Artículo original

Estabilidad farmacológica del plasma rico en plaquetas activado con ozono

Pharmacological stability of ozone-activated platelet-rich plasma

Reynier Ramírez Suarez[1*] https://orcid.org/0000-0002-3759-0249

Lidyce Quesada Leyva[2] https://orcid/org/0000-0002-4250-0164

Elizabeth Nicolau Pestana[2] https://orcid/org/0000-0003-1975-3419

Gretel Mosquera Betancourt[1] https://orcid.org/0000-0003-4547-9484

[1] Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey, Hospital Universitario Manuel Ascunce Domenech, Camagüey, Cuba.

[2] Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey, Centro de Inmunología y Productos Biológicos, Camagüey, Cuba.

* Autor para correspondencia (reynierramirez93@gmail.com)

RESUMEN

Introducción: Los estudios de estabilidad farmacológica permiten conocer la capacidad que tiene un producto para mantener en el tiempo la integridad de sus propiedades fisicoquímicas y biológicas, necesarias para cumplir el efecto deseado y las garantías de calidad.

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

Objetivo: Evaluar la estabilidad en vida de estante y condiciones de estrés del plasma rico en plaquetas activado con ozono.

Métodos: Se diseñó un estudio de estabilidad según lo dispuesto en las normas del CECMED, para evaluar las principales propiedades fisicoquímicas y biológicas del plasma rico en plaquetas activado con ozono. Las pruebas se realizaron con una frecuencia de ensayo a 37ºC, 4ºC y temperatura ambiente, en las horas 0, 4, 8 y 12.

Resultados: Los valores de pH presentaron cambios no significativos sin rebasar los rangos de normalidad establecidos para esta variable ($p \geq 0,05$). La concentración de plaquetas se mostró con tendencia a disminuir a medida que se incrementan las horas, a temperatura ambiente fue donde menos diferencia existió; los valores $p \geq 0,05$ permitieron afirmar que la concentración de plaquetas en los lotes no tuvo una variación estadísticamente significativa. Existieron variaciones no significativas en cuanto al crecimiento en las muestras respecto a la temperatura ($p=0,174$). No existieron modificaciones en las características organolépticas y el volumen.

Conclusiones: El estudio de estabilidad del plasma rico en plaquetas activado con ozono recomienda su uso en estudios de intervención clínica sobre todo en las primeras cuatro horas de la combinación.

Palabras clave: plasma rico en plaquetas; ozono; estabilidad

ABSTRACT

Introduction: Pharmacological stability studies allows to know the ability of a product to maintain over a time the integrity of its physicochemical and biological properties, necessary to meet the desired effect and quality guarantees.

Objective: To evaluate the stability of ozone-activated platelet-rich plasma and stress conditions.

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

Methods: A stability study was designed according to the standards of the CECMED, to evaluate the main physicochemical and biological properties of ozone-activated platelet-rich plasma. The tests were performed with a test frequency at 37ºC, 4ºC and room temperature, at 0, 4, 8 and 12 hours.

Results: The pH values showed non-significant changes without exceeding the normal ranges established for this variable (p ≥ 0,05). The concentration of platelets showed a tendency to decrease as the hours increased, at room temperature was where there was less difference; The p-values ≥ 0,05 allowed us to affirm that the concentration of platelets in the batches did not have a statistically significant variation. There were non-significant variations in terms of growth in the samples with respect to temperature (p=0,174). There were no variations in organoleptic characteristics and volume.

Conclusions: Pharmacological stability study of ozone-activated platelet-rich plasma recommend its use in clinical intervention studies especially in the first four hours of combination.

Keywords: platelet-rich plasma; ozone; stability

Recibido: 31/12/24

Aceptado: 30/04/25

Introducción

La estabilidad farmacológica es la capacidad que tiene un producto farmacéutico para conservar sus propiedades químicas, físicas, microbiológicas y biofarmacéuticas dentro de límites especificados, a lo largo de su tiempo de conservación.[1] Los estudios de

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

estabilidad de los medicamentos en la práctica clínica repercuten en la organización de los Servicios de Farmacia y en los aspectos económicos de la política de salud, además de mejorar la calidad asistencial.[2] Permiten analizar la capacidad que tiene un producto para mantener en un período la integridad de sus propiedades físicas, organolépticas, químicas y microbiológicas necesarias para cumplir el efecto deseado. [3]

Estos estudios documentan los posibles cambios del producto durante la exposición a la luz, la humedad, la vibración u otros factores ambientales. [2,3] El mantenimiento de estrictas condiciones de almacenamiento es necesario para preservar la actividad biológica y la degradación del producto. [3]

El término plasma rico en plaquetas (PRP) fue descrito por los hematólogos, en la década de 1970, como la sustancia con un recuento de plaquetas superior al de la sangre normal, originalmente utilizados en medicina transfusional en el tratamiento o prevención de hemorragias a causa de una trombocitopenia grave. Su aplicación se ha extendido a numerosos campos de la medicina, fundamentalmente en las especialidades quirúrgicas.[4,5]

Los elementos fundamentales presentes en el PRP que favorecen su acción son las proteínas de señalización celular que incluyen interleuquinas y los factores de crecimiento, que intervienen en la migración y proliferación celular.[6] La variabilidad de las concentraciones de plaquetas dependen del protocolo utilizado para su obtención, es necesario que la nomenclatura de productos de PRP referencien las diferentes formulaciones según el método utilizado. [3]

Valacchi et al. [7] sugieren nuevas terapias basadas en el potencial regenerativo y antiinflamatorio de los factores de crecimiento contenidos en las plaquetas y que estas liberan al activarse, resaltan además las propiedades que se obtienen al emplear el ozono como activador. El ozono es un gas incoloro formado por tres átomos de oxígeno

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

a nivel molecular. Esta sustancia tendrá un efecto oxidante sobre los compuestos orgánicos debido a la carga positiva que mantiene, aspecto que se aprovecha para neutralizar las células patógenas con carga negativa. [8]

La información sobre el tiempo y las condiciones de almacenamiento de los productos biológicos deben realizarse a partir de estudios de estabilidad a largo plazo y en condiciones de almacenamiento reales.[9,10,11] Los estudios acelerados y de estrés informan además, de las condiciones anormales de un medicamento durante su almacenamiento, propician parámetros sobre ensayos específicos que sirven para establecer indicadores de la estabilidad en la degradación y en períodos breves en condiciones de almacenamiento diferente a las establecidas. [1,3]

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la estabilidad en vida de estante y condiciones de estrés del PRP activado con ozono (PRP-O_3) obtenido en sistema abierto, como parte del proceso de validación del uso de este producto en las enfermedades de la articulación temporomandibular.

Métodos

Se diseñó el estudio de estabilidad según la norma Regulación 25-00 CECMED, 2000. [12]

La investigación se realizó en el Centro de Inmunología y Productos Biológicos (CENIPBI) de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey, donde se evaluaron los parámetros de estabilidad en tiempo real.

Obtención del PRP

1. Preparación de los tubos de centrífuga graduados con tapa y contenido de 1 mL de citrato de sodio a la 1,29 mol/L, dilución (1:10 para utilizarlo a la 0,129 mol/L).

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

2. Toma de muestra de sangre venosa periférica al paciente, para lo cual se coloca la ligadura con torniquete elástico por tiempo inferior a un minuto.
3. Inmediato a la extracción, se depositan 9 mL de sangre por las paredes del tubo y se procede a la doble centrifugación por técnica abierta, autóloga y ambulatoria.
4. Primera centrifugación gravitacional de 100 g durante 10 min.
5. El plasma resultante de la primera centrifugación se extrae con pipeta sin generar turbulencias y se somete a una segunda centrifugación a 100 g por 15 min.
6. Obtención del plasma rico en plaquetas luego de descartar 0,5 mL del plasma de la fase superior.
7. Se procedió a activarlo con ozono, para ello se empleó una llave de tres vías a razón de 1 a 1 PRP-ozono durante un minuto. (5)

Preparación de los lotes para el estudio de estabilidad

Con el suero procesado se conformaron dos lotes, según (Regulación 25-00 CECMED, 2000) 195

Diseño del experimento de estabilidad

Las pruebas para demostrar estabilidad del producto se realizaron teniendo en cuenta el estudio de estabilidad en condiciones reales y de laboratorio “a largo plazo vida de estante”, con una duración de 12 horas y una frecuencia de ensayo en las horas 0h, 4 h, 8h y 12 h. (12) El estudio quedó diseñado para dos lotes y tres determinaciones por lote, para un número total de muestras del estudio (n= 88).

Se incluyó el estudio de trasportación diseñado para la determinación de los cambios físicos de la sustancia mediante diferentes movimientos en agitación, reposo, posición normal e invertida, que predicen el período de validez bajo condiciones de traslado. Se verificaron las condiciones detalladas para transporte que no afectaran la fecha de

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

caducidad del producto. Las temperaturas probadas fueron 37ºC, 4ºC y temperatura ambiente (TA). [12]

Las variables estudiadas fueron estabilidad, pH, características organolépticas, esterilidad, concentración de plaquetas, medición del volumen, medición en condiciones de movimiento, simulación de transporte y agregación de plaquetas. Se hizo un análisis de datos de las muestras en estudio. En el análisis estadístico se emplearon los estadígrafos F de Fisher y Q de Cochran para comparar los lotes del estudio según los elementos cuantitativos. Los análisis se realizaron en SPSS v 21.0.

La investigación fue aprobada por el Consejo Científico y el Comité de Ética del Hospital Universitario Manuel Ascunce Domenech y la Facultad de Estomatología de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Se respetaron los principios promulgados en la Declaración de Helsinki. [13]

Resultados

En la evaluación se pudo observar que todos los valores del pH en las muestras utilizadas variaron, pero nunca rebasaron los rangos de normalidad establecidos para esta variable. El estudio multivariado entre los lotes y dentro de los lotes arrojó valores de p del estadígrafo F de Fisher en 0.326, 0.633 y 0.651 para el pH en las temperaturas 37ºC, 4ºC y TA, respectivamente. Estos valores mayores de 0.05 permitieron afirmar que el pH en los lotes no tuvo una variación estadísticamente significativa. Los valores de p en 0.880, 0.750 y 0.998 para el pH en las temperaturas 37ºC, 4ºC y TA, respectivamente, permitieron plantear que el pH en las muestras no tuvo una variación estadísticamente significativa.

Tabla 1. Evaluación del pH en lotes de plasma rico en plaquetas activado con ozono

Horas	Temperatura

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

	37ºC		4ºC		Temperatura ambiente	
	M	DE	M	DE	M	DE
0	6,93	0,08	6,93	0,081	6,9	0,089
4	7,06	0,10	7,01	0,098	7,3	0,05
8	7,15	0,12	7,16	0,13	7,3	0,083
12	7,36	0,05	7,3	0,15	7,4	0,00

Leyenda: M: media, DE: desviación estándar.

En el análisis de las concentraciones de plaquetas, las horas de evolución y las temperaturas se pudo observar que la concentración de las plaquetas tiende a disminuir a medida que se incrementan las horas, pero nunca llega a valores insuficientes para su uso. A temperatura ambiente ocurrieron menos diferencia de concentración con el aumento de las horas.

Las medias de variabilidad (amplitudes y desviaciones estándar) se comportaron de igual forma en cada muestra según la temperatura, los mejores resultados se observaron a temperatura ambiente. Sin embargo, el estudio multivariado entre los lotes y dentro de los lotes arrojó valores de p en 0.713, 0.816 y 0.941 para las concentraciones de plaquetas en las temperaturas 37ºC, 4ºC y TA, respectivamente. Estos valores mayores de 0.05 permitieron afirmar que la concentración de plaquetas se comportó igual en los dos lotes, o sea, no tuvo una variación estadísticamente significativa.

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

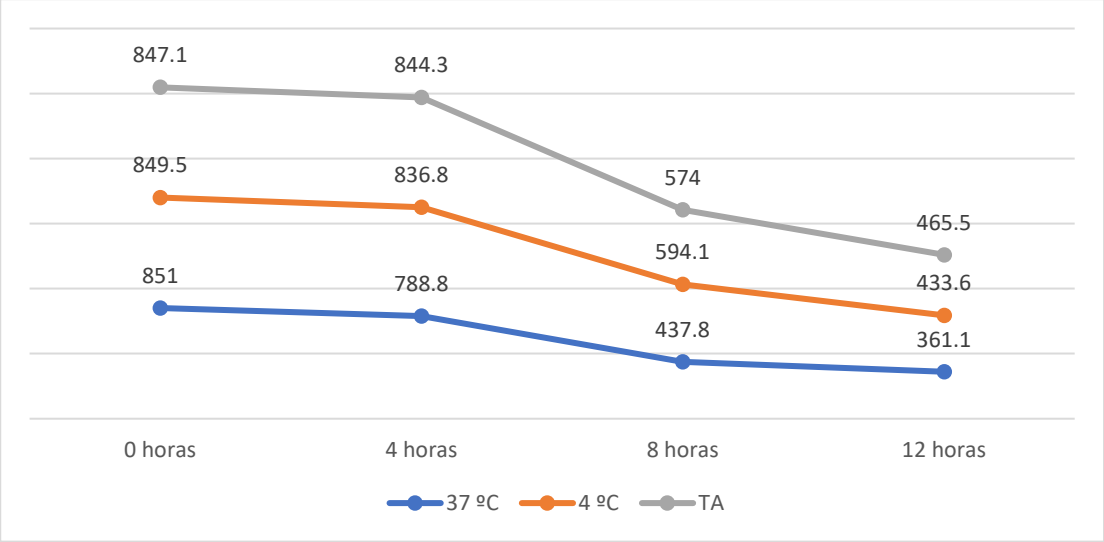

Fig. 1. Evaluación de la concentración de plaquetas en lotes de plasma rico en plaquetas activado con ozono.

Se obtuvieron valores de p en 0.997, 0.999 y 0.993 para las concentraciones de plaquetas en las temperaturas 37ºC, 4ºC y TA, respectivamente. Estos resultados mayores de 0.05 permitieron concluir que las concentraciones de plaquetas en las muestras no mostraron una variación estadísticamente significativa (se comportó igual en las seis muestras).

En el caso de la esterilidad existieron modificaciones del crecimiento con respecto a la temperatura. A los 37ºC y a TA hubo crecimiento, pero inferior al 5 % a TA y al 9 % a temperatura de 37 ºC. En la muestra expuesta a 4ºC no hubo crecimiento. Sin embargo, valores del estadígrafo Q de Cochran con p=0.174 aseguran que estos crecimientos no son estadísticamente significativos, por lo que se afirma que esta variable se comporta sin variación entre los lotes, dentro de los lotes, entre las muestras y dentro de las muestras.

En cuanto al estudio de las características organolépticas y medición del volumen se

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

pudo observar en todas las muestras en cada hora y todas las temperaturas, que no hubo variación en el 100 % de las muestras lo que demuestra la estabilidad en relación a estos parámetros. La prueba estadística no se realizó por considerar un uso irreflexivo dado el resultado del análisis.

En la investigación de transportación se evidenció que el PRP-O_3 se mantuvo sin variación a temperaturas refrigeradas (4ºC), con esterilidad, pH, volumen y concentración que se mantienen estables en el rango establecido.

Discusión

En el año 2013 la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social (AEMPS) reguló la utilización del PRP como medicamento de uso humano. [14]

El PRP es un hemoderivado con alto recuento de plaquetas, que se obtiene a partir de la centrifugación. Su definición señala al menos 2,5-1000 x10^3 plaquetas/µL suspendidas en plasma (de 2 a 7 veces el valor basal). Una menor concentración no tendrá efecto y mayor no incrementará la respuesta biológica, además podría tener efectos inhibitorios en la regeneración de heridas y disminuir la angiogénesis. [15]

Según plantea Schwartz et al., [5] la concentración de plaquetas, la técnica de obtención y la manipulación son algunas de las variables del uso de preparados de plaquetas que determinan su eficacia clínica. Se han reportado variaciones en la concentración de plaquetas que varían desde 2 a 8,5 veces el valor basal según los distintos métodos de obtención. Agrega además, que los valores que oscilan entre 3 a 5 veces la cifra basal son los requeridos para obtener los resultados óptimos.

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

La activación del PRP con ozono activa vías de señalización celular y síntesis de factores de crecimiento que estaban silentes, aumenta la capacidad de inmunomodulación de las señales antiinflamatorias (Il-10) y proinflamatorias (Il-1, Il-2, Il-6 y TNF alfa) y endorfinas β de curación. Esta combinación permite la síntesis proteica cuando se modifica el microambiente y además, el PRP-O_3 adquiere una capacidad regulatoria genómica y no genómica. Ambos activan por lo que actúan en la modulación de la inflamación y respuesta al daño tisular, además la producción y regeneración de matriz extracelular. [5,16]

Las disposiciones de las buenas prácticas para laboratorio de control de medicamentos y validación de métodos analíticos brindan los conocimientos generales para realizar la validación de un método analítico, por los requisitos para los estudios de estabilidad de productos farmacéuticos terminados, nuevos y conocidos. [17,18] La AEMPS y la Guía Española de Buenas Prácticas para la Preparación de Medicamentos en los Servicios de Farmacia Hospitalaria establecen que se debe conocer la estabilidad de un fármaco para que se cumplan los requerimientos de calidad. [14]

Anitua et al. [19] reportaron en la validación galénica del colirio de plasma rico en factores de crecimiento, que el proceso de obtención del PRP es aséptico, realizado o no en campana de flujo laminar. Concluyen que el pH de este colirio almacenado a temperaturas inferiores de 20°C durante tres y seis meses mantuvo valores de normalidad. En la presente investigación el pH se mantuvo dentro de los parámetros normales en todas las fases del estudio.

Un estudio de Quezada et al. [3] afirmó que el proceso de elaboración estabilidad del PRP se realiza de forma controlada y segura. Además de resaltar que se mantuvieron las propiedades físicas, químicos y biológicas bajo diferentes condiciones de temperatura de almacenamiento y en distintos tiempos.

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

En la investigación, el estudio de las características organolépticas y medición del volumen se observó en todas las muestras, en cada hora y todas las temperaturas, que no hubo variación en el 100 % de las muestras, lo que demuestra la estabilidad en relación a estos parámetros.

La combinación propuesta de PRP y ozono se mantuvo estable en las condiciones reales donde fue formulada y en el laboratorio, conservó las propiedades farmacológicas que avalan su empleo, por lo que se justifica su uso en estudios de intervención clínica.

En síntesis, la estabilidad del PRP-O_3, con un pH, características organolépticas y concentración de plaquetas adecuados, unido a la esterilidad, previamente demostrada, permiten recomiendar su uso en estudios de intervención clínica sobre todo en las primeras cuatro horas de la combinación.

Referencias bibliográficas

1. PAHO Organization. Anexo 5. Directrices para las pruebas de estabilidad de productos farmacéuticos que contienen sustancias medicamentosas bien establecidas en formas farmacéuticas corrientes. Paho Organization, 2008. [citado 10/11/24]. Disponible en: https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2008/5_Anexo_5_del_informe_34.pdf
2. Barrueco N, Escobar Rodríguez I, García Díaz B, Gil Alegre ME, López Lunar E, Ventura Valares MG. Estabilidad de medicamentos en la práctica clínica: de la seguridad a la eficiencia. Farm Hosp. 2013; 37(3):175-7. DOI: https://dx.doi.org/10.7399/FH.2013.37.3.587.
3. Quesada-Leyva L, Quintana-Verdecia E, Nicolau-Pestana E, Brunet-Bernal G, Fuentes-Díaz Z, Hernández-Rodríguez M. Estabilidad del plasma rico en plaquetas

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

obtenido en sistema abierto. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2023 [citado 14/11/24]; 39(1):e1795. Disponible en: https://revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/1795

4. Collins T, Alexander D, Barkatali B. Plasma rico en plaquetas: una revisión narrativa. EFORT Open Rev. 2021; 6(4):225- 35. DOI: https://doi.org/10.1302/2058-5241.6.200017.
5. Schwartz A, Martínez Sánchez G. Re-L. Factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potencialidades en el uso de ozono como activador. Rev Española Ozonoter. 2011 [citado 14/11/24]; 1(1):154-73. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3658622.
6. Gutiérrez IQ, Sábado-Bundó H, Gay-Escoda C. Intraarticular injections of platelet rich plasma and plasma rich in growth factors with arthrocenthesis or arthroscopy in the treatment of temporomandibular joint disorders: A systematic review. J Stomatol Oral Maxillofac Surg. 2022; 123(5):e327-35. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jormas.2021.12.006.
7. Valacchi G, Bocci V. Estudios sobre los efectos biológicos del ozono: 10. Liberación de factores de plaquetas humanas ozonizadas. Mediadores Inflamm. 1999; 8(4-5):205-9. DOI: https://doi.org/10.1080/09629359990360.
8. Rowen RJ. Ozonoterapia como tratamiento primario y único para la infección bacteriana aguda: reporte de un caso. Res Med Gas. 2018; 8(3):121-4. DOI: https://doi.org/10.4103/2045-9912.241078.
9. Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED). Regulación M 83-15. Requisitos para el registro sanitario de productos biológicos de uso humano. La Habana: CECMED; 2015. [citado 16/07/24]. Disponible en:

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

https://www.cecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/regulacion_requisito s_registro_sanitario_biologicosmod.pdf

10. Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED). Buenas prácticas para la fabricación de productos biológicos. La Habana: CECMED; 2020. [citado 16/07/24] Disponible en: https://www.cecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/ResRegBPFpb.pdf
11. Instituto de Normalización. NC ISO 23640:2018. Dispositivos médicos para diagnóstico in vitro. Evaluación de la estabilidad de los reactivos para diagnóstico In Vitro. Instituto de Normalización. 2018. [citado 16/07/24]Disponible en: https://documents.pub/document/dispositivos-mdicos-para-diagnstico-in-vitro.html?page=4
12. Regulación No. 25-2000. Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos biológicos y biotecnológicos. (Documento regulatorio). La Habana: Centro para el Control Estatal de los Medicamentos (Cecmed); 2004. [citado 16/07/24] Disponible en: https://www.cecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/Reg_25-00.pdf
13. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. JAMA. 2013;310(20):2191-4. DOI: https://10.1001/jama.2013.281053
14. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar social. Informe/VI/23052013. Resolución por la que se establece la clasificación del uso terapéutico no sustitutivo del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados, como medicamentos de uso humano

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

para atender necesidades especiales. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar social. España, 2013. [citado 16/07/24]. Disponible en: https://www.aemps.gob.es/legislacion/espana/medicamentosUsoHumano/docs/medEspeciales/resolucion-PRP.pd

15. Castro-Piedra, Silvia E., Arias-Varela, Karla A. Actualización en plasma rico en plaquetas. Acta méd. costarric. 2019; 61(4):42-51. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022019000400142&lng=en
16. Venegas Flores M. Biorregeneración en infertilidad con el uso de Ozono y PRP Ozonizado: Revisión de la literatura y reporte de dos casos. Ozone Ther Global J. 2022 [citado 16/10/24]; 12(1):151-69. Disponible en: http://revistaespañoladeozonoterapia.es/index.php/reo/article/view/258/240
17. Regulación M 23-24. Requisitos para los estudios de estabilidad de productos farmacéuticos terminados nuevos y conocidos. La Habana: CECMED; 2024. [citado 16/11/24] Disponible en: https://www.cecmed.cu/reglamentacion/aprobadas
18. Reglamento técnico centroamericano. Productos Farmacéuticos. Estudios de estabilidad de medicamentos para uso humano. Anexo de la resolución No 256-2010. COMIECO; 2010. [citado 16/07/24]. Disponible en: https://arsa.gob.hn/public/archivos/ESTUDIOS-DE-ESTABILIDAD-DE-MEDICAMENTOS-PARA-USO-HUMANO.-RTCA11.01.04-10.pdf
19. Anitua E, Muruzábal F, Riestra A, de la Fuente M, Merayo-Lloves J. Validación galénica del colirio de plasma rico en factores de crecimiento. Farm Hosp. 2019 [citado 16/10/24];43(2):45-9. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130634320190002000045&lng=es

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES

Declaración de conflictos de intereses

Los autores no declaran conflictos de intereses.

Contribución de autoría

Conceptualización: Reynier Ramírez Suarez, Gretel Mosquera Betancourt

Curación de datos: Reynier Ramírez Suarez, Lidyce Quesada Leyva, Elizabeth Nicolau Pestana, Gretel Mosquera Betancourt

Análisis formal: Reynier Ramírez Suarez, Lidyce Quesada Leyva, Elizabeth Nicolau Pestana, Gretel Mosquera Betancourt

Investigación: Reynier Ramírez Suarez, Lidyce Quesada Leyva, Elizabeth Nicolau Pestana, Gretel Mosquera Betancourt

Metodología: Reynier Ramírez Suarez, Lidyce Quesada Leyva, Elizabeth Nicolau Pestana,

Recursos: Reynier Ramírez Suarez, Lidyce Quesada Leyva, Elizabeth Nicolau Pestana,

Supervisión: Reynier Ramírez Suarez, Lidyce Quesada Leyva,

Validación: Reynier Ramírez Suarez, Lidyce Quesada Leyva,

Visualización: Reynier Ramírez Suarez,

Redacción – borrador original: Reynier Ramírez Suarez, Elizabeth Nicolau Pestana,

Redacción – revisión y edición: Reynier Ramírez Suarez, Gretel Mosquera Betancourt

Esta obra está bajo una licencia https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es ES