

## ARTÍCULO ORIGINAL

# DENSIDAD DE QUERATOCITOS EN CÓRNEAS DE PACIENTES MIOPES

## DENSITY OF KERATOCYTES IN CORNEAS OF MYOPIC PATIENTS

Eduardo Rojas Alvarez,<sup>1</sup> Janet González Sotero,<sup>1</sup> Isabel Lantigua Maldonado<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Especialista de I grado en Oftalmología y de I grado en Medicina General Integral. Profesor Asistente. Investigador Agregado. Hospital “Abel Santamaría Cuadrado”. Pinar del Río, Cuba.

<sup>2</sup>Especialista de I grado en Medicina General Integral. Profesor Instructor. Hospital “Abel Santamaría Cuadrado”. Pinar del Río, Cuba.

### RESUMEN

**Introducción:** el análisis de las variables histológicas en pacientes miopes se ha convertido en los últimos años en elemento primordial para asegurar la óptima calidad de indicación y seguimiento en pacientes con defectos refractivos sometidos a tratamiento quirúrgico con láser de excímeros.

**Objetivo:** determinar la densidad de queratocitos en pacientes miopes.

**Método:** se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal con una muestra de 30 ojos (15 pacientes) miopes que cumplieron con los criterios establecidos en las Normas y Procedimientos de Oftalmología para el tratamiento con láser de excímeros, de enero a marzo de 2011 en el Centro Oftalmológico de Pinar del Río. Se utilizó el microscopio confocal ConfoScan 4 de NIDEK para la obtención y estudio de las imágenes in vivo de tejido corneal. Los pacientes otorgaron su consentimiento para la participación en el estudio.

**Resultados:** se obtuvo densidad de queratocitos de 21,33 cel/mm<sup>3</sup> en estroma anterior; 20,12 cel/mm<sup>3</sup> en estroma medio y 18,46 cel/mm<sup>3</sup> en estroma posterior. No se obtuvieron diferencias significativas según la magnitud de la ametropía.

**Conclusiones:** la densidad de queratocitos fue mayor en estroma anterior y menor en estroma posterior. La densidad de queratocitos se mantuvo en valores muy similares independientemente de la magnitud de la ametropía.

**Palabras clave:** miopía, densidad de queratocitos, microscopía confocal.

### ABSTRACT

**Introduction:** the analysis of histological variables in myopic patients has become in recent years into an essential element to ensure the optimal indication quality and monitoring in patients with refractive defects undergoing surgical treatment with excimer laser.

**Objective:** to determine the density of keratocytes in myopic patients.

**Methods:** it was conducted an observational, descriptive and transversal study with a sample of 30 myopic eyes (15 patients) that met the criteria established in the Regulations and Procedures of Ophthalmology for excimer laser treatment from January to March 2011 at Pinar del Rio Ophthalmological Center. Nidek ConfoScan 4 confocal microscope was used to obtain and study the in vivo imaging of corneal tissue. Patients gave their consent for the participation in the study.

**Results:** it was obtained 21.33 cel/mm<sup>3</sup> keratocyte density in the anterior stroma; 20.12 cel/mm<sup>3</sup> in mid-stroma and 18.46 cel/mm<sup>3</sup> in posterior stroma. There were no significant differences according to the magnitude of ametropia.

Conclusions: the density of keratocytes was higher in anterior stroma and lower in posterior stroma. Keratocyte density remained very similar values irrespectively of the magnitude of ametropia.

**Key words:** myopia, keratocyte density, confocal microscopy.

## INTRODUCCIÓN

La ametropía, es el estado de la refracción ocular que es causado por una o ambas de las siguientes condiciones: el sistema de lentes compuesto por la córnea y el cristalino no posee la potencia adecuada; la longitud antero posterior del globo ocular es excesivamente grande o corta, proyectándose la imagen fuera o desenfocada sobre la retina, lo que se manifiesta con dificultad en la visión lejana y/o cercana.<sup>1-3</sup>

Específicamente la miopía es un defecto refractivo en el cual la imagen se proyecta delante de la retina por aumento de la curvatura de la córnea, aumento del índice de refracción de los medios transparentes y/o mayor longitud axial del globo ocular.

Existen reportes de que un 30 % de la población occidental padece miopía, aunque en países asiáticos los reportes son mayores, alcanzándose hasta un 50 %, en Estados Unidos el 25 % de la población entre 15 y 54 años, en Segovia la prevalencia de miopía alcanza un 23 % y en otras ciudades del norte de Europa llega al 40 %, si bien todos los estudios apuntan a la posibilidad de que este defecto aumente en los años venideros. En Cuba, los miopes simples y astigmáticos miópicos, simples y compuestos, representan el 19.79 %.

El mayor grupo está representado por los hipermetrópnes con un 72.91 %, incluyendo los astigmatismos hipermetrómicos simples y compuestos. Los astigmatismo mixtos solo representan el 4.42 %. En Pinar del Río, provincia más occidental de Cuba, el 25 % de la población tiene algún tipo de defecto refractivo.<sup>1-5</sup>

La cirugía refractiva corneal con láser de excímeros posibilita en estos tiempos la corrección quirúrgica de la miopía de forma segura y efectiva. Es un procedimiento que actúa directamente sobre el tejido corneal modificando la curvatura y grosor corneal en vistas a lograr altos estándares de visión en nuestros pacientes.

El estudio microscópico de la córnea posibilita conocer previo al tratamiento quirúrgico, entre otros aspectos, las características del tejido en cuanto a densidad de líneas celulares, grosor de subcapas corneales y morfología de los nervios corneales. El análisis de estas variables se ha convertido en los últimos años en elemento primordial para asegurar la óptima calidad de indicación y seguimiento en pacientes con defectos refractivos sometidos a tratamiento quirúrgico con láser de excímeros.

Por los aspectos anteriormente señalados, se realizó la actual investigación para determinar la densidad de queratocitos en pacientes miopes tributarios a este tipo de cirugía y su relación con la magnitud de la ametropía a tratar.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal con una muestra de 30 ojos (15 pacientes) miopes que cumplieron con los criterios establecidos en las Normas y Procedimientos de Oftalmología para el tratamiento con láser de excímeros, de enero a marzo de 2011 en el Centro Oftalmológico de Pinar del Río.

Criterios de inclusión:

- Edad mayor de 20 años con estabilidad refractiva de dos años.
- Defecto refractivo: miopía hasta ocho dioptrías, astigmatismo hasta cuatro dioptrías, astigmatismo miópico compuesto con menos de ocho dioptrías (en suma algebraica de esfera y cilindro).
- Agudeza visual sin corrección de 0.5 o menos.
- Agudeza visual con corrección en el ojo de menor visión superior a 0.3.
- Lecho corneal residual programado mayor de 300 micras en LASIK y mayor de 400 micras en LASEK.
- Queratometría media inicial y programada final entre 36 y 48 dioptrías.
- Paquimetría preoperatoria superior a 500 micras.

Criterios de exclusión:

Generales:

- Pacientes que no cooperaron en la realización de la microscopía confocal.
- Pacientes que no asistieron a alguna de las consultas programadas en el estudio.
- Pacientes que no otorgaron su consentimiento para participar en el estudio.
- Enfermedades sistémicas como diabetes mellitus, epilepsia, enfermedades del colágeno, inmunodeprimidos, trastornos psiquiátricos, Síndrome Marfán, Ehlers Danlos, Psoriasis, alergias.
- Infecciones sistémicas.
- Embarazo y puerperio (hasta 6 meses).

Oculares:

- Ojo único.
- Alteración de los anexos oculares y de la lágrima (infección, inflamación, ojo seco).
- Configuraciones orbitarias anormales (órbitas pequeñas o profundas, hendidura palpebral pequeña, enoftalmos, arco superciliar prominente).
- Enfermedad corneal previa (queratitis por herpes simple, zóster, ectasia corneal confirmada o en sospecha, erosiones corneales recidivantes, leucomas, pannus, distrofias, degeneraciones).

- Estrabismo u operación previa del mismo.
- Cirugía refractiva corneal anterior.
- Glaucoma o hipertensión ocular.
- Esclerosis del cristalino o catarata.
- Uveítis.
- Enfermedades de la retina (desgarros, historia de desprendimiento de retina, vitrectomía, degeneración macular, retinosis pigmentaria).

Se utilizó el microscopio confocal ConfoScan 4 de NIDEK para la obtención y estudio de las imágenes in vivo de tejido corneal (anexo 1). Se acopló el anillo Z para la fijación del globo ocular con el lente 40 X. Se programó en modo auto, con fijación central, velocidad de adquisición de la imagen a 25 fps, magnificación de 500 X, resolución lateral de 0.6  $\mu\text{m}/\text{pix}$ , con 350 imágenes por scan, distancia de trabajo de 1,98 mm.

Se realizó con presión de anillo Z 32 %, con distancia entre imágenes adyacentes de 7  $\mu\text{m}$ . Se utilizó la microscopía confocal cuantitativa de enfoque completo (curva CMTF) seleccionando el scan y las imágenes de mayor estabilidad en cuanto a densidad, posición y presión aplicada por el anillo Z (anexo 2).

Los pacientes otorgaron su consentimiento para la participación en el estudio. Los datos se obtuvieron a partir de las historias clínicas y fueron presentados en tablas. El análisis fue realizado a partir de técnicas de estadística descriptiva con el Programa SPSS versión 11.5

Se analizaron las siguientes variables:

#### 1- Densidad de queratocitos. (Cuantitativa continua)

Descripción: Cantidad de queratocitos por mm<sup>3</sup>.

Se definió como imagen de queratocito a objetos brillantes alargados (núcleo de queratocito activado) que aparecen en imágenes de estroma corneal sobre un fondo negro (anexo 3).

En un área rectangular (A) predefinida fue marcado cada objeto brillante alargado (asumido como queratocito) para prevenir doble conteo. Los objetos brillantes interceptados por los límites del área fueron contados. Se definió N como el número de objetos contados en un área (A). La densidad fue expresada en células por milímetros cúbicos, obteniendo el cociente entre N y A por el software NAVIS y multiplicando este valor por el factor de corrección 25.

#### 2- Magnitud de la miopía: cuantitativa continua.

Descripción: Definida como cantidad de dioptrías. Se dividió en 2 grupos: Menor de 3 dioptrías, 3 dioptrías y más.

#### 3- Subcapa estromal: cualitativa nominal.

Definida como un corte estromal a diferentes niveles, representada por imágenes de estroma corneal.

Imagen de estroma corneal: Definida por la presencia de cuerpos ovales brillantes (queratocitos) que contrastan sobre el fondo oscuro.

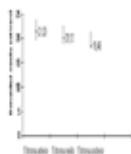
- Estroma anterior: Representado por la primera imagen de estroma corneal observada.
- Estroma medio: Se contaron la cantidad de imágenes de estroma corneal en el scan seleccionado. Se obtuvo la imagen mediana para representar el estroma medio.

- Estroma posterior: Representado por la última imagen de estroma corneal observada.

## RESULTADOS

El gráfico 1 muestra la densidad de queratocitos por subcapas estromales donde se observa mayor densidad en el estroma anterior, valor que disminuye hasta capas más profundas del estroma.

**Gráfico 1.** Densidad de queratocitos por subcapa estromal



La tabla 1 muestra que no hubo diferencias significativas en la densidad de queratocitos entre ambos grupos, independientemente a la magnitud de la ametropía.

**Tabla 1.** Densidad de queratocitos (cel/mm<sup>3</sup>) según subcapa estromal por magnitud de la miopía

	Menor de 3 dioptrías	3 dioptrías o más	p
Estroma anterior	21,683	21,562	p>0,05
Estroma anterior	20,231	20,163	p>0,05
Estroma posterior	18,564	18,769	p>0,05

## DISCUSIÓN

El estroma es la capa más gruesa de la córnea, representa el 90 % del tejido corneal. Es un tejido conectivo de aspecto ordenado, formado por 60–70 láminas de fibras colágenas paralelas, densamente empaquetadas, llamadas láminas corneales. Su escasez de células hace que esta capa sea traslúcida y pueda trasmisir la luz. En cada capa de láminas, la dirección de los haces cambia, y en las capas sucesivas se cruzan en ángulos variados, las láminas intercambian fibras constantemente, manteniéndose fuertemente unidas, con lo que se logra la máxima resistencia mecánica en este tejido.<sup>1-3,5-7</sup>

Las fibras colágenas constituyentes de esta capa miden unos 23 nm de diámetro, por lo que son gruesas, entre ellas hay sustancia fundamental metacromática rica en condroitín sulfato y queratán

sulfato. Alojados en estrechas fisuras que quedan entre los haces de fibras colágenas, se sitúan las células del estroma, que son fibroblastos fusiformes inactivos, llamados queratocitos, además siempre aparecen linfocitos que se localizan en esta zona, procedentes de la migración de los vasos sanguíneos del limbo, ya que la córnea no posee vasos sanguíneos propios. En caso de inflamación corneal, hay migración de gran cantidad de neutrófilos y linfocitos desde los vasos del limbo hacia las zonas donde se localizan los queratocitos.<sup>3-5,7-10</sup>

Estudios por microscopía electrónica revelan que el estroma corneal saludable tiene 3 dimensiones estructurales consistentes en queratocitos situados a través de las lamelas de colágeno. El queratocito es un tipo especial de fibroblasto, con cuerpo celular estrellado, fusiforme al corte, núcleo grande y citoplasma relativamente escaso con retículo endoplásmico rugoso, ribosomas libres y aparato de Golgi. Están dispersos en el estroma, en espacios interlamelares y emiten finos procesos que les permiten comunicarse, se han hallado complejos de unión en sus extremos.

Aparecen interconectados por procesos celulares divididos por “gap junctions”, aparatos de adhesión celular especializados que solo permiten el paso de moléculas muy pequeñas al penetrar entre una célula y la contigua, se encuentran sincronizados entre sí y sus funciones celulares son responsables de la homeostasis incluyendo el equilibrio de la matriz extracelular y el mantenimiento del balance entre la síntesis y degradación de colágeno.

En respuesta a las agresiones los queratocitos adoptan forma de fibroblastos, migran a las márgenes de la herida y segregan colágeno y glicoproteínas, aunque sin el orden regular original.<sup>2,5,7-11</sup>

Los queratocitos responden a señales de las células epiteliales, en la enfermedad los queratocitos se activan respondiendo a citoquinas proinflamatorias. En el caso de infecciones estas células responden a microorganismos derivados de factores y citoquinas proinflamatorias como IL-1 y TNF- $\alpha$ , en reacciones alérgicas los queratocitos responden a IL-4 y IL-13.<sup>8-11</sup>

La densidad de queratocitos en córneas normales es mayor en el estroma anterior y es relativamente uniforme en el estroma medio y posterior, aunque algunos investigadores han señalado que aumentan en el estroma posterior. La densidad de queratocitos disminuye lentamente con la edad. Investigadores han estudiado los cambios en densidad de queratocitos en variedad de condiciones, incluyendo usuarios de lentes de contacto, queratocono, posterior a tratamiento con excímero láser y en el trasplante de córnea.<sup>10-14</sup>

Estudios de la córnea humana después de PRK y LASIK por métodos histológicos demuestran un periodo activo de actividad queratocitaria hasta 6 meses después de la cirugía, seguido de un periodo de remodelación corneal asociado a queratocitos quiescentes. Müller y col han documentado la inervación de queratocitos por los nervios estromales y que la población normal de queratocitos depende de citoquinas y factores de crecimiento que posibilitan una densidad normal de los nervios corneales.<sup>9,12,15-16</sup>

La densidad de queratocitos disminuida ha sido medida en pacientes después de tratamiento con láser de excímeros y con queratocono que usan lentes de contacto. Las córneas de trasplante, por ejemplo, tienen déficit de queratocitos y de nervios estromales, coincidente con esta hipótesis el plexo nervioso subbasal se reduce 24 % 5 años después de LASIK.

Finalmente, los altos niveles de ascorbato en la córnea pueden ser afectados por PRK y LASIK. Los niveles de ácido ascórbico del epitelio corneal absorben la radiación ultravioleta y protegen las capas más profundas de la córnea y los queratocitos estromales del daño de la radiación.<sup>11-13,15-17</sup>

La alteración de los niveles de ascorbato puede acelerar la muerte queratocitaria, no está claro el rol de la reducción de queratocitos en la salud corneal. Una alta densidad de queratocitos en el estroma

anterior puede influir en la protección frente a la infección del epitelio corneal y minimizar extensión posterior de la infección.<sup>13-16</sup>

La relación de la densidad queratocitaria con la magnitud de la ametropía a tratar no ha sido estudiada, en nuestro caso no existió relación entre ambas variables. El número mínimo necesario de queratocitos para mantener la salud corneal es desconocido, particularmente en el estroma anterior donde la densidad es mayor. Conocer la densidad de queratocitos es importante para entender cómo es el comportamiento de estas células, la importancia de su recuperación después de intervenciones quirúrgicas y cómo mantienen la transparencia del estroma corneal.<sup>7,9,12-14</sup>

En la precisión de la medición de densidad celular influyen parámetros ópticos del instrumento para grabar las imágenes del estromal corneal, como los métodos usados para identificar y contar células en estas imágenes. La densidad celular determinada en diferentes estudios con diferentes instrumentos puede ser comparada solamente si los instrumentos comparados entre sí con calibrados, esto explica de algún modo las diferencias entre varios estudios. Previas evaluaciones estiman en córneas normales una variabilidad aproximada de 7,8 % interobservadores.<sup>7-9,13,17</sup>

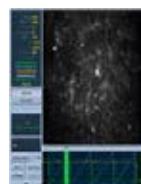
Además, el núcleo del queratocito no puede ser distinguido de otros objetos con brillo y contraste similar, además el queratocito no puede ser distinguido de otro tipo de célula. El programa identifica objetos brillantes y selecciona los que represente núcleos celulares, los criterios de selección del programa se basan en el estudio de córneas normales.<sup>4,7,11,15</sup>

Se puede concluir que la densidad de queratocitos fue mayor en estroma anterior y menor en estroma posterior y la densidad de queratocitos se mantuvo en valores muy similares independientemente de la magnitud de la ametropía.

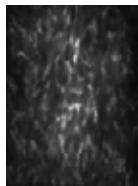
#### Anexo 1: Microscópio confocal ConfoScan 4 de NIDEK



Anexo 2: Curva CMTF, obsérvese en la parte inferior la estabilidad de la líneas amarilla y verde en el scan seleccionado, que representa estabilidad en cuanto a densidad, posición y presión aplicada por el anillo Z.



Anexo 3: Imagen de estroma corneal anterior, obsérvese los cuerpos ovales (asumidos como queratocitos) que sobresalen en el fondo más oscuro.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Niederer RL, McGhee CN. Clinical in vivo confocal microscopy of the human cornea in health and disease. *Prog Retin Eye Res* [Internet]. 2010 [cited 2011 Jan 16];29(1). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19944182>
2. Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee CN. Corneal innervation and cellular changes following corneal transplantation: an in vivo confocal microscopy study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2007 Feb [cited 2011 Jan 16];48(2). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17251458>
3. Zhivov A, Stachs O, Kraak R, Stave J, Guthoff RF. In vivo confocal microscopy of the ocular surface. *Ocul Surf* [Internet]. 2006 Apr [cited 2011 Jan 16];4(2). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16681079>
4. Patel DV, McGhee CN. Contemporary in vivo confocal microscopy of the living human cornea using white light and laser scanning techniques: a major review. *Clin Experiment Ophthalmol* [Internet]. 2007 Jan-Feb [cited 2011 Jan 16];35(1). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17300580>
5. Stachs O, Zhivov A, Kraak R, Stave J, Guthoff R. In vivo three-dimensional confocal laser scanning microscopy of the epithelial nerve structure in the human cornea. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* [Internet]. 2007 Apr [cited 2011 Jan 16];245(4). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16941142>
6. Guthoff RF, Baudouin C, Stave J. Atlas of confocal laser scanning in vivo microscopy in ophthalmology [Internet]. Berlin: Heidelberg/Springer; 2006 [cited 2011 Jan 10]. Available from: <http://books.google.com/cu/books?id=AL2FV5UeNdAC&pg=PA194&lpg=PA194&dq=Atlas+of+confocal+laser+scanning+in+vivo+microscopy+in+ophthalmology.+Berlin:+Heidelberg&source=bl&ots=PsjHNwJA6k&sig=hM1pVrqlCr56d-iuaxHEFBMUYM&hl=es&sa=X&ei=CnzdUa7wGrPA4AOa34DoAQ&ved=0CDYQ6AEwAO>
7. Wang Y, Le Q, Zhao F, Hong J, Xu J, Zheng T, Sun X. Application of in vivo laser scanning confocal microscopy for evaluation of ocular surface diseases: lessons learned from pterygium, meibomian gland disease, and chemical burns. *Cornea* [Internet]. 2011 Oct [cited 2012 Jan 20];30(1). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21912225>
8. Szaflik JP. Comparison of in vivo confocal microscopy of human cornea by white light scanning slit and laser scanning systems. *Cornea* [Internet]. 2007 May [cited 2011 Jan 10];26(4). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17457193>
9. Stachs O, Knappe S, Zhivov A, Kraak R, Stave J, Guthoff RF. Three-dimensional confocal laser scanning microscopy of the corneal nerve structure. *Klin Monatsbl Augenheilkd* [Internet]. 2006 Jul [cited 2011 Jan 20];223(7). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16855941>
10. Chiou AG, Kaufman SC, Kaufman HE, Beuerman RW. Clinical corneal confocal microscopy. *Surv Ophthalmol* [Internet]. 2006 Sep-Oct [cited 2011 Jan 10];51(5). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16950248>
11. Dhaliwal JS, Kaufman SC, Chiou AG. Current applications of clinical confocal microscopy. *Curr Opin Ophthalmol* [Internet]. 2007 Jul [cited 2011 Jan 10];18(4). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17568206>
12. Kaufman SC, Kaufman HE. How has confocal microscopy helped us in refractive surgery? *Curr Opin Ophthalmol* [Internet]. 2006 Aug [cited 2011 Jan 10];17(4). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16900032>

13. Patel SV, Erie JC, McLaren JW, Bourne WM. Keratocyte density and recovery of subbasal nerves after penetrating keratoplasty and in late endothelial failure. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 2007 Dec [cited 2011 Jan 10];125(12). Available from:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18071124>
14. Nubile M, Dua HS, Lanzini TE, Carpineto P, Ciancaglini M, Toto L [et al] Amniotic membrane transplantation for the management of corneal epithelial defects: an in vivo confocal microscopic study. *Br J Ophthalmol* [Internet]. 2008 Jan [cited 2011 Jan 10];92(1). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17584997>
15. Patel D, McGhee CN. In vivo confocal microscopy of human corneal nerves in health, in ocular and systemic disease, and following corneal surgery: a review. *Br J Ophthalmol* [Internet]. 2009 Jul [cited 2011 Jan 20];93(7). Available from:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19019923>
16. Patel DV, Sherwin T, McGhee CN. Laser scanning in vivo confocal microscopy of the normal human corneoscleral limbus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2006 Jul [cited 2011 Jan 20];47(7). Available from:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16799020>
17. Zheng T, Xu J. Age-related changes of human limbus on in vivo confocal microscopy. *Cornea* [Internet]. 2008 Aug [cited 2011 Jan 20];27(7). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18650663>

*Eduardo Rojas Alvarez.* Especialista I grado Oftalmología y de I grado en Medicina General Integral. Profesor Asistente. Investigador Agregado. Hospital “Abel Santamaría Cuadrado”. Pinar del Río, Cuba. E-mail: [dr\\_erojas@princesa.pri.sld.cu](mailto:dr_erojas@princesa.pri.sld.cu)