risco, requer conhecimento da distribuição deste marcador inflamatório em diferentes populações, bem como das características clínicas na avaliação do marcador (RIDKER, 2001a).

Estudamos 684 indivíduos que foram submetidos à avaliação médica, incluindo anamnese e exame físico, eletrocardiograma de repouso, radiografia do tórax em posição pósterio-anterior e teste ergométrico em esteira, sem a evidência de cardiopatia aparente.

O exame clínico realizado pelo médico é uma poderosa ferramenta diagnóstica (MANSUR, 2001). O exame cardiológico é um método eficaz

para se detectar doença cardíaca em aproximadamente 90% dos pacientes de uma população geral, não-selecionada (BESTETTI, 2001). Subsidiámos a avaliação com exames complementares pois nos indivíduos assintomáticos, admitidos como normais, a incidência de isquemia silenciosa é estimada em 2% a 4% (SOLIMENE *et al.*, 1997).

No Brasil, RIBEIRO (1997) dosou a concentração sérica da PCRhs em 165 doadores de sangue, aparentemente saudáveis, e 125 crianças normais. Esse estudo não incluiu o exame clínico dos pacientes nem a correlação de variáveis clínicas e laboratoriais com os níveis séricos da PCRhs.

Complementamos a avaliação dos fatores que influenciam a PCRhs com o estudo do polimorfismo G1059C do gene da Proteína C-reativa identificado por CAO; HEGELE (2000a).

Conceitua-se toda variante gênica que tem frequência populacional maior que 1% como polimorfismo gênico. A existência de variação gênica entre diferentes pessoas ou populações é, em si, a essência da variabilidade humana (PEREIRA; KRIEGER, 2001). Admite-se, assim, que a caracterização dessas variantes funcionais poderia ser utilizada na determinação do perfil de risco de um dado indivíduo em determinada população (PEREIRA; KRIEGER, 2001). Caso o polimorfismo influencie os níveis séricos de PCRhs, a identificação de um indivíduo que em seu genoma contenha este polimorfismo, conferiria um aumento de risco cardiovascular, mesmo na ausência de doença clínica aparente.



Estudamos 684 indivíduos sem doença cardiovascular aparente, com distribuição quase equalizada quanto ao sexo, sendo 295 (43,1%) homens e 389 (56,9%) mulheres. Este número de participantes está bem próximo de outros estudos com indivíduos de baixo risco para doença cardiovascular. RIDKER *et al.* (1997) no estudo de saúde dos médicos (*Physicians' Health Study - PHS*) utilizaram dados de 543 participantes que não sofreram doença vascular durante um período de acompanhamento que ultrapassou oito anos. No estudo de saúde das mulheres (*Women's Health Study - WHS*), RIDKER *et al.* (1998a) constataram que os níveis basais de PCRhs eram significativamente mais altos em 122 mulheres, após a menopausa, que desenvolveram subseqüentemente um primeiro evento cardiovascular, comparado com 244 mulheres do grupo controle pareadas quanto à idade e ao status de fumante e que permaneceram sem doença vascular durante os três anos de acompanhamento.

Houve predominância de indivíduos da raça branca (75%), a seguir raça mulata (17,1%), amarela (4,7%) e negra (3,2%). Todos residiam na cidade de São Paulo e nas cidades vizinhas (região conhecida como grande São Paulo). O alto grau de miscigenação da população foi descrita no censo do Instituto Brasileiro de Geografia Estatística (IBGE) de 1997. Mantendo critérios do IBGE, os próprios indivíduos denominaram sua raça. Não houve nenhum indivíduo indígena na amostra, provavelmente porque as populações indígenas do Brasil são mais freqüentes em regiões rurais e a localização do Hospital é urbana.

A utilização das análises clínicas habituais para dosagem da PCR tem um limite baixo de detecção, não se prestando eficientemente para predição do risco vascular. Métodos ultrasensíveis ou hipersensíveis permitem determinar níveis diferenciados de PCR dentro da faixa normal. O método utilizado para dosagem de PCR pelo método hipersensível neste estudo foi o nefelométrico (*Dade Behring Inc.*), que apresenta a acurácia necessária para a dosagem da PCRhs (RIFAI *et al.*, 1999). A escolha deste método decorreu da sua precisão, sua utilização em estudos de grande porte, como o de Saúde das Mulheres (WHS) (RIDKER *et al.*, 2000) e o de Prevenção de aterosclerose coronariana da Força Aérea/Texas (RIDKER *et al.*, 2001b), e também pelo fato deste método ser aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos da América para avaliação de risco cardiovascular (YU; RIFAI, 2000). Outros métodos também foram validados, contudo na comparação entre eles apresentaram diferenças nos resultados para a população normal (ROBERTS *et al.*, 2000; ROBERTS *et al.*, 2001).

Foram excluídos quatro indivíduos com níveis séricos da PCRhs superiores a 1,5 mg/dl. Este valor limite foi adotado pois numa pesquisa em curso, com vários milhares de homens e mulheres americanos saudáveis, menos de 2% de todos os valores séricos da PCRhs foram maiores do que 1,5 mg/dl - um nível considerado como indicativo de doença inflamatória clinicamente relevante (RIDKER, 2001a). A inclusão de indivíduos com níveis séricos superiores ao estipulado poderia levar ao viés de incluir indivíduos com outras doenças inflamatórias.



O PCR apresenta dois polimorfismos: o G1059C (CAO; HEGELE, 2000a) no próprio gene da PCR e o -25G/A localizado na região promotora do gene CTSS, contíguo ao gene da PCR, (CAO; HEGELE, 2000b). HEGELE (2001) constatou que o polimorfismo -25G/A influencia a concentração da PCR em esquimós e populações de origem europeia residentes em uma região do Canadá.

Optamos pelo estudo do polimorfismo G1059C do gene da PCR em função da carência de dados sobre sua influência na concentração da PCR.

A distribuição da PCRhs tem um desvio à direita tal que a aplicação clínica provavelmente irá requerer que os níveis mensurados de PCRhs sejam redistribuídos num sistema ordinal. Uma abordagem útil para este problema é a divisão dos valores de PCRhs em quartis baseados na população (RIDKER *et al.*, 2001a).

O estudo de RIBEIRO (1997), que também analisou uma amostra brasileira, utilizou outro método para dosagem da PCRhs e não dividiu os resultados por quartis da população.

Nossos dados quanto à concentração média da PCRhs são concordantes com os encontrados por OCKENE *et al.* (2001), quando analisaram a concentração sérica da PCRhs de 113 indivíduos saudáveis, sendo 64 homens e 49 mulheres, com o objetivo de analisar a variabilidade e classificação da acurácia desta proteína em indivíduos sem evidências de cardiopatia.



*Concentração sérica da PCRhs em relação a variáveis clínicas e laboratoriais* - Houve predomínio das mulheres no 4º quartil da concentração da PCRhs. A distribuição nos três primeiros quartis foi semelhante. FOLSOM *et al.* (2001), num estudo envolvendo 875 homens e 948 mulheres, também encontraram predomínio das mulheres no 4º quartil da concentração da PCRhs. No presente estudo que pesquisou o desenvolvimento de doença aterosclerótica, as mulheres tiveram predomínio da doença. No estudo de OCKENE *et al.* (2001), que só inclui indivíduos saudáveis, a concentração da PCRhs também foi maior nas mulheres. RIDKER *et al.* (1999), estudando 493 mulheres saudáveis na pós-menopausa, com idade média de 51 anos, constataram que os níveis séricos de PCRhs eram maiores nas mulheres que recebiam terapia de reposição hormonal na menopausa.

Nosso estudo não avaliou a terapia de reposição hormonal. Podemos supor que a terapia de reposição hormonal seja uma das explicações para o fato de as mulheres predominarem no quartil de maior concentração da PCRhs.

A concentração sérica da PCRhs não apresentou diferença estatisticamente significativa quanto à variável raça. No estudo de ALBERT *et al.* (2001), uma coorte de prevenção primária, envolvendo 1.702 homens e mulheres sem histórico de doença cardiovascular, também não constatou diferenças estatisticamente significativas ( $p=0,53$ ) entre as etnias branca, negra, hispânica e asiática. Em outro estudo comparando indianos e brancos, ambos residentes no Reino Unido (CHAMBERS *et al.*, 2001),

também não houve diferença quanto à concentração sérica da PCRhs nos dois grupos. Num estudo da população japonesa, YAMADA *et al.* (2001), trabalhando com 2.275 homens e 3.832 mulheres, constataram que a distribuição da PCR foi completamente diferente da distribuição entre os ocidentais, embora a correlação com outros fatores de risco tenha sido semelhante. Este trabalho concluiu esta diferença comparando os dados sobre a concentração da PCRhs da população japonesa, com outros dados publicados na literatura. Um questionamento a ser levantado é se estudos realizados em locais diferentes não sofreriam influência de fatores ambientais interferindo nos seus resultados.

O número de indivíduos da raça amarela do nosso estudo é aproximado do número de indivíduos do estudo de ALBERT *et al.* (2001). A distribuição racial do presente estudo é concordante com a distribuição da população brasileira (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA, 1997), e incorpora informações dos mulatos. Os níveis séricos da PCRhs destes indivíduos, produto do cruzamento da raça branca com a negra, passam a ser conhecidos. O estudo da concentração de PCRhs em crianças e adultos de São Paulo (RIBEIRO, 1997) não descreveu a distribuição racial da população estudada.

A distribuição da PCRhs por quartis não apresentou diferença estatisticamente significativa quando a variável tabagismo foi analisada. Este resultado foi concordante com os estudos de ALBERT *et al.* (2001) e ABRAMSON *et al.* (2002). Alguns estudos confirmaram a associação do tabagismo com os níveis de PCRhs. O estudo MRFIT (KULLER *et al.*, 1996)



constatou que entre os indivíduos que faleceram por doença arterial coronariana, os níveis médios de PCR entre os fumantes foi maior do que entre os não fumantes. Os níveis médios de PCRhs entre não fumantes com doença arterial coronariana e controles não diferiram. Este estudo acompanhou uma população de homens reconhecidos como sendo de alto risco, com base em fatores tradicionais de risco cardiovascular. Em outros estudos, envolvendo população de baixo risco para doença aterosclerótica, também houve associação do tabagismo com os níveis séricos da PCRhs: DAS (1985), MENDALL *et al.* (1996), TRACY *et al.* (1997b), ROHDE *et al.* (1999) e MENDALL *et al.* (2000).

Em nosso estudo, uma provável explicação, para a ausência de diferença nos quartis da PCRhs entre tabagistas e não tabagistas, é que o grupo de tabagistas não foi estratificado para tempo do vício e número de cigarros, e o grupo de não tabagistas atuais não referiu passado de tabagismo.

Houve uma correlação estatisticamente significativa entre idade e concentração da PCRhs. Os indivíduos do 1º quartil, com níveis menores de PCRhs, eram mais jovens do que os indivíduos do 3º e 4º quartis. Assim o aumento da idade correlacionou-se com o aumento da concentração da PCR-hs. Este resultado corrobora os estudos de MENDALL *et al.* (1996), TRACY *et al.* (1997a), KOENIG *et al.* (1999), ROHDE *et al.* (1999), GUSSEKLOO *et al.* (2000) e STRANDBERG; TILVIS (2000).

As médias da frequência cardíaca não apresentaram correlação estatisticamente significativa com os quartis da PCRhs. No estudo de



CHUNG *et al.* (2001), que investigaram a relação entre PCR, refletindo um estado inflamatório, e arritmias atriais, os pacientes controle, em ritmo sinusal, não apresentaram diferença na concentração da PCR, quando comparados com indivíduos com extrassistolia ou taquicardia atrial.

As médias do índice de massa corpórea foram diferentes entre todos os quartis. Assim concluímos que com o aumento deste índice ocorre também um aumento na concentração da PCRhs. Talvez seja essa uma das variáveis mais significativas para influenciar a PCRhs. Os estudos de HAK *et al.* (1999), ROHDE *et al.* (1999), VISSER *et al.* (1999), BARINAS-MITCHELL *et al.* (2001) e TCHERNOF *et al.* (2002) demonstraram que o IMC correlaciona-se positivamente com a PCRhs tanto em homens, como em mulheres, e também independentemente da idade.

Foi sugerido que a causa da relação entre aumento do IMC e PCRhs esteja ligada ao fato de que o tecido adiposo secreta a interleucina-6 (IL-6), e como esta citocina está envolvida na produção da PCR, os níveis de PCRhs aumentam com a obesidade (YUDKIN *et al.*, 2000).

Tanto a pressão arterial sistólica como a diastólica são estatisticamente relacionadas com os quartis da PCRhs. A diferença ocorreu no 1º e 2º quartis em relação ao 3º quartil. No estudo de ABRAMSON *et al.* (2002), com 9.867 indivíduos saudáveis, com 17 anos ou mais, não foi constatada associação entre as pressões sistólica e diastólica com os níveis séricos de PCRhs. Já o estudo de ROHDE *et al.* (1999), com 1.172 homens aparentemente saudáveis, confirmou a associação das duas pressões com a PCRhs. Alguns achados experimentais sugerem que o incremento da

pressão arterial ative a secreção endotelial de citocinas e desencadeie o processo inflamatório (RIFAI; RIDKER, 2001).

A média da glicemia do 1º quartil da PCRhs foi diferente da média do 4º quartil. Esta correlação é estatisticamente significativa em uma série de trabalhos: MENDALL *et al.* (1996), HAK *et al.* (1999), TCHERNOF *et al.* (2002) e WU *et al.* (2002).

A razão para o aumento da glicemia ainda não está completamente esclarecida. Obesidade, intolerância à glicose, síndrome de resistência à insulina e doença aterosclerótica podem aumentar a resposta de fase aguda, dado o incremento de IL-6 e outras citocinas, e isso gerar o aumento da PCRhs (YUDKIN *et al.*, 2000).

Houve correlação estatisticamente significativa entre triglicérides e colesterol total e frações no que concerne aos quartis da PCRhs. A média dos triglicérides do 1º quartil diferiu dos demais, e a do 2º quartil diferiu da média do 4º quartil. As médias da VLDL colesterol tiveram igual distribuição. As médias do 1º quartil da distribuição da PCRhs em relação ao colesterol total, LDL colesterol, e as razões colesterol total/HDL-C e LDL-C/HDL-C foram menores do que as dos outros quartis. A média do 1º quartil em relação ao HDL colesterol foi maior do que a dos demais quartis. Os resultados do nosso estudo demonstraram correlação positiva dos níveis de triglicérides, colesterol total e LDL colesterol com a PCRhs e negativa do HDL colesterol. Estes resultados foram concordantes com os estudos de DANESH *et al.* (2000), ROHDE *et al.* (1999) e OCKENE *et al.* (2001).



No estudo de RIDKER *et al.* (1998b), com 14.916 homens saudáveis, do estudo de Saúde dos Médicos (PHS), os níveis de colesterol total e a razão colesterol total/HDL-C foram maiores no 4º quartil e menores no 1º quartil.

Neste estudo os valores da PCRhs foram aditivos aos valores de lipídeos na determinação do primeiro infarto. Em outro estudo de RIDKER *et al.* (2001b) também foi comprovada a correlação de triglicérides, colesterol total, LDL colesterol e a razão colesterol total/HDL-C nos níveis de PCRhs. Neste estudo foi administrada Lovostatina, e houve redução dos níveis de PCRhs, mesmo entre os indivíduos com colesterol total baixo. Daí considerarmos o efeito antiinflamatório da estatina e a independência da PCRhs como preditor de evento aterosclerótico.

No estudo de saúde dos médicos (PHS) (RIDKER *et al.*, 1997) e de saúde das mulheres (WHS) (RIDKER *et al.*, 2000), o risco do 1º infarto foi maior naqueles indivíduos com ambos os níveis séricos de PCRhs e razão colesterol total/HDL no 5º quintil.

As concentrações de ácido úrico e hormônio tireo-estimulante não se correlacionaram com os níveis séricos de PCRhs. Nas metanálises de DANESH *et al.* (1998 e 2000), que envolveram os principais estudos sobre a PCRhs, não há referência a estas variáveis.

*Polimorfismo genético G1059C da PCR* - Não houve diferença entre os indivíduos com ou sem o polimorfismo G1059C do gene da PCR em



relação à concentração da PCRhs por quartis, variáveis clínicas e laboratoriais.

CAO; HEGELE (2000a) descreveram o polimorfismo G1059C do gene da PCR. Em seu estudo comparando caucasianos e esquimós canadenses, não houve referência à presença do alelo 1059C neste último grupo. Em outro trabalho de CAO; HEGELE (2000b) houve a descrição de outro polimorfismo que influencia a PCR, o -25G/A, localizado na região promotora do gene CTSS, contíguo ao gene da PCR. HEGELE *et al.* (2001), estudando a relação da PCRhs com estes polimorfismos em esquimós canadenses e imigrantes europeus no Canadá, também não constataram a presença do polimorfismo G1059C nos esquimós. Os autores observaram que o polimorfismo -25G/A influi na concentração sérica da PCR dos dois grupos.

O estudo dos polimorfismos genéticos vem sendo utilizado na pesquisa dos fatores que influenciam as variações interindividuais e intra-individuais de indicadores de risco cardiovascular (MAAT *et al.*, 1996).

Os indivíduos da população deste trabalho apresentaram frequências genotípicas de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Uma população ou grupo em equilíbrio de Hardy-Weinberg precisa estar de acordo com as seguintes assunções:

- 1) que os organismos estudados sejam diplóides;
- 2) que as populações estudadas sejam de grande tamanho;
- 3) que a população em questão seja de reprodução sexuada e panmítica;
- 4) que a taxa de mutações seja insignificante;

- 5) que o número de migrações seja negligenciável;
- 6) que não deve haver seleção natural, ou melhor, os indivíduos devem ter iguais probabilidades de sobrevivência.

Dado que a frequência de um certo alelo A, num dado locus, seja igual a p, têm-se que a frequência dos indivíduos homozigotos (AA) é dada por  $p^2$ , a frequência dos indivíduos heterozigotos (Aa) por  $2.p.(1-p)$  e a frequência dos indivíduos homozigotos (aa) por  $(1-p)^2$ . O equilíbrio ocorre quando:

$$p^2 + 2.p.(1-p) + (1-p)^2 = 1$$

A justificativa para tal procedimento está baseada na afirmação de que, à parte os erros de genotipagem que podem ocorrer, a causa possível da ocorrência de diferenças nas frequências dos genótipos é a mistura de populações de diferentes patrimônios genéticos. A estratificação populacional não controlada é um dos maiores problemas dos estudos de associação, pois que poderá resultar em associações espúrias entre doenças e marcadores genéticos (TIRET; CAMBIEN, 1995). Por esta razão, complementaram os autores, qualquer desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg deve ser examinado e discutido de forma crítica.

*Limitações do estudo* – Em nossa casuística não estudamos influência de eventual história familiar de doença cardiovascular.

Os indivíduos não foram separados pelo tempo de tabagismo e pelo número de cigarros consumidos por dia. Não houve questionamento no que diz respeito ao número de cigarros necessários para elevar a concentração

da PCRhs, e os não tabagistas atuais não informaram se no passado foram fumantes.

Tampouco avaliamos a terapia de reposição hormonal. Esta condição eleva o nível sérico de PCRhs e poderia justificar o maior percentual de mulheres que de homens no quarto quartil da concentração da PCRhs.

Vale ressaltar que esta amostra provém da população da cidade de São Paulo, mas não necessariamente representa a distribuição racial desta cidade, nem tampouco da população brasileira.

*Implicações clínicas* – Os resultados deste estudo acrescentam ao raciocínio clínico a informação de que as variáveis que influenciam a concentração da PCRhs não o fazem de maneira homogênea na população ora analisada, mas sim de acordo com grupos específicos quanto ao sexo e ao tabagismo. Assim, com a determinação de um perfil de risco mais específico, medidas de prevenção primária mais eficazes e custo-efetivas poderão ser propostas.

Estudos adicionais em nossa população podem contribuir para o melhor conhecimento desse marcador inflamatório no risco cardiovascular.



## **Conclusões**

Os níveis séricos da Proteína C-reativa hipersensível, em indivíduos sem evidências de cardiopatia, variaram de acordo com: idade, índice de massa corpórea, frequência cardíaca e razão colesterol total/HDL colesterol. Estas variáveis não influenciaram a concentração da proteína C-reativa de maneira homogênea na população, mas sim de acordo com os subgrupos de acordo com sexo e tabagismo.

O nível sérico da Proteína C-reativa não foi influenciado pelo polimorfismo G1059C do gene da PCR.

### Referências Bibliográficas\*

ABRAMSON, J.L.; WEINTRAUB, W.S.; VACCARINO, V. Association between pulse pressure and C-reactive protein among apparently healthy US adults. **Hypertension**, v.39, p.197-202, 2002.

ALBERT, M. A .; DANIELSON, E.; RIFAI, N.; RIDKER, P.M. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels. **Jama**, v.26, p.64-70, 2001.

BARINAS-MITCHELL, E.; CUSHMAN, M.; MEILAHN, E.; TRACY, R.P.; KULLER, L.H. Serum levels of C-reactive protein are associated with obesity, weight gain, and hormone replacement therapy in healthy postmenopausal women. **Am. J. Epidemiol.**, v.153, p.1094-1101, 2001.

---

\* De acordo com:

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. **Estrutura e apresentação de dissertações e teses**. Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha. São Paulo, Serviço de Biblioteca e Documentação, 1996.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com LIST OF JOURNALS INDEXED IN INDEX MEDICUS.

BESTETTI, R.B. O exame cardiológico na população geral. **Rev. Soc.**

**Cardiol. Estado de São Paulo**, v.11, p.29-34, 2001.

CAO, H., HEGELE, R. A . Human C-reactive protein (CRP) 1059G/C

polymorphism. **J. Human Genet.**, v.45, p.100-1, 2000a.

CAO, H., HEGELE, R. A . Human Cathepsin S gene (CTSS) promoter

-25G/A polymorphism. **J. Human Genet.**, v.45, p.100-1, 2000b.

CHAMBERS, J.C.; EDA, S.; BASSETT, P.; KARIM, Y.; THOMPSON, S.G.;

GALLIMORE, J.R.; PEPYS, M.B., KOONER, J.S. C-reactive protein,

insulin resistance, central obesity, and coronary heart disease risk in

indian asians from the United Kingdom compared with european whites.

**Circulation**, v. 104, p.145-50, 2001.

CHUNG, M.K.; MARTIN, D.O.; SPRECHER, D.; WAZNI, O.; KANDERIAN,

A.; CARNES, C.A.; BAUER, J.A.; TCHOU, P.J., NIEBAUER, M.J.;

NATALE, A.; VAN WAGONER, D.R. C-reactive protein elevation in

patients with atril arrhythmias. Inflammatory mechanisms and persistence

of atrial fibrillation. **Circulation**, v.104, p.1886-91, 2001.



CUSHMAN, M.; LEGAULT, C.; BARRET-CONNOR, E.; STEFANICK, M.L.;  
KESSLER, C.; JUDD, H.L.; SAKKINEN, P.A.; TRACY, R.P. Effect of  
postmenopausal hormones on inflammation-sensitive proteins: The  
Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Study.  
**Circulation**, v.100, p.717-22, 1999.

DANESH, J.; COLLINS, R.; APPLEBY, P.; PETO, R. Association of  
Fibrinogen, C-reactive protein, Albumin or Leukocyte count with coronary  
heart disease. **JAMA**, v.279, p.1477-82, 1998.

DANESH, J.; WHINCUP, P.; WALKER, M.; LENNON, L.; THOMSON, A. ;  
APPLEBY, P.; GALLIMORE, J.R.; PEPYS, M.B. Low grade inflammation  
and coronary heart disease: Prospective study and updated meta-  
analyses. **BMJ**, v.321, p.199-204, 2000.

DAS, I. Raised C-reactive protein levels in serum from smokers. **Clin. Chim.**  
**Acta.**, v.153, p.9-13, 1985.

ERNST, E. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: interrelationship with  
infections and Inflammation. **Eur. Heart. J.**, v.14, p.82-7, 1993.

FOLSOM, A .R.; PANKOW, J.S.; TRACY, R.P.; ARNETT, D.K.; PEACOCK, J.M.; HONG, Y.; JOUSSÉ, L.; ECKFELDT, J.H.; ON BEHALF OF THE INVESTIGATORS OF NHLBI FAMILY HEART STUDY. Association of C-reactive protein with markers of prevalent atherosclerotic disease. **Am. J. Cardiol.**, v. 88, p.112-7, 2001.

GUSSEKLOO, J.; SCHAAP, M.C.L.; FRÖLICH, M.; BLAUW, G.J.; WESTENDORP, R.G.J. C-reactive protein is a strong but nonspecific risk factor of fatal stroke in elderly persons. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 20, p.1047-51, 2000.

HAK, A.E.; STEHOUWER, C.D.A.; BOTS, M.L.; POLDERMAN, K.H.; SCHALKWIJK, C.G.; WESTENDORP, I.C.D.; HOFMAN A.; WITTEMAN, J.C.M. Associations of C-reactive protein with measures of obesity, insulin resistance, and subclinical atherosclerosis in healthy, middle-aged women. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.19, p.1986-91, 1999.

HAVERKATE, F.; THOMPSON, S.G.; PYKE, S.D.; GALLIMORE, J.R.; PEPYS, M.B. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. **Lancet**, v.349, p.462-6, 1997.

HEGELE, R. A.; BAN, M.R.; YOUNG, T.K. Serum C-reactive protein in Canadian Inuit and its association with genetic variation on chromosome 1q21. **Clin. Chem.**, v.47, p.1707-9, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA 97**. População residente (habitante). Available from:  
<http://www.sidra.ibge.gov.br/cgi-bin/prtabl/pcbr>.

KOENIG, W.; SUND, M.; FRÖELICH, M.; FISCHER H.G.; LÖWEL, H.; DÖRING, A. ; HUTCHINSON, W.L.; PEPYS, M.B. 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**, v.99, p.237-42, 1999.

KULLER, L.H.; TRACY, R.P.; SHATEN J.; MEILAHN, E.N. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT. Nested case-control study. **Am. J. Epidemiol.**, v.144, p.537-47, 1996.

LAGRAND, W.K.; VISSER, C. A ; HERMENS, W.T.; NIESSEN H.W.M.; VERHEUGT, F.W. A; WOLBINK,G., HACK, C.E. C-reactive protein as a cardiovascular risk factor. More than an Epiphenomenon? **Circulation**, v.100, p.96-102, 1999



LIBBY, P.; RIDKER, P.M.; MASERI, A. Inflammation and atherosclerosis.

**Circulation**, v.105, p.1135-43, 2002.

LIUZZO, G.; BIASUCCI, L.M.; GALLIMORE, J.R.; GRILLO, R.L.; REBUZZI,

A.G.; PEPYS, M.B.; MASERI, A. The prognostic value of C-reactive

protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. **N. Engl.**

**J. Med.**, v.331, p.417-24, 1994.

MAAT, M.P.M.; BART, A.C.W.; HENNIS, B.C.; MEIJER, P.; HAVELAAR, A.

C.; MULDER, P.G.H.; KLUFT, C. Interindividual and intraindividual

variability in Plasma Fibrinogen, TPA Antigen, PAI Activity, and CRP in

healthy, young volunteers and patients with angina pectoris.

**Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.16, p.1156-62, 1996.

MACY, E.M.; HAYES, T.E.; TRACY, R.P. Variability in the measurement of

C-reactive protein in healthy subjects: Implication for reference intervals

and epidemiological applications. **Clin. Chem.**, v.43, p.52-8, 1997.

MANSUR, A.J. A prática médica cardiológica, o exame clínico e o uso de

recursos tecnológicos. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, v.11,

p.1-14, 2001.

MEIER-EWERT, H.K.; RIDKER, P.M.; RIFAI, N.; PRICE, N.; DINGES, D.F.;

MULLINGTON, J.M. Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. **Clin. Chem.**, v. 47, p.426-30, 2001.

MENDALL, M.A. .; PATEL, P.; BALLAM L.; STRACHAN D.; NORTHFIELD,

T.C. C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional Study. **BMJ**, v.312, p.1061-5, 1996.

MENDALL, M. A .; STRACHAN, D.P.; BUTLAND, B.K.; BALLAM, L.;

MORRIS, J.; SWEETNAM, P.M.; ELWOOD, P.C. C-reactive protein: relation to total mortality, cardiovascular mortality and cardiovascular risk factors in men. **Eur. Heart J.**, v.21, p.1584-90, 2000.

OCKENE, I. S.; MATTHEWS, C.E.; RIFAI, N.; RIDKER, P.M.; REED, G.;

STANEK, E. Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity C-reactive protein measurements in healthy adults. **Clin. Chem.**, v.47, p.444-50, 2001.

PEPYS, M.B.; BALTZ, M.L. Acute phase proteins with special reference to

C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein (review). **Adv. Immunol.**, v.34, p.141-212, 1983.

PEREIRA, A.C.; KRIEGER, J.E. Diabete e Aterosclerose: até onde a Genética Molecular pode nos levar? **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, v.8, p.1025-32, 1998.

PEREIRA, A.C.; KRIEGER, J.E. Genética e Cardiologia: Mudanças na abordagem do paciente cardiológico? **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, v.11, p.165-75, 2001.

RIBEIRO, M.A . Levels of C-reactive protein in serum samples from healthy children and adults in São Paulo, Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.30, p.1055-9, 1997.

RIDKER, P.M.; CUSHMAN, M.; STAMPFER, M.J.; TRACY, R.P.; HENNEKENS, C.H. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. **N. Engl. J. Med.**, v.336, p.973-9, 1997.

RIDKER, P.M.; BURING, J.E.; SHIH J.; MATIAS, M.; HENNEKENS, C.H. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. **Circulation**, v.98, p.731-3, 1998a.



RIDKER, P.M., GLYNN, R.J., HENNEKENS, C.H. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. **Circulation**, v.97, p.2007-11, 1998b.

RIDKER, P.M.; HENNEKENS, C.H.; RIFAI, N.; BURING, J.E.; MANSON, J.E. Hormone replacement therapy and increased plasma concentration of C-reactive protein. **Circulation**, v.100, p.713-6, 1999.

RIDKER, P.M.; HENNEKENS, C.H.; BURING, J.E.; RIFAI, N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **N. Engl. J. Med.**, v.342, p.836-43, 2000.

RIDKER, P. M. High-Sensitivity C-reactive protein. Potential Adjunct for global risk assessment in the Primary Prevention of Cardiovascular Disease. **Circulation**, v.103, p.1813-18, 2001a.

RIDKER, P.M.; RIFAI, N.; CLARFIELD, M.; DOWNS, J.R.; WEIS, S.E.; MILES, J.S.; GOTTO JR., A.M. Measurement of C-reactive Protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. **N. Engl. J. Med.**, v.344, p.1959-65, 2001b.

RIDKER, P.M.; STAMPFER, M.J.; RIFAI, N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein-a, and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. **JAMA**, v.285, p.2481-5, 2001c.

RIFAI, N.; TRACY, R.P.; RIDKER, P.M. Clinical efficacy of an automated high sensitivity C-reactive protein assay. **Clin. Chem.**, v.45, p.2136-41, 1999.

RIFAI, N.; RIDKER, P.M. High-sensitivity C-reactive protein: A novel and promising marker of coronary heart disease. **Clin. Chem.**, v.47, p.403-11, 2001.

ROBERTS, W. L.; SEDRICK, R.; MOULTON, L.; SPENCER, A. ; RIFAI, N. Evaluation of four automated high-sensitivity C-reactive protein methods: Implications for clinical and epidemiological applications. **Clin. Chem.**, v.46, p.461-8, 2000.

ROBERTS, W. L.; MOULTON, L.; LAW, T. C.; FARROW, G.; COOPER-ANDERSON, M.; SAVORY, J.; RIFAI, N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: Implications for clinical and Epidemiological applications. Part 2. **Clin. Chem.**, v.47, p.418-25, 2001.

ROHDE, L.E.P.; HENNEKENS, C.H.; RIDKER, P.M. Survey of C-reactive protein and cardiovascular risk factors in apparently healthy men. **Am. J. Cardiol.**, v.84, p.1018-22, 1999.

ROIVAINEN, M.; VIIK-KAJANDER M.; PALOSUO, T.; TOIVANEN, P.; LEINONEN, M.; SAIKKU, P.; TENKAEN, L.; MANNINEN, V.; HOVI, T.; MÄNTTÄRI, M. Infections, inflammation, and the risk of coronary heart disease. **Circulation**, v.101, p.252-7, 2000.

ROSS, R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. **N. Engl. J. Med.**, v.340, p.115-26, 1999.

ROUQUAYROL, M.Z.; ALMEIDA FILHO, N. **Epidemiologia e Saúde**. 5.ed. Rio de Janeiro, Medsi, 1999. Cap.6, p.149-70: Desenhos de Pesquisa em Epidemiologia.

SOLIMENE, M.C.; LUZ, P.L.; RAMIRES, J.A.F. Doença coronariana assintomática. **Rev. Soc. Cardiol. de São Paulo**, v.7, p.711-7, 1997.

STRANDBERG, T.E.; TILVIS, R.S. C-reactive protein, cardiovascular risk factors, and mortality in a prospective study in the elderly. **Arterioscler. thromb. Vasc. Biol.**, v.20, p.1057-60, 2000.



- TCHERNOF, A. ; NOLAN, A.; SITES, C.K.; ADES, P.A.; POCHLMAN, E.T.  
Weight loss reduces C-reactive protein levels in obese postmenopausal women. **Circulation**, v.105, p.564-9, 2002.
- THOMPSON, S.G.; KIENAST, J.; PIKE, S.D.M.; HAVERKATE, F.; van de Loo, J.C.W. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris **N. Engl. J. Med.**; v.332, p.635-41, 1995.
- TILLET, W.S.; FRANCIS, T. Jr. Sorological reactions in pneumonia with a nonprotein somatic fraction of pneumococcus. **J.Exp.Med.**, v.52, p.561-85, 1930.
- TIRET, L.; CAMBIEN, F. Departure from hardy-Weinberg equilibrium should be systematically tested in studies of association between genetic markers and disease. **Circulation**, v.92, p.3364-5, 1995.
- TRACY, R.P.; LEMAITRE, R.N.; PSATY, B.M.; IVES, D.G., EVANS, R.W., CUSHMAN, M.; MEILAHN, E.N.; KULLER, L.H. Relation of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly. Results from the Cardiovascular Health Study and The Rural Health Promotion Project. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.17, p.1121-7, 1997a.

- TRACY, R.P.; PSATY, B.M.; MACY, E.; BOVILL, E.G.; CUSHMAN, M.; CORNELL, E.S., KULLER, L.H. 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.**, v.17, p.2167-76, 1997b.
- VISSER, M.; BOUTER, L.M.; McQUILLAN, G.M.; WENER, M.H.; HARRIS, T.B. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. **JAMA**, v.282, p.2131-5, 1999.
- WHITESIDE, T.L. Cytokine measurements and interpretation of cytokine assays in human disease. **J. Clin. Immunol.**, v.14, p.327-39, 1994.
- WILKINS, J.; GALLIMORE, J.R.; MOORE, E.G.; PEPYS, M.B. Rapid automated high sensitivity enzyme Immunoassay of C-reactive protein. **Clin. Chem.**, v.44, p.1358-61, 1998.
- WU, T.; DORN, J.P.; DONAHUE, R.P.; SEMPOS, C.T.; TREVISAN, M. Associations of serum C-reactive protein with fasting insulin, glucose, and glycosylated hemoglobin - The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. **Am. J. Epidemiol.**, v.155, p.65-71, 2002.

YAMADA, S.; GOTOH, T.; NAKASHIMA, Y.; KAYABA, K.; ISHIKAWA, S.; NAGO, N.; NAKAMURA, Y.; ITOH, Y.; KAJII, E. Distribution of serum C-reactive protein and its association with atherosclerotic risk factors in a Japanese population – Jichi Medical School Cohort Study. **Am. J. Epidemiol.**, v.15, p.1183-90, 2001.

YU, H.; RIFAI, N. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerosis: From theory to Therapy. **Clin. Chem.**, v.33, p.601-10, 2000.

YUDKIN, J. S.; KUMARI, M.; HUMPHRIES, S.E.; MOHAMED-ALI, V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? **Atherosclerosis**, v.148, p.209-14, 2000.