

# Búsqueda de Substitutos Para Estudios de Neuroimagen con Propósitos de Investigación: Experiencia del Proyecto Atahualpa.

## *The Search Of Surrogates For Neuroimaging Studies For Research Purposes: The Atahualpa Project Experience.*

Oscar H. Del Brutto<sup>1</sup>, Robertino M. Mera,<sup>2</sup> Aldo F. Costa,<sup>1</sup> Mauricio Zambrano,<sup>3</sup> Eduardo M. Viteri,<sup>4</sup> Juan A. Nader,<sup>5</sup> Mark J. Sedler<sup>6</sup>

### Resumen

El diagnóstico de muchas de las enfermedades neurológicas no transmisibles requiere de la práctica de una resonancia magnética, la cual no se encuentra disponible en regiones rurales o remotas. Es importante realizar esfuerzos destinados a encontrar pruebas diagnósticas portátiles que sirvan como tamizaje para la identificación de personas que necesitan ser sometidas a una IRM. Como parte del Proyecto Atahualpa, hemos invitado a todos los participantes  $\geq 60$  años para la práctica de una IRM de cerebro y aproximadamente el 80% de las personas han aceptado el procedimiento. Por lo tanto, tenemos la oportunidad única de probar la validez de pruebas no-invasivas que puedan ser utilizadas como substitutos de resonancia para identificar candidatos a hacerse dicho examen. Hasta la fecha, hemos estudiado el valor del índice tobillo-brazo, la confiabilidad de la relación neutrófilos-linfocitos, la exactitud de la presencia de retinopatía hipertensiva y el valor del Doppler transcraneal para la detección de personas con enfermedad de pequeño vaso cerebral. Los individuos con índice tobillo-brazo anormal tiene 4 veces más riesgo de tener un infarto lacunar silente que aquellos con índice normal. Una relación neutrófilos-linfocitos elevada es pobremente sensitiva pero altamente específica para detectar personas con por lo menos un marcador de imagen de enfermedad de pequeño vaso. Los individuos con retinopatía hipertensiva Grados 2-3 tienen casi 4 veces más riesgo de tener hiperintensidades de sustancia blanca que aquellos con retinopatía Grado 1 o sin retinopatía. Finalmente, la correlación del índice de pulsatilidad de las arterias intracraneales para detectar marcadores de enfermedad de pequeño vaso es pobre. Seguimos en la búsqueda de una prueba económica y confiable que permita la identificación de sujetos aparentemente sanos, con riesgo de desarrollar eventos cerebrovasculares catastróficos.

**Palabras Clave:** Atahualpa, estudio poblacional, epidemiología, índice tobillo-brazo, relación neutrófilos-linfocitos, Doppler transcraneal, Retinopatía, Ecuador.

### Abstract

Diagnosis of many non-communicable neurological diseases require the use of MRI, which is not readily available in remote rural populations. Efforts should be directed to find portable screening diagnostic tools that may help identify candidates for MRI screening. In the Atahualpa Project, all participants aged  $\geq 60$  years have been invited for the practice of MRI, and about 80% of them have underwent the procedure. Therefore, we have the unique opportunity to test the accuracy of non-invasive exams to be used as surrogates to MRI for identifying candidates for the practice of this exam. To date, we have assessed the value of the ankle-brachial index (ABI), the reliability of the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), the accuracy of hypertensive retinopathy, and the value of transcranial Doppler (TCD) to detect individuals with cerebral small vessel disease. Individuals with an abnormal ABI have 4 times de odds of having a silent lacunar infarct than those with a normal ABI. A high NLR has a poor sensitivity but is highly specific for detecting persons with at least one imaging signature of small vessel disease. Individuals with hypertensive retinopathy Grades 2-3 are almost four times more likely to have moderate-to-severe white matter hyperintensities than those with no- or only Grade 1 retinopathy. Finally, the correlation between the pulsatility indexes of major cerebral arteries with imaging markers of small vessel disease, as assessed by TCD, was poor. We are still in the search of some non-expensive and readily available biomarker that allow the identification of apparently healthy persons at risk of suffering a catastrophic cerebrovascular event.

**Keywords:** Atahualpa, population-based study, epidemiology, ankle-brachial index, neutrophil-to-lymphocyte ratio, Transcranial Doppler, Retinopathy, Ecuador.

### Soporte Económico

Universidad Espíritu Santo – Ecuador.

### Conflictos de interés

Ninguno que declarar

Rev. Ecuat. Neurol. Vol. 26, N° 2, 2017

<sup>1</sup>Facultad de Medicina, Universidad Espíritu Santo – Ecuador

<sup>2</sup>Vanderbilt University, Medical Center, Nashville, TN, USA

<sup>3</sup>Centro de Apoyo Comunitario, Atahualpa, Ecuador

<sup>4</sup>Humana Visión Ophthalmological Center, Guayaquil, Ecuador

<sup>5</sup>Department of Neurology, Hospital Médica Sur, México City, México

<sup>6</sup>School of Medicine, Stonybrook University, New York, NY, USA

Correspondencia

Oscar H. Del Brutto, MD.

Air Center 3542, PO Box 522970. Miami, FL 33152-2970

Email: oscarbrutto@hotmail.com

## Introducción

Como se ha mencionado previamente, las enfermedades neurológicas no transmisibles – en particular las enfermedades cerebrovasculares – representan una de las nuevas epidemias de salud de países en vías de desarrollo de América Latina.<sup>1</sup> Uno de los mayores limitantes para la realización de estudios neuro-epidemiológicos de calidad en áreas rurales de estos países es la escasa disponibilidad de estudios de neuroimagen y los altos costos que implica trasladar a poblaciones enteras hacia zonas urbanas donde dichos equipos se encuentran disponibles.<sup>2</sup> Como en el Proyecto Atahualpa hemos tenido la posibilidad de realizar dichos estudios, incluyendo tomografía computada (TC) e imagen por resonancia magnética (IRM), hemos intentado encontrar biomarcadores simples y de bajo costo que permitan identificar candidatos óptimos para la práctica de estudios de neuroimagen y minimizar, en futuros estudios, el costo inherente a la realización de dichos estudios. En el presente estudio describimos la experiencia de nuestro grupo al respecto.

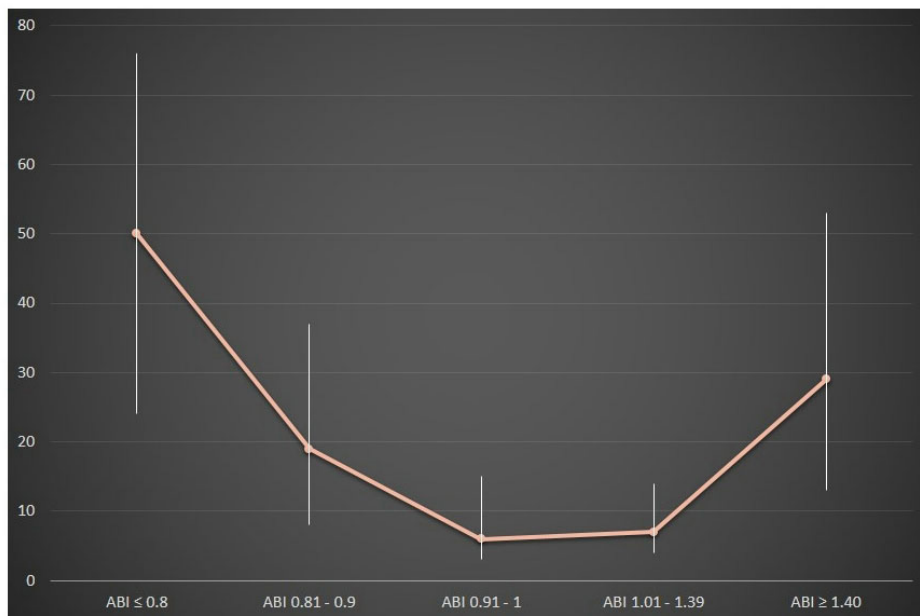
## Índice Tobillo-Brazo

El índice tobillo-brazo (ankle-brachial index, o ABI por sus siglas en Inglés) es un procedimiento confiable para el diagnóstico no invasivo de enfermedad arterial periférica, una condición que afecta a más de 200 millones de personas alrededor del mundo.<sup>3</sup> Por otra parte, algunos estudios han sugerido la utilidad de un ABI anormal como predictor de la ocurrencia de eventos cerebrovasculares e infarto de miocardio.<sup>4-7</sup> Sin embargo, es poco lo que se sabe acerca del valor del ABI como predictor de marcadores silentes de enfermedad cerebral de pequeño vaso, con excepción de algunos estudios realizados en Japón, donde

se sugiere que los infartos lacunares silentes se asocian con alteraciones en la circulación arterial de las piernas.<sup>8-10</sup>

La determinación del ABI es relativamente sencilla. De acuerdo con las sugerencias de la AHA, éste debe ser medido con las personas acostadas en posición supina bajo temperaturas confortables.<sup>11</sup> Se comienza determinando la presión arterial en ambos brazos y piernas, mediante el uso de un esfigmomanómetro y un Doppler vascular portátil (con transductor de 8 MHz), siguiendo una secuencia en contra de las manecillas del reloj, comenzando en el brazo derecho y siguiendo con la arteria tibial posterior derecha, la arteria dorsal del pie derecho, la arteria dorsal del pie izquierdo, la arteria tibial posterior izquierda y el brazo izquierdo. El ABI se calcula dividiendo el valor más alto de entre las determinaciones de presión en las arterias tibial posterior y dorsal del pie en cada pierna para la presión sistólica más alta obtenida en los brazos (izquierdo o derecho). El ABI más bajo entre los dos tobillos se utiliza como valor final para motivos de clasificación, y un ABI  $\leq 0.9$  debe ser considerado como positivo para enfermedad arterial periférica. Cuando el ABI en una pierna es  $\geq 1.4$  y  $>0.9$  en la otra, debe considerarse la presencia de arterias no compresibles (calcinosis).

Como parte del Proyecto Atahualpa, realizamos un estudio en 224 personas  $\geq 60$  años, sin evidencia clínica de enfermedad cerebrovascular, que fueron sometidas a IRM y a determinación de ABI.<sup>12</sup> En dicho estudio se encontró un ABI  $\leq 0.90$  en 37 personas y de  $\geq 1.4$  en 17. Los estudios de IRM revelaron infartos lacunares silentes en 27 casos, hiperintensidades de sustancia blanca de tipo moderado-severo en 47 y micro-sangrados cerebrales en 26. Los modelos de regresión logística, ajustados por variables demográficas y factores de



**Figura 1.** Gráfico que muestra la relación entre la probabilidad de tener infartos lacunares silentes (eje vertical) y el nivel de índice tobillo-brazo (ABI). Se nota una curva, con los porcentajes más altos en personas con enfermedad arterial periférica (ABI  $\leq 0.8$ ) y luego en aquellos con calcinosis (ABI  $\geq 1.4$ ).

riesgo cardiovasculares mostraron una asociación entre infartos lacunares silentes y ABI anormal (Figura 1), en particular, la relación fue significativa para valores de  $ABI \leq 0.90$  (O.R.: 3.72, 95% C.I.: 1.35 – 10.27,  $p=0.01$ ) y  $ABI \geq 1.4$  (O.R.: 3.85, 95% C.I.: 1.06 – 14.03,  $p=0.04$ ). Las hiperintensidades de sustancia blanca de tipo moderado-severo se asociaron con  $ABI \leq 0.90$  ( $p=0.03$ ) y  $ABI \geq 1.4$  ( $p=0.02$ ), pero exclusivamente en los análisis univariados, desapareciendo dicha relación en los modelos de regresión. Por otra parte, no hubo ninguna asociación entre un ABI anormal y la presencia de micro-sangrados cerebrales. En este estudio, los individuos aparentemente sanos  $\geq 60$  años con ABI anormal, tuvieron casi 4 veces más probabilidades de tener un infarto lacunar silente que aquellos con ABI normal. Esto sugiere que un tamizaje con determinación de ABI permite reconocer individuos asintomáticos que necesitan estudios de imagen y tratamiento especializado.

Por otra parte, la determinación del ABI ha demostrado ser de utilidad para la detección de individuos con aterosclerosis extra e intracraneal en caucásicos y asiáticos.<sup>13-15</sup> En un estudio en 302 personas  $\geq 60$  años enroladas en el Proyecto Atahualpa, que fueron sometidas a TC y a determinación de ABI, 45 (15%) personas tuvieron un  $ABI \leq 0.90$  y 25 (8%) un  $ABI \geq 1.4$ . La TC reveló calcificaciones del sífon carotideo Grado 1 en 98 (32%), Grado 2 en 91 (30%), Grado 3 en 83 (28%) y Grado 4 en 30 (10%) participantes. En un modelo multivariado de regresión ordinal, las personas con ABI anormal tuvieron dos veces más probabilidades de tener calcificaciones en el sífon carotideos que aquellos con ABI normal, luego de ajustar por variables demográficas y factores de riesgo cardiovasculares (OR: 2.18; C.I.: 1.29 – 3.69;  $p=0.004$ ), concluyendo que el ABI es un procedimiento simple y de bajo costo, que permite identificar sujetos con aterosclerosis intracraneal y riesgo de enfermedad cerebrovascular.<sup>16</sup>

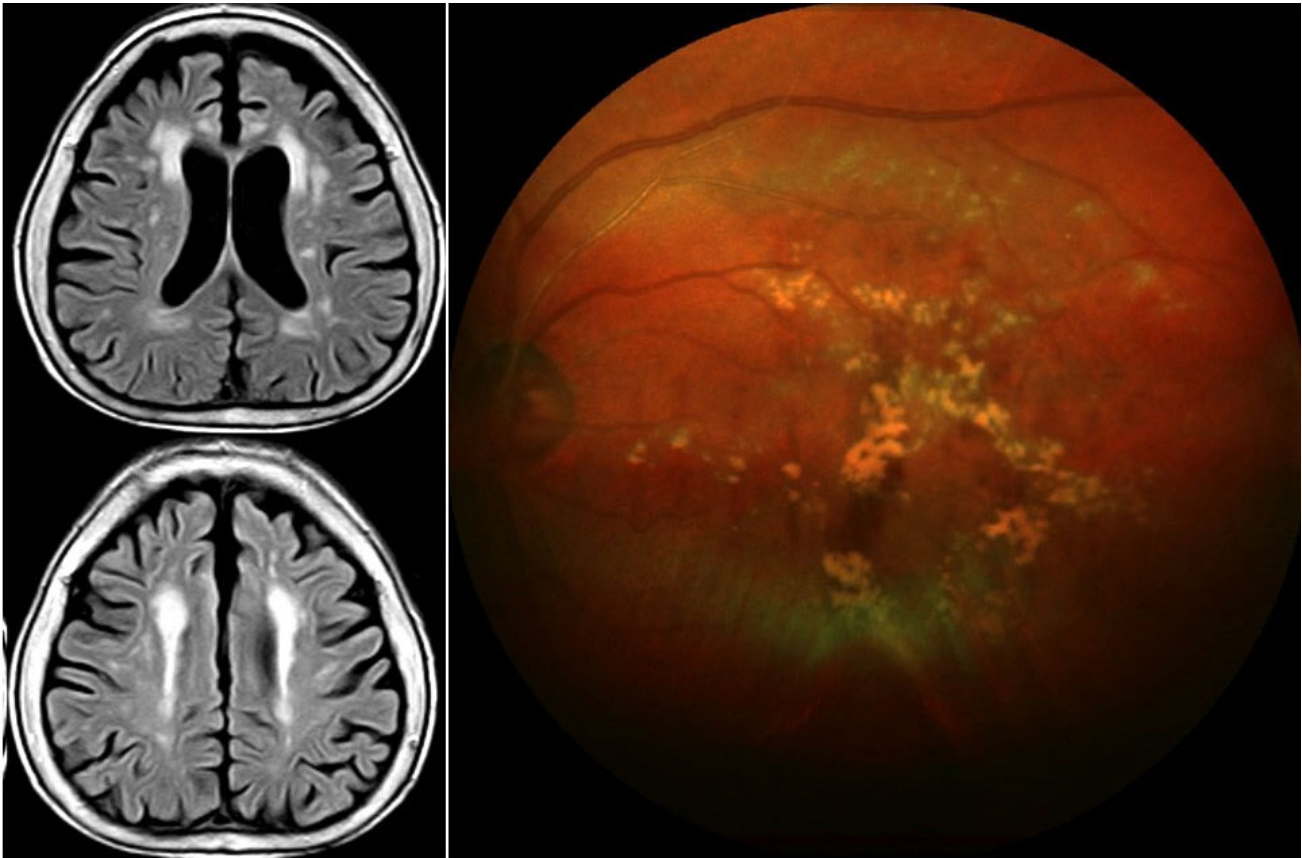
### Relación Neutrófilos-Linfocitos

El aumento en la relación entre neutrófilos y linfocitos ha sido previamente asociado con enfermedades cardiacas y cerebrovasculares.<sup>17-20</sup> Sin embargo, su utilidad para identificar individuos con enfermedad silente de pequeños vasos cerebrales no ha sido establecida. Utilizando la estructura del Proyecto Atahualpa, realizamos un estudio de 259 personas  $\geq 60$  años que habían sido sometidas a IRM y se determinó la relación neutrófilos-linfocitos, luego de obtener una muestra de sangre y procesarla utilizando un equipo analizador de hematología marca Sysmex XN-3000 (Kobe, Japón). Los individuos seleccionados para el presente estudio, además de encontrarse libres de enfermedad cerebrovascular, no tenían evidencia de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, no tenían evidencia alguna de infección en la semana previa a la toma de sangre, no se encontraban recibiendo terapia inmuno-supresora y tenían un conteo de leucocitos en rango normal (4,000 – 10,000 por  $mm^3$ ). Los valores promedio fueron de  $6,225 \pm 1,303$  por  $mm^3$  para el conteo leucocitario total, de  $3,541 \pm 1,051$  por  $mm^3$  para neutrófilos y de  $1,994 \pm 533$  per  $mm^3$  para linfocitos. El promedio de la relación neutrófilos-linfocitos fue de  $1.9 \pm 0.8$ . Con respecto a los marcadores de neuroimagen de enfermedad de pequeño vaso, 54 (20.8%) tuvieron hiperintensidades de sustancia blanca moderada-severa, 27 (10.4%) tuvieron infartos lacunares silentes, 18 (6.9%) micro-sangrados cerebrales y 66 (25.5%)  $>10$  espacios periventriculares dilatados.

La confiabilidad de la relación neutrófilos-linfocitos para identificar individuos con marcadores de enfermedad de pequeño vaso silente, fue estimada utilizando un valor de corte pre-establecido para dicha relación de 2.8.<sup>21</sup> La sensibilidad y el valor predictivo positivo de la relación neutrófilos-linfocitos para detectar marcadores de enfermedad de pequeño vaso fueron muy bajos, pero la especificidad y el valor predictivo negativo fueron altas (Tabla 1). Estos datos nos sugieren que la mayoría de per-

	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
<b>Hiperintensidades de sustancia blanca moderadas-severas</b>	7.4% (2.4 – 18.7)	88.3% (82.9 – 92.2)	0.14 (0.05 – 0.34)	0.78 (0.72 – 0.83)
<b>Infartos lacunares</b>	22.2% (9.4 – 42.8)	90.5% (85.8 – 93.8)	0.21 (0.09 – 0.41)	0.91 (0.86 – 0.94)
<b>Micro-sangrados profundos</b>	11.1% (1.9 – 36.1)	89.2% (84.4 – 92.7)	0.07 (0.01 – 0.25)	0.93 (0.89 – 0.96)
<b>Más de 10 espacios perivasculares dilatados</b>	12.1% (5.7 – 23)	89.6% (84.2 – 93.4)	0.29 (0.14 – 48.9)	0.75 (0.69 – 0.8)

**Tabla 1.** Confiabilidad de la relación neutrófilos-linfocitos para detectar marcadores silenciosos de neuroimagen de enfermedad de pequeño vaso, en 259 residentes de Atahualpa  $\geq 60$  años. Todas las determinaciones incluyen intervalos de confianza del 95%.



**Figura 2.** IRM potenciada en FLAIR de un sujeto con hiperintensidades severas de sustancia blanca que presentó evidencia de retinopatía hipertensiva Grado 3.

sonas con enfermedad de pequeño vaso van a permanecer no diagnosticados si se utiliza la relación neutrófilos-linfocitos, pero que aquellos que tengan un valor por encima del propuesto (2.8), van a tener por lo menos un marcador de imagen positivo. Si esta relación va a ser utilizada en poblaciones para detectar individuos con sospecha de enfermedad de pequeño vaso, debe ser utilizado en combinación con otros biomarcadores no-invasivos que sean altamente sensitivos, tales como los procedimientos destinados a valorar rigidez arterial.<sup>22,23</sup>

### **Retinopatía Hipertensiva**

Por ser la retina parte del sistema nervioso central<sup>24</sup> y debido a la facilidad de ser valorada mediante oftalmoscopia, la retina es una especie de “ventana hacia el cerebro,” donde se pueden reconocer una serie de padecimientos neurológicos (hipertensión endocraneal, hemorragias subaracnoideas, neuromielitis óptica, etc). Visto de este modo, existen estudios que sugieren una correlación entre retinopatía hipertensiva y marcadores de enfermedad cerebral de pequeño vaso y el reconocimiento de una retinopatía hipertensiva podría ser utilizado como una alternativa de muy bajo costo para identificar sujetos con marcadores silentes de enfermedad de pequeño vaso en estudios poblacionales realizados en áreas remotas.<sup>25-28</sup>

En un estudio del proyecto Atahualpa, en el que se incluyeron 241 personas  $\geq 60$  años con hipertensión y prehipertensión arterial, que habían sido estudiados con IRM, se tomaron fotografías de retina con un aparato Easy Scan v1.2 (i-Optics B.V., Holanda) que permitieron valorar la retina sin necesidad de dilatación pupilar. Estos exámenes fueron interpretados con un oftalmólogo calificado, ciego al grado de daño cerebral. Cambios compatibles con retinopatía hipertensiva se observaron en 132 sujetos (55%), la mayoría de los que tuvieron retinopatía Grado I (68%). Los modelos de regresión logística, ajustados por variables demográficas y factores de riesgo cardiovasculares, mostraron una asociación significativa entre retinopatía hipertensiva Grados 2-3 y la presencia de hiperintensidades de sustancia blanca moderada-severa (OR: 3.87, 95% C.I.: 1.64 – 9.13,  $p=0.002$ ), pero no con infartos lacunares (OR: 2.22, 95% C.I.: 0.83 – 5.92,  $p=0.111$ ).<sup>29</sup> En resumen, este estudio 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 (Figura 2).



	Serie Total	HSB ausentes o leves	HSB moderadas o severas	Análisis univariado	Modelo linear generalizado
Índice de pulsatilidad promedio en arteria cerebral media (n=44)	1.15 ± 0.21	1.10 ± 0.16	1.22 ± 0.24	p = 0.053	β: 0.065 95% C.I.: -0.084 – 0.177 p = 0.474
Índice de pulsatilidad promedio en arterias vertebrobasilares (n=70)	1.18 ± 0.23	1.11 ± 0.16	1.29 ± 0.27	p = 0.001	β: 0.066 95% C.I.: -0.024 – 0.156 p = 0.146

**Tabla 2.** Correlación entre los índices de pulsatilidad de las arterias cerebrales medias y vertebrobasilares de acuerdo con las diferentes categorías de hiperintensidades de sustancia blanca (HSB), en modelos univariados y en multivariados (ajustados por variables demográficas y factores de riesgo cardiovasculares). Es notoria la pérdida de significancia en los modelos multivariados, sugiriendo ausencia de relación independiente entre las dos variables principales.

### Doppler Transcraneal

El Doppler transcraneal (DTC) ha sido sugerido como una alternativa para identificar personas con enfermedad silente de pequeños vasos cerebrales, mediante el cálculo de índice de pulsatilidad de la arteria cerebral media, el cual se ha correlacionado con hiperintensidades de sustancia blanca de origen vascular.<sup>30-32</sup> Con tal objeto, realizamos un estudio piloto en 73 personas ≥65 años, seleccionadas aleatoriamente, libres de enfermedad cerebrovascular clínicamente evidente y de fibrilación auricular, que tengan patencia de los vasos intracraneales documentado en angio-resonancia. Para fines del estudio, se grabaron las velocidades sistólicas pico, las velocidades de fin de diástole, las velocidades de flujo medio y el índice de pulsatilidad de ambas arterias cerebrales medias y vértebro-basilares. El índice de pulsatilidad de cada una de estas arterias fue calculado de acuerdo con la ecuación de Gosling (velocidad sistólica pico menos velocidad de fin de diástole dividido para velocidad de flujo medio). Para el caso de las arterias cerebrales medias, el índice de pulsatilidad se calculó promediando las dos arterias (a menos que el sujeto tenga solamente una ventana permeable) y el índice de pulsatilidad vertebrobasilar se calculó promediando el de la arteria basilar y ambas vertebrales.<sup>32</sup>

Para comenzar, no hubo diferencias en el índice de pulsatilidad de la arteria cerebral media y la izquierda (1.14 ± 0.22 versus 1.13 ± 0.19, p=0.774), ni entre los índices de pulsatilidad de la arteria vertebral derecha, la izquierda y la arteria basilar (1.19 ± 0.29 versus 1.2 ± 0.28 versus 1.15 ± 0.26, respectivamente; p=0.529). Si bien los análisis univariados mostraron asociación entre los índices de pulsatilidad de las arterias cerebrales medias y vertebrobasilares con la presencia de hiperintensidades moderadas a severas de sustancia blanca, esta asociación desapareció en las regresiones multivariadas, sugiriendo que, al menos en nuestra población, el TCD no es de utilidad para predecir la presencia de enfermedad difusa de pequeño vaso (Tabla 2).<sup>33</sup> Estos resultados negativos

se deben, aparentemente, a que el índice de pulsatilidad no solamente refleja la resistencia cerebrovascular distal (como en la enfermedad de pequeño vaso), sino también puede resultar de rigidez de arterias de mediano calibre o de factores hemodinámicos.<sup>34</sup>

### Comentario

Como se mencionó previamente, es fundamental encontrar un biomarcador de bajo costo y universalmente disponible, para detectar con precisión las personas que necesitan estudios de neuroimagen en regiones donde esta tecnología no se encuentra disponible. En el Proyecto Atahualpa, hemos encontrado algunos marcadores razonablemente aceptables, pero no óptimos, por lo que la búsqueda debe continuar, por lo menos para la identificación de personas en riesgo de sufrir eventos cerebrovasculares catastróficos.

### Referencias

1. Lavados PM, Hennis AJM, Fernandes JG, et al. Stroke epidemiology, prevention, and management strategies at a regional level: Latin America and the Caribbean. *Lancet Neurol.* 2007; 6: 362-372.
2. Kurland LT. 25 years of Neuroepidemiology in the Americas. *Neurol Neurocir Psiquiatr* 1977; 18: 129-144.
3. Fowkes FG, Rudan D, Rudan I, et al. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis. *Lancet* 2013; 382: 1329-40.
4. Ankle Brachial Index Collaboration. Ankle brachial index combined with Framingham risk score to predict cardiovascular events and mortality. *JAMA* 2008; 300: 197-208.
5. Fan H, Hu X, Yu W, et al. Low ankle-brachial index and risk of stroke. *Atherosclerosis* 2013; 229: 317-323.

6. Milionis H, Vemou A, Ntaios G, et al. Ankle-brachial index long-term outcome after first-ever ischemic stroke. *Eur J Neurol* 2013; 20: 1471-1478.
7. 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.
8. Saji N, Shimizu H, Kawarai T, et al. Increased brachial-ankle pulse wave velocity is independently associated with white matter hyperintensities. *Neuroepidemiology* 2011; 36: 252-257.
9. Hatanaka R, Obara T, Watabe D, et al. Association of arterial stiffness with silent cerebrovascular lesions: the Ohasama Study. *Cerebrovasc Dis* 2011; 31: 329-337.
10. Saji N, Kimura K, Shimizu H, Kita Y. Association between silent brain infarct and arterial stiffness indicated by brachial-ankle pulse wave velocity. *Intern Med* 2012; 51: 1003-1008.
11. Aboyans V, Criqui MH, Abraham P, et al. Measurement and interpretation of the ankle-brachial index. A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2012; 126: 2890-909.
12. Del Brutto OH, Sedler MJ, Mera RM, et al. The association of ankle-brachial index with silent cerebral small vessel disease: results of the Atahualpa Project. *Int J Stroke* 2015; 10: 589-593.
13. Jimenez M, Dorado L, Hernández-Pérez M, et al. Ankle-brachial index in screening for asymptomatic carotid and intracranial atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2014; 233: 72-75.
14. Nakano T, Ohkuma H, Suzuki S. Measurement of ankle-brachial index for assessment of atherosclerosis in patients with stroke. *Cerebrovasc Dis* 2014; 17: 212-217.
15. Ratanokorn D, Keandoungchun J, Tegeler CH. Coexistent extra- and intracranial stenosis, cervical atherosclerosis, and abnormal ankle brachial index in acute ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2012; 21: 782-789.
16. Del Brutto OH, Mera RM, King NR, et al. Ankle-brachial index determination for assessment of intracranial atherosclerosis. *Int J Cardiol* 2016; 222: 701-702.
17. Bhat T, Sumaya T, Rijal J, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and cardiovascular diseases: a review. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2013; 11: 55-59.
18. Min K, Kwon S, Cho SY, et al. Atrial fibrillation is strongly associated with the neutrophil to lymphocyte ratio in acute ischemic stroke patients: a retrospective study. *J Clin Lab Anal* 2017; 31: e22041
19. Luo P, Li R, Yu S, et al. The relationship between neutrophil-to-lymphocyte ratio and intracerebral hemorrhage in type 2 diabetes mellitus. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2017; 26: 930-937.
20. Zhou S, Cai B, Zhang Y, et al. The relationship between neutrophil-to-lymphocyte ratio and aortic arch calcification in ischemic stroke patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2017; 26: 1228-1232.
21. Costa AF, Zambrano M, Del Brutto OH. The relationship between neutrophil to lymphocyte ratio and silent cerebral small vessel disease in community-dwelling older adults. The Atahualpa Project. *Geriatrics Gerontol Int* 2017, in press.
22. Saji N, Kimura K, Shimizu H, Kita Y. Association between silent brain infarct and arterial stiffness indicated by brachial-ankle pulse wave velocity. *Intern Med* 2012; 51: 1003-1008.
23. Saji N, Ogama N, Toba K, Sakurai T. White matter hyperintensities and geriatric syndrome: an important role of arterial stiffness. *Geriatr Gerontol Int* 2015; 15 (Suppl 1): 17-25.
24. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, C Katz LC, LaMantia AS, McNamara JO, Williams SM (eds). *Neuroscience*, 3rd Ed. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA. 2004.
25. Wong TY, Klein R, Sharrett AR, et al. D.J. Atherosclerosis Risk in Communities Study, Cerebral white matter lesions, retinopathy, and incident clinical stroke. *JAMA* 2002; 288: 67-74.
26. Ikram MK, de Jong FJ, Vingerling JR, et al. Retinal vessel diameter and risk of stroke; the Rotterdam Study. *Neurology* 2006; 66: 1339-1343.
27. Kwon HM, Kim BJ, Oh JY, et al. Retinopathy as an indicator of silent brain infarction in asymptomatic hypertensive subjects. *J Neurol Sci* 2007; 252: 159-162.
28. Qiu C, Cotch MF, Sigurdsson S, et al. Microvascular lesions in the brain and retina: the Age, Gene/Environment Susceptibility-Reykjavik Study. *Ann Neurol* 2009; 65: 569-576.
29. Del Brutto OH, Mera RM, Viteri EM, et al. Hypertensive retinopathy and cerebral small vessel disease in Amerindians living in rural Ecuador: the Atahualpa Project. *Int J Cardiol* 2016; 218: 65-68.
30. Heliopoulos I, Artemis D, Vadikolias K, et al. Association of ultrasonographic parameters with subclinical white-matter hyperintensities in hypertensive patients. *Cardiovasc Psychiatry Neurol* 2012; 2012: 616572.
31. Xiong YY, Mok V, Wong A, et al. Evaluation of age-related white matter changes using transcranial Doppler ultrasonography. *J Neuroimaging* 2013; 23: 53-57.

32. Kidwell CS, El-Saden S, Livshits Z, et al. Transcranial Doppler pulsatility indices as a measure of diffuse small-vessel disease. *J Neuroimaging* 2001; 11: 229-325.
33. Del Brutto OH, Mera RM, De la Luz Andrade M, et al. Disappointing reliability of pulsatility indices to identify candidates for magnetic resonance imaging screening in population-based studies assessing prevalence of small vessel disease. *J Neurosci Rural Pract* 2015; 6: 336-338.
34. Webb AJ, Simoni M, Mazzucco S, et al. Increased cerebral arterial pulsatility in patients with leukoaraiosis: arterial stiffness enhances transmission of aortic pulsatility. *Stroke* 2012; 43: 2631-2636.