

COVID-19: INFORMACIÓN SOBRE PLATAFORMAS DE VACUNAS

Todas las vacunas tienen como objetivo exponer al cuerpo a un antígeno que en sí mismo no cause la enfermedad, pero que provoque una respuesta inmunitaria eficaz que pueda bloquear o eliminar al agente patógeno (virus o bacteria) si una persona se infecta.

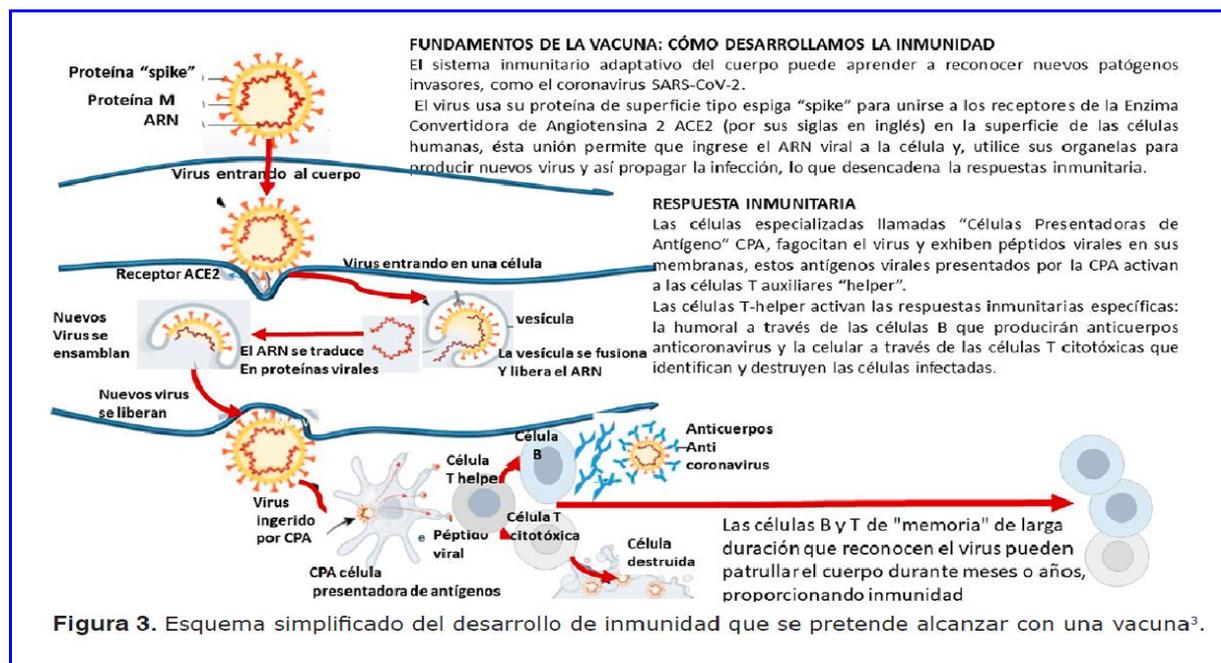
Luego de varios meses del descubrimiento del SARS-CoV-2, hay diferentes vacunas en desarrollo: la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) presentan informes periódicos con las diferentes alternativas en estudio.

Una **vacuna ideal** para la COVID-19 debería reunir los siguientes requisitos:

- Efectividad con una o dos dosis.
- Protección en los grupos poblacionales prioritarios: edad mayor de 65 años, personas con comorbilidades e inmunodeprimidos.
- Duración de la protección de, al menos, 6 meses.
- Capacidad de reducir la transmisión comunitaria de la infección.
- Seguridad: eventos adversos leves y de baja frecuencia.
- Susceptible de ser producida en gran escala a un costo asequible y en un tiempo breve.

El desarrollo de ensayos, así como la generación de información son vertiginosos, el informe de la OMS del día 29 de diciembre de 2020 muestra que hay 60 vacunas en ensayos clínicos y 172 en estudios de fase preclínica. Muchos de estos desarrollos son plataformas novedosas con pocos datos preexistentes sobre seguridad y eficacia en humanos.

En el siguiente gráfico se muestra un esquema simplificado del desarrollo de inmunidad que se pretende alcanzar con una vacuna contra SARS-CoV-2.



Fuente: Steryn Prync AE. Vacunas para SARS-CoV-2, diferentes estrategias de los desarrollos en curso. 2020

Plataformas de vacunas

Según algunos autores, se requiere una comprensión muy precisa de lo que constituye una tecnología para producir una vacuna. Se entiende por “plataforma de vacuna” a una categoría de vacuna que se asocia a una tecnología para su producción y a una forma de actuar sobre el sistema inmune. Las plataformas de vacunas hasta ahora desarrolladas son: virus vivos atenuados, virus inactivados o muertos, con vectores virales (replicantes y no replicantes) también llamadas de virus recombinantes, vacunas basadas en ácidos nucleicos (ADN o ARNm) y vacunas a base de proteínas virales (proteínas completas, subunidades de proteínas, partículas similares a virus, proteínas recombinantes).

2

En términos generales, las vacunas requieren dos componentes:

1) antígenos del patógeno-diana que son proporcionados en la vacuna o pueden ser generados por el individuo receptor de la vacuna, y

2) una señal de infección (como un patrón molecular asociado a patógenos o un patrón molecular asociado a daño) que alerta y activa el sistema inmunológico del huésped.

Las vacunas vivas atenuadas pueden proporcionar naturalmente ambos componentes; mientras que las demás plataformas de vacunas pueden proporcionar los antígenos, pero a menudo requieren la provisión artificial de señales para alertar al sistema inmunológico, que se conocen como adyuvantes.

La nueva generación de vacunas se basa en utilizar la información de la secuencia de nucleótidos del patógeno que codifica la o las proteínas claves para la infección y que luego actuarán como antígenos. Para iniciar el desarrollo de estas vacunas es necesario conocer las secuencias de los ácidos nucleicos que codifican la o las proteínas virales claves, las cuales se expresarán una vez administrada la vacuna y actuarán como antígenos, proporcionando protección contra la infección o enfermedad.

Como estas vacunas se pueden desarrollar sólo en base a la información de secuencia genética, utilizan un portador de base, como una secuencia de ácidos nucleicos, un vector viral o un liposoma, que se puede modelar con los componentes antigénicos diana de los patógenos (conocidos como módulos). Esto hace que estas plataformas sean altamente adaptables y acelera considerablemente el desarrollo de la vacuna. Una vez diseñados los portadores bases, el desarrollo de futuras vacunas que utilicen la misma plataforma debería simplemente requerir el conocimiento de la secuencia que codifica al componente antigénico y su inserción en el portador de base, es decir, la sustitución del componente antigénico deseado; esto permitirá un desarrollo más rápido y económico, facilitará la aprobación regulatoria y la producción en masa.

Así, las plataformas de vacunas adaptables podrán reducir el período de investigación y diseño de vacunas, necesario en los tiempos actuales de pandemia. La mayoría de los ensayos clínicos de vacunas para COVID-19 actualmente en curso involucran una plataforma de nueva generación.

En el siguiente esquema se representan las diferentes estrategias y plataformas de vacunas en curso para la infección COVID-19.

Ver tabla **Vacunas para SARS-CoV-2: Plataformas, ventajas, limitaciones y ensayos en marcha** actualizada según <https://covid-nma.com/vaccines/mapping/#void> y <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>

Vacunas de vectores virales o de virus recombinantes

Consisten en un virus recombinante proveniente de la modificación genética de un virus para que actúe como vehículo de transporte de genes (denominado vector viral) que codifican la/s proteína/s claves del patógeno, en este caso del SARS-CoV-2. La patogenicidad del vector viral se reduce por atenuación previa o por modificación genética. Virus como el del Sarampión, atenuado previamente, o diferentes adenovirus se utilizan como vectores.

Hay dos tipos de vectores virales: aquellos que pueden replicarse dentro de las células hospedadoras (replicantes) y aquellos que no pueden hacerlo (no replicantes) porque los genes clave para la replicación han sido inactivados.

En las **vacunas de vector viral replicante**, el virus recombinante ingresa en las células y se replica, permitiendo la expresión de las proteínas del virus. Así, se produce el antígeno de la vacuna y más virus recombinantes infecciosos capaces de infectar nuevas células, que luego también producirán el antígeno de la vacuna. Estas vacunas tienden a ser seguras y provocan una fuerte respuesta inmunitaria, ya que ofrecen un alto nivel de expresión de proteínas antigénicas a largo plazo y, por lo tanto, tienen un gran potencial para uso profiláctico. Sin embargo, la inmunidad preexistente del organismo hacia el vector viral podría reducir su eficacia. Ejemplo de este tipo de vacunas es el caso de la vacuna contra el Ébola.

En las **vacunas de vector viral no replicante**, el virus recombinante ingresa inicialmente a las células y produce el antígeno de la vacuna, pero no forma ninguna partícula nueva de virus. En la actualidad, no existen vacunas autorizadas que usen esta plataforma. Se estima que puede ser necesario realizar un refuerzo de este tipo de vacunas para inducir una inmunidad duradera.

Como estas vacunas de vectores virales (replicante y no replicante) resultan en una producción endógena del antígeno (proteína del patógeno), se estimulan las respuestas inmunitarias tanto humoral como celular, presentando un potencial uso profiláctico.

Ver ejemplos de vacunas en estudio con estas plataformas para COVID-19 en la tabla **Vacunas para SARS-CoV-2: Plataformas, ventajas, limitaciones y ensayos en marcha**

Vacunas con ácido nucleico

Las vacunas a base de ácido nucleico pueden contener ADN o ARNm que codifica la secuencia génica para la expresión de la/s proteína/s clave/s del virus (antígeno). Para que el ácido nucleico ingrese a las células humanas se pueden requerir ciertas particularidades como determinadas formulaciones galénicas (por ejemplo: una de las vacunas contra el SARS-CoV-2 que contiene ARNm, está formulada en un liposoma).

Estas vacunas son fáciles de desarrollar porque implica producir sólo material genético, no el virus. Por lo tanto, estas plataformas se pueden adaptar rápidamente cuando surgen nuevos virus,

razón por la cual estuvieron entre las primeras vacunas para COVID-19 que ingresaron a ensayos clínicos.

La mayoría de las vacunas que se están desarrollando bajo esta plataforma para COVID-19 codifican para la proteína espiga del virus, S o “spike” (por su nombre en inglés), pero también hay desarrollos que han elegido otras subunidades proteicas del SARS-CoV-2 como blanco inmunogénico.

El concepto de inmunización con ADN comenzó con resultados prometedores en ratones en 1993 que mostraron inmunidad protectora contra la gripe, pero, durante décadas, estos hallazgos no fueron similares en los seres humanos. Más recientemente, las nuevas modificaciones y formulaciones han mejorado el producto, y existe la expectativa de que este enfoque pueda conducir a la primera vacuna con licencia basada en ácido nucleico viral.

Las vacunas a base de ácido nucleico inducen una respuesta inmune humoral y celular, pero pueden requerirse múltiples dosis.

Las **vacunas de ADN** consisten en un constructo sintético de ADN que codifica el antígeno de la vacuna. Para una captación eficiente del constructo en las células, la inyección debe ir seguida de electroporación¹. Después del ingreso en las células, el antígeno de la vacuna se expresa a partir del constructo de ADN: se transcribe en el núcleo y se traduce en el citoplasma celular.

Las **vacunas basadas en ARNm** funcionan con el mismo principio que las vacunas de ADN, excepto que los primeros pasos (transcripción nuclear del constructo de ADN y la transcripción en ARNm) no tienen lugar.

El ARNm es una plataforma emergente, no infecciosa ni integradora con casi ningún riesgo potencial de mutagénesis insercional. Actualmente, se están estudiando el ARN no replicante y los ARN autorreplicantes derivados de virus. La inmunogenicidad del ARNm se puede minimizar y se pueden realizar alteraciones para aumentar la estabilidad de estas vacunas. La inmunidad anti-vector también se evita, ya que el ARNm es el vector genético mínimamente inmunogénico, lo que permite la administración repetida de la vacuna.

Es probable que las vacunas ARNm autorreplicantes induzcan inmunidad usando una dosis más baja, porque se expresa más antígeno de la vacuna por célula. Dado que el ARNm no es muy estable, estos constructos incluyen nucleósidos modificados para prevenir la degradación. También es necesaria una molécula portadora para permitir la entrada del ARNm en las células, las nanopartículas de lípidos (liposomas) son las más comúnmente usadas.

*Ver ejemplos de vacunas en estudio con estas plataformas para COVID-19 en la tabla **Vacunas para SARS-CoV-2: Plataformas, ventajas, limitaciones y ensayos en marcha***

Vacunas basadas en proteínas

Las vacunas en base a proteínas pueden consistir en una subunidad de proteína purificada del virus o partículas similares a virus (VLP por sus siglas en inglés).

¹ Proporciona pulsos eléctricos que crean poros temporales en las células próximas al lugar de la inyección- que facilita la entrada del ADN vírico al núcleo celular. <https://www.vacunas.org/la-carrera-en-la-disponibilidad-de-una-vacuna-frente-al-sars-cov-2-estado-de-la-cuestion/>

Muchos investigadores proponen inyectar directamente las proteínas o subunidades proteicas recombinantes de SARS-CoV-2. En este sentido, los distintos grupos plantean diferentes estrategias basadas en diferentes proteínas virales.

Subunidad de proteína: Esta vacuna se basa en péptidos sintéticos o proteínas antigénicas recombinantes, que son necesarias para vigorizar la respuesta inmunitaria protectora o terapéutica de larga duración. Sin embargo, la vacuna de subunidad exhibe baja inmunogenicidad y requiere un soporte auxiliar de un adyuvante para potenciar las respuestas inmunes inducidas por la vacuna. Un adyuvante puede mejorar la vida media biológica del material antigénico o puede mejorar la respuesta de citocinas inmunomoduladoras. La adición de un adyuvante, por lo tanto, ayuda a superar las deficiencias de las vacunas de subunidades de proteínas. La proteína S del SARS-CoV-2 es el antígeno más adecuado para inducir los *anticuerpos neutralizantes contra el patógeno*. La proteína S consta de dos subunidades: la subunidad S1 tiene los dominios NTD, RBD y RBM, mientras que la subunidad S2 comprende FP, HR 1 y 2. El virus entra en la célula a través de endocitosis utilizando la unión mediada por proteína S al receptor hACE2 (enzima convertidora de angiotensina II humana). Por lo tanto, la proteína S y sus fragmentos antigénicos son los principales objetivos para la institución de la vacuna de subunidad de proteína.

Partículas similares a virus: Son cápsulas vacías que imitan la estructura del coronavirus, pero no son infecciosas porque carecen de material genético y tampoco pueden replicarse en el organismo.

Las partículas similares a virus consisten en la estructura de proteínas virales necesarias para formar una partícula de virus, pero carecen del genoma viral y de proteínas no estructurales. Estas vacunas requieren la adición de un adyuvante para inducir una fuerte respuesta inmune.

Vacunas de "Partículas similares a virus" o VLP (por sus siglas en inglés "*Virus Like Particles*"), que pueden desencadenar una fuerte respuesta inmunitaria, pero pueden ser difíciles de fabricar.

Ver ejemplos de vacunas en estudio con estas plataformas para COVID-19 en la tabla **Vacunas para SARS-CoV-2: Plataformas, ventajas, limitaciones y ensayos en marcha**

Otra estrategia que se está desarrollando son las vacunas a **células presentadoras de antígenos**, que se combinan con los vectores virales, ya sean replicantes o no replicantes, generando otra plataforma. Estas células son componentes esenciales en la respuesta del sistema inmunológico a una vacuna. Se han desarrollado células presentadoras de antígenos artificiales (aAPC por sus siglas en inglés), donde las células inmortalizadas son transducidas con lentivirus para imitar eficazmente células presentadoras de antígeno, como es el caso para la vacuna COVID-19/aAPC.

Las vacunas en base a células tienen requerimientos adicionales de cadena de frío y procedimientos de infusión que, en alguno de los desarrollos, dificultan la implementación a gran escala.

Tabla: Vacunas para SARS-CoV-2: Plataformas, ventajas, limitaciones y ensayos en marcha

Plataforma	Ventajas	Limitaciones	Estudios en marcha	
			Ensayos *	Argentina**
Vacuna virus atenuado	<ul style="list-style-type: none"> - Capacidad intrínseca de estimular sistema inmunológico induciendo el receptores tipo toll (TLR) a saber: TLR 3, TLR 7/8, y TLR 9 del innato sistema inmunológico que involucra Células B, CD4 y Células T CD8. - Puede derivarse desde cepas de virus "adaptado al frío", reordenamientos y genética inversa. 	<ul style="list-style-type: none"> - Requiere pruebas accesorias para establecer seguridad y eficacia. - Existe probabilidad de sustitución del nucleótido durante la réplica viral, resultando en creación de recombinantes después de la vacunación. 	Preclínicos. Sólo se nombran las que están en fase 3	
Vacuna virus inactivado	<ul style="list-style-type: none"> - Mayor estabilidad y seguridad que las anteriores. - Hay tecnología preexistente e infraestructura para su desarrollo. - Ya ha sido probado para el SARS-CoV. - Se puede usar con adyuvantes para aumentar su inmunogenicidad. 	<ul style="list-style-type: none"> - Requiere dosis de refuerzo para mantener la inmunidad. - Deben ser manipulados grandes cantidades de virus manteniendo la integridad de las partículas inmunogénicas. 	Preclínicos Clínicos fase 1 y 2. En fase 3: -Butantan/Sinovac -China Ministry of Siences/Wuhan - PTBioPharma/Sinovac - China Biotec /Wuhan/Beijing - Elea Phoenix/China Biotec - Health institute Turkey/Sinovac	Fase 3 Elea Phoenix
Vacuna de vector viral replicante	<ul style="list-style-type: none"> - Presenta una entrega de genes altamente específica a la célula huésped, con una fuerte respuesta inmune. - Evita la manipulación de partículas infecciosas y se ha usado en MERS-CoV con resultados positivos en los ensayos. 	<ul style="list-style-type: none"> - La inmunidad preexistente del organismo hacia el virus utilizado como vector viral podría reducir su eficacia. 	Preclínicos. Clínicos: Fase 1 y 2.	
Vacuna de vector viral no replicante	<ul style="list-style-type: none"> - Respuesta inmune rápida. 	<ul style="list-style-type: none"> - Puede requerir dosis de refuerzo para adquirir inmunidad duradera. - Reactogenicidad (en algunos casos requiere tratamiento con paracetamol). 	Preclínicos Clínicos, fases 1 y 2. En fase 3: CanSino/Beijing Gamaleya Janssen Oxford/AstraZeneca	Fase 3 Janssen CanSino
Vacuna de ADN	<ul style="list-style-type: none"> - El ADN sintético es estable a temperatura ambiente. - Puede ser desarrollada en etapas aceleradas. - No requiere manipulación de partículas virales infecciosas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Aunque provoca tanto inmunidad celular como humoral, los títulos permanecen bajos. - Puede inducir la producción de anticuerpos contra sí mismo. 	Preclínicos Clínicos: en fase 1/2: Inovio, Osaka, Cadila, Genexine	
Vacuna de ARN	<ul style="list-style-type: none"> - La traducción de ARNm ocurre en el citosol de la célula huésped, evitando el riesgo de cualquier tipo de integración en el genoma del huésped. 	<ul style="list-style-type: none"> - Se han reportado problemas de seguridad relacionados con reactogenicidad en vacunas similares. - Muestra inestabilidad. Requiere temperaturas muy bajas de conservación. 	Preclínicos Clínicos: fases 1 y 2. Fase 3: Moderna/NIAID BioNTech/Pfizer	Fase 2/3 BioNTech + Pfizer

Plataforma	Ventajas	Limitaciones	Estudios en marcha	
			Ensayos *	Argentina**
Vacuna de sub-unidad de proteína	- No tiene ningún componente vivo de la partícula viral. - Sería segura con menos efectos secundarios.	- Induce respuesta inmune - Está en duda su memoria para respuestas futuras.	Sólo se nombran las que están en fase 3 Preclínicos Clínicos: Fases 1 y 2. Fase 3: Novavax	Fase 2 INMUNI #
Vacuna de partícula similar a virus	- Pueden desencadenar una fuerte respuesta inmunitaria.	- Difíciles de fabricar.	Preclínicos. Clínicos: Fase 1.	
Vacuna de vector viral + APC	- La adición de células presentadoras de antígenos (APC) saltea o adelanta los primeros pasos tras la vacunación.	- Difíciles de fabricar. - Puede requerir dosis de refuerzo. - Requerimientos especiales de cadena de frío	Clínicos: Fases 1 y 1/2	

*OMS Landscape: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>

**Estudios en Argentina: <https://www.argentina.gob.ar/anmat/regulados/investigaciones-clinicas-farmacologicas/Estudios-autorizados-COVID19>

RUTI® INMUNI no es específica para SARS-CoV-2

Último acceso: 29/12/2020

Referencias bibliográficas

- ANMAT. Estudios clínicos autorizados – COVID19. 2020 [citado 2020 diciembre 29]. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/anmat/regulados/investigaciones-clinicas-farmacologicas/Estudios-autorizados-COVID19>
- Callaway E. Scores of coronavirus vaccines are in competition - how will scientists choose the best? Nature [Internet]. 2020 Apr 30 [citado 2020 abril 28]. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01247-2>.
- Callaway E. The race for coronavirus vaccines: A graphical guide. Nature. 2020;580(7805):576-7.
- Center for Health security. Johns Hopkins.Vaccine Platforms: State of the Field and Looming Challenges. 2019. Disponible en: https://www.centerforhealthsecurity.org/our-work/pubs_archive/pubs-pdfs/2019/190423-OPP-platform-report.pdf
- COVID-NMA.Consorcio/ Cochrane. 2020 [citado 2020 diciembre 29]. Disponible en: <https://covid-nma.com/vaccines/mapping/#void>
- Folegatti PM y col. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. Lancet. 2020;396:467-78
- Hume CHK, Lua LHL. Platform technologies for modern vaccine manufacturing. Vaccine. 2017;35(35):4480-5.
- Jeyanathan M y col Immunological considerations for COVID-19 vaccine strategies. Nature Review Immunol. 2020;20:615-632.
- Kaur SP, Gupta V. COVID-19 Vaccine: A comprehensive status report. Virus Res. 2020;288:198114. doi:10.1016/j.virusres.2020.198114 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7423510/>
- Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. Nature. 2020;586:516-27. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2798-3>
- Lurie N, Saville M, Haychett R, Halton J. Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed. N Engl J Med. Mayo 2020;382:21.
- Mullard A. COVID-19 vaccine development pipeline gears up. Lancet. 2020;395(10239):1751-2
- Sterin Prync AE. Vacunas para SARS-CoV-2, diferentes estrategias de los desarrollos en curso. Rev. Hosp. Ital. B.Aires 2020;40(1):1-12. Disponible en: https://www1.hospitalitaliano.org.ar/multimedia/archivos/noticias_attachs/47/documentos/107082_HI13-9-20-Sterin-B.pdf

- López M, Mallorquín P, Pardo R, Vega M. Vacunas humanas de nueva generación. Madrid: GENOMA España, CIBT-FGUAM; 2004.
- Van Riel D, de Wit E. Next-generation vaccine platforms for COVID-19. Nature Materials. 2020;19:810–20.
- White L. Vaccine platform technologies to combat emerging infectious diseases. Junio 2020. Cambridge Network. Disponible en: <https://www.cambridgenetwork.co.uk/news/vaccine-platform-technologies-combat-emerging-infectious-diseases>
- World Health Organization. COVID-19 - Landscape of novel coronavirus candidate vaccine development worldwide.[Internet]. Geneva: World Health Organization; 2020 [citado 2020 diciembre 29]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>
- Zhu FC y col. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. Lancet 2020;395(10240):1845–54.

La RACIM está integrada por los siguientes Centros de Información de Medicamentos

- **CIMEFF** Centro de Información de Medicamentos Fundación FEMEBA. Federación Médica de la Provincia de Buenos Aires (FEMEBA)
- **CIMF** Centro de Información de Medicamentos Farmacéutico. Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires.
- **Centro de Vigilancia y Seguridad de Medicamentos.** Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires
- **CIME-FFyB-UBA.** Centro de Información de Medicamentos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires)
- **CIME-FCQ-UNC** Centro de Información de Medicamentos de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba
- **Servicio de Información de Medicamentos.** Hospital de Niños de la Santísima Trinidad de la Provincia de Córdoba
- **SIMAP** Servicio de Información de Medicamentos y Actualización Profesional. Colegio de Farmacéuticos de Entre Ríos
- **CIME-UMAZA** Centro de Información de Medicamentos de la Universidad Juan Agustín Maza
- **CIMED** Centro de Información de Medicamentos de la Universidad Católica de Cuyo
- **Centro de Información de Medicamentos-Farmacia FCByF-UNR.** Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario
- **SIM** Sistema de Información de Medicamentos. Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Santa Fe, 1ª Circunscripción
- **CRF-UNNE** Centro Regional de Farmacovigilancia de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste
- **Unidad de Farmacovigilancia.** Farmacología de la Facultad de Química Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de San Luis (FQBF-UNSL)

Coordinadora: Prof. Susana C Nuñez Montoya - E-mail: sununez@unc.edu.ar

Secretaria: Prof. María Teresa Rocha – E-mail: trissirocha@gmail.com

La información brindada por la RACIM tiene como fin promover el uso racional del medicamento y está destinada a profesionales de la salud y público en general.

No se suministra asesoramiento médico específico, siendo responsabilidad de los lectores su interpretación y uso. La información contenida en los artículos y notas elaborados por la RACIM puede ser reproducida citando la fuente.

En vista de la actualización dinámica de la información sobre COVID-19, en base al avance acelerado de las investigaciones, la información brindada en este documento como las recomendaciones de los organismos nacionales e internacionales pueden ser modificadas. Por tanto, solicitamos se consulten las fuentes bibliográficas citadas y disponibles on line.