CORRELACIÓN ENTRE NIVELES SÉRICOS DE PCR ULTRASENSIBLE Y RIESGO CARDIOVASCULAR EN UNA COHORTE DE MUJERES ADULTAS

Dr. Javier Alonso Galvis Chacón
Dra. Carmen Cecilia Gómez Flórez
Dra. Yadira Sepúlveda

UNIVERSIDAD DEL ROSARIO
FACULTAD DE MEDICINA
FUNDACION CARDIOINFANTIL
Bogotá Julio 2009

HOJA DE IDENTIFICACIÓN

Universidad: Colegio Mayor Universidad del Rosario

Título de la investigación: Correlación entre niveles séricos de PCR ultrasensible y riesgo cardiovascular en una cohorte de mujeres adultas.

Instituciones participantes: Fundación Cardioinfantil; programa "salud integral para la mujer"

Tipo de investigación: Postgrado

Investigador Principal: Javier Alonso Galvis Chacón.

Investigadores asociados: Carmen Cecilia Gómez Flórez, Yadira Sepúlveda

Asesor clínico: Carmen Cecilia Gómez Flórez

Asesor Metodológico: Johnny Beltrán

Asesor estadístico: Héctor Restrepo.

“La Universidad del Rosario no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al laboratorio clínico de la Fundación Cardio-infantil representado en la Dra. Yadira Sepúlveda por el aporte en recurso humano y logística para el procesamiento de las muestras.

Al mismo tiempo agradezco a Abbot Diagnostics por el aporte de reactivos para la investigación.

GUIA DE CONTENIDO

	Página
➢ Página de identificación	1
➢ Responsabilidad institucional	2
➢ Agradecimientos	3
➢ Resumen	5
➢ Abstract	6
➢ Lista de tablas y gráficas	7
➢ Introducción	8
➢ Marco teórico	8
➢ Justificación	21
➢ Problema	22
➢ Objetivos	23
➢ Propósitos	24
➢ Aspectos metodológicos	25
➢ Materiales y métodos	27
➢ Aspectos estadísticos	28
➢ Aspectos éticos	29
➢ Cronograma	30
➢ Presupuesto	30
➢ Resultados	31
➢ Discusión	37
➢ Conclusiones	39
➢ Referencias	40
➢ Anexos	

Lista de tablas y gráficas

	Página
Tabla 1 Datos estadísticos descriptivos	31
Tabla 2 Estadísticos descriptivos PCR y Riesgo	32
Tabla 3 Correlaciones PCR y Riesgo	32
Tabla 4 Riesgo y PCR por estrato	32
Tabla 5 Pruebas de Chi-cuadrado	33
Tabla 6 Medidas simétricas	33
Tabla 7 ANOVA	33
Tabla 8 Medidas de asociación	33
Figura 1 Correlación PCR y Riesgo	34
Figura 2 Correlación PCR y Colesterol total	34
Figura 3 Correlación PCR y LDL	35
Figura 4 Correlación PCR e índice de masa corporal	35

La PCR es el marcador de inflamación vascular más estudiado y validado hasta la fecha. Los niveles de PCR ultrasensible pueden predecir el riesgo de enfermedad cardiovascular.

En el programa "salud integral para la mujer" de la fundación cardio-infantil se realizan estratificaciones de riesgo cardiovascular a mujeres adultas. Se midieron los niveles de PCR en este grupo de pacientes entre Octubre del 2007 y Mayo del 2009 y se evaluó la correlación entre la estratificación del riesgo cardiovascular por escala de Framingham y niveles de PCR en esta población.

Objetivo: establecer el grado de correlación entre los niveles de PCR ultrasensible y el grado de riesgo cardiovascular y otros factores de riesgo cardiovascular.

Resultados: Edad promedio 48 años (18 a 98 años). 62 pacientes hipertensas (40,7%). 19 pacientes con cifras alteradas de glicemia en ayunas (12%). Hay un 83% de la población estudiada con dislipidemia (127 pacientes). 78 pacientes con sobrepeso u obesidad. El 87% de la población tiene al menos un factor de riesgo presente.

Discusión y resultados: En la población estudiada existe una alta prevalencia de factores de riesgo cardiovasculares, dentro de los cuales predomina los trastornos del metabolismo de los lípidos. Sin embargo no hay correlación entre los niveles de PCR ultrasensible y el riesgo cardiovascular según la escala de Framingham.

En la literatura médica publicada sobre PCR ultrasensible y su relación con el riesgo cardiovascular los resultados son muy divergentes con los encontrados en este estudio.

Términos MESH: C-reactive protein, atherosclerosis, coronary disease, Metabolic Syndrome X

C- reactive protein is the most studied and validated vascular inflammation marker until now. CRP levels can predict de risk of cardiovascular disease.

There is a program called “salud integral para la mujer” at fundación cardio-infantil were women are assessed for cardiovascular risk.

We measure there the CRP levels between October 2007 and May 2009 and assessed the correlation between the level of cardiovascular risk according to the Framingham score and levels of CRP.

Objective: to establish the correlation between levels of CRP and the cardiovascular risk score.

Results: mean age was 48 (18-98 years). 62 patients with high blood pressure (40,7%). 19 patients with impaired fasting glucose levels (12%). There is 83% of the patients with abnormalities in the lipid profile (127 patients). 78 patients had overweight or obesity. The 87% of population has at least one cardiovascular risk factor.

Discussion and conclusions: There is a high prevalence of cardiovascular risk factor in this population, among which, abnormalities in the lipid profile is the most frequent. Nevertheless, there is no correlation between PCR levels and cardiovascular risk score according to the Framingham score.

The medical data available about CRP and the relationship with cardiovascular risk is different from the results in this investigation.

MESH terms: C-reactive protein, atherosclerosis, coronary disease, Metabolic Syndrome X

Introducción

La proteína C reactiva ultrasensible es el marcador de inflamación vascular más estudiado y validado hasta la fecha. Es un reactante de fase aguda producido en el hígado y células de músculo liso de las arterias coronarias en respuesta a estímulos inflamatorios. Los niveles de PCR ultrasensible pueden predecir el riesgo de enfermedad cardiovascular. Las ventajas de este método incluyen niveles séricos constantes durante el día, bajo costo y alta sensibilidad. La American Heart Association recomienda medir niveles de PCR ultrasensible junto con perfil lipídico en hombres y mujeres con riesgo intermedio de enfermedad coronaria y categorizarlos de bajo, intermedio y alto riesgo según niveles mostrados.

En la fundación Cardioinfantil existe un programa llamado "salud integral para la mujer" donde se realizan estratificaciones de riesgo cardiovascular a mujeres adultas y hasta el momento no se ha incluido en este estudio la PCR. Se midieron los niveles de PCR en este grupo de pacientes entre Octubre del 2007 y Mayo del 2009 y se evaluó la correlación entre la estratificación del riesgo cardiovascular por escala de Framingham y niveles de PCR en esta población.

Marco teórico

Para desarrollar el marco teórico se realizó una búsqueda en PUBMED con los MESH: C-reactive protein, aterosclerosis, coronary disease, metabolic syndrome X.

Se limitó la búsqueda a artículos en español e inglés, investigaciones realizadas en humanos mayores de 18 años, publicadas en core clinical journals sin restricción de tiempo.

Numerosos estudios han demostrado la importancia de factores de riesgo cardiovascular como: edad avanzada, diabetes mellitus, tabaquismo, historia familiar de enfermedad coronaria precoz, hipertensión arterial y dislipidemia en la predicción del riesgo cardiovascular. El infarto agudo del miocardio se ha relacionado en varias ocasiones con niveles lipídicos elevados en plasma, pero la evidencia muestra que hasta en el 50% de los pacientes estos niveles se pueden encontrar bajo valores normales.[1] Sin embargo, es necesaria la identificación de otros factores de riesgo adicionales para mejorar el manejo y detección del riesgo cardiovascular y así beneficiar a la población con medidas preventivas más eficaces.

La presencia de diversas sustancias en plasma puede emplearse en la actualidad, y mucho más en el futuro, como marcadores de riesgo y de lesión vascular latente subclínica. Por consiguiente, su conocimiento será imprescindible y su aplicación clínica obligada en la medicina cardiovascular de los próximos años.

Reconociendo que el proceso inflamatorio juega un papel muy importante precipitando la cascada de eventos desde la formación de la placa aterosclerótica hasta el infarto miocárdico, varios marcadores inflamatorios plasmáticos se han propuesto como ayuda diagnostica de riesgo cardiovascular [2]. Uno de

los marcadores de principal utilidad es la Proteína C Reactiva (PCR), una proteína reactante de fase aguda.

En un intento por mejorar la predicción del riesgo cardiovascular se ha enfocado interés en la PCR, un marcador de inflamación que en varios estudios prospectivos epidemiológicos ha mostrado utilidad en la predicción de incidencia de infarto agudo del miocardio, ataque cerebral agudo, enfermedad arterial periférica y muerte súbita y en la predicción de la incidencia de recurrencia de isquemia o muerte en pacientes que presentaron un evento cardiovascular.

Durante los últimos 10 años se ha acumulado un número significativo de experiencia que involucran a células y a moléculas relacionadas con la respuesta inmunológica en el proceso de la lesión vascular relacionada con la arteriosclerosis y la ateromatosis.

Al analizar marcadores inflamatorios ya conocidos se encuentra una estrecha relación con los factores de riesgo clásico, por eso más que considerarlos "nuevos" factores de riesgo cuando hablamos de estos marcadores celulares y humorales, a lo que nos estamos aproximando es a la explicación fisiopatológica última del daño vascular de factores como la dislipidemia, hipertensión, tabaco, alcohol, hormonas, factores dietéticos, sedentarismo, etc.

Proteína C Reactiva

Es una globulina clasificada como un miembro de la superfamilia de las pentraxinas con una masa molecular de aproximadamente 118000 daltons compuesta de cinco subunidades polipeptídicas globulares cíclicas idénticas no glicosiladas cada una con un peso de 23 kDa, organizadas simétricamente alrededor de un poro central. La secuencia genómica de la PCR humana está ubicada en el cromosoma 1, la subunidad precursora está compuesta por 206 aminoácidos al igual que una secuencia señal de 18 amino ácidos[3]

Las subunidades o promotores de la PCR están asociados por enlaces no covalentes en una configuración anular con una simetría cíclica pentamérica. Cada promotor tiene un "pliegue de lectina" compuestas por dos hojas beta.

Cada subunidad o promotor de la PCR tiene una fase de reconocimiento con sitios de unión de fosfatidilcolina que consiste en dos iones de calcio coordinados. En esta nueva estructura, los dos residuos claves que median la unión de la PCR con la fosfatidilcolina son Phe-66 y Glu-81. Phe-66 actúa en la interacción hidrófoba entre los grupos metilo de la fosfatidilcolina y el Glu-81 se encuentra en el lado opuesto donde interactúa con los nitrógenos de colina cargados positivamente[4]

La cara opuesta del pentámero es la cara efectora, donde el complemento C1q se une a los receptores Fc gamma, una vez se han unido los ligandos, esto conlleva a la activación de la vía clásica del complemento, la unión de C3 (molécula de adhesión principal del sistema de complemento) y el complejo de ataque a la membrana C5-C9. La unión de la PCR también trae consigo la unión del factor H y convertasas de C5.

La PCR no solo se une a los residuos de fosfatidilcolina, también se une a una gran variedad de ligandos autólogos y extrínsecos. Los ligandos autólogos corresponden a lipoproteínas plasmáticas, membranas celulares lesionadas, un gran número de fosfolípidos diferentes, ribonucleoproteínas y células apoptoticas. Los ligandos extrínsecos son principalmente los glicanos, fosfolípidos, otros constituyentes de los microorganismos, como la cápsula y otros elementos de las bacterias, hongos y parasitos[5].

La PCR fue la primera proteína de fase aguda descrita, fue descubierta por el laboratorio Tillet y Francis durante el estudio de pacientes con infección por Streptoccocus pneumoniae.[6]

Puede activar la vía clásica del complemento, estimular la fagocitosis y unirse a receptores de inmunoglobulinas.

La PCR es producida principalmente en el hígado, normalmente está presente como un pequeño constituyente de suero o plasma a niveles menores de 1mg/dl. Las concentraciones séricas aumentan cerca de 5 mg/L en las primeras 6 horas y tiene su pico máximo en las 48 horas siguientes, estos niveles se mantienen elevados durante varios días antes de retornar a lo normal. Lo anterior sugiere la gran contribución que tiene la PCR en la defensa del huésped y en la respuesta inmune innata.[7]

También es producida por las células de músculo liso de las arterias coronarias en respuesta a estímulos inflamatorios[8].

En general puede elevarse en plasma o suero en procesos infecciosos, condiciones inflamatorias como: artritis reumatoide, enfermedad cardiovascular y enfermedad vascular periférica; cuando hay inflamación aguda, infección o injuria de tejido se induce un marcado incremento en la síntesis hepática, que puede elevar los niveles séricos hasta 100 veces o más dentro de las primeras 24-48 horas y mantenerlos elevados durante varios días antes de retornar a lo normal.

Aunque su función in vivo durante la inflamación no ha sido precisada, hay considerable evidencia que indica su papel en el reconocimiento y eliminación de patógenos extraños como también de sustancias endógenas potencialmente tóxicas relacionadas con daño tisular.

Prueba de laboratorio

Se utilizó CRP ultra, que es una prueba de determinación inmunoturbimétrica cuantitativa de alta sensibilidad de la proteína C-Reactiva en el suero y en el plasma. Es una prueba distribuida por Abbot Diagnostics.

CRP ultra es un test inmunodiagnóstico de látex, desarrollado para medir de manera exacta y reproducible los niveles de PCR en los líquidos biológicos. Se funda en la reacción de aglutinación antígeno/anticuerpo entre la PCR presente en la muestra y el anticuerpo anti-PCR adsorbido sobre partículas de poliestireno. La aglutinación es medida como incremento de la absorbancia (550.580nm), proporcional a la cantidad de PCR presente en la muestra examinada. La facilidad de automatización del método y la posibilidad de elegir entre dos distintos procedimientos (método estándar y método ultrasensible) permiten el análisis de un intervalo analítico muy amplio

Valores de referencia: Suero-plasma ≤ 0.5 mg/dL

Límite de detección: la sensibilidad de la CPR ultra representa la concentración mínima de PCR que puede distinguirse del patrón cero. Método ultrasensible 0.01mg/dL

Intervalo de medida: 0.01 -16 mg/dL. Las muestras cuyos resultados sean superiores al valor máximo de linearidad, deben ser diluidos en forma manual o debe usar el protocolo de dilución automática On Board.

Interferencia: No se observa ninguna interferencia por factor reumatoide <550 IU/ml, ictericia, hemólisis ni por lipidemia.

Aterosclerosis: un proceso inflamatorio

El endotelio normal en general no es apto para la unión de leucocitos. Sin embargo, luego de iniciar una dieta aterogénica, algunos parches de células endoteliales empiezan a expresar en su superficie moléculas de adhesión selectivas que se unen a varias clases de leucocitos. En particular, la molécula de adhesión de células vasculares-1 (VCAM-1) se une precisamente al tipo de leucocitos encontrados en el ateroma humano temprano experimental, el monocito y el linfocito T.

En las ramificaciones de las arterias se experimentan un flujo turbulento que ocasiona que las células endoteliales tengan alteración en los mecanismos endógenos ateroprotectores como la disminución del óxido nítrico (molécula vasodilatadora endógena tiene propiedades anti-inflamatorias y puede reducir la expresión de VCAM-1), el aumento de la producción de moléculas de adhesión intercelular leucocitarias (ICAM-1) y la producción por parte de las células de músculo liso arterial de proteoglicanos que pueden unirse y retener partículas lipoproteicas, facilitando su modificación oxidativa y así, promoviendo la respuesta inflamatoria en los sitios de formación de lesiones.

La proteína quimioatrayente de monolitos (MCP-1) es la molécula responsable de la migración directa de monolitos a la íntima en los sitios de lesión endotelial.

Una vez las células inflamatorias penetran en la íntima, ellas mismas participan en el perpetuamiento de una respuesta inflamatoria local. Los macrófagos expresan receptores para lipoproteínas modificadas, permitiéndoles fagocitar lípidos y convertirse en células espumosas y además, la MCP-1, el factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) contribuyen a esta diferenciación. [9]

Al mismo tiempo, los linfocitos T, empiezan a producir citoquinas como el interferón-γ y linfotoxinas como el factor de necrosis tumoral β (TNF- β) que estimulan a los macrófagos, células endoteliales y células de músculo liso.

A medida que este proceso inflamatorio continua, los leucocitos activados y las células intrínsecas arteriales liberan mediadores fibrinogénicos, que incluyen factores de crecimiento que promueven la replicación de las células de músculo liso induciendo en ellas, la producción de una matriz extracelular densa característica de las lesiones ateroscleroticas avanzadas.

Proteína C reactiva y arteriosclerosis

Actualmente se conoce que la arteriosclerosis; un proceso subyacente de la enfermedad cardiovascular que incluye: enfermedad coronaria, infarto del miocardio, ataque cerebral agudo y enfermedad arterial periférica es una entidad que incluye una inflamación crónica del endotelio vascular, esto se ha evidenciado por la presencia de monocitos y macrófagos en el sitio de la ruptura de la placa en autopsias de pacientes fallecidos por IM que sugiere que marcadores inflamatorios como la PCR pueden reflejar el desarrollo y progresión de la aterosclerosis. [10]

Disfunción endotelial:

En primer lugar, la LDL oxidada induce una alteración endotelial que consiste principalmente en la interrupción en el proceso de producción de óxido nítrico (ON) y en la muerte apoptóica de las células endoteliales, aumentando la adhesividad y la migración celular a través del endotelio facilitando la aparición de "huecos" en la superficie interna vascular a causa de la apoptosis de las células endoteliales. La adhesión de las plaquetas alrededor de la lesión endotelial libera el PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas).

El endotelio disfuncionante induce aparición de moléculas de adhesión; primero se adhieren los monocitos que pasan a través del endotelio mediados por la presencia de integrinas (VCAM-1, ICAM-1, LFA-3). El endotelio produce además varias moléculas como la proteína quimiotáctica para monocitos (MCP-1) que atrae más monocitos a la pared dañada, factor estimulante de colonia de

monocitos (M- CSF) que los dota funcionalmente, y factor nuclear kappa B (NF- KB) implicado en la transcripción de un importante número de genes funcionales en el proceso inflamatorio. Como consecuencia de la presencia subendotelial de monocitos convertidos en macrófagos y de moléculas estimuladoras de la trancripción de genes implicados en la producción de sustancias proinflamatorias, se producen potentes citoquinas en las paredes arteriales. Entre ellas está la interleuquina I (IL-Ib) y el factor de necrosis tumoral (TNFa), que amplifican los fenómenos inflamatorios locales, activando a otras células, como linfocitos T, que participan en la cascada inflamatoria con otras interleuquinas como la IL-6.

El efecto conjunto es la estimulación de la respuesta inmune local y la manifestación de efectos a distancia, como la producción de proteínas de fase aguda en el hígado entre ellas la PCR. El TNF-a, la IL-6 y la IL-1b además son potentes inductoras de NF-KB, con lo que se produce un círculo de lesión inflamatoria automantenida. Los marcadores de inflamación que se discuten con más intensidad en la literatura son proteínas no relacionadas directamente con la lesión inflamatoria vascular. De hecho se producen en el hígado como respuesta a las citoquinas y por ello son una respuesta inespecífica, ya que cualquier proceso inflamatorio eleva estos marcadores. En patología cardiovascular se han encontrado relaciones con la Proteína C reactiva (PCR), amiloide A en suero y fibrinógeno. Siendo la PCR la que ofrece un mejor reflejo del proceso inflamatorio subyacente, ya que se correlaciona con otros marcadores, como los niveles séricos de ICAM-I, IL-6, Fibrinógeno, Activador tisular del plasminógeno, inhibidor del activador del plasminógeno, y factor VII. Además, recientemente se ha encontrado que puede desempeñar un papel en la fagocitosis de la LDL por el macrófago para formar células espumosas, a través de la opsonización de la partícula de la Lipoproteína.[11]

Aplicaciones clínicas de la PCR en prevención cardiovascular

La inflamación juega un papel muy importante en aterotrombosis por lo tanto la medición de marcadores inflamatorios como la PCR se ha instaurado como nuevo método para detectar individuos con alto riesgo de ruptura de la placa. En prevención primaria, la utilidad de la PCR ha sido apoyada en varios estudios prospectivos epidemiológicos realizados entre individuos sin historia previa de enfermedad cardiovascular a quienes se les midió PCR y se encontró que este fue un predictor fuerte de

futuros eventos cardiovasculares. Este valor predictivo ha mostrado ser independiente de la edad, estado de fumador, obesidad, hipertensión, historia familiar y diabetes.[12]

Además se ha encontrado que la PCR aporta información pronóstica en cada uno de los niveles de riesgo cardiovascular según la escala de framingham. Usando pruebas de alta sensibilidad; niveles de PCR <1, de 1 a 3 y > de 3mg/L corresponden respectivamente a los niveles de riesgo cardiovascular moderado, alto y muy alto. El valor predictivo de la PCR se incrementa considerablemente cuando es evaluada conjuntamente con el estudio de los lípidos. Comparando pacientes con valores de Colesterol total y PCR se demostró que el efecto conjunto de estos dos marcadores es mayor que el dado por cada uno individualmente, por lo tanto esta prueba debe ser considerada como adicional a la evaluación del perfil lipídico para la clasificación del riesgo cardiovascular. Así por ejemplo individuos con LDL mayor de 130 y con PCR mayor de 3mg/L representarían un grupo de muy alto riesgo cardiovascular usualmente no detectado en la práctica clínica.[13]

La aplicación de la Proteína C Reactiva de Alta Sensibilidad como una herramienta útil para el manejo del riesgo, requiere el conocimiento de la distribución de este marcador en la población general, sus características clínicas y la magnitud del riesgo de futuros eventos coronarios que pueden esperarse según los niveles séricos de esta proteína.

El riesgo cardiovascular se estima a través del espectro basado en quintiles de los niveles de Proteína C Reactiva de la población general encontrando que por cada incremento en un quintil de PCR, el riesgo relativo para eventos cardiovasculares se incrementa en un 26% para hombres y en un 33% para mujeres. Es importante anotar que esta estratificación es ajustada para la edad, estado de fumador, historia familiar de evento agudo coronario precoz, diabetes, hipertensión, dislipidemia, nivel de ejercicio e índice de masa corporal.

La utilización de los quintiles se hizo basada en la distribución de la PCR en la población general donde los niveles promedio fueron 0.16 mg/L. El nivel de riesgo cardiovascular para los quintiles desde el más bajo hasta el más alto tuvieron los siguientes rangos de niveles de PCR: 0.01- 0.069 ; 0.7- 0.11; 0.12- 0.19; 0.20- 0.38 y > 0.38. Como la estimación del riesgo parece ser lineal a través del espectro de inflamación, esta secuencia de quintiles puede representar en términos clínicos individuos con bajo,

medio, moderado, alto y muy alto riesgo relativo cardiovascular. Vale la pena anotar que la PCR ha sido comparada directamente con otros marcadores de riesgo como la homocisteína y la lipoproteína (a), encontrando una mayor predicción del riesgo asociado con niveles de PCR de alta sensibilidad. En el síndrome metabólico la PCR juega un papel importante ya que refleja la severidad del mismo al correlacionarse con la sensibilidad a la insulina, la disfunción endotelial y deterioro de la fibrinolisis, todos estos, factores asociados con esta entidad. Además varios estudios prospectivos epidemiológicos demostraron que los niveles de PCR adicionalmente predicen la incidencia de DM2.[14]

A pesar de que existen otros marcadores inflamatorios que se elevan con el riesgo vascular como la interleuquina 6 y moléculas de adhesión intercelular, sus mediciones son muy sofisticadas y no son de utilidad clínica. La PCR por ser altamente estable permite que sus mediciones puedan realizarse en forma aguda en plasma fresco y congelado sin requerimientos de procedimientos de recolección especial; su vida media en plasma es de 18 a 20 horas.

Varios factores de riesgo parecen modular la respuesta inflamatoria y afectar las concentraciones de PCR. La obesidad por ejemplo está directamente asociada con un incremento de la PCR ya que la interleuquina 6, un estimulante primario de la síntesis hepática de PCR, es secretada por el tejido adiposo. El tabaquismo también ha demostrado relación con aumento de los niveles de marcadores inflamatorios. En los pacientes diabéticos se ha encontrado también niveles elevados de PCR, recientes evidencias indican que el endotelio estimulado por la hiperglicemia puede producir interleuquina 6 aumentando los niveles de PCR séricos. La elevación de la presión sanguínea promueve expresiones endoteliales de citoquinas y activación inflamatoria, lo que sugiere que un mejor control en la hipertensión arterial y la diabetes atenuarían la contribución de la respuesta inflamatoria al riesgo cardiovascular global. Finalmente el ejercicio ha demostrado tener efectos benéficos en términos de reducción de la concentración de varios marcadores inflamatorios. Tenemos entonces que en prevención primaria la PCR es un predictor independiente de futuros eventos cardiovasculares, que agrega información pronóstica al estudio de lípidos, al síndrome metabólico y a la escala de riesgo de framingham.

Para el manejo global del riesgo la PCR es usada en conjunto con el colesterol. Individuos con LDL mayor de 160 y niveles de PCR elevados requieren intervención terapéutica agresiva. Pacientes con

LDL entre 130-160 mg/dl y PCR elevada indica una elevación global del riesgo y deben seguirse al máximo las guías de tratamiento del consenso para lípidos.

Para individuos con LDL menor de 130mg/dl, una PCR elevada implica sustancialmente un riesgo más alto que el que predice el LDL solo por lo tanto en este caso deben hacer cambios en el estilo de vida. Pacientes con LDL bajo y PCR alta tienen riesgo elevado de tener síndrome metabólico y se les debe medir glicemia en ayunas. Algunos estudios aleatorizados sugieren que estos pacientes deben ser tratados con estatinas. En prevención secundaria la utilidad potencial de la PCR es menos certera ya que desde el principio se debe instituir una terapia agresiva y la evaluación sola del LDL es un método excelente para el manejo de la eficacia del tratamiento con estatinas. En el caso de un evento agudo coronario y angina inestable el papel de la PCR es rápidamente implicado ya que predice mortalidad temprana y tardía en isquemia aguda y agrega valor predictivo a la troponina. El uso más previsible de la PCR en urgencias es probablemente en aquellos pacientes con dolor torácico con niveles de troponina negativos. Una PCR elevada en este caso está asociada con un incremento del riesgo a corto y largo plazo y exige modalidades adicionales de evaluación. [15] [16]

Justificación

Se ha demostrado diferencia estadística entre los niveles séricos de PCR entre hombres y mujeres. Los estudios poblacionales para determinar niveles basales de PCR hasta el momento no han incluido muestras de pacientes que sean comparables con nuestra población ya que se han demostrado diferencias también de niveles de PCR en raza. En Colombia no hay estudios poblacionales que muestren tanto la distribución de los niveles de PCR en mujeres como la relación de estos con el riesgo cardiovascular medido según la escala de Framingham. Los beneficios de conocer estos niveles de PCR serían poder tomar decisiones sobre la agresividad de la terapia farmacológica encaminada a disminuir el colesterol LDL y la detección temprana de pacientes de riesgo alto para medir el impacto de las intervenciones en el estilo de vida y de la terapia farmacológica.

Actualmente en el programa de salud integral para la mujer se realiza de manera rutinaria la medición del riesgo cardiovascular y según este resultado se aconseja al paciente sobre la modificación del estilo de vida; pero no existe una manera objetivizar el impacto de esta terapia en el paciente. La disminución de los niveles de PCR demuestran una correlación directa con la disminución del proceso inflamatorio que conlleva a la aterosclerosis y por consiguiente la disminución del riesgo de aparición de eventos cardiovasculares.

Problema

La enfermedad arterioesclerotica es una pandemia actualmente, se manifiesta como infarto agudo del miocardio, angina y enfermedad cerebro vascular entre otras; ocupa el primer lugar de mortalidad a nivel mundial, elevando los costos en atención en salud convirtiéndose en una carga importante para los sistemas de salud de todos los países.

Haciendo una estratificación del riesgo cardiovascular temprana nos permite adoptar estrategias terapéuticas para la prevención primaria de eventos cardiovasculares. Al medir los niveles de PCR podemos objetivizar aún más este riesgo y cambiar nuestra aproximación terapéutica en paciente que no han sufrido eventos cardiovasculares.

Se ha descrito que los niveles poblacionales de PCR tienen una diferencia estadísticamente significativa entre los hombres y las mujeres y entre razas (asiáticos, negros, blancos). Esta diferencia impactaría la decisión de estratificar un paciente en un grupo de riesgo dado, ya que la diferencias entre los estratos de riesgo son relativamente pequeñas y por consiguiente nuestra decisión sobre que estrategia terapéutica tomar.

Al realizar este trabajo obtendríamos los primeros resultados en el país sobre niveles de PCR en mujeres y su relación, no solo con el riesgo cardiovascular sino con la presencia de síndrome metabólico.

Objetivos

Objetivo general:

Establecer el grado de correlación entre los niveles de PCR ultrasensible y el riesgo cardiovascular, en mujeres mayores de 18 años que asisten a consulta en el programa "Unidad de salud integral de la mujer".

Objetivos específicos:

- Definir el comportamiento de la distribución de los niveles de PCR en la población de estudio
- Identificar los puntos de corte de niveles de PCR ultrasensible, para la estratificación de riesgo cardiovascular en la población de estudio.
- Establecer el grado de correlación entre los niveles de PCR y el valor de riesgo cardiovascular según la escala de Framingham.
- Evaluar la existencia de correlación entre niveles de PCR y presencia de síndrome metabólico.

Propósito

Con esta investigación se pretender: establecer los niveles de CPR en una población de mujeres colombianas y evaluar su correlación con el riesgo calculado de Framingham y la presencia de síndrome metabólico.

Servirá además como evidencia local para implantar esta prueba de laboratorio como método rutinario para la estratificación del riesgo cardiovascular y la toma de decisiones terapéuticas.

Pregunta de investigación:

En las pacientes que consulten entre Octubre/07 y Mayo/09 al programa de salud integral para la mujer en la Fundación Cardio-Infantil, se correlacionan los niveles de PCR y el riesgo cardiovascular?

Hipótesis:

Los niveles de PCR ultrasensible se correlacionan positivamente con el riesgo cardiovascular.

Metodología

Tipo de estudio: El estudio fue de tipo observacional, prospectivo, analítico de correlación.

Población de estudio: La población de referencia fueron todas las mujeres que consultaron voluntariamente al programa de salud integral para la mujer ubicado en el edificio Fundadores de La Función CardioInfantil en Bogotá-Colombia.

Muestra: Para evaluar la correlación entre el puntaje Framingham y valores de PCR ultrasensible, asumiendo una correlación positiva de débil a moderada (referencia), a los datos de V Pearson 0.3, con intervalo de confianza de 95 (±0.1), nivel de confiabilidad de 95% se necesitaron 384 observaciones,

Alternativamente, se desea saber si por estrato de riesgo (bajo, intermedio o alto) hay diferencias estadísticamente significativas en promedios de PCR ultrasensible. Asumiendo un error tipo I de 0.05, un error tipo 2 de 0.20, media en el grupo de bajo riesgo de 0,5, media en el grupo de moderado riesgo de 2, con tasa de asignación igual en los tres grupos con desviación estándar de 4 se requieren como mínimo 56 pacientes por grupo de riesgo a 1 cola.

Criterios de inclusión:

Pacientes de sexo femenino que consulten entre Octubre del 2007 y Septiembre del 2008 al programa de clínica de la mujer en la FCI.

Criterios de exclusión

Pacientes con cáncer, presencia de enfermedades inflamatorias de base, presencia de infección en el momento de la toma de la muestra de sangre.

Variables

Se midieron las variables necesarias para calcular el riesgo cardiovascular a 10 años según la escala de Framingham[16] como son: edad, colesterol total, estado de fumador, colesterol HDL, presión arterial sistólica. Además se midieron los niveles de glucosa en ayunas, niveles de triglicéridos, colesterol LDL, medición de la circunferencia abdominal y los niveles de PCR ultrasensible.

VARIABLE	INDICADOR	ESCALA DE MEDICION
Edad	Años cumplidos	Cuantitativa discreta
Colesterol total	Nivel de colesterol total en mg/dl	Cuantitativa discreta
Estado de fumador	Si/No	Cualitativa nominal
Colesterol LDL	Niveles de LDL en mg/dl	Cuantitativa discreta
Colesterol HDL	Niveles de HDL en mg/dl	Cuantitativa discreta
Presión arterial sistólica	Valor de PAS en mmHg	Cuantitativa discreta
Glicemia	Niveles de glicemia en mg/dl	Cuantitativa discreta
Triglicéridos	Niveles de triglicéridos en mg/dl	Cuantitativa discreta
Perímetro abdominal	Medida en cm de perímetro en la cintura	Cuantitativa discreta
Niveles de PCR	Niveles de PCR	Cuantitativa discreta
Riesgo Cardiovascular	Probabilidad de evento coronario a 10%	Cuantitativa discreta

El cálculo del riesgo cardiovascular según la fórmula de Framingham; (L_Chol 50.048263 x edad - 0.65945 (si colesterol <160) + 0.0 (si colesterol 160 a 199) + 0.17692 (si colesterol 200 a 239) + 0.50539 (si colesterol 240 a 279) + 0.65713 (si colesterol ≥280) + 0.49744 (si HDL-C <35) + 0.24310 (si HDL-C 35 a 44) + 0.0 (si HDL-C 45 a 49) - 0.05107 (si HDL-C 50 a 59) - 0.48660 (si HDL-C ≥ 60) - 0.00226 (si presión arterial es optima) + 0.0 (si PA normal) + 0.28320 (si PA alta normal) + 0.52168 (si PA estadio I hipertensión) + 0.61859 (si PA estadio II hipertensión) + 0.42839 (si es diabético) + 0.0 (sin no es diabético) + 0.52337 (si es fumador) + 0.0 (si no es fumador).[16]

Una vez la paciente ingresa a consulta la enfermera le tomaron las medidas correspondientes a las variables involucradas para poder calcular el riesgo cardiovascular según la escala de Framingham junto con los datos de los resultados de laboratorios al final de la consulta:

Mensualmente, enfermería envió por correo electrónico una base de datos con los datos de los pacientes en formato Excel y se consolidaban en una base de datos única.

Materiales y Métodos

Inicialmente, el programa de salud integral para la mujer ofrece un servicio de chequeo preventivo a mujeres mayores de edad. Este servicio consiste en una consulta con enfermería y con un medico internista en la cual se toman los datos de identificación, medición de parámetros biofísicos, recolección de información como antecedentes personales de importancia y examen clínico. Luego a la paciente se le direcciona al laboratorio clínico para toma de muestra de colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos, glicemia en ayunas entre otros.

Durante la consulta de valoración en el programa de salud integral para la mujer todas la anteriores variables fueron recogidas de manera rutinaria y almacenadas en una base de datos en Excel.

Luego se procesaron los niveles de PCR en la misma muestra en que se midieron los otros parámetros, el resultado se entregó junto con los otros laboratorios pero en otros casos, por razones logísticas de aprovechamiento de reactivos para la prueba de PCR se congeló la muestra y se procesó en conjunto con otras muestras y se reportó días después. En este caso el laboratorio reportó este resultado con el nombre, fecha y número de historia clínica, datos con los cuales se podrán completar la recolección de datos junto con los almacenados en la base de datos del programa de salud integral para la mujer.

Aspectos estadísticos

Se realizó una descripción de las variables teniendo en cuenta el tipo de variable, calculando los porcentajes de las variables cualitativas y para las variables cuantitativas se determinará los promedios varianzas y desviaciones estándar y sus correspondientes intervalos de confianza.

Se realizó posteriormente análisis bivariados en los que previa determinación del supuesto de normalidad con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, se realizó un análisis de varianzas y comparaciones de promedios mediante una prueba de t de student o Anova de acuerdo a la conveniencia.

Las comparaciones de variables de tipo cuantitativo se calcularon los respectivos coeficientes de correlación.

Para todos los análisis se determinaron la significancia estadística y los intervalos de confianza.

Aspectos éticos

Esta investigación tendrá en cuenta los siguientes aspectos éticos:

- Se velará por proteger la identidad del individuo
- Debido a que en la investigación se encuentra implícito una toma única de muestra de sangre por punción venosa en adultos con buen estado de salud podría clasificarse como investigación con riesgo mínimo.
- Además de los riesgos implícitos en la punción venosa como dolor, hematoma, infección del sitio de punción, no se ha identificado otros riesgos.
- La presente investigación fue puesta a consideración del comité de ética en investigación de la Fundación Cardio-Infantil y según Acta No 159 del 18 de Septiembre del 2007 y fue aprobada.
- A los sujetos de estudio no se les cobró dinero por el procesamiento de la PCR
- Con los resultados de PCR no se tomarán decisiones terapéuticas en los sujetos de estudio

Cronograma

Septiembre 2007: Presentación al comité de ética de la Fundación CardioInfantil

Septiembre 2007: Inicio de recolección de muestras para medición de PCR.

Septiembre 2007- Mayo 2009 recolección de muestras y tabulación de datos

Mayo 2009: Análisis estadístico

Mayo 2009: Presentación de resultados

Presupuesto

Para llevar a cabo el procesamiento de las muestras, la recolección y análisis de los datos se ha estimado inicialmente un presupuesto de 6,144,000 de pesos, de los cuales el laboratorio clínico de la fundación cardioinfantil asumirá los gastos de procesamiento de las muestras estimado en 4,608,000 y para los restantes 1,536,000 correspondientes al costo del reactivo, hay propuestas y acuerdo verbales del laboratorio productor de la prueba para financiar los costos de los reactivos.

Resultados

Hasta el 4 de Mayo del 2009 se incluyeron datos de 152 pacientes las cuales firmaron el consentimiento informado. De las 384 observaciones programadas para tener un poder apropiados sólo se realizaron 152; en el momento de elaboración del protocolo del estudio había un volumen de 5 pacientes diarios , no se alcanzó el número de muestra necesario debido a que el volumen de consultas esperadas disminuyó 10 veces menos, explicado probablemente por la disminución en la inversión en publicidad del programa "Salud Integral para la mujer" debido a redireccionamiento de recursos hacia el programa de chequeo ejecutivo, del cual, por protocolo no era posible tomar pacientes.

El promedio de edad fue de 48 años con rango de 18 a 98 años. A 62 paciente se les encontró cifras tensionales elevadas correspondiente al 40,7% de la población estudiada. En 19 pacientes se obtuvo cifras alteradas de glicemia en ayunas correspondiente con el 12% de la población. Tomando en cuenta cualquier alteración en el perfil lipídico dado por colesterol total mayor a 200 mg/dl, LDL mayor a 130 mg/dl ó HDL menor a 40 mg/dl hay un 83% de la población estudiada con algún grado de dislipidemia correspondiente a 127 pacientes. 78 pacientes están por encima de un índice de masa corporal mayor de 25 lo que las cataloga como con sobrepeso u obesidad. El 87% de la población tiene por lo menos un factor de riesgo presente, 26 % dos factores de riesgo, y el 33% tres o más factores de riesgo cardiovascular presente. En la tabla 1 se encuentra los datos estadísticos descriptivos, de los cuales se resalta datos muy polarizados por datos pocos pacientes, sin embargo las medias muestran que a pesar de estos valores aislados, la población en general tenía datos usuales extrapolables a la población general. En la tabla 2 están los datos del consolidado de riesgo cardiovascular que en general muestra un predominio de riesgo bajo-intermedio con datos de PCR en límite superior de riesgo bajo.

Tabla 1. ***Estadísticos descriptivos***

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
EDAD	152	18	98	48.87	14.707
Frecuencia Cardiaca	152	53	132	79.76	13.547
Presión arterial sistolica	152	87	208	125.77	22.593
Presión arterial diastólica	152	47	117	70.81	11.327
Colesterol Total	152	113	402	217.96	47.315
HDL	152	26	84	46.02	10.303
LDL	152	52	311	135.55	39.906
Trigliceridos	152	39	1203	144.22	114.463
Glicemia	152	34	364	100.27	38.333
Peso	152	45.00	105.60	64.0301	11.01358
Talla	152	1.44	1.73	1.5688	.06124
IMC	152	16.73	43.95	26.0666	4.68621
PCR	152	.00	8.67	.5203	1.08944
N válido (según lista)	152				

Tabla 2. ***Estadísticos descriptivos PCR y riesgo***

	Media	Desviación típica	N
PCR	.5203	1.08944	152
Riesgo	4.1425	5.27665	152

En la tabla 3 podemos observar que se encuentra una muy débil correlación positiva entre los niveles de PCR y el riesgo cardiovascular calculado para las pacientes (correlación de Pearson 0.209 con significancia estadística de 0,01), sin embargo al realizar las medidas simétricas, ANOVA y chi cuadrado la posibilidad de que éste hallazgo sea debido al azar es más alta de los permitido.

En las figuras siguientes se observa las tendencias entre la relación ente PCR y riesgo cardiovascular, colesterol total, LDL e índice de masa corporal(componentes del síndrome metabolico) que, aunque a niveles bajos se insinúa algo de tendencia a la correlación, debido a datos extremos no permite observar ni concluir que hay tendencia clara a correlación.

Tabla 3. ***Correlaciones entre PCR y Riesgo***

		PCR	Riesgo
PCR	Correlación de Pearson	1	.209**
	Sig. (bilateral)		.010
	N	152	152
Riesgo	Correlación de Pearson	.209**	1
	Sig. (bilateral)	.010	
	N	152	152

**. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Se estratificaron los niveles de riesgo cardiovascular y los comparamos con los niveles de PCR estratificados como baja, media y alta, mostrados en las tablas con las medidas de asociación utilizadas. Como hallazgo importante cabe anotar que el 89,5% de la población tenía niveles de PCR menor de 1 y un bajo porcentaje (6,6% y 3,9%) en los niveles intermedio y altos. El 51% de las pacientes se encontró en nivel de riesgo cardiovascular bajo.

Debido el tamaño de muestra alcanzada no es posible establecer puntos de corte para la estratificación de riesgo cardiovascular en esta población.

En la prueba de Chi-cuadrado confirmamos nuevamente que no existe correlación entre el valor de PCR y el grado de riesgo cardiovascular y el ANOVA nos permite corroborar este hallazgo cuando hacemos el análisis intergrupos e intragrupos de riesgo.

Tabla 4 ***Riesgo Vs PCR por estrato***

			PCR			
			MENOR 1	ENTRE 1 Y 3	MAYOR DE 3	Total
RIESGO	MENOR DE 1	Recuento	70	6	2	78
		% del total	46.1%	3.9%	1.3%	51.3%
	ENTRE 1 Y 10	Recuento	48	2	2	52
		% del total	31.6%	1.3%	1.3%	34.2%
	MAYOR 10	Recuento	18	2	2	22
		% del total	11.8%	1.3%	1.3%	14.5%
Total		Recuento	136	10	6	152
		% del total	89.5%	6.6%	3.9%	100.0%

Tabla 5. *Pruebas de chi-cuadrado*

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2.994[a]	4	.559
Razón de verosimilitudes	2.725	4	.605
Asociación lineal por lineal	1.040	1	.308
N de casos válidos	152		

a. 5 casillas (55.6%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 87.

Tabla 6. *Medidas simétricas*

		Valor	Error típ. asint.[a]	T aproximada[b]	Sig. aproximada
Intervalo por intervalo	R de Pearson	.083	.092	1.020	.309[c]
Ordinal por ordinal	Correlación de Spearman	.046	.089	.559	.577[c]
N de casos válidos		152			

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

c. Basada en la aproximación normal.

Tabla 7. *ANOVA*

			Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
RIESGO * PCR	Inter-grupos	(Combinadas)	.851	2	.425	.807	.448
	Intra-grupos		78.518	149	.527		
	Total		79.368	151			

Tabla 8 *Medidas de asociación*

	Eta	Eta cuadrado
RIESGO * PCR	.104	.011

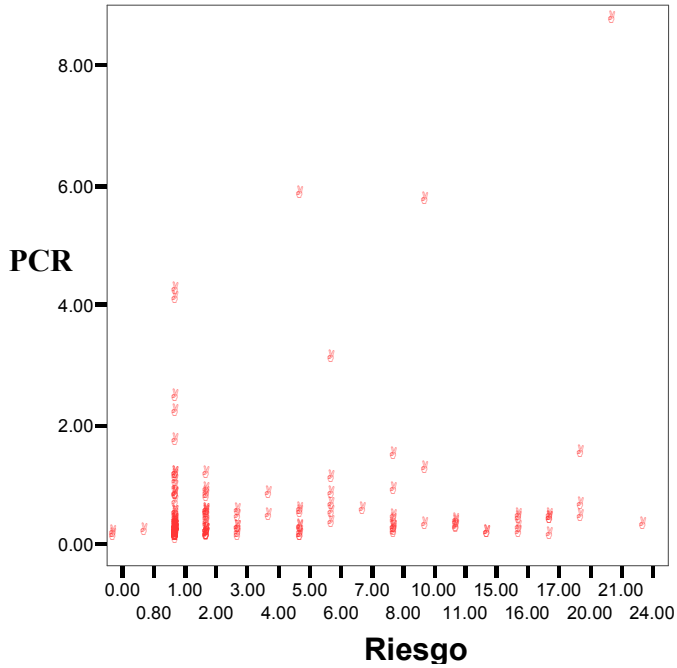

Figura 1 *Correlacion PCR y riesgo*

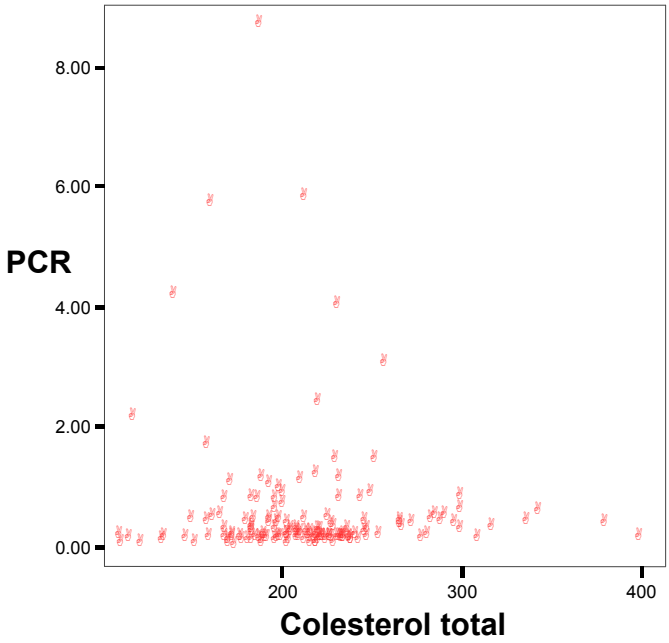

Figura 2 *Correlación PCR y Colesterol total*

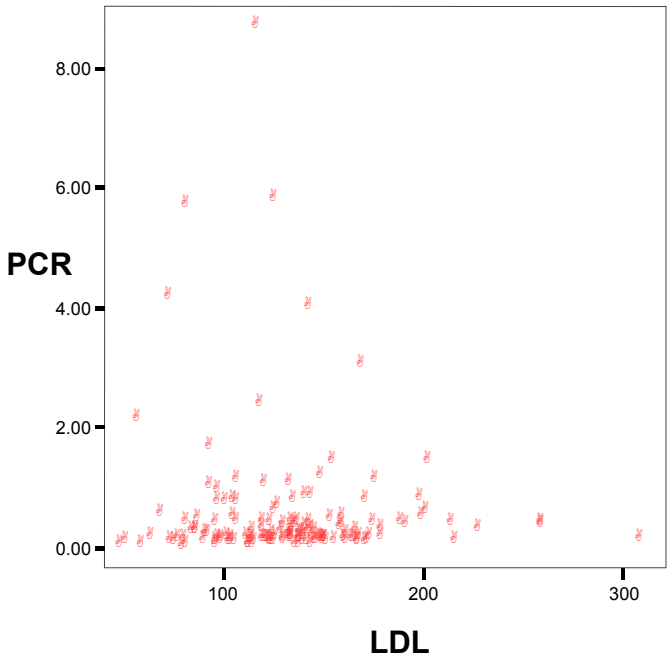

Figura 3 *Correlación PCR y LDL*

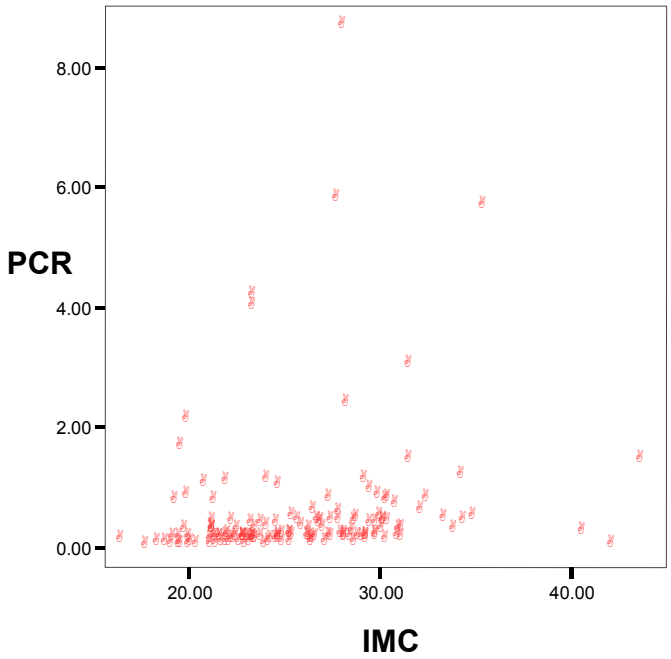

Figura 4 *Correlación PCR e índice de masa corporal*

Discusión

En este estudio se evaluó la presencia de factores de riesgo en una población de mujeres que voluntariamente consultaron al programa de salud integral para la mujer en la fundación cardio-infantil.

Es de anotar que este grupo de pacientes son paciente cuya consulta en la gran mayoría de los casos fue inducida por campañas de publicidad del programa salud integral para la mujer y en pocos casos en verdad la paciente consultó motivada por querer conocer su riesgo cardiovacular. Esto conlleva a que el grupo de pacientes era relativamente joven, pero a pesar de esto una gran proporción de ellas tenía, por lo menos, un factor de riesgo cardiovascular.

Los niveles de PCR y riesgo cardiovascular en este estudio mostraron una correlación muy débil (correlación de Pearson 0.209 con significancia estadística de 0,01) pero al realizar las medidas simétricas, ANOVA y chi cuadrado no se alcanzó un nivel de significancia estadística aceptable.

En la literatura revisada es clara la asociación de los niveles de PCR ultrasensible y el riesgo cardiovascular calculado a través de la escala de Framingham, sin embargo en el presente estudio no encontramos claridad en dicha asociacion. Sin embargo, estamos consientes que el tamaño de muestra alcanzado no permite llegar a dicha conclusión

Aunque es de notar que el mayor porcentaje de mujeres categorizadas como de bajo riesgo, tienen niveles bajos de PCR, sin poder afirmar esto ya que no hay significancia estadística.

Para estudios similares futuros es necesario en realidad tomar una población de referencia en la cual se esté haciendo prevención secundaria para así poder identificar un mayor número de pacientes con alto riesgo cardiovascular y así poder compararlas con los datos obtenidos de pacientes con bajo riesgo.

Es llamativo como estos resultados van en oposición a lo reportado en la literatura actual sobre medición de PCR y su utilidad para tomar decisiones con respecto al inicio de estatina en pacientes con riesgo moderado.

Conclusiones

En la población estudiada existe una alta prevalencia de factores de riesgo cardiovasculares, dentro de los cuales predomina los trastornos del metabolismo de los lípidos. Sin embargo, aunque débil, no hay correlación estadísticamente significatava entre los niveles de PCR ultrasensible y el riesgo cardiovascular según la escala de Framingham (correlación 0,209 significancia 0,1).

Tampoco hay correlación entre los niveles de HDL, LDL, índice de masa corporal con los niveles de PCR ultrasensible Figura 2, 3 y 4.

En la literatura médica publicada sobre PCR ultrasensible y su relación con el riesgo cardiovascular los resultados son muy divergentes con los encontrados en este estudio. En todos los reportes describen una asociación positiva y proporcional entre las variables estudiadas sin embargo las cohortes estudiadas han pertenecido a grupos de pacientes diseñados para tal fin.

Una posible causa por lo cual no se encontró correlación es que en la población estudiada la prevalencia de eventos coronarios previos es muy baja y para establecer esta correlación es necesario hacer estudios poblacionales con tamaños de muestras más grandes.

En la actualidad la AHA, basada en evidencia grado IIB, recomienda medir rutinariamente PCR en pacientes con riesgo cardiovascular moderado o alto.

Referencias

[1]Braunwald E. **Shattuck lecture--cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities**. New England Journal of Medicine. 1997 Nov 6;337(19):1360-9.

[2]Ross R. **Atherosclerosis--an inflammatory disease**. New England Journal of Medicine. 1999 Jan 14;340(2):115-26

[3] Lei KJ, Liu. **Genomic DNA sequence for human C-reactive protein**. J Biol Chem. 1985 Oct 25;260(24):13377-83

[4] Shrive AK. **Three dimensional structure of human C-reactive protein**. Nat Struct Biol. 1996 Apr;3(4):346-54.

[5] Pepys MB, **C-reactive protein: a critical update**. J Clin Invest. 2003 Jun;111(12):1805-12.

[6] Tillett WS. **Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus**. *J Exp Med*. 1930;52:561–571.

[7] Black S, **C-reactive Protein**.J Biol Chem. 2004 Nov 19;279(47):48487-90

[8] Calabro P. **Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells**. Circulation. 2003 Oct 21;108(16):1930-2.

[9] Libby P. **Inflammation and atherosclerosis**. Circulation. 2002 Mar 5;105(9):1135-43.

[10] Ross R. **Atherosclerosis--an inflammatory disease**. New England Journal of Medicine. 1999 Jan 14;340(2):115-26.

[11] Torres J. **Clinical use of high sensitivity C-reactive protein for the prediction of adverse cardiovascular events.** Current opinion in cardiology. 2003, 18:471-478

[12] Wolfgang K. **Refinement of the Association of Serum C-reactive Protein Concentration and Coronary Heart Disease Risk by Correction for Within-Subject Variation over Time.** American Journal of Epidemiology. 2003;158:357–364

[13] Donald M. **Narrative Review: Assessment of C-Reactive Protein in Risk Prediction for Cardiovascular Disease.** Annals of Internal Medicine**.** 2006;145:35-42

[14] ThomasW. **Multiple Biomarkers for the Prediction of First Major Cardiovascular Events and Death**. New England Journal of Medicine. 2006;355:2631-9.

[15] Asher J. **Statins and C-reactive protein levels.** Journal of Clinical Hypertension. 2007 Aug;9(8):622-8

[16] Wilson P. **Prediction of Coronary Heart Disease Using Risk Factor Categories.** Circulation 1998;97;1837-1847