

Velocidade da Onda de Pulso e Estratificação do Risco Cardiovascular [14]

M. I. MENDONÇA, R. PALMA REIS, A. C. SOUSA, S. GOMES, P. FARIA, A. PEREIRA, B. SILVA, M. SERRÃO, N. SANTOS, F. S. SOUSA, J.A. SILVA, J. SOUSA, I. ORNELAS, S. FREITAS, ALMADA CARDOSO, J. J. ARAÚJO

Unidade de Investigação do Hospital Central do Funchal, Serviço de Cardiologia do Hospital Central do Funchal, Funchal, Portugal
Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal

Rev Port Cardiol 2009; 28 (2): 155-171

RESUMO

Introdução: A compliance arterial ou distensibilidade é uma determinante fundamental nas doenças cardiovasculares, apresentando grande interesse a sua medição não invasiva. A velocidade da onda de pulso (VOP) é usada, actualmente, como um índice de distensibilidade arterial.

Objectivos: Avaliar se a VOP constitui um factor de risco, independente, para doença das artérias coronárias (DAC). Investigar se a determinação da mesma pode constituir uma ferramenta útil, na estratificação do risco cardiovascular, tanto nos indivíduos assintomáticos, como nos doentes com DAC

População e Métodos: 811 indivíduos, 301 consecutivos com DAC, confirmada por coronário-angiografia, média de idade 53,7±10,0 anos e 510 assintomáticos, seleccionados das listas eleitorais, média de idade 46,1±10,0 anos. Os indivíduos assintomáticos formavam o grupo A e eram subdivididos em A1 (grupo sem HTA, dislipidemia e ou diabetes) e A2 (grupo com HTA, dislipidemia, e ou diabetes). Os doentes coronários constituíam o grupo B, também sub dividido em B1 sem HTA, dislipidemia e ou diabetes e B2 com HTA, dislipidemia e ou diabetes. Os dados foram expressos em média ± desvio padrão (DP). O teste t de *Student* foi usado para comparar as variáveis contínuas e o χ^2 para comparar as variáveis categóricas.

A força da correlação independente entre as variáveis contínuas foi avaliada segundo Pearson. Finalmente, foi efectuado um modelo de regressão logística (*step by step*) para avaliar quais as variáveis que se relacionavam

ABSTRACT

Pulse wave velocity and coronary risk stratification

Background: Arterial compliance or stiffness is an important determinant of cardiovascular disease and there is considerable interest in its noninvasive measurement. Pulse wave velocity (PWV) is widely used as an index of arterial stiffness.

Aim: To determine whether PWV is useful for risk stratification in both healthy individuals and coronary patients

Methods: Control subjects, n=510, aged 46.1±11 years, with no history of coronary disease, were selected from electoral rolls, and coronary patients, n=301, aged 53.7±10 years, were selected from hospital patients with a history of coronary artery disease (CAD) confirmed by coronary angiogram (at least 75% obstruction of one of the main coronary vessels). The asymptomatic subjects without CAD formed Group A, and were subdivided into A1 (without hypertension, dyslipidemia and/or diabetes) and A2 (with hypertension, dyslipidemia and/or diabetes). The coronary patients formed Group B, who were also subdivided into B1, without these classic risk factors, and B2 with hypertension, dyslipidemia and/or diabetes. We used the Student's t test to compare continuous variables and the chi-square test to compare categorical data. The strength of correlation between continuous variables was tested by Pearson's linear correlation. Independent variables predictive of CAD were determined by backward logistic regression analysis.

de forma significativa e independente com a DAC. A análise estatística foi efectuada através do *software* SPSS for Windows, sendo o valor de $p < 0,05$ considerado significativo.

Resultados: Comparando os dois grupos, A1 e A2, no primeiro, a média da VOP foi significativamente mais baixa em relação ao A2. Comparando o grupo B1 e B2, também no grupo B1 a média da VOP é mais baixa. No grupo A1 a VOP correlacionou-se, segundo Pearson, com a idade, pressão arterial sistólica (PAS), diastólica e média, IMC, glicémia, colesterol total, LDL, relação CT/HDL, ApoB, triglicéridos, ingestão de álcool, relação cintura/anca (C/A), e proteína C reactiva(as). A correlação foi inversa com o colesterol HDL. No grupo A2 a correlação da VOP foi positiva com a idade, PAS, PAM, PAD, glicémia, CT/HDL e pressão do pulso (PP). No grupo B1 a correlação foi positiva e significativa com a idade, PAS, PAM, PAD e PP. Foi inversa com a fracção de ejeção do VE. No grupo B2, foi positiva e significativa com a idade, PAS, PAM, relação C/A, PP e homocisteína.

Conclusão: A VOP foi sempre, quer nos indivíduos assintomáticos quer nos doentes coronários, mais elevada nos grupos com maior número de factores de risco. Esta constatação sugere influência cumulativa dos factores de risco, no processo de rigidez arterial. Correlacionou-se de forma positiva e significativa, com alguns dos factores de risco clássicos e alguns dos novos marcadores bioquímicos de risco. Após análise de regressão logística, manteve-se na equação de forma significativa, mostrando ser um factor de risco independente para DAC. Assim, a avaliação da distensibilidade arterial, através da medição da VOP, poderá representar um método simples, rápido e não invasivo, capaz de estratificar o risco de DAC, tanto nos indivíduos assintomáticos com nos doentes coronários.

Palavras-Chave

Rigidez aórtica; Velocidade da onda de pulso;
Risco cardiovascular.

The statistical analysis was performed using SPSS for Windows version 11.0 and data were expressed as means \pm SD; a p value of 0.05 was considered significant.

Results: Comparing the two groups A1 and A2, mean PWV was significantly lower in group A1. Comparing B1 and B2, mean PWV was also significantly lower in group B1.

In group A1, PWV was significantly and positively correlated with age, body mass index, waist-to-hip ratio, alcohol consumption, total/HDL cholesterol ratio, systolic, diastolic and mean blood pressure (BP), blood glucose, apo B, triglycerides, and high-sensitivity C-reactive protein, unlike HDL which was inversely correlated (Pearson's coefficient). In group A2, PWV was significantly and positively correlated with age, alcohol consumption, total/HDL cholesterol ratio, systolic, diastolic and mean BP, blood glucose and pulse pressure (PP), but not HDL, which was inversely correlated with PWV. In group B1, PWV was only significantly and positively correlated with age, systolic, mean, and diastolic BP and PP, and presented a significant inverse correlation with ejection fraction. However, in the high-risk coronary population (group B2), there was a positive correlation with age, waist-to-hip ratio, systolic and mean BP, PP and homocysteine. After stepwise logistic regression, PWV remained in the model and proved to be a significant and independent risk factor for CAD.

Conclusion: The results of our study show that PWV is higher in high-risk groups and significantly correlated with many classic and new CAD risk markers, suggesting that there is a cumulative influence of risk factors in the development of arterial stiffness. We believe that PWV is a useful index of vascular status and hence cardiovascular risk and that it may be useful for risk stratification in both asymptomatic and coronary patients.

Key words

Aortic compliance; Pulse wave velocity;
Cardiovascular risk.

INTRODUÇÃO

O sistema arterial amortece as oscilações de pressão resultantes de uma ejeção ventricular intermitente, propagando as ondas de pressão e fluxo a uma certa velocidade que é determinada, essencialmente, pelas propriedades elásticas da parede arterial.⁽¹⁻²⁾ O impacto das ondas reflectidas no sistema vascular, tem implicações fisiológicas que nos dão informações úteis acerca do funcionamento das grandes artérias e da sua vaso-motricidade.⁽³⁾

A aorta é um órgão dinâmico com funções endócrinas, parácrinas e autócrinas, capaz de sofrer alterações dimensionais instantâneas (alterações da compliance ou distensibilidade). Estas alterações resultam de mecanismos reguladores complexos, comandados por factores hemodinâmicos, reflexos locais e sistémicos, activação neurohumoral, alterações na reactividade vascular que podem ser determinadas geneticamente e que originam alterações na estrutura e função da parede arterial, modulando a rigidez arterial e o risco de futuros eventos.⁽⁴⁻⁶⁾

Muitas situações fisiológicas podem contribuir para aumentar a rigidez arterial, como sejam a idade^(7,8), a menopausa⁽⁹⁾, a ingestão de sal⁽¹⁰⁾, além de outras já patológicas como a hipertensão arterial (HTA)⁽¹¹⁾, a diabetes *mellitus*⁽¹²⁾, a aterosclerose⁽¹³⁾, a insuficiência renal⁽¹⁴⁾ e a obesidade⁽¹⁵⁾, entre outras.

A aorta tem uma estrutura essencialmente elástica e é geralmente afectada pela arteriosclerose. As mudanças na estrutura elástica causadas pela arteriosclerose, reflectem-se no aumento da sua rigidez e diminuição da distensibilidade⁽¹⁶⁾, podendo as artérias coronárias ser afectadas simultaneamente. As propriedades elásticas da aorta são uma determinante importante da função ventricular esquerda e do fluxo sanguíneo coronário⁽¹⁷⁾.

A rigidez aórtica e diminuição da sua distensibilidade são marcadores de eventos coronários,⁽¹⁸⁾ pois a elevação da pressão arterial sistólica (PAS), resultante vai aumentar a pós carga do ventrículo esquerdo e a redução da pressão arterial diastólica (PAD) pode diminuir a perfusão coronária.

A rigidez arterial é assim predictor independente de doença coronária no homem⁽¹⁹⁾ e de eventos coronários recorrentes. Nos doentes com doença coronária confirmada vai aumentar

INTRODUCTION

The arterial system dampens the pressure oscillations caused by periodic ventricular ejection, the pressure waves of the flow propagating at a speed that is mainly determined by the elastic properties of the arterial wall⁽¹⁻²⁾. The effect of the reflected waves on the vascular system has physiological repercussions that can provide useful information on the functioning and vasomotility of the great vessels⁽³⁾.

The aorta is a dynamic organ with endocrine, paracrine and autocrine functions and undergoes instantaneous changes in compliance, i.e. size and shape. These changes are caused by complex regulatory mechanisms that are governed by hemodynamic factors, local and systemic reflexes, neurohumoral activation and changes in vascular reactivity, which may be determined genetically and which lead to alterations in the structure and function of the arterial wall, increasing arterial stiffness and the risk of future events⁽⁴⁻⁶⁾.

Many physiological situations can increase arterial stiffness, including ageing^(7,8), menopause⁽⁹⁾, and salt ingestion⁽¹⁰⁾, as well as pathologies such as hypertension (HT)⁽¹¹⁾, diabetes⁽¹²⁾, atherosclerosis⁽¹³⁾, and obesity⁽¹⁵⁾.

The structure of the aorta is largely elastic and it is susceptible to arteriosclerosis, which changes its stiffness and reduces its compliance⁽¹⁶⁾; the coronary arteries may be similarly affected. The elastic properties of the aorta are an important factor determining left ventricular (LV) function and coronary flow⁽¹⁷⁾.

Aortic stiffness and reduced compliance are markers of coronary events⁽¹⁸⁾, since the resulting rise in systolic blood pressure (SBP) increases LV afterload, while reduced diastolic blood pressure (DBP) decreases coronary perfusion.

Aortic stiffness is thus an independent predictor of coronary disease⁽¹⁹⁾ and of recurrent coronary events. In patients with known coronary disease it lowers the myocardial ischemic threshold and exacerbates subendocardial ischemia^(20,21).

The present study uses carotid-femoral pulse wave velocity (PWV) as an indirect index of aortic compliance and to assess arterial stiffness in the study population⁽²²⁾.

Our aim was to determine whether PWV is useful for risk stratification in both healthy individuals and coronary patients.

o limiar isquémico do miocárdio e agravar a isquemia sub-endocárdica.⁽²⁰⁻²¹⁾

No nosso estudo foi utilizada a VOP carotídeo-femoral como índice indirecto de distensibilidade arterial e o seu valor usado para avaliação da rigidez arterial, da população em estudo.⁽²²⁾

Foi nosso objectivo: Avaliar se a VOP constitui um factor de risco independente, para doença das artérias coronárias (DAC). Investigar se a determinação da mesma pode constituir uma ferramenta útil, na estratificação do risco cardiovascular, tanto nos indivíduos assintomáticos, como nos doentes com DAC.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo englobando participantes assintomáticos e doentes coronários, realizado a partir de Janeiro de 2001. Englobou um total de 811 indivíduos, 510 assintomáticos, idade média 46,1±11 anos, seleccionados das listas eleitorais e 301 doentes coronários, consecutivos, com uma idade média de 53,7±10 anos, cuja doença era comprovada por coronariografia com obstrução ≥75% de pelo menos um vaso coronário principal.

Os indivíduos assintomáticos, sem doença coronária diagnosticada, constituíam o grupo A e eram depois divididos em dois sub-grupos: A1 englobando os indivíduos sem hipertensão arterial (HTA), sem dislipidemia e sem diabetes e o sub-grupo A2 no qual eram englobados os indivíduos com HTA, dislipidemia e ou diabetes.

Os doentes coronários constituíram o grupo B e eram também divididos em dois sub-grupos: B1 que englobava os doentes com doença coronária mas sem HTA, dislipidemia ou diabetes, e B2 englobando os doentes coronários com HTA, dislipidemia e ou diabetes.

Os indivíduos assintomáticos eram sujeitos a exame clínico e ECG, para despiste de doença coronária, que era critério de exclusão do estudo. Nos casos em que surgiam dúvidas, procedíamos à realização de uma prova de esforço.

Todos (indivíduos assintomáticos e doentes coronários) completavam um questionário que incluía dados demográficos e factores de risco clássicos: idade, local de nascimento e residência, existência prévia de hipertensão arterial, diabetes *mellitus*, hábito de fumar, ingestão de álcool e tipo de actividade física. Procedia-se

METHODS

The study, which began in January 2001, included both asymptomatic individuals and coronary patients. Of the total of 811 participants, control subjects, n=510, aged 46.1±11 years, with no history of coronary disease, were selected from electoral rolls, and coronary patients, n=301, aged 53.7±10 years, were selected from hospital patients with a history of coronary artery disease (CAD) confirmed by coronary angiogram (at least 75% obstruction of one of the main coronary vessels).

The asymptomatic subjects without CAD formed Group A, and were subdivided into A1 (without hypertension [HT], dyslipidemia and/or diabetes) and A2 (with HT, dyslipidemia and/or diabetes).

The coronary patients formed Group B, and were also subdivided into B1 without these classic risk factors and B2 with HT, dyslipidemia and/or diabetes.

The control subjects underwent physical examination and ECG to screen for CAD, which was an exclusion criterion. Doubtful cases underwent exercise testing.

All subjects (coronary patients and controls) completed a questionnaire on demographic data and classic risk factors (age, place of birth and residence, previous HT, diabetes, smoking, alcohol consumption and physical exercise). Weight, height, and waist and hip circumference were measured and SBP, DBP and mean blood pressure (MBP), heart rate (HR), carotid-femoral PWV and pulse pressure (PP) were recorded.

Blood pressure (BP) and HR were measured with the subject seated, after 5 minutes' rest, using an automatic device (Welch Allyn) validated and approved by the WHO/ISH. Three measurements, two minutes apart, were made and the arithmetic mean was calculated. MBP was obtained using the formula $MBP = DBP + (SBP - DBP/3)$.

Patients were classified as having HT if they reported taking antihypertensive medication or if they had SBP ≥140 mmHg and/or DBP ≥90 mmHg⁽²³⁾.

Carotid-femoral PWV is the speed of the pressure wave from the wall of the carotid artery to the femoral artery, and is calculated using the formula $V = D / \Delta T$, where D is the distance traveled by the pulse wave between the two

também ao registo do peso, altura, perímetro da cintura e anca, sendo-lhes registada a pressão arterial sistólica, diastólica e média (PAM), a frequência cardíaca (FC) e determinada a velocidade da onda de pulso carotídeo-femoral (VOP) e a pressão do pulso (PP).

As determinações da pressão arterial (PA) e da FC, eram efectuadas, com o indivíduo sentado, após repouso de 5 minutos, tendo sido usado um aparelho automático – Welch Allyn, homologado e validado pela WHO/ISH. Eram efectuadas três medições (separadas de dois minutos) e feita a média aritmética. A PAM era calculada através da fórmula $PAM = PAD + (PAS - PAD) / 3$.

Os doentes eram classificados como tendo hipertensão arterial (HTA), caso referissem estar a cumprir medicação anti-hipertensora ou apresentassem uma tensão arterial sistólica ≥ 140 mm Hg e ou uma pressão diastólica ≥ 90 mm Hg.⁽²³⁾

A VOP carotídeo femoral é a velocidade à qual se desloca a onda de pressão ao longo da parede da artéria carótida até à artéria femoral e é calculada através da fórmula, $V = D / \Delta T$, onde D representa a distância percorrida pela onda de pulso entre os dois locais de registo, e ΔT o tempo necessário para que a onda se desloque da carótida até à femoral.

Este tempo representa o intervalo ou atraso na subida do “sopé” das duas ondas de pulso, ou seja, o tempo necessário para a onda de pulso “viajar” da carótida para a femoral.⁽²⁴⁻²⁶⁾

A determinação da VOP (carotídeo-femoral) era efectuada com um aparelho automático COMPLIOR (COLSON), o qual permite o registo da onda de pulso *on line* e o cálculo automático da sua velocidade através de dois transdutores, um posicionado na base do pescoço no local da artéria carótida comum e outro sobre a artéria femoral, como foi descrito previamente⁽²⁷⁾.

O indivíduo era considerado fumador se fumava ou tinha menos de 5 anos de abstenção tabágica.

O Índice de Massa Corporal (IMC) era calculado pela fórmula $\text{peso}/\text{altura}^2$, sendo a obesidade definida por um índice de massa corporal superior ou igual a 30 Kg/m^2 ⁽²⁸⁾.

A diabetes era considerada caso se utilizassem anti-diabéticos orais, ou insulina ou o valor da glicémia basal fosse superior a 7 mmol/l ou 126 mg/dl ⁽²⁹⁾. A dislipidémia era considerada se o indivíduo fazia medicação anti-dislipidémica e definida pela existência de um valor de colesterol

recording sites and ΔT is the time taken for it to travel from the carotid to the femoral artery. This time represents the interval between the upslopes of the two pulse waves⁽²⁴⁻²⁶⁾.

PWV was determined using a Complior automatic device (Colson) which records the pulse wave on-line and calculates its velocity by means of two probes, one positioned at the base of the neck at the site of the common carotid artery and the other over the femoral artery, as described elsewhere⁽²⁷⁾.

Subjects who smoked or had ceased less than five years previously were considered smokers.

Body mass index (BMI) was calculated by dividing weight in kilograms by the square of height in meters. Obesity was defined as a BMI of 30 or over⁽²⁸⁾.

Diabetes was considered to be present in patients taking oral antidiabetics or insulin and in those with fasting blood glucose of over 7.8 mmol/l or 126 mg/dl ⁽²⁹⁾. Dyslipidemia was considered to be present in individuals taking lipid-lowering medication or with total cholesterol of $\geq 5.2 \text{ mmol/l}$ or 200 mg/dl , LDL cholesterol of $\geq 3.4 \text{ mmol/l}$ or 130 mg/dl , HDL cholesterol of $\leq 40 \text{ mg/dl}$, and triglycerides of $\geq 1.5 \text{ mmol/l}$ or 150 mg/dl , or total/HDL-cholesterol (TC/HDL) ratio of ≥ 5 ⁽³⁰⁾.

Blood samples were taken from all subjects to assess blood glucose, total, HDL and LDL cholesterol, triglycerides, apolipoprotein B100, lipoprotein(a), homocysteine, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and fibrinogen.

For measurement of blood glucose, total, HDL and LDL cholesterol, blood was extracted after 14 hours' fasting into dry tubes and centrifuged 30 minutes later at $3500 g$. Serum total, HDL and LDL cholesterol and triglycerides were determined with a Hitachi 911 auto-analyzer by an enzymatic technique. A direct enzymatic technique was used for HDL and LDL cholesterol. Biochemical risk markers (lipoprotein(a), apolipoprotein B100, and hs-CRP) were quantified by nephelometry using a Behring BN 100 automatic system. Homocysteine was measured by fluorescence polarized immunoassay using an Abbot IMX automatic device.

To measure fibrinogen, samples were also taken with the patient fasting, into a tube containing sodium citrate, using a Behring BCS automatic analyzer.

total $\geq 5,2$ mmol/l ou 200 mg/dl, colesterol LDL $\geq 3,4$ mmol/l ou 130 mg/dl, HDL ≤ 40 mg/dl e triglicéridos $\geq 1,5$ mmol/l ou 150 mg/dl, ou relação colesterol total/HDL ≥ 5 .⁽³⁰⁾

A todos era feita colheita de sangue para determinações bioquímicas (glicémia, colesterol total, HDL e LDL, triglicéridos, apolipoproteína B100, Lp (a), homocisteína, proteína C reactiva de alta sensibilidade (as) e fibrinogénio).

Para determinar as concentrações séricas de glucose, colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL e colesterol LDL, o sangue era extraído, após 14 horas de jejum, em tubo seco e centrifugado meia hora depois a 3.500 g. Os valores de colesterol total, colesterol LDL, HDL e triglicéridos eram quantificados, no soro, com um auto analisador "Hitachi 911," através de uma técnica enzimática. Para o colesterol HDL e LDL era usada uma técnica enzimática directa. Os marcadores bioquímicos de risco: Lp (a), apolipoproteína B100 e proteína C reactiva de alta sensibilidade eram quantificados por um aparelho automático "Behring" BN 100 (técnica de Nefelometria). A homocisteína era determinada pela técnica de imunoensaio de Fluorescência Polarizada (FPIA), num aparelho automático IMX (Abbot).

Em relação ao fibrinogénio a colheita era também feita com o doente em jejum, para tubo com citrato de sódio, utilizando-se um analisador automático "Behring BCS".

Análise estatística

Todas as variáveis contínuas são apresentadas com a respectiva média \pm DP.

Procedeu-se à análise bivariada, usando o teste t de Student para comparar as variáveis contínuas e o χ^2 para comparar as variáveis categóricas. A força da correlação independente entre as variáveis contínuas foi efectuada pelo teste de Pearson.

Finalmente, a fim de investigar se a VOP se associava de forma significativa e independente com a DAC, efectuamos uma análise de regressão logística (*step by step*), em que a variável dependente era "ter ou não DAC" tendo sido incluídas no modelo todas as variáveis estudadas. A análise dos dados foi feita pela utilização do software estatístico SPSS for Windows versão 11.5, Chicago, Illinois e considerou-se um valor $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

Statistical analysis

All continuous variables are presented as means \pm standard deviation.

Bivariate analysis with the Student's t test was used to compare continuous variables and the chi-square test was used to compare categorical data. The strength of independent correlation between continuous variables was tested by Pearson's linear correlation.

In order to test whether PWV was significantly and positively correlated with CAD, stepwise logistic regression analysis was performed, in which the dependent variable was the presence or absence of CAD and all the variables studied were included in the model.

The statistical analysis was performed using SPSS for Windows version 11.5 (Chicago, Illinois) and a p value of 0.05 was considered significant.

RESULTS

Comparison of the groups in bivariate analysis showed that subjects in group A1 had a significantly lower mean age, less family history of CAD, and lower alcohol consumption, BMI, SBP, DBP and MBP, fasting blood glucose, total and LDL cholesterol, TC/HDL ratio, lipoprotein(a), apolipoprotein B and hs-CRP than group A2. This group also had significantly lower mean PWV and PP. However, it also included a higher percentage of smokers, although this did not reach statistical significance (*Table I*).

Table I. Bivariate analysis of subjects without CAD (groups A1 and A2)

	Group A1 (n=343)	Group A2 (n=167)	P
Age (years)	43.7 \pm 12.1	55.2 \pm 9.6	0.0001
Male (%)	175 (51%)	120 (71.9%)	0.009
Family history (%)	34 (9.9%)	28 (16.8%)	0.02
Smoking (%)	96 (31.2%)	41 (24.87%)	NS
Alcohol consumption (g/day)	18.3 \pm 39.3	38.9 \pm 55.5	<0.0001
SBP (mmHg)	119.9 \pm 10.2	143.2 \pm 18.1	<0.0001
DBP (mmHg)	71.9 \pm 8.5	83.9 \pm 10.2	<0.0001
MBP (mmHg)	87.9 \pm 8.5	103.6 \pm 11.7	<0.0001
Blood glucose (mg/dl)	92.6 \pm 10.3	108.9 \pm 37.9	<0.0001
BMI	25.3 \pm 3.6	28.6 \pm 3.9	<0.0001
Total cholesterol (mg/dl)	209.3 \pm 39.8	235 \pm 49.3	<0.0001
LDL cholesterol (mg/dl)	110.2 \pm 33.2	123.9 \pm 43.1	<0.0001
HDL cholesterol (mg/dl)	60.1 \pm 17	51 \pm 15.4	<0.0001
TC/HDL ratio	3.7 \pm 1.2	4.9 \pm 1.4	<0.0001

RESULTADOS

Na análise bivariada, ao comparar os grupos, verificamos que os indivíduos do grupo A1 em relação ao grupo A2, apresentam de forma significativa, uma média etária mais baixa, menor número de casos de DAC na família, menor ingestão de álcool, menor IMC, tinham PAS, PAD, PAM mais baixas, menor valor de glicemia em jejum CT, LDL, triglicérides, relação CT/HDL, Lp(a), Apo B e PCR (as). Este grupo tinha igualmente um valor médio de VOP e PP, significativamente mais baixo. No entanto, apresenta uma percentagem mais elevada de fumadores, embora não atingisse significância estatística (*Quadro I*).

Quadro I. Análise bivariada dos grupos sem doença coronária (Grupo A1 e A2)

	Grupo A1 (n=343)	Grupo A2 (n=167)	Valor de p
Idade (anos)	43,7±12,1	55,2±9,6	0,0001
Sexo masculino%	175 (51%)	120 (71,9%)	0,009
História familiar %	34 (9,9%)	23 (16,8%)	0,02
Hábito de fumar %	96 (31,2%)	41 (24,87%)	ns
Álcool (gr/dia)	18,3±39,3	38,9±55,5	<0,0001
PAS mm Hg	119,9±10,2	143,2±18,1	<0,0001
PAD mm Hg	71,9±8,5	83,9±10,2	<0,0001
PAM mm Hg	87,9±8,5	103,6±11,7	<0,0001
Glucose (mg/dl)	92,6 ± 10,3	108,9±37,9	<0,0001
IMC (Kg/m ²)	25,3±3,6	28,6±3,9	<0,0001
CT Total (mg/dl)	209,3±39,8	235±49,3	<0,0001
LDL (mg/dl)	110,2±33,2	123,9±43,1	<0,0001
HDL (mg/dl)	60,1±17	51±15,4	<0,0001
CT/HDL	3,7±1,2	4,±1,4	<0,0001
triglicérides (mg/dl)	110,2±56,2	172,8±115,6	<0,0001
Lp(a) mg/dl	24,5±23	30,7±36,9	0,02
Apo-B mg/dl	98,4±26,3	114,1±29,7	<0,0001
Homocisteína (mg/dl)	9,5±3,8	10,2±3	ns
PCR (as)	2,3±3	3,9±6,1	0,016
VOP (m/seg)	8,1±1,6	10,2±1,8	<0,0001
PP	48±7,9	59,3±13,9	<0,0001

Legenda: IMC- Índice de Massa Corporal; Lp(a)-Lipoproteína(a); PCR (as)- Proteína C Reativa de Alta sensibilidade; VOP- Velocidade da Onda de Pulso; PP- Pressão do Pulso.

Os doentes do grupo B1 em relação aos do grupo B2 apresentam média etária semelhante, são significativamente mais fumadores, têm PAS, PAD e FC significativamente mais baixas, menor valor médio de glicose em jejum, triglicérides, CT, LDL, relação CT/HDL, embora estes últimos sem atingirem significância estatística. O valor médio da PCR(as) da PP e da VOP é também significativamente mais baixo no grupo B1 (*Quadro II*).

Triglycerides (mg/dl)	110.2±56.2	172.8±115.6	<0.0001
Lp(a) (mg/dl)	24.5±23	30.7±36.9	0.02
Apo B (mg/dl)	98.4±26.3	114.1±29.7	<0.0001
Homocysteine (mg/dl)	9.5±3.8	10.2±3	NS
hs-CRP	2.3±3	3.9±6.1	0.016
PWV (m/s)	8.1±1.6	10.2±1.8	<0.0001
PP (mmHg)	48±7.9	59.3±13.9	<0.0001

Apo B: apolipoprotein B100; BMI: body mass index; DBP: diastolic blood pressure; hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein; Lp(a): lipoprotein(a); MBP: mean blood pressure; PP: pulse pressure; PWV: pulse wave velocity; SBP: systolic blood pressure; TC/HDL: total/HDL cholesterol

Compared to group B2, patients in group B1 were of similar age but included significantly more smokers and had lower SBP, DBP and HR, fasting blood glucose, total and LDL cholesterol, and TC/HDL ratio, although the last three did not reach statistical significance. Mean hs-CRP, PP and PWV were also significantly lower in group B1 (*Table II*).

Table II. Bivariate analysis of subjects with CAD (groups B1 and A2)

	Group B1 (n=235)	Group B2 (n=66)	p
Age (years)	54.5±10.8	56.6±8.7	NS
Male (%)	189 (80.4%)	49 (74.2%)	NS
Family history (%)	133 (56.6%)	37 (56.1%)	NS
Smoking (%)	100 (42.6%)	17 (25.8%)	0.009
Alcohol consumption (g/day)	59.1±84.8	45.7±79.1	NS
SBP (mmHg)	132.5±19.9	141.5±20.8	0.001
DBP (mmHg)	78.2±10.6	81.8±9.7	0.014
MBP (mmHg)	97.5±19.3	101.7±12.2	NS
HR (bpm)	67.5 ± 12.2	73.6.9 ± 13.3	0.001
Blood glucose (mg/dl)	99.3±13.4	192.6±56.1	<0.0001
BMI	27.7±3.9	28.4±4.5	NS
Total cholesterol (mg/dl)	203.1±47.7	213.8±48.8	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	117.5±42.9	125.1±47.2	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	39.9±9.8	39.1±9.8	NS
TC/HDL ratio	5.4±2.6	6.1±4.3	NS
Triglycerides (mg/dl)	179.8±125.7	238.9±185.4	0.003
Lp(a) (mg/dl)	39.2±38.9	29.6±28.5	NS
Apo B (mg/dl)	102.2±27.5	108±27.2	NS
Homocysteine (mg/dl)	11.7±3.9	11.8±3.2	NS
hs-CRP	5.4±7.6	7.9±3.2	NS
Fibrinogen	333.1±99.1	345.1±82.5	NS
PWV (m/s)	9.9±1.9	11.4±2.5	<0.0001
PP (mmHg)	54.3±14.7	59.7±15.9	0.009
EF (%)	63.4±14.4	62±15.8	NS

Apo B: apolipoprotein B100; BMI: body mass index; DBP: diastolic blood pressure; EF: left ventricular ejection fraction; HR: heart rate; hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein; Lp(a): lipoprotein(a); MBP: mean blood pressure; PP: pulse pressure; PWV: pulse wave velocity; SBP: systolic blood pressure; TC/HDL: total/HDL cholesterol

Pearson's linear correlation was then used to test the strength of correlation between PWV and all the variables studied in groups A1 and A2 (*Table III*).

Quadro II. Análise bivariada dos grupos com doença coronária (Grupo B1 e B2)

	Grupo B1 (n=235)	Grupo B2 (n=66)	Valor de p
Idade	54,5±10,8	56,6±8,7	ns
Sexo masculino%	189 (80,4%)	49 (74,2%)	ns
História familiar%	133 (56,6%)	37 (56,1%)	ns
Hábito de fumar%	100 (42,6%)	17 (25,8%)	0,009
Álcool (gramas/dia)	59,1±84,8	45,7±79,1	ns
PAS (mm Hg)	132,5±19,9	141,5±20,8	0,001
PAD (mm Hg)	78,2±10,6	81,8±9,7	0,014
PAM (mm Hg)	97,5±19,3	101,7±12,2	ns
FC	67,5±12,2	73,6,9±13,3	0,001
Glucose (mg/dl)	99,3±13,4	192,6±56,1	<0,0001
IMC (Kg/m ²)	27,7±3,9	28,4±4,5	ns
C T (mg/dl)	203,1±47,7	213,8±48,8	ns
LDL (mg/dl)	117,5±42,9	125,1±47,2	ns
HDL (mg/dl)	39,9±9,8	39,1±9,8	ns
CT/HDL	5,4±2,6	6,1±4,3	ns
Triglicerídeos (mg/dl)	179,8±125,7	238,9±185,4	0,003
Lp (a) mg/dl	39,2±38,9	29,6±28,5	ns
Apo-B	102,2±27,5	108±27,2	ns
Homocisteína (mg/dl)	11,7±3,9	11,8±3,2	ns
PCR (as)	5,4±7,6	7,9±3,2	ns
Fibrinogénio	333,1±99,1	345,1±82,5	ns
VOP	9,9±1,9	11,4±2,5	<0,0001
PP	54,3±14,7	59,7±15,9	0,009
FE	63,4±14,4	62±15,8	ns

Legenda:FC- Frequência Cardíaca; IMC- Índice de Massa Corporal;CT/HD - Colesterol Total/Colesterol HDL;Lp(a)- Lipoproteína (a); Apo B- Apolipoproteína B; PCR (as)- Proteína C Reactiva de Alta Sensibilidade; VOP- Velocidade da Onda de Pulso; PP- Pressão do Pulso; FE- Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo.

Seguidamente (*Quadro III*) foi feita a correlação entre a VOP e todas as variáveis estudadas (Correlação de Pearson), na população dos dois grupos A1 e A2.

Verificámos que as variáveis que se correlacionavam de forma positiva e independente com a VOP, no grupo A1 eram a idade, IMC, relação C/A, ingestão de álcool/dia, PAS, PAD, PAM, relação CT/HDL, LDL, triglicéridos, glicemia, Apo-B, PCR (as), atingindo significância estatística. Havia correlação inversa e significativa, entre a VOP e o colesterol HDL.

Quadro III. Correlação entre a VOP e as variáveis estudadas (Pearson) Grupos A1 e A2

	C.Pearson Grupo A1 n=343	Valor de p	C. Pearson Grupo A2 n=167	Valor de p
Idade	0,76	p < 0,0001	0,599	<0,0001
IMC (Kg/m ²)	0,382	p < 0,0001	0,016	ns
C/A	0,118	P =0,029	0,097	ns
Álcool (gr/dia)	0,25	p < 0,0001	0,151	0,049
PAS (mm Hg)	0,343	p < 0,0001	0,309	<0,0001
PAD (mm Hg)	0,404	p < 0,0001	0,156	0,045
PAM (mmHg)	0,401	p < 0,0001	0,251	0,001
FC p/m	0,080	ns	0,051	ns

The variables that were positively and independently correlated with PWV in group A1 were age, BMI, waist-to-hip ratio, alcohol consumption, SBP, DBP and MBP, TC/HDL ratio, LDL, triglycerides, blood glucose, apo B and hs-CRP, all of which reached statistical significance. There was a significant inverse correlation between PWV and HDL cholesterol.

Table III. Correlation (Pearson's coefficient) between PWV and the variables studied (groups A1 and A2)

	Correlation Group A1 (n=343)	p	Correlation Group A2 (n=167)	p
Age	0.76	p<0.0001	0.599	<0.0001
BMI	0.382	p<0.0001	0.016	NS
Waist-to-hip ratio	0.118	p=0.029	0.097	NS
Alcohol consumption	0.25	p<0.0001	0.151	0.049
SBP	0.343	p<0.0001	0.309	<0.0001
DBP	0.404	p<0.0001	0.156	0.045
MBP	0.401	p<0.0001	0.251	0.001
HR	0.080	NS	0.051	NS
TC	0.218	p<0.0001	0.021	NS
LDL	0.169	p=0.002	0.035	NS
TC/HDL	0.395	p<0.0001	0.158	0.042
HDL	-0.256	p<0.0001	-0.145	NS
Triglycerides	0.237	p<0.0001	0.044	NS
Blood glucose	0.246	p<0.0001	0.301	<0.0001
Homocysteine	0.031	NS	0.104	NS
Apo B	0.246	p<0.0001	0.106	NS
Lp(a)	0.035	NS	0.082	NS
Fibrinogen	-0.005	NS	0.151	NS
hs-CRP	0.122	p=0.024	0.098	NS
PP	0.031	NS	0.287	0.0002

Apo B: apolipoprotein B100; BMI: body mass index; DBP: diastolic blood pressure; HR: heart rate; hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein; Lp(a): lipoprotein(a); MBP: mean blood pressure; PP: pulse pressure; SBP: systolic blood pressure; TC/HDL: total/HDL cholesterol

In the group without CAD and with risk factors (group A2), PWV was correlated positively and significantly with age, alcohol consumption, SBP, DBP, MBP, TC/HDL ratio, blood glucose and PP. There was an inverse correlation between PWV and HDL cholesterol, although without statistical significance.

In the population with CAD but without classic risk factors (group B1), PWV was only significantly and positively correlated with age, SBP, DBP, MBP and PP, and presented an inverse correlation with LV ejection fraction.

In the high-risk coronary population (group B2), there was a positive and significant correlation with age, waist-to-hip ratio, systolic and mean BP, homocysteine and PP (*Table IV*).

CT (mg/dl)	0,218	p < 0,0001	0,021	ns
LDL (mg/dl)	0,169	P =0,002	0,035	ns
CT / HDL	0,395	p < 0,0001	0,158	0,042
HDL (mg/dl)	-0,256	p < 0,0001	-0,145	ns
Triglicéridos (mg/dl)	0,237	p < 0,0001	0,044	ns
Glucose (mg/dl)	0,246	p < 0,0001	0,301	<0,0001
Homocisteína	0,031	ns	0,104	ns
Apo-B	0,246	p < 0,0001	0,106	ns
Lp (a)	0,035	ns	0,082	ns
Fibrinogénio	-0,005	ns	0,151	ns
PCR(as)	0,122	P= 0,024	0,098	ns
PP (mm Hg)	0,031	ns	0,287	0,0002

Legenda: IMC- Índice de Massa Corporal; C/A- Relação Cintura/Ancia; FC- Frequência Cardíaca; CT-Colesterol Total; LDL- Low Density Lipoprotein; HDL- High Density Lipoprotein; CT/HDL- Relação Colesterol Total/Colesterol HDL; Apo B- Apolipoproteína B; Lp (a)- Lipoproteína (a); PCR (as)- Proteína C Reactiva de alta sensibilidade; PP- Pressão do Pulso.

Na população sem doença coronária e muitos factores de risco (grupo A2), houve correlação positiva e significativa com a idade, ingestão de álcool, PAS, PAD, PAM, relação CT/HDL, glicémia e PP. Existiu uma correlação inversa entre a VOP e o colesterol HDL, não atingindo significância estatística.

Na população com doença coronária grupo B1, apenas havia correlação positiva e significativa com a idade, PAS, PAD, PAM e PP, mas havia correlação negativa com a FE do ventrículo esquerdo.

Na população coronária com muitos factores de risco, (Grupo B 2) passou a haver correlação positiva e significativa com a idade, relação C/A, PAS, PAM, Homocisteína e PP. (Quadro IV)

Quadro IV. Correlação entre a VOP e as variáveis estudadas (Pearson) Grupos B1 e B2

	C. Pearson Grupo B1 n=235	Valor de p	C. Pearson Grupo B2 n=66	Valor de p
Idade	0,483	<0,0001	0,469	<0,0001
IMC	0,015	ns	0,019	ns
C/A	0,068	ns	0,274	0,026
Álcool (gr/dia)	-0,062	ns	0,038	ns
PAS (mm Hg)	0,523	<0,0001	0,482	<0,0001
PAD (mm Hg)	0,333	<0,0001	0,193	ns
PAM (mm Hg)	0,320	<0,0001	0,374	0,002
FC	0,120	ns	0,207	ns
CT (mg/dl)	0,008	ns	0,034	ns
HDL (mg /dl)	0,005	ns	0,018	ns
LDL	0,040	ns	0,193	ns
Triglicéridos	0,032	ns	0,010	ns
CT/ HDL (mg/dl)	0,054	ns	0,066	ns
Apo-B	0,103	ns	0,108	ns
Lp (a) mg/dl	0,047	ns	0,108	ns
Glucose (mg/dl)	0,015	ns	0,051	ns

Table IV. Correlation (Pearson's coefficient) between PWV and the variables studied (groups B1 and B2)

	Correlation Group B1 (n=235)	p	Correlation Group B2 (n=66)	p
Age	0.483	<0.0001	0.469	<0.0001
BMI	0.015	NS	0.019	NS
Waist-to-hip ratio	0.068	NS	0.274	0.026
Alcohol consumption	-0.062	NS	0.038	NS
SBP	0.523	<0.0001	0.482	<0.0001
DBP	0.333	<0.0001	0.193	NS
MBP	0.320	<0.0001	0.374	0.002
HR	0.120	NS	0.207	NS
TC	0.008	NS	0.034	NS
HDL	0.005	NS	0.018	NS
LDL	0.040	NS	0.193	NS
Triglycerides	0.032	NS	0.010	NS
TC/HDL	0.054	NS	0.066	NS
Apo B	0.103	NS	0.108	NS
Lp(a)	0.047	NS	0.108	NS
Blood glucose	0.015	NS	0.051	NS
Homocysteine	0.109	NS	0.270	0.028
PP	0.470	<0.0001	0.510	<0.0001
EF	-0.158	0.015	-0.155	NS

Apo B: apolipoprotein B100; BMI: body mass index; DBP: diastolic blood pressure; HR: heart rate; hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein; Lp(a): lipoprotein(a); MBP: mean blood pressure; PP: pulse pressure; SBP: systolic blood pressure; TC/HDL: total/HDL cholesterol

Table V. Characteristics associated with CAD (stepwise logistic regression analysis)

Variable	B	SD	Odds ratio	95% CI	Sig.
Family history of CAD	2.018	0.236	7.527	4.736-11.960	<0.0001
Smoking	0.650	0.248	1.916	1.178-3.116	0.009
Diabetes	0.784	0.338	2.189	1.128-4.250	0.021
Age	0.022	0.012	1.022	0.997-1.047	0.080
Alcohol consumption	0.004	0.002	1.004	1.000-1.007	0.028
PWV	0.123	0.066	1.141	1.002-1.299	0.046
Homocysteine	0.114	0.030	1.121	1.056-1.189	<0.0001
Lp(a)	0.009	0.003	1.009	1.003-1.016	0.004
Triglycerides	0.006	0.001	1.006	1.003-1.009	<0.0001
Total cholesterol	-0.027	0.005	0.973	0.967-0.982	<0.0001
LDL	0.021	0.005	1.022	1.012-1.031	<0.0001
HDL	-0.058	0.012	0.944	0.921-0.967	<0.0001
Fibrinogen	0.004	0.001	1.004	1.001-1.007	0.005
Constant	-1.561	1.003	0.210		0.119

CI: confidence interval; Lp(a): lipoprotein(a); PWV: pulse wave velocity
Variables in step 1: gender; family history of CAD; smoking; diabetes; HT; age; alcohol consumption; MBP; PP; PWV; hs-CRP; homocysteine; Lp(a); triglycerides; total cholesterol; LDL; HDL; BMI; fibrinogen

Homocisteína	0,109	ns	0,270	0,028
PP	0,470	<0,0001	0,510	<0,0001
FE	-0,158	0,015	-0,155	ns

Legenda: C/A- Relação Cintura/Anca; PAS- Pressão Arterial Sistólica; PAD- Pressão Arterial Diastólica;
PAM- Pressão Arterial Média; CT- Coesterol Total; LDL- Low Density Lipoprotein, HDL- High Density Lipoprotein; CT/HDL- Relação Colesterol Total/Colesterol HDL; Apo B- Apolipoproteína B 100; Lp (a)- Apolipoproteína (a); PCR (as)- Proteína C Reactiva de alta sensibilidade; PP- Pressão do pulso

Quadro V. Características associadas à Doença Coronária (Análise de regressão logística step by step)

Variáveis	B	SD	Odds Ratio	IC 95%	Sig.
História Familiar de DAC	2,018	0,236	7,527	4,736-11,960	<0,0001
Hábito de fumar	0,650	0,248	1,916	1,178-3,116	0,009
Diabetes	0,784	0,338	2,189	1,128-4,250	0,021
Idade	0,022	0,012	1,022	0,997-1,047	0,080
Ingestão de álcool	0,004	0,002	1,004	1,000-1,007	0,028
VOP	0,123	0,066	1,141	1,002-1,299	0,046
Homocisteína	0,114	0,030	1,121	1,056-1,189	<0,0001
Lp(a)	0,009	0,003	1,009	1,003-1,016	0,004
Triglicéridos	0,006	0,001	1,006	1,003-1,009	<0,0001
Colesterol Total	-0,027	0,005	0,973	0,967-0,982	<0,0001
LDL	0,021	0,005	1,022	1,012-1,031	<0,0001
HDL	-0,058	0,012	0,944	0,921-0,967	<0,0001
Fibrinogénio	0,004	0,001	1,004	1,001-1,007	0,005
Constant	-1,561	1,003	0,210		0,119

Variáveis que entram no step 1: Sexo; Doença Familiar; Hábito de fumar; Diabetes; HTA; Idade; Ingestão de álcool; PAM; PP; VOP; PCR; Homocisteína; Lp(a); Triglicéridos; Colesterol Total; LDL; HDL; IMC; Fibrinogénio

Após a análise multivariada (regressão logística), a VOP manteve-se na equação, mostrando uma associação significativa e independente com a DAC. Juntamente com a elevação da VOP permaneceram na equação e mostraram ser factores de risco independentes para DAC: história familiar, hábito de fumar, diabetes, ingestão de álcool, homocisteína, Lp(a), triglicéridos, LDL e fibrinogénio. A elevação do colesterol HDL mostrou ser um factor protector.

DISCUSSÃO

Como era de esperar constatamos, no nosso estudo, uma forte correlação entre a VOP e a

After stepwise logistic regression analysis, increased PWV remained in the model and proved to be a significant and independent risk factor for CAD. Other independent risk factors for CAD that remained in the model were family history, smoking, diabetes, alcohol consumption, homocysteine, Lp(a), triglycerides, LDL and fibrinogen. Elevated HDL cholesterol was a protective factor.

DISCUSSION

As expected, we found a strong correlation between pulse wave velocity and age in both populations, with and without CAD. Arterial stiffness is known to increase with age and the rise in PWV is more pronounced in the central elastic arteries than in peripheral muscles. The phenomenon has been reported in different populations using different methods and is independent of increased BP or other age-related parameters^(31,32).

As in other studies, we also found a strong correlation between PWV and BP, in both controls and coronary patients, BP being an independent determinant of PWV, SBP showing the strongest correlation⁽³³⁾. Another observation was that in subjects both with and without CAD, PWV was higher in those with more risk factors (diabetes, HT and/or dyslipidemia), probably due to greater atherosclerotic load and aortic stiffness. The complex relationships between arteriosclerosis, ageing, BP, and other factors that affect arterial compliance mean that it is difficult to determine the link between PWV and arteriosclerosis. However, nomograms and indices of arterial stiffness, based on large populational studies and adjusted for confounding factors, have demonstrated that aortic stiffness and PWV are independently correlated with risk factors for arteriosclerosis, even after adjustment for age and BP⁽³⁴⁻³⁶⁾. In another study (the Tanno and Sobetsu Study), the prevalence of aortic calcifications detected by CT scans and intima-media thickening by ultrasound increased with higher PWV⁽³⁷⁾.

Other studies have shown that arteriosclerosis develops first in the aorta, followed by the cerebral and coronary arteries. PWV can thus be considered a useful tool to screen for the early stages of arteriosclerosis⁽³⁸⁾.

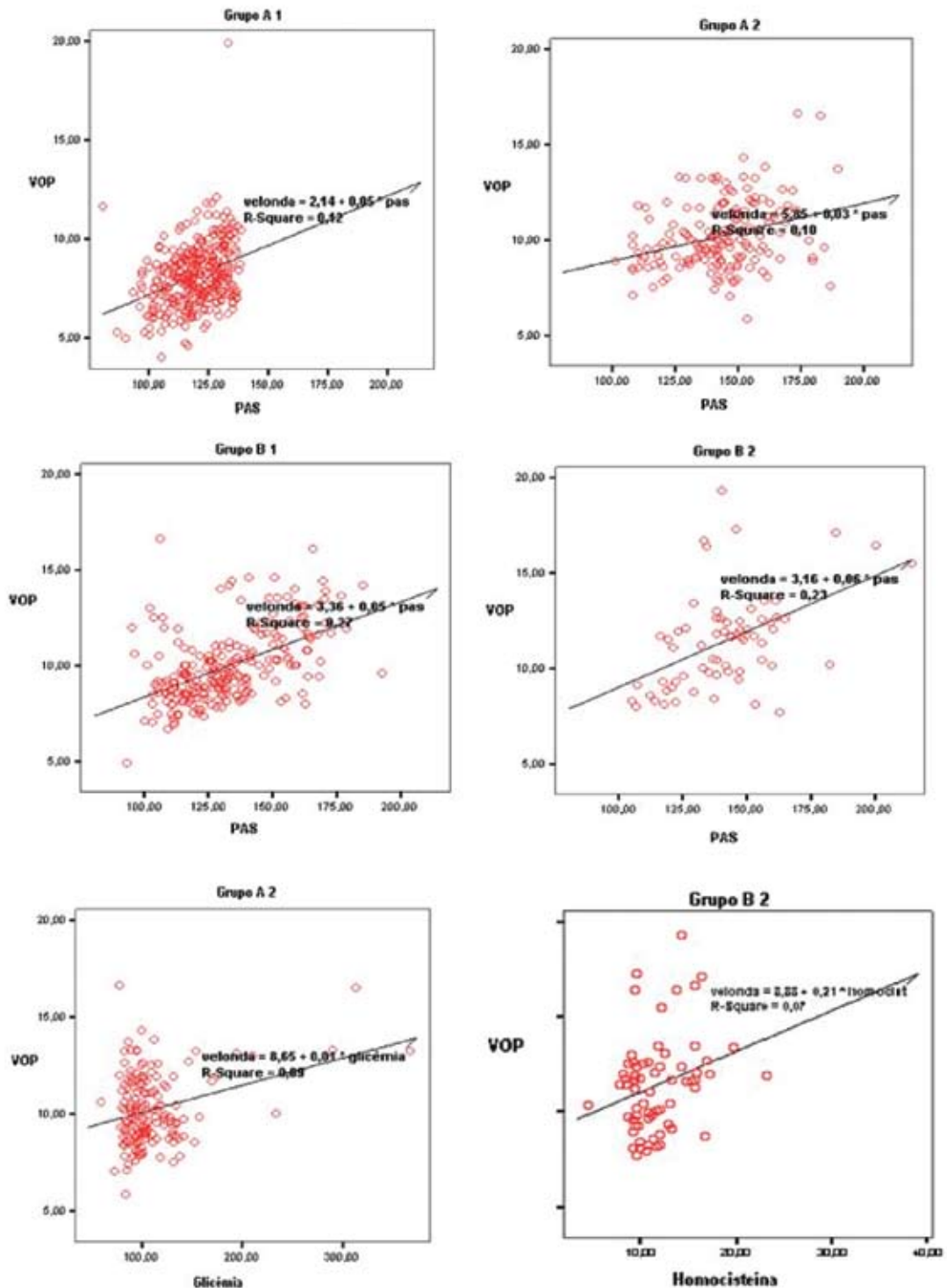


Figura 1. Correlação linear simples entre os valores da VOP (m/s) e a PAS (no Grupo A1 e A2); Correlação linear simples entre os valores da VOP (m/s) e a PAS (no Grupo B1 e B2); Correlação linear simples entre os valores da VOP (m/s) e a Glicémia (no Grupo A 2); Correlação linear simples entre os valores da VOP (m/s) e a Homocisteína (no Grupo B 2).

Figure 1. Simple linear correlation between PWV (m/s) and SBP (groups A1 and A2); simple linear correlation between PWV (m/s) and SBP (groups B1 and B2); simple linear correlation between PWV (m/s) and blood glucose (group A2); simple linear correlation between PWV (m/s) and homocysteine (group B2).

idade, nas duas populações, com e sem DAC. Como sabemos a rigidez arterial aumenta com o avanço da idade e o aumento da VOP é mais pronunciado nas artérias centrais elásticas, que nas musculares periféricas. Estas mudanças têm sido descritas em diferentes populações e usando aspectos metodológicos diferentes, independentemente do aumento da PA ou outros parâmetros relacionados com a idade.^(31,32)

Também o nosso estudo tal como outros já o fizeram, demonstrou uma apertada correlação entre a VOP e o nível da PA, tanto nos grupos sem doença coronária como nos doentes coronários, constituindo a PA uma determinante independente da VOP, que apresentou o maior coeficiente de correlação com a PAS⁽³³⁾. Outro facto que observámos foi que tanto na população sem doença coronária como na população com doença, a VOP foi sempre mais elevada nas populações com mais factores de risco (diabetes, HTA e ou dislipidémia), provavelmente aquelas com maior sobrecarga aterosclerótica e maior rigidez aórtica. Considerando as relações complexas entre arteriosclerose, idade, PA, e outros factores de risco que afectam a distensibilidade arterial, parece difícil analisar a relação entre a VOP e arteriosclerose. No entanto, em grandes estudos populacionais, foram propostos nomogramas e elaborados vários índices de rigidez arterial ajustados e normalizados para os factores confundíveis, que demonstraram que a rigidez aórtica e a VOP se relacionavam com os factores de risco de aterosclerose de forma independente, mesmo após correção para a idade e PA.^(34,35,36) Noutro estudo da literatura (Tanno and Sobetsu Study), foi verificado que a frequência de calcificações da aorta identificadas em imagens tomográficas computadorizadas e o espessamento da íntima-média carotídea medido em imagens ultrasonográficas, aumentava à medida que a VOP aumentava.⁽³⁷⁾

Ficou também comprovado, noutros trabalhos de investigação, que a arteriosclerose se desenvolve primeiro na aorta e depois no cérebro e artérias coronárias. Assim, a VOP tem sido considerada um método útil, para despistar os primeiros estadios da arteriosclerose.⁽³⁸⁾

No nosso trabalho comprovámos que os indivíduos com maior número de factores de risco, sejam doentes coronários ou não, parecem ter aortas mais rígidas ao apresentarem VOP mais elevadas, possivelmente por terem maior

The present study demonstrates that individuals with more risk factors, whether or not they have CAD, have higher PWV and thus appear to have greater aortic stiffness, possibly due to greater atherosclerotic load. Studies comparing different populations, with gender- and age-matched controls, have shown that PWV is correlated with other atherosclerotic markers such as aortic calcification (as in the Tanno and Sobetsu Study) and subclinical arteriosclerosis as indicated by carotid intima-media thickness.

PWV is also correlated with vascular atherosclerotic complications such as nephroangi-sclerosis and CAD, as well as with atherosclerotic load (the sum of the number of events and existing vascular risk factors)⁽³⁹⁾. In studies in which PWV assessed by Doppler ultrasound was used as an indicator of arterial stiffness, patients with more risk factors and atherosclerotic manifestations such as peripheral vascular disease, CAD or stroke, had greater aortic stiffness and higher PWV⁽⁴⁰⁾.

If the inverse correlation between atherosclerotic load and aortic compliance, as determined by PWV, is confirmed, this parameter could be used as a noninvasive indicator of vascular risk.

In the population without CAD in our study, PWV was strongly correlated with blood glucose levels and with TC/HDL ratio. Asmar et al. studied the effect of glucose metabolism on PWV in untreated hypertensives with a high waist-to-hip ratio and found a positive correlation between PWV values and fasting glucose in these patients⁽⁴¹⁾.

According to Tedesco et al., arterial stiffness in type 2 diabetes, as shown by increased PWV, is a result of hyperglycemia. High glucose levels promote protein glycation and the formation of advanced glycation end-products, which are associated with alterations in elastin and collagen in the vessel wall, with rupture of elastin fibers and growth of collagen deposits⁽⁴²⁾.

Cruickshank et al. showed that high aortic PWV is a powerful independent predictor of mortality in both diabetic and glucose-intolerant patients and is an extremely useful index for the assessment of cardiovascular risk in diabetic patients⁽⁴³⁾.

The role of lipid metabolism in arterial compliance is not fully understood and results from epidemiological studies have so far proved conflicting, possibly due to differences

sobrecarga aterosclerótica. Estudos comparativos feitos em diferentes populações (com controlos emparelhados por sexo e idade), demonstraram que a VOP se correlaciona com outros índices de aterosclerose, como sejam as calcificações aórticas (já referidas no estudo de Tanno e Sobetzu), e a arteriosclerose sub-clínica codificada pelo valor da espessura íntima-média da artéria carótida.

Correlaciona-se, também, com a existência de complicações vasculares ateroscleróticas como sejam a nefroangioesclerose e a doença coronária, e com a sobrecarga aterosclerótica (soma do número de eventos e complicações vasculares existentes).⁽³⁹⁾ Em estudos em que foi usada VOP, como índice de rigidez arterial determinada por métodos ultrasónios de Doppler, os doentes com maior número de factores de risco e eventos ateroscleróticos (doença vascular periférica, doença coronária, acidente vascular cerebral, etc) tinham aortas mais rígidas e VOP mais elevadas.⁽⁴⁰⁾

A correlação inversa entre a sobrecarga aterosclerótica e a distensibilidade aórtica determinada pelo valor da VOP, a confirmar-se, pode levar ao uso desta medida como marcador não invasivo de risco vascular.

Na população sem DAC do nosso estudo, existiu, também, uma correlação forte com a glicemia e com a relação CT/HDL. Já Asmar et al. estudaram a influência do metabolismo da glucose na VOP, em doentes hipertensos não tratados e com relação cintura/anca elevada. Os seus resultados mostraram correlação positiva entre os valores da VOP e os níveis de glucose em jejum nestes doentes⁽⁴¹⁾. Tedesco e col. referem que na diabetes tipo II, a rigidez arterial, que se traduz pela elevação dos valores da VOP, é consequência da hiperglicemia. Os níveis elevados de glucose promovem a glicosilação das proteínas e formação de *advanced end products* glicosilados, que estão associados às alterações na elastina e colagénio da parede do vaso. As fibras de elastina apresentam-se fracturadas e os depósitos de colagénio aumentam.⁽⁴²⁾

Kennedy Cruickshank, afirma que a elevação dos valores da VOP aórtica é um poderoso e independente predictor de mortalidade em ambas as populações de diabéticos e intolerantes à glucose, mostrando ser um índice, extremamente útil, na avaliação do risco cardiovascular nos doentes diabéticos⁽⁴³⁾.

in methodology and patient selection. Further research is required that should also include the effect of lipid-lowering medication⁽⁴⁴⁾.

In our study PWV was strongly correlated with pulse pressure in patients with CAD.

Curiously, there was also a strong correlation with homocysteine, but only in the high-risk CAD patients. Few studies have examined the influence of homocysteine on arterial stiffness. Blacher et al. showed that carotid-femoral PWV is correlated with plasma homocysteine levels in hypertensives, even after adjustment for SBP and age⁽⁴⁵⁾.

Bortolotto et al. demonstrated that in hypertensives, homocysteine levels are strongly correlated with arterial stiffness as determined by PWV. This suggests that assessing aortic compliance and plasma homocysteine can help in cardiovascular risk stratification in hypertensive patients^(46,47).

More studies are needed to clarify the role of homocysteine in arterial stiffness, particularly in coronary patients, and to examine whether reducing homocysteine levels with vitamin supplements would also reduce PWV.

In the present study, after stepwise logistic regression analysis of all the variables studied including age, PWV remained in the model and proved to be a significant and independent risk factor for CAD. Interestingly, total cholesterol also remained in the model, but as a protective factor. This is often the case in our analyses and we believe it is because in the overall study population (not subgroups), mean total cholesterol is lower in coronary patients than in controls. This apparently paradoxical finding is due to the statins taken by CAD patients, unlike controls.

Alcohol consumption remained in the model as an independent predictor of CAD risk. Previous studies have shown an inverse relation between moderate alcohol intake and myocardial infarction, related to positive alterations resulting from alcohol consumption including changes in lipid profile (increased HDL and lower LDL and triglycerides), improved coagulation (raised plasma plasminogen activator inhibitor type 1 and tissue plasminogen activator, reduced platelet aggregation and plasma fibrinogen levels), increased insulin sensitivity with greater glucose uptake, and reduced HbA1c⁽⁴⁸⁾. It should be borne in mind that that the participants in

Quanto ao papel do metabolismo lipídico na distensibilidade arterial, permanece incompleto pois os estudos epidemiológicos publicados mostram resultados contraditórios, talvez devido a diferenças na metodologia utilizada e na selecção dos doentes, sendo necessário prosseguir com mais investigação que terá de contemplar também o efeito hipolipemiante do tratamento.⁽⁴⁴⁾

No nosso estudo, na população com DC, existiu uma correlação forte com a PP e um facto curioso foi o de existir uma boa correlação com a homocisteína, apenas na população com DC e no grupo de alto risco.

Poucos estudos têm reportado a influência dos níveis de homocisteína na rigidez arterial. Blacher e col. mostrou que a VOP carotídeo femoral se correlacionava com os níveis de homocisteína plasmática, mesmo depois de ajuste para a PAS e idade nos indivíduos hipertensos.⁽⁴⁵⁾

Luiz Bortolotto, Michel Safar e col., demonstraram que em doentes hipertensos os níveis de homocisteína são fortemente correlacionados com a rigidez arterial, medida pela VOP. Estes resultados sugeriram que a avaliação da distensibilidade aórtica e os níveis plasmáticos de homocisteína podem ajudar, na estratificação do risco cardiovascular, nos doentes hipertensos^(46,47).

Mais estudos são necessários para avaliar o papel da homocisteína na rigidez arterial, em especial nos doentes coronários, avaliando também se ao reduzir esses níveis elevados de homocisteína com suplementos vitamínicos, também reduzimos o valor da VOP.

No presente trabalho e após análise multivariada (análise de regressão logística *step by step*) em cujo modelo entraram todas as variáveis estudadas e a idade, a VOP permaneceu na equação mostrando ser um factor de risco independente para a eclosão da DAC. Um facto curioso é que o colesterol total permaneceu na equação mas como factor protector na eclosão da DAC. Este facto aparece, frequentemente, nas nossas análises e pensamos dever-se ao facto de que na totalidade dos nossos doentes (não nos sub-grupos) a média do colesterol total é inferior nos doentes coronários em relação aos controlos normais. Este dado, aparentemente paradoxal, relaciona-se com a medicação com estatinas a que os doentes são submetidos, de forma oposta aos controlos.

this study had high mean alcohol consumption (59.1±84 g/day in group B1 and 45.7±79 g/day in group B2), and high alcohol intake is known to have negative effects by raising blood pressure (a risk factor for CAD) and plasma homocysteine levels (alcohol impairs folate metabolism and B-complex vitamin absorption). There thus arises a second paradox, that of alcohol-homocysteine, in which the consumption of alcohol, known to be cardioprotective, can increase the risk for CAD by raising homocysteine levels, a known cardiovascular risk factor^(49,50).

CONCLUSIONS

The results of our study show that PWV is higher in high-risk groups and positively and significantly correlated with many risk factors in both asymptomatic and coronary patients.

On multivariate analysis, adjusted for age and other risk factors, higher PWV was still associated significantly and independently with CAD.

PWV was shown to be a technically simple, inexpensive and noninvasive index that is able to identify individuals at high risk of atherosclerotic events and coronary disease. Increased PWV may thus be of clinical and prognostic importance in cardiovascular risk stratification.

If these results are confirmed, high-risk groups thus identified may benefit from a more aggressive approach in both primary and secondary prevention.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work is part of the SAPIENS PROJECT 2001 Research and Technological Development Project (POCTI/MGI/2001) funded by Fundação para a Ciência e Tecnologia.

A ingestão de álcool, ao permanecer na equação associou-se de forma independente, com o risco de DAC. Em trabalhos anteriores foi citado existir uma relação inversa entre a ingestão moderada de álcool e a ocorrência de enfarte do miocárdio. Este facto foi relacionado com a existência de alterações positivas relacionadas com o consumo de álcool como sejam: modificação do perfil lipídico (elevação do C-HDL, baixa do C- LDL e dos triglicéridos), melhoria do perfil da coagulação (elevação da concentração plasmática do inibidor do activador do plasminogénio-1 (PAI-1) e do activador tecidual do plasminogénio-1 (t-PA), redução da agregabilidade das plaquetas e dos níveis plasmáticos de fibrinogénio), aumento da sensibilidade à insulina com melhor aproveitamento da glicose e redução da HbA1c, entre outros.⁽⁴⁸⁾ Não podemos esquecer que os participantes neste trabalho apresentaram uma média de consumo de álcool muito elevada (59,1±84 gr/L nos doentes do grupo B1 e 45,7±79 gr/L, nos do grupo B2) e sabemos que o consumo elevado de bebidas alcoólicas pode manifestar o “reverso da medalha,” ao elevar os valores da tensão arterial (factor de risco para CAD) e os níveis plasmáticos de homocisteína (o etanol pode interferir com o metabolismo dos folatos e com a absorção das vitaminas do complexo B). Assim, pode originar-se um segundo paradoxo, álcool-homocisteína, onde o consumo de álcool, (conhecido como cardioprotector), ao elevar os níveis de homocisteína, (conhecido factor de risco cardiovascular), pode aumentar o risco de eclosão de doença coronária^(49,50).

CONCLUSÕES

Os nossos resultados sugerem que a VOP apresentou valores mais elevados nos grupos com muitos factores de risco e correlacionou-se de forma positiva e significativa com muitos deles, tanto nos indivíduos sem doença coronária, como nos doentes coronários.

Depois de ter sido feita correcção para a idade e demais factores de risco, por análise multivariada, a elevação da VOP continuou a associar-se de forma significativa e independente com a DAC.

A VOP revelou-se um índice clínico tecnicamente simples e pouco dispendioso que permite

distinguir, de forma não invasiva, indivíduos com risco elevado de eventos ateroscleróticos e de doença coronária.

Assim, a elevação da VOP poderá ser um elemento clínico relevante e mesmo prognóstico, na estratificação do risco cardiovascular.

A confirmarem-se estes resultados os grupos de elevado risco, poderão beneficiar de uma estratégia mais agressiva, seja em prevenção primária ou secundária.

AGRADECIMENTOS

Trabalho integrado no Projecto de Investigação e de Desenvolvimento Tecnológico SAPIENS PROJECT 2001 (POCTI/MGI/2001) subsidiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia.

Address for reprints:
Pedido de separatas para:

MARIA ISABEL MENDONÇA
Rua dos Ilhéus n° 48
9000-176 Funchal
Ilha da Madeira
Portugal
Tel: +351.291.744312
Fax: +351.291.744312
e-mail: dep.card@srs.pt

BIBLIOGRAFIA / REFERENCES

1. Nichols W W, O'Rourke, M Mc Donald's. Blood Flow in Arteries.
2. Boudoulas H, Toutouzas P, C F Wooley. Functional abnormalities of the aorta. Armonk, NY; Futura, 1996: 121-131
3. James J Oliver; David J Webb. Non invasive Assessment of Arterial Stiffness and Risk of Atherosclerotic Events. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2003;23:554
4. Durier S, Fassot C, Laurent S, Boutouryrie P, Dzau J, Pratt R E. Physiological Genomics of Human Arteries: Quantitative Relationship Between Gene Expression and Arterial Stiffness. Circulation 2003; 108 (15): 1845-1851
5. Henrion D, Benessiano J, Iglarz M, Philip I, Levy B. Genetic Determinants of Vascular Reactivity. Current Hypertension Reports, 2002; 4: 41-48
6. Athanase Benetos, Topouchien J, Ricard S, Gautier S, Asmar R, Safar M, Cambien F. Influence of Angiotensin II type I receptor polymorphism on aortic stiffness in never treated hypertensive patients. Hypertension 1995; 26 :44-47.
7. Bortolotto L, Blacher J, Kondo T, Tak K, Takazawa K, and Safar M. Assessment of vascular aging and atherosclerosis in hypertensive subjects: Second derivative of photoplethysmogram versus pulse wave velocity. Am J Hypertens 2002; 13 : 165-171.
8. Smulyan H Asmar R G, Rudnicki A, London G M, Safar M E. Comparative effects of aging in men and women on the properties of the arterial tree. J Am Coll Cardiol 2001; 37 (5):1374-80.
9. Staessen J A, Van Der Heijden-Spek J J, Safar M E, Boudier H A, Van Bortel L M. Menopause and the characteristics of the large arteries in a population study. J Human Hypertens 2001; (15):511-8
10. Draaijer P, Kool M G, Maessen JM, van Bortel LM, de Leuw PW, van Hoof JP et al. Vascular distensibility and compliance in salt sensitive and salt resistant borderline hypertension. J Hypertens 1993; 11: 1199-207.
11. Blacher J, Asmar R, Saliha D, London M G, Safar M. Aortic Pulse Wave Velocity is a Marker of Cardiovascular Risk in Hypertensive Patients . Hypertension 1999; 33(5):1111-1117.
12. Aoun S, Blacher J, Safar ME, Mourad JJ. Diabetes Mellitus and renal failure: effects on large artery stiffness. J Human Hypertens 2001(15):693-700.
13. Yufu K, Takahashi N, Anan F, Hara M, Yioshimatsu H, Saikawa T. Brachial Arterial Stiffness predicts Coronary Atherosclerosis in patients at risk for cardiovascular disease. Jpn Heart J 2004; 45 (2):231-42
14. J Blacher, Guerin A P, Pannier B, Marchais S J, Safar M E, London G M. Impact of Aortic Stiffness on Survival in End-Stage Renal Disease. Circulation 1999; 99(18):2434-2439.
15. Widman Rachel P, W, Mackey Rachel H, Andrew Bostom, Thompson T, Sutton-Tyrrell K. Measures of Obesity Are Associated with Vascular Stiffness in Young and Older Adults. Hypertension 2003;42:468-473
16. Van Popele N M; Grobde DE, Bots M I. Association Between Arterial Stiffness and Atherosclerosis. The Rotterdam Study. Stroke 2001; 32:454-60
17. Stefanadis Wooley C F, Brush C A, Boudoulos H. Aortic Distensibility Abnormalities in Coronary Atherosclerosis. Am J Cardiol 1987;59:1300-4
18. Namik Kemel, Eryol, Ramazan T, Yuksel Adnan Abaci et al. Color Doppler Tissue Imaging in assessing the elastic properties of the Aorta and in predicting Coronary Heart Disease. Japanese Heart Journal 2002; 43 (3): 219-230
19. Imanishi R, Seto S, Toda G, Yoshida M, Ohtsuru A, Koide Y, Baba T, Yano K. High Brachial –Ankle Pulse Wave Velocity is an independent predictor of the presence of Coronary Artery Disease in man. Hypertens Res 2004; 27(2):71-8
20. Bronwyn A, Kingwell Tamara K, Waddell Tanya L, James D Cameron. Large Artery Stiffness Predicts Ischemic Threshold in Patients with Coronary Artery Disease. J Am Coll Cardiol, 2002;40:773-9
21. Watanabe H, Ohtsuka S, Kakihana M, Sugishita Y. Decreased aortic compliance aggravates subendocardial ischaemia in dogs with stenosed coronary artery. J Am Coll Cardiol 1993; 21: 1497-506.
22. Asmar R G. Arterial Stiffness and Pulse Wave Velocity, Clinical applications. 1999. Editions Scientific and Medicals SAS
23. Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: The sixth report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. Arch Intern Med 1997; 157:2413-2446
24. Marchais S J, M. Safar et al. Aortic and large arteries compliance in end stage renal failure. Kidney Int. 1990;37:137-152.
25. London GM, Guerin AP, Pannier B et al. Increased systolic pressure in chronic uremia. Role of arterial wave reflections. Hypertension 1992;20:10-19
26. Hirai T, Sasayama S, Kawasaki T, et al. Stiffness of systemic arteries in patients with myocardial infarction. A noninvasive method to predict severity of coronary atherosclerosis. Circulation 1989;80:78-86
27. Roland Asmar, Athanase Benetos, Jirar Topouchian, Pierre Laurent, Bruno Pannier, Anne Marie Brisac, Ralph Target, Bernard I. Levy. Assessment of Arterial Distensibility by Automatic Pulse Wave Velocity Measurement. Validation and Clinical Application Studies. Hypertension 1995;26:485-490

28. World Health Organization, Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation of obesity, Geneva, 1997 World Health Organization. *Obes Res* 1998;6:51S-210S.
29. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 20:1183-1197.
30. Expert Panel on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults Treatment Panel III. *JAMA* 2001; 285:2486-2497
31. Smulyan H, Asmar RG, Rudnicki A, London GM, Safar ME Comparative effects of aging in men and women on the properties of the arterial tree. *J Am Coll Cardiol*, 2001; 37 (5):1374-80.
32. Blacher J, Djane S, Asmar R, Safar M. Déterminants de la rigidité rigidity artérielle chez le sujet âgé. *Arc Mal Coeur* 1997 ;90 :35
33. Laurent S. Arterial wall Hypertrophy and Stiffness in Essential Hypertensive Patients. *Hypertension*, 1995; 26: 355-62
34. Amar J, Ruidavets JB, Chamontin B, Drouet L, Ferrières J. Arterial Stiffness and Cardiovascular Risk Factors in a Population-Based Study. *J. Hypertens*, 2001; 19:381-387
35. Van Popele N, Grobbee DE, Bots ML, Asmar R, Topouchian J, Hofman A et al. Association between atherosclerosis and arterial stiffness in an elderly population. 17th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension. Workshop on Arterial Structure and Function, Amsterdam: 1998.
36. Taniwalki H, Kawagishi T, Emoto M, Shoji T, Kanda H, Maekawa K, Nishizawa Y, Morii H. Correlation between the intima-media thickness of the carotid artery and aortic pulse wave velocity in patients with type II diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22:1851-1857
37. Hirofumi O, Shigeyuki S, Yuka Kikuchi, Shirakawa, M.Kasuaki Shimamoto et al. Pulse wave velocity as an indicator of atherosclerosis in impaired fasting glucose (The Tanno and Sobetsu Study) *Diabetes Care* 2003 26:437-440.
38. Oren A, Vos LE, Uiterwaal CS, Grobbee DE, Bots ML. Aortic stiffness and carotid intima-media thickness: two independent markers of sub clinical vascular damage in young adults? *Eur J Clin Invest* 2003; 33(11): 949-54.
39. Bronwyn A, King Tamara K Waddwell, James D Cameron, Antony Dart .Large artery stiffness predicts ischemic threshold in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:773-9
40. Lehmann E D, Hopkins D K, Rawesh A, Kongola K, Gosling R et al. Relation Between number of Cardiovascular Risk Factors/Events and NonInvasive Doppler Ultrasound Assessments of Aortic Compliance. *Hypertension* 1998;32:565-569
41. Asmar R, Toupochian J, Pannier B, Safar M. Reversion of arterial abnormalities by long term anti-hypertensive therapy in a large population. The COMPLIOR study. *J Hypertens*, 1999; 17(3): 59
42. Tedesco MA, Natale F, Di Salvo J, Caputo S, Capasso M, and Calabró R. Effects of coexisting hypertension and type II diabetes mellitus on arterial stiffness. *J Human Hypertens* 2004; 18: 1-5
43. Kennedy Cruickshank, Lisa Riste, Simon G Anderson, Graham Dunn, Gosling. Aortic Pulse Wave Velocity and its Relationship to Mortality in Diabetes and Glucose Intolerance. *Circulation* 2002; 106:2085-2090.
44. Pedro Marques Silva. Arterial compliance: a tool in the evaluation of vascular disease in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2000; 48: 437-440.
45. Blacher J, Demuth K, Guerin AP, Safar ME, Moatti M, London G. Influence of biochemical alterations on arterial stiffness in patients with end stage renal disease. *Hypertension* 1998; 32: 570-4
46. Luiz A. Bortolotto; Michel E. Safar; Eliane Billaud; Christian Lacroix; Roland Asmar; Gérard M. London; Jacques Blacher. Plasma Homocysteine, Aortic Stiffness, and Renal Function in Hypertensive Patients. *Hypertension* 1999;34:837-842
47. Tayama J, Munakata M, Yoshinaga K, Toyota T .Plasma Homocysteine Concentration Is Associated with More Advanced Systemic Arterial Stiffness and Greater Blood Pressure Response to Stress in Hypertensive Patients. *Hypertens Res* 2006; 29(6):403-9
48. Kenneth J. Mukamal, Majken K. Jensen, Morten Grønbaek, J. Stampfer, JoAnn E. Manson, Tobias Pischon, Eric B. Rimm. Drinking Frequency, Mediating Biomarkers, and Risk of Myocardial Infarction in Women and Men. *Circulation*. 2005;112:1406-1413
49. Charles H Halsted. Lifestyle effects on homocysteine and an alcohol paradox. *Am J Clin Nutr* 2001;73:501
50. Marilia L Cravo, Luisa M Gloria, Jacob Seihub, Marie R Nadeau, M Ermelinda Camilo,Manuela P Resende, J Neves Cardoso, C Nobre Leitão, and F Costa Mira. Hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism: correlation with folate, vitamin B-12, and vitamin B-6 status. *Am J Clin Nutr* 1996; 63:220-4.