

Medicent Electrón. 2017 oct.-dic.;21(4)

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE VILLA CLARA

ARTÍCULO ORIGINAL**Concentraciones de oligoelementos y reactividad vascular en mujeres en edades fértiles y posmenopáusicas****Oligoelement concentrations and vascular reactivity in childbearing and postmenopausal women****Marianela Ballesteros Hernández¹, Otmara Guirado Blanco¹, Jesús Alfonso Rodríguez¹, José Antonio Marrero Martínez², Douglas Fernández Caraballo¹, Danay Heredia Ruiz¹**

1. Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Santa Clara, Villa Clara. Cuba. Correo electrónico: marianelabh@infomed.sld.cu
2. Hospital Universitario Ginecobstétrico Mariana Grajales. Santa Clara, Villa Clara. Cuba.

RESUMEN

Introducción: algunos oligoelementos son considerados importantes en la fisiopatología de enfermedades que aparecen en la mujer posmenopáusica; varios de ellos se han relacionado con la hiperreactividad vascular a través de la disfunción endotelial.

Objetivo: comparar las concentraciones séricas de los oligoelementos (hierro, cobre y zinc), así como la respuesta presora al esfuerzo isométrico en mujeres en edades fértiles y posmenopáusicas.

Métodos: la muestra quedó conformada por 125 mujeres sanas, con edades comprendidas entre los 18 y 60 años: 101 en edades fértiles y 24 posmenopáusicas procedentes del municipio Santa Clara. A todas se les determinó la presión arterial en reposo y durante la prueba isométrica del peso sostenido. Las concentraciones séricas de los oligoelementos se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica.

Resultados: las mujeres posmenopáusicas se caracterizaron por presentar un mayor grado de reactividad vascular con presiones sistólicas, diastólicas y medias, significativamente superiores durante la prueba isométrica. Los valores de los oligoelementos obtenidos se corresponden con los informados para adultos normales. El zinc presentó diferencias significativas entre los dos grupos, con valores menores en las mujeres posmenopáusicas, mientras que el hierro presentó cifras mayores en este grupo.

DeCS: menopausia/fisiopatología, oligoelementos, estrógenos/metabolismo.

ABSTRACT

Introduction: some oligoelements are considered important in the pathophysiology of diseases that emerge in postmenopausal women; several of them have been associated with vascular hyperreactivity through endothelial dysfunction.

Objective: to compare serum concentrations of the oligoelements (iron, copper and zinc), as well as the pressure response to isometric exercise in fertile and postmenopausal women.

Methods: the sample consisted of 125 healthy women, aged between 18 and 60 years: 101 in fertile age and 24 postmenopausal women from Santa Clara municipality. Blood pressure was measured in all women at rest and during the isometric test of the sustained weight. Serum concentrations of trace elements were determined by atomic absorption spectrophotometry.

Results: postmenopausal women were characterized by a higher degree of vascular reactivity with significantly higher systolic, diastolic and mean pressures during the isometric test. The values of the oligoelements that were obtained correspond to those reported for normal adults. Zinc had significant differences between the two groups, with lower values in postmenopausal women, whereas iron presented higher figures in this group.

DeCS: menopause/physiology, trace elements, estrogens/metabolism.

INTRODUCCIÓN

Durante el período del climaterio se producen cambios hormonales de gran relevancia, uno de ellos es el descenso de los niveles de estrógenos ováricos, fundamentalmente del estradiol. Se ha demostrado que tanto las mujeres como los hombres comparten los mismos receptores hormonales estrogénicos y de testosterona; sin embargo, estos varían en su expresión.

Los receptores estrogénicos en la mujer ejercen acción protectora vascular, tanto por mecanismos genómicos como no genómicos.^{1,2} Varios estudios clínicos y experimentales sugieren que los estrógenos endógenos protegen a la mujer de la hipertensión arterial (HTA) hasta la menopausia, por diferentes mecanismos, lo que incluye: la vasodilatación mediada por el óxido nítrico y las prostaciclina, la inhibición del sistema vasoconstrictor simpático y la liberación de angiotensina.² Además, la disminución de estrógenos endógenos provoca cambios físicos y metabólicos que producen alteraciones en el peso corporal y la sensibilidad a la insulina, además del tono simpático y la función vascular; estos interactúan entre sí y aumentan el riesgo cardiovascular.²⁻⁴ Estos cambios, exacerbados por el daño oxidativo ocasionado por el aumento de las especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno, incrementan la oxidación de las lipoproteínas y la disfunción endotelial con aumento de la reactividad cardiovascular. Por tanto, las modificaciones en la estructura y función arterial pueden producirse por la falla del tono arterial causado por la disminución de los efectos de los estrógenos sobre el sistema nervioso simpático o por el deterioro de la función endotelial, en lo cual influyen otros factores, incluidos la acción directa de los propios estrógenos.²

Se han utilizado diferentes técnicas para inducir reactividad cardiovascular, y las cargas físicas han demostrado ser mucho más sensibles y específicas que todas las restantes. En nuestro laboratorio se utiliza una variante de la prueba de esfuerzo isométrico (*hand grip*) denominada prueba del peso sostenido (PPS) que posee gran valor práctico para realizar pesquisajes masivos de HTA y, además, garantiza una adecuada sensibilidad, especificidad y factibilidad para el diagnóstico de esta enfermedad en el nivel primario de atención.⁵

Se han relacionado diversos oligoelementos con la disfunción endotelial a través de diferentes mecanismos, algunos están involucrados en situaciones de daño oxidativo y son considerados en la fisiopatología de enfermedades que aparecen en la mujer posmenopáusicas; varios de ellos se han relacionado con la hiperreactividad vascular a través de la propia disfunción endotelial. El zinc es un elemento antioxidante por sí mismo; sin embargo, el hierro y el cobre contribuyen a la acción antioxidante al formar parte de las enzimas catalasa y superóxido dismutasa respectivamente, y a la vez, tienen acciones prooxidantes al promover la generación del radical hidroxilo y participar en las reacciones de tipo Fenton.⁵

Aunque se ha estudiado la reactividad vascular en diferentes grupos poblacionales, no se conoce si existen diferencias en la respuesta presora a la PPS y en las concentraciones séricas de algunos oligoelementos relacionados con esa reactividad entre mujeres en edades fértiles y mujeres posmenopáusicas sanas.

El objetivo de esta investigación es comparar las concentraciones séricas de los oligoelementos hierro, cobre y zinc, así como la respuesta presora al esfuerzo isométrico en mujeres en edades fértiles y posmenopáusicas.

MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional analítico de comparación de grupos en el área de salud del Policlínico «Ramón Pando Ferrer», que pertenece al municipio Santa Clara, en el período comprendido entre febrero de 2011 y febrero de 2013. El universo estuvo conformado por mujeres sanas con edades comprendidas entre 18 y 60 años. Se tomaron como criterios de exclusión el haber ingerido medicamentos en las últimas 72 horas y cualquier grado de hemólisis observada en las muestras de sangre.

Finalmente, la muestra quedó constituida por 125 mujeres que fueron clasificadas en dos grupos según su relación con el período de la menopausia: un grupo de 101 mujeres en edades fértiles y otro de 24 mujeres posmenopáusicas. Antes de comenzar el estudio, previa información sobre la investigación, se obtuvo el consentimiento informado de cada una de ellas.

Se realizó la PPS con las mujeres sentadas cómodamente en una silla y con el brazo derecho extendido sobre la mesa; se midió la presión arterial sistólica (PAS) y la presión arterial diastólica (PAD) en reposo, con un esfigmomanómetro aneroide adecuadamente calibrado. A continuación, se le indicó sostener una pesa de 500 g, con el brazo izquierdo extendido en ángulo recto con el tronco y a su vez paralelo al plano horizontal, y se midieron la PAS y la PAD en los últimos 15 segundos del primero y segundo minutos después de comenzada la prueba.

El método de determinación de la presión arterial fue el auscultatorio clásico. Las condiciones y técnicas empleadas siguieron los requisitos que exige el Programa Nacional de Prevención, Diagnóstico y Control de la Hipertensión Arterial.^{6,7}

Las determinaciones de las concentraciones séricas de los oligoelementos hierro, cobre y zinc se realizaron en un espectrofotómetro de absorción atómica y se consideraron normales según los rangos establecidos en la bibliografía consultada.⁸

El procesamiento estadístico se realizó mediante técnicas de análisis descriptivo de datos y se utilizó la prueba paramétrica de comparación de grupos independientes t de *Student*.

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los valores basales de la PAS y la PAD, al minuto y después de dos minutos de iniciada la PPS.

Tabla 1. Valores de la PAS y la PAD en reposo, al minuto y a los dos minutos de iniciada la prueba isométrica.

| Grupos | Presión arterial (mmHg) | | | | | |
|--------------------|-------------------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
| | Basal | | 1 min | | 2 min | |
| | PAS | PAD | PAS | PAD | PAS | PAD |
| En edades fértiles | 106,42 ± 9,31 | 69,68 ± 7,96 | 110,64 ± 9,35 | 74,20 ± 7,92 | 115,35 ± 9,60 | 77,98 ± 7,79 |
| Posmenopáusicas | 110,96 ± 10,87 | 72,63 ± 8,09 | 116,33 ± 9,06 | 78,75 ± 5,79 | 122,71 ± 8,84 | 81,67 ± 6,20 |

Los valores representados son la media ± desviación estándar.
mmHg: milímetros de mercurio.

Los valores de las presiones en reposo se encontraban dentro del rango esperado para cada grupo y se comportaron como normotensas, según la clasificación del actual Programa Nacional de HTA

y el VII reporte del *Joint National Committee*,^{6,9} sin embargo, al realizar la comparación entre los grupos se encontró que existen diferencias significativas entre ambos, para las presiones sistólicas y diastólicas al primer minuto ($p = 0,008$ y $p = 0,002$, respectivamente), y así mismo, para las presiones sistólicas y diastólicas al segundo minuto de la prueba ($p = 0,001$ y $p = 0,033$, respectivamente), con valores superiores para el grupo de las posmenopáusicas.

En la tabla 2 se muestran los valores de la presión arterial media (PAM) durante la PPS.

Tabla 2. Valores de la PAM en reposo y a los dos minutos de iniciada la prueba isométrica.

| Grupos | PAM (mmHg) | | |
|--------------------|--------------|--------------|--------------|
| | Basal | 1 min | 2 min |
| En edades fértiles | 81,93 ± 7,65 | 86,35 ± 7,76 | 90,41 ± 7,93 |
| Posmenopáusicas | 85,40 ± 8,44 | 91,28 ± 6,20 | 95,46 ± 6,18 |

Los valores representados son la media ± desviación estándar.
mmHg: milímetros de mercurio.

Como se puede constatar, las mujeres posmenopáusicas presentaron valores superiores de PAM al primer y segundo minutos, con diferencias altamente significativas entre ambos grupos al primer ($p = 0,004$) y segundo minutos de la prueba ($p = 0,004$).

En la tabla 3 se observan las concentraciones en suero de los oligoelementos hierro, cobre y zinc.

Tabla 3. Concentración sérica de los oligoelementos hierro, cobre y zinc en mujeres fértiles y posmenopáusicas.

| Grupos | Hierro ($\mu\text{mol/l}$) | Cobre ($\mu\text{mol/l}$) | Zinc ($\mu\text{mol/l}$) |
|--------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| En edades fértiles | 17,16 ± 4,28 | 19,54 ± 3,25 | 15,92 ± 2,47 |
| Posmenopáusicas | 18,78 ± 2,69 | 19,17 ± 2,99 | 14,47 ± 2,11 |

Los valores representados son la media ± desviación estándar.
 $\mu\text{mol/l}$: micromol por litro.

Como se puede apreciar, solo se encontraron diferencias altamente significativas en las concentraciones de zinc entre los dos grupos ($p = 0,009$) y cifras mayores en las concentraciones de hierro en las mujeres posmenopáusicas

DISCUSIÓN

Las mujeres posmenopáusicas se caracterizaron por presentar presiones sistólicas, diastólicas y medias significativamente superiores en la PPS, lo que demuestra que existen factores que condicionan una mayor respuesta de la vasculatura ante el ejercicio isométrico en estas mujeres, y aunque este incremento no llega a ser de una magnitud tal como para ser consideradas hipertensas, pudiera representar un riesgo de enfermedad cardiovascular.

Es conocido que el patrón de presión arterial cambia con la edad. La PAS aumenta inicialmente en la adolescencia y continúa a través de los años, mientras que la PAD aumenta al inicio y luego de los 60 años comienza a descender, lo que incrementa la presión del pulso.¹⁰ Este patrón, también cambia con el sexo. Se ha observado que la prevalencia de la HTA es menor en mujeres jóvenes que en hombres; sin embargo, a partir de la sexta década de la vida la diferencia se hace mínima y, en algunos estudios, incluso se invierte, lo que sugiere una relación entre la regulación de la PA y los cambios estrogénicos.^{11,12} Igualmente, la disfunción endotelial se presenta más precozmente en hombres que en mujeres. No obstante, al inicio de la menopausia, la mujer tiene una declinación más aguda de la función endotelial y se iguala en poco tiempo a la del hombre. También se ha demostrado que las mujeres posmenopáusicas tienen mayor rigidez arterial, por lo que aumenta la presión sistólica y por consiguiente la presión de pulso.¹

Las razones exactas de este fenómeno no han sido dilucidadas; una hipótesis señala los efectos negativos de la caída súbita de las concentraciones de los estrógenos sobre la presión arterial. Se han descrito varios mecanismos que explican la acción de los estrógenos como vasodilatadores; estos incluyen los siguientes: potencian la acción de las prostaciclina, incrementan la producción de óxido nítrico e inhiben la enzima convertasa de la angiotensina en las células mioepiteliales, por lo que disminuyen la reactividad vascular y mejoran el perfil hemodinámico.¹³

Los estrógenos tienen un papel en la regulación del tono vascular y en el incremento de la sensibilidad a la sal, así como en la actividad antiinflamatoria y la regulación del crecimiento y migración celular vascular, todo lo cual converge en una acción protectora de los vasos contra la degeneración aterosclerosa. Asimismo, la acción prototipo extranuclear descrita de los estrógenos en el sistema cardiovascular es la inducción de vasodilatación rápida.^{2,13}

Entre los mecanismos descritos para explicar la respuesta exagerada de la presión arterial al ejercicio físico, se considera que existe un deterioro en la función vasodilatadora endotelial, en el cual el daño oxidativo desempeña un papel fundamental.¹⁴ Desde el punto de vista fisiológico, los estrógenos actúan como protectores del endotelio al modular los procesos oxidativos y antioxidativos, y logran una disminución en la producción de radicales libres y un aumento en la expresión de enzimas antioxidantes, a la vez que participan como una molécula antioxidante por sí misma.¹

Sarriol y colaboradores³ evaluaron la función endotelial mediante la medición del flujo sanguíneo en la arteria braquial y encontraron que el 38,3 % de las mujeres estudiadas de edad mediana, supuestamente sanas, tuvieron una disfunción endotelial, lo que se puede considerar como un suceso frecuente y sugieren que la transición a la menopausia constituye una etapa de grandes cambios vasculares.

Diversas investigaciones han estudiado los factores de riesgo cardiovascular presentes en la mujer posmenopáusica y se han relacionado con el estado de inflamación crónica, el estrés oxidativo y el síndrome metabólico, explicado a través de los efectos fisiológicos que producen la disminución estrogénica.^{15,16}

No obstante, es importante señalar que sigue siendo controversial el uso de la terapia de remplazo hormonal para el manejo del riesgo cardiovascular, a pesar de estar bien documentadas las acciones protectoras de los estrógenos endógenos.

Existen evidencias científicas que justifican el papel de los oligoelementos en la disfunción endotelial. Varios estudios han asociado los niveles bajos de zinc con la disfunción endotelial mediante diferentes mecanismos, como la alteración en la actividad protectora del óxido nítrico, los niveles inadecuados de enzimas antioxidantes o vinculado al proceso aterosclerótico y a la obesidad.^{17,18}

Otros autores han encontrado valores más bajos de zinc en mujeres con preclampsia y eclampsia^{17,18} y resultados similares se observaron en un estudio anterior realizado en nuestro laboratorio en individuos normotensos, hiperreactivos e hipertensos, en el cual se obtuvieron incrementos significativos en los valores de hierro en individuos con hiperreactividad vascular y una tendencia del zinc a disminuir.⁵

En el estudio realizado por Jasinska y colaboradores,¹⁹ se encontraron niveles séricos de zinc disminuidos en las mujeres posmenopáusicas, fundamentalmente en las que consumían alcohol y cigarrillos; mientras que la terapia de remplazo hormonal tuvo un efecto protector sobre los niveles de zinc.

Los niveles elevados de hierro se han relacionado con diversas enfermedades a través del estrés oxidativo, ya sea por la generación de hidroxilo o por causar peroxidación lipídica. Chukwukelu y colaboradores encontraron niveles séricos de ferritina incrementados en las mujeres posmenopáusicas con síndrome metabólico y se relacionaron con el índice cintura-cadera y los valores de glucosa posprandial.²⁰

También el hierro sérico se ha asociado a la disfunción endotelial mediante la inducción de respuestas oxidativas por los macrófagos en el proceso de fagocitosis de esta nanopartícula.²¹ Otros estudios han demostrado que el hierro induce apoptosis de las células endoteliales posterior al estrés oxidativo,²² reduce el óxido nítrico y favorece la aterosclerosis.²³ Se han encontrado bajos niveles de zinc y altos niveles de hierro sérico en mujeres con preclampsia.²⁴

CONCLUSIONES

Las mujeres posmenopáusicas presentaron mayor reactividad al ejercicio isométrico que las mujeres en edades fértiles, así como un incremento de los oligoelementos prooxidantes y disminución de los antioxidantes, lo que refleja los cambios vasculares involucrados en los mecanismos de la hiperreactividad cardiovascular y la hipertensión arterial que ocurre en la posmenopausia, debido a la pérdida del efecto protector de los estrógenos de origen ovárico.

Agradecimientos:

Los autores agradecen al proyecto de colaboración internacional PROCDEC con financiamiento del Ayuntamiento de Oviedo, España, y al Proyecto Multipropósito de las Ciencias Básicas de Cuba, con equipamiento y reactivos donados por *Atlantic Charitable Trust*.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses en el presente artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Melgarejo ER. Endotelio y mujer: similaridad y diferencias con el hombre. *An Fac Med*. 2014;75(4):339-43.
2. Ballesteros Hernández M, Guirado Blanco O. Los estrógenos como protectores cardiovasculares. *Medicent Electrón* [internet]. 2012 jul.-sep. [citado 15 ene. 2016];16(3):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.medicentro.sld.cu/index.php/medicentro/article/view/1273/1197>
3. Sarriol Corrales Y, Navarro Despaigne D, Alvarez Plasencia R, De Armas Águila Y, Domínguez Alonso E, Dopazo Alonso M. Etapas del climaterio y función endotelial en mujeres de edad mediana. *Rev Cubana Endocrinol*. 2015;26(2):138-46.
4. Baffet H, Robin G, Letombe B. Menopausia. *EMC - Ginecol-Obstet* [internet]. 2015 sep. [citado 19 mar. 2016];51(3):[aprox. 18 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1283081X15728328>
5. Ballesteros Hernández M, Alfonso Rodríguez J, Guirado Blanco O, González Paz H, Pérez de Armas A, Mollineda Trujillo A. Concentraciones séricas de los oligoelementos hierro, cobre y zinc en individuos normotensos, hiperreactivos e hipertensos. *Medicent Electrón* [internet]. 2011 [citado 19 mar. 2016];15(2):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://www.medicentro.sld.cu/index.php/medicentro/article/view/53/63>
6. Comisión Nacional Técnica Asesora del Programa de Hipertensión Arterial del Ministerio de Salud Pública de Cuba. Hipertensión arterial. Guía para la prevención, diagnóstico y tratamiento. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2008.
7. Alfonzo Guerra JP. Medición de la presión arterial. En: Hipertensión arterial en la atención primaria de salud. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2010. p. 37-57.
8. Ganong WF. Escala de valores normales en sangre total, plasma y suero. En: Fisiología médica. 20^a ed. México: Editorial El Manual Moderno; 2006.
9. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *JAMA*. 2003;289(19):2560-71.
10. Zeglin MA, Pacos J, Bisognano JD. Hypertension in the very elderly: brief review of management. *Cardiol J*. 2009;16(4):379-85.
11. Maric-Bilkan C, Gilbert EL, Ryan MJ. Impact of ovarian function on cardiovascular health in women: focus on hypertension. *International J Women's Health*. 2014;6:131-8.
12. Del Suelo M. Menopausia: ¿sólo una etapa más?,... ¿un factor de riesgo per se? *Rev Fed Arg Cardiol*. 2014;43(2):57-9.
13. Navarro Despaigne DA. Menopausia e hipertensión arterial: de la biología a la práctica clínica. *Rev Cubana Med*. 2015;54(3):239-51.

14. Muller MD, Drew RC, Cui J, Blaha CA, Mast JL, Sinoway LI. Effect of oxidative stress on sympathetic and renal vascular responses to ischemic exercise. *Physiol Rep.* 2013;1(3):1-13.
15. Miguel-Soca PE, Rivas-Estévez M, Sarmiento-Teruel Y, Mariño-Soler AL, Marrero-Hidalgo M, Mosqueda-Batista L. Factores de riesgo de enfermedad cardiovascular en mujeres con menopausia. *Rev Fed Arg Cardiol.* 2014;43(2): 90-6.
16. Rojas JS, Lopera V. JS, Cardona VJ, Vargas GN, Hormaza MP. Síndrome metabólico en la menopausia, conceptos clave. *Rev Chil Obstet Ginecol.* 2014;79(2):121-8.
17. Negi R, Pande D, Karki K, Kumar A, Khanna RS, Khanna HD. Trace elements and antioxidant enzymes associated with oxidative stress in the pre-eclamptic/eclamptic mothers during fetal circulation. *Clin Nutr.* 2012;31(6):946-50.
18. Araújo Brito J, do Nascimento Marreiro D, Machado Moita Neto J, Costa e Silva DM, Gonçalves de Sousa Almondes K, de Deus Valadares J, et al. Enzyme activity of superoxide dismutase and zincemia in women with preeclampsia. *Nutr Hosp.* 2013;28(2):486-90.
19. Jasinska M, Mroczeck B, Kotwas A, Baczkowski T, Wieder-Huszla S, Szkup-Jablónska M, et al. Effects of substances on serum zinc levels in postmenopausal women. *Ginekol Pol.* 2014;85:838-42.
20. Chukwukelu EE, Ezeanyika L.US, Onyia-Pat JE, Okafor EN. Metabolic syndrome and serum ferritin level in postmenopausal women in urban cities in Enugu State, Nigeria. *Int J Sci Rep.* 2016 Sep.;2(9):215-20.
21. Zhu MT, Wang B, Wang Y, Yuan L, Wang HJ, Wang M, et al. Endothelial dysfunction and inflammation induced by iron oxide nanoparticle exposure: Risk factors for early atherosclerosis. *Toxicol Lett.* 2011;203(2):162-71.
22. Chan S, Chen MP, Cao JM, Chan GC, Cheung YF. Carvedilol Protects against Iron-Induced Microparticle Generation and Apoptosis of Endothelial Cells. *Acta Haematol.* 2014;132(2):200-10.
23. Kuo KL, Hung SC, Lee TS, Tarng DC. Iron Sucrose Accelerates Early Atherogenesis by Increasing Superoxide Production and Upregulating Adhesion Molecules in CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(11):2596-606.
24. Fenzl V, Flegar-Meštrić Z, Perkov S, Andrišić L, Tatzber F, Žarković N, et al. Trace elements and oxidative stress in hypertensive disorders of pregnancy. *Arch Gynecol Obstet.* 2013;287(1):19-24.

Recibido: 20 de marzo de 2017

Aprobado: 15 de julio de 2017

Marianela Ballesteros Hernández. Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Santa Clara, Villa Clara. Cuba. Correo electrónico: marianelabh@infomed.sld.cu