

LUCIMAR GONÇALVES DE SOUZA ASSUNÇÃO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A DOSAGEM DA PROTEÍNA C REATIVA
ULTRA-SENSÍVEL E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM
IDOSOS – PROJETO BAMBUÍ**

Belo Horizonte

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

2010

Lucimar Gonçalves de Souza Assunção

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A DOSAGEM DA PROTEÍNA C REATIVA
ULTRA-SENSÍVEL E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR
EM IDOSOS – PROJETO BAMBUÍ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Patologia.

Área de Concentração: Propedêutica Complementar

Orientador: Prof. Pedro Guatimosim Vidigal
Faculdade de Medicina, UFMG.

Co-Orientador: Profa. Silvana Maria Eloi Santos
Faculdade de Medicina, UFMG.

Colaboradores:

Profa. Maria Fernanda Lima Costa
Centro de Pesquisas René Rachou,
FIOCRUZ.
Faculdade de Medicina, UFMG.

Prof. Sergio Viana Peixoto
Escola de Nutrição, UFOP.

Belo Horizonte

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Clélio Campolina Diniz

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Ricardo Santiago Gomez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Renato de Lima Santos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

Coordenador: Prof. Wagner Luiz Tafuri

Sub-Coordenador: Prof. Geovanni Dantas Cassali

Membros do Colegiado:

Prof^a. Rosa Maria Esteves Arantes

Prof^a. Silvana Maria Eloi Santos

Prof^a. Helenice Gobbi

Prof. Marcelo Vidigal Caliari

Izabela Ferreira Gontijo Amorim (Representante discente titular)

*Este trabalho é dedicado aos meus eternos amores
e razão da minha vida, meus filhos:
Paulo Augusto e Pedro Henrique*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha mãe e irmãs que estão ao meu lado em todas as horas.

Ao meu pai que me orientou a gostar de aprender e realizar, ensinando sempre que "só erra e acerta quem faz".

Ao Paulo, meu amor, que apoiou meus sonhos e, ao morrer na minha trajetória, imortalizou sua Presença em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Pedro Guatimosim Vidigal - pela orientação, incentivo, amizade, profissionalismo e seriedade em todas as fases da elaboração deste trabalho, tornando a realização do mesmo uma etapa especialmente gratificante.

À Profa. Silvana Maria Eloi Santos - pela orientação e apoio, consolidados pela vasta experiência em ensino e pesquisa e, sobretudo, humana.

À Profa. Maria Fernanda Furtado de Lima e Costa do Laboratório de Epidemiologia e Antropologia Médica do Centro de Pesquisas René Rachou - FIOCRUZ - pelo acompanhamento das etapas críticas do projeto, fundamentadas na base do estudo.

Ao Prof. Sérgio Viana Peixoto – pelo valioso apoio na execução da análise estatística com contribuições na redação deste trabalho.

À Profa Suzanne Pretti Figueiredo Neves pela análise crítica, comentários e sugestões nas fases iniciais do estudo.

Aos Profs. Wagner Luiz Tafuri e Geovanni Dantas Cassali, coordenadores do Programa de Pós-Graduação em Patologia, pelas excelentes participações nos Seminários de Pesquisa e compreensão das dificuldades particulares que permearam a trajetória deste trabalho.

A todos os membros e, especialmente, amigos do Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina – UFMG – que participaram desejando o pleno êxito desta etapa.

À FAPEMIG pelo apoio ao projeto, tornando possível a realização das dosagens.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

*"Eu quase que nada sei, mas desconfio de muita coisa."
"Tudo, aliás, é a ponta de um mistério, inclusive os fatos.
Ou a ausência deles. Duvida?
Quando nada acontece há um milagre que não estamos
vendo."*

Guimarães Rosa

APRESENTAÇÃO

Trata-se de um estudo de base populacional, suplementar ao Projeto Bambuí, coordenado pela Profa. Maria Fernanda Lima e Costa, Centro de Pesquisas René Rachou – FIOCRUZ, que produziu relevantes trabalhos em diversas áreas e propiciou o banco de dados e o material biológico utilizados.

Resultados parciais deste trabalho foram submetidos ao periódico *Clinical Chemistry* (ANEXO).

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE ABREVIATURAS	13
RESUMO	14
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Revisão Histórica.....	16
1.2 Inflamação e aterosclerose - Aspectos da Biologia.....	18
1.3 Determinação da PCRus.....	22
1.4 Papel dos marcadores de risco.....	23
1.5 Estudos epidemiológicos	24
2 OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo geral.....	26
2.2 Objetivos específicos.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Local do estudo	27
3.2 Amostragem.....	29
3.3 O questionário na linha de base, medidas antropométricas e da pressão arterial..	29
3.4 Coleta das amostras, controle de variáveis pré-analíticas e testes laboratoriais....	30
3.5 A dosagem da PCRus.....	30
3.6 Análise estatística.....	31
4 RESULTADOS	32
4.1 Distribuição dos valores de PCRus na população de idosos (Projeto Bambuí).....	32
4.2 Distribuição de outros fatores de risco na população de idosos (Projeto Bambuí).	34

4.3 PCRus e fatores de risco cardiovascular - Resultados categorizados por sexo.....	36
4.3.1 - PCRus e fatores de risco cardiovascular em homens idosos.....	36
4.3.2 - PCRus e fatores de risco cardiovascular em mulheres idosas.....	38
4.4 PCRus e escore de risco de doença coronariana de Framingham em idosos.....	40
5 DISCUSSÃO.....	41
5.1 A distribuição da PCRus.....	41
5.2 Sobre o método de ensaio e análise de dados	44
5.3 PCRus e fatores de risco cardiovascular.....	45
5.4 PCRus e escore de risco de Framingham.....	48
6 CONCLUSÃO.....	50
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	52
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
ANEXO.....	64

LISTAS DE TABELAS

TABELA 1	Distribuição da PCRus (mg/L) na população total de idosos, acima de 60 anos, por sexo (Projeto Bambuí).....	31
TABELA 2	Distribuição da PCRus (< 11mg/L) na população total de idosos acima de 60 anos, por sexo (Projeto Bambuí).....	32
TABELA 3	Fatores de risco selecionados para evento coronariano em homens e mulheres, acima de 60 anos, participantes do estudo (Projeto Bambuí).....	33
TABELA 4	Associação entre os níveis de PCRus e fatores selecionados de risco cardiovascular, ajustada por idade, em 500 homens, acima de 60 anos (Projeto Bambuí).....	35
TABELA 5	Associação entre os níveis de PCRus e fatores selecionados de risco cardiovascular, ajustada por idade, em 783 mulheres, acima de 60 anos (Projeto Bambuí).....	37
TABELA 6	Escore de <i>Framingham</i> de risco de doença cardíaca coronariana em homens e mulheres idosos (Projeto Bambuí).....	38
TABELA 7	Distribuição da PCRus (< 11 mg /L), em quartis, por escore de risco de <i>Framingham</i> , para a população de idosos (Projeto Bambuí).....	39
TABELA 8	Associação entre escore de risco de doença coronariana de <i>Framingham</i> e níveis de Proteína C Reativa nos idosos (Projeto Bambuí).....	39

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	Estrutura molecular e morfologia da PCR.....	15
FIGURA 2 -	Localização do gene da PCR no cromossoma 1(1q21-1q23).....	16
FIGURA 3 -	O papel da proteína C-reativa na aterogênese.....	19
FIGURA 4 -	Localização geográfica de Bambuí no estado de Minas Gerais, Brasil.....	25
FIGURA 5 -	Delineamento do Estudo de Bambuí (Projeto Bambuí).....	26
FIGURA 6 -	Distribuição da PCR na população para valores menores do que 11mg/L.....	30
FIGURA 7 -	Distribuição normal da PCR após transformação logarítmica (linha).....	30

LISTA DE ABREVIATURAS

ACC - *American College of Cardiology*

AHA - *American Heart Association*

CAM-1- molécula de adesão intercelular-1

DNA – *Deoxyribonucleic acid*

DP – Desvio Padrão

eNOS - Óxido nítrico sintetase endotelial

EPC - Células progenitoras endoteliais

ET-1 - Endotelina-1

IL-6 - Interleucina 6

IL-8 - Interleucina-8

MCP- Proteína quimiotática de monócitos-1

mg / L - Miligramas por litro

MMP- Matriz metaloproteinase

NACB - *National Academy of Clinical Biochemistry*

NADPH - Nicotinamida adenina difosfato nucleotidase

NFκB - Fator nuclear K_b

NHANES - *National Health and Nutrition Examination Survey*

NO - Óxido nítrico

NO - Óxido nítrico

PAI -1- Plasminogênio I

PCR – Proteína C Reativa

PCRus - Proteína C Reativa ultra-sensível

ROS - Espécies reativas de oxigênio

SMC - Células musculares lisas

VCAM-1 - Molécula de adesão celular vascular-1;

VSM - Músculo liso vascular.

RESUMO

Introdução: Evidências de estudos laboratoriais, clínicos e epidemiológicos se acumularam nos últimos anos correlacionando inflamação de baixo grau e aterosclerose. O conhecimento da distribuição da PCRus em populações com diferentes faixas etárias, especialmente idosos, e a sua associação com fatores de risco selecionados pode contribuir para sua melhor utilização clínica na predição do risco cardiovascular nessas populações.

Objetivos: Avaliar a distribuição da PCRus (Proteína C Reativa ultra sensível) e sua associação com fatores de risco cardiovascular na população maior ou igual 60 anos, na linha de base do estudo de Bambuí.

Material e Métodos: O inquérito na linha de base do estudo da coorte de Bambuí compreendeu 1.606 indivíduos residentes na cidade de Bambuí (Minas Gerais, Brasil), o que representa 92% do total, com idade acima de 60 anos. Determinou-se a PCRus pelo método imunonefelométrico em amostra de soro de 1470 idosos, colhidas após 12 horas de jejum e armazenadas a 70°C negativos. Os valores foram associados com as variáveis de risco cardiovascular selecionadas: massa corporal, pressão arterial, tabagismo, sedentarismo, colesterol total, HDL e triglicérides. Para descartar processos inflamatórios evidentes, utilizou-se o critério de exclusão de valores acima de 10mg /L. A comparação dos dados entre os sexos foi realizada utilizando Teste t de Student para comparação de médias, e teste do Qui-quadrado para comparação de proporções. A associação entre o valor da PCRus e as variáveis independentes foi avaliada por regressão linear múltipla ajustada por idade.

Resultados: A distribuição dos valores de PCRus na população apresentou distribuição log-normal. Considerando a média e desvio padrão, os valores obtidos foram 3,03 mg/L ($\pm 2,50$) para ambos os sexos, sendo maiores em mulheres (3,62 $\pm 2,58$ mg/L) do que em homens (3,39 $\pm 2,56$ mg/L) ($p < 0,001$). Em homens, somente as variáveis colesterol total, glicose e diabetes melitus não tiveram associação positiva com os valores de PCR. No grupo de mulheres idosas observou-se associação dos níveis de PCRus com idade, colesterol HDL maior do que 50mg/dL, colesterol LDL, pressão arterial diastólica e triglicérides. O IMC possui associação positiva com a PCRus ($p < 0,001$) em ambos os sexos. A pontuação do escore de risco de *Framingham*, segundo os critérios clássicos, associa-se positivamente com as faixas de PCRus. Observou-se diferença significativa entre as categorias do escore.

Conclusão: Diferenças na distribuição das concentrações de PCRus de acordo com sexo indicam que os pontos de corte atualmente definidos para avaliação de risco devem ser utilizados com cautela devido ao potencial de classificação inadequada do risco. Idosos com risco de *Framingham* baixo e intermediário, diabéticos, homens com valores normais de lipídeos e mulheres hipertensas, podem se beneficiar com a adição da PCRus na predição de evento coronariano. A inclusão da PCRus na linha de base do Projeto Bambuí permitirá futuras análises que poderão confirmar ou não os resultados obtidos no presente estudo através da avaliação longitudinal dessa coorte.

Palavras chave: proteína C reativa; idoso; risco cardiovascular; epidemiologia; laboratório, Brasil.

ABSTRACT

Background: Evidence from laboratory, clinical and epidemiological studies has been accumulated in recent years correlating low-grade inflammation and atherosclerosis. The distribution of hs-CRP (ultra-sensitive C-reactive protein) in populations with different age groups, particularly the elderly and their correlation with selected risk factors may help to improve its clinical utility in predicting cardiovascular risk.

Objectives: To evaluate the distribution of hs-CRP and its association with cardiovascular risk factors in the population from study Bambuí, older than 59 years, at the baseline point.

Methods: The baseline survey in the study cohort comprised 1606 individuals residing in Bambuí (Minas Gerais, Brazil), representing 92% of the total, over the age of 60 years. hs-CRP was determined by the immunonephelometry method in serum sample of 1470 elderly, after 12 hours of fasting and stored at 70 ° Celsius. The values were associated with selected cardiovascular risk variables: body mass, blood pressure, smoking, physical inactivity, total cholesterol, HDL and triglycerides. To rule out evident inflammatory processes, we excluded values above 10mg / L. The comparison of data between genders was performed using Student's t test to compare means and chi-square to compare proportions. The association between hs-CRP value and the independent variables was assessed by multiple linear regression adjusted for age.

Results: The distribution of hs-CRP values in the population was log-normal. The mean and standard deviation values were 3.03 mg/L (± 2.50) for both genders. Women were found to have higher CRP mean levels (3.62 ± 2.58 mg/L) than men (3.39 ± 2.56 mg/L) ($p < 0,001$). In men, only the variables total cholesterol, glucose and diabetes mellitus had a positive association with hs-CRP values. In the group of elderly women CRP levels associated with age, HDL cholesterol greater than 50mg/dL, LDL cholesterol, diastolic blood pressure and triglycerides. The body mass index had positive association with hs-CRP ($p < 0.001$) for both sexes. The score of the Framingham risk score, according to traditional criteria was associated positively with the ranges of hs-CRP. The categories of the score were significantly different.

Conclusion: These results indicate that significant gender differences exist in the population distribution of hs-CRP. Further research is needed to evaluate if new set of cut points based in ethnic or gender should be established to assess the risk of future coronary events. Elderly at risk of low and intermediate Framinham, diabetics, men with normal lipids and hypertensive women can benefit from the addition of hsCRP in predicting coronary events. The inclusion of hsCRP at Bambuí Cohort Study baseline will enable future analysis that may confirm these results through the longitudinal observation of this cohort.

Keywords: C-reactive protein; elderly; cardiovascular risk; epidemiology; laboratory; Brazil.

1 INTRODUÇÃO

A resposta inflamatória é um mecanismo chave para a patogênese da aterosclerose e suas síndromes correlatas. O reconhecimento desta evidência tem fornecido ao longo das últimas décadas um novo paradigma com implicações importantes para pesquisa.

A Proteína C reativa (PCR) é o marcador inflamatório mais estudado. O nome PCR é derivado de sua capacidade de precipitar o polissacarídeo-C do *Streptococcus pneumoniae* e foi a primeira proteína de fase aguda descrita. A utilização do termo PCRus (Proteína C reativa ultra-sensível) refere-se aos métodos modernos de dosagem que permitem a detecção de concentrações muito baixas.

Evidências de estudos laboratoriais, clínicos e epidemiológicos se acumularam nos últimos anos correlacionando inflamação de baixo grau e aterosclerose (DANESH *et al.*, 2000). Estudos clínicos importantes descreveram concentrações aumentadas de PCR em pacientes com doença coronariana ativa, incluindo angina instável e doença aterosclerótica crônica (DE BEER *et al.*, 1982; BERK , WEINTRAUB , ALEXANDER,1990; LIUZZO *et al* 1994, HAVERKATE *et al*, 1997).

Apesar da extensa base de evidências disponível, ainda permanecem aspectos a serem esclarecidos.

1.1 Revisão Histórica

- TILLET e FRANCIS (1930), na Universidade de Rockefeller, descreveram a PCR, a fração “C,” que podia ser isolada de pacientes com pneumonia pneumocócica. (ABERNATHY *et* AVERY, 1941; RIDKER, 2009).
- AVERY e MCCARTY (1940), pesquisadores que desenvolveram o conceito que os genes são feitos de ácido desoxirribonucléico

- (DNA – *deoxyribonucleic acid*), também descreveram a PCR como um reagente de fase aguda que aumentava no soro de pacientes com estímulos inflamatórios.
- LOFSTROM (1943) do Laboratório Estadual de Microbiologia, em Estocolmo, observou o aumento de PCR após o infarto agudo do miocárdio em dois casos, indicando que este biomarcador poderia estar associado com aterotrombose.
- KROOP e colaboradores, na década de 1950, apresentam série de casos que indicavam que a PCR aumentava após isquemia coronariana e necrose do miocárdio. Dado importante em uma época que não incluía dosagem de enzimas e troponina no diagnóstico (KOENIG *et al*, 1999).
- No final da década de 70 e em meados de 1980, a PCR foi caracterizada como uma proteína hepática, não glicosilada, composta por cinco subunidades idênticas com arranjo pentamérico, ou seja, uma pentraxina, que tinha sítios de ligação dependentes de cálcio (FIG. 1) para partículas de colesterol de baixa densidade (LDL) (VOLANAKIS *et* KAPLAN, 1971, PEPYS *et al*,1978; VOLANAKIS *et* WIRTZ,1979; BALTZ *et al*,1982; FEINSTEIN *et* PEPYS, 1982; PEPYS *et al*, 2005; KUSHNER, RZEWNICKI, SAMOLS, 2006; PENCINA, 2008).

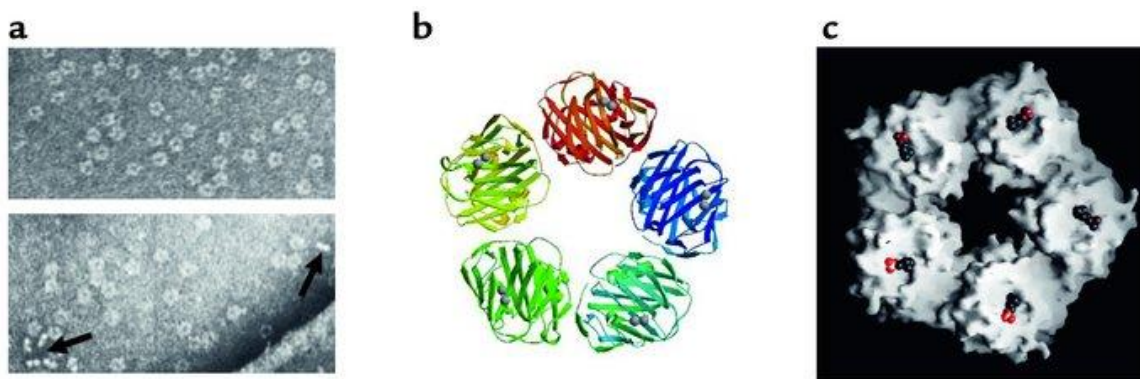


FIGURA 1 - Estrutura (molecular e morfologia da PCR (a) Micrografia eletrônica mostrando o disco típico pentamérico (setas). (b) Diagrama da estrutura cristalina, mostrando a alça de lectina e os dois átomos de cálcio (esferas) no sítio de ligação (c) Modelo com preenchimento espacial da molécula de PCR, mostrando uma molécula de fosfocolina única localizada no sítio de ligação.

Fonte: PEPYS *et* HIRSCHFIELD, 2003. p. 1807.

- Posteriormente, foi demonstrado que a maioria da PCR é produzida pelos hepatócitos sob o controle de citocinas inflamatórias, incluindo a interleucina-6(IL-

6) e o fator de necrose tumoral. A meia vida plasmática é de aproximadamente 19 horas sob condições basais e de estresse e a concentração plasmática é determinada pela taxa de síntese (VIGUSHIN *et al*, , 1993; HUTCHINSON, 1994).

Atualmente, vários aspectos relacionados à biologia da PCR, incluindo os genéticos, têm sido elucidados (ITO *et IKEDA*, 2002; SZALAI *et al*, 2002; KLUFT *et DE MAAT*, 2003). Dados do *Family Heart Study* demonstraram que 35–40% da concentração basal da PCR relaciona-se com a hereditariedade e não existem deficiências descritas (LEDUE *et RIFAI*, 2003; PAI *et al*, 2004). O gene responsável pela síntese situa-se no cromossoma 1 (1q21-1q23), e vários polimorfismos tem sido associados com variações na concentração (FIG. 02) (SZALAI *et al*, 2002).

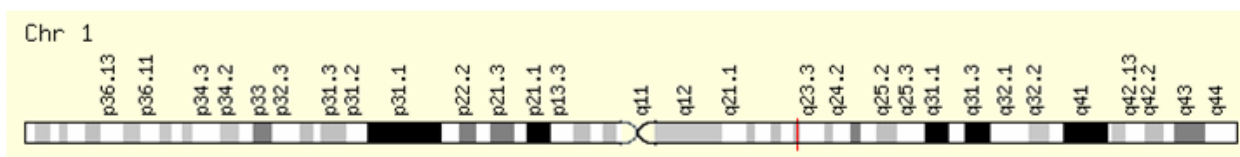


FIGURA 2 – Localização do gene da PCR no cromossoma 1(1q21-1q23)

Fonte: Weizman Institut of Science. Disponível em <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CRPet;search=crp>

1.2 Inflamação e aterosclerose - Aspectos da Biologia

Aterosclerose é um processo dinâmico e progressivo. Há evidências que a PCR apresenta papel direto e esteja presente nas lesões, mas não nos vasos normais (TORZEWSKI *et al*, 2000).

Em vários estudos, devido ao processo inflamatório associado, a PCR tem sido considerada fator de risco preditivo de eventos coronarianos do tipo gênese, progressão e ruptura da placa (PANKOW *et al*, 2001).

Os fatores clássicos promotores da inflamação e aterosclerose são o fumo, hipertensão, lipoproteínas e hiperglicemia. Todos estes estímulos promovem a expressão de moléculas de adesão solúveis que facilitam a fixação de monócitos ao endotélio e

fatores que permitem aos monócitos migrar para a camada subendotelial. A transformação dos monócitos em macrófagos e a ligação do colesterol das lipoproteínas dão início às estrias gordurosas.

Segundo as revisões de VERMA *et al* (2004) e HINGORANI *et al* (2009), os efeitos diretos da PCR nas etapas de desestabilização do endotélio incluem:

- Diminuição da taxa de óxido nítrico (NO) basal e estimulado, causando um efeito de supressão do relaxamento endotelial (MILLER *et al*, 2005). Em 2008, NAGAOKA e cols. demonstraram este efeito em arteríola da retina e o mecanismo subjacente, confirmando o papel da PCR na disfunção do endotélio.
- Estimulo da endotelina-1 e interleucina 6 liberadas pelo endotélio e diminuição da produção de prostaciclina, potente vasodilatador, deslocando o equilíbrio para disfunção endotelial (VAN DER MEER *et al*, 2003).
- Bloqueia a sobrevivência e diferenciação de células progenitoras, estimula a apoptose e inibe a angiogênese derivada do endotélio. Estes efeitos se devem à ação direta da baixa do NO sobre a medula óssea (VERMA *et al*, 2002).
- Estimula a endotelina-1 e interleucina 6 liberados pelo endotélio (VIGUSHIN *et al*, 1993) e diminui a produção de prostaciclina, potente vasodilatador, deslocando o equilíbrio para disfunção endotelial (VERMA *et al*, 2002)
- Induz a expressão de interleucina 8 e promove adesão e transmigração de monócitos na parede arterial .
- Promove a resposta inflamatória do fator de necrose tumoral α e interleucina 1, e conduz à oxidação lipídica.
- Estimula receptores vasculares tipo 1 da angiotensina em células musculares lisas, promovendo a migração de músculo liso vascular, proliferação e formação da íntima (WANG *et al*, 2003) Desestabiliza a capa fibrosa da placa de aterosclerose, estimulando liberação de matriz metaloproteinase 1, que degrada o colágeno (WILKINS *et al*, 1998)

- Reforça a adesão e ativação de plaquetas pelo estímulo à liberação do fator tecidual de monócitos e diminuição na liberação de NO e prostaciclina (VENUGOPAL *et al*, 2003).
- Promove a síntese de inibidor da ativação do plasminogênio tipo 1 e interfere na fibrinólise.
- Estimula a proliferação e a apoptose de células musculares lisas dos vasos, *in vitro*. O acúmulo das células leva a progressão das lesões e a apoptose causa a vulnerabilidade da placa. O papel primário da PCR nas células necessita ainda ser mais bem esclarecido. (WILKINS *et al*, 1998; BLASCHKE *et al*, 2004).

Estímulos inflamatórios persistentes levam a uma contínua migração de macrófagos, mastócitos e células T ativadas para o interior da lesão aterosclerótica. O LDL oxidado é considerado um fator que contribui para a perda de células musculares lisas, através da apoptose, na superfície da placa, além das metaloproteinases e outras enzimas do tecido conjuntivo liberadas por macrófagos ativados que podem quebrar o colágeno, predispondo à ruptura da placa e subsequente trombose por exposição do seu núcleo.

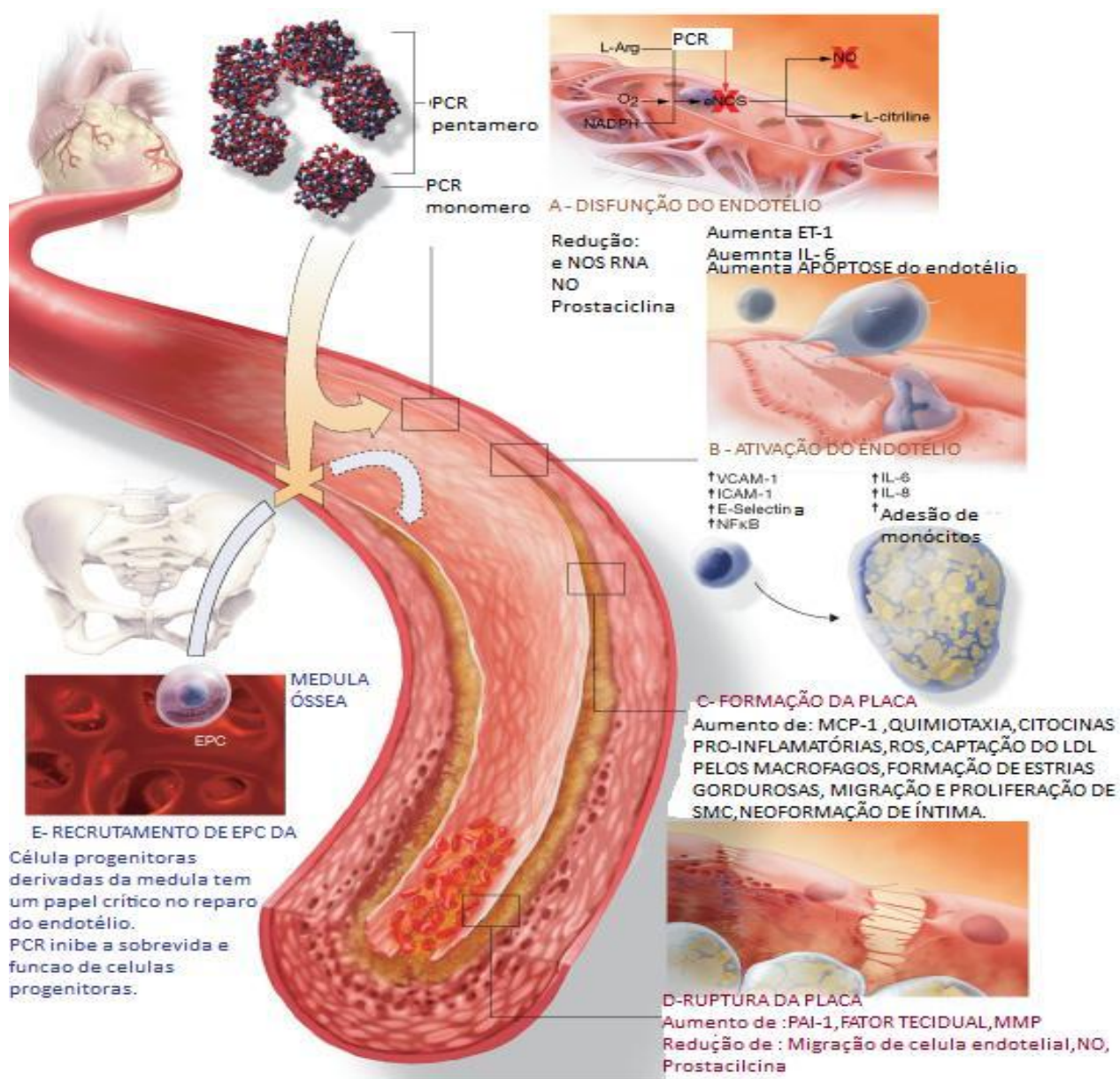


Figura 3 - O papel da proteína C-reativa na aterogênese (a) Disfunção Endotelial. (b) ativação de células endoteliais. (c) formação da placa. (d) ruptura de placa. (e) inibição da EPC sobrevivência e função. AT1R, inibidores dos receptores do tipo I; PCR, proteína C-reativa; eNOS, óxido nítrico sintase endotelial; EPC, as células progenitoras endoteliais, ET-1, endotelina-1; CAM-1, molécula de adesão intercelular-1, IL-6, interleucina 6, IL-8, interleucina-8, MCP, proteína quimiotática de monócitos-1, MMP, matriz metaloproteinase; NADPH, nicotinamida adenina difosfato nucleotidase; NFκB, fator nuclear κB, NO, óxido nítrico; PAI-1, plasminogênio I; ROS, espécies reativas de oxigênio; SMC, células musculares lisas; VCAM-1, molécula de adesão celular vascular-1; VSM, músculo liso vascular.

Fonte: Modificado de VERMA *et al*, 2004, p. 29.

1.3 Determinação da PCR

As considerações pré-analíticas relevantes foram citadas na diretriz de 2009 da *National Academy of Clinical Biochemistry* (NACB) e inclui o jejum não obrigatório, porém o paciente deve estar em estado metabolicamente estável, sem infecção ou doença aguda. No entanto, ensaios que são afetados pela turvação da amostra são dependentes do jejum para resultados adequados. Não é necessário observar a hora da coleta, pois a PCR não apresenta um ritmo circadiano. A PCRus é estável por 60 dias a 4°C em amostras armazenadas a 70°C negativos por mais de 20 anos (RIFAI *et al* RIDKER, 2003).

Em adultos jovens saudáveis, doadores voluntários de sangue, a concentração média de PCR é de 0,8 mg/L, o percentil 90 é de 3,0 mg/L, e o percentil 99 é de 10 mg/L (SMITH *et al*, 2005). Após um estímulo de fase aguda, os valores podem aumentar até 10.000 vezes (ROBERTS *et al*, 2001). Tanto em homens como em mulheres, a determinação da PCR apresenta distribuição não gaussiana, desviada para a direita (LEDUE *et al*, 1998).

É importante considerar a grande variação biológica da PCR, que pode oscilar no indivíduo de 42 a 63% e entre indivíduos de 76 a 92% (CHENILLOT *et. al*, 2000). Portanto, múltiplas determinações são necessárias para definir o basal do indivíduo. Se o nível for > 3 mg/L, repetir a medição, pelo menos duas semanas depois, em estado clínico e metabólico estável, livre de infecção aguda ou doença. O menor dos dois resultados deve ser considerado o valor do paciente. Se a PCRus for maior que 10 mg/L isso pode estar relacionado ao risco cardiovascular. Porém, outras condições, como obesidade, inflamação ou câncer, podem ser consideradas (Classe de recomendação da *American Heart Association/American College of Cardiology* - AHA/ACC¹: IIa, Nível de evidência²: A). Além destas, outros fatores do estilo de vida que comprovadamente

¹ AHA/ACC - Classificação da recomendação: I - Condições para as quais há evidências e /ou concordância geral de que um determinado procedimento ou tratamento é útil e eficaz. II- Condições para as quais há evidências conflitantes e/ou divergência de opinião sobre a utilidade / eficácia de um procedimento ou tratamento (IIa peso da evidência/opinião é a favor da utilidade/eficácia. IIb- Utilidade/eficácia é menos bem estabelecida por evidência /opinião). III- Condições para as quais há evidências e /ou concordância geral de que o tratamento / procedimento não é útil / eficaz e, em alguns casos pode ser prejudicial.

² AHA/ACC - Nível de evidência (A, B ou C): A- Dados provenientes de vários ensaios clínicos randomizados que envolveram um grande número de pacientes; B - Dados derivados de um número limitado de estudos randomizados que envolveram pequeno

interferem são o exercício físico, obesidade, fumo, consumo de álcool, terapia hormonal e uso de estatinas (CLARK *et FRASER*, 1993; MACY *et al*, 1997).

A maioria dos estudos originais que avaliou a utilidade clínica da PCR utilizou métodos *in house*³. Após a introdução dos métodos comerciais de determinação ultrasensível, capazes de detectar valores inferiores a 1mg/L, ou seja, inflamação subclínica, ocorreu importante avanço para permitir a utilização da PCR como um fator preditor de eventos em indivíduos aparentemente saudáveis (RIFAI *et al*, 1999; LEDUE *et RIFAI*, 2003).

Os métodos correntes são do tipo imunoenzimático, imunoturbidimétrico ou imunonefelométrico, possuem um material padronizado da Organização Mundial de Saúde para calibração, podem ser feitos em larga escala e apresentam sensibilidade e reprodutibilidade adequados para uso na clínica. Entretanto, não existe um método de referência para a PCRus e um programa de comutatividade de resultados de diferentes métodos está em elaboração pelo *Centers for Disease Control* (CDC) (NACB, 2009)

1.4 Papel dos marcadores de risco

Em 2003, a AHA e o CDC publicaram as características desejáveis para um marcador inflamatório de risco cardiovascular. Essas incluem: (1) a capacidade de padronizar o ensaio e controlar a variabilidade da medida; (2) independência de fatores de risco estabelecidos; (3) associação com doença cardiovascular clínica em estudos prospectivos; (4) a presença da população normal para orientar a interpretação dos resultados; (5) a capacidade de melhorar a predição global, além dos fatores de risco tradicionais; (6) generalização de resultados para vários grupos da população, e (7) um custo aceitável dos ensaios (PEARSON *et al*, 2003).

Em suas diretrizes publicadas em 2009, a NACB concluiu que, dentre os biomarcadores avaliados, apenas a PCRus preencheu todos os critérios para aceitação

número de pacientes ou de análises cuidadosas de estudos não randomizados ou registros de observação; C - A base primária para a recomendação é o consenso entre os especialistas.

³ Método *in house*: método desenvolvido para uso próprio, não comercializado.

como um biomarcador de avaliação de risco e prevenção primária (Classe I; Nível de evidência A).

As faixas de risco da PCRus definidas como baixa (<1,0), intermediária (1,0 a 3,0) e alta (>3,0) foram obtidas em diversos estudos e correspondem a um terço dos valores da PCRus na população adulta (PEARSON *et al*, 2003). DANESH e colaboradores (2004) estudaram a relação da proteína C reativa como preditor de eventos em mais de sete mil pacientes acompanhados por doze anos em média. Por meio dessa metanálise de 22 estudos prospectivos, os autores mostraram que os tercis mais elevados da proteína aumentaram em praticamente 60% o risco de eventos quando comparados aos tercis mais baixos da proteína C reativa. Segundo o AHA/ACC, a classe desses níveis de corte é IIA, com nível de evidência A. A adoção de categorias de risco relativo em faixas definidas na literatura somente é possível com utilização de métodos padronizados (RIFAI *et* RIDKER, 2001).

É importante ressaltar que a diretriz citada recomenda precaução ao aplicar as faixas de classificação da PCRus para avaliar o risco em determinadas populações, tais como não-brancos e os idosos. Estas são situações onde a sua utilidade clínica é menos estabelecida, uma vez que os achados na literatura são conflitantes e considera-se o consenso de especialistas (Classe IIa, Nível de evidência C).

1.5 Estudos epidemiológicos

Estudos epidemiológicos que estimam a incidência de doenças e fatores de risco, como os estudos de *Framingham*, EuroSCORE e QRISK contribuem para a análise de aspectos gerais e próprios da população e propiciam o desenvolvimento de ferramentas de avaliação de risco. (ASSMANN *et al*, 2002; CONROY *et al*, 2003; WILSON *et al*, 2005; HIPPISEY-COX *et al*, 2007). Todos estes modelos utilizam como marcadores a pressão arterial, tabagismo e dosagem de lipídeos para avaliar o risco e promover estratégias de prevenção.

O estudo de *Framingham*, conhecido como *Framingham Heart Study*, é um dos mais importantes estudos prospectivos na história da medicina norte-americana e proporcionou informações valiosas sobre as causas de morte e doenças cardiovasculares na população em geral (WILSON *et al*, 1998). Esse estudo introduziu ferramenta de avaliação que utiliza um sistema de pontos para estimar o risco de um evento coronariano ou morrer por doença coronariana nos próximos 10 anos empregando apenas os critérios: idade, sexo, colesterol total, HDL - colesterol, tabagismo, pressão arterial sistólica e diabetes. Os escores de risco considerados são: baixo, entre 5-10%; moderado, entre 10 e 20%, e alto risco acima de 20%. O estudo de Framingham não considera a raça ou etnia, embora tenha sido validado em diversas populações. Os escores de risco apresentam um desempenho aceitável em homens e mulheres negros (D'AGOSTINO *et al*, 2001), mas superestimam o risco de eventos coronarianos em homens japoneses-americanos e hispânicos, americanos nativos e chineses de ambos os sexos (LIU *et al*, 2004).

A constatação que muitos indivíduos no risco intermediário do escore de *Framingham* apresentam eventos cardiovasculares, tem motivado a busca pela associação com novos marcadores especialmente a PCRus. Na literatura podem ser encontrados mais de 30 estudos epidemiológicos prospectivos que demonstram consistência entre a concentração da PCRus em indivíduos sadios de meia idade e o risco de desenvolver evento cardiovascular, considerando-se os valores obtidos em estado de ausência de doença infecciosa ou inflamatória (HINGORANI *et al*, 2009). Recentemente, a diretriz do NACB (2009) faz recomendações sobre a utilização da PCRus associada a avaliações globais de risco.

No Brasil, um estudo prospectivo e de base populacional realizado no período entre 1999 e 2009 na cidade de Bambuí – MG (Projeto Bambuí) forneceu base importante para identificação dos fatores preditores de eventos adversos à saúde em idosos, além de garantir o armazenamento de material biológico fracionado a 70°C negativos para futuras investigações. Esta metodologia de congelamento em baixas temperaturas permitiu o desenvolvimento do presente estudo com a inserção da dosagem da PCRus na linha de base do estudo da população de idosos (RIFAI *et RIDKER*, 2003; NACB, 2009).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Estudo de base populacional que visa associar a dosagem de PCRus a fatores de risco cardiovascular em idosos, na linha de base do Projeto Bambuí.

2.2 Objetivos específicos:

2.2.1 Introduzir novo elemento, a quantificação da PCRus, como fator preditivo adverso à saúde, na linha de base da população avaliada no Projeto Bambuí.

2.2.2 Determinar a distribuição da PCRus na população de idosos na linha de base do estudo.

2.2.3 Associar a PCRus a outros fatores de risco cardiovasculares: glicose, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicérides, pressão arterial, tabagismo, sedentarismo, índice de massa corporal e circunferência da cintura.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do estudo

O Município de Bambuí (FIG. 04) possuía 20.573 habitantes em 1991, 15.032 (73%) dos quais vivendo na sua sede (cidade de Bambuí) e foi uma importante área endêmica para doença de Chagas. A transmissão da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* foi interrompida há cerca de vinte anos, mas ainda prevalece na população idosa devido a efeito de coorte (LIMA-COSTA *et al*, 2001).



Figura 4 - Localização geográfica de Bambuí no estado de Minas Gerais, Brasil.

Fonte: LIMA-COSTA *et al*, 2000, p.126.

O delineamento do Projeto Bambuí foi prospectivo, com atividades de inquérito (entrevistas e exames físicos) e coleta de amostras na linha de base entre janeiro e agosto de 1997 e atividades de acompanhamento por 10 anos (FIG 05). (BARRETO *et al*, 2001; LIMA-COSTA *et al*, 2000).

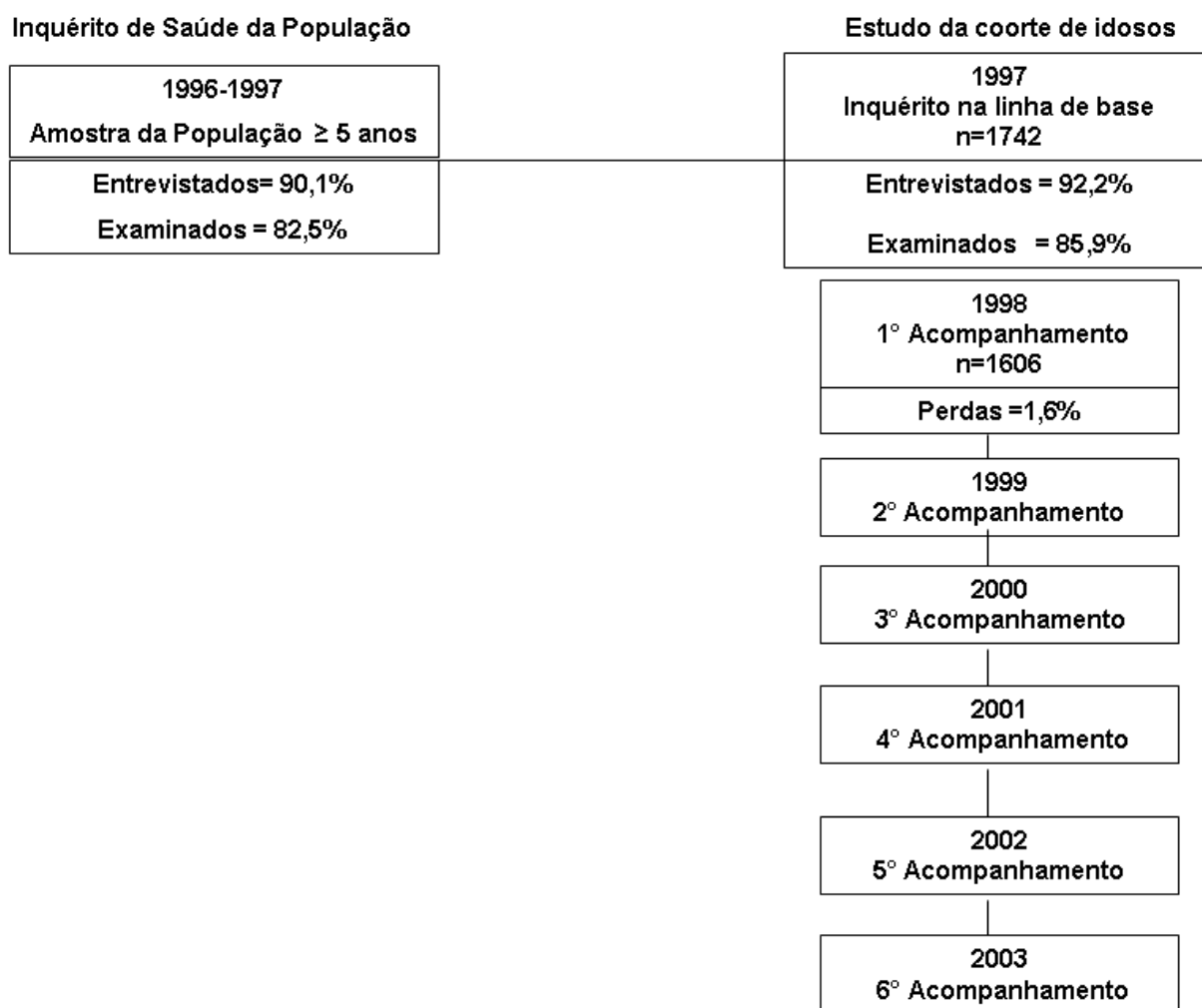


Figura 5 - Delineamento do Estudo de Bambuí (Projeto Bambuí).

Fonte: modificado de: LIMA-COSTA *et al*, 2000, p.126.

3.2 Amostragem

Entre novembro e dezembro de 1996, foi realizado um censo completo pela equipe do estudo para a identificação dos participantes da coorte. Todos os residentes com sessenta ou mais anos de idade, 86% de todos os moradores, foram selecionados para o estudo (1.742 habitantes). A idade média foi de 68 anos. Destes, 1.606 (92,2%) foram entrevistados e 1.494 (85,8%) foram submetidos a exames físicos e laboratoriais (LIMA-COSTA *et al*, 2000).

3.3 O questionário na linha de base, medidas antropométricas e da pressão arterial.

As entrevistas duravam cerca de noventa minutos e foram realizadas nos lares dos participantes. O levantamento incluiu vários parâmetros, incluindo dados do estilo de vida, como a atividade física e tabagismo.

As respostas do questionário eram codificadas de modo padronizado, duplo cego e sem questionamentos subjetivos, por pessoal exaustivamente treinado para o trabalho de campo e escolaridade mínima de 11 anos.

As medidas antropométricas e da pressão arterial foram realizadas no Posto Avançado de Estudos Emmanuel Dias, da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), em Bambuí, por técnicos qualificados. Para a medida do peso e altura os participantes usaram roupas leves, balança e antropômetro padronizados. O peso e a altura foram utilizados para a determinação do índice de massa corporal (peso/altura).

As medidas de pressão também foram realizadas em um recinto isolado, silencioso e com temperatura ambiente controlada. A padronização incluía a primeira medida, após pelo menos trinta minutos, sem ingestão de café e/ou uso de cigarro. O resultado da pressão arterial foi considerado como a média da segunda e terceira

medidas. Os seguintes instrumentos foram utilizados: esfigmomanômetros Tycos 5097 30 (Estados Unidos) e estetoscópios Littman Cardiology II (Estados Unidos).

O detalhamento desta etapa e todas as atividades da equipe de trabalho encontram-se publicados por LIMA-COSTA *et al*, 2000.

3.4 Coleta das amostras, controle de variáveis pré-analíticas e testes laboratoriais.

As amostras de sangue foram coletadas após 12 horas de jejum por equipe treinada. O sangue foi coletado no centro de saúde do Posto Avançado Emmanuel Dias do Centro de Pesquisa René Rachou, em Bambuí e, em casos de exceção, no domicílio do participante. As amostras foram fracionadas e enviadas refrigeradas para o laboratório em Belo Horizonte. Alíquotas de soro, plasma e sangue total identificadas individualmente foram estocadas usando o software de controle de armazenagem em freezer a 70°C negativos.

Foram utilizados os dados já mensurados na linha de base desta população, quais sejam as análises bioquímicas. Essas foram realizadas nas amostras de soro utilizando um analisador automático (Eclipse Vitalab, Merck, Holanda), e compreendem: glicose, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol VLDL e triglicérides (LIMA-COSTA *et al*, 2000).

3.5 A dosagem da PCRus

Para o presente estudo foram testadas amostras de soro de 1470 adultos com 60 anos ou mais, o que equivale a 85,4% dos participantes do estudo BHAS. As amostras foram ensaiadas no equipamento Behring BN II, *Dade Behring Inc. USA* pelo método nefelométrico, que mede a aglutinação das partículas recobertas por anticorpos

através da intensidade da luz refletida e determina a concentração de PCRus presente na amostra (ERLANDSEN *et RANDERS*, 2000).

Este ensaio utiliza um anticorpo anti-PCR monoclonal e um calibrador rastreável ao material de referência OMS. O desempenho analítico do método foi validado e comparado com outros oito métodos (LEDUE, *et al.*1998; RIFAI *et al*, 1999; ROBERTS *et al*, 2001). O coeficiente de variação apresentado, para diferentes faixas de PCR, foi inferior a 7,6%. O limite de detecção é de 0,02 mg/L e a faixa do ensaio é de 0,17 a 11,0 mg/L na diluição inicial.

As dosagens do presente estudo foram executadas em laboratório certificado pela Norma ISO 9001:2000 e acreditado pelo Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica, que segue normas de controle interno da qualidade e exames de proficiência para todos os analitos.

3.6 Análise estatística

Para descrição foram calculados os valores de média, desvio padrão e proporções, ajustados por idade. Os quartis dos valores da PCR foram também descritos segundo o sexo. A comparação dos dados entre os sexos foi realizada utilizando Teste t de Student, para comparação de médias, e teste do Qui-quadrado para comparação de proporções.

A associação entre o valor da PCRus e as variáveis independentes foi realizada por regressão linear múltipla, ajustada por idade, sendo estimados os valores de beta, erro padrão e valor p. Para todas as análises os valores de PCR foram transformados (log) para atender a premissa de normalidade, sendo considerados apenas os indivíduos com valores menores ou iguais a 10,0 mg/L. O valor de β mostra a tendência da associação (negativa ou positiva) das variáveis com a PCRus (valores de $p < 0.005$).

Foi utilizado o programa de estatística Stata (STATA, 1997).

4. RESULTADOS

4.1 Distribuição dos valores de PCRus na população de idosos (Projeto Bambuí).

A distribuição dos valores de PCRus, considerando valores inferiores a 11mg/L, está apresentada na FIG. 06. Observamos na FIG. 07 a distribuição normal após transformação logarítmica.

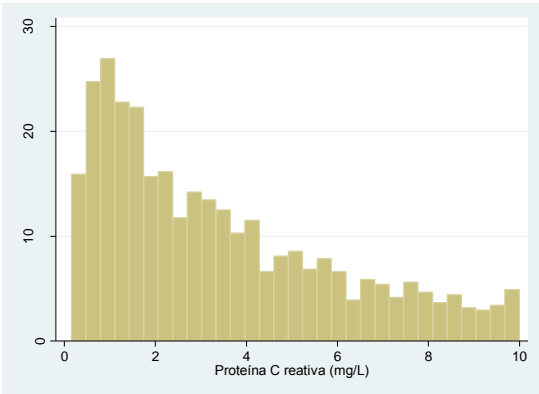


FIGURA 6 – Distribuição da PCRus na população para valores menores do que 11mg/L.

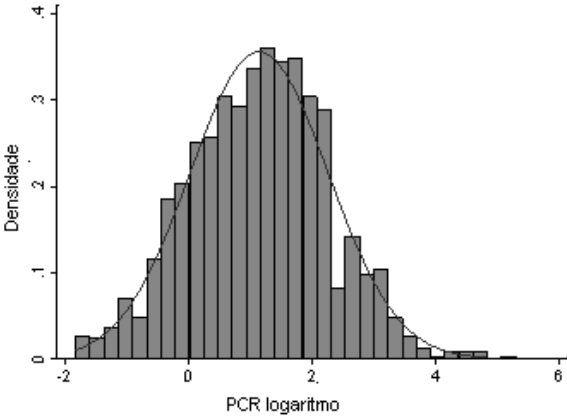


FIGURA 7 - Distribuição normal da PCRus após transformação logarítmica (linha)

As TAB. 1 e 2 apresentam dados da distribuição da PCRus na população para todos os valores mensurados e após exclusão de valores maiores do que 10mg/L, respectivamente. Em ambas as distribuições (total e PCR<11,0mg/L), menos de 25% dos indivíduos apresentaram valores abaixo de 1,0 mg/L.

TABELA 1

Distribuição da PCRus (mg/L) na população total de idosos, acima de 60 anos, por sexo (Projeto Bambuí).

Quartis	Homens (N=575)	Mulheres (N= 895)	Total (N=1470)
1º Quartil	0,17 – 1,14	0,16 – 1,64	0,16- 1,42
2º Quartil	1,14 – 2,86	1,64 – 3,49	1,42 – 3,25
3º Quartil	2,86– 6,16	3,49 – 6,91	3,25 – 6,7
4º Quartil	6,16 – 104,0	6,91 – 201,0	6,7 – 201,0
Média (DP)	5,76 (9,94)	6,12 (11,16)	5,98 (10,70)

DP: Desvio Padrão, N: número de indivíduos.

Quando se excluíram os valores maiores ou iguais a 10mg/L (TAB. 2) observou-se que cerca de 50% dos indivíduos apresentaram valores de PCR até aproximadamente 3,0 mg/L, sendo o valor médio 3,39 mg/L (DP=2,57).

Considerando os valores de PCRus menores do que 11mg/L, encontramos resultados de média (DP) em mulheres (3,62 ± 2,58) significativamente maiores do que em homens (3,03 ± 2,50), p<0,001.

TABELA 2

Distribuição da PCRus (< 11mg/L) na população total de idosos acima de 60 anos, por sexo (Projeto Bambuí).

Quartis	Homens (N=501)	Mulheres (N= 785)	Total (N=1286)
1º Quartil	0,17 – 1,01	0,16 – 1,48	0,16 – 1,26
2º Quartil	1,01 – 2,22	1,48 – 2,98	1,26 – 2,73
3º Quartil	2,22 – 4,33	2,98 – 5,35	2,73 – 5,04
4º Quartil	4,33 – 10,0	5,35 – 10,0	5,04 -10,0
Média (DP)	3,03 (2,50)	3,62 (2,58)	3,39 (2,56)

DP: Desvio Padrão, N: número de indivíduos.

4.2 Distribuição de outros fatores de risco na população de idosos (Projeto Bambuí).

A população com valores de PCRus menores que 11mg/L, representada por 1.283 participantes, foi estratificada por sexo, sendo 500 homens e 783 mulheres. Os fatores de risco de evento coronariano na amostra populacional do presente estudo podem ser observados na TAB. 3.

Outros parâmetros bioquímicos como o colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicérides também foram analisados.

O IMC e a medida da circunferência da cintura foram maiores em mulheres do que em homens ($p < 0,001$).

TABELA 3

Fatores de risco selecionados para evento coronariano em homens e mulheres, acima de 60 anos, participantes do estudo (Projeto Bambuí).

Variáveis	Homens (n=500)	Mulheres (n=783)	Total (n=1283)	Valor p*
Colesterol total (mg/dL), Média (DP)	221,8 (46,1)	242,8 (48,7)	234,6(48,8)	<0,001
Colesterol HDL (mg/dL), Média (DP)	47,6 (15,8)	50,9 (14,8)	49,6 (15,3)	<0,001
Colesterol LDL (mg/dL), Média (DP)	147,9 (1,9)	160,4 (1,7)	155,4 (1,3)	<0,001
Triglicérides (mg/dL), Média (DP)	134,9 (4,1)	164,1 (4,0)	152,7 (2,9)	<0,001
Pressão arterial sistólica (mmHg), Média (DP)	137,9 (22,2)	137,5 (22,2)	137,7(22,0)	0,717
Pressão arterial diastólica (mmHg), Média (DP)	85,3 (13,2)	82,6 (12,0)	83,7 (12,6)	<0,001
Glicose sanguínea (mg/dL), Média (DP)	107,0 (44,9)	107,9 (40,5)	107,6(42,3)	0,685
Índice de massa corporal (Kg/m ²), Média (DP)	24,0 (0,2)	25,6 (0,2)	25,0 (0,1)	<0,001
Circunferência da cintura (cm), Média (DP)	90,0 (0,5)	91,5 (0,4)	90,9 (0,3)	0,026
Tabagismo atual, %	31,4	10,3	18,7	<0,001
Atividade física < 3 vezes por semana, %.	83,2	89,9	87,2	<0,001

DP: desvio padrão.*Teste t de Student para comparação de médias e Teste do qui-quadrado para comparação de proporções entre os sexos.

O percentual de mulheres idosas que relataram a realização de atividade física acima de três vezes por semana, consideradas como não sedentárias, foi significativamente maior do que o de indivíduos idosos masculinos ($p < 0,001$).

A frequência do tabagismo na população foi menor nas mulheres do que nos homens ($p < 0,001$).

4.3 PCRus e fatores de risco cardiovascular - Resultados categorizados por sexo

As TAB. 4 e 5 apresentam os dados mensurados por faixa de PCRus e os valores de β e erro padrão ajustado por idade, obtido por regressão linear múltipla em homens e mulheres, respectivamente.

O aumento (ou redução) em uma unidade da medida de uma variável associa-se a aumento da PCRus (logaritmo da concentração), que corresponde ao valor de β considerando que as outras variáveis sejam mantidas constantes.

4.3.1 PCRus e fatores de risco cardiovascular em homens idosos

Os valores dos diversos parâmetros em homens idosos foram estratificados segundo as faixas de risco atribuídas à PCRus. Como se observa na TAB. 4, o aumento de triglicérides, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, índice de massa corporal, circunferência da cintura, tabagismo e a redução do colesterol HDL associaram-se com o aumento da PCRus.

Não foi observada associação entre a PCRus e as variáveis idade, colesterol total, LDL, glicemia e atividade física.

TABELA 4

Associação entre os níveis de PCRus e fatores selecionados de risco cardiovascular, ajustada por idade, em 500 homens, acima de 60 anos (Projeto Bambuí).

<i>Variáveis</i>	<i>PCRus (mg/L)</i>			<i>β (EP)*</i>	<i>Valor p</i>
	<i><1,00</i>	<i>1,00-3,00</i>	<i>3,01-10,00</i>		
Idade (anos)	69,1	67,8	69,3	0,004 (0,006)	0,453
Colesterol total (mg/dL)	214,6	226,2	222,2	0,001 (0,001)	0,150
Colesterol HDL (mg/dL)	50,2	46,3	47,2	-0,006(0,003)	0,016
Colesterol LDL (mg/dL)	140,2	153,6	147,4	0,002 (0,001)	0,125
Triglicérides (mg/dL)	121,6	134,0	143,3	0,001 (0,001)	0,015
Pressão arterial sistólica (mmHg)	131,5	139,4	140,6	0,006 (0,002)	0,001
Pressão arterial diastólica (mmHg)	82,2	86,5	86,1	0,008 (0,003)	0,008
Glicose sanguínea (mg/dL)	108,7	103,0	109,4	0,0002(0,001)	0,804
Índice de massa corporal (Kg/m ²)	22,7	24,4	24,3	0,034 (0,011)	0,002
Circunferência da cintura (cm)	86,7	90,7	91,4	0,014 (0,004)	<0,001
Tabagismo atual (Referência: Não)	27,9	24,0	36,8	0,195 (0,092)	0,034
Atividade física < 3 vezes/semana (Referência: Não)	85,2	77,5	84,6	0,026 (0,111)	0,813

*β e erro padrão (EP) na unidade de medida log da PCR.

4.3.2 PCRus e fatores de risco cardiovascular em mulheres idosas

No grupo de mulheres, o perfil lipídico se correlacionou com os níveis de PCRus ($p < 0,05$). Os valores médios de colesterol total, colesterol LDL e triglicérides se associaram positivamente com a PCRus, enquanto que os valores de HDL mais elevados foram associados a faixas menores de PCRus.

A idade se associou inversamente; quanto maior a idade média, menores foram os valores de PCRus ($\beta -0,011$, $p = 0,011$).

O IMC e a medida da cintura também associaram-se positivamente com a PCRus ($p < 0,001$) nas mulheres idosas. Os valores são progressivamente maiores nas faixas de risco mais altas.

As medidas da pressão arterial, glicemia, tabagismo e atividade física não apresentaram associação com as faixas de PCRus. Os dados são apresentados na TAB.

5.

TABELA 5

Associação entre os níveis de PCRus e fatores selecionados de risco cardiovascular, ajustada por idade, em 783 mulheres, acima de 60 anos (Projeto Bambuí).

<i>Variáveis</i>	<i>PCRus (mg/L)</i>			<i>β (EP)*</i>	<i>Valor p</i>
	<i><1,00</i>	<i>1,00-3,00</i>	<i>3,01-10,00</i>		
Idade (anos)	70,5	69,5	68,6	-0,011(0,004)	0,011
Colesterol total (mg/dL)	233,8	240,1	247,5	0,002 (0,001)	0,003
Colesterol HDL (mg/dL)	55,4	53,0	47,9	-0,013(0,002)	<0,001
Colesterol LDL (mg/dL)	152,1	158,6	164,2	0,002 (0,001)	0,012
Triglicérides (mg/dL)	128,4	150,3	184,7	0,002 (0,001)	<0,001
Pressão arterial sistólica (mmHg)	134,8	137,7	138,1	0,002 (0,001)	0,166
Pressão arterial diastólica (mmHg)	81,2	82,4	83,2	0,004 (0,003)	0,106
Glicose sanguínea (mg/dL)	104,9	104,9	111,0	0,001 (0,001)	0,119
Índice de massa corporal (Kg/m ²)	22,8	25,0	27,0	0,052 (0,006)	<0,001
Circunferência da cintura (cm)	85,9	90,5	93,8	0,020 (0,003)	<0,001
Tabagismo atual (referência: Não) (%)	8,8	9,5	10,7	0,049 (0,103)	0,637
Atividade física <3vezes/semana (referência: Não) (%)	91,2	88,3	89,6	0,024 (0,101)	0,815

*β e erro padrão (EP) na unidade de medida log da PCR.

4.4 PCRus e escore de *Framingham* para risco de doença coronariana em idosos

A TAB. 6 descreve os resultados do escore de risco de *Framingham* aplicado a população estudada. Os resultados evidenciaram diferença significativa entre todas as categorias de risco.

Apenas 4,9% da população total apresentaram baixo risco de doença coronariana. Por outro lado, a distribuição por sexo mostrou que a maioria dos homens idosos (66,1%), apresentou risco >20% (elevado), enquanto apenas 14,5% das mulheres situaram-se nesta faixa. Na faixa entre 5 a 9% de risco observou-se um percentual significativamente maior de mulheres.

TABELA 6

Escore de *Framingham* de risco de doença cardíaca coronariana em homens e mulheres idosos (Projeto Bambuí).

<i>Escore de Framingham de Risco de Doença Cardíaca Coronariana (%)</i> , %	<i>Total</i> (n=1283)	<i>Homens</i> (n=500)	<i>Mulheres</i> (n=783)	<i>Valor</i> <i>p</i> *
0-4	4,9	0,2	8,1	
5-9	19,4	5,8	28,1	
10-19	40,9	27,9	49,3	
≥20	34,8	66,1	14,5	<0,001

Os valores de PCR foram estratificados pelo escore de risco de *Framingham* (TAB. 7). Observou-se que no segundo quartil (50%) não temos valores de PCR acima de 3,0mg/L. O aumento dos valores médios de PCRus se associou ao aumento de risco baseado no escore de *Framingham*. Nas faixas de risco baixo e intermediário foram identificados valores maiores que 1,0mg/L em mais de 50% dos indivíduos estudados.

TABELA 7

Distribuição da PCRus (< 11 mg /L), em quartis, por escore de risco de *Framingham*, para a população de idosos (Projeto Bambuí).

Quartil	Framingham			
	0 – 4 %	5 – 9%	10- 19 %	≥ 20%
	(n=62)	(n=242)	(n=540)	(n=439)
1º Quartil	0,17 – 0,82	0,22 – 0,66	0,22 – 1,29	0,27 – 1,41
2º Quartil	0,82 – 1,72	0,66 – 2,15	1,20 – 2,97	1,41 – 2,81
3º Quartil	1,72 – 5,19	2,15 – 4,22	2,97 – 5,34	2,81 – 5,07
4º Quartil	5,19 – 10	4,22 – 9,01	5,34 – 9,83	5,07 – 9,83
Media (DP)	3,01(2,87)	2,89(2,28)	3,58 (2,63)	3,48 (2,56)

A pontuação do escore de risco de *Framingham*, segundo os critérios clássicos, associou-se positivamente com as faixas de PCRus. O escore médio variou de 8,6 a 9,7 para homens e de 9,4 a 11,5 para mulheres (TAB. 8).

TABELA 8

Associação entre escore de risco de doença coronariana de *Framingham* e níveis de Proteína C Reativa nos idosos (Projeto Bambuí).

Escore de risco	PCRus (mg/L)			β (EP) *	Valor p
	<1,0	1,00 - 3,0	3,01 - 10,0		
Homens	8,6	9,6	9,7	0,075 (0,017)	<0,001
Mulheres	9,4	10,5	11,5	0,046 (0,008)	<0,001

β (Erro padrão), ajustado por idade, obtido por regressão linear múltipla.

5 DISCUSSÃO

Desde 1981, mais de 200 fatores associados (“exposições” ou diferenças fenotípicas) a um risco aumentado de doença cardíaca coronariana têm sido descritos. No entanto, considerando-se que vários indivíduos em risco não são identificados pelos fatores tradicionais, a busca de novos marcadores tem motivado e impulsionado as inúmeras pesquisas. Nas últimas décadas, esta lista aumenta a cada dia com a introdução de tecnologias genômicas (HINGORANI *et al*, 2009). No estado atual de conhecimentos acumulados sobre a avaliação do risco, o uso de escores como o de *Framingham*, a partir de múltiplas variáveis, tem sido recomendado.

Em modelos epidemiológicos, os fatores causais, mediadores e interferentes relacionados ao risco de uma doença podem ser complexos e difíceis de interpretar. No entanto, estudos observacionais, como o aqui apresentado, têm contribuído para evidenciar marcadores que se associam à presença de doença subclínica e não estão obrigatoriamente associados com patogênese. Um limitante dessas análises seria a possibilidade de se super ou subestimar a associação entre a presença dos marcadores e a doença subclínica associada a outros fatores de risco, ou seja, um efeito independente questionável.

Existem evidências na literatura de que a inflamação é um processo chave da aterogênese e desencadeador de eventos cardiovasculares (ROSS, 1999; HANSSON *et al*, 2006; DEVARAJ *et al*, 2009). Com relação à PCR, mais de 30 estudos epidemiológicos prospectivos associam a PCRus com incidência futura de doença cardiovascular, promovendo a inflamação, o dano vascular e eventos clínicos (YUDKIN *et al*, 1999). Apesar de extensos estudos, de mais de duas décadas, ainda pairam incertezas sobre a utilidade da PCRus e seu papel preditor do risco (PEARSON *et al*, 2003).

5.1 A distribuição da PCRus

A maioria dos trabalhos publicados foi conduzida em populações de meia idade. O presente estudo insere-se em uma lacuna, qual seja a avaliação dos marcadores em diferentes faixas etárias, no caso, os idosos. Isoladamente, a variável idade poderia ser um fator de tendência nas análises subseqüentes. Considerando-se que a PCRus aumenta com a idade, os valores elevados da PCRus, poderiam estar evidenciando uma atividade inflamatória do ateroma, ao invés de estar contribuindo para o seu desenvolvimento e progressão, assim como está definido para fatores clássicos de risco, como a pressão arterial, colesterol e outros (GABAY *et al*, 1999). De modo controverso, no presente estudo, observou-se que as mulheres idosas com idade média mais alta apresentaram valores menores de PCRus, enquanto que em homens não houve diferença da média de idade nas diferentes faixas de PCRus. No *Women Health Study* (RIDKER, *et al*, 1998), uma coorte de 15.770 mulheres, foi observado uma discreta alteração da concentração média de PCRus com a idade; nas faixas etárias de 45–54, 55–64, 65–74, e acima de 74 anos de idade o valores médios foram 1,31, 1,89, 1,99, 1,52, e 1,52 mg/L, respectivamente.

No presente estudo, encontrou-se diferença significativa na concentração de PCRus entre homens e mulheres, de modo global e nas diferentes faixas de risco. Estas diferenças de concentração da PCRus por sexo foram avaliadas em algumas publicações. Em norte americanos a distribuição da PCR entre homens e mulheres foi similar (RIFAI *et al*, 2003). No entanto, em uma coorte alemã, os resultados foram discretamente mais elevados em mulheres do que em homens, o que foi atribuído ao uso do estrogênio (HUTCHINSON *et al*, 2000). No estudo NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*, 1999 a 2000), as concentrações de PCR foram maiores em mulheres do que homens. Adicionalmente, a proporção de mulheres que tiveram uma concentração de PCR maior do que 3 mg/L foi significativamente maior do que em homens. No estudo NHANES III, com 15.489 participantes (1988–1994), PCRus elevada foi associada a níveis alterados de vários fatores (tabagismo, concentração de colesterol

total, HDL, triglicérides, pressão arterial, glicose de jejum e índice de massa corporal) em até 78% dos homens e 67% das mulheres.

Quando comparado com a literatura, o presente estudo encontrou valores médios elevados de PCRus, tanto em mulheres quanto em homens, 3,62 e 3,03 mg/L, respectivamente. O *Women Health Study* (RIDKER *et al*, 1998), relatou valor médio para PCRus de 1.52 mg/L na faixa etária entre 65 e 74 anos. Wu e colaboradores (2002) publicaram um estudo em chineses idosos de 50 a 80 anos empregando a técnica de ELISA, *in house*, em microplaca, que foi comparada ao método nefelométrico. Os resultados médios de PCRus para ambos os sexos foram de 0.43 ± 0.42 mg/L (n =148), sendo o limite superior 3,85 mg/L. No estudo de Helsinque (Helsinki Ageing Study), em 1998, a avaliação da PCR na linha de base e acompanhamento foi descrita em 3 coortes de idosos de 75, 80 e 85 anos (n=455). Os valores médios de PCR dos sobreviventes e não sobreviventes foram 3,16 e 5.22 mg/L ($P=0.017$), respectivamente (STRANDBERG *et* TILVIS, 2000).

Algumas das divergências entre os estudos podem refletir a diferente composição sociodemográfica das amostras e os critérios de inclusão e exclusão para seleção de participantes do estudo. Por outro lado, esta observação pode ter impacto clínico substancial e indica que um único ponto de corte para avaliação de risco de evento coronariano futuro não deve ser aplicado universalmente e mesmo para ambos os sexos. No entanto, na coorte em questão, não foi descartada a possibilidade dos valores médios elevados de PCRus poderem ser secundários a processos inflamatórios subclínicos não relacionados à aterosclerose.

5.2 Sobre o método de ensaio e análise de dados

O método nefelométrico para medida de PCRus, plenamente automatizado, capaz de discriminar baixas concentrações, foi desenvolvido e validado para predição de risco e foi o método de escolha neste estudo (PEARSON *et al*, 2003). Como já observado na literatura, os resultados de PCRus não apresentaram distribuição normal, tendo sido

necessária a transformação logarítmica para adequação dos dados a essa distribuição e permitir a utilização do modelo de análise estatística apresentado.

Na literatura recente existe uma consideração sobre a distribuição log-normal da PCR e a sua relação com o risco que é log-linear. HINGORANI *et. al* (2009) propuserem que esse fato explicaria o achado de indivíduos com valores de PCR próximos a média e a ocorrência de doenças cardiovasculares, causando sobreposição entre casos e controles em estudos prospectivos, o que dificultaria a obtenção de um ponto de corte para separar os dois grupos. Este fenômeno é limitante na associação como valor preditivo de risco também para o colesterol e a pressão arterial.

5.3 PCRus e fatores de risco cardiovascular

A associação da PCRus com marcadores de risco clássicos, como a pressão arterial, colesterol HDL, idade, sexo, diabetes e fumo persiste controversa na literatura, tendo evidências favoráveis (FOLSOM *et al*, 2001; LAWLOR *et al*, 2005; SATTAR, *et al*, 2007) e outras negativas (BLAUTH *et al*, 2008).

Na população de idosos da coorte de Bambuí, a PCRus apresentou ausência de associação positiva entre PCRus aumentada e elevação da glicemia em idosos de ambos os sexos. Este dado foi também obtido nos achados de BLAUTH e colaboradores (2008), que mostrou a ausência de associação entre PCRus e glicemia de jejum em mulheres idosas residentes em Novo Hamburgo-RS. Isso poderia sugerir o efeito direto da PCRus no risco cardiovascular e indicar que a dosagem da PCRus possa ser útil na predição do risco de eventos coronarianos em diabéticos. O dado também contribui para as evidências de que níveis elevados de PCRus em indivíduos de meia idade estão associados de modo independente ao desenvolvimento de diabetes (FREEMAN *et. al*, 2002 , SESSO *et. al*, 2003).

A associação entre PCRus e pressão arterial (LAKOSKI *et al*, 2005; SHEN *et* ORDOVAS, 2009) tem sido também descrita na literatura de modo favorável (BERMUDEZ, 2002, KHERA *et al*, 2006) e desfavorável (KIM *et al*, 2008). O achado da

ausência de associação entre a PCRus e a pressão arterial nas mulheres foi observado também no estudo de BLAUTH e colaboradores. Portanto, neste grupo, sugere-se que a PCR possa ser útil na predição de risco.

O estudo demonstrou a existência de associação entre a PCRus e os fatores IMC e circunferência da cintura, indicadores de obesidade. Estes achados estão de acordo com estudos que relacionam a PCRus com obesidade (RIFAI *et al*, 2004). A patogênese estaria relacionada à produção de interleucina-6 e fator de necrose tumoral pelo tecido adiposo de modo proporcional à massa lipídica do indivíduo, sendo fator importante associado à inflamação crônica de pequena intensidade (YUDKIN *et al*, 1999; TORZEWSKI *et al*, 2000; HEILBRONN *et al*, 2001; PEARSON *et al*, 2003; SESSO *et al*, 2003; MILLER *et al*, 2005; KHERA *et al*, 2006; SCHINDLER *et al*, 2006; SATTAR *et al*, 2007). A associação entre a inflamação e obesidade pode explicar em parte a obesidade relacionada ao aumento do risco de doença cardiovascular. Considerando a idade e os achados do grupo de mulheres idosas de Bambuí, os dados da literatura indicam que o aumento da gordura também influencia o metabolismo do estrogênio na pós-menopausa. Nesta fase, a principal fonte de estrona é a aromatização em tecido adiposo periférico, de modo que as mulheres com mais gordura tendem a ter níveis mais elevados de estrona. Isto é consistente com os achados de uma associação positiva moderada entre estrona sérica e níveis de proteína C-reativa e após ajuste para o índice de massa corporal ou gordura visceral. (BARINAS-MITCHELL *et al*, 2001). Em mulheres pós-menopausa, com uso de hormônios, a medida da gordura corporal total e os níveis de proteína C reativa possuem uma associação positiva (RIDKER *et al*, 1998). Porém, cabe ressaltar que a terapia hormonal não foi incluída nas variáveis deste estudo.

O colesterol total e as frações HDL e LDL se associaram de modo consistente com as faixas de PCRus nas mulheres idosas. RIDKER e colaboradores (2002) compararam os marcadores LDL e PCRus em 27.939 mulheres americanas aparentemente saudáveis, que foram seguidos por uma média de oito anos para a ocorrência de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral isquêmico, revascularização coronária ou morte por causas cardiovasculares e concluíram que a PCRus era um marcador preditivo mais forte do que o colesterol LDL e adicionava informação prognostica ao escore de *Framingham*. De todos os eventos ocorridos entre

as mulheres, 77% foram com níveis de colesterol LDL abaixo de 160 mg/dL (4,14 mmol/L) e 46% ocorreram entre aqueles com níveis de colesterol LDL abaixo de 130 mg/dL (3,36 mmol/L). Por outro lado, como a PCRus e o colesterol LDL tendem a identificar diferentes grupos de alto risco, a triagem para os dois marcadores biológicos proporcionou melhor prognóstico do que a seleção de informações para qualquer um sozinho. Neste caso, a PCR foi considerada um fator independente na análise ajustada para todos os componentes do escore de risco de *Framingham*, o que não foi confirmado no presente estudo.

Os resultados de triglicérides nos idosos da população de Bambuí se associaram positivamente com as faixas de PCRus, conforme observado na literatura (RIFAI *et al*, 2004).

Cabe ressaltar que metade de todos os eventos cardíacos não podem ser diretamente explicados pelos fatores de risco estabelecidos, inclusive muitos desses ocorrem em pessoas com valores de lipídeos normais ou baixos, por isso, a busca por um marcador adicional que possa trazer maior contribuição (HINGORANI *et al*, 2009). Nos homens idosos da coorte não se encontrou associação com o colesterol total e LDL, apenas com o colesterol HDL de modo inverso. Este aspecto é interessante do ponto de vista de clínico, embora a natureza do estudo não possa identificar a PCRus como fator de risco independente nesse grupo.

Na coorte de homens idosos de Bambuí foi observada a associação de PCRus e tabagismo. Nas mulheres essa associação não foi encontrada. A associação entre tabagismo e concentrações elevadas de PCRus e outros marcadores de inflamação foi demonstrada de modo significativo em estudos comparando os grupos de fumantes e não fumantes. Dados do estudo NHANES III, mostraram que, após os ajustes para fatores de risco cardiovasculares clássicos, o fumo estava associado a níveis elevados de fibrinogênio, dose dependente e com relação temporal (BAKHURU *et al*, 2005). O limitante de uma análise mais detalhada da divergência entre PCR e tabagismo no grupo das mulheres idosas é o reduzido número de mulheres tabagistas (n=80). Também não foi considerado o tempo de adesão ao tabagismo que é uma variável investigada na literatura (VAN DER MEER *et al*, 2003).

Na avaliação dos idosos de Bambuí os níveis de PCR associaram-se positivamente a atividade física reduzida (prática inferior a 3 vezes por semana). O papel favorável do estilo de vida com atividade física sobre os níveis de PCRus está bem estabelecido na literatura (KASAPIS *et THOMPSON*, 2005). Vários estudos revelam redução da PCRus com a prática da atividade física regular (SHINE *et al*, 1981; FORD, 2002; MCFARLIN *et al*, 2006; STORK *et al*, 2006). Postula-se que a atividade física tenha efeito redutor sobre citocinas pró-aterogênicas do tecido adiposo, metabolismo da insulina e função do endotélio, além de redução da hipóxia tecidual e alteração da função imune (FLYNN, 2007).

5.3 PCRus e escore de risco de Framingham

A análise da distribuição global da população de idosos de Bambuí quanto ao escore de *Framingham*, mostrou que mais de 94% dos homens e 63,8% de mulheres idosas apresentam risco de evento cardíaco coronariano em 10 anos acima de 10% (alto risco). Neste aspecto em particular, a determinação da PCRus na linha de base do estudo de Bambuí parece acrescentar pouco à avaliação do risco que usa o escore de *Framingham*, exceto em alguns subgrupos de indivíduos. Este achado pode ser explicado pela associação da PCRus com muitas variáveis deste estudo que já contribuem para o modelo de risco de *Framingham*.

Os subgrupos de potencial interesse para intervenção clínica seriam os homens com escore de risco entre 5-19% e mulheres entre 5-9% (baixo risco).

Do ponto de vista clínico, estudos que relatam a característica dos testes para PCRus correlacionando com algoritmos tradicionais, como os escores de risco de *Framingham* podem trazer uma nova perspectiva para algumas categorias de risco com impacto na predição (PENCINA *et al*, 2008). Nestes estudos os indivíduos classificados em baixo e alto risco podem migrar para o risco intermediário na reclassificação, quando se inclui a dosagem de PCRus (WOLFGANG *et KHUSEYINOVA*, 2007). No estudo prospectivo MONICA (*MONItoring of trends and determinants in CArdiovascular disease*),

os pacientes categorizados como risco intermediário de *Framingham*, mas que apresentavam proteína C reativa elevada, tiveram mais eventos cardiovasculares do que os pacientes classificados como de alto risco, mas com PCR inferior a 1,0 mg/L (KOENIG *et al*, 1999, KOENIG *et al*, 2004).

Não foi propósito do presente trabalho avaliar a PCRus com objetivo de reclassificação do risco. Contudo, em cinco estudos publicados que avaliaram o efeito da adição da PCRus ao modelo de *Framingham* não se observou melhoria na predição do risco. Adiciona-se também o efeito de perda de alguma informação na conversão de escore de risco contínuo em distribuição por categorias (COOK *et al*, 2006; FOLSOM *et al*, 2006; ERBEL *et al*, 2008; WILSON *et al*, 2008; HINGORANI *et al*, 2009).

6. CONCLUSÃO

1. A distribuição da PCRus na população foi log-normal, sendo que os valores foram significativamente mais elevados nas mulheres do que nos homens em todas as faixas de distribuição.
2. Após a exclusão dos valores de PCRus maiores ou iguais a 10mg/L, os resultados médios para ambos os sexos foram maiores do que 3,0 mg/L ($3,39 \pm 2,56$ mg/L) sendo superiores aos valores médios relatados para outros grupos populacionais.

Existem diferenças na distribuição das concentrações de PCRus de acordo com sexo e grupos populacionais. Novos estudos são necessários para determinar o impacto dessa diferença na avaliação de predição de risco cardiovascular e se os pontos de corte atualmente definidos para avaliação de risco podem ser utilizados de modo independente do sexo e raça.

3. A idade no grupo de mulheres idosas se associou inversamente com a PCRus; quanto maior a idade média, menores foram os valores médios. Esse achado não foi observado nos homens.
4. Em homens idosos, o aumento de triglicérides, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, índice de massa corporal, circunferência da cintura, tabagismo e a redução do colesterol HDL associaram-se ao aumento da PCRus.
5. Em mulheres, o aumento de colesterol total, colesterol LDL, triglicérides, IMC e medida da cintura e a redução colesterol HDL associaram-se ao aumento da PCRus.
6. A concentração da PCRus associa-se a muitos fatores de risco o que limita a sua utilização como preditor independente do risco de evento cardiovascular.

7. Identificaram-se alguns subgrupos de idosos de potencial interesse para utilização da PCRus na avaliação do risco coronariano: os homens com escore de risco entre 5-19% e mulheres entre 5-9% (baixo risco), notadamente os homens, com valores normais de lipídeos, as mulheres hipertensas e diabéticos de ambos os sexos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A medida da PCRus no painel de variáveis fornece informação adicional à avaliação do risco que usa o score de *Framingham* especialmente em alguns subgrupos de indivíduos desta coorte, em que não apresentou associação positiva. Avaliar a aplicação diferenciada por sexo em várias populações e faixas etárias agrega o benefício de considerar uma estimativa de risco mais ajustada.

A inclusão da PCRus na linha de base do Projeto Bambuí permitirá futuras análises que poderão confirmar ou não os resultados obtidos no presente estudo através da avaliação longitudinal dessa coorte com acompanhamento dos desfechos. Adicionalmente, a investigação de fatores genéticos e ambientais pode trazer novos conhecimentos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ABERNATHY T, AVERY O. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood .I. Distribution of the reactive protein not normally present in patients serum and the effect of calcium on the flocculation reaction with C polysaccharide of Pneumococcus. **J. Exp. Med.**, v. 73, p. 173-182, 1941.
- 2 ASSMANN G, CULLEN P, SCHULTE H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) Study. **Circulation**, v.105, p. 310-315, 2002.
- 3 BAKHRU A, ERLINGER TP. Smoking cessation and cardiovascular disease risk factors: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Plos. Med.**, v.2, p. 160, 2005.
- 4 BALTZ ML, DE BEER FC, FEINSTEIN A, et al. Phylogenetic aspects of C-reactive protein and related proteins. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 389, p. 49-75, 1982.
- 5 BARINAS-MITCHELL E, CUSHMAN M, MEILAHN EN, et al. 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.
- 6 BARRETO SM, PASSOS VMA, FIRMO JOA, et al. Hypertension and Clustering of Cardiovascular Risk Factors in a Community in Southeast Brazil - The Bambuí Health and Ageing Study. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 77, p. 576-581, 2001.
- 7 BERK BC, WEINTRAUB WS, ALEXANDER RW. Elevation of C-reactive protein in "active" coronary artery disease. **Am. J. Cardiol.**, v. 65, p. 168-172, 1990.
- 8 BERMUDEZ, EA.,RIFAI N,BURING J et al. Interrelationships among circulating interleukin-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 22, p. 1668-1673, 2002.
- 9 BLASCHKE F, BRUEMMER D, YIN F et al. Apoptosis in human coronary vascular smooth al. C-reactive protein induces muscle cells. **Circulation**, v. 110, p. 579–587, 2004.

- 10 BLAUTH F., LARA GM, WAGNER SC et al. Association between cardiovascular risk factors and C-reactive protein in aged women. **J. Bras. Patol. Med. Lab**, v. 44, p. 83-88, 2008.
- 11 CHENILLOT O, HENNY J, STEINMETZ J et al. High sensitivity C-reactive protein: biological variations and reference limits. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v. 38, p. 1003–1011, 2000.
- 12 CLARK GH, FRASER CG. Biological variation of acute phase proteins. **Ann. Clin. Biochem.**, v. 30, p.373-376, 1993.
- 13 CONROY RM, PYORALA K, FITZGERALD AP et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. **Eur. Heart. J.**, v.24, p. 987–1003, 2003.
- 14 COOK NR, BURING JE, RIDKER PM. The effect of including C-reactive protein in cardiovascular risk prediction models for women. **Ann. Intern. Med.**, v.145, p. 21–29, 2006.
- 15 D'AGOSTINO S, RALPH B., GRUNDY S. et al. Validation of the Framingham Coronary Heart Disease Prediction Scores. Results of a Multiple Ethnic Groups Investigation. **JAMA**, v.286, p.180-187, 2001.
- 16 DANESH J, WHEELER JG, HIRSCHFIELD GM et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. **N. Engl. J. Med.**, v.350, p.1387-1397, 2004.
- 17 DANESH J, WHINCUP P, WALKER M et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. **BMJ**, v.321, p.199–204, 2000
- 18 DE BEER FC, FOX KM, ALLAN RM et al. Measurement of serum C-reactive protein concentration in myocardial infarction and inflammation. **Br. Heart. J.**, v 47, p.239–243, 1982.
- 19 DEVARAJ S, SINGH U, JIALAL I. The Evolving Role of C-Reactive Protein in Atherothrombosis. **Clin. Chem.**, v.55, p. 2229–2238, 2009.

- 20 ERBEL R, MOHLENKAMP S, LEHMANN N et al. Sex related cardiovascular risk stratification based on quantification of atherosclerosis and inflammation. **Atherosclerosis**, v.197, p.662-672, 2008.
- 21 ERLANDSEN EJ, RANDERS E. Reference interval of serum C-reactive protein in healthy blood donors using the Dade Behring N Latex CRP mono assay. **Scand. J. Clin. Lab. Invest**; v.60, p. 37–44, 2000.
- 22 FEINSTEIN A, PEPYS MB. Low density lipoprotein and very low density lipoprotein are selectively bound by aggregated C-reactive protein. **J. Exp. Med.**, v.156, p. 230-242, 1982.
- 23 FLYNN, MG. The anti-inflammatory actions of exercise training. **Am. J. Lifestyle Med.**, v.1, p.220–235, 2007.
- 24 FOLSOM AR, CHAMBLESS LE, BALLANTYNE CM et al. An assessment of incremental coronary risk prediction using C-reactive protein and other novel risk markers: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. **Arch. Intern. Med.**, v.166, p.1368 –1373, 2006.
- 25 FOLSOM AR, PANKOW JS, TRACY RP et al. Association of C-reactive protein with markers of prevalent atherosclerotic disease. **Am. J. Cardiol.**, v.88, p.112–117, 2001.
- 26 FORD ES. Does exercise reduce inflammation? Physical activity and C-reactive protein among U.S. adults. **Epidemiology**, v.13, p.561–568, 2002.
- 27 FREEMAN DJ, NORRIE J, CASLAKE MJ et al. C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. **Diabetes**, v.51, p.1596–1600, 2002.
- 28 GABAY C, KUSHNER I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **N. Engl. J. Med.**, v.340, p.448–454, 1999.
- 29 HANSSON GK, LIBBY P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. **Nat. Rev. Immunol.**, v.6, p. 508-519, 2006.
- 30 HAVERKATE F, THOMPSON SG, PYKE SD et al. 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. 462–466, 1997.

- 31 HEILBRONN, LK, NOAKES, M, CLIFTON PM et al. Energy restriction and weight loss on very-low-fat diets reduce C-reactive protein concentrations in obese, healthy women. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 21, p. 968-970, 2001.
- 32 HERBERTH B, SIEST G, HENNY J. High-sensitivity C-reactive protein (CRP) reference intervals in the elderly. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v.11, p. 1169-1170, 2001.
- 33 HINGORANI AD., SHAH T, CASAS J P et al. C-Reactive Protein and Coronary Heart Disease: Predictive Test or Therapeutic Target? **Clin. Chem.**, v.55, p. 2239–2255, 2009.
- 34 HIPPISEY-COX J, COUPLAND C, VINOGRADOVA Y et Al. Derivation and validation of QRISK, a new cardiovascular disease risk score for the United Kingdom: prospective open cohort study. **BMJ**, v.335, p.136, 2007
- 35 HUTCHINSON WL, KOENIG W, FRÖHLICH M et Al. Immunoradiometric assay of circulating C-reactive protein: age-related values in the adult general population. **Clin. Chem.**, v.46, p.934–938, 2000.
- 36 HUTCHINSON WL, NOBLE GE, HAWKINS PN et al. The pentraxins, C-reactive protein and serum amyloid P component, are cleared and catabolized by hepatocytes in vivo. **J. Clin. Invest.**, v.94, p.1390–1396, 1994.
- 37 ITO T, IKEDA U. Inflammatory cytokines and cardiovascular disease **Atherosclerosis**, v.162, p.217-219, 2002.
- 38 KASAPIS C, THOMPSON PD. The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers: a systematic review. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v.45, p.1563–1569, 2005.
- 39 KHERA, A et al. Relationship between C-reactive protein and subclinical atherosclerosis – The Dallas Heart Study. **Circulation**, v. 113, p. 38-43, 2006.
- 40 KIM, KI et al. Association between blood pressure variability and inflammatory marker in hypertensive patients. **Circulation**, v. 72, p. 293-8, 2008.

- 41 KLUFT C, DE MAAT MP. Genetics of C-reactive protein: new possibilities and complications. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.23, p. 1956-1959, 2003.
- 42 KOENIG W, LOWEL H, BAUMERT J et al. C-reactive protein modulates risk prediction based on the Framingham Score: implications for future risk assessment: results from a large cohort study in southern Germany. **Circulation**, v.109, p.1349-1353, 2004.
- 43 KOENIG W, SUND M, FROHLICH M, FISCHER HG 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**, v.99, p.237-242, 1999.
- 44 KROOP I, SHACKMAN N. Levels of C-reactive protein as a measure of acute myocardial infarction. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.86, p.95–97, 1954.
- 45 KUSHNER I, RZEWNICKI D, SAMOLS D. What does minor elevation of C-reactive protein signify? **Am. J. Med.**, v.119, p. 7–28, 2006.
- 46 LAKOSKI SG, CUSHMAN M, PALMAS W et al. The relationship between blood pressure and C-reactive protein in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis(MESA). **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 46, p.1869-1874, 2005.
- 47 LAWLOR DA, DAVEY SMITH G, RUMLEY A et al. Associations of fibrinogen and C-reactive protein with prevalent and incident coronary heart disease are attenuated by adjustment for confounding factors. British Women's Heart and Health Study. **Thromb. Haemost.**, v.93, p.955-963, 2005.
- 48 LEDUE TB, RIFAI N. Preanalytic and Analytic Sources of Variations in C-reactive Protein Measurement: Implications for Cardiovascular Disease Risk Assessment. **Clin. Chem.**, v.49, p.1258–1271, 2003.
- 49 LEDUE TB, WEINER DL, SIPE J et al. Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A, and mannose binding protein in human serum. **Ann. Clin. Biochem.**, v.35, p.745-753, 1998.
- 50 LIMA-COSTA MF, UCHÔA E, GUERRA HL et. al. The Bambuí health and ageing study (BHAS): methodological approach and preliminary results of a population-

based cohort study of the elderly in Brazil **Rev. Saúde Pública**, v.34, p. 126-135, 2000.

- 51 LIMA-COSTA, MF BARRETO SM, GUERRA HL et al. Ageing with Trypanosoma cruzi infection in a community where the transmission has been interrupted: the Bambuí Health and Ageing Study (BHAS). **Int. J. Epidemiol.**, v.30, p. 887-893, 2001.
- 52 LIU J, HONG Y, D'AGOSTINO RB. SR et al Predictive Value for the Chinese Population of the Framingham CHD Risk Assessment Tool Compared With the Chinese Multi-Provincial Cohort Study. **JAMA**, v. 291, p. 2591-2599, 2004.
- 53 LIUZZO G, BIASUCCI LM, GALLIMORE JR et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. **N. Engl. J. Med.**, v.331, p.417-424, 1994.
- 54 LOFSTROM G. Nonspecific capsular swelling in pneumococci: a serologic and clinical study. **Acta Med. Scand. Suppl.**, v.141, p.93-98, 1943.
- 55 MACLEOD C, AVERY O. The occurrence during acute infections of a protein blood. II. Isolation and properties of the reactive not normally present in the protein. **J. Exp. Med.**, v.3, p.183:190, 1941.
- 56 MACY EM, HAYES TE, TRACY RP. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. **Clin. Chem.**, v.43, p.52-58, 1997.
- 57 MCCARTY M. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. IV. Crystallization of the C-reactive protein. **J. Exp. Med**, v.85, p.491-498, 1947.
- 58 MCFARLIN BK, FLYNN MG, CAMPBELL WW et al. Physical activity status, but not age, influences inflammatory biomarkers and toll-like receptor 4. **J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.**, v.61, p.388-393, 2006.
- 59 MILLER, M.; ZHAN, M.; HAVAS, S. High attributable risk of elevated C-reactive protein level to conventional coronary heart disease risk factors: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Arch. Intern. Med.**, v. 165, p. 2063-8, 2005.

- 60 NATIONAL ACADEMY OF CLINICAL BIOCHEMISTRY. Laboratory Medicine Practice Guidelines Emerging Biomarkers for Primary Prevention of Cardiovascular Disease. **Clin. Chem.**, v. 55, p. 378–384, 2009.
- 61 NAGAOKA T, KUO L, REN Y et al. C-reactive protein inhibits endothelium-dependent nitric oxide-mediated dilation of retinal arterioles via enhanced superoxide production. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v.49, p.2053-2060, 2008.
- 62 PAI JK, PISCHON T, MANSON JE et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. **N. Engl. J. Med.**, v.351, p.2599–2610, 2004.
- 63 PANKOW JS, FOLSOM AR, CUSHMAN M et al. Familial and genetic determinants of systemic markers of inflammation: the NHLBI family heart study. **Atherosclerosis**, v.154, p.681–689, 2001.
- 64 PEARSON TA., MENSAH GA., ALEXANDER RW 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**, v. 107, p. 499-511, 2003.
- 65 PENCINA MJ, D'AGOSTINO RB SR, D'AGOSTINO RB JR et al. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. **Stat. Med.**, v.27, p.157–172, 2008.
- 66 PEPYS MB, DASH AC, FLETCHER TC et al. Analogues in other mammals and in fish of human plasma proteins, C-reactive protein and amyloid P component. **Nature (Lond)**, v.273, p.168 –170, 1978.
- 67 PEPYS MB, ROWE IF, BALTZ ML. C-reactive protein: binding to lipids and lipoproteins. **Int. Rev. Exp. Pathol.**, v.7, p.83–111, 1985.
- 68 PEPYS, MB, HIRSCHFELD, GM. C-reactive protein: a critical update **J. Clin. Invest.** v.111, p.1805–1812, 2003.
- 69 PETITCLERC C, SOLBERG HE. Approved recommendation in theory of reference values (1987). Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. **J. Clin. Chem. Clin. Biochem.**, v.25, p.639–644, 1987.

- 70 RIDKER PM. C-Reactive Protein: Eighty Years from Discovery to Emergence as a Major Risk Marker for Cardiovascular Disease. **Clin. Chem.**, v.55, p.2209–2215, 2009.
- 71 RIDKER PM, BURING JE, SHIH J et al. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. **Circulation**, v.98, p.731–733, 1998.
- 72 RIDKER PM, HENNEKENS CH, BURING JE et al. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of Cardiovascular disease in women. **N. Engl. J. Med.** v.342, p.836–843, 2000.
- 73 RIDKER PM, RIFAI N, ROSE L et al. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. **N Engl J Med**, v.347, p.1557– 1565, 2002.
- 74 RIFAI N RIDKER M. High-Sensitivity C-Reactive Protein: A Novel and Promising Marker of Coronary Heart Disease **Clin Chem**, v.47, p. 3403–3411, 2001.
- 75 RIFAI N, RIDKER PM. Population distributions of C-reactive protein in apparently healthy men and women in the United States: implication for clinical interpretation. **Clin. Chem**, v.49, p.666-669, 2003.
- 76 RIFAI N, TRACY RP, RIDKER PM. Clinical Efficacy of an Automated High-Sensitivity C-Reactive Protein Assay **Clin. Chem.**, 45, p.2136–2141, 1999.
- 77 ROBERTS WL, MOULTON L, LAW TC et al. Evaluation of Nine Automated High-Sensitivity C-Reactive Protein Methods: Implications for Clinical and Epidemiological Applications. **Clin. Chem.**, v.47, p. 3418–3425, 2001.
- 78 ROSS R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. **N. Engl. J. Med.**, v.340, p.115–126, 1999.
- 79 SATTAR N, MURRAY HM, MCCONNACHIE A et al. C-reactive protein and prediction of coronary heart disease and global vascular events in the Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk(PROSPER). **Circulation**, v.115, p.981–989, 2007.

- 80 SCHINDLER TH, CARDENAS J, PRIOR JO et al. Relationship between increasing body weight, insulin resistance, inflammation, adipocytokine leptin, and coronary circulatory function. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v.47, p.1188-1195, 2006.
- 81 SESSO HD, BURING JE, RIFAI N et al. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. **JAMA**, v.290, p.2945–2951, 2003.
- 82 SHEN J, ORDOVAS JM- Impact of Genetic and Environmental Factors on hs-CRP Concentrations and Response to Therapeutic Agents. **Clin. Chem.**, v. 55, p. 261, 2009.
- 83 SHINE B, DE BEER FC, PEPYS MB. Solid phase radioimmunoassays for C-reactive protein. **Clin. Chim. Acta.**, v.117, p.13–23, 1981.
- 84 SMITH GD, LAWLOR DA.; HARBOR R et al. Association of C-reactive protein with blood pressure and hypertension. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 25, p. 1051-1056, 2005.
- 85 STATA STATISTICAL SOFTWARE (Computer Program). Release 5.0. College Station. TX: Stata Corporation, 1997.
- 86 STORK S, FEELDERS RA, VAN DEN BELD AW et al. Prediction of mortality risk in the elderly. **Am. J. Med.**, v.119, p.519 -525, 2006.
- 87 STRANDBERG TE, TILVIS RS. C-reactive protein, cardiovascular risk factors, and mortality in a prospective study in the elderly. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 20, p. 1057–1060, 2000.
- 88 SZALAI AJ, MCCRORY MA, COOPER GS et al. Association between baseline levels of C-reactive protein (CRP) and a dinucleotide repeat polymorphism in the intron of the CRP gene. **Genes Immun.**, v.3, p. 14-19, 2002.
- 89 TORZEWSKI M, BOWYER DE, FROHLICH M C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor dependent monocyte recruitment in atherosclerosis. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.20, p.2094–2099, 2000.
- 90 VAN DER MEER I, DE MAAT MP, KILIAAN AJ et al. The value of C-reactive protein in cardiovascular risk prediction: the Rotterdam Study. **Arch. Intern. Med**, v.163, p.1323–1328, 2003.

- 91 VENUGOPAL SK ,DEVARAJ S, YUHANNA I et al. C-reactive protein decreases prostacyclin release from human aortic endothelial cells. **Circulation**, v.108, p.1676–1678, 2003.
- 92 VERMA S, LI SH, BADIWALA MV, et al. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. **Circulation**, v.106, p.913–919, 2002.
- 93 VERMA S, BADIWALA MV, WEISEL RD, et al. C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation and function: further evidence of a mechanistic link between CRP and cardiovascular disease. **Circulation**, v. 109, p. 2058–2067, 2004.
- 94 VERMA S, SZMITKO PE, RIDKER PM C-reactive protein comes of age. *Nature*, v. 2, p. 29-36, 2004
- 95 VERMA S, LI SH, BADIWALA MV et al. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein. **Circulation**, v.105, p.1890–1896, 2002.
- 96 VIGUSHIN DM, PEPYS MB, HAWKINS PN. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. **J. Clin. Invest.** , v. 91, p.1351–1357, 1993.
- 97 VOLANAKIS JE, KAPLAN MH. Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.136, p.612-614, 1971.
- 98 VOLANAKIS JE, WIRTZ KW. Interaction of C-reactive protein with artificial phosphatidylcholine bilayers. **Nature (Lond)**, v. 281, p.155–157, 1979.
- 99 WANG CH; LI SH, WEISEL RD et al. Reactive Protein Upregulates Angiotensin Type 1 Receptors in Vascular Smooth Muscle **Circulation**, v.107, p.1783-1790, 2003.
- 100 WIENER MH, DAUM PR, MCQUILLAN GM. The influence of age, sex and race on the upper reference limit of serum C-reactive protein concentration. **J. Rheumatol.**, v.27, p.2351–2359, 2000.

- 101 WILKINS J, GALLIMORE JR, MOORE EG et al. Rapid automated high sensitivity enzyme immunoassay of C-reactive protein. **Clin. Chem.**, v.44, p. 1358–1361, 1998.
- 102 WILSON PWF, D'AGOSTINO RB, LEVY D et al. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. **Circulation**, v.97, p.1837– 1847, 1998.
- 103 WILSON PWF, NAM BH, PENCINA M et al. C-reactive protein and risk of cardiovascular disease in men and women from the Framingham Heart Study. **Arch. Intern. Med.**, v.165, p.2473–2478, 2005.
- 104 WILSON PWF, PENCINA M, JACQUES P et al. C-reactive protein and reclassification of cardiovascular risk in the Framingham Heart Study. **Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes**, v.1, p.92–97, 2008.
- 105 WOLFGANG K., KHUSEYINOVA N. Biomarkers of Atherosclerotic Plaque Instability and Rupture **Cardiovascular Pathology**, v.16, p.14-22, 2007.
- 106 YUDKIN JS, STEHOUWER CDA.; EMEIS JJ et al. 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.**, v. 19, p. 972-978, 1999.

Anexo

Short Communication

High Sensitivity C-Reactive Protein (CRP) Distribution in Brazilian Elderly: The Bambuí Cohort Study, Brazil

Assunção LGS¹, Santos SME^{1,2}, Peixoto SV^{4,5}, Lima-Costa MF^{3,5}, Vidigal PG^{1,2}

1. Pathology Post graduate Program, School of Medicine, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil
2. Department of Laboratory Medicine, School of Medicine, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil
3. Department of Preventive and Social Medicine, School of Medicine, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil.
4. School of Nutrition, Federal University of Ouro Preto, Ouro Preto, Brazil.
5. René Rachou Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Belo Horizonte, Brazil

Corresponding author:

Pedro Guatimosim Vidigal, MD, MSc.

School of Medicine, Federal University of Minas Gerais (UFMG)

Av. Prof. Alfredo Balena, 190, Room 403, Santa Efigênia

CEP: 301030-100. Belo Horizonte, MG. Brazil.

Tel: +55 31 3409-9774.

Fax: +55 31 3409-9782

E-mail: pedrovidigal@ufmg.br

Conflict of interest declaration:

The authors certify that they have no affiliation with or financial involvement in any organization or entity with a direct financial interest in the subject matter or materials discussed in this manuscript.

Numbers: words: 643; Figures: 1; Tables: 1; References: 11.

Abstract

Measurement of the serum concentration of the acute-phase reactant C-reactive protein (CRP) provides an useful marker in clinical practice, however CRP distribution are not

available for all age and ethnical groups. This study assessed high sensitivity-CRP (hs-CRP) distribution by gender in elderly people from a Brazilian community. In our sample population, we observed for both gender up to 50% of results above 3.0mg/L. Women were found to have higher hs-CRP mean levels (3.62 ± 2.58 mg/L) than men (3.39 ± 2.56 mg/L) ($p < 0.001$). Our results indicated that significant gender differences exist in the population distribution of CRP, and it is possible that gender specific cut points for hs-CRP would be necessary for cardiovascular risk prediction.

Keywords: Brazil; C-reactive protein; elderly; epidemiology; laboratory; cardiovascular risk.

Introduction

Epidemiological surveys that estimate the prevalence of diseases and risk factors contribute to the general and particular analysis of the population studied. Several studies have shown that high sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP) is of interest in predicting the risk of future cardiovascular disease (**ERRO! FONTE DE REFERÊNCIA NÃO ENCONTRADA.,ERRO! FONTE DE REFERÊNCIA NÃO ENCONTRADA.**). Determination of distribution of hs-CRP in elderly people is also of interest for the clinician in screening for inflammatory diseases and monitoring response to therapy. Beside the available data indicate that gender- or ethnic-specific cutpoints for hs-CRP are not needed for coronary heart disease risk prediction, this question requires further study using data from cohorts (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**). Additionally, there are few data regarding hs-PCR values for the oldest population. We used data from the baseline of the Bambuí Cohort Study, Brazil (6) to evaluate hs-CRP distribution in elderly people from a Brazilian community.

Materials and Methods

The baseline survey of the cohort study comprised 1,606 (92% from the total) residents in Bambuí City (Minas Gerais, Brazil) aged 60 years and over (6). From these, 1,470 had the hs-CRP measured and were selected for this study. Blood samples were collected after

12 hours recommended fast and serum samples were stored at -70°C . Measurements were taken by the CRP immunonephelometric method, Dade-Behring N Latex CRP particle-enhanced immunoassay on an automatic nephelometer (BNII™, Dade Behring, Marburg, Germany) traceable to the international reference standard CRM 470 (2). Pre-analytical factors related to blood collection were described previously (5,9). The distribution was assessed by gender for all measured hs-CRP values. The analysis was carried out after excluding subjects with hs-CRP levels >10 mg/L, by using a non-parametric method with Stata software (2).

Results

From those selected, 188 individuals had PCR values equal or higher than 10 mg/L, and were excluded from the analysis. Thus, the study population consisted of 1,286 subjects (501 men, 785 women). The mean age (standard deviation) was 69.1 (7.2) years; 68.7 (7.2) for men and 69.2 (7.3) for women ($p=0.213$). Women were found to have higher CRP mean levels (3.62 ± 2.58 mg/L) than men (3.39 ± 2.56 mg/L) ($p<0.001$). The frequency distribution of hs-CRP is presented in Figure 1 and the reference limits for hs-CRP concentration by gender are presented in Table 1.

Discussion

This is the first population-based study to describe CRP values in Latin American elderly. Herberth *et al* (8), in France, Europe, used similar criteria to the present study and excluded CRP values above 20 mg/dL. We addressed our cutpoint in 10mg/L in according to literature guidelines indicating limits for persistently or unexplained marked elevation of hs-CRP (1) Comparing data, the present results are higher, taking into account both gender. This means that at second quartile, hs-Crp values are similar to those of the European study at third quartile. As the distribution of hs-CRP does not follow a symmetric bell-shaped curve, the values of the studied population were divided into four equal-sized

groups (quartiles). This log-Gaussian distribution is comparable those observed in other younger and elderly populations (8).

Women were found to have higher hs-CRP levels than men in each quartile distribution. These results are in accord to those from Hutchinson *et al* (9) in the general adult populations from Augsburg, Germany, and Glasgow, Scotland and the results obtained by Wener *et al* (10) who showed a large difference between the two genders. Otherwise, they contrast with those obtained by Herberth *et al* (8), who excluded those on hormone replacement therapy. Other authors have not observed significant gender differences (4, 11). The literature attributes the higher values in women, probably related to hormone replacement. The women in our cohort were not undergoing hormone therapy and a possible association with weight and BMI occurred for both genders(data not show).

Conclusion

This study indicates that significant gender differences exist in the population distribution of CRP. Further research is needed to determine whether these differences in CRP levels contribute to differences in cardiovascular outcomes, and if new set of cut points based in gender or ethnicity should be used clinically in assessing the risk of future cardiovascular events.

References

1. Petittclerc C, Solberg HE. Approved recommendation in theory of reference values (1987). Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25:639–44.
2. Stata Statistical Software (Computer Program). Release 5.0. College Station. TX: Stata corporation; 1997.
3. Macy EM, Hayes TE, Tracy RP. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem* 1997; 43:52–8.

4. Erlandsen EJ, Randers E. Reference interval of serum C-reactive protein in healthy blood donors using the Dade Behring N Latex CRP mono assay. *Scand J Clin Lab Invest* 2000; 60:37–44.
5. Chenillot O, Henny J, Steinmetz J, Herbeth B, Wagner C, Siest G. High sensitivity C-reactive protein: biological variations and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38:1003–11.
6. Lima-Costa MF, Uchôa E, Guerra HL, Firmo JOA, Vidigal PG, Barreto SM. The Bambui Health and Ageing Study(BHAS). Methodological approach and preliminary results of a population-based cohort study of the elderly in Brazil. *Rev Saúde Pública*, 2000; 34:126-135.
7. Werner MH, Daum PR, McQuillan GM. The influence of age, sex and race on the upper reference limit of serum C-reactive protein concentration. *J Rheumatol* 2000; 27:2351–9.
8. Herberth B, Siest G, Henny J. High-sensitivity C-reactive protein (CRP) reference intervals in the elderly. *Clin Chem Lab Med* 2001;11: 1169-1170.
9. Ledue Tb, Rifai N. Preanalytic and Analytic Sources of Variations in C-reactive Protein Measurement: Implications for Cardiovascular Disease Risk Assessment. *Clin Chem*, 2003, 49:81258–1271.
10. Wood WG, Lüdemann J, Mitusch R, Heinrich J, Maass R, Frick U. Evaluation of a sensitive immunoluminometric assay for the determination of C-reactive protein (CRP) in serum and plasma and the establishment of reference ranges for different groups of subjects. *Clin Lab* 2000; 46:131–40.
11. Hutchinson WL, Koenig W, Fröhlich M, Sund M, Lowe GDO, Pepys MB. Immunoradiometric assay of circulating C-reactive protein: age-related values in the adult general population. *Clin Chem* 2000; 46:934–8.

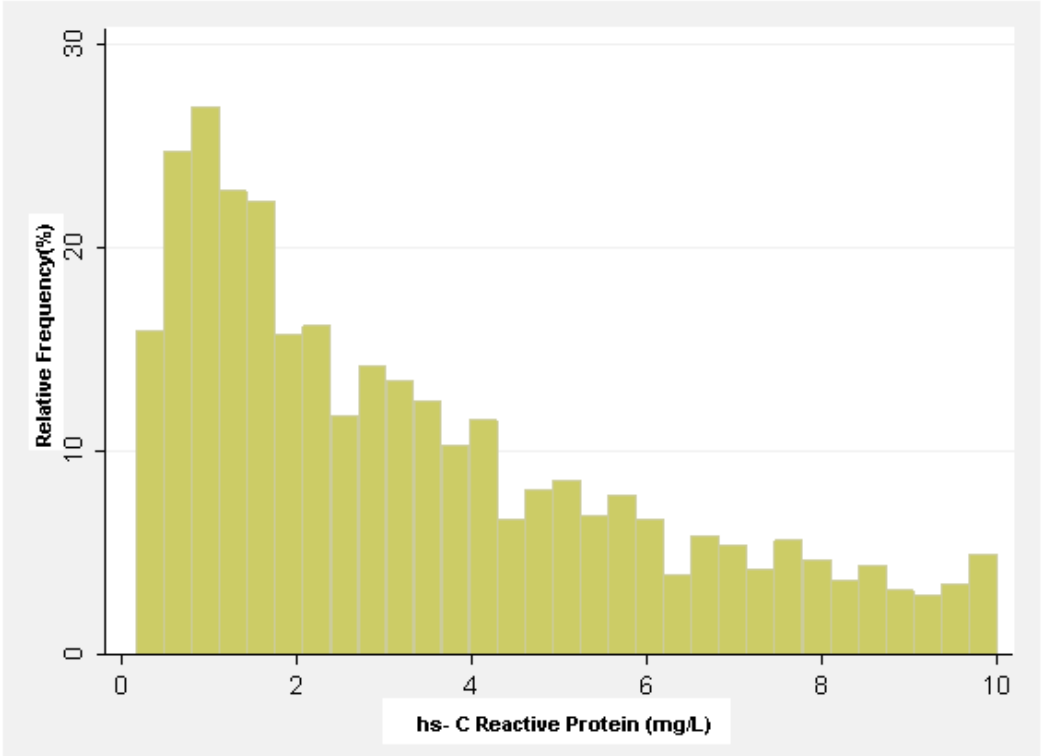


Figure 1 - hs-CRP values distribution in a population of Brazilian older adults (The Bambuí Cohort Study, Brazil)

Table 1 - hs-CRP reference limits (mg/L) in a population of Brazilian older adults
(The Bambuí Cohort Study, Brazil)

Quartis	Males (N=501)	Females (N= 785)	Total (N=1286)
Quartil 25%	0,17 – 1,01	0,16 – 1,48	0,16 – 1,26
Quartil 50%	1,01 – 2,22	1,48 – 2,98	1,26 – 2,73
Quartil 75%	2,22 – 4,33	2,98 – 5,35	2,73 – 5,04
Quartil 99%	4,33 – 10,0	5,35 – 10,0	5,04 -10,0
Mean(SD)	3,03 (2,50)	3,62 (2,58)	3,39 (2,56)

SD: Standard Deviation. N: number of subjects