



UNIVERSIDAD DE ESPECIALIDADES ESPÍRITU SANTO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

“ENRIQUE ORTEGA MOREIRA”

ESCUELA DE MEDICINA

**TÍTULO: COCIENTE NEUTRÓFILO/LINFOCITO Y ENFERMEDAD
CEREBRAL DE PEQUEÑO VASO, ATAHUALPA 2016.**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE SE PRESENTA COMO
REQUISITO PARA EL TÍTULO DE MÉDICO GENERAL**

AUTOR: ALDO FABRICIO COSTA VALAREZO.

TUTOR: OSCAR HUMBERTO DEL BRUTTO PERRONE.

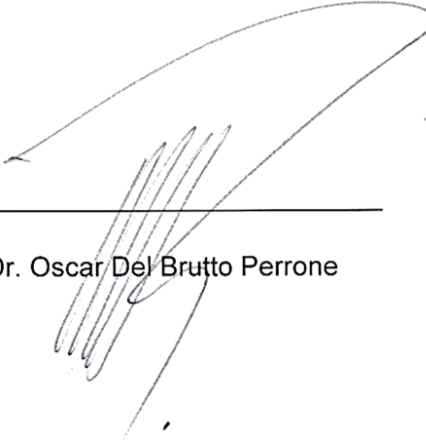
SAMBORONDÓN, AGOSTO 2017.

Aprobación del Tutor

Guayaquil, 21 de Agosto del 2017

Yo **Oscar Del Brutto Perrone**, en calidad de tutor del trabajo de investigación sobre el tema “COCIENTE NEUTRÓFILO/LINFOCITO Y ENFERMEDAD CEREBRAL DE PEQUEÑO VASO, ATAHUALPA 2016”; presentado por el alumno **Aldo Fabricio Costa Valarezo**, egresado de la carrera de Medicina; certifico que el trabajo ha sido revisado de acuerdo a los lineamientos establecidos y reúnen los criterios científicos y técnicos de un trabajo de investigación científica, así como los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el H. Consejo de Facultad “Enrique Ortega Moreira “ de Medicina, de la Universidad de Especialidades Espíritu Santo.

El trabajo fue realizado durante el periodo de octubre 2016 a agosto 2017 en la población rural costera de Atahualpa, Santa Elena; bajo mi dirección.



Dr. Oscar Del Brutto Perrone

Dedicatoria

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

A toda mi familia, por brindarme los momentos felices que me han definido como ser humano. A mis seres queridos que no tengo conmigo que desde el cielo me guían e interceden por mí ante Dios.

De carácter especial a mi tutor, el doctor Oscar Del Brutto por su paciencia y consejo, por motivarme y alentarme en los caminos de la ciencia y la investigación.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

Reconocimientos.

Este trabajo de tesis fue financiado en su totalidad por la Universidad de Especialidades Espíritu Santo. Se obtuvo dicho beneficio luego de un proceso de selección en las convocatorias de proyectos de investigación patrocinados por la Universidad y llevado a cabo por el Centro de Investigación de la Universidad Espíritu Santo. Se adjunta en la sección de anexos, la carta de aprobación.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|----|
| INTRODUCCIÓN | 9 |
| 1. Capítulo 1 | 11 |
| 1.1 Antecedentes..... | 11 |
| 1.2 Descripción del problema | 19 |
| 1.3 Justificación | 20 |
| 1.4 Objetivo General..... | 20 |
| 1.5 Objetivos Específicos | 20 |
| 1.6 Preguntas de investigación | 21 |
| 1.7 Hipótesis | 21 |
| 2. Capítulo 2: Marco Teórico..... | 22 |
| 2.2 Cociente neutrófilo/linfocito como biomarcador en Enfermedades Cardiovasculares | 23 |
| 2.3 Bases fisiopatológicas para el uso del cociente neutrófilo/linfocito en enfermedad cerebral de pequeño vaso | 26 |
| 2.4 Atahualpa: Una población ideal para estudios epidemiológicos..... | 32 |
| 2.4.1 Enfermedad cerebral de pequeño vaso en Atahualpa: | 36 |
| 3 Capítulo 3: Metodología | 40 |
| 3.1 Diseño de la investigación: | 40 |
| 3.2 Descripción de los Instrumentos, herramientas y procedimientos de la investigación. | 42 |
| 3.2.1 Estudios imagenológicos..... | 42 |
| 3.2.2 Toma de muestras | 42 |
| 3.2.3 Organización y tabulación de datos..... | 43 |
| 3.2.4 Análisis estadístico | 43 |
| 3.3 Aspectos éticos | 44 |
| 4. Capítulo 4: Análisis y discusión de los resultados | 45 |
| 5. Capítulo 5: Conclusiones y Recomendaciones | 56 |
| Referencias bibliográficas | 58 |
| Anexos | 72 |
| Herramientas de recolección..... | 72 |
| Documento de consentimiento | 73 |
| Cronograma general | 74 |
| Flujograma | 75 |
| Carta de aprobación para financiamiento | 76 |
| Carta de aprobación de Institución donde se realizó la tesis | 77 |
| Fotografías | 78 |

Índice de Gráficos

| | | |
|---|--------------------------------------|-----------|
| Figura 1. Infarto lacunar (flecha) en secuencias T1 (izquierda), T2 (centro) y FLAIR (derecha)..... | ¡Error! Marcador no definido. | 11 |
| Figura 2. Hiperintensidades de sustancia blanca en RM FLAIR en diferentes cortes..... | | 12 |
| Figura 3. Micro sangrados (circunferencias) en secuencias de Eco gradiente en diferentes cortes..... | | 13 |
| Figura 4. Vía molecular de la IL-1 β | | 28 |
| Figura 5. Posible mecanismo fisiopatológico que relacione la presencia de enfermedad cerebral de pequeño vasos con un incremento en el cociente neutrófilo/linfocito | | 31 |
| Figura 6. Áreas pavimentadas y no pavimentadas de Atahualpa. | | 34 |
| Figura 7. Sala principal del Centro de Apoyo Comunitario, Atahualpa – Santa Elena..... | | 35 |
| Figura 8. Diferencias de promedio de CNL entre pacientes con y sin hiperintensidades de sustancia blanca..... | | 48 |
| Figura 9. Diferencias de promedio de CNL entre pacientes con y sin infartos lacunares | | 49 |
| Figura 10. Diferencias de promedio de CNL entre pacientes con y sin micro sangrados..... | | 50 |

Índice de Tablas

| | |
|---|-------|
| Tabla 1. Publicaciones del Proyecto Atahualpa en lo referente a enfermedad cerebral de pequeño vaso..... | 37-39 |
| Tabla 2. Operacionalización de las variables..... | 40-41 |
| Tabla 3. Características clínicas y demográficas de 259 pacientes incluidos en el estudio..... | 45 |
| Tabla 4. Características clínicas y demográficas según los marcadores de ECPV..... | 46-47 |
| Tabla 5. Confiabilidad del CNL para la detección de marcadores imagenológicos de ECPV en 259 adultos mayores incluidos en este estudio.. | 51 |

Resumen

La enfermedad cerebral de pequeño vaso (ECPV) es un subtipo de enfermedad cerebrovascular (ECV) muy prevalente en América Latina y requiere para su detección el uso de estudios de *neuroimagen*. En poblaciones rurales, existe poco acceso a estos estudios de diagnóstico por imágenes por el alto coste. En el presente estudio se plantea el cociente neutrófilo/linfocito (CNL), un biomarcador inflamatorio económico y práctico, como una herramienta para seleccionar pacientes candidatos a estudios de imágenes más complejos para la detección de ECPV. El objetivo de la presente investigación es determinar la asociación de el CNL y la ECPV, asociación nunca antes estudiada. Para lograr el objetivo se incluyeron 259 pacientes con 60 años o mayores pobladores de Atahualpa, una comunidad rural costera del Ecuador. A quienes consintieron su inclusión, se les realizaron estudios de neuroimagen para evaluar la ECPV y se les tomó una muestra sanguínea para evaluar el CNL. Al menos un marcador de ECPV se halló en el 38% de pacientes. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre CNL y ninguno de los marcadores imagenológicos evaluados. Sin embargo, el CNL presentó alta especificidad y valor predictivo negativo (VPN). Se recomiendan otros estudios en los que se use el CNL junto con otros biomarcadores sensibles con alto valor predictivo positivo (VPP) para evaluar su utilidad en la ECPV.

INTRODUCCIÓN

En 1971, Omran propuso la llamada transición epidemiológica en la que describe el aumento de la frecuencia de enfermedades denominadas “crónicas no-trasmisibles” en países en vías de desarrollo y el posicionamiento de las mismas como las primeras causas de morbilidad y mortalidad en estos países.¹ Este aumento significativo es atribuido básicamente a: 1) la disminución de la mortalidad por enfermedades infecciosas, aumentado así la expectativa de vida; 2) a los cambios del estilo de vida relacionados con la urbanización de los pueblos y 3) a la susceptibilidad intrínseca de ciertas poblaciones a este tipo de enfermedades cardio-metabólicas.² La modificación en la dieta con la sustitución de los vegetales, legumbres y granos por comida procesada rica en carbohidratos y azúcares agregados ha condicionado el estado metabólico y ha repercutido de forma negativa en la salud cardiovascular.³ Debido a esta transición nutricional la prevalencia de la obesidad y el síndrome metabólico ha aumentado exponencialmente en los últimos años.⁴ Resultados de un estudio observacional realizado en siete países de la América Latina, entre los que figura Ecuador, se encontró una alta prevalencia de hipertensión (18%), hipercolesterolemia (14%), diabetes (7%), síndrome metabólico (20%) y obesidad (23%).⁵

La enfermedad cerebrovascular (ECV) se encuentra dentro de este grupo de enfermedades cardiovasculares y representa un número importante de casos a nivel mundial contribuyendo a la alta morbilidad y mortalidad de estas enfermedades. Actualmente representa la quinta causa de muerte en los Estados Unidos^{6 7} y la primera en muchos países de América Latina, afectando de manera particular a aquellos de medianos y bajos ingresos.^{8 9} Dentro de la ECV existe un subgrupo heterogéneo de procesos patológicos con etiología variada que afectan las pequeñas arterias, arteriolas, capilares y vénulas que penetran la corteza cerebral y llegan a estructuras profundas de la sustancia blanca y gris y que por su

importancia clínica han tomado gran interés en los últimos años. A este subgrupo de ECV se las ha denominado en su conjunto “enfermedad cerebral de pequeño vaso” (ECPV) y muchas veces se utiliza este término para los signos clínicos, fisiopatológicos, anatomopatológicos e incluso signos imagenológicos del daño micro-vascular cerebral.^{10 11}

En las últimas décadas se han determinado biomarcadores asociados a enfermedades cardiovasculares que han ayudado a entender la fisiopatología de estas enfermedades crónicas no transmisibles, así como mejorar la sensibilidad y especificidad de pruebas diagnósticas y el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas. El principal propósito de la presente tesis es demostrar la asociación entre un novedoso biomarcador, el cociente neutrófilo/linfocito (CNL), con la ECPV. La obtención de este biomarcador es por demás sencilla y de bajo costo por lo que, de demostrarse una asociación significativa, resultaría una herramienta importante para la selección de pacientes candidatos a realizarse estudios de imágenes del sistema nervioso central para el diagnóstico de la ECPV.

Para lograr este objetivo se plantea un diseño transversal y analítico de tipo poblacional usando estadística inferencial. La población seleccionada para llevar a cabo este trabajo de investigación es Atahualpa, ubicada geográficamente en la costa ecuatoriana. Atahualpa es representativa de otras poblaciones rurales costeras de Ecuador y América Latina, lo que aumenta el impacto de los resultados obtenidos de esta población. En poblaciones como Atahualpa, el acceso a los sistemas de salud es limitado y estudios de imágenes cerebrales de alta complejidad son, en la mayoría de veces, muy costosos.

1. Capítulo 1

1.1 Antecedentes

Los estudios de imagenológicos del cerebro son esenciales en el diagnóstico de ECPV.¹² Los principales marcadores de ECPV son: 1) infartos pequeños subcorticales (infartos lacunares), 2) cambios de la sustancia blanca de presunto origen vascular (históricamente denominados leucoaraiosis) y 3) micro sangrados cerebrales.¹³

El término infarto lacunar fue acuñado a partir de una descripción de Miller Fisher quién describió pequeñas cavidades llenas de fluido, producto de infartos resueltos a las cuales la llamó “lagunas” (*lacunes*).¹³ A las lesiones que precedieron la formación de las mismas se les denominó infartos lacunares y a las características clínicas se les llamó “síndrome lacunar”. Estas lesiones pueden ser descritas como cavidades redondas u ovals, subcorticales, llenas de líquido de entre 3 mm y 15 mm de diámetro, consistentes con un infarto subcortical agudo previo o hemorragia en el territorio de una arteriola perforante (Figura 1).¹⁴

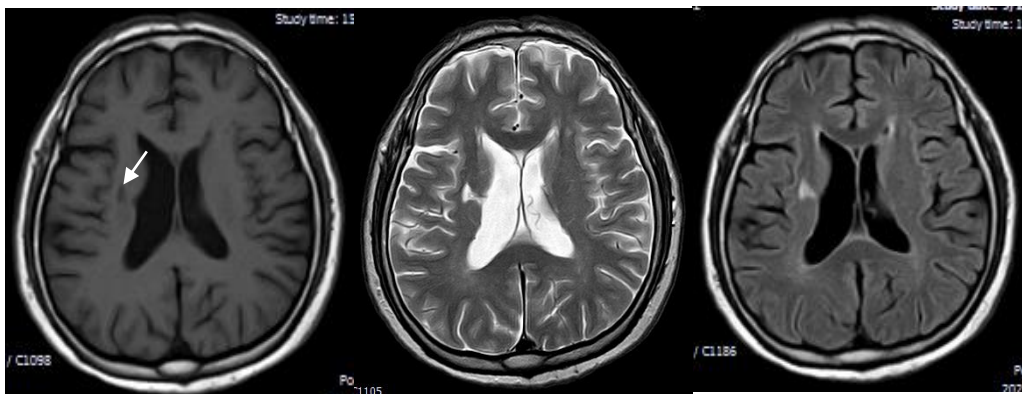


Figura 1. Infarto lacunar (flecha) en secuencias T1 (izquierda), T2 (centro) y FLAIR (derecha). *Fuente: Proyecto Atahualpa, cortesía del Dr. Oscar Del Brutto.*

Por otro lado los cambios de sustancia blanca de presunto origen vascular pueden ser evidenciados como hiperintensidades en secuencias de T2 en resonancia magnética (RM) y FLAIR o imágenes hipointensas en secuencias de T1 (Figura 2).¹⁴

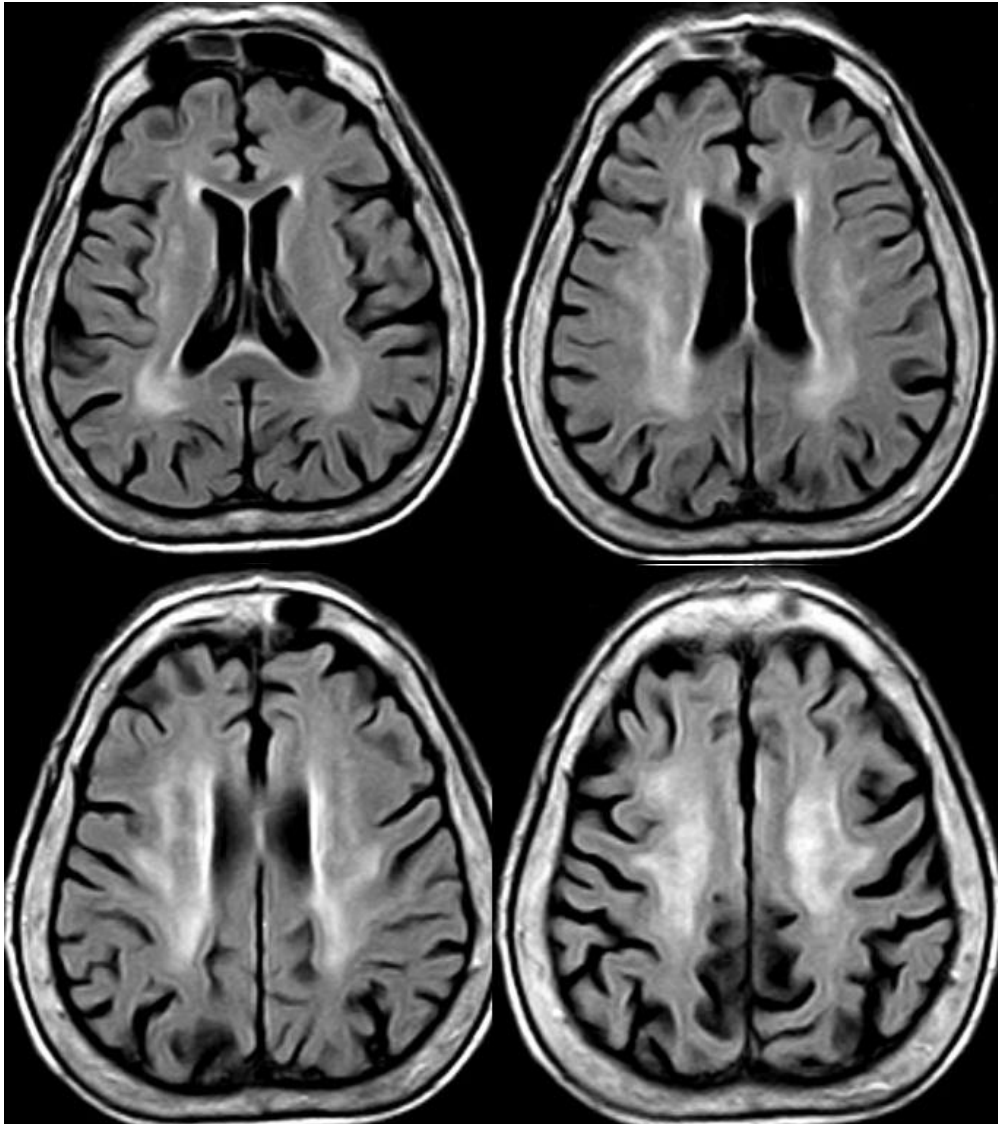


Figura 2. Hiperintensidades de sustancia blanca en RM FLAIR en diferentes cortes. *Fuente: Proyecto Atahualpa, cortesía del Dr. Oscar Del Brutto.*

Finalmente los micro sangrados cerebrales son pequeñas lesiones hipointensas en secuencias de eco-gradiente pueden tener localizaciones subcorticales o profundas (Figura 3). Actualmente, no existe un consenso para las definiciones de estos marcadores de ECPV ya que existe una gran variabilidad en el uso de términos en la literatura para una misma entidad.¹⁵

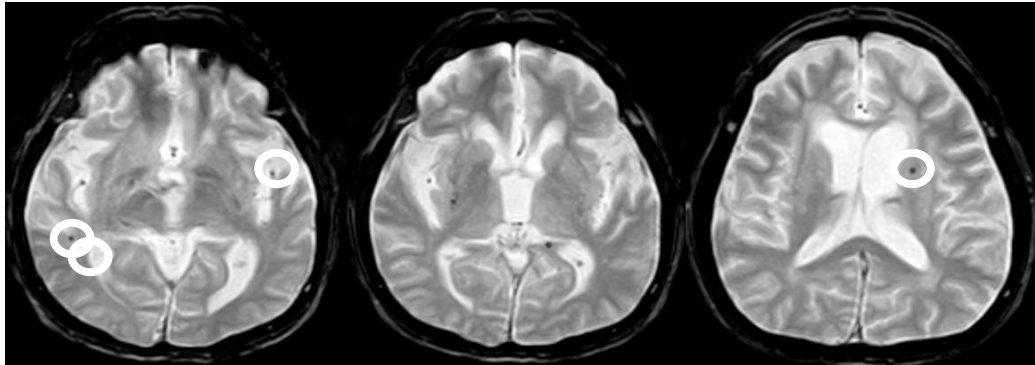


Figura 3. Micro sangrados (circunferencias) en secuencias de Eco gradiente en diferentes cortes. *Fuente: Proyecto Atahualpa, cortesía del Dr. Oscar Del Brutto.*

A pesar de que no existe una estandarización de los conceptos de dichos marcadores en estudio de imágenes por consenso, recientemente algunos estudios poblacionales en pacientes adultos mayores han arrojado una luz sobre su impacto clínico:

- **Deterioro Cognitivo y demencia:** Varios estudios han demostrado la asociación entre la ECPV y el deterioro cognitivo. En un estudio con 633 pacientes entre 65 y 84 años, la presencia de hiperintensidades de sustancia blanca y de infartos lacunares se asoció independientemente al deterioro de la función cognitiva general.¹⁶ En una cohorte de aproximadamente mil pacientes, sólo el 5% carecía de cambios de la sustancia blanca evidenciada por RM.¹⁷ En este estudio, la presencia de estas lesiones se asoció fuertemente a la edad y al sexo femenino. Además, en un

estudio subsecuente, las hiperintensidades de sustancia blanca de distribución periventricular se asociaron al deterioro cognitivo, no así las subcorticales, evidenciando la importancia de las regiones afectadas.¹⁸ La aparición de nuevos infartos lacunares se han asociado al deterioro cognitivo progresivo en pacientes con hiperintensidades de sustancia blanca en los cuales se ha realizado seguimiento clínico e imagenológico.¹⁹ En varios estudios longitudinales, el riesgo de demencia se incrementa al doble en pacientes con ECPV, dicha asociación se observa con mucha mayor fuerza en las hiperintensidades peri-ventriculares que en las subcorticales.²⁰⁻²² Además de los cambios en la sustancia blanca y los infartos lacunares, los micro sangrados; otro marcador de ECPV con diferente etiopatogenia, se asocia también a un mayor deterioro cognitivo. En un estudio se demostró que existe una asociación inversamente proporcional entre el número de micro sangrados y el desempeño en evaluaciones de la función cognitiva.²³ En una revisión sistemática con meta-análisis, al combinar datos de estudios poblacionales, el riesgo de demencia asociada con hiperintensidades de sustancia blanca aumentó en general 1.9 veces (1.3 a 2.8, $P=0.002$).²⁴

- **Trastornos de la marcha y el equilibrio:** Los trastornos de este tipo son comunes en pacientes mayores de 60 años y son una causa importante de morbilidad y mortalidad en este grupo etario. La mayoría no son explicados únicamente con la edad y lesiones de la sustancia blanca en áreas de coordinación central podrían condicionar el desarrollo de trastornos de la marcha y el equilibrio. Un estudio transversal con 639 individuos entre 65 y 84 años se propuso investigar la asociación entre trastornos de la marcha y la severidad de las hiperintensidades de sustancia blanca.²⁵ Los

trastornos de la marcha, coordinación y equilibrio fueron valorados objetivamente mediante pruebas clínicas en las cuales obtuvieron significativamente menor puntaje aquellos con cambios severos en la sustancia blanca en relación a aquellos con cambios leves.²⁵ En una modalidad prospectiva con seguimiento por 3 años en este mismo estudio se determinó que el puntaje de las pruebas disminuye significativamente 0.22 y 0.48 puntos en pacientes con cambios moderados y severos de la sustancia blanca respectivamente, cada año.²⁶

- **Síntomas urinarios:** Síntomas como nicturia, urgencia urinaria, incontinencia urinaria y polaquiuria son mucho más frecuentes en aquellos pacientes con hiperintensidades severas, según reveló un estudio de 639 pacientes en un diseño transversal.²⁷ Luego de ajustar para diferentes variables intervinientes, aquellos pacientes con hiperintensidades severas tienen 74% mayor riesgo que experimentar estos síntomas que aquellos con hiperintensidades leves. También se encontró que la presencia de urgencia urinaria puede predecir la presencia de hiperintensidades severas, aun cuando se consideren otras características clínicas asociadas con lesiones de la sustancia blanca (memoria, marcha y trastornos del estado de ánimo). Estas observaciones son importantes desde el punto de vista clínico, ya que sugieren que las lesiones de la sustancia blanca pueden ser responsables de la aparición de trastornos urinarios y deben ser sospechadas en adultos mayores con urgencia urinaria.

- **Depresión:** Existe una asociación importante entre la presencia de lesiones de sustancia blanca y síntomas depresivos. Aun cuando se toma en cuenta la calidad de vida, la cual se conoce

perfectamente que es un predictor muy importante del puntaje en las escalas de depresión, la presencia de hiperintensidades de sustancia blanca severa es un fuerte predictor de síntomas depresivos.²⁸ En el seguimiento de pacientes se ha demostrado que la progresión de hiperintensidades de sustancia blanca predice la incidencia de la depresión a los 3 años, incluso después de controlar variables intervinientes de interés.²⁹ La presencia de infartos lacunares también se asociaron a mayor incidencia de síntomas relacionados con la depresión en un seguimiento a 5 años.³⁰ Aproximadamente un 40% de pacientes con ECPV desarrolla depresión luego de 3 a 5 años y aquellos que la desarrollan tienden a tener ECPV de mayor severidad.³¹ La prevalencia de depresión en América Latina alcanza cifras de 1.6%, según una revisión sistemática, y tiene gran importancia en el ámbito de salud pública por su estrecha relación con la calidad de vida.³² Además, existen diferencias marcadas entre uno y otro marcador de ECPV en cuanto a la asociación con síntomas depresivos y desórdenes (o síndromes) depresivos. Los infartos lacunares y las hiperintensidades de sustancia blanca son comunes tanto en desórdenes como en síntomas depresivos, mientras que los micro sangrados, únicamente se relacionan con síndromes depresivos y particularmente a la depresión en combinación con la ansiedad.³³ Se necesitan más estudios que sustenten la denominada “depresión vascular” y el papel etiológico de la ECPV en el desarrollo de estos trastornos del estado de ánimo.

- **Dependencia funcional:** El estudio “Leucoaraiosis y discapacidad” (LADIS - *Leukoaraiosis and Disability Study*) es uno de estudios poblacionales de cohorte prospectivos y observacionales más grandes hasta el momento que han estudiado la ECPV.³⁴ Gran parte de los datos expuestos anteriormente en este apartado provienen del estudio LADIS. Este estudio consiste en una

colaboración multi-céntrica europea que comenzó en 2001. Los principales objetivos del estudio son evaluar el papel de las hiperintensidades de sustancia blanca como un predictor independiente de la transición de un estado funcional autónomo a la discapacidad en sujetos de edad avanzada, y para evaluar el papel de la progresión de las hiperintensidades de sustancia blanca en esta transición.³⁴ El estudio se realizó en 11 centros europeos con un total de 639 participantes que fueron incluidos en el estudio. Los pacientes incluidos eran funcionalmente independientes, con edades entre 65-84 años, y con evidencia en la RM de cualquier grado de severidad de hiperintensidades de sustancia blanca, clasificados de acuerdo con una escala de Fazekas modificada. Los datos del análisis al seguimiento de un año confirmaron la hipótesis de que la hiperintensidades de sustancia blanca tiene un efecto sobre la discapacidad y mostraron que las tasas de transición de un estado funcional independiente a la discapacidad fueron de 9%, 15% y 26% en el grupo leve, moderado y grave de hiperintensidades de sustancia blanca, respectivamente.³⁶ Un riesgo de transición más de dos veces mayor estaba presente para los pacientes con grados severos de hiperintensidades de sustancia blanca en comparación con el del grupo. Al analizar los datos de seguimiento a los 3 años, las tasas anuales de transición a discapacidad o fallecimiento fueron 10.5%, 15.1% y 29.5%, para los pacientes con hiperintensidades de sustancia blanca leve, moderada y severa, respectivamente.³⁷ Con estos datos podemos concluir que existe una evidencia contundente en cuando a la asociación temporal entre ECVP, manifestada en las hiperintensidades de sustancia blanca, con la discapacidad funcional en adultos mayores previamente con independencia funcional.

- **Ictus:** Varios estudios han demostrado la relación entre el ictus y la ECPV como ictus silente.³⁸ La prevalencia de ictus silentes

(lacunares) es tan alta como 20%.³⁹ En el seguimiento a 10 años, el riesgo de sufrir un ictus fue mayor entre aquellos que tenían ECPV e incluso el agregar la presencia de infartos silentes mejoró la predicción de ictus.⁴⁰ Un reciente meta-análisis determinó que el riesgo de ictus en poblaciones generales de pacientes con ECPV es 3.1 veces mayor y para poblaciones de alto riesgo 7.4 veces mayor. El riesgo de combinado de estos dos subgrupos fue de 3.5 veces mayor que aquellos pacientes sin ECPV.²²

- **Mortalidad:** Un estudio poblacional demostró que la presencia de infartos lacunares incrementó en 2.6 veces el riesgo de muerte vascular y en 2.7 veces el de muerte por causas no vasculares.⁴¹ Una revisión sistemática con meta-análisis de estudios poblacionales demostró un aumento del riesgo de muerte en pacientes con ECPV de 2 veces mayor que aquellos que no tienen ECPV. Si se analizan los estudios por separado en poblaciones de alto riesgo y de poblaciones generales, el riesgo es 1.6 (IC, 1.0 - 2.7) y 2.3 (IC, 1.9 - 2.8) veces mayor, respectivamente.²²

Además de esta información brindada por estudios poblacionales, el ensayo clínico “Prevención Secundaria en Infartos Pequeños Subcorticales” (SPS3 [*Secondary Prevention of Small Subcortical Strokes*]) ha demostrado, en un análisis secundario con un subgrupo de pacientes hispanoparlantes de la cohorte (43% de 3,020), que los pacientes provenientes de América Latina con infartos subcorticales tienen un mayor compromiso de la función motora y un grado mucho mayor de discapacidad funcional.⁴² La mitad de pacientes de América Latina y pacientes Hispánicos en los Estados Unidos sufren de deterioro cognitivo luego de un infarto subcortical (lacunar), según este estudio. Sumado a esto, los pacientes hispanoparlantes en general tenían un mayor deterioro en las capacidades

visuo-constructivas y menos deterioro de la memoria que el resto de la cohorte. Pacientes de Ecuador fueron incluidos en este análisis (n=171).⁴²

Tomando en cuenta toda la evidencia presentada con anterioridad, se puede deducir que la ECPV es un problema global, de salud pública, que conlleva al deterioro funcional general y que el factor racial-étnico confiere características únicas a pacientes de poblaciones de América Latina que deben estudiarse a fondo.

1.2 Descripción del problema

La ECPV se asocia a deterioro cognitivo, demencia, depresión, trastornos de la estabilidad y la marcha, síntomas urinarios, incidencia de ictus, discapacidad funcional y muerte en pacientes adultos mayores. Particularmente en América Latina, la ECPV, es un subtipo de trastorno vascular cerebral muy prevalente. En Ecuador existen reportes de prevalencia de infartos lacunares, hiperintensidades de sustancia blanca y micro sangrados de 40%, 67% y 11%, respectivamente.

El diagnóstico de esta patología se realiza mediante estudios de imágenes de tomografía y RM por lo cual es importante determinar los biomarcadores asociados a ECPV para determinar su utilidad en la selección de pacientes para ser evaluados.

El CNL es un biomarcador que ha ganado reciente atención en enfermedades cardiovasculares. Dado que su obtención proviene de un hemograma común, mediante una división simple, su asociación con la ECPV lo volvería un biomarcador ideal para seleccionar pacientes candidatos a estudios de imágenes para el diagnóstico de ECPV.

No existe al momento información acerca de la asociación entre el CNL y el daño micro-vascular cerebral, de modo que la relación entre el CNL y la ECPV debe ser estudiada más profundamente.

1.3 Justificación

Los estudios de imágenes pueden resultar muy costosos en áreas rurales periféricas e incluso pudieran no estar disponibles en todos los niveles de salud pública. Sin embargo, los mismos son imprescindibles para el diagnóstico y evaluación de la ECPV.

Por esta razón, la necesidad de marcadores de bajo costo que identifiquen candidatos para el tamizaje es de vital importancia. Debido a que la determinación del CNL es bastante práctico y poco costoso, encontrar una correlación entre el CNL y la ECPV, representaría una herramienta útil en poblaciones de Ecuador y América Latina similares a Atahualpa para seleccionar pacientes que puedan ser sometidos a evaluación de ECPV, donde la limitación de recursos y el difícil acceso a cuidados de salud, impiden el diagnóstico oportuno y tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

1.4 Objetivo General

- Determinar la asociación entre el cociente neutrófilo linfocito (CNL) y la enfermedad cerebral de pequeños vasos (ECPV).

1.5 Objetivos Específicos

- Determinar la prevalencia de enfermedad cerebral de pequeños vasos (ECPV).

- Identificar el cociente neutrófilo/linfocito (CNL) como un marcador útil para la selección de tamizaje para la detección de ECPV.
- Establecer valores de corte de CNL con máxima sensibilidad y/o especificidad para predecir ECPV.

1.6 Preguntas de investigación

¿Existe una asociación entre el cociente neutrófilo/linfocito y la enfermedad cerebral de pequeño vaso? ¿Es esta asociación lo suficientemente fuerte y estadísticamente significativa? ¿Cuál es el punto de corte ideal del cociente neutrófilo/linfocito que predice mejor la enfermedad cerebral de pequeño vaso en pacientes mayores de 60 años?

1.7 Hipótesis

Existe una asociación significativa entre el cociente neutrófilo linfocito (CNL) y la enfermedad cerebral de pequeños vasos (ECPV).

2. Capítulo 2: Marco Teórico

2.1 Biomarcadores

El término biomarcador se ha usado en medicina mucho tiempo atrás. A partir de los años 80, se acuñó un nuevo término: “marcadores sustitutos”. Sea cual fuere el término que se utilice, un biomarcador es una característica objetivamente medible que puede ser evaluado como indicador de una función biológica fisiológica, patológica o como respuesta a algún fármaco.⁴³ La principal ventaja de biomarcadores es su bajo coste. De hecho en los últimos años se han utilizado en ensayos clínicos como sustitutos de desenlaces.

En las enfermedades cardiovasculares se han postulado algunos biomarcadores utilizados en investigación y en la práctica clínica.⁴⁴ La mayoría de ellos son marcadores inflamatorios, ya que se conoce desde hace mucho tiempo que en aquellos pacientes con enfermedades cardiovasculares existe un estado de inflamación constante y crónico de base. Así, se han determinado ciertos marcadores inflamatorios relacionados con la ECV que predicen la aparición de un ictus en pacientes sanos.⁴⁵ En cuanto a la ECPV se conoce que estados inflamatorios conllevan a la disfunción endotelial, que es la base del daño microvascular.⁴⁶ La proteína C-reactiva ultrasensible (PCRus) fue estudiada en pacientes que habían tenido un infarto subcortical (lacunar) para determinar si sus niveles se correlacionaban con la aparición de un infarto o eventos cardiovasculares recurrentes. Niveles elevados de PCRus se asociaron con 2.32 veces más probabilidad de sufrir un ictus recurrente y 2.04 veces más probabilidad de sufrir algún evento cardiovascular.⁴⁷

De la misma forma otros marcadores inflamatorios como interleucina-6 (IL-6) y el receptor de factor de necrosis tumoral alfa 1 (RTNF1) resultaron predecir eventos cardiovasculares en pacientes con infartos lacunares. En

pacientes con niveles más altos de IL-6 y RTNF1 se determinó un riesgo 1.21 y 1.10 veces mayor de sufrir un evento cardiovascular recurrente; respectivamente.⁴⁸

Sin embargo, dichos marcadores inflamatorios pueden resultar costosos en áreas rurales de recursos limitados y su uso puede resultar poco pragmático. Es por esto que es necesario la búsqueda de biomarcadores que se correlacionen con la ECPV y que además sean de bajo coste.

2.2 Cociente neutrófilo/linfocito como biomarcador en Enfermedades Cardiovasculares

Los glóbulos blancos tales como neutrófilos, linfocitos y monocitos han sido estudiados también como marcadores inflamatorios en enfermedades cardiovasculares desde hace mucho tiempo. Particularmente, el CNL ha despertado gran interés en cuanto a la predicción de eventos cardiovasculares, más que otros linajes celulares de linfocitos o incluso más que los neutrófilos o linfocitos individualmente.⁴⁹

Las primeras publicaciones en las que se utiliza el CNL datan del año 1967, cuando Bobb y Fairchild midieron este cociente en ratas sometidas a estrés pulmonar por ozono.⁵⁰ Posteriormente se postuló el CNL como un factor pronóstico pre-operatorio en pacientes con cáncer colorrectal.⁵¹ Luego se popularizó su uso en otros tipos de cáncer y se determinó que es un buen factor pronóstico teniendo la ventaja de ser simple de medir y poco costoso.^{52 53}

En las últimas dos décadas ha aumentado significativamente el número de publicaciones con resultados positivos al usar el CNL en enfermedades

cardio-metabólicas.⁵⁴ Su gran capacidad predictiva puede explicarse gracias a que el CNL 1) no se ve afectado por situaciones fisiológicas tales como deshidratación o ejercicio, que sí modifican individualmente los conteos de los diferentes leucocitos y 2) que este cociente agrupa dos linajes celulares distintos aunque complementarios integrando el efecto deletéreo de los neutrófilos y los linfocitos que representan un pobre estado de salud y un alto nivel de estrés.⁵⁵

- **Síndrome Coronario Agudo:** De entre todas las enfermedades cardiovasculares, el síndrome coronario agudo (SCA), es quizás la patología en la que más se usó el CNL. En un estudio donde se evaluó por medio de tomografía coronaria a pacientes con sospecha de enfermedad coronaria, el CNL fue estadísticamente mayor en aquellos con lesiones críticas que aquellos sin lesiones, siendo un predictor independiente de lesión coronaria calcificada, no calcificada y mixta.⁵⁶ Otro estudio con aproximadamente 3000 pacientes con SCA en los cuales se determinó su CNL al momento del ingreso clasificándolos en terciles según el valor del cociente, se determinó que aquellos pacientes del tercil 3 tenían 2.04 veces más riesgo de mortalidad intra-hospitalaria ($p=0.013$) y 3.88 veces más riesgo de mortalidad a 6 meses ($p<0.001$) que aquellos del tercil 1.⁵⁷ En pacientes con IAM con elevación del segmento ST (IAM-ST) la mortalidad es mayor mientras mayor es el CNL según un estudio que clasificó a los pacientes con IAM-ST según quintiles en relación al CNL.⁵⁸ Aquellos del quintil 5 tenían 4.20 veces más probabilidad de muerte que aquellos del quintil 1. Se ha demostrado también la utilidad como marcador pronóstico de mortalidad y complicaciones en pacientes con IAM-ST sometidos a revascularización.^{59 60}

- **Enfermedad Cerebro Vascular:** En un estudio retrospectivo que incluyó 255 pacientes se determinó que el CNL medido al ingreso de pacientes con ictus isquémico es predictor de mortalidad a corto plazo.⁶¹ El punto de corte fue de 5.0, demostrando mayor supervivencia en aquellos pacientes por debajo de ese valor. En un estudio transversal con 38 pacientes y 47 controles sanos, se determinó que en pacientes con ictus isquémico el CNL, así como el grosor de tejido adiposo pericárdico eran significativamente más altos en pacientes con ictus en comparación con los controles sanos.⁶² En un estudio de cohorte que incluyó pacientes con ictus isquémico trombótico y ataques isquémicos transitorios (AIT) junto con pacientes sanos, determinó que el CNL está significativamente elevado en pacientes con eventos vasculares cerebrales en comparación con las personas sanas del estudio y propone un punto de corte de 4.1 como predictor de mortalidad en estos pacientes.⁶³ Un CNL elevado está asociado además con el desarrollo de ictus en pacientes con estenosis carotídea no sintomática, así como es capaz de predecir la presencia de estenosis en pacientes que se presentan con ictus isquémico.^{64 65} Por otra parte, el subtipo embólico de ictus parece estar relacionado también con niveles elevados del cociente. Un estudio de cohorte con aproximadamente 33 000 pacientes demostró que el CNL está relacionado con la aparición del primer ictus en pacientes con fibrilación auricular.⁶⁶ En el ictus hemorrágico se ha demostrado que un valor del cociente mayor a 7.35 se asocia con mayor mortalidad.⁶⁷ En 177 pacientes con ictus hemorrágico, un valor de 4.58 o mayor se asoció independientemente con desenlaces desfavorables luego de 3 meses.⁶⁸ El CNL es un útil marcador pre-trombolisis de ictus hemorrágico y valores superiores a 10.59 en las 12 a 18 horas luego de la trombolisis predicen la conversión a ictus hemorrágico, aumentando la probabilidad en 7.93 veces en comparación con un CNL menor a ese punto de corte.^{69 70}

A pesar del aporte de los estudios mencionados con anterioridad, la información sobre relación del CNL y ECPV al momento de la redacción del presente tema de tesis es casi nula. Únicamente podemos concluir a partir de un estudio pequeño que, comparado con otros subtipos de ictus, los valores de CNL son menores en infartos lacunares, pero no existe información publicada de la importancia clínica de esta relación.⁶¹

Además de las enfermedades presentadas con anterioridad, el CNL se ha asociado a resistencia a la insulina en pacientes recientemente diagnosticados con diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), con el grado de albuminuria y con la aparición de eventos cardiovasculares en DMT2.⁷¹⁻⁷³ Se ha asociado también con la predicción de eventos en insuficiencia cardíaca crónica (ICC), con enfermedad vascular periférica, con disfunción endotelial en pacientes asintomáticos, complicaciones micro-vasculares en pacientes adultos mayores con diabetes y con hipertensión resistente.⁷⁴⁻⁷⁸

2.3 Bases fisiopatológicas para el uso del cociente

neutrófilo/linfocito en enfermedad cerebral de pequeño vaso

Se conoce que un 23% de publicaciones acerca de CNL tienen relación con enfermedades cardiovasculares.⁷⁹ Dentro de estas publicaciones la mayoría pertenece a la especialidad de cardiología y existen pocas publicaciones sobre de temas dentro de la neurología como la ECV. Como quedó demostrado en el apartado anterior la evidencia de la relación entre el CNL en ECV es escasa y en ECPV es aún más escasa. Debido a la falta de estudios específicos de ECPV y CNL se realizó una profunda búsqueda bibliográfica de la fisiopatología que podría sustentar esta asociación en beneficio de la presente tesis. A continuación exponemos los resultados de dicha búsqueda en el presente apartado.

En las últimas décadas se ha reconocido que la inflamación juega un papel principal en todas las enfermedades crónicas no transmisibles especialmente en enfermedades cardiovasculares. Se conoce también que los procesos inflamatorios son mediados por un complejo arsenal de mediadores bioquímicos que interactúan con las células de diversos tipos iniciando y perpetuando el estado inflamatorio. Dentro de este grupo de mediadores bioquímicos reluce una molécula: la interleucina 1 (IL-1).

La IL-1 fue descrita hace más de 50 años atrás y se conoció inicialmente como el “pirógeno endógeno” por su capacidad de elevar la temperatura en conejos. Posteriormente se descubrieron al menos 11 ligandos (o isoenzimas) con características bioquímicas similares que se agruparían en una gran familia de IL-1.⁸⁰ Dentro de los miembros de la familia de IL-1 sobresale la IL-1 beta (IL-1 β) que es una proteína de 17-kDa la cual proviene de su precursor (pro- IL-1 β), una proteína de 31-kDa que sufre escisión enzimática por la caspasa 1 (previamente denominada enzima convertidora de IL-1 [ECIL-1]), para alcanzar su forma activa.⁸⁰

La IL-1 β forma parte del sistema inmune innato y se expresa en gran número de células como macrófagos activados, monocitos, células dendríticas, células endoteliales, astrocitos, células del músculo liso de los vasos sanguíneos, entre otras.⁸¹ Estas células expresan el gen que codifica para la IL-1 β localizado en el cromosoma 2 en respuesta a estímulos como productos de virus y bacterias, otras citosinas, injuria celular, hipoxia, toxinas, descenso de niveles de potasio, urato monosódico y pirofosfato de calcio, especies reactivas de oxígeno (EROs), amiloide beta, proteínas de choque térmico, radiación, asbesto y cristales de sílice.^{82 83}

Todos estos estímulos desencadenan la producción de IL-1 β a través de la vía del complejo inflammasoma-NALP3 [*NACHT*-,*leucine-rich repeat(LRR)*- and *PYD containing protein*] que se compone de 3 proteínas: 1) NALP3, 2) una proteína de anclaje con un dominio de reclutamiento de la caspasa (DRC) y 3) la caspasa 1. Como se explicó anteriormente, la caspasa 1 es la encargada de la escisión de pro-IL-1 β para producir la IL-1 β madura.⁸² Una vía alterna de escisión de la IL-1 β podría ser por elastasas y la proteinasa 3 de los neutrófilos (Figura 4).⁸⁰ Para realizar su efecto la IL-1 β debe acoplarse a su receptor denominado receptor de IL-1 I (RIL-1 I), una proteína de 80 kDa, la cual necesita asociarse a una proteína accesoria del receptor (PaR) para la ejecución intracelular de la señal.⁸⁴

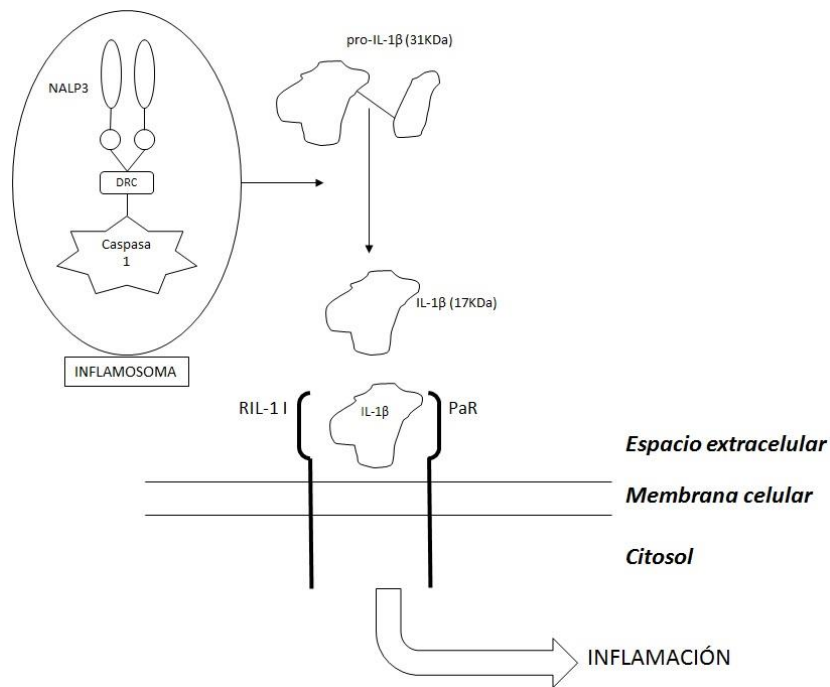


Figura 4. Vía molecular de la IL-1 β . NALP3, *NACHT*-,*leucine-rich repeat(LRR)*- and *PYD containing protein*; DRC, dominio de reclutamiento de la caspasa; RIL-1 I, receptor de IL-1 I; PaR, proteína accesoria del receptor. *Fuente: Autor.*

Los efectos del acoplamiento de la IL-1 β con su receptor dan como resultado el incremento en la expresión de citosinas, factores de

crecimiento, activación de metaloproteinasas de la matriz extracelular, aumento de la infiltración de leucocitos, activación plaquetaria, alteración en el flujo sanguíneo, angiogénesis, decremento de la neurogénesis, entre otros efectos.⁸⁰

Esta cascada de efectos produce una alteración en el endotelio y confiere una posible explicación para la aparición de eventos cardiovasculares en pacientes con enfermedades crónicas cardio-metabólicas.⁸⁵ En un estudio se determinó que la estimulación de las células humanas de músculo liso de la arteria pulmonar con IL-1 β , se asoció a un incremento en la adhesión de neutrófilos y monocitos a las células del músculo liso.⁸⁶ Además de su posible rol en el desarrollo de aterosclerosis y la progresión del daño endotelial, la IL-1 β parece tener un papel condicionante en el ictus. Se ha demostrado que en ratones en los que genéticamente se ha inhibido el gen que codifica para la caspasa 1, el edema cerebral y la extensión del daño neuronal luego de la oclusión arbitraria de la arteria cerebral media (ACM) fue significativamente menor que aquellos ratones con la enzima funcionando a pesar que la reducción en el flujo cerebral en ambos tipos de ratones fue similar.⁸⁷ Actualmente, existe evidencia que asocia a la IL-1 β la mediación del daño neuronal en el ictus isquémico e incluso con el vaso espasmo que conlleva a la isquemia diferida en la hemorragia subaracnoidea (HSA), por su interacción con la endotelina.^{80 83 84}

Polimorfismos del gen de IL-1 β que conceden hiperfunción del mismo (IL-1 β C-511T [TT]), producen niveles elevados de IL-1 β . El polimorfismo TT se asocia a ECPV y se ha demostrado que pacientes asintomáticos con este polimorfismo tienen un mayor volumen de hiperintensidades de sustancia blanca que los portadores.⁸⁹ Los mecanismos por los cuales la IL-1 β estaría involucrada en la severidad de la ECPV se desconocen, pero

la alteración de la barrera hemato-encefálica (BHE), las alteraciones del flujo cerebral, la promoción de la aterosclerosis, el incremento de la temperatura, la disfunción endotelial persistente, la agregación plaquetaria y la posible isquemia crónica resultante de dichos efectos, podría explicar en parte este hallazgo.

Interesantemente, la IL-1 β producida en el cerebro tiene un efecto poco convencional en los linajes celulares de leucocitos. En un estudio pre-clínico con ratas, en las cuales se las sometió a estrés operativo al introducir una cánula dentro de los ventrículos cerebrales, se demostró que la infusión de IL-1 β intra-hipotalámica e intra-ventricular produjeron neutrofilia con linfopenia periférica que permaneció por más de 4 horas en comparación con aquellas ratas en las que se administró placebo.⁹⁰ Cuando se realizó la infusión de IL-1 β intravenosos, la neutrofilia con linfopenia fue menos marcada. Con el aumento de neutrófilos y la reducción de linfocitos el cociente entre ambos aumenta. Estos resultados podrían representar una base para la aplicación del CNL en enfermedades cerebrovasculares y específicamente ECPV, siendo la IL-1 β el nexo entre la ECPV y la alteración del CNL (Figura 5).

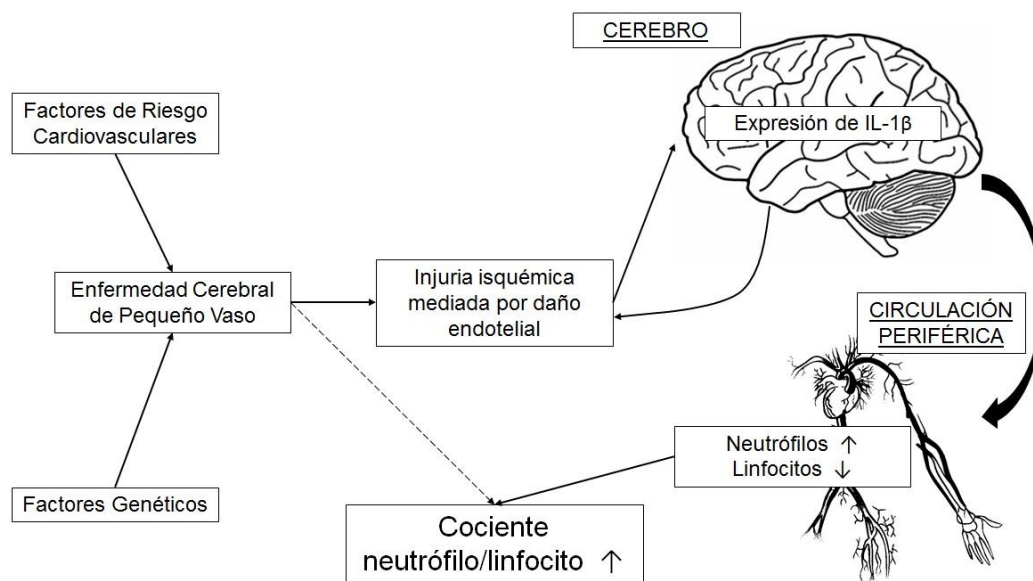


Figura 5. Posible mecanismo fisiopatológico que relacione la presencia de enfermedad cerebral de pequeño vasos con un incremento en el cociente neutrófilo/linfocito. *Fuente: Autor.*

A pesar de la información presentada con anterioridad, un reciente estudio de análisis histopatológico en biopsias realizado por Giwa y colaboradores de pacientes con ECPV determinó que el perfil inmunohistoquímico de la ECPV era un endotelio con 1) incremento de trombosmodulina (TM), un anticoagulante natural del endotelio sano no activado; 2) ausencia de moléculas de adhesión intercelular 1(MAIC-1) y 3) ausencia de IL-6.⁹¹ Dicho resultado contrasta con las características de un endotelio activado (ausencia de TM junto con incremento de MAIC-1 e IL-6). Este estudio habla en contra de una activación local del endotelio en la ECPV y refiere más bien que los niveles elevados de TM son una consecuencia en un intento por contrarrestar el efecto inflamatorio. Además, la adhesión leucocitaria parece no tener ningún papel en la ECPV ya que no se encontró infiltración leucocítica en las muestras. Sin embargo, su diseño retrospectivo y muestra insuficiente, sus resultados deben ser interpretados con precaución.

La disfunción endotelial puede jugar un rol importante en la fisiopatología de la ECPV.^{92 93} En estudios poblacionales se ha demostrado que existe mayor concentración de biomarcadores de activación endotelial en pacientes asintomáticos^{94 95} y sintomáticos⁹⁶ con ECPV en comparación con aquellos que no poseen evidencia de daño micro-vascular cerebral. Más aún, la presencia de biomarcadores de daño endotelial están relacionados con la progresión de las hiperintensidades de sustancia blanca, según un estudio prospectivo poblacional.⁹⁷

El estudio realizado por Giwa quizás indique que, si bien la activación endotelial no sea una característica de la ECPV, la presencia de biomarcadores circulantes se deba a que los mismos provienen de otros lechos vasculares y no del endotelio cerebral proponiendo a la ECPV como una manifestación de una enfermedad sistémica.⁹⁸ Otra explicación recae sobre la denominada teoría de la “neuro-inflamación” que sostiene que los procesos inflamatorios del árbol micro-vasculares cerebrales recaen en otras vías y células diferentes (microglia) a los procesos de otros órganos.⁹⁸ El estudio de estas teorías está lejos de los objetivos de la presente tesis en la cual se propone que el nexo entre la ECPV y el CNL podría ser explicado por la expresión de IL-1 β cerebral, la cual estaría en altas concentraciones en el contexto de una isquemia crónica mantenida en el tiempo por los cambios anatomopatológicos de la ECPV (lipohialinosis, microateromas) y de esa manera la traducción periférica de este biomarcador sería un CNL aumentado por los efectos ya descritos de esta interleucina en los linajes celulares de los leucocitos.

2.4 Atahualpa: Una población ideal para estudios epidemiológicos

Atahualpa es una parroquia rural localizada en el litoral Ecuatoriano, aproximadamente 20 Km al oeste del Océano Pacífico (2°18'S, 80°46'W). Fue seleccionada para el presente estudio por ser altamente representativa

de las poblaciones de la región. El clima es caliente, con aproximadamente 12 horas diarias de luz solar a lo largo de todo el año y presencia de escasas lluvias desde enero hasta abril. Más del 95% de la población son nativos ecuatorianos, con escasa evidencia de mestizaje.

Atahualpa es un poblado modesto desde el punto de vista socio-económico, sus habitantes no son paupérrimos ya que la mayoría de los hombres se dedican a la carpintería y los muebles que ahí se producen son cotizados en toda la región. Debido a su proximidad con el mar y al tipo de sembríos locales, la dieta de los habitantes de Atahualpa es rica en pescado, frutas, maíz y carbohidratos, pero pobre en otro tipo de grasas poli-insaturadas, así como en productos lácteos y carne de res. No existen lugares de expendio de comida rápida en el pueblo y la mayoría de las personas comen en sus casas.

Atahualpa es una población relativamente cerrada. La tasa de migración es mínima y algunos de sus residentes ni siquiera han visitado grandes centros urbanos (como Guayaquil), que se localizan a más de 100 Km de distancia. Todo el pueblo tiene electricidad y muchas de las casas tienen agua potable, aunque todavía existen algunos sistemas de eliminación de excretas mediante pozo séptico. La mayoría de las calles no son pavimentadas y muchas de las viviendas están construidas de madera o caña. Los residentes se movilizan principalmente caminando o en bicicleta, ya que no hay transporte público y muy pocas personas tienen vehículo propio (Figura 6).



Figura 6. Áreas pavimentadas y no pavimentadas de Atahualpa.

Fuente: Autor

Desde el punto de vista sanitario, existe únicamente un centro de atención ambulatoria del Ministerio de Salud Pública del Ecuador, atendido por dos médicos generales (uno de ellos rural), enfermeras, un odontólogo y una obstetra.

El hospital más cercano queda en la ciudad de Santa Elena, localizada a 20 Km de Atahualpa. Además el pueblo cuenta con un Centro de Apoyo Comunitario con modernas instalaciones con áreas de procedimientos donde los pacientes que participan en el Proyecto Atahualpa se les realizan los estudios necesarios (Figura 7).



Figura 7. Sala principal del Centro de Apoyo Comunitario, Atahualpa – Santa Elena. *Fuente: El autor. Reproducido con permiso del Dr. Del Brutto.*

El Dr. Oscar Del Brutto Perrone, renombrado neurólogo y científico de reconocimiento nacional e internacional, se desempeña como el Director del Proyecto Atahualpa. El Proyecto Atahualpa es un estudio poblacional de cohorte diseñado para reducir la carga de la ECV y otras enfermedades no transmisibles. Cuenta con el aval académico de la Sociedad Iberoamericana de Enfermedad Cerebro Vascular y se encuentra financiado por un auspicio irrestricto de la Universidad Espíritu Santo – Ecuador. El patrocinador no tiene ningún rol en el diseño del estudio ni en la recolección ni análisis de los datos. Se encuentran involucrados en el estudio una serie de profesionales de la salud, incluyendo neurólogos, cardiólogos, internistas, epidemiólogos, estadísticos, radiólogos, patólogos clínicos, genetistas, nutricionistas, médicos rurales, enfermeras y personal de campo. Los miembros del comité coordinador se encuentran encargados de sistematizar las actividades regulatorias del estudio, de traducir los instrumentos de campo (cuestionarios) a un lenguaje que sea entendible por los habitantes de la región, de entrenar y supervisar al personal de campo para asegurar uniformidad en la recolección de datos, de almacenar la información recolectada y los exámenes realizados

(asegurando confidencialidad de los nombres de las personas), así como de almacenar los datos en sistemas informáticos seguros y del análisis de los mismos.

El protocolo oficial del Proyecto Atahualpa y sus expectativas han sido detallados y publicados aparte.^{99 100}

2.4.1 Enfermedad cerebral de pequeño vaso en Atahualpa:

Se han obtenido RM en pacientes con 60 años de edad o mayores de Atahualpa para determinar la prevalencia de ECPV en esta población. Se incluyeron al análisis 258 pacientes con una edad promedio de 70 años. Se encontró hiperintensidades de sustancia blanca en el 67% de todos los pacientes, dentro de los cuales el 63,4% fue categorizada como leve, 22,1% como moderada y 14,5% como severa.¹⁰¹ Del total de pacientes un 14,7 % tenía infartos pequeños subcorticales (infartos lacunares), de los cuales un 15,2% estaban acompañados de otros marcadores de ECPV. Factores como la edad y el estado cardiovascular se asociaron significativamente a estas lesiones.¹⁰¹ Por otro lado, casi el 14% de pacientes tenían micro sangrados localizados mayormente en estructuras cerebrales profundas (44,4%), seguidas de localización cortical (36,1%) y localización mixta (19,4%).¹⁰¹ Luego de excluir a los pacientes con ictus evidente (n=21) la prevalencia de micro sangrados fue de 11%, siendo lesiones solitarias en 54%. En un modelo multivariado, la presencia de hiperintensidades de sustancia blanca moderada a severa, la presencia de infartos silentes y la atrofia cortical global fueron predictores independientes de micro sangrados.¹⁰²

La prevalencia de estas lesiones es comparable con países de altos ingresos. Los principales resultados obtenidos del Proyecto Atahualpa que involucren a la ECPV se resumen en la tabla 1.

| Año de Publicación | Variable correlacionada | Objetivo | Participantes | Resultados principales | Conclusiones |
|---------------------|---|---|---|---|--|
| 2015 ¹⁰³ | ITB. | Evaluar el valor del ITB como un predictor de ECPV silente. | De 311 residentes de ≥ 60 años, 242 (78%) fueron sometidos tanto a la RM cerebral como a las determinaciones de ITB. | Asociación significativa de infartos lacunares silentes con EVP (OR: 3,72; IC del 95%: 1,35-10,27, $P = 0,01$) y con calcinosis (OR: 3,85; IC del 95%: 1,66; -14 · 03, $P = 0,04$). Asociación no significativa entre la hiperintensidad de sustancia blanca con EVP ($P = 0,91$) y calcinosis ($P = 0,16$), después de ajustar para el estado CV y la edad, respectivamente. | Valores anormales del ITB aumentan casi 4 veces más el riesgo de tener ECPV (infartos lacunares), siendo el ITB un buen predictor de ECPV. |
| 2015 ¹⁰⁴ | Desempeño cognitivo medido por la Evaluación Cognitiva Montreal (MoCA). | Evaluar la contribución independiente y la interacción de la edad y el daño subcortical difuso en el desempeño cognitivo en pacientes con ictus. | De 311 residentes de ≥ 60 años, 242 (78%) fueron incluidos en este estudio | Puntaje del MoCA no fue diferente entre los grupos de hiperintensidad de sustancia blanca ($p = 0,416$) en pacientes con ictus, pero sí fue significativamente más baja entre las de las personas con ictus ($p = 0,001$). Puntaje del MoCA no fue significativamente diferente en las personas más jóvenes, independientemente de la presencia de ictus o hiperintensidad de sustancia blanca ($P = 0,024$). | La gravedad del daño subcortical está asociada con deterioro cognitivo adicional solo en individuos sin ictus. En pacientes más jóvenes la presencia de un ictus no modificó significativamente su desempeño cognitivo a menos que haya hiperintensidad de sustancia blanca. |
| 2015 ¹⁰⁵ | Calcificaciones del sifón carotideo. | Evaluar la asociación entre las calcificaciones del sifón carotideo y los marcadores silenciosos de la enfermedad vesicular en adultos mayores sin accidente cerebrovascular. | De 311 residentes de Atahualpa de ≥ 60 años, 258 (83%) fueron sometidos tanto a TC como a RM. | Después de ajustar para todas las variables de confusión, se observó una asociación independiente entre el alto contenido de calcio en el sifón carotideo y moderada a grave WMH ($P = 0,035$), así como infartos lacunares ($P = 0,013$). | Los individuos con alto contenido de calcio en el sifón carotideo son 2,3 y 3,1 veces más propensos a tener hiperintensidad de sustancia blanca e infartos subcorticales silentes, respectivamente. |
| 2015 ¹⁰⁶ | Polígono de Willis incompleto. | Evaluar la asociación entre las variaciones del Polígono de Willis | De los 311 participantes de 60 años o más, 258 personas | No hay asociación de variantes incompletas del Polígono de Willis con ninguna de las | Se determinó una falta de asociación entre variantes incompletas del |

| | | | | | |
|---------------------|--------------------|--|---|--|---|
| | | (incompleto) y los marcadores de ECPV | (83%) fueron sometidas a RM cerebral y ARM de las arterias intracraneales. | marcadores de ECPV después de ajustar por edad, sexo y estado de CV ($p = 0,254$). | Polígono de Willis y marcadores de ECPV. |
| 2015 ¹⁰⁷ | Calidad de sueño. | Determinar la asociación de los síntomas relacionados con apnea/hipopnea del sueño con ECPV. | 237 pacientes con 60 años o mayores libres de ictus fueron incluidos. | La mala calidad del sueño se asoció con la presencia de hiperintensidades de sustancia blanca (OR 2,44, IC 95% 1,26 a 4,71, $p = 0,008$) y su severidad (coeficiente β 0,77, $p = 0,037$), pero no con la presencia de infartos lacunares silentes (OR 1,2 IC del 95%: 0,5 a 2,8) o micro sangrados profundos (OR 1,01; IC del 95%: 0,96 a 1,09), después de ajustar todas las variables independientes. | Existe una evidencia sólida para una asociación directa entre mala calidad del sueño y la presencia de hiperintensidad es de sustancia blanca. |
| 2015 ¹⁰⁸ | IPC. | Evaluar la fiabilidad de IPC para identificar candidatos a MR cerebral. | Muestra aleatoria, 82 invitados, 73 aceptaron. Tres excluidas debido a la ausencia de ventanas transtemporales para realizar ecografía Doppler. Total, 70 pacientes incluidos. | No se encontró asociación estadísticamente significativa para el IPC de las arterias cerebral media o vertebral con ECPV (Coeficiente β : 0,065 IC del 95%: -0,084-0,177 [$p = 0,474$] y coeficiente β : 0,066 IC del 95%: -0,024-0,156 [$p = 0,146$]); respectivamente. | IPC de las principales arterias intracraneales no se correlacionan con la gravedad de la hiperintensidad es de sustancia blanca después de ajustar las variables de confusión. |
| 2015 ¹⁰⁹ | IPC e IAH | Evaluar la relación entre calidad de sueño, la pulsatilidad cerebral y la ECPV difusa | Muestra aleatoria, 50 invitados, 40 aceptaron y 38 con PSG. Trece excluidas debido a la ausencia de ventanas transtemporales para realizar ecografía Doppler. Total, 25 pacientes incluidos | IPC positivamente correlacionado con la AHI [R = .445, P = 0,03 (Coeficiente de correlación de Pearson)]. La estratificación de acuerdo con la gravedad de la hiperintensidades de sustancia blanca no mostró diferencias significativas en la media de IAH (13.7 [13] vs. 22.6 [17.8], P = 0,16). | EL IAH se correlaciona con IPC. Sin embargo, tal asociación podría ser independiente de la gravedad de la hiperintensidad es de sustancia blanca y, por lo tanto, puede no estar mediada por la presencia de ECPV difusa. |
| 2015 ¹¹⁰ | Consumo de pescado | Evaluar si existe una asociación inversa entre el consumo de pescado y los micro sangrados. | 311 pacientes (81 %) de 385 candidatos fueron incluidos. De 311 293 (94 %) contaban con | Pacientes con micro sangrados consumen significativamente menos porciones por semana que aquellos sin micro sangrados (6.3 \pm | Aquellos pacientes que consumen menos porciones de pescado a la semana tienen mayor |

| | | | | | |
|---------------------|---|--|--|--|--|
| | | | información de consumo de pescado y RM. | 3.8 vs. 9.2 ± 5.5, p=0,002) Análisis multivariado demostró asociación inversa significativa entre consumo de pescado y micro sangrados (OR 0.85, 95 % IC 0.77–0.93, P<0.001). | probabilidad de tener micro sangrados. |
| 2016 ¹¹¹ | RPHT. | Evaluar la asociación de la RTH y la ECPV | De 323 candidatos, 241 (75%) fueron incluidos. | En RPHT grados 2 a 3 vs. Ausencia de RPHT o grado 1, las hiperintensidades de sustancia blanca fueron significativamente más comunes en el primero (p = 0,012) La prevalencia de infartos lacunares fue similar entre los grupos. | Pacientes con RPHT grado 2 a 3 tienen casi 4 veces más probabilidad de tener ECPV que aquellos sin daño retiniano o RPHT grado 1. |
| 2016 ¹¹² | Edad y pérdida no traumática de piezas dentarias. | Evaluar la relación entre la falta de piezas dentarias y las hiperintensidades de sustancia blanca de origen vascular. | 311 pacientes, incluidos. | Se observó una asociación sin significancia estadística (OR 1.65, 95% CI 0.91–2.99, p = 0.098) entre la falta de piezas dentarias y la hiperintensidades de sustancia blanca. La variable interviniente principal fue la edad (OR 1.23, 95% CI 1.09–1.17, p < 0.0001). | Se concluye que la asociación entre el la falta de piezas dentarias observada casi en la mitad de pacientes estudiados y la severidad de hiperintensidad es de sustancia blanca se relaciona principalmente con la edad. |

Tabla 1. Publicaciones del Proyecto Atahualpa en lo referente a enfermedad cerebral de pequeño vaso. ITB, índice tobillo-brazo; EVP, enfermedad vascular periférica; CV, cardiovascular; TC, tomografía computada; ECPV, enfermedad cerebral de pequeño vaso; RM, resonancia magnética; ARM, angi resonancia magnética; micro sangrados, micro-sangrados cerebrales; IPC, índice de pulsatilidad cerebral; PSG, polisomnografía; IAH, índice apnea/hipopnea; hiperintensidades de sustancia blanca, hiperintensidades de sustancia blanca; RPHT, retinopatía hipertensiva. *Fuente: Autor.*

3 Capítulo 3: Metodología

3.1 Diseño de la investigación:

Para lograr los objetivos acordados se plantea el siguiente estudio como una investigación cuantitativa de tipo transversal y analítica de alcance correlacional.

Para una mejor descripción de las variables en cuestión se expone a continuación la operacionalización de las mismas:

| Variable | Tipo de variable | Subtipo de variables | Definición operacional | Indicador | Unidad o categoría | Escala |
|--|------------------|----------------------|--|----------------------------------|---|---------|
| Cociente Neutrófilo/linfocito (independiente) | Continua | No discreta | División entre el conteo total de neutrófilos y el conteo total de linfocitos | Hemograma | No aplica | Razón |
| Enfermedad cerebral de pequeños vasos (dependiente) | Categórica | Dicotómica | Hiperintensidades de sustancia blanca: Hiperintensidades de sustancia blanca T2 y FLAIR. | Estudios de resonancia magnética | Ausencia- leve/ moderada- severa | Nominal |
| | | Dicotómica | Infarto lacunar: Hipodensidades en sustancia gris entre 3 a 15 mm en T2. | | Presencia/ Ausencia | Nominal |
| | | Dicotómica | Micro-sangrados: Hipointensidades en secuencias de eco-gradiente. | | Presencia/ Ausencia | Nominal |
| Variables intervinientes | | | | | | |
| Edad | Continua | Discreta | Tiempo de vida en años | Reporte oral directo | No aplica | Razón |
| Sexo | Categórica | Dicotómica | Sexo al nacer | Reporte oral directo | Masculino Femenino | Nominal |
| Nivel de instrucción primaria | Categórica | Dicotómica | Finalización de los años escolares de educación primaria | Reporte oral directo | Sí No | Nominal |
| Hábito tabáquico | Categórica | Dicotómica | Uso de cigarrillos en la actualidad o haber dejado el hábito hace menos de 12 meses. | Reporte oral directo | Sí No | Nominal |
| Actividad física pobre | Categórica | Dicotómica | <150 min/semana de ejercicio moderado o < 75 min/semana de ejercicio intenso | Reporte oral directo | Sí No | Nominal |

| | | | | | | |
|---------------------|-----------|------------|--|--------------------------------|----------|---------|
| Dieta no saludable | Categoría | Dicotómica | < 4 componentes de dieta saludable según la Asociación Americana del Corazón | Reporte oral directo | Sí No | Nominal |
| Obesidad | Categoría | Dicotómica | IMC ≥ 30 Kg/m ² | Peso y talla | Sí No | Nominal |
| Hipertensión | Categoría | Dicotómica | Presión arterial $\geq 140/90$ mmHg | Medición de PA | Sí No | Nominal |
| Diabetes | Categoría | Dicotómica | Glicemia en ayunas ≥ 126 mg/dL. | Examen de laboratorio reciente | Sí No | Nominal |
| Hipercolesterolemia | Categoría | Dicotómica | Colesterol Total ≥ 240 mg/dL | Examen de laboratorio reciente | Sí No | Nominal |

Tabla 2. Operacionalización de las variables. FLAIR, del inglés *fluid attenuated inversion recovery*. Fuente: Autor.

Población: Varones y mujeres de 60 años edad o mayores.

Muestra: Aquellos que cumplen criterios de inclusión, prescindiendo de aquellos que cumplan con criterio de exclusión.

Criterios de Inclusión:

1. Estudio de resonancia magnética.
2. Conteo de leucocitos entre 4,500 a 11,000 células/mL.

Criterios de Exclusión:

1. Infección aguda en curso determinada por cuestionario (ver anexos).
2. Fístula arterio-venosa braquial.
3. Diálisis peritoneal.
4. Hemodiálisis.
5. Neoplasias benignas o malignas.
6. Fiebre (temperatura $>37,5^{\circ}\text{C}$).
7. Ictus clínico diferente a infartos lacunares.

3.2 Descripción de los Instrumentos, herramientas y procedimientos de la investigación.

3.2.1 Estudios imagenológicos

Los pacientes de Atahualpa cuentan con estudios de imágenes bajo el protocolo establecido del Proyecto Atahualpa. Todos los estudios se realizaron con un resonador Philips Intera 1.5T (Philips Medical Systems, Eindhoven, Holanda) en el Hospital Clínica Kennedy. Los estudios de RM incluyeron secuencias T1, T2, FLAIR y eco-gradiente. Se utilizó el paquete preestablecido de imágenes cerebrales suministrado por el fabricante para homogeneizar la aplicabilidad por parte de los técnicos. El grosor del corte fue de 5 mm con una separación de 1 mm entre los cortes en la RM. La ECPV presente en los pacientes ha sido definida luego del análisis de las RM por dos neurólogos expertos.

3.2.2 Toma de muestras

Los pacientes potencialmente elegibles serán encuestados con un formulario rápido para tamizaje de algún proceso infeccioso agudo y se les medirá la temperatura auricular con un termómetro digital ThermoScan IRT4520 (Braun, Kronoberg, Alemania), según el cual, se considera dentro de los parámetros normales según la edad, una temperatura de 35,8°C a 37,5°C. Por medio de preguntas simples se detectará síntomas de infecciones del tracto respiratorio, urinario, digestivo o piel (Ver anexos). Luego de excluir aquellos pacientes con síntomas de infección aguda, los restantes serán invitados a participar y se les tomará una muestra de sangre venosa para obtener el hemograma completo. La toma de muestra será realizada por una enfermera y se realizará en el Centro de Apoyo Comunitario UEES de Atahualpa. En aquellos pacientes en los cuales les resulte difícil el traslado al centro, se tomará la muestra en su domicilio

La muestra será obtenida de los pacientes que hayan firmado el documento de consentimiento informado y recolectadas en tubos para ser almacenados y trasladados al laboratorio INTERLAB, SA en Guayaquil para el análisis de las muestras para su procesamiento mediante el analizador hematológico Sysmex XN-3000 (Kobe, Japan), con la asistencia de un teñidor automatizado integrado Sysmex SP-10. Cada tubo será correctamente rotulado con códigos y conservados en recipientes con temperatura adecuada para su preservación hasta la llegada a Guayaquil.

3.2.3 Organización y tabulación de datos

Se recolectarán los datos de pacientes con 60 años o mayores que cuenten con RM, que no presenten síntomas de infección, sin algún criterio de exclusión y con el rango de leucocitos establecido dentro de los criterios de inclusión. Se obtendrá el cociente neutrófilo/linfocito mediante una división simple. Se tomará como numerador el número del conteo total de neutrófilos y como denominador el conteo total de linfocitos del hemograma. El CNL será expresado como variable numérica continua con dos decimales. Luego de definir la ECPV de la interpretación de los estudios de imágenes serán tomadas como variables categóricas (presencia vs. ausencia) de acuerdo a lo especificado en la operacionalización de las variables. Toda la información será tabulada en un tabla en Microsoft Excel 2013™.

3.2.4 Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se expresan en términos de media \pm desviación estándar (DE) y se comparan entre dos grupos utilizando análisis de la varianza (ANOVA) o test t para muestras independientes. Las variables cualitativas nominales se expresan como número de casos, proporción y porcentaje comparándose los grupos con la prueba de Chi-

cuadrado o la prueba exacta de Fisher, según corresponda. Las variables que demuestren asociación estadísticamente significativa en el análisis univariado serán utilizadas en modelos de regresión para el análisis multivariado. Factores de riesgo cardiovasculares como: edad, hábito tabáquico, índice de masa corporal, glicemia en ayunas, colesterol total, presión arterial, actividad física y dieta; fueron incluidos en el análisis por ser variables intervinientes. Se estimará capacidad predictiva del CNL de tomando un punto de corte definido como +1 desviación estándar por encima de la media para calcular sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del CNL. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete de software SPSS 21.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, EE.UU.) con un valor de $p < 0.05$ considerado estadísticamente significativo.

3.3 Aspectos éticos

El protocolo y el consentimiento informado fueron aprobados por la Junta de Revisión Institucional del Hospital Clínica Kennedy, Guayaquil, Ecuador (FWA 00006867). A todos los pacientes invitados a participar se les presentó el consentimiento habiéndoles explicado detalladamente con palabras simples los objetivos del estudio y los procedimientos que se realizarían en caso de firmar.

En el consentimiento consta claramente la participación voluntaria y el derecho a retirarse del estudio en cualquier momento si así lo desea. También se detalla que su participación así como es voluntaria, no es remunerada monetariamente ni en ninguna forma (Ver anexos).

4. Capítulo 4: Análisis y discusión de los resultados

De 351 pacientes potencialmente elegibles, 259 (74%) fueron incluidos; los restantes se negaron a participar, murieron durante el reclutamiento o padecían de alguna enfermedad incapacitante (Ver Anexos). El promedio de edad fue de 69.9 ± 8 años y 147 (56.8%) fueron mujeres. Un índice de masa ≥ 30 kg/m² fue detectado en 55 personas (21.2%), presión arterial $\geq 140/90$ mmHg en 112 (43.2%), glucosa en ayunas ≥ 126 mg/dL en 82 (31.7%), y niveles séricos de colesterol total ≥ 240 mg/dL en 32 (12.3%). Seis pacientes (2.3%) eran fumadores, 12 (4.6%) tenían una dieta pobre, y 15 (5.8%) practicaban poca actividad física. Las características demográficas y clínicas de los 259 pacientes incluidos en este estudio estratificados por los marcadores de ECPV se muestran en la Tabla 3.

| Características Clínicas y Demográficas | Total (n=259) |
|--|---------------|
| Edad, años (promedio \pm DE) | 69.9 \pm 8 |
| CNL (promedio \pm DE) | 1.9 \pm 0.8 |
| Sexo femenino, n (%) | 147 (57%) |
| Fumadores, n (%) | 6 (2%) |
| Pobre actividad física, n (%) | 15 (6%) |
| Dieta pobre, n (%) | 12 (5%) |
| IMC ≥ 30 Kg/m ² , n (%) | 55 (21%) |
| PA $\geq 140/90$ mmHg, n (%) | 112 (43%) |
| Glicemia en ayunas ≥ 126 mg/dL, n (%) | 82 (32%) |
| Colesterol total ≥ 240 mg/dL, n (%) | 32 (12%) |

Tabla 3. Características clínicas y demográficas de 259 pacientes incluidos en el estudio. *Fuente: El Autor.*

Luego del análisis de las RM, 54 pacientes (20.8%) tuvieron un grado moderado/severo de hiperintensidades de sustancia blanca, 27(10.4%) tuvieron infartos lacunares, y 18 (6.9%) micro sangrados.

El promedio del total de leucocitos, neutrófilos y linfocitos del total de paciente fue de 6.225 ± 1.303 ; 3.541 ± 1.051 y 1.994 ± 533 por mm^3 , respectivamente. El promedio de CNL fue de 1.9 ± 0.8 . Todas estas variables siguieron una distribución normal cuando se exploró la normalidad de las distribuciones.

El CNL se asoció con el aumento de la edad ($p < 0.001$), pero no con el sexo ni ningún factor de riesgo cardiovascular. Las hiperintensidades de sustancia blanca se asociaron significativamente con el aumento de la edad ($p < 0.001$), poca actividad física ($p = 0.011$), pobre alimentación ($p = 0.011$) y presión arterial alta ($p = 0.008$); los infartos lacunares se asociaron significativamente con el aumento de la edad ($p = 0.003$) y la presión arterial alta ($p = 0.009$). No hubo asociación entre el NLR y ningún marcador SVD como lo indica la tabla 4 y las figuras 8, 9 y 10; aún, luego de excluir a los pacientes fumadores del análisis.

| | Hiperintensidades de sustancia blanca | | | Infartos lacunares | | | Micro sangrados | | |
|--|---------------------------------------|------------------------|------|--------------------|----------------|------|-----------------|----------------|------|
| | Ausencia/leve (n=205) | Moderado/Severo (n=54) | p | No (n=232) | Sí (n=27) | p | No (n=241) | Sí (n=18) | p |
| Edad, años (promedio \pm DE) | 68.5 ± 7 | 75.5 ± 9.3 | 0.00 | 69.4 ± 8.1 | 74.3 ± 5.8 | 0.00 | 69.7 ± 8 | 73.2 ± 8.0 | 0.08 |
| CNL (promedio \pm DE) | 1.9 ± 0.8 | 1.9 ± 0.8 | 0.72 | 1.9 ± 0.8 | 2.1 ± 0.8 | 0.13 | 1.9 ± 0.8 | 1.8 ± 0.8 | 0.63 |
| Sexo femenino, n (%) | 115 (56%) | 32 (59%) | 0.67 | 133 (57%) | 14 (52%) | 0.59 | 139 (58%) | 8 (44%) | 0.27 |
| Fumadores, n (%) | 6 (3%) | 0 | 0.35 | 6 (3%) | 0 | 1.00 | 6 (3%) | 0 | 1.00 |

| | | | | | | | | | |
|--|----------|----------|------|----------|----------|------|-----------|----------|------|
| Poca actividad física, n (%) | 8 (4%) | 7 (13%) | 0.01 | 11 (5%) | 4 (15%) | 0.06 | 13 (5%) | 2 (11%) | 0.28 |
| Dieta pobre, n (%) | 6 (3%) | 6 (11%) | 0.01 | 10 (4%) | 2 (7%) | 0.36 | 10 (4%) | 2 (11%) | 0.12 |
| IMC ≥ 30 Kg/m², n (%) | 42 (21%) | 13 (24%) | 0.57 | 50 (22%) | 5 (19%) | 0.81 | 49 (20%) | 6 (33%) | 0.19 |
| PA $\geq 140/90$ mmHg, n (%) | 80 (39%) | 32 (59%) | 0.01 | 94 (41%) | 18 (67%) | 0.01 | 102 (42%) | 10 (56%) | 0.27 |
| Glicemia en ayunas ≥ 126 mg/dL, n (%) | 65 (32%) | 17 (32%) | 0.98 | 70 (30%) | 12 (44%) | 0.13 | 78 (32%) | 4 (22%) | 0.44 |
| Colesterol total ≥ 240 mg/dL, n (%) | 24 (12%) | 8 (15%) | 0.54 | 31 (13%) | 1 (4%) | 0.22 | 31 (13%) | 1 (6%) | 0.71 |

Tabla 4. Características clínicas y demográficas según los marcadores de ECPV. CNL, cociente neutrófilo/linfocito; IMC, índice de masa corporal; PA, presión arterial. *Fuente: El Autor.*

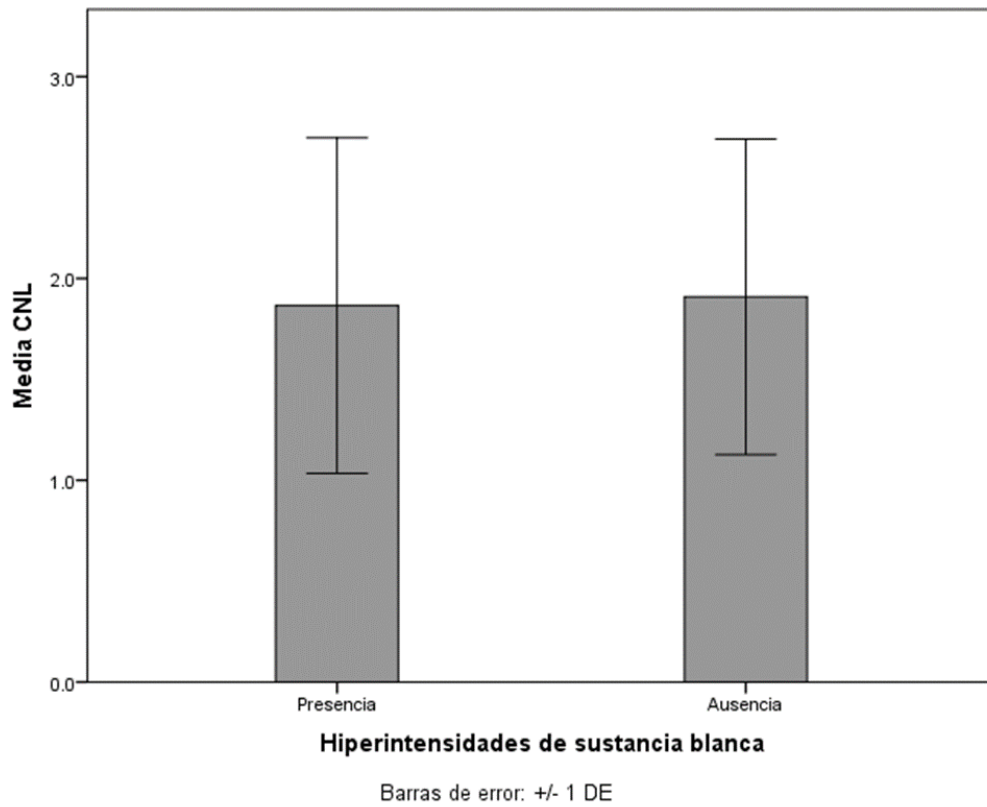


Figura 8. Diferencias de medias de CNL entre pacientes con y sin hiperintensidades de sustancia blanca. CNL, cociente neutrófilo/linfocito.

Fuente: autor

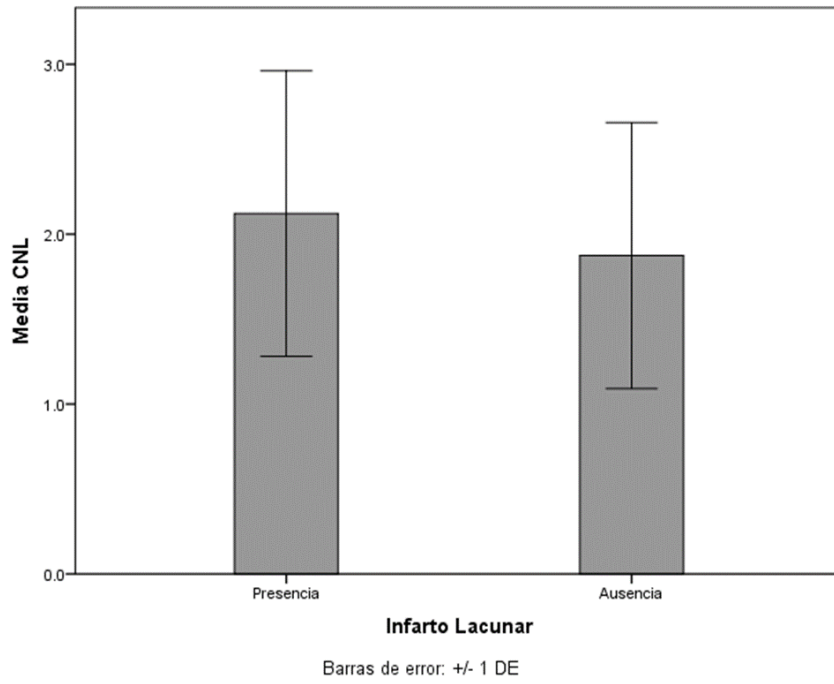


Figura 9. Diferencias de medias de CNL entre pacientes con y sin infarto lacunar. CNL, cociente neutrófilo/linfocito. *Fuente: autor.*

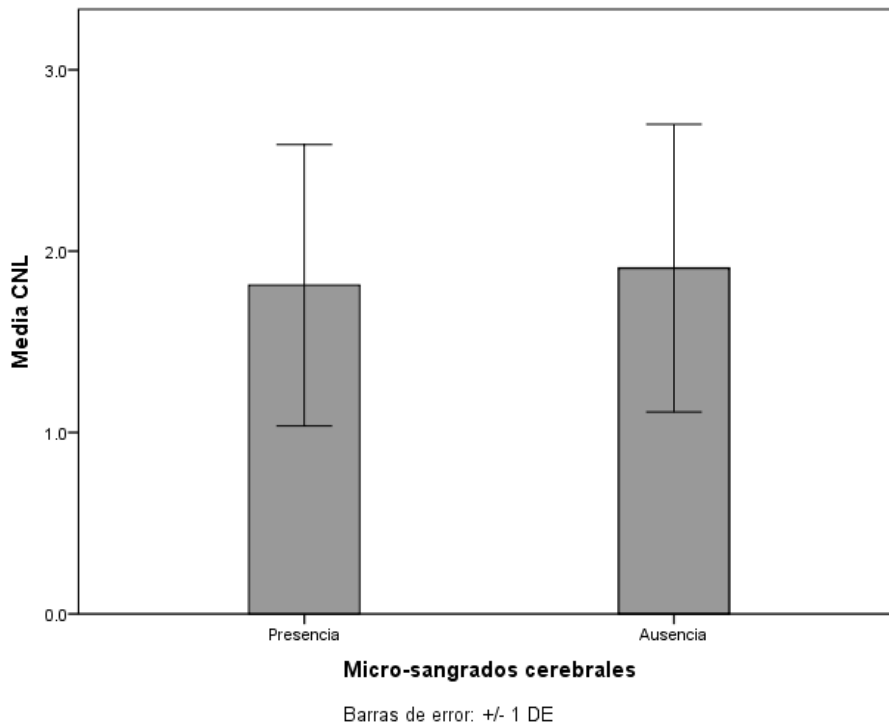


Figura 10. Diferencias de medias de CNL entre pacientes con y sin micro sangrados cerebrales. CNL, cociente neutrófilo/linfocito. *Fuente: autor.*

Dada la falta de asociación estadísticamente significativa en los análisis univariados del CNL con la ECPV, no se realizaron modelos multivariados de regresión ya que la inclusión del CNL al modelo de regresión no mejoraría la capacidad de predicción de ninguno de los marcadores de ECPV.

Al estudiar la confiabilidad del CNL para identificar individuos con marcadores ECPV mediante el uso de un valor de corte pre-establecido (promedio de CNL + 1 DE: ≥ 2.8), como se observa en la tabla 5, la sensibilidad de CNL y los valores predictivos positivos (VPP) fueron pobres para todas los marcadores de interés, pero la especificidad y el valor predictivo negativo (VPN) fueron altos (Tabla 5). Para la presencia de hiperintensidades de sustancia blanca se estimó una especificidad del

88,3% y VPN de 0,78; para infartos lacunares se determinó una especificidad más alta del 90,5% con un VPN de 0,91. Por último para la presencia de micro sangrados cerebrales se halló una especificidad del 89,2% con un VPN de 0,93.

| | Sensibilidad | Especificidad | VPP | VPN |
|--|-----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Hiperintensidades de sustancia blanca | 7.4% (2.4 – 18.7) | 88.3% (82.9 – 92.2) | 0.14 (0.05 – 0.34) | 0.78 (0.72 – 0.83) |
| Infartos Lacunares | 22.2% (9.4 – 42.8) | 90.5% (85.8 – 93.8) | 0.21 (0.09 – 0.41) | 0.91 (0.86 – 0.94) |
| Micro sangrados cerebrales | 11.1% (1.9 – 36.1) | 89.2% (84.4 – 92.7) | 0.07 (0.01 – 0.25) | 0.93 (0.89 – 0.96) |

Tabla 5. Confiabilidad del CNL (≥ 2.8) para la detección de marcadores imagenológicos de ECPV en 259 adultos mayores incluidos en este estudio. Todos los valores incluyen intervalos de confianza del 95%. CNL, cociente neutrófilo/linfocito; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo. *Fuente: Autor.*

El presente estudio es el primero en describir la relación del CNL como propuesto biomarcador con los marcadores principales de ECPV como son las hiperintensidades de sustancia blanca, los infartos lacunares y los micro sangrados cerebrales.

La población de Atahualpa, Santa Elena; fue la idónea para llevar a cabo esta investigación por su poca inmigración y emigración. Además de contar con un gran porcentaje de nativos por escasa evidencia de mestizaje. Un total de 259 pacientes fueron incluidos para el análisis luego de aplicarse criterios de inclusión y exclusión (Ver flujograma en anexos).

La ausencia de asociación, junto con su escasa sensibilidad y valores predictivos positivos, sugieren que la mayoría de los casos no se diagnosticarían si este cociente se utiliza como tamizaje en poblaciones similares. Por otra parte, la alta especificidad y los valores predictivos negativos indican que casi todos los sujetos con CNL por encima de un corte pre-definido (adaptado para una población dada) tendrán al menos un marcador.

Estos hallazgos indican que si el CNL es usado como método de tamizaje probablemente muchos pacientes no sean diagnosticados. Sin embargo aquellos que tengan un valor por encima del propuesto (2.8), van a presentar, por lo menos, un marcador de imagen positivo de ECPV.

En el proyecto Atahualpa se han buscado substitutos para estudios de neuroimagen a lo largo de todos los años de estudio y se han determinado varias herramientas diagnósticas. Una de ellas es el índice tobillo-brazo, un procedimiento no invasivo para el diagnóstico de enfermedad vascular periférica que se ha correlacionado con infarto y ECV.¹¹³⁻¹¹⁶

En un estudio parte del proyecto Atahualpa, en el que se les midió el índice tobillo-brazo a pacientes mayores de 60 años sin evidencia clínica de ECV aparentemente sanos, se logró determinar que aquellos con un índice tobillo brazo anormal tuvieron casi 4 veces más probabilidades de tener un infarto lacunar silente que aquellos con una medición normal.¹⁰³ Esto sugiere que un tamizaje con determinación de este índice permite reconocer individuos asintomáticos que necesitan estudios de imagen y tratamiento especializado.

Otro estudio llevados a cabo en Atahualpa para la selección de candidatos a RM fue la retinografía para detección de retinopatía hipertensiva la cual se asoció a ECPV.¹¹¹ Luego de estudiar la retina mediante una fotografía reconstruida digitalmente, se demostró que las personas con retinopatía hipertensiva Grados 2-3 tienen casi 4 veces más probabilidades de tener hiperintensidades de sustancia blanca moderada-severa, lo cual sugiere que la toma de fotografías retinianas puede ser utilidad para predecir que personas deben ser sometidas a estudios de neuroimagen.

Conjuntamente estos datos demuestran que este tipo de estudios proporcionan información importantísima para la detección de ECPV en pacientes aparentemente sanos y así reducir la carga global de esta enfermedad. Usados en conjunto con el CNL, se podría aumentar la capacidad para predecir ECPV y seleccionar de una forma más precisa a candidatos a estudios de neuroimagen para detectar esta enfermedad aunque el paciente se encuentre asintomático.

Otros estudios en poblaciones hospitalarias han estudiado el valor pronóstico del CNL en pacientes con ictus isquémicos o hemorrágicos^{61-63, 67-70, 117-127}, de los cuales solo dos incluyen infartos lacunares^{61, 127} y concluyen que el valor CNL es significativamente menor en infartos lacunares que otros subtipos de ictus; pero no exploran a fondo esta asociación. Es importante destacar que existe un porcentaje de infartos lacunares que no son resultado de ECPV y son productos de otros mecanismos fisiopatológicos de enfermedad de vascular de grandes vasos como émbolos arteria-arteria, por lo que este es el primer estudio que se enfoca en los marcadores principales de ECPV y no solo en infartos lacunares.

Otros estudios transversales han relacionado este cociente con marcadores de aterosclerosis pero incluyen a pacientes con ictus o ataque isquémico transitorio, pacientes que se excluyeron de nuestro estudio.¹²⁸⁻¹³¹ La naturaleza crónica de la ECPV podría indicar que este cociente es útil únicamente en procesos de instalación aguda; sin embargo se ha demostrado que se asocia a severidad de enfermedad coronaria estable; una condición con un estado crónico de inflamación de bajo grado.¹³²

En cuanto a la prevalencia de ECPV, 38% de los pacientes presentaron algún marcador de imagenológicos, representando un importante porcentaje de los subtipos de ictus, como en otras poblaciones de América Latina donde la ECPV sea probablemente la causa más importante de ECV.^{133 134} La prevalencia de ECPV es comparable a otras poblaciones en América Latina, tal como lo demuestra una revisión sistemática¹³⁴ donde se incluyeron pacientes de dos grandes hospitales de Guayaquil. En la serie del Hospital Luis Vernaza se determinó una prevalencia de ECPV de 43.1%.¹³⁵ Por otro lado en una corte del Hospital Clínica Kennedy en las que se evaluaron los subtipos de ECV desde el año 1990 al 2009 se determinó una prevalencia total de 38.8%.¹³⁶

Entre las fortalezas del presente estudio están su diseño poblacional que reduce la probabilidad el sesgo de selección, así como las propiedades intrínsecas de la población de Atahualpa que la hacen ideal para este tipo de estudios. Además, los estrictos criterios de inclusión/exclusión aumentan la probabilidad la pureza de los datos analizados.

Este estudio también presenta limitaciones tales como el tiempo transcurrido desde la toma de la muestra hasta su análisis en Guayaquil que puede alterar el conteo de células y la falta de aplicación de pruebas

confirmatorias y/o de descarte ante la presencia de una posible infección aguda detectada por medio del cuestionario (anexos). Es importante recalcar que las muestras fueron recolectadas y analizadas en invierno, época de aumento en la frecuencia de gripes comunes estacionarias, las cuales en su periodo pre-clínico pudieran aumentar el conteo de linfocitos y así alterar el cociente pasando desapercibidas a la evaluación clínica. De la misma forma, incluso en el estado clínico, los síntomas de la gripe común podrían ser infravalorados por los pacientes y así no reportados a la encuesta.

5. Capítulo 5: Conclusiones y Recomendaciones

Al realizar el análisis principal entre las variables de interés no se encontró asociación significativa entre el CNL y los marcadores imagenológicos principales de ECPV.

La ECPV, bien descrita con anterioridad en esta población, representa una de las principales causa de ECV en América Latina y representa un problema de salud pública importante. La prevalencia de estos marcadores en la serie del presente estudio fueron: 20.8% hiperintensidades de sustancia blanca, 10.4% infartos lacunares y 6.9% micro sangrados. En general un 38% de pacientes de todos los incluidos presentaron algún marcador de ECPV en estudios de imágenes.

A pesar de la falta de asociación, y una pobre sensibilidad y pobre VPP; el CNL demostró ser altamente específico y posee un alto VPN cuando se toma como punto referencial un valor de 2.8 que consiste en otorgarle una desviación estándar a la media y que debe ser ajustado para cada población.

Se recomienda por lo tanto que si este biomarcador va a ser utilizado para la detección de los candidatos de MRI, debe combinarse con una prueba muy sensible para maximizar la rentabilidad.

Se necesitan más estudios para establecer el papel del CNL para la evaluación de la ECPV. Además se necesitan estudios que correlacionen este biomarcador con otros marcadores establecidos de aterosclerosis tales como las calcificaciones del sifón carotideo y la estenosis carotidea intracraneal.

Finalmente, se sugieren futuros estudios que agrupen estos marcadores de enfermedad silente cerebrovascular y que incluyan su capacidad predictiva en un modelo que permita realizar algoritmos paso-a-paso que proporcionen una herramienta valiosa en la investigación de pacientes añosos con alto riesgo de ECPV.

Referencias bibliográficas

1. Blacher J, Levy BI, Mourad J-J, Safar ME, Bakris G. From epidemiological transition to modern cardiovascular epidemiology: hypertension in the 21st century. *Lancet*. 2016;388:530–2.
2. Ounpuu S, Anand S, Yusuf S. The impending global epidemic of cardiovascular diseases. *Eur Heart J*. 2000;21:880–3.
3. Popkin BM. Nutrition Transition and the Global Diabetes Epidemic. *Curr Diab Rep*. 2015;15:64.
4. Cuevas A, Alvarez V, Olivos C. The emerging obesity problem in Latin America. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2009;7:281–8.
5. Schargrofsky H, Hernández-Hernández R, Champagne BM, Silva H, Vinueza R, Silva Ayçaguer LC, et al. CARMELA: assessment of cardiovascular risk in seven Latin American cities. *Am J Med*. 2008;121:58–65.
6. Hankey GJ. Stroke. *Lancet*. 2016.
7. Writing Group Members, Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2016;133:e38-360.
8. Avezum Á, Costa-Filho FF, Pieri A, Martins SO, Marin-Neto JA. Stroke in Latin America: Burden of Disease and Opportunities for Prevention. *Glob Heart*. 2015;10:323–31.
9. Barquera S, Pedroza-Tobías A, Medina C, Hernández-Barrera L, Bibbins-Domingo K, Lozano R, et al. Global Overview of the Epidemiology of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Arch Med Res*. 2015 ;46:328–38.
10. Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol*. 2010;9:689–701.
11. Greenberg SM. Small vessels, big problems. *N Engl J Med*. 2006;354:1451–3.
12. Rosenberg GA, Wallin A, Wardlaw JM, Markus HS, Montaner J, Wolfson L, et al. Consensus statement for diagnosis of subcortical small vessel disease. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2016;36:6–25.

13. Norrving B. Evolving Concept of Small Vessel Disease through Advanced Brain Imaging. *J Stroke*. 2015;17:94–100.
14. De Guio F, Jouvent E, Biessels GJ, Black SE, Brayne C, Chen C, et al. Reproducibility and variability of quantitative magnetic resonance imaging markers in cerebral small vessel disease. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2016;36:1319–37.
15. Wardlaw JM, Smith EE, Biessels GJ, Cordonnier C, Fazekas F, Frayne R, et al. Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration. *Lancet Neurol*. 2013;12:822–38.
16. van der Flier WM, van Straaten ECW, Barkhof F, Verdelho A, Madureira S, Pantoni L, et al. Small vessel disease and general cognitive function in nondisabled elderly: the LADIS study. *Stroke*. 2005;36:2116–20.
17. de Leeuw FE, de Groot JC, Achten E, Oudkerk M, Ramos LM, Heijboer R, et al. Prevalence of cerebral white matter lesions in elderly people: a population based magnetic resonance imaging study. The Rotterdam Scan Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 2001;70:9–14.
18. de Groot JC, de Leeuw FE, Oudkerk M, van Gijn J, Hofman A, Jolles J, et al. Cerebral white matter lesions and cognitive function: the Rotterdam Scan Study. *Ann Neurol*. 2000;47:145–51.
19. Jokinen H, Gouw AA, Madureira S, Ylikoski R, van Straaten ECW, van der Flier WM, et al. Incident lacunes influence cognitive decline: the LADIS study. *Neurology*. 2011;76:1872–8.
20. Prins ND, van Dijk EJ, den Heijer T, Vermeer SE, Koudstaal PJ, Oudkerk M, et al. Cerebral white matter lesions and the risk of dementia. *Arch Neurol*. 2004;61:1531–4.
21. Vermeer SE, Prins ND, den Heijer T, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MMB. Silent brain infarcts and the risk of dementia and cognitive decline. *N Engl J Med*. 2003;348:1215–22.
22. Kaffashian S, Soumaré A, Zhu Y-C, Mazoyer B, Debette S, Tzourio C. Long-Term Clinical Impact of Vascular Brain Lesions on Magnetic Resonance Imaging in Older Adults in the Population. *Stroke*. 2016;47:2865–9.

23. Poels MMF, Ikram MA, van der Lugt A, Hofman A, Niessen WJ, Krestin GP, et al. Cerebral microbleeds are associated with worse cognitive function: the Rotterdam Scan Study. *Neurology*. 2012;78:326–33.
24. Debette S, Markus HS. The clinical importance of white matter hyperintensities on brain magnetic resonance imaging: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2010;341:c3666.
25. Baezner H, Blahak C, Poggesi A, Pantoni L, Inzitari D, Chabriat H, et al. Association of gait and balance disorders with age-related white matter changes: the LADIS study. *Neurology*. 2008;70:935–42.
26. Kreisel SH, Blahak C, Bätzner H, Inzitari D, Pantoni L, Poggesi A, et al. Deterioration of gait and balance over time: the effects of age-related white matter change--the LADIS study. *Cerebrovasc Dis.*;35:544–53.
27. Poggesi A, Pracucci G, Chabriat H, Erkinjuntti T, Fazekas F, Verdelho A, et al. Urinary complaints in nondisabled elderly people with age-related white matter changes: the Leukoaraiosis And DISability (LADIS) Study. *J Am Geriatr Soc*. 2008;56:1638–43.
28. Firbank MJ, O'Brien JT, Pakrasi S, Pantoni L, Simoni M, Erkinjuntti T, et al. White matter hyperintensities and depression--preliminary results from the LADIS study. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2005;20:674–9.
29. Firbank MJ, Teodorczuk A, van der Flier WM, Gouw AA, Wallin A, Erkinjuntti T, et al. Relationship between progression of brain white matter changes and late-life depression: 3-year results from the LADIS study. *Br J Psychiatry*. 2012;201:40–5.
30. van Sloten TT, Sigurdsson S, van Buchem MA, Phillips CL, Jonsson PV, Ding J, et al. Cerebral Small Vessel Disease and Association With Higher Incidence of Depressive Symptoms in a General Elderly Population: The AGES-Reykjavik Study. *Am J Psychiatry*. 2015;172:570–8.
31. Pavlovic AM, Pekmezovic T, Zidverc Trajkovic J, Svabic Medjedovic T, Veselinovic N, Radojicic A, et al. Baseline characteristic of patients presenting with lacunar stroke and cerebral small vessel disease may predict future development of depression. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2016;31:58–65.

32. Ferrari AJ, Somerville AJ, Baxter AJ, Norman R, Patten SB, Vos T, et al. Global variation in the prevalence and incidence of major depressive disorder: a systematic review of the epidemiological literature. *Psychol Med*. 2013;43:471–81.
33. Direk N, Perez HS, Akoudad S, Verhaaren BFJ, Niessen WJ, Hofman A, et al. Markers of cerebral small vessel disease and severity of depression in the general population. *Psychiatry Res*. 2016;253:1–6.
34. The LADIS Study Group, Poggesi A, Pantoni L, Inzitari D, Fazekas F, Ferro J, et al. 2001-2011: A Decade of the LADIS (Leukoaraiosis And DISability) Study: What Have We Learned about White Matter Changes and Small-Vessel Disease? *Cerebrovasc Dis*. 2011;32:577–88.
35. Pantoni L, Fierini F, Poggesi A, LADIS Study Group. Impact of cerebral white matter changes on functionality in older adults: An overview of the LADIS Study results and future directions. *Geriatr Gerontol Int*. 2015;15 Suppl 1:10–6.
36. Inzitari D, Simoni M, Pracucci G, Poggesi A, Basile AM, Chabriat H, et al. Risk of rapid global functional decline in elderly patients with severe cerebral age-related white matter changes: the LADIS study. *Arch Intern Med*. 2007;167:81–8.
37. Inzitari D, Pracucci G, Poggesi A, Carlucci G, Barkhof F, Chabriat H, et al. Changes in white matter as determinant of global functional decline in older independent outpatients: three year follow-up of LADIS (leukoaraiosis and disability) study cohort. *BMJ*. 2009;339:b2477.
38. Vermeer SE, Longstreth WT, Koudstaal PJ. Silent brain infarcts: a systematic review. *Lancet Neurol*. 2007;6:611–9.
39. Vermeer SE, Koudstaal PJ, Oudkerk M, Hofman A, Breteler MMB. Prevalence and risk factors of silent brain infarcts in the population-based Rotterdam Scan Study. *Stroke*. 2002;33:21–5.
40. Poels MMF, Steyerberg EW, Wieberdink RG, Hofman A, Koudstaal PJ, Ikram MA, et al. Assessment of cerebral small vessel disease predicts individual stroke risk. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 2012;83:1174–9.

41. Conijn MMA, Kloppenborg RP, Algra A, Mali WPTM, Kappelle LJ, Vincken KL, et al. Cerebral small vessel disease and risk of death, ischemic stroke, and cardiac complications in patients with atherosclerotic disease: the Second Manifestations of ARterial disease-Magnetic Resonance (SMART-MR) study. *Stroke*. 2011;42:3105–9.
42. Jacova C, Pearce LA, Roldan AM, Arauz A, Tapia J, Costello R, et al. Cognitive performance following lacunar stroke in Spanish-speaking patients: results from the SPS3 trial. *Int J Stroke*. 2015;10:519–28.
43. Aronson JK. Biomarkers and surrogate endpoints. *Br J Clin Pharmacol*. 2005;59:491–4.
44. Esser N, Paquot N, Scheen AJ. Inflammatory markers and cardiometabolic diseases. *Acta Clin Belg*. 2015 Jun;70(3):193–9.
45. Shoamanesh A, Preis SR, Beiser AS, Kase CS, Wolf PA, Vasan RS, et al. Circulating biomarkers and incident ischemic stroke in the Framingham Offspring Study. *Neurology*. 2016;87:1206–11.
46. Poggesi A, Pasi M, Pescini F, Pantoni L, Inzitari D. Circulating biologic markers of endothelial dysfunction in cerebral small vessel disease: A review. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2016;36:72–94.
47. Elkind MSV, Luna JM, McClure LA, Zhang Y, Coffey CS, Roldan A, et al. C-reactive protein as a prognostic marker after lacunar stroke: levels of inflammatory markers in the treatment of stroke study. *Stroke*. 2014;45:707–16.
48. Boehme AK, McClure LA, Zhang Y, Luna JM, Del Brutto OH, Benavente OR, et al. Inflammatory Markers and Outcomes After Lacunar Stroke: Levels of Inflammatory Markers in Treatment of Stroke Study. *Stroke*. 2016;47:659–67.
49. Horne BD, Anderson JL, John JM, Weaver A, Bair TL, Jensen KR, et al. Which white blood cell subtypes predict increased cardiovascular risk? *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:1638–43.
50. Bobb GA, Fairchild EJ. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as indicator of ozone exposure. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1967;11:558–64.

51. Walsh SR, Cook EJ, Goulder F, Justin TA, Keeling NJ. Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2005;91:181–4.
52. Guthrie GJK, Charles KA, Roxburgh CSD, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013;88:218–30.
53. Paramanathan A, Saxena A, Morris DL. A systematic review and meta-analysis on the impact of pre-operative neutrophil lymphocyte ratio on long term outcomes after curative intent resection of solid tumours. *Surg Oncol*. 2014;23:31–9.
54. Afari ME, Bhat T. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and cardiovascular diseases: an update. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2016;14:573–7.
55. Bhat T, Teli S, Rijal J, Bhat H, Raza M, Khoueiry G, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and cardiovascular diseases: a review. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2013;11:55–9.
56. Ateş AH, Aytemir K, Koçyiğit D, Yalcin MU, Gürses KM, Yorgun H, et al. Association of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio with the Severity and Morphology of Coronary Atherosclerotic Plaques Detected by Multidetector Computerized Tomography. *Acta Cardiol Sin*. 2016;32:676–83.
57. Tamhane UU, Aneja S, Montgomery D, Rogers E-K, Eagle KA, Gurm HS. Association between admission neutrophil to lymphocyte ratio and outcomes in patients with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol*. 2008;102:653–7.
58. Núñez J, Núñez E, Bodí V, Sanchis J, Miñana G, Mainar L, et al. Usefulness of the neutrophil to lymphocyte ratio in predicting long-term mortality in ST segment elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 2008;101:747–52.
59. Han Y-C, Yang T-H, Kim D-I, Jin H-Y, Chung S-R, Seo J-S, et al. Neutrophil to Lymphocyte Ratio Predicts Long-Term Clinical Outcomes in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention. *Korean Circ J*. 2013;43:93–9.

60. Wagdy S, Sobhy M, Loutfi M. Neutrophil/Lymphocyte Ratio as a Predictor of In-Hospital Major Adverse Cardiac Events, New-Onset Atrial Fibrillation, and No-Reflow Phenomenon in Patients with ST Elevation Myocardial Infarction. *Clin Med Insights Cardiol.* 2016;10:19–22.
61. Tokgoz S, Kayrak M, Akpınar Z, Seyithanoğlu A, Güney F, Yürüten B. Neutrophil lymphocyte ratio as a predictor of stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2013;22:1169–74.
62. Akıl E, Akıl MA, Varol S, Özdemir HH, Yücel Y, Arslan D, et al. Echocardiographic epicardial fat thickness and neutrophil to lymphocyte ratio are novel inflammatory predictors of cerebral ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2014;23:2328–34.
63. Celikbilek A, Ismailogullari S, Zararsiz G. Neutrophil to lymphocyte ratio predicts poor prognosis in ischemic cerebrovascular disease. *J Clin Lab Anal.* 2014 Jan;28(1):27–31.
64. Hyun S, Kwon S, Cho S, Park S, Jung W, Moon S, et al. Can the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Appropriately Predict Carotid Artery Stenosis in Patients with Ischemic Stroke?-A Retrospective Study. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2015;24:2646–51.
65. Köklü E, Yüksel İÖ, Arslan Ş, Bayar N, Çağırıcı G, Gencer ES, et al. Is Elevated Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio a Predictor of Stroke in Patients with Intermediate Carotid Artery Stenosis? *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2016;25:578–84.
66. Saliba W, Barnett-Griness O, Elias M, Rennert G. Neutrophil to lymphocyte ratio and risk of a first episode of stroke in patients with atrial fibrillation: a cohort study. *J Thromb Haemost.* 2015;13:1971–9.
67. Wang F, Hu S, Ding Y, Ju X, Wang L, Lu Q, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and 30-Day Mortality in Patients with Acute Intracerebral Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2016;25:182–7.
68. Lattanzi S, Cagnetti C, Provinciali L, Silvestrini M. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Predicts the Outcome of Acute Intracerebral Hemorrhage. *Stroke.* 2016;47:1654–7.

69. Maestrini I, Strbian D, Gautier S, Haapaniemi E, Moulin S, Sairanen T, et al. Higher neutrophil counts before thrombolysis for cerebral ischemia predict worse outcomes. *Neurology*. 2015;85:1408–16.
70. Guo Z, Yu S, Xiao L, Chen X, Ye R, Zheng P, et al. Dynamic change of neutrophil to lymphocyte ratio and hemorrhagic transformation after thrombolysis in stroke. *J Neuroinflammation*. 2016;13:199.
71. Lou M, Luo P, Tang R, Peng Y, Yu S, Huang W, et al. Relationship between neutrophil-lymphocyte ratio and insulin resistance in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus patients. *BMC Endocr Disord*. 2015;15:9.
72. Kahraman C, Kahraman NK, Aras B, Coşgun S, Gülcan E. The relationship between neutrophil-to-lymphocyte ratio and albuminuria in type 2 diabetic patients: a pilot study. *Arch Med Sci*. 2016;12:571–5.
73. Kim B-J, Cho S-H, Cho K-I, Kim H-S, Heo J-H, Cha T-J. The Combined Impact of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Type 2 Diabetic Mellitus on Significant Coronary Artery Disease and Carotid Artery Atherosclerosis. *J Cardiovasc Ultrasound*. 2016;24:115–22.
74. Yan W, Liu C, Li R, Mu Y, Jia Q, He K. Usefulness of the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Predicting Adverse Events in Elderly Patients With Chronic Heart Failure. *Int Heart J*. 2016;57:615–21.
75. Paquissi FC. The role of inflammation in cardiovascular diseases: the predictive value of neutrophil-lymphocyte ratio as a marker in peripheral arterial disease. *Ther Clin Risk Manag*. 2016;12:851–60.
76. Martínez-Urbistondo D, Beltrán A, Beloqui O, Huerta A. The neutrophil-to-lymphocyte ratio as a marker of systemic endothelial dysfunction in asymptomatic subjects. *Nefrologia*. 2016;36:397–403.
77. Öztürk ZA, Kuyumcu ME, Yesil Y, Savas E, Yıldız H, Kepekçi Y, et al. Is there a link between neutrophil-lymphocyte ratio and microvascular complications in geriatric diabetic patients? *J Endocrinol Invest*. 2013;36:593–9.
78. Belen E, Sungur A, Sungur MA, Erdoğan G. Increased Neutrophil to Lymphocyte Ratio in Patients With Resistant Hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2015;17:532–7.

79. Küçük E, Kocayiğit İ, Günel C, Düzenli H. Neutrophil-to-lymphocyte ratio in occlusive vascular diseases: the literature review of the past 10 years. *World J Emerg Med.* 2016;7:165–72.
80. Sobowale OA, Parry-Jones AR, Smith CJ, Tyrrell PJ, Rothwell NJ, Allan SM. Interleukin-1 in Stroke: From Bench to Bedside. *Stroke.* 2016;47:2160–7.
81. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood.* 1996;87:2095–147.
82. Weber A, Wasiliew P, Kracht M. Interleukin-1beta (IL-1beta) processing pathway. *Sci Signal.* 2010;3:1-2.
83. Allan SM, Tyrrell PJ, Rothwell NJ. Interleukin-1 and neuronal injury. *Nat Rev Immunol.* 2005;5:629–40.
84. Patel HC, Boutin H, Allan SM. Interleukin-1 in the brain: mechanisms of action in acute neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci.* 2003;992:39–47.
85. Bădulescu O, Bădescu C, Ciocoiu M, Bădescu M. Interleukin-1-beta and dyslipidemic syndrome as major risk factors for thrombotic complications in type 2 diabetes mellitus. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:169420.
86. Wang X, Feuerstein GZ, Gu JL, Lysko PG, Yue TL. Interleukin-1 beta induces expression of adhesion molecules in human vascular smooth muscle cells and enhances adhesion of leukocytes to smooth muscle cells. *Atherosclerosis.* 1995;115:89–98.
87. Schielke GP, Yang GY, Shivers BD, Betz AL. Reduced ischemic brain injury in interleukin-1 beta converting enzyme-deficient mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1998;18:180–5.
88. Yang B, Zhao H, X B, Wang Y-B, Zhang J, Cao Y-K, et al. Influence of interleukin-1 beta gene polymorphisms on the risk of myocardial infarction and ischemic stroke at young age in vivo and in vitro. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8:13806–13.
89. Raz N, Yang Y, Dahle CL, Land S. Volume of white matter hyperintensities in healthy adults: contribution of age, vascular risk factors, and inflammation-related genetic variants. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822:361–9.

90. Woiciechowsky C, Schöning B, Daberkow N, Asche K, Lanksch WR, Döcke WD, et al. Brain IL-1beta increases neutrophil and decreases lymphocyte counts through stimulation of neuroimmune pathways. *Neurobiol Dis.* 1999;6:200–8.
91. Giwa MO, Williams J, Elderfield K, Jiwa NS, Bridges LR, Kalaria RN, et al. Neuropathologic evidence of endothelial changes in cerebral small vessel disease. *Neurology.* 2012;78(3):167–74.
92. Knottnerus ILH, Ten Cate H, Lodder J, Kessels F, van Oostenbrugge RJ. Endothelial dysfunction in lacunar stroke: a systematic review. *Cerebrovasc Dis.* 2009;27:519–26.
93. Hassan A, Hunt BJ, O’Sullivan M, Parmar K, Bamford JM, Briley D, et al. Markers of endothelial dysfunction in lacunar infarction and ischaemic leukoaraiosis. *Brain.* 2003;126:424–32.
94. Rouhl RPW, Damoiseaux JGMC, Lodder J, Theunissen ROMFIH, Knottnerus ILH, Staals J, et al. Vascular inflammation in cerebral small vessel disease. *Neurobiol Aging.* 2012;33:1800–6.
95. Han JH, Wong KS, Wang YY, Fu JH, Ding D, Hong Z. Plasma level of sICAM-1 is associated with the extent of white matter lesion among asymptomatic elderly subjects. *Clin Neurol Neurosurg.* 2009;111:847–51.
96. Lavallée PC, Labreuche J, Faille D, Huisse M-G, Nicaise-Roland P, Dehoux M, et al. Circulating markers of endothelial dysfunction and platelet activation in patients with severe symptomatic cerebral small vessel disease. *Cerebrovasc Dis.* 2013;36:131–8.
97. Markus HS, Hunt B, Palmer K, Enzinger C, Schmidt H, Schmidt R. Markers of endothelial and hemostatic activation and progression of cerebral white matter hyperintensities: longitudinal results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Stroke.* 2005;36:1410–4.
98. Hainsworth AH, Oommen AT, Bridges LR. Endothelial cells and human cerebral small vessel disease. *Brain Pathol.* 2015;25:44–50.
99. Del Brutto OH, Peñaherrera E, Ochoa E, Santamaría M, Zambrano M, Del Brutto VJ, et al. Door-to-door survey of cardiovascular health, stroke, and

- ischemic heart disease in rural coastal Ecuador--the Atahualpa Project: methodology and operational definitions. *Int J Stroke*. 2014;9:367–71.
100. Del Brutto OH. Implications and expectancies of the “Atahualpa Project”: A population-based survey designed to reduce the burden of stroke and cardiovascular diseases in rural Ecuador. *J Neurosci Rural Pract*. 2013;4:363–5.
 101. Del Brutto OH, Mera RM, Del Brutto VJ, Zambrano M, Lama J. White matter hyperintensities of presumed vascular origin: a population-based study in rural Ecuador (The Atahualpa Project). *Int J Stroke*. 2015;10:372–5.
 102. Del Brutto VJ, Zambrano M, Mera RM, Del Brutto OH. Population-Based Study of Cerebral Microbleeds in Stroke-Free Older Adults Living in Rural Ecuador: The Atahualpa Project. *Stroke*. 2015;46:1984–6.
 103. Del Brutto OH, Sedler MJ, Mera RM, Lama J, Gruen JA, Phelan KJ, et al. The association of ankle-brachial index with silent cerebral small vessel disease: results of the Atahualpa Project. *Int J Stroke*. 2015;10:589–93.
 104. Del Brutto OH, Mera RM, Zambrano M, Lama J. Cognitive performance in community-dwelling older adults with stroke and the contribution of age and diffuse subcortical damage: a population-based study in rural Ecuador (The Atahualpa Project). *Aging Clin Exp Res*. 2015;27:647–52.
 105. Del Brutto OH, Mera RM, Gillman J, Ha J-E, Zambrano M. Calcifications in the carotid siphon correlate with silent cerebral small vessel disease in community-dwelling older adults: A population-based study in rural Ecuador. *Geriatr Gerontol Int*. 2016;16:1063–7.
 106. Del Brutto OH, Mera RM, Zambrano M, Lama J. Incompleteness of the Circle of Willis correlates poorly with imaging evidence of small vessel disease. A population-based study in rural Ecuador (the Atahualpa project). *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2015;24:73–7.
 107. Del Brutto OH, Mera RM, Zambrano M, Lama J, Del Brutto VJ, Castillo PR. Poor sleep quality and silent markers of cerebral small vessel disease: a population-based study in community-dwelling older adults (The Atahualpa Project). *Sleep Med*. 2015;16:428–31.

108. Del Brutto OH, Mera RM, Andrade M de la L, Castillo PR, Zambrano M, Nader JA. Disappointing reliability of pulsatility indices to identify candidates for magnetic resonance imaging screening in population-based studies assessing prevalence of cerebral small vessel disease. *J Neurosci Rural Pract.* 2015;6:336–8.
109. Castillo PR, Del Brutto OH, Andrade M de la L, Zambrano M, Nader JA. The association of sleep-disordered breathing with high cerebral pulsatility might not be related to diffuse small vessel disease. A pilot study. *BMC Res Notes.* 2015;8:500.
110. Del Brutto OH, Mera RM, Ha J-E, Del Brutto VJ, Castillo PR, Zambrano M, et al. Oily fish consumption is inversely correlated with cerebral microbleeds in community-dwelling older adults: results from the Atahualpa Project. *Aging Clin Exp Res.* 2016;28:737–43.
111. Del Brutto OH, Mera RM, Viteri EM, Pólit J, Ledesma EA, Cano JA, et al. Hypertensive retinopathy and cerebral small vessel disease in Amerindians living in rural Ecuador: The Atahualpa Project. *Int J Cardiol.* 2016;218:65–8.
112. Del Brutto OH, Mera RM, Zambrano M. The Influence of Age in the Relationship between Cerebral Small Vessel Disease and Edentulism. The Atahualpa Project. *Eur Neurol.* 2016;76:112–6.
113. Ankle Brachial Index Collaboration. Ankle brachial index combined with Framingham risk score to predict cardiovascular events and mortality. *JAMA* 2008; 300: 197-208.
114. Fan H, Hu X, Yu W, et al. Low ankle-brachial index and risk of stroke. *Atherosclerosis* 2013; 229: 317-323.
115. Milionis H, Vemmou A, Ntaios G, et al. Ankle-brachial index long-term outcome after first-ever ischemic stroke. *Eur J Neurol* 2013; 20: 1471-1478.
116. Gronewold J, Hermann DM, Lehmann N, et al. Ankle-brachial index predicts stroke in the general population in addition to classical risk factors. *Atherosclerosis* 2014; 233: 545-550.

117. Brooks SD, Spears C, Cummings C, VanGilder RL, Stinehart KR, Gutmann L, et al. Admission neutrophil-lymphocyte ratio predicts 90 day outcome after endovascular stroke therapy. *J Neurointerv Surg*. 2014;6:578–83.
118. Giede-Jeppe A, Bobinger T, Gerner ST, Sembill JA, Sprügel MI, Beuscher VD, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Is an Independent Predictor for In-Hospital Mortality in Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *Cerebrovasc Dis*. 2017;44:26–34.
119. Lattanzi S, Cagnetti C, Provinciali L, Silvestrini M. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and neurological deterioration following acute cerebral hemorrhage. *Oncotarget*. 2017; Article in press.
120. Qun S, Tang Y, Sun J, Liu Z, Wu J, Zhang J, et al. Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio Predicts 3-Month Outcome of Acute Ischemic Stroke. *Neurotox Res*. 2017;31:444–52.
121. Sun Y, You S, Zhong C, Huang Z, Hu L, Zhang X, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and the hematoma volume and stroke severity in acute intracerebral hemorrhage patients. *Am J Emerg Med*. 2017;35:429–33.
122. Tao C, Hu X, Wang J, Ma J, Li H, You C. Admission neutrophil count and neutrophil to lymphocyte ratio predict 90-day outcome in intracerebral hemorrhage. *Biomark Med*. 2017;11:33–42.
123. Tokgoz S, Keskin S, Kayrak M, Seyithanoglu A, Ogmegul A. Is neutrophil/lymphocyte ratio predict to short-term mortality in acute cerebral infarct independently from infarct volume? *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2014;23:2163–8.
124. Turfan M, Erdoğan E, Tasal A, Vatankulu MA, Jafarov P, Sönmez O, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and in-hospital mortality in patients with acute heart failure. *Clinics (Sao Paulo)*. 2014;69:190–3.
125. Xue J, Huang W, Chen X, Li Q, Cai Z, Yu T, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Is a Prognostic Marker in Acute Ischemic Stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2017;26:650–7.
126. Zhao L, Dai Q, Chen X, Li S, Shi R, Yu S, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Predicts Length of Stay and Acute Hospital Cost in Patients with Acute Ischemic Stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2016;25:739–44.

127. Gökhan S, Ozhasenekler A, Mansur Durgun H, Akil E, Ustündag M, Orak M. Neutrophil lymphocyte ratios in stroke subtypes and transient ischemic attack. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17:653–7.
128. Jiang H, Zhang J, Wu J, Wei G, He Y, Gao X. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Correlates with Severity of Extracranial Carotid Stenosis-A Study Using Digital Subtraction Angiography. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2017; Article in press.
129. Zhou S, Cai B, Zhang Y, Wang L, Liu X, Xu G. The Relationship between Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Aortic Arch Calcification in Ischemic Stroke Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2017; Article in press.
130. Yüksel İÖ, Köklü E, Arslan Ş, Çağırıcı G, Göksu EÖ, Koç P, et al. Association of Neutrophil/Lymphocyte Ratio with Plaque Morphology in Patients with Asymptomatic Intermediate Carotid Artery Stenosis. *Korean Circ J*. 2016;46:699–705.
131. Varol E, Aksoy F, Ozaydin M, Erdogan D, Dogan A. Association between neutrophil-lymphocyte ratio and mitral annular calcification. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2014;25:557–60.
132. Kaya A, Kurt M, Tanboga IH, Işık T, Günaydın ZY, Kaya Y, et al. Relation of neutrophil to lymphocyte ratio with the presence and severity of stable coronary artery disease. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2014;20:473–7.
133. Lavados PM, Hennis AJM, Fernandes JG, Medina MT, Legetic B, Hoppe A, et al. Stroke epidemiology, prevention, and management strategies at a regional level: Latin America and the Caribbean. *Lancet Neurol*. 2007;6:362–72.
134. Saposnik G, Del Brutto OH, Iberoamerican Society of Cerebrovascular Diseases. Stroke in South America: a systematic review of incidence, prevalence, and stroke subtypes. *Stroke*. 2003;34:2103–7.
135. Del Brutto OH, Mosquera A, Sánchez X, Santos J, Noboa CA. Stroke subtypes among Hispanics living in Guayaquil, Ecuador. Results from the Luis Vernaza Hospital Stroke Registry. *Stroke*. 1993;24:1833–6.
136. Del Brutto OH, Del Brutto VJ. Is the rate of cerebral hemorrhages declining among stroke patients in South America? *Int J Stroke*. 2014;9:207–9.

Anexos

Herramientas de recolección

CUESTIONARIO DE EVALUACIÓN RÁPIDA DE INFECCIONES

Nombres y Apellidos:

Código:

1. ¿Ha sentido en la última semana alguno de estos síntomas: dolor de garganta, dolor al tragar, mal aliento, tos acompañados de fiebre y malestar general?
SÍ NO
2. ¿Ha sentido en la última semana alguno de estos síntomas: dolor de cabeza que empeora al agacharse, secreción de moco por la nariz, garganta irritada, mal aliento acompañados de fiebre y malestar general?
SÍ NO
3. ¿Ha sentido en la última semana alguno de estos síntomas: tos con producción purulenta, dolor al costado del tórax acompañados de fiebre y malestar general?
SÍ NO
4. ¿Ha sentido en la última semana alguno de estos síntomas: dolor o ardor al orinar, dolor en abdomen bajo orina escasa pero frecuente acompañados de fiebre y malestar general?
SÍ NO
5. ¿Ha sentido en la última semana alguno de estos síntomas: dolor abdominal con diarrea, náuseas y vómitos, falta de apetito o pérdida de peso acompañados de fiebre y malestar general?
SÍ NO
6. ¿Ha sentido en la última semana alguno de estos síntomas: erupciones en la piel, enrojecimientos en la piel, úlceras o abscesos con o sin salida de pus acompañados de fiebre y malestar general?
SÍ NO
7. ¿Ha tomado algún antibiótico, antiparasitario o antimicótico en la última semana? Si lo hizo ¿Cuál fue el motivo?
SÍ: _____ NO
8. ¿Ha sufrido esta semana elevación de la temperatura, con malestar general, dolor articular o muscular, dolor retroocular o ha sido diagnosticado de dengue, malaria, chikungunya o zika por un profesional de la salud en un centro de atención de la salud?
SÍ NO

Documento de consentimiento



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Introducción

A través del presente documento pretendemos presentarle los detalles del proyecto de investigación en curso y obtener su consentimiento para ser incluido al mismo.

Es posible que haya palabras difíciles de entender. Siéntase en la libertad de preguntar a la persona que le entrega este documento acerca de cualquier inquietud en cualquier momento.

Propósito de la Investigación

La enfermedad cerebral de pequeño vaso está relacionada con problemas relacionados con deterioro de las funciones cerebrales. Debido al bajo costo que representa obtener un parámetro denominado cociente neutrófilo/linfocito del hemograma común, el objetivo de este estudio es explorar de la asociación entre este biomarcador de inflamación y el daño de los pequeños vasos para identificar candidatos a estudios de imágenes.

Tipo de Intervención

El presente estudio requerirá la toma de una muestra sanguínea de sangre venosa. Las posibles complicaciones de la toma de muestra son la formación de un hematoma posterior a la inserción de la aguja y en casos extremos, una flebitis (inflamación de la vena).

Participación Voluntaria

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si acepta, está en la total libertad de retirar su colaboración con este estudio en cualquier momento. De la misma forma en que su participación voluntaria no le significará un gasto monetario alguno, es importante que sepa que no recibirá dinero por su participación.

Confidencialidad

La información que obtengamos de esta investigación será mantenida con total confidencialidad.

Derecho a Retirarse

Usted no tiene que formar parte de esta investigación si no lo desea así. Seguirá teniendo los beneficios y servicios del centro comunitario si no desea participar.

Declaración de consentimiento informado:

He leído la información proveída por el presente documento o dicha información ha sido leída para mí. He tenido la oportunidad de hacer preguntas y todas ellas han sido contestadas completa y concretamente. Consiento voluntariamente participar en esta investigación.

Nombre del participante: _____

Código: _____

Firma del participante: _____

Fecha: _____

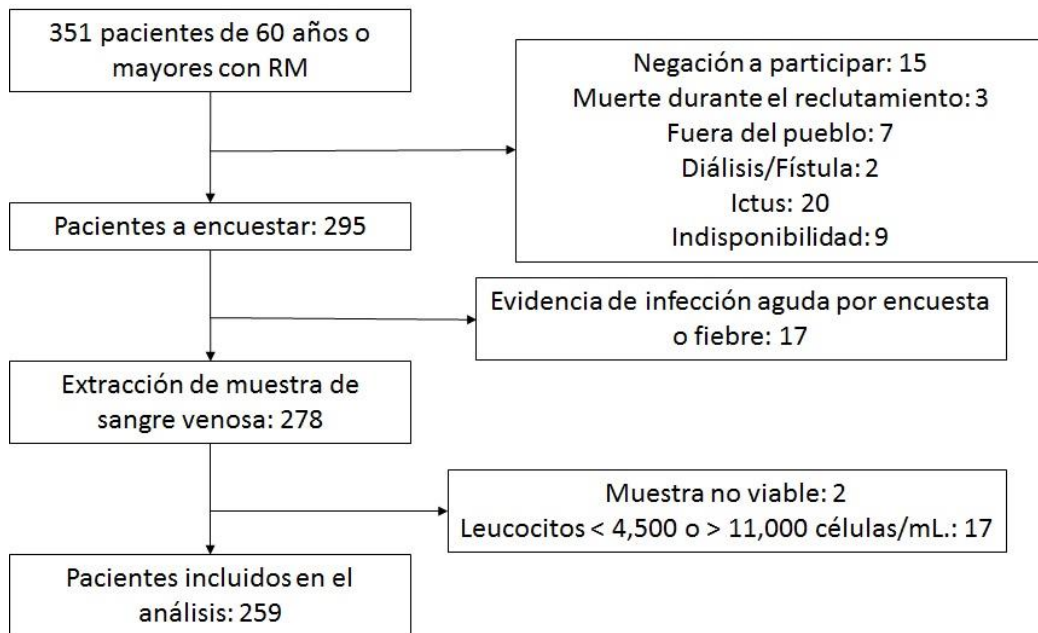


Dr. Oscar Del Brutto
Centro de Apoyo Comunitario Atahualpa
Director

Cronograma general

| Tarea | Diciembre | Enero | Febrero | Marzo | Abril |
|--|-----------|-------|---------|-------|-------|
| Elaboración de anteproyecto | X | | | | |
| Coordinación de viajes y convocatoria de pacientes | X | | | | |
| Recolección de muestras | | X | X | | |
| Tabulación de datos | | | X | | |
| Análisis estadístico | | | X | X | |
| Redacción de Tesis con resultados finales | | | | | X |

Flujograma



Carta de aprobación para financiamiento



Samborondón, 2 de agosto del 2016

*Sr.
Dr. Oscar Del Brutto
Docente Investigador de la UEES*

*Sr.
Aldo Costa
Estudiante de la UEES*

Presente.-

Estimados:

*Reciba un cordial saludo, a la vez que pongo en su conocimiento que luego de la reunión del Consejo Consultivo de Investigación realizada el 2 de agosto del presente año, en el que se expusieron todas las propuestas de investigación presentadas en la Primera Convocatoria 2016. Su propuesta **"Coeficiente Neutrófilo/Linfocito y enfermedad cerebral de pequeños vasos en nativos de la Costa Ecuatoriana: Proyecto Atahualpa"** ha sido aprobada; por lo que le extendemos nuestras felicitaciones, y le solicitamos acercarse a nuestras oficinas para tratar detalles del inicio del proyecto.*

Agradecemos su valiosa participación.

M. Sc. María Dolores Cazorta
MSc. María Dolores Cazorta
*Directora
Centro de Investigación
UEES*

Carta de aprobación de Institución donde se realizó la tesis



Atahualpa, 12 de julio del 2016

El motivo de la presente es certificar el permiso para realizar la tesis del estudiante de medicina Aldo Costa Valarezo con código 2011100774, en Atahualpa titulada: "Cociente Neutrófilo/Linfocito y enfermedad cerebral de pequeños vasos en nativos de la Costa Ecuatoriana: Proyecto Atahualpa". Es de total conocimiento para el director y el coordinador del Centro de Apoyo de la Universidad Espíritu Santo la metodología y el protocolo de la tesis.

Att.


Dr. Oscar Del Brutto
Centro de Apoyo Comunitario Atahualpa
Director

Dr. Oscar Del Brutto
Director General del Proyecto Atahualpa



Sr. Mauricio Zambrano
Coordinador del Proyecto Atahualpa



Fotografías



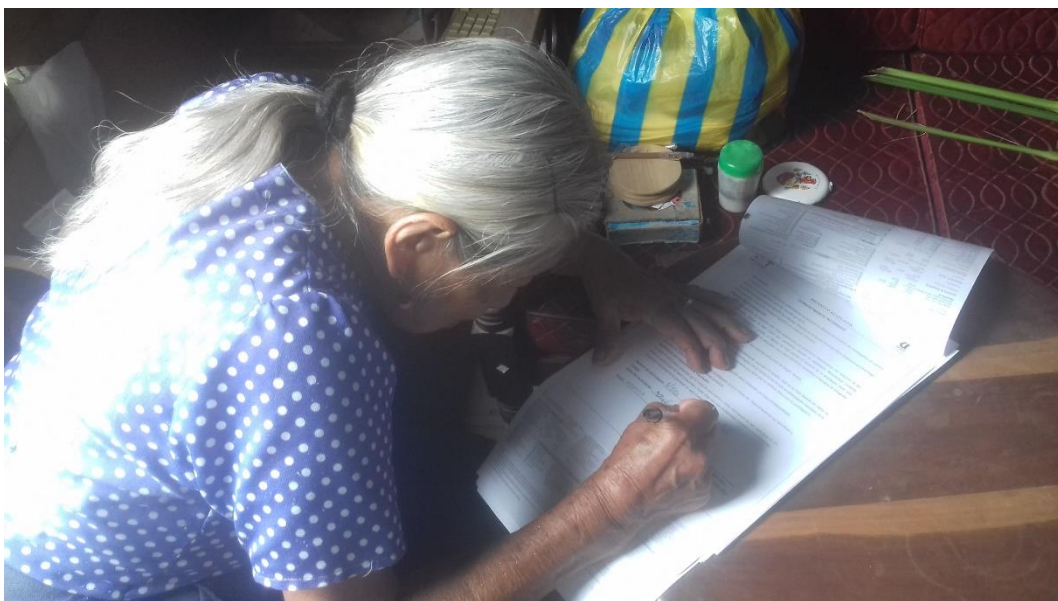
Fotografía 1. Realización de encuesta en Centro de Apoyo Comunitario en Atahualpa.



Fotografía 2. Toma de muestra en el Centro de Apoyo Comunitario en Atahualpa.



Fotografía 3. Toma de muestra en las casas de los habitantes en Atahualpa.



Fotografía 4. Firma del consentimiento informado por parte de los pacientes.



Fotografía 5. Evaluación de paciente en Centro de Apoyo Comunitario en Atahualpa.