

Caracterización clínica, genética y electrofisiológica de la distrofia muscular de Duchenne/Becker en Holguín: 2017–2019

Clinical, genetic and electrophysiological characterization of Duchenne/Becker muscular dystrophy in Holguín: 2017 – 2019

Jorge Michel Rodríguez Pupo ^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-9385-9150>

Lisset Sánchez Leyva ¹<https://orcid.org/0000-0001-5449-784X>

Dayana Ochoa Silva ²<https://orcid.org/0000-0002-7135-8240>

Yesenia Rojas Rodríguez ³<https://orcid.org/0000-0001-8506-4406>

Yudy Cruz Abreu ³ <https://orcid.org/0000-0001-8804-3651>

¹Hospital Clínico Quirúrgico Lucía Íñiguez Landín. Holguín, Cuba.

²Policlínico Victoria Cuba-Angola. Boyeros. La Habana, Cuba.

³Universidad de Ciencias Médicas de Holguín, Cuba.

*Autor para la correspondencia: Correo electrónico: jmichelrodriguez81@gmail.com

RESUMEN

Introducción: La distrofia muscular de Duchenne y Becker es un grupo de distrofias musculares progresivas, genéticas y poco frecuentes. Estas enfermedades representan un espectro de gravedad que van desde la distrofia muscular de Duchenne en el extremo más grave, hasta la distrofia muscular de Becker en el extremo más leve.

Objetivo: Caracterizar los principales aspectos clínicos, genéticos y electrofisiológicos de la DMD/B.

Método: Estudio observacional descriptivo de serie de casos, en 12 pacientes con este diagnóstico atendidos en la consulta de Neurogenética del Centro Provincial de Genética en la provincia Holguín, Cuba, durante el período comprendido entre septiembre de 2017 a septiembre de 2019.

Resultados: El 41,7% de estos pacientes procedieron del municipio Holguín. Al momento del diagnóstico el 83,3% presentó el signo de Gowers. En el 25% de los casos se encontraron otros familiares con la enfermedad. El 100% mostró cifras séricas elevadas de creatinafosfoquinasa y aspartato aminotransferasa, y en igual porcentaje, se identificó un patrón miopático en el estudio electromiográfico. En el 33,3% se detectaron deleciones en los exones 8, 12, 13 y 50 del gen DMD.

Conclusiones: La mayoría de los pacientes procedió del municipio cabecera Holguín con manifestaciones clínicas motoras. La cuarta parte mostró antecedentes familiares de la enfermedad. La mayoría de los estudios enzimáticos y electromiográficos estaban alterados. Solo en un tercio de los casos se pudo detectar deleción en el gen estudiado. El conocimiento de las características específicas de la enfermedad en la provincia tiene importancia vital para el diseño de estrategias preventivas.

Palabras clave: Distrofia muscular de Duchenne, Becker, distrofinopatías, distrofina.

ABSTRACT

Introduction: Duchenne and Becker muscular dystrophy is a group of rare, genetic and progressive muscular dystrophies. These diseases represent a spectrum of severity, ranging from Duchenne muscular dystrophy at the severe end to Becker muscular dystrophy at the mild end.

Objective: To characterize the main clinical, genetic and electrophysiological aspects of D/BMD.

Methods: A descriptive observational study of a series of cases in 12 patients with this diagnosis, who went to the Neurogenetic consultation of the Provincial Genetic Center in Holguín province, Cuba, from September 2017 to September 2019.

Results: From these patients, 41.7% lived in the municipality of Holguín. At the time of diagnosis 83.3% presented Gowers' sign. In 25% of the cases other relatives were found with the disease; 100% showed elevated serum creatine phosphokinase and aspartate aminotransferase levels, and in the same percentage, a myopathic pattern was identified in the electromyographic study. Deletions in exons 8, 12, 13 and 50 of the DMD gene were detected in 33.3%.

Conclusions: Most of the patients came from the head municipality of Holguín with motor clinical manifestations. A quarter of them showed family history of the disease.

Most of the enzymatic and electromyographic studies were altered. In only one third of the cases, it was possible to detect a deletion in the gene studied. Knowledge of the specific characteristics of the disease in the province is of vital importance for the design of preventive strategies.

Key words: Duchenne muscular dystrophy, Becker, dystrophinopathies, dystrophin.

Introducción

La distrofia muscular de Duchenne, junto a su variante más benigna, la distrofia muscular de Becker, es una enfermedad hereditaria neuromuscular progresiva, que se caracteriza por una degeneración muscular creciente. Se inicia en la infancia, confina al paciente a una silla de ruedas en edades muy tempranas y conduce irreversiblemente a la muerte entre la segunda y tercera décadas de la vida por la grave afección de la musculatura cardiorrespiratoria.

Se transmite con un patrón de herencia recesivo ligado al cromosoma X, aunque el 30% de los pacientes presentan mutaciones de novo; de cualquier forma, esta es el resultado de alteraciones en el gen de la distrofina (DMD), localizado en el locus Xp21. ⁽¹⁾ La mutación de este gen provoca una degeneración muscular progresiva por ausencia de una proteína esencial para la estabilidad estructural de los músculos.

La distrofia muscular de Duchenne y Becker (DMD/B) afecta mundialmente a 1 de cada 3300 a 3500 varones nacidos vivos, es extremadamente rara en pacientes femeninas, aunque se han reportado casos en asociación con el síndrome de Turner o composiciones genéticas tipo XO, XO/XX y XO/XX/XXX.

Algunos países como Estonia informan una tasa de incidencia de 1 en 8395 nacidos vivos varones. Se estima que ocurren entre 400 y 600 nacimientos de varones afectados por esta enfermedad cada año en los Estados Unidos, y en Canadá la incidencia es de 1 en 4700 nacidos vivos masculinos. En Chile, se informa una tasa de incidencia de 1 en 6558 varones nacidos vivos. La DMD/B tiene una relativamente alta incidencia en la población cubana (3,76 enfermos por 100 000 habitantes). ^(2,3,4)

Este estudio tiene como objetivo caracterizar el comportamiento clínico, genético y electrofisiológico de la DMD/B en la provincia de Holguín, Cuba.

Método

Se realizó un estudio de serie de casos de 12 pacientes con diagnóstico de DMD/B atendidos en la consulta de Neurogenética del Centro Provincial de Genética Médica en la provincia Holguín, Cuba, durante el período comprendido entre septiembre de 2017 a septiembre de 2019.

Para el diagnóstico molecular se tomaron muestras de sangre periférica en tubos con EDTA al 5,6% que fueron enviados al Centro Nacional de Genética Médica de Cuba, necesarios para el análisis indirecto mediante la construcción de los haplotipos usando repeticiones cortas en tándem de (CA)_n (STR por su nombre en inglés *short tandem repeats*).

La extracción de ADN genómico se realizó mediante la técnica de precipitación salina. Las muestras se analizaron para identificar las deleciones de 18 exones localizados en los puntos calientes del gen DMD.

La variante de PCR multiplex más utilizada para DMD/B, es la de Chamberlain, con un total de nueve exones (4, 8, 12, 17, 19, 44, 45, 48 y 51). Esta detecta aproximadamente el 80% de las deleciones en los pacientes. ⁽⁵⁾ Un segundo set, el de Beggs, se utiliza para amplificar otros nueve exones (Dp427m 1, 3, 6,13, 43, 47, 50, 52 y 60), que detectan juntos hasta el 97% de deleciones. ⁽⁶⁾ Por su relativa facilidad y eficiencia, la técnica del PCR multiplex sigue teniendo un gran uso en el diagnóstico, aunque los resultados varían según las poblaciones estudiadas. Los datos se tomaron de las historias clínicas de los pacientes.

Resultados

En la tabla I se distribuyeron los 12 pacientes incluidos en la investigación según sus respectivos municipios de procedencia y se encontró que de los 14 municipios que conforman la provincia Holguín, actualmente existen pacientes con el diagnóstico de DMD/B sólo en cinco de ellos: Holguín, Banes, Mayarí, Rafael Freyre y Báguanos. Se observó una mayor incidencia de la enfermedad en el municipio Holguín donde se concentra el 41,7%.

Tabla I. Distribución de pacientes según municipio de procedencia

Municipio	n	%
Holguín	5	41,7
Báguanos	2	16,7
Mayarí	2	16,7
Rafael Freyre	2	16,7
Banes	1	8,3
Total	12	100

Al analizar las manifestaciones clínicas que mostraron los pacientes en el momento del diagnóstico, se observó que la más frecuente fue la presencia del signo de Gowers, seguida por la pseudohipertrofia de gemelos y en tercer lugar se observaron la marcha anadeante y la marcha en puntillas, tabla II.

Tabla II. Frecuencia de manifestaciones clínicas en el momento de diagnóstico

Manifestación clínica	n	%
Signo de Gowers	10	83,3
Pseudohipertrofia de gemelos	9	75,0
Marcha anadeante	4	33,3
Marcha en puntillas	4	33,3
Hipotonía generalizada	2	16,7
Dificultad para subir escaleras	2	16,7
Caídas frecuentes	1	8,3
Total de pacientes	12	100

Un paciente se diagnosticó antes de los 3 años, el resto después ≥ 3 años según aparece en la tabla III.

Tabla III. Distribución de pacientes según edad de diagnóstico

Edad de diagnóstico (años)	n	%
< 3	1	8,3
3 - 6	6	50
> 6	5	41,6
Total	12	100

Al observar los árboles genealógicos de estos pacientes en sólo 3 de ellos (25%) se encontró la existencia de otro miembro de la familia con el diagnóstico de la enfermedad y el restante 75% no presentaba antecedentes familiares de la enfermedad. En la fig. 1 aparece el árbol genealógico de una de las familias afectadas.

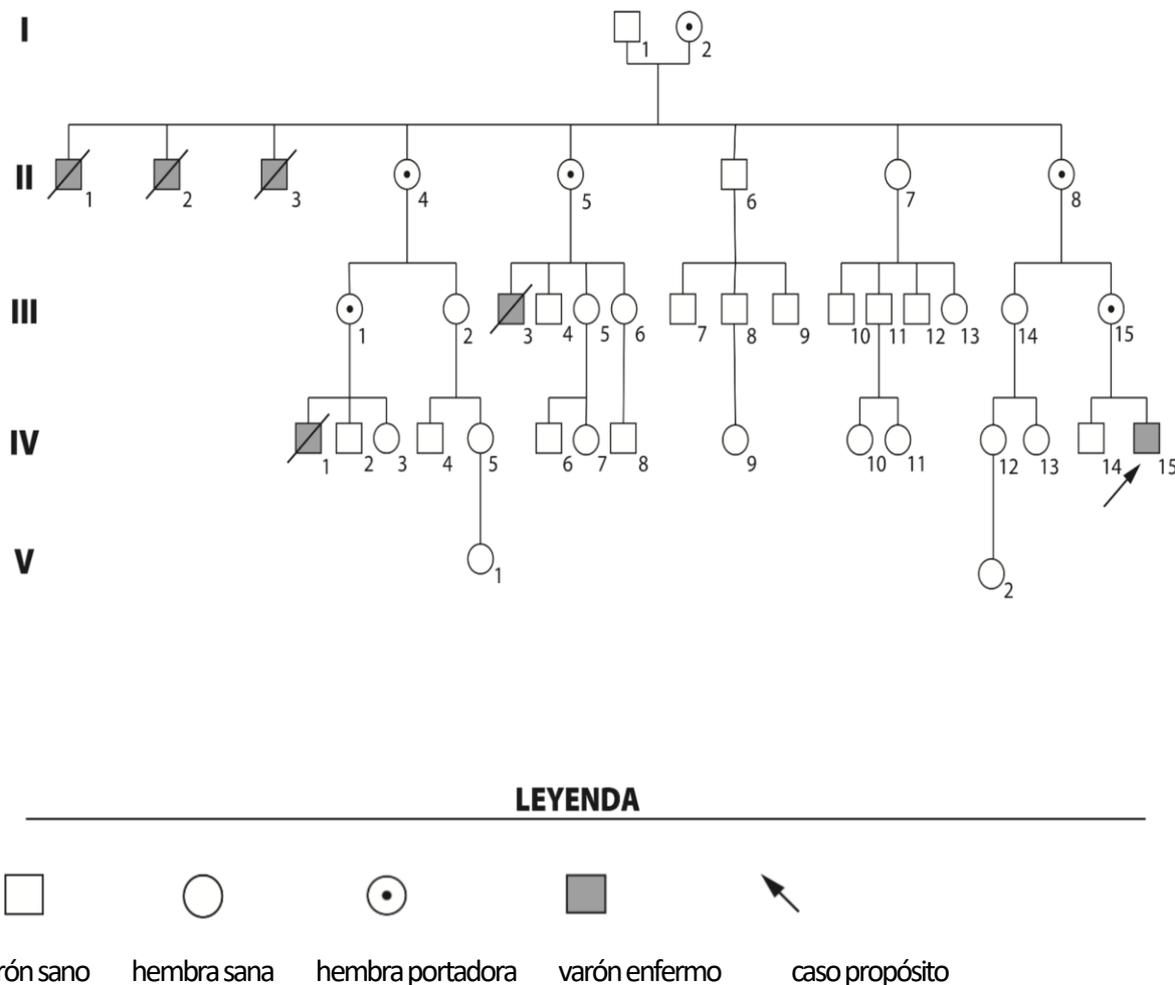


Fig. 1. Árbol genealógico de familia afectada por DMD/B

En el 100% de los pacientes se detectaron cifras séricas elevadas de creatina quinasa (CK). La deshidrogenasa láctica (LDH) se mostró elevada en el 66,7% de los casos. Por su parte las transaminasas también mostraron valores anormales, encontrándose la aspartato aminotransferasa (AST) elevada en el 100% de los casos.

El 100% de los pacientes mostraron un patrón miopático en la electromiografía.

La mitad de los pacientes con biopsia muscular mostraron características histopatológicas compatibles con la DMD/B. En el restante 50% se pasó directamente a realizar el estudio genético.

En el estudio molecular genético se observó que en el 33,3% de los pacientes (n = 4) presentaron mutaciones, dadas por deleciones en los exones 8, 12, 13 y 50; en el restante 66,7% (8 pacientes) no se pudo detectar deleción en los exones estudiados.

Discusión

Al analizar la incidencia de esta enfermedad se observó una mayor incidencia de la enfermedad en el municipio Holguín donde se concentra > 40% de los casos. No existen estudios previos en la provincia para comparar estos resultados, pero eran esperados teniendo en cuenta que Holguín es el municipio cabecera, donde existe mayor densidad poblacional y por tanto resulta estadísticamente más probable la aparición de dicha enfermedad.

La expresión clínica de la DMD/B sigue un curso estereotipado y predecible en la mayoría de los casos. La falta de distrofina en el músculo esquelético, músculo cardíaco y cerebro origina las principales manifestaciones de la enfermedad. La mayoría de los autores coinciden en que las manifestaciones motoras suelen aparecer más precozmente y, además de las encontradas en este estudio, se han descrito otras como: torpeza y la dificultad para saltar.

La DMD/B puede comenzar con problemas no motores como retraso del lenguaje, retraso global del desarrollo o trastorno de conducta, lo que requiere un alto índice de sospecha para su diagnóstico. En el 30% de los casos aproximadamente, se asocia a coeficiente intelectual bajo. ^(1,4,7,8,9,10)

Casi la mitad de los pacientes fueron diagnosticados después de los 6 años de edad, resultado que concuerda completamente con la totalidad de estudios revisados, en los que se muestra que la edad media de diagnóstico es entre los 4 y 5 años; edad en la que el niño lleva al menos un par de años sintomático.

Al analizar los antecedentes patológicos familiares de la enfermedad se constató que el 75% de los pacientes no presentaba familiares con dicha enfermedad, lo que puede ser un indicativo de que en la provincia Holguín predominan los casos esporádicos. ^(7,8,9,10,11)

Otros autores ⁽¹¹⁾ reportan resultados diferentes; en la Universidad Autónoma de Yucatán de 26 familias seleccionadas, en 14 de ellas (53,85%) se trataba de casos esporádicos, en 10 (38,46%) de casos familiares y otros informes exponen que en aproximadamente un tercio de los casos no hay antecedentes de otro familiar afectado. ⁽¹²⁾

Por ser esta una enfermedad de herencia recesiva ligada al cromosoma X, en los casos donde hay dos o más afectados, también llamados casos familiares, las hermanas del propósito tienen un 50% de probabilidad de portar el gen mutado, y de ser portadoras, pueden segregar nuevamente la mutación a su descendencia con el 50% de probabilidad para cada embarazo. Los defectos de la membrana de la fibra muscular y las alteraciones acompañantes en la región subyacente, constituyen uno de los primeros cambios patológicos y de mayor trascendencia en la DMD/B y explican el incremento de CK y otras enzimas musculares en el suero. De hecho, la CK suele mostrar valores anormales incluso en el estadio presintomático. Es habitual que la CK descienda con la evolución de la enfermedad debido al daño muscular progresivo. ^(7,13)

En gran parte de la literatura revisada se describen también niveles séricos elevados de LDH. A esta enzima, sin embargo, se le ha conferido menos importancia por ser menos específica e insuficiente para el diagnóstico, aunque su elevación por encima de los valores normales asociada a signos clínicos de la enfermedad permite su sospecha temprana. ^(12,13,14)

La AST se encuentra en mayores concentraciones en el tejido miocárdico, seguido del músculo esquelético, hígado y riñones. En cambio, la ALT (alanina aminotransferasa) muestra mayores concentraciones en hígado y riñones, con bajos niveles en músculo esquelético. De acuerdo con esto, era esperado encontrar más frecuentemente elevada la AST con respecto a la ALT.

Poco se habla de la elevación de las transaminasas en la DMD/B. En un grupo de casos estudiados en el Hospital Roberto del Río de Chile se encontró que en el 100% de los pacientes tenían cifras elevadas de ALT y AST.⁽¹⁵⁾ Se describen iguales resultados en distrofias musculares, incluso en el período preclínico de la enfermedad.

Reconocer la DMD/B como causa de hipertransaminemia tiene consecuencias de extrema importancia, pues la tendencia generalizada de los profesionales de la salud ante este hallazgo en niños es pensar en una enfermedad hepática; sin embargo, es importante realizar un examen físico detallado buscando signos, incluso sutiles, de distrofia muscular y realizar CK a fin de lograr precozmente una orientación diagnóstica adecuada.

Las características electromiográficas suelen ser muy claras en las miopatías degenerativas progresivas. Cabe resaltar que los hallazgos electrofisiológicos pueden ser diferentes según la etapa de la enfermedad o por la reorganización de las fibras musculares, pudiendo ser incluso normales al principio del cuadro. Algunos autores plantean que en la electromiografía (EMG) convencional pueden obtenerse hallazgos de tipo neurógeno como consecuencia de mecanismos de denervación y reinervación involucrados en la misma enfermedad.^(16,17)

La EMG también es útil para elegir un músculo para la toma de biopsia. Otros investigadores, sin embargo, plantean que cuando el cuadro clínico y la historia familiar son inequívocos de una distrofia muscular, el estudio EMG es de escaso valor y se prefiere realizar el diagnóstico de certeza directamente mediante el estudio molecular.^(8, 16, 17)

La biopsia ha sido durante décadas la forma "clásica" para diagnosticar la enfermedad, no obstante, según algunos autores, si la sospecha de DMD/B es alta, es preferible comenzar el estudio con pruebas genéticas, por ser la biopsia muscular una prueba más invasiva. Otros expresan que la biopsia orienta sobre el pronóstico, en especial en casos aislados o en los niños diagnosticados precozmente, pues una ausencia total de distrofina anuncia un curso más grave. También facilita la secuenciación del gen por medio del ADN complementario.^(5,6) De cualquier manera, en nuestra opinión, la secuencia de pruebas diagnósticas debería depender de la disponibilidad técnica de cada institución a fin de obtener un resultado lo más rápido y fiable posible.

Los estudios moleculares realizados a nuestros pacientes están acordes con lo descrito para otras poblaciones.^(13,14) Un estudio similar a este fue realizado en Venezuela por Delgado-Luengo *et al.*⁽¹⁸⁾ en 24 pacientes con diagnóstico clínico de DMD/B atendidos en la consulta de Genética Médica de la Universidad de Zulia. De estos, 9 pacientes (37,5%) presentaron deleciones intragénicas en el gen DMD, resultado similar al 33,3% obtenido en el estudio actual.

La baja frecuencia de deleciones detectada en los pacientes en estudio podría estar en relación con la existencia de mutaciones en otras regiones del gen de la distrofina no incluidas en el método utilizado, también debido a la presencia de mutaciones puntuales y pequeñas deleciones e inserciones, tampoco detectables por este método. Este hallazgo habla a favor de la gran heterogeneidad del acervo genético en Holguín.

La principal limitación de esta investigación es la muestra relativamente pequeña de pacientes, por lo que deberán hacerse estudios más amplios en el futuro.

Conclusiones

La mayoría de los pacientes procedió del municipio cabecera, predominando la presencia de manifestaciones clínicas motoras. La cuarta parte mostró antecedentes familiares de la enfermedad. Los estudios enzimáticos y electromiográficos fueron patológicos en su mayoría. Solo en un tercio de los casos se pudo detectar deleción en el gen estudiado.

Al no existir una terapia curativa resulta de suma importancia realizar el diagnóstico lo antes posible con el objetivo de evitar el nacimiento de nuevos niños enfermos. Las familias afectadas deben ser objeto de acciones de prevención primaria y secundaria mediante el asesoramiento genético familiar, así como la instauración precoz de tratamiento multidisciplinario con el fin de retrasar la aparición de complicaciones y la incapacidad.

Referencias Bibliográficas

1. Nascimento Osorio A, Medina Cantillo J, Camacho Salas A, Madruga Garrido M, Vilchez Padilla JJ. Consenso para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento del paciente con distrofia muscular de Duchenne. *Neurología*. 2019[citado 19/09/2020]; 34(7):469-481.Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-neurologia-295-pdf-S021348531830015X>
2. Shieh PB. Emerging Strategies in the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy. *Neurotherapeutics*.2018 [citado 18 /10/2020];15:840-848.Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6277306/pdf/13311_2018_Article_687.pdf
3. Ropper AH, Samuels MA, Klein JP, Prasad S. Adam and Victor's Principles of Neurology. 11^{na}.ed. New York: McGraw-Hill Education; 2019.
4. Viñet Espinosa LM. Distrofia Muscular de Duchenne. A propósito de un caso. *Panorama. Cuba Salud*. 2018 [citado 19/09/2020];13(2):119-122.Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cubaysalud/pcs-2018/pcs182r.pdf>
5. Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, Nguyen PN, Caskey CT. Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res*. 1988[citado 25/08/2021];16(23):11141-56.Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC339001/>
6. Beggs AH, Koenig M, Boyce FM, Kunkel LM. Detection of 98 % of DMD/DMBMD gene deletions by polymerase chain reaction. *Hum Genet*. 1990 ; 86 (1): 45-48. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/2253937>
7. Ulane CM, Williams O.Diseases of Muscle. En: Brust CM. CURRENT Diagnosis & Treatment Neurology.3^{ra} ed. New York: McGraw-Hill Education; 2019.p.375-398.

8. Vieitez I, Gallano P, González Quereda L, Borrego S, Marcos I, Millán JM, *et al.* Mutational spectrum of Duchenne muscular dystrophy in Spain: Study of 284 cases. *Neurologia*. 2017[citado 15/07/2019];32(6):377-385. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-neurologia-english-edition--495-articulo-mutational-spectrum-duchenne-muscular-dystrophy-S2173580817300895>
9. Vears DF, Delany C, Massie J, Gillam L. Why Do Parents Want to Know their Child's Carrier Status? A Qualitative Study. *J Genet Couns*. 2016[citado 15/07/2019];25(6):1257-1266. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1007/s10897-016-9964-7>
10. Vieitez I, Gallano P. González Quereda L, Borrego S, Marcos I, Millán JM. Espectro mutacional de la distrofia muscular de Duchenne en España: estudio de 284 casos. *Neurología*. 2017 [citado 28/12/2017];32(6):377-385. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-neurologia-295-articulo-espectro-mutacional-distrofia-muscular-duchenne-S0213485316000219>
11. González Herrera L, Gamas Trujillo PA, García Escalante MG, Castillo Zapata I, Pinto Escalante D. Identificación de deleciones en el gen de la distrofina y detección de portadoras en familias con distrofia muscular de Duchenne/Becker. *Rev Neurol*. 2009 [citado 28/11/2017]; 48(2): 66-70 . Disponible en: <https://www.neurologia.com/articulo/2008170?32>
12. Goulabchandab R, Guilpaina P. Anomalías biológicas frecuentes: lactato deshidrogenasa elevada. *EMC*. 2016[citado 15/01/2018];20(4):1-5. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1636541016806522>
13. Okubo M, Minami N, Goto K, Goto Y, Noguchi S, Mitsuhashi S, *et al.* Genetic diagnosis of Duchenne/Becker muscular dystrophy using next-generation sequencing: validation analysis of DMD mutations. *J Hum Genet*. 2016 [citado 28/11/2019];61(6): 483-489. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/jhg20167>

14. Aartsma Rus A, Ginjaar IB, Bushby K. The importance of genetic diagnosis for Duchenne muscular dystrophy. *J Med Genet*. 2016 [citado 15/11/2019];53(3):145-151. Disponible en: <https://jmg.bmj.com/content/53/3/145.short>

15. Avaria MA, Beytía MA, Kleinsteuber K, Rodillo E, Alegría S. Aumento de transaminasas: una manifestación de distrofia muscular de Duchenne. *Rev Chil Pediatr*. 2012 jun [citado 02/01/2018];83(3):258-261. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062012000300007

16. Ibarra JI, Zorrillaa E, Fernández C. Electromiografía clínica. *Rehabilitación*. 2005 [citado 02/01/2018];39(6):265-276. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-rehabilitacion-120-articulo-electromiografia-clinica-13082198?referer=buscador>

17. Luna Angulo AB, Suárez Sánchez R, Cortés Callejas H, Ruano Calderón L, Escobar Cedillo RE, Tapia Guerrero Y, *et al*. Diagnóstico molecular de enfermedades neuromusculares en el Instituto Nacional de Rehabilitación, situación actual y perspectivas. *Investig Discapacidad*. 2016 [citado 02/01/2018]; 5(1):9-26. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=62853&id2=>

18. Delgado-Luengo W, Pineda-Del Villar L, Borjas L, Pons H, Morales-Machin A, Martínez-Basalo MC, Barrera-Saldaña H. Diagnóstico Molecular en pacientes venezolanos con Distrofia Muscular de Duchenne/Becker mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa. *Invest Clín* 1994 [citado 15/08/2020]; 35(4):195-207. <https://sites.google.com/site/revistaano1990al1995/home/revista-1994-35/revista-1994-35-num-4>

Financiamiento

Ninguno.

Conflicto de intereses

Los autores no presentan conflicto de intereses.

Contribución de autoría

Conceptualización: Jorge Michel Rodríguez Pupo, Lisset Sánchez Leyva, Dayana Ochoa Silva, Yesenia Rojas Rodríguez, Yudy Cruz Abreu

Curación de datos: Jorge Michel Rodríguez Pupo, Lisset Sánchez Leyva, Dayana Ochoa Silva, Yesenia Rojas Rodríguez, Yudy Cruz Abreu

Análisis formal: Jorge Michel Rodríguez Pupo, Lisset Sánchez Leyva

Investigación: Lisset Sánchez Leyva

Metodología: Jorge Michel Rodríguez Pupo

Administración del proyecto: Jorge Michel Rodríguez Pupo

Supervisión: Jorge Michel Rodríguez Pupo

Validación: Jorge Michel Rodríguez Pupo

Visualización: Yesenia Rojas Rodríguez

Redacción – borrador original: Jorge Michel Rodríguez Pupo

Redacción – revisión y edición: Jorge Michel Rodríguez Pupo, Lisset Sánchez Leyva, Dayana Ochoa Silva, Yesenia Rojas Rodríguez, Yudy Cruz Abreu



Esta obra está bajo [una licencia de Creative Commons Reconocimiento-No Comercial 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).