

## Theoretical references for the Comprehensive General Medicine specialist

### Referentes teóricos para la formación del tutor de Medicina General Integral

Aimé González Santiesteban<sup>1</sup>  , Lázaro Velazco Brito<sup>2</sup>  , Yuneysi González Barrera<sup>3</sup>  

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Médicas de Artemisa, Departamento Ciencias Básicas. Artemisa, Cuba.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Médicas de Artemisa, Departamento Ciencias Básicas. Artemisa, Cuba.

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias Médicas de Artemisa, Departamento Ciencias Básicas. Artemisa, Cuba.

Citar como: González Santiesteban A, Velazco Brito L, González Barrera Y. Animal experimental models in the study of nutrition. SCT Proceedings in Interdisciplinary Insights and Innovations. 2023;1:60.<https://doi.org/10.56294/piii202360>

Recibido: 16-12-2023

Revisado: 24-02-2024

Aceptado: 04-04-2024

Publicado: 05-04-2024

Editor: Rafael Romero-Carazas 

#### ABSTRACT

**Introduction:** Nutrition is a biological expression of the harmonious integration of all the systems present in the body. The impetuous development of science and the progress in the successful treatment of pathologies with high morbidity and mortality, demonstrates the necessary use and development of clinical trials prior to the use of new therapeutic proposals. For ethical reasons, these tests are preceded by research in experimental models of laboratory animals, which is why the validation of these models that allow progress in these studies in humans acquires greater interest every day. **Objective:** Describe the essential aspects in the design and analysis of experimental models carried out in the study of nutrition. **Methods:** A systematic bibliographic review was carried out to describe the experimental models carried out in the study of nutrition, where these were considered to opt for the title of 1st Degree specialist in Normal and Pathological Physiology, as well as original and review articles published between 2013 and 2023 in English and Spanish. The search was carried out in the SciELO and Google Scholar databases in September 2023. **Development:** Several models of malnutrition produced by different causes and of nutritional recovery have been developed, which have served in the research of therapeutic proposals. **Conclusions:** The use of the experimental models designed allowed us to know the alterations produced in the nutritional status in the different malnutrition and recovery schemes as well as the response of applied therapeutic principles.

**Keywords:** Nutrition, Small Intestine, Malnutrition, Wistar Rats.

#### RESUMEN

**Introducción:** La Nutrición es una expresión biológica de la integración armónica de todos los sistemas presentes en el organismo. El desarrollo impetuoso de las ciencias y el avance en el tratamiento exitoso de patologías de alta morbi-mortalidad, patentiza el necesario uso y desarrollo de ensayos clínicos previos a la utilización de nuevas propuestas terapéuticas. Estos ensayos por razones éticas están precedidos de investigaciones en modelos experimentales de animales de laboratorio, por lo que cada día adquiere mayor interés la validación de estos modelos que permiten el avance en estos estudios en

humanos. **Objetivo:** Describir los aspectos esenciales en el diseño y análisis de los modelos experimentales realizados en el estudio de la nutrición. **Métodos:** Se realizó una revisión bibliográfica sistemática para describir los modelos experimentales realizados en el estudio de la nutrición, donde se consideraron tesis para optar por el título de especialista de 1er Grado en Fisiología Normal y Patológica, así como artículos originales y de revisión publicados entre 2013 y 2023 en inglés y español. La búsqueda fue realizada en las bases de datos SciELO y Google Académico en septiembre de 2023. **Desarrollo:** Se han desarrollado varios modelos de desnutrición producidos por diferentes causas y de recuperación nutricional, que han servido en la investigación de propuestas terapéuticas. **Conclusiones:** La utilización de los modelos experimentales diseñados permitió conocer las alteraciones producidas del estado nutricional en los diferentes esquemas de desnutrición y recuperación así como la respuesta de principios terapéuticos aplicados. **Palabras clave:** Nutrición, Intestino Delgado, Malnutrición, Ratas Wistar.

## INTRODUCCIÓN

La Nutrición es una expresión biológica de la integración armónica de los sistemas del organismo. Los trastornos de la nutrición constituyen problemas de salud tanto por exceso como por defecto, con el costo de miles de vidas. Pueden ser agudos o crónicos dependiendo de su reversibilidad, de las causas e intensidad de los daños. <sup>(1)</sup>

El desarrollo impetuoso de la ciencia y su aparejado avance en el tratamiento exitoso de muchas patologías causas de morbi-mortalidad apunta cada vez más al desarrollo de los ensayos clínicos previos a la utilización de nuevas propuestas terapéuticas.<sup>(2)</sup> Estos ensayos por razones éticas deben ser precedidos de investigaciones en modelos experimentales de animales de laboratorio, base de la investigación aplicada en la biomedicina, y la validación de estos modelos favorece el avance en el estudio y tratamiento de trastornos en los humanos.

En los modelos experimentales se utiliza la rata albina (Wistar) de fácil manipulación, buen control de la alimentación, resistencia, adecuado comportamiento nutricional, estabilidad reproductiva, y poca incidencia de canibalismo, además muy utilizada en investigaciones de nutrición por su semejanza con el humano en cuanto a funcionamiento intestinal y las ventajas económicas que reporta. En su mayoría son machos por ser más estables biológicamente. <sup>(3)</sup> El tratamiento de los animales cumple las exigencias y regulaciones éticas vigentes en la actualidad tanto nacional como internacionalmente. <sup>(4)</sup>

Se han desarrollado varios modelos de desnutrición producidos por diferentes causas y de recuperación nutricional, que han servido en la investigación de propuestas terapéuticas. Entre ellos:

- desnutrición por restricción alimentaria (cuantitativa)
- recuperación nutricional de desnutrición restrictiva
- intestino corto (cualitativa)
- crecimiento intrauterino retardado (cualitativa)

Los estudios experimentales tienen gran importancia porque permiten evaluar los efectos de cualquier intervención, ya sea preventiva, curativa o rehabilitadora.

Todo lo anterior fue motivación para la realización del trabajo que tiene como objetivo describir los aspectos esenciales en el diseño y análisis de los modelos experimentales realizados en el estudio de la nutrición.

## MÉTODO

Se realizó una revisión bibliográfica sistemática para describir los modelos experimentales realizados en el estudio de la nutrición, donde se consideraron tesis para optar por el título de especialista de 1er

Grado en Fisiología Normal y Patológica, así como artículos originales y de revisión publicados entre 2013 y 2023 en inglés y español. La búsqueda fue realizada en las bases de datos SciELO y Google Académico en septiembre de 2023; las palabras clave utilizadas fueron: Nutrición, Intestino Delgado, Malnutrición, Ratas Wistar. Tras la identificación de los estudios preseleccionados, se llevó a cabo la lectura de los títulos, resumen y palabras clave, para comprobar su pertinencia con el estudio.

## DESARROLLO

En el laboratorio Digestivo del ICBP “Victoria de Girón” desde 1982 se inició la línea de investigación encaminada a modelos que reprodujeran diferentes situaciones causantes de desnutrición y la recuperación nutricional de estos animales.

En 1985 Gámez y colaboradores establecieron un modelo de desnutrición proteico-calórica de tipo moderado en el periodo de adulto joven de la rata albina, y observaron que en la restricción alimentaria tiene lugar el desarrollo de trastornos en las funciones digestivas del intestino delgado, muchas de las cuales se recuperan en la realimentación de la rata.<sup>(5,6)</sup>

Los modelos de desnutrición han sido usados por múltiples autores. Existen trabajos con restricción cualitativa en la ingesta, de uno de los elementos u oligoelementos de la dieta normal.<sup>(7)</sup> Otros trabajos utilizan modelos de restricción cuantitativa donde se reduce la cantidad de alimentos correspondientes para la edad, estas restricciones pueden ser del 25, 50, 75, o del 100 % de los requerimientos y dependiendo de estos valores será el grado de desnutrición que se alcance.<sup>(5,6)</sup>

El animal de experimentación empleado en los diversos estudios del Laboratorio ha sido la rata albina (Wistar), macho, hijos de madres en buen estado nutricional, con talla y pesos homogéneos, procedentes de un proveedor reconocido, el Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), y se tuvo en cuenta el control de las camadas desde el nacimiento. Se escogió esta línea por ser un modelo biológico aceptado internacionalmente debido a su adecuado comportamiento nutricional, estabilidad reproductiva, docilidad y poca incidencia de canibalismo, además muy utilizada en investigaciones de nutrición por su semejanza en cuanto a funcionamiento intestinal y las ventajas económicas que reporta. Fueron seleccionados ratas macho considerados más estables biológicamente, al no ocurrir en este sexo las variaciones cíclicas hormonales que en las hembras repercuten sobre variables fisiológicas y bioquímicas.

El alimento suministrado en todos los modelos experimentales ha sido la ratonina de composición conocida y aproximadamente estable.

**El modelo de desnutrición por restricción alimentaria:** Es de tipo cuantitativo, se considera que éste reproduce de forma más fidedigna la desnutrición que el hombre padece en los países subdesarrollados en los que el aporte de nutrientes de alimentos se ve restringido de forma general por la poca disponibilidad de estos.

En este modelo los grupos experimentales fueron conformados con ratas machos procedentes de madres con buen estado nutricional y peso y talla homogénea, destetadas a los 21 días de nacidas, las cuales se alimentaron libremente durante una semana (período de adaptación alimentaria) y a partir de los 28 días, que coincide con el período de adultez (considerado importante en el crecimiento y desarrollo definitivo del animal), se sometieron a restricción dietética del 75% de sus requerimientos para la edad según los resultados obtenidos por Gámez y col en 1985<sup>(5)</sup> donde se obtuvo la curva de ingesta diaria promedio de la rata macho Wistar cubana. Transcurridos los períodos de restricción alimentaria, se practicó la eutanasia. El grupo control sano se sometió a la alimentación correspondiente a sus requerimientos normales para la edad durante los mismos períodos de los grupos experimentales. Al cabo de este tiempo se le realizó eutanasia, coincidiendo con los períodos del grupo experimental.

El esquema de recuperación se tuvo en cuenta por el diseño realizado por Díaz Canel y col en el año 1985. <sup>(6)</sup> Este modelo de recuperación se realiza con alimentación “ad libitum” durante períodos similares a los empleados para la desnutrición.

**El modelo experimental de Crecimiento intrauterino retardado (CIUR):** Es una desnutrición cualitativa por disminución del aporte de nutrientes al feto al disminuir el flujo sanguíneo.

La regulación del crecimiento fetal es resultado de la interacción de factores genéticos y ambientales. Los mecanismos etiopatogénicos del CIUR se clasifican en: Alteración de factores genéticos determinantes del crecimiento fetal en la primera fase gestacional y alteración del mecanismo regulador del crecimiento fetal, secundario a una patología materna y/o patología placentaria. <sup>(8)</sup>

Las ratas hembras gestadas fueron distribuidas al azar en dos grupos: el experimental y el grupo control, siendo colocadas en cajas individuales.

La muestra estuvo conformada por crías de ratas adultas, vírgenes de la línea Wistar, con una edad promedio de 12 semanas, cuyo peso aproximado osciló entre 180 y 200 gramos apareadas con machos adultos con un peso de 200 a 270 gramos de la misma línea y procedencia y con fertilidad probada, todos precedentes del CENPALAB. Se conformaron dos grupos: el experimental y el control. <sup>(9)</sup>

A las madres del grupo experimental se les practicó la intervención quirúrgica el día 16 de la gestación previa anestesia con solución de Tiopental administrados por vía intraperitoneal en condiciones asépticas, realizándole mediante laparotomía la ligadura total de las arterias uterinas en su punto más bajo en ambos cuernos, siguiendo el modelo descrito por Tomé, Alfonso y colaboradores. <sup>(10)</sup> Después de dicho proceder, el útero a pesar de la privación del flujo de sangre no se necrosa pues este continúa menor a expensas de arterias colaterales como las arterias ováricas.

Las madres del grupo control no fueron intervenidas y se mantuvieron bajo las mismas condiciones que el grupo experimental.

Se escogió el día 16 porque se conoce que el riego sanguíneo se incrementa notablemente a partir del día 14 de la preñez, así como el paso de sustancias a través de la placenta que también aumenta en el mismo período.

El parto se produjo de forma fisiológica en todas las gestantes de ambos grupos (experimental y control), se les dejó igual número controlado de crías con vistas a garantizar la nutrición postnatal de acuerdo a lo establecido internacionalmente en esta etapa de la vida.

Las madres de los grupos experimental y control, respectivamente se dividieron en 4 subgrupos correspondientes a los diferentes períodos de tiempo (1, 7, 14 y 21 días).

**El modelo experimental de intestino corto (SIC):** Corresponde a desnutrición cualitativa. Fueron utilizadas ratas albinas macho adulto joven (ocho semanas de edad) de la raza Wistar con peso de  $295 \pm 10$  g. Se les realizó una resección distal de intestino delgado de un 75% del total de su extensión que según estudios anteriores reproducen una desnutrición moderada. Los animales fueron alimentados a libre demanda excepto durante las 48 horas previas a la intervención quirúrgica en los que se restringió la dieta, permitiendo solo la ingestión de agua. <sup>(11)</sup>

La resección intestinal fue localizada entre la unión del ileon al colon (válvula ileocecal), hasta el asa fija o ángulo de Treiz, como referencia. Conocida la longitud, se realizó la resección distal de 75% a predominio de ileon, realizándose anastomosis termino-terminal de los dos cabos.

Se colocaron las ratas en jaulas separadas, las primeras doce horas posteriores a la operación solo se les administró agua, posteriormente se alimentaron (ratonina) “ad libitum” por 7 y 14 días.

Al grupo control se les mantuvo en las mismas condiciones de alimentación y cuidado, excepto la realización de la resección, sacrificándose junto al grupo experimental al final de cada etapa.

**Modelo de intolerancia a la lactosa secundaria a desnutrición moderada:** Tomando como referencia el modelo experimental de restricción cuantitativa al 75% de los requerimientos, se observó una reducción significativa de la actividad lactásica a los 28 días de restricción dietética, que provocó un cuadro de

intolerancia secundaria a la lactosa tras la administración de la leche a los animales como parte de su dieta. <sup>(12)</sup>

**VARIABLES EVALUADAS:** Durante la realización de los diferentes modelos experimentales a todos los animales se les evaluaron: variables antropométricas, bioquímicas e inmunológicas indicadoras del estado nutricional, así como determinaciones morfofuncionales de intestino delgado. Además, se determinaron indicadores de daño oxidativo y defensa antioxidante.

**VARIABLES SOMATOMÉTRICAS:** Talla, tamaño de la cola, y peso. Evaluados durante todo el período experimental, por ser el peso corporal y la talla indicadores sensibles del estado nutricional y reflejar evolutivamente la calidad y cantidad de la ingesta. <sup>(13)</sup>

**DETERMINACIÓN DE VARIABLES BIOQUÍMICAS INDICADORAS DEL ESTADO NUTRICIONAL:** Albúmina sérica, colesterol sérico y proteínas totales. <sup>(14)</sup>

**DETERMINACIÓN DE VARIABLE INMUNOLÓGICA INDICADORA DEL ESTADO NUTRICIONAL:** Conteo total de linfocitos. <sup>(15)</sup>

**DETERMINACIONES MORFOFUNCIONALES DEL INTESTINO DELGADO:** Se evaluaron: peso y longitud del intestino delgado. Determinación del contenido de proteínas, de actividad disacaridasa intestinal y de la absorción de glucosa in Vitro y estudio histológico de intestino delgado. <sup>(16)</sup>

#### **Indicadores de Estrés Oxidativo:**

- **Indicadores de daño a biomoléculas (en suero):** Detección de niveles de peroxidación lipídica (MDA), determinación de productos avanzados de la oxidación de proteínas (PAOP), determinación espectrofotométrica de organoperóxidos totales (ROOH). <sup>(17)</sup>

- **Determinaciones de actividad de enzimas antioxidantes (en suero):** Actividad de la enzima catalasa, actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD). <sup>(18)</sup>

- **Indicadores globales y antioxidantes de bajo peso molecular:** Determinación de la susceptibilidad a la peroxidación lipídica (PP), determinación de la capacidad reductora de hierro férrico del plasma (FRAP) y determinación de los niveles de glutatión reducido (GSH). <sup>(19)</sup>

**Investigaciones realizadas en los diferentes modelos:** En cada uno de los modelos de desnutrición en ratas Wistar, han sido estudiados los efectos del Ozono y del Factor de crecimiento y su asociación. El Factor de Crecimiento Epidérmico (F.C.E.) es referido por algunos autores como promotor del trofismo de la mucosa del intestino, propiciando una rápida y marcada proliferación del tejido intestinal resultante, incrementando la funcionalidad del intestino. <sup>(20)</sup> El ozono (O<sub>3</sub>) es un potente desinfectante, antibacteriano, antivírico y antimicótico, y además posee capacidad antioxidante por lo que, estimula la desintoxicación, ayuda la oxigenación del tejido y ejerce un efecto modulador del estado redox de la célula. <sup>(21)</sup>

Fue comprobado experimentalmente en los estudios realizados en el laboratorio que el FCE y el O<sub>3</sub> son aceleradores de la respuesta adaptativa del intestino delgado en ratas desnutridas y modifica de forma favorable el estado nutricional de las mismas y su asociación favorece de manera cuantitativa esta respuesta.

**Repercusión del BG-400 en la recuperación de ratas con Intolerancia secundaria a la Lactosa:** Es frecuente que la intolerancia a la lactosa cause desnutrición y viceversa en los cuadros de malnutrición proteico-energética existe una deficiencia secundaria de la enzima. En el laboratorio de Nutrición del ICBP “Victoria de Girón” se elaboró un producto enzimático con actividad lactásica a partir del cultivo de la levadura *Kluyveromyces fragilis* productora de la enzima beta galactosidasa. Esta suspensión BG-400 se administra junto con la leche y logra la hidrólisis de la lactosa contenida en ella, por tanto, disminuye los síntomas de intolerancia y recupera el estado nutricional cuando este esté comprometido. <sup>(12)</sup>

## **CONCLUSIONES**

La utilización de los modelos experimentales diseñados permitió conocer las alteraciones producidas del estado nutricional en los diferentes esquemas de desnutrición (CIUR, Intestino Corto) y recuperación, así como la respuesta de principios terapéuticos aplicados.

## REFERENCIAS

1. Bergel ML, Cesani MF, Cordero ML, Navazo B, Olmedo S, Quintero F, Sardi M, Torres MF, Aréchiga J, Méndez de Pérez B, Marrodán MD. Valoración nutricional de escolares de tres países iberoamericanos: Análisis comparativo de las referencias propuestas por el International Obesity Task Force (IOTF) y la Organización Mundial de la Salud. *Nutr. clín. diet. hosp*, 2019; 34(1): 8-15.
2. Walsh E E, Robert W, Frenck J, Falsey A R, Kitchin N, Absalon J, et al. Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. *New England Journal of Medicine*. 2020; 51(26) : 13-19. Disponible en: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2027906>
3. Agoston D V. How to translate time? The temporal aspect of human and rodent biology. *Frontiers in neurology*. 2017,8(92) <https://doi.org/10.389/fneur.2017.00092>.
4. American Veterinary Medical Association. AVMA Guidelines for the euthanasia of animals: 2020 (Internet). Bethesda: National Institutes of Health, 2020 ( citado 20/06/2020). Disponible en <https://olaw.nih.gov/news/aumguidelines-euthanasia-animals-2020-edition-posted.html>
5. Gámez Fonseca M. Repercusiones del déficit nutricional sobre el funcionamiento del intestino delgado en ratas. La Habana: Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón"; 1985.
6. Díaz- Canel Navarro. Recuperación del funcionamiento del intestino delgado en ratas realimentadas post desnutrición. Tesis para la obtención del grado a doctor en ciencias. La Habana: Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". 1985.
7. González S, Aime: Estrés Oxidativo en ratas desnutridas y su relación con indicadores del estado nutricional y la morfofunción del intestino delgado. TTR. Ciudad de la Habana: I.C.B.P. Victoria de Girón; 2009.
8. Franco-Sansaloni A, Vizcaíno-Torres J, Estelles-Morant D, Villar-Graullera E, Serrano-Fernández JA. Morbilidad y mortalidad de pacientes obstétricas en una unidad de cuidados intensivos. *Ginecol. obstet. Méx.* [revista en la Internet]. 2017 Ene [citado 2020 Mayo 15]; 85(1): 7-12. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0300-90412017000100003&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0300-90412017000100003&lng=es)
9. Martínez M, Miriela: Evaluación de la morfofunción del intestino delgado en crías de ratas en un modelo de crecimiento intrauterino retardado. TTR. Ciudad de la Habana: I.C.B.P. Victoria de Girón; 2010
10. Alfonso C, Tomé O. Obtención experimental de crías con crecimiento intrauterino retardado. *Rev Cubana Cienc Vet* 2000;26(1):39-41.
11. Camps, Esmir: Uso del factor de crecimiento epidérmica como acelerador de la adaptación intestinal en un modelo animal del síndrome de intestino corto. TTR. Ciudad de la Habana: I.C.B.P. Victoria de Girón; 2003.
12. Hernández. Y. Repercusión del BG-400 en la recuperación de ratas con Intolerancia Secundaria a la Lactosa; TTR. Ciudad de la Habana: I.C.B.P. Victoria de Girón; 2006.
13. Velazco B, Lázaro: Estrés Oxidativo en ratas renutridas y su relación con la morfofunción del intestino delgado e indicadores del estado nutricional. TTR. Ciudad de la Habana: I.C.B.P. Victoria de Girón; 2009.
14. Booth, Andrea, Aaron Magnuson, Josephine Fouts, et al. "Adipose tissue: an endocrine organ playing a role in metabolic regulation" *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 26.1 (2016): 25-42. Retrieved 2 Dec. 2019, from doi:10.1515/hmbci-2015-0073

15. Smitka K.; Marešová D. Adipose Tissue as an Endocrine Organ: An Update on Pro-inflammatory and Anti-inflammatory Microenvironment. *Prague Medical Report* 2015; 116(2): 87-111. Retrieved 2 Dec. 2019, from: <http://dx.doi.org/10.14712/23362936.2015.49>.
16. Bueno Brito C, Brito Delgado HC, Delgado Delgado J, Dávila Hernández G, Petatan Mendoza S, Pérez Castro E, Rojas Gil N. Predictores de riesgo antropométricos y bioquímicos para enfermedades no transmisibles en estudiantes de enfermería. *Dilemas contemporáneos: educación, política y valores*, [Internet]. 2020. [citado 2019 Abr 05]; 8(spe5), 00014. Epub 28 de enero de 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.46377/dilemas.v8i.2491>
17. Damasceno DC, Dallaqua B, Lessi IL, Volpato GT, Campos KE. Impact of maternal over-nutrition during pregnancy on maternal oxidative stress and fetal skeletal/visceral anomalies of the rats. *J Nut Disorders Ther.* 2016, (6):1-5.
18. Masschelin PM, Cox AR, Chernis N, Hartig SM. The impact of Oxidative Stress on Adipose Tissue Energy Balance *Front. Physiol.* 2020; 10:1638.
19. Batteli MG, Bortolotti M, Polito L, Bolognesi A. The role of xantine oxidoreductase and uric in metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta mol Basis Dis.* 2018; 1864(8): 2557-65.
20. Pérez, Leandro: Efecto del Factor de crecimiento epidérmico y el Ozono sobre el Síndrome de intestino corto. *TTR. Ciudad de la Habana: I.C.B.P. Victoria de Girón; 2011.*
21. Medina, Yuliet: evaluación del Factor de Crecimiento Epidérmico en la recuperación del estado nutricional en ratas desnutridas. *TTR. Ciudad de la Habana: I.C.B.P. Victoria de Girón; 2004.*

#### **FINANCIACIÓN**

Ninguna.

#### **CONFLICTO DE INTERÉS**

Ninguno.

#### **CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA**

1. Conceptualización: Aimé González Santiesteban, Lázaro Velazco Brito, Yuneysi González Barrera.
2. Curación de datos:
3. Análisis formal: Aimé González Santiesteban, Lázaro Velazco Brito, Yuneysi González Barrera.
4. Adquisición de fondos:
5. Investigación: Aimé González Santiesteban, Lázaro Velazco Brito, Yuneysi González Barrera.
6. Metodología: Aimé González Santiesteban, Lázaro Velazco Brito, Yuneysi González Barrera.
7. Administración del proyecto:
8. Recursos: Aimé González Santiesteban, Lázaro Velazco Brito, Yuneysi González Barrera.
9. Software: Aimé González Santiesteban, Lázaro Velazco Brito, Yuneysi González Barrera.
10. Supervisión: Aimé González Santiesteban, Lázaro Velazco Brito, Yuneysi González Barrera.
11. Validación: Aimé González Santiesteban, Lázaro Velazco Brito, Yuneysi González Barrera.
12. Visualización: Aimé González Santiesteban, Lázaro Velazco Brito, Yuneysi González Barrera.
13. Redacción - borrador original: Aimé González Santiesteban, Lázaro Velazco Brito.
14. Redacción - revisión y edición: Aimé González Santiesteban, Lázaro Velazco Brito.