
Reporte Original

Valor diagnóstico de la electroforesis de proteínas y cadenas ligeras libres en suero en el mieloma múltiple

Diagnostic value of serum protein electrophoresis and free light chains in the multiple myeloma's diagnosis

Yudania Reyes Cepero^{1*}. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3425-4637>

Edisley Zaila Lago¹. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3011-1022>

Angel Aquino Perna². ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3081-6276>

Gloritza Rodríguez Matos¹. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7082-3219>

Abel Alfonso Aquino Reyes¹. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9923-0452>

Gerónimo Herrera Mendoza¹. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7296-7219>

¹Hospital General Provincial Camilo Cienfuegos, Sancti Spíritus, Cuba.

²Universidad de Sancti Spíritus “José Martí Pérez”, Sancti Spíritus, Cuba.

*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: yudaniar@infomed.sld.cu

RESUMEN

Fundamento: La electroforesis de proteínas y las cadenas ligeras libres en suero son técnicas utilizadas en el diagnóstico del mieloma múltiple. Sin embargo, la utilidad diagnóstica de ambas pruebas puede variar según el método empleado y condiciones reales del medio donde se realicen.

Objetivo: Determinar el valor diagnóstico de la electroforesis de proteínas y de las cadenas ligeras libres en suero en el mieloma múltiple.

Metodología: Se realizó un estudio retrospectivo de los parámetros electroforesis de proteínas en suero y cadenas ligeras libres en suero a 43 pacientes con diagnóstico de mieloma múltiple por evaluación de la médula ósea. La electroforesis de proteínas se realizó por el método convencional de separación de proteínas sobre papel de acetato de celulosa y para las cadenas ligeras libres se aplicó un ensayo inmunoturbidimétrico en el que se usó un analizador químico (Cobas 311). Se calcularon 7 parámetros que evaluaron la exactitud diagnóstica.

Resultados: Todos los parámetros que evaluaron la exactitud diagnóstica estuvieron dentro de los intervalos de confianza en ambas pruebas.

Conclusiones: La electroforesis de proteínas y las cadenas ligeras libres en suero son ensayos de gran utilidad en el diagnóstico del mieloma múltiple y se deben utilizar en conjunto para la mayor captación posible de casos.

DeCS: MIELOMA MÚLTIPLE/diagnóstico; ELECTROFORESIS DE LAS PROTEÍNAS SANGUÍNEAS; ELECTROFORESIS EN ACETATO DE CELULOSA; CADENAS LIGERAS KAPPA DE INMUNOGLOBULINAS; EXACTITUD DE LOS DATOS.

Palabras clave: Mieloma múltiple y diagnóstico; electroforesis de las proteínas sanguíneas; electroforesis en acetato de celulosa; cadenas ligeras libres en suero; exactitud diagnóstica.

ABSTRACT

Background: Protein electrophoresis and serum free light chains are techniques used in the diagnosis of multiple myeloma. However, the diagnostic utility of both tests may vary according to the method used and the actual conditions of the environment where they are performed.

Objective: To determine the diagnostic value of protein electrophoresis and serum free light chains in multiple myeloma.

Methodology: A retrospective study of serum protein electrophoresis parameters and serum free light chains was conducted in 43 patients diagnosed with multiple myeloma by bone marrow evaluation. Protein electrophoresis was completed by the conventional method of protein separation on cellulose acetate paper and for free light chains an immunoturbidimetric assay was applied in which a chemical analyzer (Cobas 311) was used. Seven parameters were calculated to evaluate diagnostic accuracy.

Results: All parameters assessing diagnostic accuracy were within confidence intervals in both tests.

Conclusions: Protein electrophoresis and serum free light chains are very useful assays in the diagnosis of multiple myeloma and should be used in conjunction for the highest possible approval of cases.

MeSH: MULTIPLE MYELOMA/diagnosis; BLOOD PROTEIN ELECTROPHORESIS; ELECTROPHORESIS CELLULOSE ACETATE; IMMUNOGLOBULIN KAPPA-CHAINS; DATA ACCURACY.

Keywords: Multiple myeloma and diagnosis; blood protein electrophoresis; cellulose acetate electrophoresis; serum free light chains; diagnostic accuracy.

INTRODUCCIÓN

El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia maligna en médula ósea que se caracteriza por la proliferación anormal de un clon de células plasmáticas, las cuales en la mayoría de los casos sintetizan y secretan inmunoglobulinas (proteína M) que pueden diferir de las normales en cuanto a tamaño y secuencia de aminoácidos detectándose en el suero y la orina. De forma habitual causa destrucción esquelética extensa e insuficiencia renal, entre otras afectaciones. Representa el 1 % de todas las neoplasias y el 2 % de las muertes por cáncer. Constituye el 13 % las hemopatías malignas (segunda más frecuente) y provoca el 20 % de las muertes por neoplasias hematológicas.⁽¹⁾

Entre las pruebas que recomienda el grupo internacional de trabajo para el diagnóstico de MM se encuentra la electroforesis de proteínas en suero; un método de laboratorio que permite el diagnóstico de las gammopatías monoclonales; observándose en el 80 % de los casos un pico M quedando casi un 20 % de los enfermos sin identificar.^(2,3) Otro ensayo que es de gran utilidad en poner en evidencia otras variantes de la enfermedad es la prueba de cadenas ligeras libres en suero; sin embargo, la literatura revisada es contradictoria pues algunos autores plantean que la prueba tiene un alto porcentaje de falsos positivos y negativos y otros afirman que tienen un 100 % de sensibilidad y especificidad.⁽⁴⁻⁷⁾

Teniendo en cuenta que las decisiones clínicas se basan de la información obtenida de los pacientes mediante procedimientos diagnósticos y que los valores de los parámetros que comprenden la exactitud de una prueba pueden variar según el método empleado, condiciones reales del medio donde se realicen, interpretación del personal que la realice y por último del grado y prevalencia de la enfermedad en la población;^(8,9) el presente estudio tiene como objetivo determinar el valor diagnóstico de la electroforesis de proteínas en suero y de las cadenas ligeras libres en suero en el mieloma múltiple.

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio retrospectivo de los biomarcadores electroforesis de proteínas y de las cadenas ligeras libres en suero procedentes de 43 pacientes con sospecha de MM. A estos se les realizó estudio de la aspiración de médula ósea (usada como estándar de referencia por el grupo internacional de trabajo para el diagnóstico de mieloma múltiple) en el Hospital General Provincial Camilo Cienfuegos durante el período enero 2018-enero 2020. Se consideraron enfermos y no enfermos aquellos que tenían un 10 % o más y menos del 10 % de células plasmáticas en médula ósea respectivamente; siendo esta la evidencia clave para el diagnóstico de MM.

Los criterios de inclusión fueron pacientes con presencia de una proteína monoclonal en la electroforesis de proteínas en suero, valores de cadenas ligeras libres en suero por encima de los de referencias, además que cumplieran con uno o más de los siguientes criterios clínicos: datos de lesión orgánica atribuible al trastorno de células plasmáticas subyacentes, específicamente hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia o lesiones óseas. Se excluyó a pacientes con diagnóstico

previo de la enfermedad y que habían recibido tratamiento médico que pudiera alterar los valores de los ensayos en suero.

La técnica de electroforesis de proteínas en suero se realizó con el método convencional de separación de proteínas sobre papel de acetato de celulosa; luego las fracciones fueron teñidas y cuantificadas (g/L). La presencia de un pico M en la región gamma globulina clasificó como positiva y la ausencia como negativa la prueba.

Para la cuantificación de las cadenas ligeras libres en suero se usó un ensayo inmunoturbidimétrico con reactivos suministrados por la firma alemana Roche en un analizador químico (Cobas Integra); los resultados con valores por encima de los de referencias (κ : 3.30 - 19.40 mg/L y λ : 5.71 - 26.30 mg/L) clasifican como positivos y negativos los que estaban dentro del rango.

Las variables utilizadas para la evaluación de la exactitud diagnóstica de ambas pruebas fueron: sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), razón de verosimilitud positiva (RVP) y razón de verosimilitud negativa (RVN) y eficiencia diagnóstica (ED); las cuales se calcularon con el sistema de computación estadístico SISA para un 95 % de confiabilidad.

Los datos y resultados se representaron en tablas y gráficos. Los indicadores se expresaron en porcentajes excepto las RVP y RVN que son cocientes opuestos.

RESULTADOS

La información obtenida se expresa en dos tablas clásicas de contingencia de 2 x 2, en la cual aparecen en las columnas la presencia o ausencia de enfermedad para MM determinada por el medulograma y en las filas el número de casos positivos o negativos según la prueba diagnóstica evaluada (Tabla 1 y 2). Ninguna de las dos fue capaz de identificar a todos los enfermos; aunque las cadenas ligeras libres en suero tienen menor probabilidad de equivocarse cuando un resultado es positivo o negativo.

Tabla 1. Pacientes positivos y negativos según la electroforesis de proteínas en suero durante el período enero 2018-enero 2020.

EPs	Estándar de referencia (Medulograma)		
	Enfermos	No enfermos	Total
Positivas	29	5	34
Negativas	2	7	9
Total	31	12	43

EPs: Electroforesis de proteínas en suero.

Tabla 2. Pacientes positivos y negativos según las cadenas ligeras libres en suero durante el período enero 2018-enero 2020.

CLLs	Estándar de referencia (Medulograma)		
	Enfermos	No enfermos	Total
Positivas	30	2	32
Negativas	1	10	11
Total	31	12	43

CLLs: Cadenas ligeras libres en suero.

El valor más alto fue la sensibilidad de las cadenas ligeras libres en suero; un 4 % de los pacientes con MM resultó negativo a la prueba y el más bajo fue la especificidad de la electroforesis de proteínas en suero; casi la mitad de los casos sin identificar por este método. El valor predictivo negativo fue mayor que el valor predictivo positivo en las cadenas ligeras libres en suero y lo contrario sucedió en la electroforesis de proteínas en suero. La de mayor eficiencia diagnóstica fue las cadenas ligeras libres en suero debido a que esta prueba obtuvo valores mejores en todos los estadígrafos. (Tabla 3)

Tabla 3. Parámetros que evaluaron la exactitud diagnóstica de las pruebas electroforesis de proteínas y de las cadenas ligeras libres en suero durante el período enero 2018-enero 2020.

Parámetros	EPs	IC 95 %	CLLs	IC 95 %
Sensibilidad	93.5 %	77.2-98.9	96.8 %	81.5-99.8
Especificidad	58.3 %	28.6-83.5	83.3 %	50.9-97.1
VPP	85.3 %	68.2-94.5	93.8 %	77.8-98.9
VPN	77.8 %	59.8-89.5	90.9 %	74.2-97.7
RVP	2.2	1.1-4.4	5.8	1.6-20.6
RVN	0.1	0.0-0.4	0.0	0.0-0.3
ED	84.0 %	68.7-92.7	93.0 %	79.9-98.2

EPs: Electroforesis de proteínas en suero. CLLs: Cadenas ligeras libres en suero. IC 95 %: Intervalos de Confianza al 95 %. VPP: Valor Predictivo Positivo. VPN: Valor Predictivo Negativo. RVP: Razón de Verosimilitud Positiva. RVN: Razón de Verosimilitud Negativa. ED: Eficiencia Diagnóstica.

DISCUSIÓN

En la evaluación de un test los índices con resultados que igualan o superan el 80 % son óptimos y aquellos cuyo valor en porcentaje es menor del 50 % indicarían que el test es más engañoso que certero y su utilidad será 0. ⁽⁹⁾

La sensibilidad y la especificidad son parámetros intrínsecos a la prueba, permiten valorar la validez de una prueba diagnóstica, independientemente de cuál sea la prevalencia de la enfermedad en la población a la cual se aplica y carecen de utilidad en la práctica clínica. ⁽⁸⁾

El ensayo de cadenas ligeras libres en suero demuestra tener mayor S (96.8 %), que la electroforesis de proteínas en suero (93.5 %); por tanto, los valores saldrían alterados a partir de que en la médula ósea comenzara a haber alteraciones en la producción de células plasmáticas. Aunque la S es la probabilidad de que si hubiera enfermedad el test sería positivo, su mejor utilidad será cuando resulte negativa la prueba, por tanto puede ser mucho más confiable la negatividad de las cadenas ligeras libres en suero que la de electroforesis de proteínas en suero; debido a que la S de esta última resulta limitada: es incapaz de detectar proteína monoclonal en concentraciones por debajo de 0.4 mg/L niveles frecuentemente encontrados en casos de mieloma múltiple (MM) de cadenas ligeras libres en suero o Bence-Jones (MMBJ). Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros investigadores ^(10,11) quienes concluyen que en el panel de las gammapatías monoclonales el ensayo de cadenas ligeras libres en suero ha demostrado aportar una mayor sensibilidad para la detección del componente monoclonal. En contraste con estos resultados Pedroza Vázquez A, et al. ⁽¹²⁾ encontraron mayor sensibilidad en la electroforesis de proteínas. Singh KK, et al. ⁽⁶⁾ plantean que en las gammapatías policlonales hay una gran producción de inmunoglobulinas acompañada de un exceso de cadenas ligeras libres sin evidencia de clonalidad aún cuando la función renal es normal, lo cual pudiera explicar los dos falsos positivos encontrados en la prueba de cadenas ligeras libres en suero. También se ha reportado que este ensayo se ve afectado por la polimerización y agregación de las cadenas ligeras libres en suero y es una dificultad para que el anticuerpo no pueda identificar los sitios específicos del antígeno; ⁽⁴⁾ lo que pudiera explicar el falso negativo encontrado. La especificidad resulta ser un 25 % superior en la determinación de cadenas ligeras libres con respecto a la electroforesis de proteínas (83.3 % y 58.3 % respectivamente). Esta es la probabilidad de que si no hubiera enfermedad el test sea negativo; por lo que su mejor utilidad será cuando el test sea positivo, porque al haber pocos falsos de este tipo, se estará ante una confirmación muy confiable de la enfermedad y se debe elegir primero cuando lo que se busca es una confirmación de lo que se espera; resultados similares fueron hallados por Pedroza Vázquez A, et al. ⁽¹²⁾ Singh G. ⁽⁵⁾ encontró que el número de falsos negativos es alto. La E baja de la electroforesis de proteínas puede deberse a que existen otras enfermedades que causan aumento monoclonal de las gammaglobulinas como son la macroglobulinemia de Waldenstrom, la leucemia linfocítica crónica, las enfermedades de cadenas pesadas, las crioglobulinemias, las amiloidosis, entre otras. ⁽¹³⁾ En este tipo de enfermedad de baja prevalencia, se busca una muy alta E (muy baja fracción de falsos positivos), ya que se pretende evitar los falsos positivos, en cuyos casos su estudio proseguirá con

exámenes más costosos e invasivos. Estas variaciones de la S y E pueden deberse al grado de la enfermedad, método empleado y las condiciones reales del medio donde se realicen.

Los VPP y VPN varían con la prevalencia y son los que sientan o descartan finalmente el diagnóstico; si la prevalencia de la enfermedad aumenta también lo hace el valor predictivo positivo mientras que disminuye el valor predictivo negativo, correlación esta que se pudo constatar cuando analizamos los ensayos por separados. El VPP es mayor que el VPN en la electroforesis de proteínas (85.3 % y 77.8 % respectivamente) debido a que hay una mayor prevalencia de la variedad de MM que secretan la paraproteína completa; en cambio la prueba de cadenas ligeras libres demuestra valores superiores en el VPN (94 %) con respecto al VPP (93 %) ya que el número de pacientes con aumento en la secreción de cadenas ligeras libres en el MM es menor. ⁽¹³⁾ En otras investigaciones se determinó que las cadenas ligeras libres tenían un VPP del 100 % y un VPN del 14.8 %. ^(11,12) Es necesario aclarar que los VPP y VPN son parámetros más relevantes que la S y la E cuando los pacientes están siendo estudiados, pero tampoco son exportable de un contexto a otro; estos no pueden ser utilizados como índices en el momento de comparar dos métodos diagnósticos diferentes, ni tampoco cuando se extrapolan los resultados de otros estudios a datos propios. Por ello, resulta necesaria la valoración de otros índices como son las RVP y RVN.

Las RVP y RVN son los parámetros más útiles para evaluar una prueba diagnóstica, ya que no dependen de la prevalencia, esto permite utilizarlos como índices de comparación entre diferentes pruebas para un mismo diagnóstico) y son aplicables para la toma de decisión clínica del paciente. Estos dos índices son la mejor expresión de la S y E y tienen en cuenta a la vez la salud y la enfermedad; mientras más se aleja de 1 hacia infinito en el caso de la RVP o se acerca a 0 en la RVN, mejor será el cociente y la información que aporte la prueba. En el presente estudio la RVP que más se aleja de 1 pertenece a las cadenas ligeras libres (5.8), es decir, la probabilidad de hallar un resultado positivo en un enfermo es 5.8 veces más que en un sano; en cambio cuando se realiza la electroforesis de proteínas, la probabilidad de hallar un resultado positivo en un enfermo es 2.2 veces más que en un sano. Convencionalmente se considera que la prueba es útil al ser la RVP ≥ 2 y muy útil si RVP ≥ 10 . ⁽⁸⁾ La RVN que más se acerca a 0 es también la de las cadenas ligeras libres (0.0), por tanto, es menos probable hallar un resultado negativo en un enfermo que en un sano cuando lo comparamos con el ensayo de la electroforesis de proteínas (0.1) donde la probabilidad de obtener un resultado negativo en un enfermo que en un sano es mayor. Si la RVN < 0.5 se considera que la prueba es útil y muy útil si la RVN < 0.1 . ⁽⁸⁾ Teniendo en cuenta lo anteriormente planteado podemos decir que la que más detecta correctamente la presencia o ausencia de la enfermedad es las cadenas ligeras libres en suero.

La ED resulta ser superior en cadenas ligeras libres (93 %) que en la electroforesis de proteínas (84 %), o sea, el ensayo es más eficiente en dar resultados válidos positivos y negativos lo que evitaría intervenciones posteriores agresivas e innecesarias y que queden enfermos inadvertidos. Pedroza Vázquez A, et al. ⁽¹²⁾ reportaron valores similares. Lippi G, et al. ⁽¹⁴⁾ refieren que la mayoría de las publicaciones sobre biomarcadores están enfocadas en el estudio de la eficiencia diagnóstica en vez

de eficacia clínica; siendo esta última lo que necesita el médico, por lo que se debería tener en cuenta para futuras investigaciones.

En los estudios de pruebas diagnósticas, uno de los posibles sesgos inherentes al diseño es el de selección que se da cuando existe una relación entre el resultado de la prueba y la probabilidad de ser incluido en la población lo que puede ocasionar una sobreestimación de la sensibilidad o de la especificidad ⁽⁸⁾ y esto ocurre en el presente estudio.

CONCLUSIONES

El resultado del estudio proporciona evidencias que apoyan que ambos métodos son de valor en el diagnóstico del MM; también se debe tener presente que ninguna técnica permitió, por sí sola, el diagnóstico de todas las variantes de esta enfermedad; cada una tiene su espacio vital donde es útil, por lo que se deben utilizar en conjunto para la mayor captación posible de casos. Además, no existe un parámetro guía útil para evaluar la validez aceptable de un método diagnóstico; esto depende de la enfermedad estudiada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kumar SK, Rajkumar V, Kyle RA, van Duin M, Sonneveld P, Mateos M-V, et al. Multiple myeloma. Nat Rev Dis Primer [Internet]. 2017 [cited 2020 Jul 28];10:1-21. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.01243/full>
2. Singh G. Oligoclonal Pattern/Abnormal Protein Bands in PostTreatment Plasma Cell Myeloma Patients: Implications for Protein Electrophoresis and Serum Free Light Chain Assay Results. J Clin Med Res [Internet]. 2017 [cited 2020 Jul 28];9(8):671-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5505303/pdf/jocmr-09-671.pdf>
3. Mesa Sierra M, Jaramillo Arbeláez PE, Díaz L, Galvez K. Cadenas ligeras libres en suero en el diagnóstico de Gammopatías Monoclonales. Rev Avances en Salud [Internet]. 2019 [citado 15 Ene 2021];153(2):42-53. Disponible en: <https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/avancesalud/article/view/1861/2267>
4. Singh G. Serum Free Light Chain Assay and K/ λ Ratio: Performance in Patients With Monoclonal Gammopathy-High False Negative Rate for K/ λ Ratio. J Clin Med Res [Internet]. 2017 [cited 2020 Jan 15];9(1):46-57. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5127215/pdf/jocmr-09-046.pdf>
5. Singh G. Serum Free Light Chain Assay and j/k Ratio Performance in Patients Without Monoclonal Gammopathies High False-Positive Rate. Am J Clin Pathol [Internet]. 2016 [cited 2020 Jan 15];146(2):207-14. Available from: <https://academic.oup.com/ajcp/article/146/2/207/1730908>
6. Singh KK, Silverman M, Farooq U, Tricot A, Dozeman L, Nadiminti K, et al. Potential pitfalls of serum free light chain analysis to assess treatment response for multiple myeloma. Br J Hematol [Internet]. 2016 [cited 2020 Jan 15];174(4):536-40. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/bjh.14081>
7. Heaney J, Campbell JP, Yadav P, Griffin AE, Shemar M, Pinney JH, et al. Multiple myeloma can be accurately diagnosed in acute kidney injury patients using a rapid serum free light chain test. BMC Nephrology [Internet]. 2017 [cited 2020 Jul 28];18(1):2-8. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5520226/pdf/12882_2017_Article_661.pdf
8. Díaz-García L, Medina-Vera I, García-de la Puente S, González-Garay A, Murata C. Estudios de exactitud diagnóstica. Acta Pediatr Mex [Internet]. 2019 [citado 2020 Ene 15];40(6):342-57. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/actpedmex/apm-2019/apm196e.pdf>
9. Revethan R. Sensitivity, Specificity, and Predictive Values: Foundations, Pliabilities, and Pitfalls in Research and Practice. Front Public Health [Internet]. 2017 [cited 2020 Jan 15];5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5701930/pdf/fpubh-05-00307.pdf>
10. Pizarro R, Samanez C, Cartolin M, Delgado F. Efecto de la medición de cadenas ligeras libres en suero en el diagnóstico de gammopatías monoclonales; experiencia en Perú. Rev Hematol Mex [Internet]. 2016 [citado 15 Ene 2021];17(2):99-106. Disponible en: www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2016/re162e.pdf

11. Dejoie T, Corre J, Caillon H, Hulin C, Perrot A, Caillot D, et al. Serum free light chains, not urine specimens, should be used to evaluate response in light-chain multiple myeloma. Blood [Internet]. 2016 [cited 2020 Jan 15];128(25):2941-8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5179336/>
12. Pedroza Vázquez A, Zamora Palma A. Utilidad de pruebas de laboratorio en el diagnóstico de mieloma múltiple. Rev Mex Patol Clin Med Lab [Internet]. 2015 [citado 15 Ene 2021];62(1):55-62. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2015/pt151i.pdf>
13. Singh G. Serum and Urine Protein Electrophoresis and Serum-Free Light Chain Assays in the Diagnosis and Monitoring of Monoclonal Gammopathies. J Appl Lab Med [Internet]. 2020 [cited 2020 Dec 20];5(6):1358-71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33150391>
14. Lippi G, Mattiuzzi C. The biomarker paradigm: between diagnostic efficiency and clinical efficacy. Pol Arch Med Wewn [Internet]. 2015 [cited 2020 Dec 20];125(4):282-8. Available from: <http://pamw.pl/en/node/2788/pdf>

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés en esta investigación.

Contribución de autoría

YRC: Conceptualización, curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, administración del proyecto, recursos, supervisión, validación, redacción, revisión y aprobación final del manuscrito.

EZL: Contribuyó con la curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, administración del proyecto y recursos, redacción, revisión y aprobación final del manuscrito.

AAAP, GRM, GHM, AAAR: Participaron en la metodología, supervisión, validación, redacción, revisión y aprobación final del manuscrito.

Recibido: 06/08/2021

Aprobado: 06/01/2022



Esta obra está bajo una [licencia de Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)