



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA

“IGNACIO CHÁVEZ”

***“RELACIÓN DE LA CALCIFICACIÓN VALVULAR AÓRTICA CON ATEROSCLEROSIS
CORONARIA SUBCLÍNICA EN UNA POBLACIÓN ADULTA MEXICANA ASINTOMÁTICA
CARDIOVASCULAR”***

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

DR. MARCO ANTONIO RODAS DÍAZ

**TUTOR DR. CARLOS POSADAS ROMERO.
JEFE DEL SERVICIO DE ENDOCRINOLOGÍA DEL
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
“IGNACIO CHÁVEZ”**

MEXICO, D.F., MARZO 2013

ÍNDICE

1.	Título	
2.	Índice.....	2
3.	Antecedentes.....	3
4.	Planteamiento del Problema.....	8
5.	Justificación.....	8
6.	Hipótesis.....	8
7.	Objetivos.....	9
8.	Metodología general	
8.1.	Tipo y Diseño de Estudio.....	8
8.2.	Población elegible.....	9
8.3.	Criterios de Inclusión y Exclusión.....	10
8.4.	Métodos clínicos, de laboratorio e imagen.....	11
8.5.	Análisis Estadístico.....	13
9.	Resultados.....	14
10.	Discusión.....	22
11.	Conclusión.....	25
12.	Bibliografía.....	26

3. ANTECEDENTES

En los países desarrollados, debido a la disminución en la prevalencia de la enfermedad reumática y a un aumento en el número de adultos mayores, ha habido un incremento drástico en la prevalencia de la calcificación de la válvula aórtica (CVAo), convirtiéndose en la causa más frecuente de su afectación (1). La CVAo es característica de la esclerosis aórtica, condición en la que la válvula aórtica está calcificada, pero no obstruye el tracto de salida del ventrículo izquierdo; y de la estenosis aórtica, en donde sí existe presencia de obstrucción del flujo del tracto de salida (2). La esclerosis aórtica tiene una prevalencia alrededor del 25% en pacientes por arriba de los 65 años y se ha asociado a un aumento en la mortalidad cardiovascular y de desarrollar estenosis aórtica (3-5). Por otro lado, la estenosis aórtica confiere un riesgo del 80% a los 5 años de sufrir insuficiencia cardiaca, reemplazo valvular o muerte (6).

La CVAo por sí sola, se observa frecuentemente en la población adulta mayor y su presencia se asocia con un riesgo aumentado de eventos cardiovasculares (7,8). En estudios de población, la prevalencia de la CVAo en individuos caucásicos es del 10 al 18% (9-12) y se asocia de manera significativa con la edad, incrementando su frecuencia a 25-37% en sujetos mayores de 65 años (5,13,14). La CVAo también ha mostrado diferencias en su prevalencia en distintos grupos étnicos, como fue confirmado en el estudio MESA, que investigó la CVAo medida por tomografía computada (TC) en una población grande con muestras representativas de caucásicos, afroamericanos, asiáticoamericanos e hispanoamericanos. Los caucásicos mostraron la mayor prevalencia, seguidos por los

hispanoamericanos y afroamericanos, con los asiáticoamericanos mostrando la menor prevalencia. Después de ajustar por factores de riesgo cardiovascular, el riesgo relativo de tener calcio valvular aórtico fue de 1.03 en hispanoamericanos, 0.72 en afroamericanos y 0.56 en asiáticoamericanos, en comparación con caucásicos (15).

La CVAo fue considerada por mucho tiempo como un proceso pasivo y degenerativo, pero información reciente derivada de estudios a nivel molecular, ha demostrado que en realidad es un proceso activo y altamente regulado, con características similares a las lesiones ateroscleróticas, tales como la inflamación crónica, el depósito de lipoproteínas y la calcificación (16-20).

Estudios *in vitro*, han demostrado que productos de la oxidación de los lípidos tienen propiedades procalcificantes, mientras que estudios en animales, han demostrado que la hipercolesterolemia induce la calcificación de la válvula aórtica y su estenosis (21,22). Otros estudios *in vitro* en células vasculares aisladas, han demostrado que las lipoproteínas de alta densidad (HDL) tienen propiedades anticalcificantes (23). Por otro lado, se ha evidenciado que las válvulas afectadas por estenosis calcificada degenerativa, contienen mayores cantidades de lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas y se encuentra expresión aumentada de metaloproteinasas, comparadas con válvulas sanas (24,25), observaciones que también se han hecho en las placas ateroscleróticas coronarias (26).

Los procesos mediadores del depósito de calcio en la capa fibrosa de las valvas, tales como los mecanismos desencadenantes, el depósito de lipoproteínas, el estado de inflamación crónica, la presencia de enzima convertidora de angiotensina y la calcificación activa, que se

han descritos en estudios histológicos e *in vitro*, apoyan el concepto de que la enfermedad calcificada de la válvula aórtica es un proceso similar al de aterosclerosis coronaria (27).

En apoyo a la hipótesis planteada anteriormente, varios investigadores han demostrado que los factores de riesgo para aterosclerosis como la edad, hipercolesterolemia, género masculino y tabaquismo, se asocian con aumento en la prevalencia de la CVAo (3,12,14,28). De forma más reciente, el síndrome metabólico también se ha asociado con mayor prevalencia y velocidad de progresión de esta patología (11,29). Factores de riesgo no convencionales como proteína C reactiva (PCR) y Lipoproteína a (Lp (a)) también han sido correlacionados de forma independiente con la CVAo (30). Por otro lado, la relación entre la CVAo y el proceso de aterosclerosis, se ha documentado en estudios de población sin antecedentes cardiovasculares, donde su presencia se asocia a un aumento del 50% en el riesgo de mortalidad cardiovascular e infarto del miocardio (2,7). Conte y colaboradores, reportaron una prevalencia de enfermedad coronaria obstructiva de hasta el 71% en los pacientes con esclerosis aórtica en comparación con solo el 24% de los pacientes que no la tenían ($p=0.04$), así como mayor severidad en las lesiones coronarias (31). De igual forma, la severidad de la CVAo medida por ecocardiograma o tomografía se ha asociado a peores resultados clínicos en pacientes con estenosis aórtica asintomática (32). En el estudio ROMICAT (Rule Out Myocardial Infarction using Computer Assisted Tomography, por sus siglas en inglés), que incluyó 357 sujetos, se concluyó que la CVAo se asocia con la presencia y mayor extensión de la enfermedad arterial coronaria, con un aumento del riesgo mayor de tres veces de tener cualquier tipo de placa (OR 3.6, $P = 0.047$) (9). Por otro lado, también se ha encontrado asociación entre la CVAo y la forma subclínica de la enfermedad coronaria valorada por calcio coronario en estudios de tomografía, reportandose mayor prevalencia de CVAo, en sujetos con mayor afectación coronaria (33-35).

Sin embargo, a pesar de sus similitudes etiopatogénicas, la asociación entre la CVAo y la aterosclerosis coronaria sigue siendo controversial. Pacientes con las formas más graves de CVAo frecuentemente tienen coronariografías normales (36) y su relación con la dislipidemia parece débil o insignificante (37). De forma más importante, el estudio SALTIRE (Scottish Aortic Stenosis and Lipid Lowering Trial, Impact on Regression, por sus siglas en inglés), único ensayo clínico disponible a la fecha, que incluyó 155 participantes y utilizó tratamiento con dosis altas de estatinas en pacientes con estenosis aórtica, con una media de seguimiento de 25 meses, no demostró efecto en la progresión de la calcificación valvular (38). No se pudo aclarar si los resultados obtenidos se debieron a la selección de pacientes, lo pequeño de la muestra o la duración de la terapia.

Una forma útil, no invasiva y ampliamente validada para estudiar la aterosclerosis coronaria, es la determinación de calcio arterial coronario (CAC) mediante tomografía computada (TC), utilizando el método de Agatston (39). El cual es un método bastante seguro, dado que no requiere medio de contraste y utiliza radiación menor a 1 mSv, similar a la radiación requerida para la realización de una mamografía (40,41). El CAC medido por TC, se correlaciona estrechamente con el volumen de placa aterosclerosa coronaria cuantificado por autopsia (42) y se correlaciona con la probabilidad de sufrir un síndrome coronario agudo y/o evento coronario a largo plazo (43,44), por lo que se utiliza cada vez con mayor frecuencia en la predicción del riesgo cardiovascular (40,41,45). Es importante señalar, que las imágenes de TC utilizadas para cuantificar el CAC también son útiles para cuantificar la CVAo, mediante medición de unidades de Agatston, unidades de masa aórtica y de volumen aórtico (46-48). El estudio de la CVAo por tomografía ha mostrado una fuerte correlación lineal con el calcio valvular medido en estudio histopatológico (49), con una excelente

reproducibilidad interobservador, intraobservador e interscan de las medidas (50). Lo anterior confirma que es posible estudiar a estos tejidos sin mayor costo o radiación para el paciente, facilitando analizar la relación entre la CVAo y la aterosclerosis coronaria, ayudando a ampliar el conocimiento fisiopatológico de esta importante enfermedad.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La asociación entre la calcificación de la válvula aórtica y la aterosclerosis no es del todo clara; sin embargo la CVAo tiene características que hacen biológicamente posible la asociación entre ambas. Por otro lado, se han demostrado diferencias étnicas en la CVAo y el CAC, por lo que se desconoce si la CVAo se asocia a aterosclerosis coronaria subclínica en una población mexicana.

5. JUSTIFICACIÓN

Debido al aumento en el número de adultos mayores, la CVAo se observa con más frecuencia en la actualidad. En otras poblaciones, se ha informado la asociación entre CVAo y aterosclerosis coronaria subclínica; sin embargo, no existen estudios en población mexicana que hayan investigado esta asociación. Además, se desconoce la prevalencia de CVAo y su asociación con factores de riesgo cardiovascular en mestizos mexicanos. Los resultados de este trabajo podrían ser la base de futuros estudios que investiguen si la CVAo es mejor predictor del riesgo cardiovascular en nuestra población.

6. HIPÓTESIS

En adultos mestizos mexicanos sin manifestaciones de enfermedad cardiovascular, existe asociación positiva entre la calcificación valvular aórtica y la aterosclerosis coronaria subclínica.

7. OBJETIVOS

Primario: Investigar en una población adulta mexicana asintomática cardiovascular, la existencia de asociación de la calcificación valvular aórtica con la aterosclerosis coronaria subclínica medidas por TAC, independiente de los factores de riesgo cardiovascular.

Secundario: 1) Determinar la asociación entre CVAo y diferentes factores de riesgo cardiovasculares convencionales y no convencionales. 2) Determinar la prevalencia de la CVAo en una población mexicana.

8. METODOLOGÍA GENERAL

8.1 TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO

Estudio transversal, descriptivo y analítico. Corresponde a una submuestra del estudio GEA (Genética de la Enfermedad Aterosclerosa), que actualmente se encuentra en desarrollo y estudiando la asociación de algunos genotipos específicos con el desarrollo de aterosclerosis.

8.2 POBLACIÓN ELEGIBLE

Se realizó mediante un muestreo consecutivo no probabilístico y consistió de personas que acudieron con fines de donación al banco de sangre del Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez” o fueron reclutados por invitación en centros de servicio social, para participar en el estudio.

8.2.1 CÁLCULO DE MUESTRA

Con base a una la relación evento parámetro de 1:10, a considerarse evaluar 15 parámetros (factores de riesgo de riesgo) y para una prevalencia aproximada del 15%, se calculó que eran necesarios al menos 1,000 sujetos para la realización del análisis multivariado.

8.3 CRITERIOS

- **De inclusión:**

- Sujetos de ambos géneros
- Edad de 35 a 80 años
- Asintomáticos y sin antecedente familiar ni personal de enfermedad arterial coronaria (EAC)
- Voluntarios reclutados por invitación o de los que acuden al banco de sangre del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” con fines de donación
- Sus dos generaciones previas sean mestizos y hayan nacido en México
- Firmar el consentimiento informado

- **De exclusión:**

- Edad menor de 35 o mayor de 80 años
- Antecedente o síntomas sugerentes de enfermedad arterial coronaria
- Historia de EAC prematura en familiares de primer grado
- Presencia de insuficiencia cardiaca congestiva, enfermedad hepática, renal u oncológica, distiroidismo no tratado y tratamiento corticosteroide.
- Nacidos fuera de México y que sus dos generaciones previas no sean mestizos.
- No firmen el consentimiento informado.

8.4 MÉTODOS CLÍNICOS, DE LABORATORIO Y DE IMAGEN.

Cuestionario: En todos los participantes se aplicaron cuestionarios estandarizados (51). La actividad física se cuantificó mediante un cuestionario que proporciona información sobre frecuencia, intensidad y duración de la actividad (52).

Antropometría: El peso se midió en una báscula calibrada y la talla utilizando un estadímetro de pared SECA 222 (Hamburgo, Alemania). El IMC se calculó con la fórmula peso (kg)/talla (m²). La circunferencia de cintura se midió con una cinta métrica de fibra de vidrio, en el punto medio de la distancia entre la parte inferior de la última costilla y la cresta iliaca. La tensión arterial se midió en posición sedente, después de por lo menos cinco minutos de reposo, utilizando un esfigmomanómetro digital Welch Allyn, series 52000 (Skaneateles Falls, N.Y, E.U.A.) y el promedio de las dos últimas de tres mediciones consecutivas se utilizó en el análisis.

Laboratorio: En ayuno de 12 horas y después de reposo durante 20 minutos en posición sedente, se colectaron 45 mL de sangre venosa en tubos con EDTA y en tubos sin anticoagulante. Después de centrifugar en frío, el plasma y el suero fueron divididos en 16 alícuotas. A las alícuotas de plasma se añadieron inhibidores de proteasas (Aprotinina 100 KIU/mL, Benzamidina 1mm). Todas las alícuotas fueron almacenadas a -70 °C. Los lípidos, lipoproteínas y glucosa se cuantificaron en muestras frescas. Las determinaciones de colesterol total, triglicéridos y glucosa en plasma, se realizaron en un autoanalizador Hitachi 902 (Boheringer Mannheim), utilizando estuches enzimáticos comerciales (Roche Diagnostics, Mannheim Alemania y Wako Chemicals, E.U.A). El colesterol de las lipoproteínas de alta densidad se determinó mediante un método enzimático homogéneo

(Roche Diagnostics, Mannheim Alemania) (53). El colesterol de las lipoproteínas de baja densidad se calculó con la fórmula de Friedewald modificada por De Long (54). Las concentraciones de PCR de alta sensibilidad, apolipoproteína B (apo B) y la apolipoproteína AI (apo A-I), se determinaron por inmunonefelometría (BN Pro Spec nephelometer, Dade Behring Marburg GmbH, Ge.). Las concentraciones de insulina en suero se cuantificaron por radioinmunoanálisis (Coat-A-count; Diagnostic Products, Los Angeles, CA). Se estimó la resistencia a la insulina empleando el modelo de homeostasis (HOMA-RI) (55). Todas las mediciones bioquímicas se realizaron en el Laboratorio de Endocrinología del Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez”. Los coeficientes de variación intra e inter ensayo en el laboratorio son inferiores al 10% y la precisión y exactitud de las determinaciones de lípidos, son evaluadas periódicamente por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de Atlanta, GA (CDC, por sus siglas en inglés).

Imagen: Se determinó el calcio arterial coronario (CAC) en todos los participantes utilizando un tomógrafo multidetector de 64 canales (Somatom Sensation, Siemens, Erlanger, Alemania), con sincronización cardíaca, mediante protocolo prospectivo, con los siguientes parámetros: 120kV, 120mA, grosor de corte de 3mm. Se obtuvo el índice de Agatston, mediante el cálculo del área de lesión (píxeles por encima de 130 unidades Hounsfield), haciéndolo cada 3 mm y multiplicado por un factor de densidad. El índice total para el CAC se obtuvo sumando los puntajes de las lesiones individuales de cada una de los cuatro sitios anatómicos (tronco de la coronaria izquierda, descendente anterior, circunfleja y coronaria derecha) y la CVAo se obtuvo de las áreas calcificadas confinadas a las valvas aórticas, cuando se encontraban cerradas (39,46-48) . El calcio de la pared aórtica que se encontró conectado de manera inmediata al calcio de las valvas aórticas fué incluido en el puntaje de

CVAo. Las imágenes fueron interpretadas por un médico Cardiólogo capacitado previamente por un médico radiólogo con amplia experiencia en este tipo de estudios. En 20 casos seleccionados al azar, la variabilidad intraobservador fue excelente, con un coeficiente de correlación de 0.99 con $p < 0.000$.

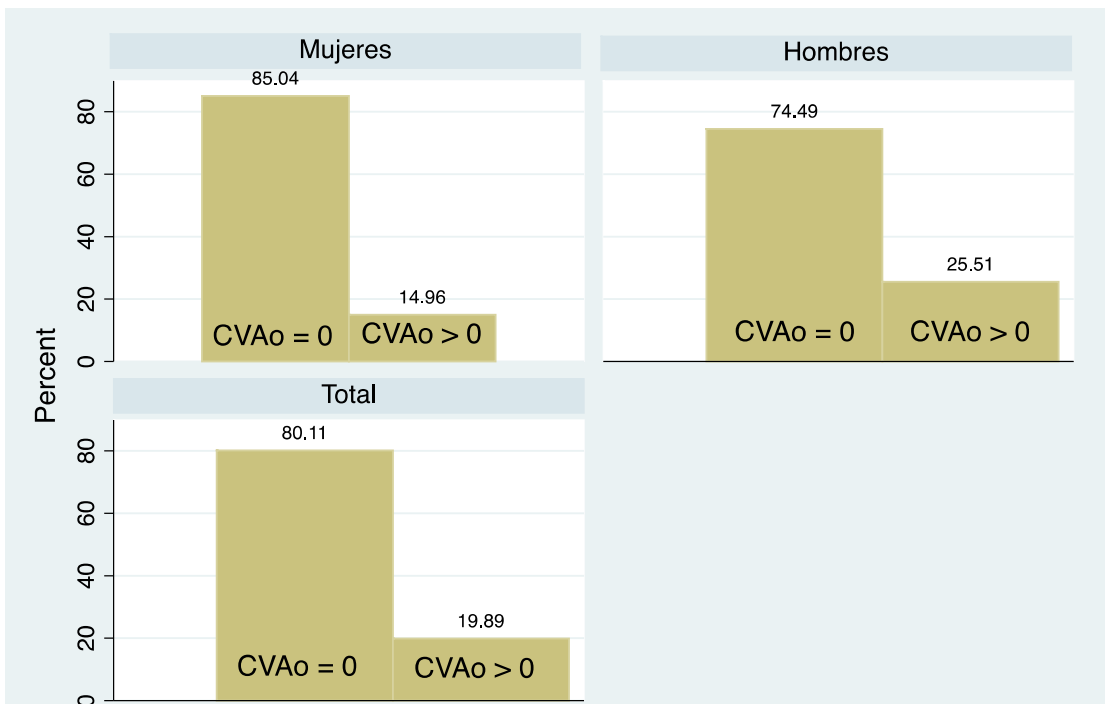
8.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculó la prevalencia de calcificación de la válvula aórtica en una población mexicana. Las variables continuas se expresan como valores medios \pm desviación estándar o mediana (rango intercuartil) según su distribución. Las variables categóricas se expresan con porcentaje. La calcificación valvular aórtica se dicotomizó como presente (Agatston >0) o ausente (Agatston $=0$). La calcificación coronaria también fue dicotomizada como presente/ausente, así como en categorías (CAC = 0, CAC = 1-100, CAC = 101-400 y CAC > 400). Se comparó la calcificación de la válvula aórtica de acuerdo a los grupos de factores de riesgo y características demográficas. Las diferencias entre las características de los grupos se comparó según su distribución con la prueba de t de student para muestras independientes o U de Mann-Whitney para variables continuas, y prueba de chi cuadrada para variables categóricas. En los sujetos con calcificación de la válvula aórtica, se analizó la correlación del puntaje de Agatston de la válvula aórtica con los factores demográficos y factores de riesgo incluyendo el índice de Agatston del calcio coronario. Las variables de estudio fueron analizadas de manera univariada y luego con modelo de regresión logística, en el que se ingresaron las variables con significado estadístico en el análisis univariado. El valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. El análisis estadístico se realizó en el programa STATA/SE V11.11

9. RESULTADOS

El estudio incluyó 1267 sujetos sin historia de enfermedad cardiovascular, de los cuales el 46.7% (n=592) fueron hombres y el 53.3% (n=675) mujeres, con una media de edad de 54 ± 9 años. La prevalencia de calcificación de la válvula aórtica (CVAo) en la población total fue del 19.89% (n=252), siendo más frecuente en los hombres (25.5% vs 14.9%) (**Figura 1**), con un puntaje de Agatston medio de 40 ± 113 . La presencia de CVAo asociada a calcio coronario se encontró en el 57.5% (n=145).

Figura 1. Prevalencia de la calcificación de la válvula aórtica



En la **Tabla 1** se muestran las características generales de la población según ausencia o presencia de calcificación de la válvula aórtica. Como se ha observado en otros estudios, en la población total fue más frecuente la calcificación valvular en sujetos hombres y con valores más altos de edad, índice de masa corporal, circunferencia de cintura y tensión arterial.

Tabla 1. Características generales de los participantes, según la ausencia o presencia de calcio valvular aórtico

	CVAo = 0 (n = 1015)	CVAo > 0 (n = 252)	Valor de p
Edad (años)	52.2 (\pm 8.8)	59.5 (\pm 9.05)	0.0000
IMC (kg/m²)	27.7 (25.4-30.6)	28.7 (25.7-32.2)	0.0040
Talla (m)	1.60 (1.54-1.68)	1.62 (1.53-1.68)	0.4031
Circunferencia de cintura (cm)	94 (86-101)	96.5 (89-97)	0.0001
Frecuencia cardiaca (Imp)	65 (60-71)	66 (60-72)	0.7946
Tensión arterial sistólica (mmHg)	113 (105-125)	121 (111-133)	0.0000
Tensión arterial diastólica (mmHg)	71 (66-78)	74 (68-80)	0.0003
Consumo alcohol (gr)	0.38 (0-1.9)	0.58 (0-4.4)	0.5867
Riesgo Framingham (puntos)	11 (8-13)	13 (11-15)	0.0000
Calcio coronario (U. Agatston)	0 (0-0)	2.3 (0-74.7)	0.0000

En negrita se anotan los resultados con significado estadístico. Los valores están expresados en media \pm desviación estándar o mediana (rango intercuartil). CVAo, calcificación valvular aórtica. IMC, índice de masa corporal.

En la **Tabla 2** se muestran las características bioquímicas de la población estudiada con y sin calcificación de la válvula aórtica. Se observaron diferencias en los valores de colesterol total, colesterol LDL, colesterol no HDL, triglicéridos, apolipoproteína B, relación colesterol total/colesterol HDL, glucosa, insulina, HOMA y ácido úrico, siendo significativamente más altos en los sujetos con presencia de CVAo.

Tabla 2. Características bioquímicas de los participantes, según la ausencia o presencia de calcio valvular aórtico

	CVAo = 0 (n = 1015)	CVAo > 0 (n = 252)	Valor de p
Colesterol total	191 (167-211)	199 (174-222)	0.0065
Colesterol LDL	116 (97-135)	123 (99-143)	0.0096
Colesterol HDL	46 (37-56)	45 (38-53)	0.1767
Colesterol no HDL	141 (121-164)	152 (124-173)	0.0011
Triglicéridos	145 (108-196)	158 (118-209)	0.0080
Apo A	135 (116-157)	133 (113-159)	0.9946
Apo B	92 (75-111)	96 (76-121)	0.0395
CT/Colesterol HDL	4.12 (3.32-5.03)	4.44 (3.55-5.27)	0.0066
Apo B / Apo A	0.66 (0.53-0.87)	0.72 (0.55-0.88)	0.1201
Glucosa	90 (84-97)	94 (86-104)	0.0000
PCR	1.6 (0.8-3.4)	1.6 (0.8-3.8)	0.6536
Insulina	16.9 (12.4-23.1)	18.8 (13.7-26.1)	0.0053
HOMA	3.90 (2.63-5.58)	4.82 (3.15-7.04)	0.0001
Acido Úrico	5.4 (4.4-6.5)	5.7 (4.7-6.6)	0.0249
Creatinina	0.82 (0.69-0.97)	0.86 (0.72-0.99)	0.0519
TGP	24 (17-33)	24 (18-30)	0.5452
TGO	24 (17-33)	24 (18-30)	0.5452

En negrita se anotan los resultados con significado estadístico. Los valores están expresados en mediana (rango intercuartil). LDL, lipoproteínas de baja densidad. HDL, lipoproteínas de alta densidad. Apo A, apolipoproteína A. Apo B, apolipoproteína B. CT, colesterol total, PCR, proteína C reactiva. TGP, transaminasa glutámico pirúvica. TGO, transaminasa glutámico oxalacética. HOMA: índice de resistencia a la insulina

La prevalencia de los factores de riesgo convencionales de los participantes con y sin calcificación de la válvula aórtica se muestra en la **Tabla 3**. Se observa que, con excepción del tabaquismo y el colesterol HDL bajo, la prevalencia de todos los demás factores fue significativamente más alta en los sujetos con CVAo.

Tabla 3. Prevalencia de factores de riesgo cardiovascular convencionales, según la ausencia o presencia de calcio valvular aórtico

	CVAo = 0 n = 1015 (%)	CVAo > 0 n = 252 (%)	Valor de p
Hombres	441 (43.5)	151 (59.9)	0.000
Tabaquismo actual	209 (20.5)	39 (15.4)	0.067
Obesidad (IMC > 30 kg/m²)	291 (28.6)	101 (40.1)	0.005
Diabetes Mellitus	111 (10.9)	56 (22.2)	0.000
Hipertensión arterial	223 (21.9)	93 (36.9)	0.000
Colesterol total > 200 mg/dL	378 (37.2)	120 (47.6)	0.002
Colesterol LDL > 130 mg/dL	316 (31.1)	99 (39.3)	0.013
Colesterol HDL < 40 mg/dL hombres, < 50 mg/dL mujeres	322 (31.7)	79 (31.3)	0.908

En negrita se anotan los resultados con significado estadístico. Los datos se muestran como n (%). IMC, índice de masa corporal. LDL, lipoproteínas de baja densidad. HDL, lipoproteínas de alta densidad.

La prevalencia de los factores de riesgo no convencionales en los participantes con y sin calcificación de la válvula aórtica se muestra en la **Tabla 4**. Todos los factores fueron más prevalentes en los sujetos con CVAo positivo, pero el sobrepeso, la cintura elevada y la PCR elevada no alcanzaron significado estadístico.

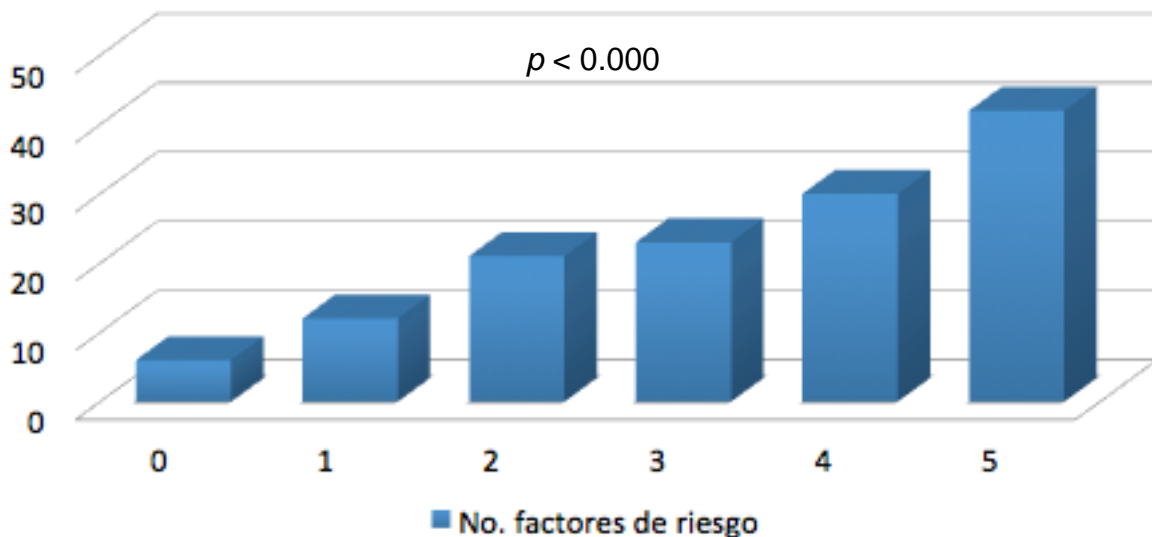
Tabla 4. Prevalencia de factores de riesgo cardiovascular NO convencionales, según la ausencia o presencia de calcio valvular aórtico

	CVAo = 0	CVAo > 0	Valor de p
	n = 1015 (%)	n = 252 (%)	
Sobrepeso (IMC 25-29.9 kg/m²)	789 (77.8)	200 (79.3)	0.575
Circunferencia de cintura elevado (a)	832 (81.9)	207 (82.1)	0.949
Triglicéridos >150 mg/dL	477 (47.0)	137 (54.3)	0.036
Síndrome Metabólico^(b)	424 (41.7)	126 (50.0)	0.018
Calcificación coronaria^(c)	191 (18.8)	145 (57.5)	0.000
PCR elevada	236 (23.3)	69 (27.3)	0.487
Sedentarismo	545 (53.7)	160 (63.5)	0.005
Hiperinsulinismo	543 (53.5)	159 (63.1)	0.001

En negrita se anotan los resultados con significado estadístico. Los datos se muestran como n (%).
a. Hombres >90cm, mujeres >80cm. b. Definido con los criterios de la OMS. e. calcio coronario por tomografía computada mayor de 0. IMC, índice de masa corporal. PCR, proteína C reactiva.

El análisis de 100 sujetos sin factores de riesgo cardiovascular, mostró que solamente 6 tuvieron calcificación de la válvula aórtica, mientras que esta anomalía valvular se encontró en 11 (40.1%) de 27 sujetos que presentaban 5 factores de riesgo. En la **figura 2** se observa el aumento en la prevalencia de la CVAo conforme se incrementa el número de factores de riesgo cardiovascular ($p < 0.000$).

Figura 2. Prevalencia de la calcificación de la válvula aórtica de acuerdo al número de factores de riesgo cardiovascular



La probabilidad de tener CVAo > 0 aumentó conforme la mayor gravedad de calcificación arterial coronaria (CAC). En los sujetos con ausencia de CAC, sólo el 8.45% tuvo CVAo, mientras que en los sujetos con puntajes de CAC de 1-99, 100-399 y >400, el 36.8%, 56.8% y 84% tuvieron CVAo respectivamente ($p < 0.000$).

La correlación bivariada de Spearman en sujetos con presencia de calcificación de la válvula aórtica se muestra en la **Tabla 5**. El puntaje de Agatston de la válvula aórtica tuvo relación con la edad ($r = 0.467$, $p = 0.000$), tensión arterial sistólica ($r = 0.276$, $p = 0.000$), colesterol LDL ($r = 0.138$, $p = 0.046$), colesterol no HDL ($r = 0.144$, $p = 0.037$), apolipoproteína B ($r = 0.151$, $p = 0.029$), glucosa ($r = 0.167$, $p = 0.015$), porcentaje de riesgo de Framingham ($r = 0.460$, $p = 0.000$) y calcio coronario ($r = 0.239$, $p = 0.000$).

Tabla 5. Correlación bivariada de Spearman. Sujetos con presencia de calcificación de la válvula aórtica. (n= 252)

	Puntaje de Agatston válvula aórtica			Puntaje de Agatston válvula aórtica	
	r	p		r	p
Edad (años)	0.467	0.000	IMC (kg/m²)	0.043	0.536
Tensión arterial sistólica (mmHg)	0.276	0.000	Circunferencia de cintura elevada (cm)	0.055	0.427
Colesterol LDL	0.138	0.046	Tensión arterial diastólica (mmHg)	0.122	0.077
Colesterol no HDL	0.144	0.037	Colesterol total	0.108	0.118
Apo B	0.151	0.029	Colesterol HDL	-0.118	0.088
Glucosa	0.167	0.015	Triglicéridos	0.093	0.181
Puntaje de riesgo de Framingham	0.460	0.000	Apo A	0.134	0.054
Calcio coronario	0.239	0.000	Insulina	0.013	0.850
			HOMA	0.086	0.215
			PCR	0.057	0.412

En negrita se anotan los resultados con significado estadístico. LDL, lipoproteínas de baja densidad. HDL, lipoproteínas de alta densidad. Apo A, apolipoproteína A. Apo B, apolipoproteína B. IMC, índice de masa corporal. PCR, proteína C reactiva. HOMA: índice de resistencia a la insulina

La independencia de la asociación entre el calcio coronario y el calcio de la válvula aórtica, independiente de los factores de riesgo cardiovascular, se evaluó utilizando un análisis de regresión logística múltiple ajustado por edad, género, obesidad, hipertensión arterial, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperapolipoproteinemia B, diabetes mellitus, sedentarismo, hiperinsulinemia y presencia de calcio coronario. El calcio arterial coronario ($p=0.000$), la obesidad ($p=0.000$), la edad ($p=0.000$) y el sexo masculino ($p=0.042$), fueron las variables que mostraron asociación independiente con la presencia de calcio en la válvula aórtica. Se hace notar que la razón de momios más alta fue la del calcio coronario.

Tabla 6.

Tabla 6. Modelo de regresión logística multivariado

CVAo > 0	RM	p	[Intervalo de Confianza 95%]	
Calcio Coronario > 0	3.230	0.000	2.266	4.605
Obesidad	1.943	0.000	1.352	2.792
Edad	1.085	0.000	1.063	1.108
Masculino	1.440	0.042	1.012	2.050
Hipertensión arterial	0.917	0.643	0.639	1.317
Col total >200 mg/dL	1.388	0.187	0.853	2.259
Colesterol LDL >130 mg/dL	0.851	0.532	0.513	1.410
Diabetes mellitus	1.472	0.065	0.976	2.219
Sedentarismo	1.386	0.053	0.996	1.929
Triglicéridos >150 mg/dL	1.085	0.635	0.772	1.525
Hiperinsulinemia	1.130	0.503	0.789	1.619
Apolipoproteína B >130mg/dL	1.558	0.099	0.919	2.639

En negrita se anotan los resultados con significado estadístico. LDL, lipoproteínas de baja densidad.

10. DISCUSIÓN

La esclerosis aórtica es un padecimiento frecuente en personas mayores de 65 años (3,5), y su grado de calcificación ha demostrado tener valor predictivo de mayor riesgo de eventos coronarios y mortalidad cardiovascular (7,8). Aunque la edad media de nuestros participantes fue menor (54 vs 62 años) que la informada en otros estudios de población, la prevalencia de la CVAo en este estudio de población mexicana fue similar a la descrita en la literatura internacional. Esto puede tener su explicación en la alta prevalencia de factores de riesgo, particularmente de la presencia de obesidad en nuestra población.

Existe evidencia creciente que la enfermedad de la válvula aórtica se debe a un proceso inflamatorio activo similar al de aterosclerosis (19,20). Debido a la falta de herramientas adecuadas en imagenología que permitan la cuantificación estandarizada de los procesos a nivel vascular y de la válvula aórtica, ha sido difícil estudiar la relación de la enfermedad de la válvula aórtica con los factores de riesgo cardiovascular y la enfermedad arterial coronaria. En años recientes la tomografía computada multidetector ha demostrado ser de gran utilidad para realizar cuantificaciones de la calcificación de la válvula aórtica con una alta reproducibilidad (49,50). Los resultados del presente estudio confirman que la CVAo se asocia significativamente con factores de riesgo tradicionales y con la presencia de calcio coronario, el cual ha demostrado ser un marcador subrogado de la cantidad de placa aterosclerótica coronaria. Esto se observó en el análisis de regresión multivariado que permitió identificar a la edad, sexo masculino, obesidad y presencia de calcificación coronaria, como predictores independientes de la calcificación de la válvula aórtica, siendo éste último el factor más importante (RM 3.23).

La cantidad de calcio en la válvula aórtica fue más alta en sujetos con una mayor cantidad de calcificación arterial coronaria. Por tanto, nuestros resultados se añaden a investigaciones realizadas previamente que sugieren un mecanismo patofisiológico común, distinto a un simple cambio degenerativo. Esto es de suma importancia porque en cierta medida, explican el riesgo aumentado de infarto al miocardio y muerte cardiovascular asociado a CVAo y esclerosis aórtica (5,14). Otros factores contribuyentes a la lesión valvular en sus fases tempranas incluyen la inflamación, oxidación, depósito de lipoproteínas y disfunción endotelial, que se cree pueden promover vías transcripcionales que promueven la transformación miofibrilástica a fenotipos osteoblásticos (27). Sin embargo, en nuestro estudio las concentraciones de la proteína C reactiva como marcador de inflamación, no mostraron diferencias entre los grupos.

En general, los resultados del presente trabajo apoyan el rechazo al concepto de enfermedad valvular calcificada degenerativa, considerándose más apropiado el concepto de un componente del proceso aterosclerótico. Por otro lado, los hallazgos confirman la importancia de la TC en el estudio simultáneo arterial y valvular, el cual muy probablemente será utilizado con más frecuencia conforme se incremente el número de población adulta mayor en la que la prevalencia de estas condiciones patofisiológicamente relacionadas es más alta. Aunque la presencia y severidad de la calcificación de las coronarias han sido claramente establecidas como indicadores de eventos adversos cardiovasculares, en la actualidad se ignora la proporción en que este valor predictivo puede aumentarse al agregar la CVAo. El seguimiento del presente estudio permitirá una mejor utilización de la

información, sin un costo adicional de la evaluación tomográfica realizada de forma primaria para el estudio de la enfermedad coronaria aterosclerótica.

El estudio tiene varias limitaciones. Primero: el estudio es de tipo transversal, por lo que no es posible establecer relaciones de causalidad, sino solamente hacer inferencias. Segundo: como la muestra se constituyó por sujetos voluntarios, los participantes pueden o no ser representativos de la población general. Sin embargo, se esperaba que la relación de riesgo fuera similar a la de una muestra aleatoria, debido a lo improbable de que los participantes en el estudio tuvieran conocimiento previo de la calcificación de sus arterias coronarias y válvula aórtica. Además, las prevalencias de los factores de riesgo fueron similares a la reportadas por las encuestas nacionales en adultos mexicanos.

11. CONCLUSIÓN

En conclusión, la prevalencia de la CVAo en la población estudiada es alta y similar a la reportada en otros estudios poblacionales. Los resultados mostraron asociación significativa de la calcificación valvular aórtica con los factores de riesgo cardiovascular convencionales y con la calcificación de arterias coronarias. La asociación independiente más fuertemente encontrada con las arterias coronarias calcificadas sugiere mecanismos fisiopatológicos similares a los de enfermedad aterosclerosa.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Lindroos M, Kupari M, Heikkila J, Tilvis R. Prevalence of aortic valve abnormalities in the elderly: an echocardiographic study of a random population sample. *J Am Coll Cardiol* 1993;21(5) :1220-5.
2. Otto CM, Pearlman AS. Doppler echocardiography in adults with symptomatic aortic stenosis. Diagnostic utility and cost-effectiveness. *Arch Intern Med* 1988;148(12) :2553-60.
3. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, Gardin JM, Gottdiener JS, Smith VE, Kitzman DW, Otto CM. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. *Cardiovascular Health Study. J Am Coll Cardiol* 1997;29(3) :630-4.
4. Cosmi JE, Kort S, Tunick PA, Rosenzweig BP, Freedberg RS, Katz ES, Applebaum RM, Kronzon I. The risk of the development of aortic stenosis in patients with "benign" aortic valve thickening. *Arch Intern Med* 2002;162(20) :2345-7.
5. Otto CM, Lind BK, Kitzman DW, Gersh BJ, Siscovick DS. Association of aortic-valve sclerosis with cardiovascular mortality and morbidity in the elderly. *N Engl J Med* 1999;341(3) :142-7.
6. Otto CM, Burwash IG, Legget ME, Munt BI, Fujioka M, Healy NL, Kraft CD, Miyake-Hull CY, Schwaegler RG. Prospective study of asymptomatic valvular aortic stenosis. Clinical, echocardiographic, and exercise predictors of outcome. *Circulation* 1997;95(9) :2262-70.
7. Gondrie MJ, van der Graaf Y, Jacobs PC, Oen AL, Mali WP. The association of incidentally detected heart valve calcification with future cardiovascular events. *Eur Radiol* 2011;21(5) :963-73.
8. Blaha MJ, Budoff MJ, Rivera JJ, Khan AN, Santos RD, Shaw LJ, Raggi P, Berman D, Rumberger JA, Blumenthal RS and others. Relation of aortic valve calcium detected by cardiac computed tomography to all-cause mortality. *Am J Cardiol* 2010;106(12) :1787-91.
9. Mahabadi AA, Bamberg F, Toepker M, Schlett CL, Rogers IS, Nagurney JT, Brady TJ, Hoffmann U, Truong QA. Association of aortic valve calcification to the presence, extent, and composition of coronary artery plaque burden: from the Rule Out Myocardial Infarction using Computer Assisted Tomography (ROMICAT) trial. *Am Heart J* 2009;158(4) :562-8.
10. Koos R, Kuhl HP, Muhlenbruch G, Wildberger JE, Gunther RW, Mahnken AH. Prevalence and clinical importance of aortic valve calcification detected incidentally on CT scans: comparison with echocardiography. *Radiology* 2006;241(1) :76-82.
11. Katz R, Wong ND, Kronmal R, Takasu J, Shavelle DM, Probstfield JL, Bertoni AG, Budoff MJ, O'Brien KD. Features of the metabolic syndrome and diabetes mellitus as predictors of aortic

valve calcification in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circulation* 2006;113(17) :2113-9.

12. Pohle K, Otte M, Maffert R, Ropers D, Schmid M, Daniel WG, Achenbach S. Association of cardiovascular risk factors to aortic valve calcification as quantified by electron beam computed tomography. *Mayo Clin Proc* 2004;79(10) :1242-6.
13. Cury RC, Ferencik M, Hoffmann U, Ferullo A, Moselewski F, Abbara S, Booth SL, O'Donnell CJ, Brady TJ, Achenbach S. Epidemiology and association of vascular and valvular calcium quantified by multidetector computed tomography in elderly asymptomatic subjects. *Am J Cardiol* 2004;94(3) :348-51.
14. Messika-Zeitoun D, Bielak LF, Peyser PA, Sheedy PF, Turner ST, Nkomo VT, Breen JF, Maalouf J, Scott C, Tajik AJ and others. Aortic valve calcification: determinants and progression in the population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27(3) :642-8.
15. Nasir K, Katz R, Takasu J, Shavelle DM, Detrano R, Lima JA, Blumenthal RS, O'Brien K, Budoff MJ. Ethnic differences between extra-coronary measures on cardiac computed tomography: multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA) . *Atherosclerosis* 2008;198(1) :104-14.
16. Otto CM, Kuusisto J, Reichenbach DD, Gown AM, O'Brien KD. Characterization of the early lesion of 'degenerative' valvular aortic stenosis. Histological and immunohistochemical studies. *Circulation* 1994;90(2) :844-53.
17. O'Brien KD, Reichenbach DD, Marcovina SM, Kuusisto J, Alpers CE, Otto CM. Apolipoproteins B, (a) , and E accumulate in the morphologically early lesion of 'degenerative' valvular aortic stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16(4) :523-32.
18. Olsson M, Thyberg J, Nilsson J. Presence of oxidized low density lipoprotein in nonrheumatic stenotic aortic valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(5) :1218-22.
19. Freeman RV, Otto CM. Spectrum of calcific aortic valve disease: pathogenesis, disease progression, and treatment strategies. *Circulation* 2005;111(24) :3316-26.
20. Chandra HR, Goldstein JA, Choudhary N, O'Neill CS, George PB, Gangasani SR, Cronin L, Marcovitz PA, Hauser AM, O'Neill WW. Adverse outcome in aortic sclerosis is associated with coronary artery disease and inflammation. *J Am Coll Cardiol* 2004;43(2) :169-75.
21. Parhami F, Morrow AD, Balucan J, Leitinger N, Watson AD, Tintut Y, Berliner JA, Demer LL. Lipid oxidation products have opposite effects on calcifying vascular cell and bone cell differentiation. A possible explanation for the paradox of arterial calcification in osteoporotic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(4) :680-7.

22. Drolet MC, Roussel E, Deshaies Y, Couet J, Arsenault M. A high fat/high carbohydrate diet induces aortic valve disease in C57BL/6J mice. *J Am Coll Cardiol* 2006;47(4) :850-5.
23. Parhami F, Basseri B, Hwang J, Tintut Y, Demer LL. High-density lipoprotein regulates calcification of vascular cells. *Circ Res* 2002;91(7) :570-6.
24. Edep ME, Shirani J, Wolf P, Brown DL. Matrix metalloproteinase expression in nonrheumatic aortic stenosis. *Cardiovasc Pathol* 2000;9(5) :281-6.
25. Mehrabi MR, Sinzinger H, Ekmekcioglu C, Tamaddon F, Plesch K, Glogar HD, Maurer G, Stefenelli T, Lang IM. Accumulation of oxidized LDL in human semilunar valves correlates with coronary atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2000;45(4) :874-82.
26. Fuster V, Badimon J, Chesebro JH, Fallon JT. Plaque rupture, thrombosis, and therapeutic implications. *Haemostasis* 1996;26 Suppl 4:269-84.
27. Miller JD, Weiss RM, Heistad DD. Calcific aortic valve stenosis: methods, models, and mechanisms. *Circ Res* 2011;108(11) :1392-412.
28. Thanassoulis G, Massaro JM, Cury R, Manders E, Benjamin EJ, Vasan RS, Cupple LA, Hoffmann U, O'Donnell CJ, Kathiresan S. Associations of long-term and early adult atherosclerosis risk factors with aortic and mitral valve calcium. *J Am Coll Cardiol* 2010;55(22) :2491-8.
29. Katz R, Budoff MJ, Takasu J, Shavelle DM, Bertoni A, Blumenthal RS, Ouyang P, Wong ND, O'Brien KD. Relationship of metabolic syndrome with incident aortic valve calcium and aortic valve calcium progression: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) . *Diabetes* 2009;58(4) :813-9.
30. Bozbas H, Yildirim A, Atar I, Pirat B, Eroglu S, Aydinalp A, Ozin B, Muderrisoglu H. Effects of serum levels of novel atherosclerotic risk factors on aortic valve calcification. *J Heart Valve Dis* 2007;16(4) :387-93.
31. Conte L, Rossi A, Cicoira M, Bonapace S, Amado EA, Golia G, Zardini P, Vassanelli C. Aortic valve sclerosis: a marker of significant obstructive coronary artery disease in patients with chest pain? *J Am Soc Echocardiogr* 2007;20(6) :703-8.
32. Feuchtner GM, Muller S, Grander W, Alber HF, Bartel T, Friedrich GJ, Reinthaler M, Pachinger O, zur Nedden D, Dichtl W. Aortic valve calcification as quantified with multislice computed tomography predicts short-term clinical outcome in patients with asymptomatic aortic stenosis. *J Heart Valve Dis* 2006;15(4) :494-8.

33. Takasu J, Shavelle DM, O'Brien KD, Babaei A, Rosales J, Mao S, Fischer H, Budoff MJ. Association between progression of aortic valve calcification and coronary calcification: assessment by electron beam tomography. *Acad Radiol* 2005;12(3) :298-304.
34. Nasir K, Katz R, Al-Mallah M, Takasu J, Shavelle DM, Carr JJ, Kronmal R, Blumenthal RS, O'Brien K, Budoff MJ. Relationship of aortic valve calcification with coronary artery calcium severity: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) . *J Cardiovasc Comput Tomogr* 2010;4(1) :41-6.
35. Wong ND, Sciammarella M, Arad Y, Miranda-Peats R, Polk D, Hachamovich R, Friedman J, Hayes S, Daniell A, Berman DS. Relation of thoracic aortic and aortic valve calcium to coronary artery calcium and risk assessment. *Am J Cardiol* 2003;92(8) :951-5.
36. Rapp AH, Hillis LD, Lange RA, Cigarroa JE. Prevalence of coronary artery disease in patients with aortic stenosis with and without angina pectoris. *Am J Cardiol* 2001;87(10) :1216-7; A7.
37. Bellamy MF, Pellikka PA, Klarich KW, Tajik AJ, Enriquez-Sarano M. Association of cholesterol levels, hydroxymethylglutaryl coenzyme-A reductase inhibitor treatment, and progression of aortic stenosis in the community. *J Am Coll Cardiol* 2002;40(10) :1723-30.
38. Cowell SJ, Newby DE, Prescott RJ, Bloomfield P, Reid J, Northridge DB, Boon NA. A randomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aortic stenosis. *N Engl J Med* 2005;352(23) :2389-97.
39. Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M, Jr., Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 1990;15(4) :827-32.
40. Polonsky TS, Lloyd-Jones DM. Coronary artery calcium testing: dos and don'ts. *Cardiol Clin* 2012;30(1) :49-55.
41. Goel R, Garg P, Achenbach S, Gupta A, Song JJ, Wong ND, Shaw LJ, Narula J. Coronary artery calcification and coronary atherosclerotic disease. *Cardiol Clin* 2012;30(1) :19-47.
42. Rumberger JA, Simons DB, Fitzpatrick LA, Sheedy PF, Schwartz RS. Coronary artery calcium area by electron-beam computed tomography and coronary atherosclerotic plaque area. A histopathologic correlative study. *Circulation* 1995;92(8) :2157-62.
43. Nasir K, Raggi P, Rumberger JA, Braunstein JB, Post WS, Budoff MJ, Blumenthal RS. Coronary artery calcium volume scores on electron beam tomography in 12,936 asymptomatic adults. *Am J Cardiol* 2004;93(9) :1146-9.

44. Budoff MJ, Shaw LJ, Liu ST, Weinstein SR, Mosler TP, Tseng PH, Flores FR, Callister TQ, Raggi P, Berman DS. Long-term prognosis associated with coronary calcification: observations from a registry of 25,253 patients. *J Am Coll Cardiol* 2007;49(18) :1860-70.
45. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, Foster E, Hlatky MA, Hodgson JM, Kushner FG and others. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2010;122(25) :e584-636.
46. Hong C, Becker CR, Schoepf UJ, Ohnesorge B, Bruening R, Reiser MF. Coronary artery calcium: absolute quantification in nonenhanced and contrast-enhanced multi-detector row CT studies. *Radiology* 2002;223(2) :474-80.
47. Hong C, Bae KT, Pilgram TK. Coronary artery calcium: accuracy and reproducibility of measurements with multi-detector row CT--assessment of effects of different thresholds and quantification methods. *Radiology* 2003;227(3) :795-801.
48. Callister TQ, Cooil B, Raya SP, Lippolis NJ, Russo DJ, Raggi P. Coronary artery disease: improved reproducibility of calcium scoring with an electron-beam CT volumetric method. *Radiology* 1998;208(3) :807-14.
49. Messika-Zeitoun D, Aubry MC, Detaint D, Bielak LF, Peyser PA, Sheedy PF, Turner ST, Breen JF, Scott C, Tajik AJ and others. Evaluation and clinical implications of aortic valve calcification measured by electron-beam computed tomography. *Circulation* 2004;110(3) :356-62.
50. Budoff MJ, Mao S, Takasu J, Shavelle DM, Zhao X-Q, O'Brien KD. Reproducibility of Electron-Beam CT Measures of Aortic Valve Calcification. *Acad Radiol* 2002;9(10) :1122-1127.
51. Hernandez-Avila M, Romieu I, Parra S, Hernandez-Avila J, Madrigal H, Willett W. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire to assess dietary intake of women living in Mexico City. *Salud Publica Mex* 1998;40(2) :133-40.
52. Baecke JA, Burema J, Frijters JE. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *Am J Clin Nutr* 1982;36(5) :936-42.
53. Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, Irie T, Uekama K, Kayahara N, Miyauchi K. Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylene glycol-modified enzymes and sulfated alpha-cyclodextrin. *Clin Chem* 1995;41(5) :717-23.

54. DeLong DM, DeLong ER, Wood PD, Lippel K, Rifkind BM. A comparison of methods for the estimation of plasma low- and very low-density lipoprotein cholesterol. The Lipid Research Clinics Prevalence Study. *JAMA* 1986;256(17) :2372-7.
55. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28(7) :412-9.