

Características morfométricas del epitelio endometrial en pacientes con endometriosis

Morphometric features of the endometrial epithelium in patients with endometriosis

Yasnay Jorge Saínez ^{1*} 

Irina Morales Rosales ¹ 

Pedro Augusto Díaz Rojas ¹ 

¹Facultad de Ciencias Médicas Mariana Grajales Coello. Universidad de Ciencias Médicas de Holguín. Holguín, Cuba.

*Autor de correspondencia: Correo electrónico: yasnayj@infomed.sld.cu

Recibido: 10/02/2022

Aprobado: 09/11/2022

RESUMEN

Introducción: Todo hallazgo de endometrio funcional en un lugar que no sea intrauterino se denomina endometriosis. Esta enfermedad constituye una preocupación, puesto que es difícil de diagnosticar y concierne a una serie de especialidades para su investigación.

Objetivo: Caracterizar los indicadores morfométricos del epitelio endometrial en biopsias de pacientes con endometriosis interna (adenomiosis).

Método: Se estudiaron las preparaciones histológicas de 37 biopsias diagnosticadas con endometriosis interna en el departamento de Anatomía Patológica del Hospital "Vladimir Ilich Lenin" de Holguín, Cuba, en el período comprendido del 2013 al 2019. Se determinaron los parámetros morfométricos, área, densidad, altura y área glandular, volumen y factor de forma nuclear. Los indicadores morfométricos se midieron con la aplicación en computación ImageJ Versión 1.49p del National Institute of Health, USA, 2015. Los resultados fueron procesados con el editor estadístico profesional MyStat versión 12. Se calculó

ABSTRACT

Introduction: Any finding of functional endometrium in a place other than intrauterine is named endometriosis. This disease is a concern, since it is difficult to diagnose and involves a number of specialties for its investigation.

Objective: To characterize morphometric indicators of endometrial epithelium in biopsies from patients with internal endometriosis (adenomyosis).

Method: Histological preparations of 37 biopsies diagnosed with internal endometriosis in the Department of Pathological Anatomy of the "Vladimir Ilich Lenin" Hospital of Holguin, Cuba, in the period from 2013-2019, were studied. Morphometric parameters, area, density, glandular height and area, volume and nuclear form factor were determined. Morphometric indicators using the computer application ImageJ Version 1.49p from the National Institute of Health, USA, 2015, were measured. The results were processed with the professional statistical editor MyStat version 12. The arithmetic value, standard deviation, coefficient of variation, and confidence interval were calculated, for 95% of certainty.

la media aritmética, desviación estándar, el coeficiente de variación y el intervalo de confianza, para el 95% de certeza.

Resultados: Se encontró la presencia de tejido endometrial entre los fascículos musculares del miometrio. La razón (densidad) representa un 7% del área total del miometrio, la altura del epitelio se corresponde con las glándulas endometriales en pacientes sanas, en el área y volumen nuclear no hubo variabilidad, pero en el factor de forma los núcleos mostraron cambios morfológicos.

Conclusiones: Se demostró la existencia de un pleomorfismo nuclear consistente con el diagnóstico de adenomiosis en estas pacientes.

Palabras clave: morfometría, endometriosis, pleomorfismos nucleares, adenomiosis

Results: The presence of endometrial tissue was found between the muscular fascicles of the myometrium. The ratio (density) represents 7% of the total area of the myometrium, the height of the epithelium corresponds to the endometrial glands in healthy patients, in the nuclear area and volume there was no variability, but in the shape factor the nuclei showed morphological changes.

Conclusions: The existence of a nuclear pleomorphism compatible with the diagnosis of adenomyosis in these patients was proved.

Keywords: morphometric, endometriosis, nuclear pleomorphisms, adenomyosis

Introducción

El útero es un órgano muscular hueco, ubicado en la pelvis femenina, tiene forma de pera, con una porción dilatada, el cuerpo, cuya parte superior es el fondo del útero y una parte inferior, cilíndrica, que se abre en la vagina, denominada cuello uterino.⁽¹⁾

Es un órgano estimulado constantemente por las hormonas estrógenos y progesteronas, desprovisto mensualmente de la mucosa endometrial funcional, sujeta a una serie de procesos fisiológicos, los más frecuentes de los cuales se deben a desequilibrios endocrinos y a proliferaciones benignas o malignas.⁽²⁾

Es válido recordar que el endometrio es la capa que tapiza la cavidad uterina, desde el orificio cervical interno hacia arriba, todo hallazgo de endometrio funcional en un lugar que no sea este se denomina endometriosis. Esta enfermedad constituye una preocupación del sistema de salud, puesto que es difícil de diagnosticar y concierne a una serie de especialidades para su investigación, entre los que se encuentran ginecólogos, oncólogos e investigadores.⁽³⁾

La histopatología de la endometriosis está basada en un nódulo endometriósico, microscópicamente formado por tejido glandular semejante al del útero con glándulas típicas del endometrio, rodeadas de tejido conjuntivo igual al del estroma endometrial.⁽⁴⁾

Este nódulo presenta distintos aspectos según el momento del ciclo en el cual se realiza la biopsia; si se hace en fase folicular estará en proliferación, mientras si se hace en fase luteínica será igual al del endometrio en secreción a existir verdadera menstruación.⁽⁵⁾

Si el nódulo está cerrado aislado en el espesor de un tejido y sin salida, los productos hemáticos menstruales y los de secreción se acumulan y originan un quiste por retención hemática, de manera microscópica se aprecia una dilatación quística rellena de sangre que da lugar a un quiste de chocolate.⁽⁶⁾

La realidad señalada con anterioridad tiene un reflejo escaso en las investigaciones en los diferentes niveles del sistema de salud de nuestro medio, lo cual constituye una razón que justifica la necesidad de valorar la contribución del presente trabajo al proceso de diagnóstico.

El estudio morfométrico del epitelio endometrial en pacientes con endometriosis nos permitirá valorar si dichas alteraciones se pueden relacionar con el grado de invasión del tejido. El propósito será evaluar las características morfométricas, la densidad glandular, la altura del epitelio glandular y el volumen nuclear.

Método

Se realizó un estudio de una serie de casos, cuyo objeto fue el análisis de parámetros morfométricos del tejido endometrial en biopsias de pacientes con endometriosis interna (adenomiosis). El muestreo fue probabilístico, aleatorio simple, usando el método de sorteo, constituido por las biopsias de pacientes atendidos en el servicio de Anatomía Patológica del Hospital Provincial de Holguín "Vladimir Ilich Lenin", en el período comprendido 2013-2019.

Se tomaron en cuenta como requisitos de inclusión la adecuada calidad de las láminas histológicas y la presencia en las mismas del epitelio endometrial como objeto de estudio.

Se determinaron los siguientes indicadores morfométricos:

- Densidad y área de las glándulas endometriales.
- Altura del epitelio de las glándulas endometriales.
- Volumen, área y factor de forma de los núcleos de las células de las glándulas endometriales.

Del total de 37 pacientes, se procesaron las biopsias de útero por la técnica clásica de la parafina utilizando como fijador la formalina al 10%. Los cortes de aproximadamente 8 a 10 micrómetros fueron teñidos con hematoxilina y eosina. La muestra de nuestro estudio fue seleccionada de las preparaciones histológicas seriadas de las biopsias en estudio. Se seleccionaron 115 cortes histológicos y de ellos se tomaron 626 imágenes en aumentos objetivos de 240x, 750x y 1250x, en un microscopio Motic modelo BA210 con una cámara Motic. Inc China 2015 de tres megapixels. Estas imágenes se descargaron en una computadora Dell, modelo Optiplex 7010, al que estaba acoplado el sistema de captura. Los indicadores morfométricos se midieron con la aplicación en computación ImageJ Version 1.49p del National Institutes of Health, USA, 2015. Para las mediciones se procedió a la calibración con un objetivo micrométrico de la Motic, se dividieron según el aumento de las imágenes estudiadas y se calcularon con un intervalo de confianza para un 95%.

En las imágenes a menor aumento a 240x se determinaron como indicadores morfométricos el área y densidad de las glándulas. Estos indicadores se obtuvieron con la opción de limitación de perímetro a mano alzada de la ImageJ. El propio sistema determina automáticamente el resto de los indicadores estudiados. De igual manera para garantizar la aleatoriedad sobre cada imagen se hizo superponer una retícula de puntos de manera tal que solo se midieron las glándulas sobre las cuales caían los puntos de la retícula, la distancia entre puntos fue de 150 micrómetros. Para un área total a este aumento de 2548,23 mm².

Desde el punto de vista estereológico a cada punto de correspondencia 22 500 μm² para el cálculo de la densidad se dividieron las áreas relativas a los puntos que cayeron en la glándula entre el total del área del miometrio correspondiente al área del estudio. La variable densidad se calculó a partir de la fórmula relación entre el área determinada y el total del área de la muestra, donde D es densidad, A área estimada y AT área total.

$$D = \frac{A_p}{A_t}$$

En las imágenes a mediano aumento 750x, se determinó la altura del epitelio glandular. Para ello se superpuso una retícula de líneas separadas por 600 micrómetros en sentido vertical a la imagen de estudio. Se midió con la opción distancia según ImageJ, el segmento perpendicular desde la base del epitelio hasta el punto que interceptaba la línea de la retícula en la superficie del epitelio, de esta manera se cumplió el principio de aleatoriedad en la medición de la altura.

En las imágenes a mayor aumento 1250x, se definieron como indicadores morfométricos el área nuclear, el factor de forma y volumen nuclear. Estos indicadores se obtuvieron con la opción de limitación de perímetro a mano alzada de la ImageJ. El propio sistema determina automáticamente el resto de los indicadores estudiados. De igual manera para garantizar la aleatoriedad sobre cada imagen se hizo superponer una retícula de puntos de manera tal que solo se midieron los núcleos sobre los cuales caían los puntos de la retícula, la distancia entre puntos fue de 150 micrómetros.

Para realizar el cálculo del volumen nuclear de las células epiteliales, a partir de los diámetros mayores y menores, se aplicó la fórmula de Palkovics, con la ayuda del editor de hoja de cálculo Microsoft Excel:

$$V = 1,04 \pi(A*B) \sqrt{A*B}$$

Donde A es el diámetro mayor y B el diámetro menor.

El factor de forma o índice de pleomorfismo se calculó a partir de la fórmula de la relación entre área y perímetro la que se muestra a continuación:

$$FF = \frac{A}{P^2}$$

Donde FF es factor de forma, A corresponde al área y p es el perímetro.

Los resultados medidos en las imágenes fueron promediados con vistas a obtener el valor definitivo de cada preparación histológica. Se utilizó un intervalo de confianza a un 95%.

Los resultados fueron procesados con el editor estadístico profesional MyStat versión 12 de 2009, de la compañía SyStat. Como parte de la estadística descriptiva se calculó la media aritmética, desviación estándar, el coeficiente de variación, y el intervalo de

confianza para el 95% de certeza, se aplicó la prueba de hipótesis de proporciones para la razón del área.

Los datos obtenidos se sometieron a un proceso de revisión para evitar errores, omisiones y/o duplicidad de la información; se realizó el cómputo en una hoja de cálculo Excel, y se vaciaron posteriormente en tablas.

En todo momento se cumplió con los principios éticos para los estudios de muestras biológicas provenientes de pacientes. El informe final se editó con el procesador de texto Microsoft Office XP de la compañía Microsoft. Los resultados se muestran en tablas.

Resultados

Los resultados de la estadística descriptiva de los indicadores morfométricos del área y densidad glandular de la adenomiosis se observan en la Tabla I. Los valores del área glandular muestran una media de $178,3 \pm 7,36$ mm², la razón posee los valores de media de $0,07 \pm 0,01$. El coeficiente de variación mostró los valores de 0,04 y 0,01 para el área y razón, los que muestran que las mediciones se hicieron sin variabilidad.

Tabla I. Estadística descriptiva de área y razón glandular del tejido endometrial en las biopsias de adenomiosis.

Estadísticos	Área (mm²)	Razón
No de casos	371	371
Media aritmética	178,36	0,07
Desviación estándar	178,36	0,01
IC límite inf. 95%	172,69	0,06
IC límite sup. 95%	184,02	0,09
Coeficiente de variación	0,04	0,01

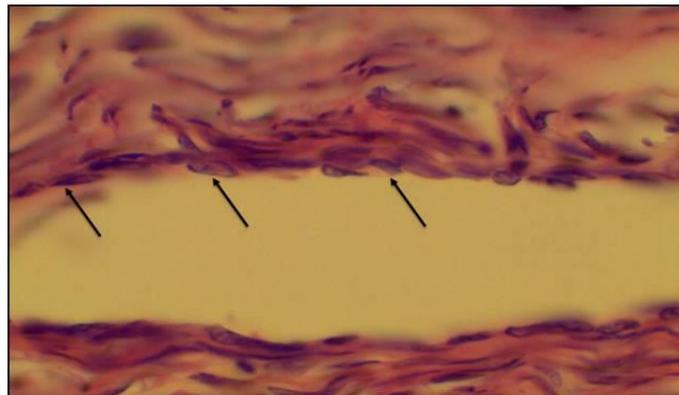
Los resultados de la estadística descriptiva de la altura del epitelio de las glándulas endometriales realizadas a 750x se observan en el Tabla II, los valores de la altura del epitelio muestran una media de $7,65 \pm 2,21$. El coeficiente de variación mostró el valor 0,29, lo que muestra que las mediciones se hicieron con poca variabilidad.

Tabla II. Estadística descriptiva de altura del epitelio de glándulas endometriales en biopsias de adenomiosis.

Estadísticos	Altura(mm)
No de casos	480
Media aritmética	7,64
Desviación estándar	2,20
IC límite superior 95%	7,84
IC límite inferior 95%	7,44
Coefficiente de variación	0,28

Los resultados de la estadística descriptiva realizados a los núcleos de las células glandulares endometriales, que se observan en la Figura 1 y los resultados resumidos en la Tabla III, donde se analizaron los parámetros área, perímetro, factor de forma y volumen.

Fig. 1. Microfotografía de corte histológico de miometrio teñido con Hematoxilina y Eosina (1250x).



Los valores del área del núcleo muestran una media de $10,83 \pm 4,72 \text{ mm}^2$, el perímetro posee los valores de media de $17,59 \pm 4,87 \text{ }\mu\text{m}$, el factor de forma posee una media de $0,46 \pm 0,15$, y el volumen nuclear se corresponde con $15,24 \pm 10,65 \text{ }\mu\text{m}^3$. El coeficiente de variación mostró los valores de 0,44, 0,28, 0,33 y 0,70 para el área, perímetro, factor de forma y volumen.

Tabla III. Estadística descriptiva del núcleo en las células de glándulas endometriales en biopsias de adenomiosis.

Estadígrafos	Área (mm ²)	Factor de forma	Volumen (μm ³)
No de casos	252	252	252
Media aritmética	10,83	0,45	15,24
Desviación estándar	4,72	0,15	10,65
IC límite inf 95%	10,24	0,43	13,92
IC límite sup 95%	11,41	0,47	16,56
Coefficiente de variación	0,44	0,33	0,69

Discusión

El útero, órgano hueco formado por tres capas; endometrio, miometrio y perímetro. El endometrio compuesto por dos capas, una funcional y otra basal, revestido por un epitelio simple cilíndrico, con una mezcla de células secretoras y ciliadas, glándulas endometriales tubulares simples, que poseen una cantidad menor de células ciliadas; a veces se ramifican en la parte más profunda del endometrio y se forman por invaginación del epitelio superficial hacia la lámina propia subyacente.⁽⁷⁾

La endometriosis interna o adenomiosis se caracteriza por la presencia de tejido endometrial, o sea, las glándulas endometriales, entre los fascículos musculares del miometrio. Estas masas suelen consistir en glándulas que tienen un aspecto alargado, tubulosas, simples, que pueden o no producir secreción.^(5,6,7,8)

Los autores plantean que las muestras estudiadas en los cortes histológicos corresponden a pacientes que se encontraban en la fase proliferativa del ciclo menstrual, por lo que no tienen secreción glandular, se observa un epitelio simple cilíndrico, con células muy unidas entre sí, con sus núcleos dirigidos hacia la base que cambian desde ovoide, esféricos, que pueden llegar a ser alargados con un alto grado de pleomorfismo y algunas de estas presentan cilios, rodeadas por estromas de células fusiformes musculares, coincidiendo con lo encontrado en otros estudios.^(9,10)

Al obtener los valores de media del área y la razón (densidad) a 10 x, se obtuvo, que esta última representa el 7% del área total del miometrio, lo que confirma la enfermedad. El valor obtenido de la media (7,64 mm) de la altura del epitelio de las glándulas

endometriales se encuentra en límites normales, por lo que este indicador no sufre variación.

Las medias de los núcleos de las células de las glándulas endometriales en los indicadores área, factor de forma y volumen, evidencian que existe un pleomorfismo nuclear con respecto al factor de forma.

En este análisis se evidenció que la altura del epitelio de las glándulas endometriales se encuentra entre límites normales, basado en la media que es de 7,64 mm. Se estima que la media de la altura del epitelio de las glándulas endometriales en pacientes con vida reproductiva activa oscila entre 6,7 a 15,6 mm,⁽⁴⁾ lo cual se corresponde con el resultado final del presente estudio.

En el análisis realizado, se determinó que en los núcleos de las células de las glándulas endometriales existe un grado de pleomorfismo nuclear, donde este indicador nos demuestra la variación de forma que adoptan los mismo desde esféricos, ovoides, aplanados, lo cual se corrobora con los resultados de los parámetros morfométricos expuestos anteriormente, específicamente del factor de forma, según Botella refiere, a que puede malignizarse en muy pocos casos y es este un indicador que corrobore esta cita.⁽⁵⁾

Se coincide en esta investigación con Rodríguez Monteiro y otros autores,^(11,12,13,14,15,16) que plantea que todos estos parámetros morfométricos permiten evaluar de una forma más profunda el estado de la enfermedad, de ahí la importancia de analizar en nuestro estudio el comportamiento de dichos indicadores. Sin embargo, el número de trabajos realizados con la aplicación de estos métodos no abunda en nuestro país y en sentido general en el mundo, y no existen datos actualizados de los últimos años, por lo que la ausencia de uniformidad atenta contra las posibilidades de análisis de los resultados.

Consideramos que el presente trabajo tiene como importancia facilitar el diagnóstico de la enfermedad, así como incrementar la calidad en la toma de decisiones del diagnóstico final. Debido a que se realiza en conjunto con la especialidad de Anatomía Patológica, se logra un impacto positivo sobre la calidad de vida de las pacientes al permitirles desarrollar una vida normal, en la esfera psico-social, biológica, familiar y cultural.

Conclusiones

Se demostró la presencia de glándulas endometriales en un 7% del área total del miometrio y el factor de forma los núcleos mostraron cambios morfológicos, que demuestran la existencia de un pleomorfismo nuclear. Lo anterior permite un diagnóstico de endometriosis más eficaz.

Principales limitaciones en la investigación

- Limitación en la cantidad de muestras estudiadas, reflejo del poco diagnóstico de la enfermedad.

Referencias Bibliográficas

1. Ross MH, Kaye GI, Pwlin MD. Atlas color con Biología Molecular y Celular. 4a ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006
2. Vilasagar S, Bougie O, Singh SS. A Practical Guide to the Clinical Evaluation of Endometriosis-Associated Pelvic Pain. J Minim Invasive Gynecol. 2019 [citado 18/03/2022];27(2):270-279. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1553465019312646?via%3Dihub>
3. Junqueira LC, Carneiro J. Aparato reproductor femenino. En: Junqueira LC, Carneiro J. Histología Básica. 6ta ed. Amsterdam: Elsevier Masson; 2005. p. 432-449.
4. Clemenza S, Sorbi F, Noci I, Capezzuoli T, Turrini I, Carriero C, et al. From pathogenesis to clinical practice: Emerging medical treatments for endometriosis. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2018 [citado 18/03/2022];51:92-101. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521693418300397?via%3Dihub>

5. Pokrzywinski RM, Soliman AM, Chen J, Snabes MC, Coyne KS, Surrey ES, Taylor HS. Achieving clinically meaningful response in endometriosis pain symptoms is associated with improvements in health-related quality of life and work productivity: Analysis of 2 phase III clinical trials. *Am J Obstet Gynecol.* 2020[citado 14/01/2020];592.e1-592.e10

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0002937819326341?via%3Dihub>

6. Cardenas Sacoto JH, Cornejo Almeida DF, Barahona Moncayo OF, Macias Corral GA, Paredes Lucero KS. Endometriosis: Reporte de un caso. *Metro Ciencia.* 2021 [citado 12/02/2022];29(4):113-118. Disponible en:

<https://revistametrociencia.com.ec/index.php/revista/article/view/212>

7. Ulett Araya NM. Actualización en los puntos clave de la endometriosis. *Médica Sinergia.* 2019[citado 14/01/2022];4(5):35-43. Disponible en:

<https://revistamedicasinergia.com/index.php/rms/article/view/191/499>

8. Rigol RO. *Obstetricia y Ginecología. T. II. La Habana: Ciencias Médicas;2004*

9. Patel BG, Lenk EE, Lebovic DI, Shu Y, Yu J, Taylor RN. Pathogenesis of endometriosis: Interaction between endocrine and inflammatory pathways. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018 [citado 12/08/2022];50:50-60.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521693418300233?via%3Dihub>

10. Serafim Argentinol GL, Bueloni DiasII FN, Leitell NJ, Filipov PeresI G, Vieira EliasI L, Bortolani VC, et al. The role of laparoscopy in the propaedeutics of gynecological diagnosis. *Acta Cir Bras.* 2019 [citado 14/01/2022];34(1). Disponible en:

<https://www.scielo.br/j/acb/a/SrDyBcRjYCTQmVqyXDf4mSb/?format=pdf&lang=en>

11. Inda Pichardo D, Alonso González M, Garriga Alfonso N, Molina Estévez M, Cruz Molina D, Balceiro Batista L. Técnica morfológica en el diagnóstico diferencial de hiperplasia endometrial compleja y adenocarcinoma endometrioide. Matanzas; 2014-2015. Rev Méd Electrón. 2020 [citado 13/03/2023];42(1). Disponible en:

<https://revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/3224>

12. Lins Arcoverde FV, Andres MP, Moisés Borrelli G, de Almeida Barbosa P, Simões Abrão M, Kho RM. Surgery for Endometriosis Improves Major Domains of Quality of Life: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Minim Invasive Gynecol. 2019 [citado 14/01/2022]; 26(2):266-278. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1553465018312445?via%3Dihub>

13. González-Hernández AR, Treviño-Salinas EM, Soria-López JA, Treviño-Montemayor OR. Endometriosis polipoide: una variante de la endometriosis. Ginecol Obstet Mex. 2020. [citado 14/01/2022];88(5):342-345. Disponible en:

<https://ginecologiayobstetricia.org.mx/articulo/endometriosis-polipoide-una-variante-de-la-endometriosis>

14. Redondo Villatoro A, Márquez Maraver F, Valdés Hernández J, Caraballo AJ, Nieves Cabezas Palacio MA. Endometriosis de localización extragenital, a propósito de una serie de casos. Prog Obstet Gineco.2021[citado 14/01/2022];64:225-229. Disponible en:

<https://sego.es/documentos/progresos/v64-2021/n6/Endometriosis.pdf>

15. Andres MP, Arcoverde F, Souza C, Fernandes LF, Simões Abrão M, Kho RM. Extrapelvic Endometriosis: A Systematic Review. J Minim Invasive Gynecol.2020 [citado 14/05/2022];27(2):373-389. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1553465019312567?via%3Dihub>

16. Dorien F, Flores I, Waelkens E, D'Hooghe T. Noninvasive diagnosis of endometriosis: Review of current peripheral blood and endometrial biomarkers. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.2018 [citado 14/01/2022];50:72-83.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521693418300762?via%3Dihub>

Financiamiento

No requirió de financiamiento

Conflicto de intereses

Los autores no refieren ningún conflicto de intereses.

Contribución de autoría

Conceptualización: Irina Morales Rosales, Pedro Augusto Díaz Rojas

Curación de datos: Irina Morales Rosales, Pedro Augusto Díaz Rojas

Análisis formal: Irina Morales Rosales, Yasnay Jorge Saínez.

Adquisición de fondos: Pedro Augusto Díaz Rojas.

Investigación: Irina Morales Rosales, Yasnay Jorge Saínez.

Metodología: Irina Morales Rosales, Pedro Augusto Díaz Rojas

Administración del proyecto: Pedro Augusto Díaz Rojas

Recursos: Irina Morales Rosales.

Software: Pedro Augusto Díaz Rojas

Supervisión: Pedro Augusto Díaz Rojas.

Validación: Pedro Augusto Díaz Rojas, Yasnay Jorge Saínez.

Visualización: Yasnay Jorge Saínez.

Redacción – borrador original: Yasnay Jorge Saínez

Redacción – revisión y edición: Yasnay Jorge Saínez



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