

Correlação entre Medidas de Proteína C-Reativa pelos Métodos de Nefelometria e Turbidimetria em Pacientes com Angina Instável ou Infarto Agudo do Miocárdio sem Supradesnível do Segmento ST

Luís C. L. Correia, José C. Lima, Gary Gerstenblith, Luís P. Magalhães, Agnaluce Moreira, Octávio Barbosa Jr., Juliana Dumet, Luiz Carlos S. Passos, Argemiro D'Oliveira Júnior, José Péricles Esteves

Salvador, BA - Baltimore, MD, EUA

Objetivo - Avaliar o desempenho do método turbidimétrico de proteína c-reativa como marcador inflamatório em pacientes internados com síndromes coronarianas agudas sem supradesnível do segmento ST.

Métodos - Amostras séricas obtidas na admissão de 68 pacientes (66 ± 11 anos, 40 homens) na fase aguda de angina instável ou infarto agudo do miocárdio sem supradesnível do segmento ST foram utilizadas para medidas de proteína c-reativa pelos métodos de nefelometria e turbidimetria.

Resultados - A mediana dos valores de proteína c-reativa foi 0,47 mg/dL por nefelometria e 0,5 mg/dL por turbidimetria. Observou-se forte associação linear entre os 2 métodos, coeficiente de regressão ($\beta=0,75$; 95% IC=0,70-0,80) e coeficiente de correlação ($r=0,96$; $p<0,001$). A diferença média entre os valores de cada método foi $0,02 \pm 0,91$ mg/dL e a concordância na detecção de proteína c-reativa >1 mg/dL foi 100%.

Conclusão - Em pacientes com síndromes coronarianas agudas, medidas de proteína c-reativa obtidas pelo método turbidimétrico possuem forte associação linear com o método nefelométrico e perfeita concordância na detecção de proteína c-reativa elevada.

Palavras-chave: proteína c-reativa, método de turbidimetria, síndromes coronarianas agudas

Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Departamento de Cardiologia, Hospital Português, Salvador, BA, Brasil e Divisão de Cardiologia, Johns Hopkins Hospital, Baltimore, MD, EUA.

Correspondência: Luís Cláudio Lemos Correia - Rua do Tarumã, 90/1002 - 41810-440 - Salvador, BA - E-mail: lucorrei@terra.com.br

Recebido para publicação em 28/10/02

Aceito em 17/3/03

Inflamação é um fenômeno intimamente associado à fisiopatologia da doença aterosclerótica¹, sendo a medida plasmática de proteína c-reativa um forte marcador independente de eventos cardiovasculares em indivíduos sadios² e em pacientes com síndromes coronarianas agudas³.

Em indivíduos estáveis, valores de proteína c-reativa maiores que 0,3 mg/dL estão associados a maior risco de eventos cardiovasculares futuros⁴, tornando-se necessário um método de alta sensibilidade, como nefelometria, para discriminar pacientes de alto risco. Durante síndromes coronarianas agudas observa-se aumento da atividade inflamatória e a distribuição dos valores de proteína c-reativa é desviada para cima⁵. Conseqüentemente, o método turbidimétrico, embora tipicamente menos sensível que nefelometria, tem o potencial de ser aplicado como preditor de risco nesse tipo de paciente.

Com o intuito de avaliar o desempenho do método turbidimétrico de proteína c-reativa como marcador inflamatório em pacientes com síndromes coronarianas agudas, correlacionamos medidas pareadas realizadas pelos métodos turbidimétrico e nefelométrico em amostras plasmáticas obtidas no momento da admissão hospitalar de pacientes com angina instável ou infarto sem supradesnível do segmento ST.

Métodos

Pacientes admitidos na unidade coronariana de nossa Instituição devido a angina instável ou infarto agudo do miocárdio sem supradesnível do segmento ST, entre dezembro/00 e janeiro/02, foram consecutivamente avaliados para inclusão no estudo. Critérios de inclusão consistiram de desconforto torácico nas últimas 48h associado a infradesnível transitório do segmento ST ($\geq 0,5$ mm) ou inversão de

onda T ($\geq 1,0$ mm) em pelo menos 2 derivações contíguas do eletrocardiograma e/ou troponina I positiva ($>1,0$ ng/dL). Infarto na admissão foi definido por troponina I positiva. Pacientes com infarto e supradesnível do segmento ST ou bloqueio de ramo esquerdo de 3º grau não foram incluídos.

Amostras de sangue obtidas na chegada ao setor de emergência foram utilizadas para dosagem simultânea de proteína c-reativa pelos métodos turbidimétrico e nefelométrico, ambos comercialmente disponíveis. Pelo método turbidimétrico (Biotéctica Indústria e Comércio, Varginha, MG, Brasil) a aglutinação de partículas de látex recobertas com anticorpos antiproteína c-reativa é quantificada pela absorção da luz por tais partículas⁶ (limite de detecção 0,4 mg/dL). O método nefelométrico (Dade Behring Inc., Newark, DE, USA) mede a aglutinação das partículas recobertas por anticorpos pela intensidade da luz refletida (limite de detecção 0,0175 mg/dL)⁷.

Associação linear entre os dois métodos de proteína c-reativa foi expressa pelo coeficiente de regressão (β) e coeficiente de correlação (r), considerando a medida pelo método nefelométrico como variável independente e como variável dependente, o método turbidimétrico. Como a distribuição dos valores de proteína c-reativa por ambos os métodos não foi normal (Shapiro-Wilk test: $p < 0,0001$), o coeficiente de correlação não paramétrico Spearman foi utilizado. Análise de limites de concordância entre turbidimetria e nefelometria foi realizada de acordo com a técnica de Bland e Altman⁸. Nessa análise, a associação entre a diferença e média das duas medidas é representada graficamente e são calculados a média da diferença e o limite de concordância (2 desvios-padrão da diferença). Além disso, valores elevados de proteína c-reativa foram definidos como aqueles >1 mg/dL⁴ e o nível de concordância entre os 2 métodos na detecção de proteína c-reativa elevada foi acessado. A fim de corrigir para influência dos valores extremos nas análises de regressão e correlação, uma análise secundária foi feita após exclusão de 4 pacientes cujos valores de proteína c-reativa foram definidos como discrepantes⁹ pelos seguintes critérios: resíduos studentizados ≥ 2 , leverage > 2 p/n,

influência no coeficiente de regressão $> 2/\sqrt{n}$, influencia na linha de regressão $> 2/\sqrt{p/n}$ (p: número de parâmetros = 2 e n: número de observações = 64).

Como objetivos secundários, preditores de risco (escore TIMI-Risk, troponina positiva, depressão do segmento ST na admissão, isquemia ao Holter realizado nas primeiras 48h da fase aguda e comprometimento coronariográfico triarterial), eventos cardiovasculares durante a hospitalização (morte, infarto ou revascularização urgente) e após a alta (morte, infarto ou hospitalização por angina) foram comparados entre os grupos com proteína c-reativa elevada e proteína c-reativa normal pelo teste do qui-quadrado ou de Fisher para variáveis categóricas e teste Rank-Sum de Wilcoxon ou teste t de Student para variáveis contínuas. Programa estatístico SPSS versão 9.0 foi utilizado para análise dos dados.

Resultados

Proteína c-reativa foi dosada em 68 pacientes, 34 com infarto do miocárdio e 34 com angina instável. A média de idade da população era 66 ± 11 anos, sendo 40 homens, 5 tabagistas, 24 diabéticos e 29 em uso diário de ácido acetilsalicílico. Vinte e sete pacientes apresentavam infradesnível do segmento ST na admissão, 5 tinham fração de ejeção pelo ecocardiograma $< 45\%$, e 16 dos 43 pacientes que realizaram coronariografia apresentavam obstrução $\geq 75\%$ nos três territórios arteriais.

O tempo transcorrido entre o início dos sintomas e a dosagem de proteína c-reativa foi $7,8 \pm 7,8$ h. As medidas de proteína c-reativa pelo método turbidimétrico variaram de 0 mg/dL a 15 mg/dL, com mediana de 0,5 mg/dL, e pelo método nefelométrico de 0,03 mg/dL a 22 mg/dL, mediana de 0,47 mg/dL. Houve forte associação linear entre as medidas dos 2 métodos, de acordo com o coeficiente de regressão ($\beta = 0,75$; 95% IC = 0,70-0,80) e o coeficiente de correlação ($r = 0,96$; $p < 0,001$). A força da associação foi mantida após exclusão das 4 medidas extremas ($\beta = 1,08$; 95% CI = 1,0-1,2; $r = 0,96$; $p < 0,001$) (fig. 1). A diferença média entre proteína c-reativa por nefelometria e turbidimetria foi $0,02 \pm 0,91$

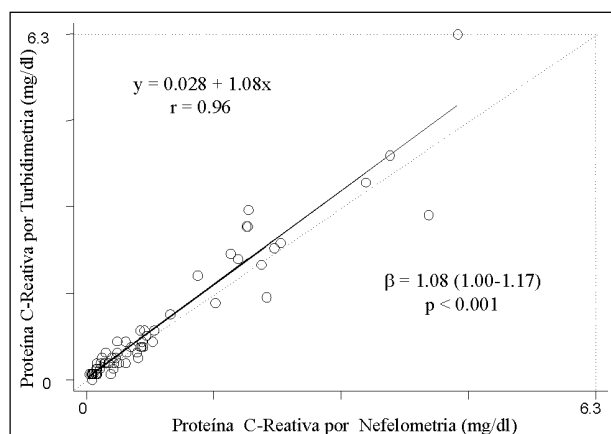


Fig. 1 - Regressão linear simples tendo proteína c-reativa por nefelometria como variável independente e proteína c-reativa por turbidimetria como variável dependente. Linha tracejada indica correlação máxima; linha sólida indica reta de regressão.

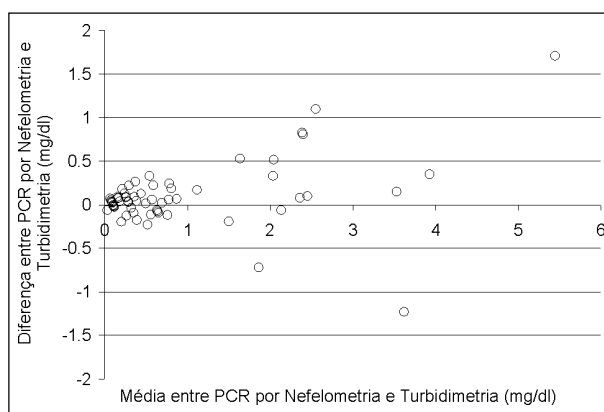


Fig. 2 - Gráfico de Bland-Altman comparando valores de proteína c-reativa por turbidimetria and nefelometria. O eixo X indica a média dos valores de proteína c-reativa por ambos os métodos em cada pacientes; o eixo Y indica a diferença dos valores de proteína c-reativa por ambos os métodos em cada pacientes.

mg/dL e os limites de concordância - 1,8 mg/dL e + 1,8 mg/dL. Após exclusão dos *outliers*, a diferença média foi 0,10 ± 0,37 mg/dL e os limites de concordância - 0,6 mg/dL e + 0,8 mg/dL (fig. 2). Usando o ponto de corte de 1 mg/dL, observou-se 100% de concordância entre os 2 métodos na detecção de proteína c-reativa elevada.

De acordo com ambos os métodos de proteína c-reativa, 19 pacientes apresentavam proteína c-reativa elevada e 49 a tinham normal. A tabela I compara os 2 grupos quanto às características clínicas e eventos cardiovasculares. Em resumo, pacientes com proteína c-reativa elevada mostraram tendência a maior duração de isquemia quando comparados a aqueles com proteína c-reativa normal. Da mesma forma, depressão do segmento ST e doença triarterial tenderam a ser mais freqüentes no grupo de proteína c-reativa elevada. Não houve diferença entre os grupos quanto a troponina positiva, escore TIMI-Risk e eventos recorrentes hospitalares ou após a alta.

Discussão

O presente estudo demonstra que em pacientes com síndromes coronarianas agudas sem supradesnível do segmento ST níveis séricos de proteína c-reativa mensurados pelos métodos de nefelometria e turbidimetria apresentam forte associação linear, representada por alto coeficiente de correlação e significativo coeficiente de regressão. Embora os limites de concordância mostram que os valores dos 2 métodos não são idênticos, a capacidade da turbidimetria em detectar proteína c-reativa elevada foi a mesma da nefelometria. Enquanto o método nefelométrico é validado por diversos estudos como preditor de risco em pacientes com síndromes coronarianas agudas^{3,10-13}, apenas um estudo avaliou o método turbidimétrico neste cenário clínico, demonstrando positivo valor preditor¹⁴.

O percentil 25 de proteína c-reativa corresponde a 0,05

mg/dL em homens saudáveis¹⁵ e 0,15 mg/dL em mulheres saudáveis². A partir do segundo quartil de proteína c-reativa já observa-se aumento do risco cardiovascular e, por esse motivo, níveis baixos de atividade inflamatória precisam ser discriminados, sendo necessário um método de alta sensibilidade. Por outro lado, a atividade inflamatória em pacientes com síndromes coronarianas agudas está exacerbada. Por exemplo, a mediana de proteína c-reativa por nefelometria em nosso estudo foi 0,47 mg/dL, comparada a 0,15 mg/dL na população saudável do *Physician's Health Study*¹⁵. Assim, em pacientes com síndromes coronarianas agudas o ponto de corte que define risco cardiovascular é desviado para cima, definido como 1 mg/dL pelo recente Relatório do *American Heart Association and Center for Disease Control*. Valor que está dentro do típico limite de detecção dos métodos turbidimétricos (≥ 0,4 mg/dL), justificando a potencial utilidade desta metodologia na medida de proteína c-reativa para estimativa de risco cardiovascular em pacientes com síndromes coronarianas agudas.

Forte correlação entre os 2 métodos de proteína c-reativa foi recentemente demonstrada por Roberts e cols.¹⁶ em doadores de sangue e por Hamwi e cols.¹⁷ em uma população de indivíduos ambulatoriais referidos para a medida de proteína c-reativa por diferentes razões clínicas. Roberts e cols.¹⁶ demonstraram linearidade satisfatória (erro sistemático < 10%) para valores a partir de 0,02 mg/dL e precisão (coeficiente de variação < 10%) a partir de 0,06 mg/dL em 9 diferentes métodos de turbidimetria comercialmente disponíveis. Hamwi e cols.¹⁴ descreveram coeficientes de variação < 5% a partir de 0,07 mg/dL em 4 diferentes métodos de turbidimetria. Embora não tenha comparado com o método nefelométrico, Mueller e cols.¹⁴ demonstraram em 1.042 pacientes com síndromes coronarianas agudas que a medida de proteína c-reativa por turbidimetria realizada na admissão hospitalar possui valor preditor independente para mortalidade a curto e longo prazo. Nosso trabalho não avaliou primariamente eventos cardiovasculares, mas estende os achados de correlação de Roberts e cols. e Hamwi e cols. para a população de síndromes coronarianas agudas, mostrando também perfeita concordância na detecção de proteína c-reativa elevada. Apesar de preditores de risco terem sido mais freqüentes em pacientes com proteína c-reativa > 1,0 mg/dL, eventos recorrentes não foram previstos pelos níveis de proteína c-reativa. No entanto esta análise é limitada pelo pequeno tamanho amostral, não se constituindo em nosso objetivo primário.

O método original para a medida de proteína c-reativa de alta sensibilidade foi o ELISA, tal como utilizado nos estudos epidemiológicos iniciais^{15,18,19}. No entanto, esta metodologia é utilizada primariamente em pesquisa e não é adequada para uso na rotina clínica. Portanto, o método nefelométrico foi validado para este objetivo e tornou-se comercialmente disponível. Mais recentemente, métodos turbidimétricos têm sido desenvolvidos e comercializados. A utilização de turbidimetria para medir baixos graus de inflamação faz a medida de proteína c-reativa facilmente disponível e facilita sua utilização como preditor de risco em

Tabela I - Características clínicas e eventos cardiovasculares com e sem proteína C-reativa elevada pela turbidimetria

	PCR > 1 mg/dl	PCR ≤ 1 mg/dl	p
Número de pacientes	19	49	
Idade	66 ± 13	64 ± 12	0,59
Homens	11 (58%)	29 (59%)	0,92
TIMI-Risk (média)	3,2 ± 1,6	3,0 ± 1,7	0,73
TIMI-Risk > 4	4 (21%)	11 (22%)	0,90
Doença triarterial	7/12 [†] (58%)	9/31 [†] (29%)	0,07
Infradesnível do ST (admissão)	11 (58%)	19 (39%)	0,15
Troponina positiva	11 (58%)	23 (47%)	0,42
FEVE < 45%	2 (13%)	2 (5%)	0,35
Diabetes	8 (42%)	16 (33%)	0,46
Isquemia ao Holter (minutos)	45 ± 131	16 ± 83	0,11
Eventos recorrentes hospitalares	2 (11%)	8 (16%)	0,70
Tempo de seguimento (meses)	6,9 ± 3,7	7,2 ± 3,7	0,84
Eventos recorrentes após a alta	3/16* (19%)	9/44* (21%)	1,0

† Numerador: pacientes com lesão coronariana >50%; denominador: pacientes submetidos a cateterismo. * Numerador: pacientes com eventos; denominador: pacientes com seguimento; FEVE: fração de ejeção do ventrículo esquerdo

síndromes coronarianas agudas, considerando que nem sempre tem-se um nefelômetro disponível. Por outro lado, só um estudo prospectivo validou o método turbidimétrico como preditor de risco¹⁴ e nossos limites de concordância mostram que os valores dos 2 métodos não são idênticos. Da mesma forma, os estudos que confirmam boa correlação entre os métodos mostram que existem diferenças nos valores de proteína c-reativa e indicam a necessidade de melhor padronização dos pontos de corte^{16,17}. Portanto, novos estu-

dos serão necessários para estabelecer se os mesmos pontos de corte do método nefelométrico deverão ser usados pelo método turbidimétrico em síndromes coronarianas agudas.

Em conclusão, em pacientes com síndromes coronarianas agudas sem supradesnível do segmento ST, medidas de proteína c-reativa obtidas pelo método turbidimétrico possuem forte associação linear com o método nefelométrico e perfeita concordância na detecção de proteína c-reativa elevada.

Referências

1. Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-126.
2. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342: 836-43.
3. Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin L. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. *Fragminham during Instability in Coronary Artery Disease*. *N Engl J Med* 2000; 343: 1139-47.
4. 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* 2003; 107: 499-511.
5. Berk BC, Weintraub WS, Alexander RW. Elevation of C-reactive protein in "acute" coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1990; 65: 168-72.
6. Sung HJ, Kim JH, Park R, Lee KR, Kwon OH. Evaluation of Denka-Seiken turbidimetric high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 840-5.
7. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999; 45: 2136-41.
8. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1: 307-310.
9. Hoaglin DC. Diagnostics. In: Hoaglin DC, Moore DS. *Perspectives on Contemporary Statistics*, eds., 1992.
10. Benamer H, Steg PG, Benessiano J, et al. Comparison of the prognostic value of C-reactive protein and troponin I in patients with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1998; 82: 845-50.
11. Heeschen C, Hamm CW, Bruemmer J, Simoons ML. Predictive value of C-reactive protein and troponin T in patients with unstable angina: a comparative analysis. CAPTURE Investigators. Chimeric c7E3 AntiPlatelet Therapy in Unstable angina Refractory to standard treatment trial. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 1535-42.
12. Morrow DA, Rifai N, Antman EM, et al. C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: a TIMI 11A substudy. *Thrombolysis in Myocardial Infarction*. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 1460-5.
13. Rebuzzi AG, Quaranta G, Liuzzo G, et al. Incremental prognostic value of serum levels of troponin T and C-reactive protein on admission in patients with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1998; 82: 715-19.
14. Mueller C, Buettner HJ, Hodgson JM, et al. Inflammation and long-term mortality after non-ST elevation acute coronary syndrome treated with a very early invasive strategy in 1,042 consecutive patients. *Circulation* 2002; 105: 1412-15.
15. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997; 336: 973-9.
16. Roberts WL, Moulton L, Law TC, et al. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. *Clin Chem* 2001; 47: 418-25.
17. Hamwi A, Vukovich T, Wagner O, et al. Evaluation of turbidimetric high-sensitivity C-reactive protein assays for cardiovascular risk estimation. *Clin Chem* 2001; 47: 2044-6.
18. Tracy RP, Lemaitre RN, Psaty BM, et al. Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly: results from the Cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 1997; 17: 1121-7.
19. Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. *Multiple Risk Factor Intervention Trial*. *Am J Epidemiol* 1996; 144: 537-47.