



Contribución del genoma y el ambiente en el desarrollo de la leucemia aguda infantil

Contribution of the genome and the environment in the development of acute leukemia in childhood

Anitery Travieso Téllez¹, Mirta Caridad Campo Díaz²

¹Médica. Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral y Genética Clínica. Profesor Asistente e Investigador Agregado. Departamento Provincial de Genética Médica. Hospital Pediátrico Provincial Docente Pepe Portilla. Pinar del Río. Cuba. any0511@infomed.sld.cu

² Médica. Especialista de Primero y Segundo Grado en Hematología. Especialista de Segundo Grado Pediatría. Máster en Atención Integral al Niño. Profesor Auxiliar y Consultante. Investigador Agregado. Servicio de Oncohematología. Hospital Provincial Pediátrico Docente Pepe Portilla. Pinar del Río. Cuba. mccampo@infomed.sld.cu

Recibido: 22 de abril de 2017

Aprobado: 21 de junio de 2017

RESUMEN

Introducción: la leucemia además de ser el cáncer más frecuente de la infancia resultó la primera causa de muerte por neoplasias en niños cubanos durante el 2015. Se desconoce en Pinar del Río el riesgo de leucemia aguda infantil atribuible a la predisposición genética, al ambiente y a la interacción de ambos.

Objetivo: determinar la contribución de los factores genéticos, ambientales y la interacción entre ellos en el desarrollo de la leucemia aguda pediátrica entre 1985 al 2015.

Método: se realizó un estudio observacional analítico de casos-controles con base poblacional en fase confirmatoria. La muestra fue de 39 casos procedentes de Pinar del Río con antecedentes de haber sido diagnosticados con leucemia aguda antes de los 19 años y 78 controles pareados según edad, sexo y zona de residencia.

Resultados: la exposición a pesticidas/insecticidas fue el factor de riesgo ambiental predominante (OR=5,91, IC 95%:2.51-13.94). El antecedente de infecciones virales se consideró factor protector.(OR=0,14; IC 95 %: 0.05-0.42) La historia familiar positiva de leucemia se interpretó como riesgo genético. (OR=4,05. IC95%:1.11-14.80) La interacción genoma ambiente aumentó dos veces el riesgo de padecer leucemia. (OR=2)

Conclusiones: la exposición ambiental positiva y la presencia del genotipo predisponente incrementan el riesgo de padecer leucemia aguda en niños

pinareños, lo que confirma el carácter multifactorial de esta enfermedad.

DeCS: LEUCEMIA; ETIOLOGÍA; GENÉTICA; AMBIENTE; FACTORES DE RIESGO.

of acute leukemia in children from Pinar del Río, confirming the multifactorial nature of this disease.

DECS: LEUKEMIA; ETIOLOGY; GENETICS; ENVIRONMENT; RISK FACTORS.

ABSTRACT

Introduction: in addition to being the most common cancer in childhood, leukemia was the leading cause of death due to neoplasms in Cuban children during the year 2015. The risk of acute leukemia in childhood which is attributable to genetic predisposition, environmental factors and the interaction of both is unknown in Pinar del Río.

Objective: to determine the contribution of genetic and environmental factors along with the interaction between them in the development of acute leukemia throughout pediatric ages from 1985 to 2015.

Method: an observational-analytical, case-control, population-based study was carried out in the confirmatory phase. The sample consisted of 39 cases from Pinar del Río province with a history of having been diagnosed with acute leukemia before the age 19, and 78 controls matched according to age, sex and area of residence.

Results: exposure to pesticides / insecticides was the predominant environmental risk factor (OR = 5.91, 95% CI: 2.51-13.94). The history of viral infections was considered a protective factor (OR = 0.14; 95% CI: 0.05-0.42), positive family history of leukemia was interpreted as genetic risk (OR = 4.05, 95% CI: 1.11-14.80), the environmental genome interaction increased twice the risk of leukemia (OR = 2).

Conclusions: positive environmental exposure and the presence of predisposing genotype increase the risk

INTRODUCCIÓN

El cáncer constituye uno de los principales problemas de salud y uno de los mayores retos terapéuticos a enfrentar. En particular la leucemia tiene un impacto negativo en la vida de los niños, así como una alta incidencia en esta población. Es conocido que constituye el cáncer más frecuente de la infancia. En Cuba, fue la primera causa de muerte por enfermedades malignas en menores de 19 años de ambos sexos al concluir el 2015.^{1,2}

Se trata de procesos neoplásicos del tejido hematopoyético de origen clonal, que se caracterizan por la ausencia de la regulación fisiológica con anomalías de la proliferación de los leucocitos y alteración en los mecanismos de apoptosis. Se originan en la médula ósea y su evolución sin tratamiento es uniformemente fatal.³

Como toda enfermedad compleja su origen tiene un carácter multifactorial y resulta de la interacción entre determinados genotipos y los factores ambientales. Solo un pequeño porcentaje de los casos con leucemia aguda están asociados con enfermedades mendelianas o síndromes cromosómicos. El mayor riesgo de leucemia aguda en los niños con relación a los adultos, se ha asociado con inmadurez del sistema inmune y una diferente exposición a las toxinas ambientales. Como los infantes acumulan menos exposición a los agentes mutágenos algunos investigadores sugieren que la predisposición genética al cáncer es mayor en los niños que en los adultos y por tanto es lo que más influye en el desarrollo de los procesos malignos.⁴ En este sentido se ejecutan

proyectos epidemiológicos que estudian factores ambientales y genéticos, los que de forma independiente muestran solo una modesta asociación con el riesgo de enfermar pero cuya interacción pudiera modificar dicho riesgo.

En medio de esta realidad científica mundial en constante avance sobre el tema, llama la atención que hasta el momento no se recogen reportes en Cuba de estudios dirigidos a explorar cómo la interacción de los factores genéticos y ambientales pudiera modular la probabilidad de aparición de leucemia en la población pediátrica.

Con el objetivo de determinar la contribución de los factores ambientales, genéticos y la interacción de ambos en el origen de la leucemia aguda infantil en Pinar del Río se desarrolla esta investigación con base poblacional que integra los conocimientos de la Genética Médica a la perspectiva comunitaria.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio observacional, analítico, de casos y controles con base poblacional en fase confirmatoria. El universo estuvo constituido por el total de 77 individuos con antecedentes de leucemia aguda diagnosticada antes de los 19 años, atendidos en el servicio de Hematología del Hospital Provincial Pediátrico Docente Pepe Portilla de 1985 hasta 2015. La muestra quedó conformada por aquellos casos residentes en la provincia Pinar del Río en el momento de la investigación, con familiares vivos en condiciones psicosomáticas de responder al cuestionario del estudio y con consentimiento de participación en la investigación (n=39). La selección de los controles se realizó por apareamiento teniendo en cuenta la edad, sexo y la zona geográfica de procedencia, en una proporción de dos controles por cada caso (2:1) de manera que el grupo control fue de 78 individuos.

Se evaluó previamente la historia clínica personal de cada caso conservada en el archivo del hospital seleccionado y se aplicó a la familia de los casos y controles un instrumento previamente diseñado para explorar la exposición a factores ambientales y la existencia de historia familiar de leucemia aguda y otras enfermedades malignas. Se garantizó la presencia de al menos dos familiares en el momento de la entrevista a fin de controlar en lo posible el sesgo de memoria.

Se empleó la Dócima de Independencia y homogeneidad Chi Cuadrado de Pearson (χ^2) con un nivel de significación estadística de 0,05 para establecer asociación estadística entre cada variable ambiental o genética con el riesgo de leucemia aguda infantil. Se calculó el Odds Ratio (OR) como medida de magnitud de asociación para las variables con asociación estadísticamente significativa. Se procedió a identificar los factores de riesgo ambientales y genéticos en la muestra estudiada. Se realizó un estudio de interacción genoma-ambiente teniendo en cuenta los factores de riesgo ambiental más frecuentes y su interacción con la predisposición genética dada por la presencia de familiares afectados.

RESULTADOS

Del grupo de factores de riesgo que más se citan en la literatura por su relación con el desarrollo de leucemia aguda infantil se escogieron aquellos que resultan frecuentes en la realidad pinareña. Mostraron asociación estadísticamente significativa el antecedente de infecciones virales durante el primer año de vida postnatal y la exposición a pesticidas y/o insecticidas. Padeecer infecciones virales se consideró un factor protector mientras que el efecto de los pesticidas desde la etapa preconcepcional hasta la vida postnatal se evidenció como un fuerte factor de riesgo. (Tabla 1)

Tabla 1. Exposición de casos y controles a factores ambientales relacionados con leucemia aguda infantil. Pinar del Río, 2016

Factores de riesgo	Casos (n=39)		Controles (n=78)		Total (n= 117)		X ²	p	OR	IC
	No.	%	No.	%	No.	%				
Infecciones virales	5	12,82	39	50,00	44	37,61	15,317	0,000091	0,14	0,05-0,42
Pesticidas insecticidas	22	56,41	14	17,95	36	30,77	18,055	0,000021	5,91	2,51-13,94
Humo del cigarro	14	35,90	28	35,90	42	35,90	0,0000	1,000000		
Radiaciones ionizantes	7	17,95	12	15,38	19	16,24	0,1256	0,722963		
Pinturas y solventes	17	43,59	35	44,87	52	44,44	0,0173	0,895333		
Consumo de ácido fólico	34	87,18	62	79,49	98	83,76	0,6764	0,410809		
Lactancia materna exclusiva	5	12,82	39	50,00	44	37,61	0,0000	1,000000		

X²=Chi cuadrado de Pearson p=Probabilidad<0,05 OR=Odds Ratio
IC=Intervalo de confianza al 95%

Las infecciones virales, cuya presencia resultó mayor en controles que en casos fueron más frecuentes luego del primer trimestre de vida postnatal. Más del 90% de los casos se mantuvo sin enfermar durante los primeros nueve meses de vida. (Figura 1)

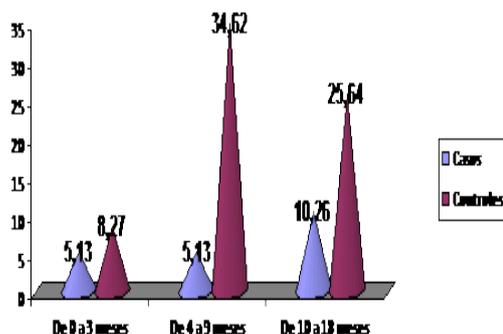


Figura 1. Infecciones virales según frecuencias relativas porcentuales.

Se procedió a evaluar el comportamiento de la exposición a los pesticidas/insecticidas de acuerdo al momento de la misma. La probabilidad de enfermar se comportó de igual forma cuando la exposición a este factor se produjo en las etapas preconcepcional y prenatal respectivamente. (OR=1,88). Sin embargo, el riesgo fue 2,57 veces mayor si el contacto con pesticidas/insecticidas tuvo lugar en los primeros años de la vida postnatal.

Al analizar el efecto del factor genético dada la relativa baja frecuencia del diagnóstico en la población se consideró oportuno trabajar con el total de individuos con antecedentes familiares positivos de leucemia, independientemente del grado de parentesco. Tener al menos un familiar afectado se asoció significativamente con la enfermedad, cuyo riesgo se incrementa cuatro veces más en comparación con los individuos sin antecedentes de leucemia en la familia. (Tabla 2)

Tabla 2. Antecedentes familiares de leucemia según grado de parentesco en casos y controles.

Grado de parentesco	Casos (n=39)		Controles (n=78)		Total (n= 117)		X ²	p	OR	IC
	No.	%	No.	%	No.	%				
1er grado	0	0,00	1	1,28	1	0,85	0,504	0,4776		
2º grado	0	0,00	1	1,28	1	0,85	0,504	0,4776		
3er grado	3	7,69	2	2,56	5	4,27	1,671	0,1960		
4º grado	1	2,56	0	0,00	1	0,85	2,017	0,1555		
5º grado	3	7,69	0	0,00	3	2,56	6,157	0,0130	n.c	
Total	7	17,95	4	5,13	11	9,40	5,017	0,0250	4,046	1,11-14,80

X²p = Chi cuadrado de Pearson p =Probabilidad<0,05 OR = Odds Ratio
IC=Intervalo de confianza al 95%, n.c. no se pudo calcular

Se exploró la historia familiar para otros tipos de enfermedades malignas. Tener al menos un familiar con cualquier neoplasia constituyó un factor de riesgo asociado a la leucemia infantil, que incrementó el riesgo 2,58 veces. (Tabla 3) Los parientes de segundo grado resultaron los familiares afectados con más frecuencia. En este grupo predominaron los abuelos enfermos.

Tabla 3. Antecedentes familiares de otras enfermedades malignas según grado de parentesco en casos y controles.

Grado de parentesco	Casos (n=39)		Controles (n=78)		Total (n= 117)		χ²	p	OR	IC
	No.	%	No.	%	No.	%				
Primer grado	2	5,13	4	5,12	6	5,13	0,000	1,0000		
Segundo grado	14	35,89	15	19,23	29	24,79	3,874	0,0490		
Tercer grado	6	15,38	17	21,79	21	17,95	0,676	0,4108		
Cuarto grado	3	7,69	0	0,00	3	2,56	6,157	0,0130		
Quinto grado	1	2,56	0	0,00	1	0,85	2,017	0,1555		
Total*	22	56,41	26	33,33	48	41,03	5,722	0,0167	2,5882	1,18-5,70

Chi cuadrado de Pearson p=Probabilidad<0,05 OR=Odds Ratio IC=Intervalo de confianza al 95%

*Cantidad de individuos con al menos un familiar afectado. Hubo individuos con más de un familiar enfermo de distinto parentesco.

Aunque el riesgo de desarrollar leucemia aguda infantil a expensas del antecedente familiar positivo para dicho diagnóstico OR=4,046 IC (1.11-14.80) supera en el doble el valor del OR calculado para el antecedente familiar de otras neoplasias;

este último por su magnitud sigue constituyendo un fuerte factor de riesgo.

OR= 2,5882 IC (1.18-5.70)

Para analizar el riesgo de la interacción entre el genoma y el ambiente, se seleccionó la exposición al factor ambiental más frecuente (pesticidas/insecticidas). Cuando interactúan el factor genético (antecedente familiar positivo de leucemia y/o cualquier otra enfermedad maligna) y el factor ambiental (exposición a pesticidas/insecticidas) se incrementa en 2 veces el riesgo de padecer leucemia aguda infantil, que si actuaran estos factores por separado. Se evidencia que la presencia del factor ambiental, el factor genético y la interacción entre ellos (interacción genoma-ambiente) incrementa el riesgo de la enfermedad. (Figura 2)

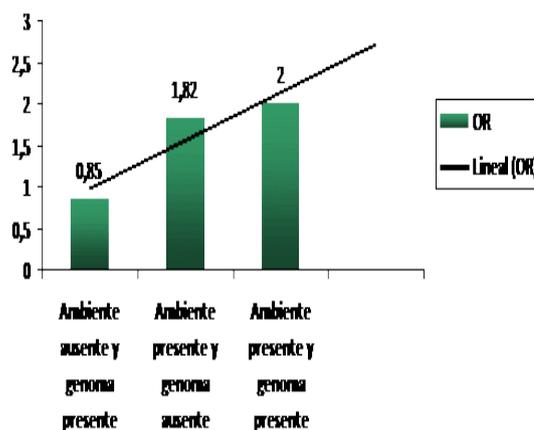


Figura 2. Riesgo de leucemia infantil por efecto ambiental, efecto genético e interacción genoma- ambiente.

DISCUSIÓN

En el estudio el antecedente de infecciones virales en la primera infancia constituyó un factor protector (OR<0,4), de manera que quien más enferma tiene menos riesgo en Pinar del Río de

desarrollar leucemia aguda durante la infancia. Estos resultados coinciden con la mayor parte de los estudios relacionados con el tema,^{5,6} cuyas hipótesis se apoyan en los mecanismos de la respuesta inmune que se estimulan ante el contacto con agentes infecciosos durante la primera infancia. La ausencia de estos eventos constituye un factor de riesgo ambiental íntimamente relacionado con factores genéticos que participan en la producción de IL-10.

El otro agente ambiental con asociación estadísticamente significativa fue la exposición a pesticidas y/o insecticidas, identificado según el cálculo del OR como un fuerte factor de riesgo. Aun cuando el riesgo de enfermar por exposición preconcepcional y prenatal respectivamente se consideró moderado por la magnitud de la asociación (OR=1,88) no puede perderse la percepción del riesgo acumulado por exposición permanente. Si un gameto dañado (espermatozoide con alteración germinal)⁷ da lugar a un huevo o cigoto que se mantiene expuesto aumenta la probabilidad de ocurrencia de alteraciones secundarias o somáticas en el material genético. Estos eventos pudieran ser suficientes para el desarrollo de clones pre-leucémicos.^{8,9}

No obstante, el riesgo calculado a expensas de la exposición postnatal confirma el rol del ambiente como modulador de la expresión de los genes; efecto no necesariamente mutagénico pues además activa mecanismos epigenéticos que también se describen en la leucemia infantil.^{10, 11}

El antecedente positivo de leucemia en la familia aumentó el riesgo de la enfermedad aproximadamente cuatro veces. Aun cuando el grado de parentesco de los familiares afectados no fue de los más cercanos tener lazos consanguíneos implica compartir una determinada proporción de genes en común, que es mayor mientras más próxima es la relación entre los parientes. Tener familiares afectados conlleva un riesgo de transmisión en la familia de secuencias de material genético que confieren susceptibilidad.

No todos los portadores de las mismas secuencias expresan, sin embargo, estas por igual, teniendo en cuenta las complejas interacciones gen-gen que se establecen en cada genoma individual y las interrelaciones genoma-ambiente.¹² Ello pudiera justificar el hecho de que dos familiares estén afectados existiendo entre ellos individuos de generaciones intermedias sin manifestaciones de enfermedad. Estudios posteriores que incluyan la genotipación de los enfermos y sus familias identificarán cuál o cuáles genes de susceptibilidad para la leucemia aguda infantil se transmiten en una y otra familia del contexto pinareño.

Por otra parte, muchas formas de cáncer presentan una mayor incidencia en parientes de los pacientes que en la población general. Han sido descritos alrededor de 50 trastornos mendelianos en los que el riesgo es muy elevado. Entre ellos se incluye el síndrome Li-Fraumeni caracterizado por la aparición de neoplasias que afectan varios individuos dentro de una misma familia. Se ha identificado a TP53, el gen del síndrome Li-Fraumeni dentro de los loci de susceptibilidad para la leucemia infantil.¹³

Finalmente, llama la atención que la contribución del factor genético al desarrollo de leucemia infantil en ausencia de exposición ambiental específica para pesticidas e insecticidas resultó indiferente (OR=0,85). Sin embargo, mostró un notable incremento bajo el efecto del factor ambiental (OR=2). Ello confirma la teoría de que la susceptibilidad genética por sí sola no es suficiente para desarrollar la leucemia, sino que requiere la contribución de otros factores.¹⁴⁻¹⁵ Cabría plantear la hipótesis que los genes de susceptibilidad más comunes en la población pinareña probablemente están relacionados con los mecanismos de detoxificación de agentes químicos tan específicos como los pesticidas/insecticidas. De ahí que su inadecuada expresión no produce enfermedad mientras el individuo no se expone al ambiente desfavorable, pero el contacto con dicho factor favorece la

aparición de la enfermedad en quienes tienen un sustrato genético predisuesto.

Estos resultados se corresponden con un modelo B de interacción genoma-ambiente en el que la presencia del genotipo exagera el efecto del factor de riesgo ambiental. En otras palabras, los pesticidas/insecticidas por sí solos producen leucemia infantil; si la exposición ocurre en un individuo con genotipo predisponente entonces la acumulación de mutaciones será mayor y más rápida por lo que ineludiblemente dará lugar al cáncer. Este planteamiento a modo de conclusión se convierte a su vez en hipótesis para estudios futuros en una muestra más amplia y con diseños epidemiológicos aún más exigentes.

AGRADECIMIENTOS

A Amanda Alonso Valle, alumna interna de Medicina por su colaboración en la recolección de la información.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud (OMS): <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es>
2. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Anuario Estadístico de Cuba 2015 [Internet] Disponible en: <http://bvscuba.sld.cu/anuario-estadistico-de-cuba/>
3. Brisson GD, Alves LR, Pombo-de-Oliveira M. Genetic susceptibility in childhood acute leukaemias: a systematic review. *Ecancermedicalscience* [Internet] 2015 [citado 2015 sep 06];14(9):539. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4448992/>
4. Metayer C, Milne E, Clavel J, Infante-Rivard C, Petridou E, Taylor M, et al. The Childhood Leukemia International Consortium. *Cancer Epidemiol* [Internet] 2013 [citado 2016 jun 02];37(3):[Aprox.11p]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3652629/>
5. Marcotte EL, Ritz B, Cockburn M, Yu F, Heck JE. Exposure to Infections and Risk of Leukemia in Young Children. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet] 2014 [citado 2015 ago 05]; 23(7):[Aprox.8.p] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24793957>
6. Jiun-Nong L, Cheng-Li L, Ming-Chia L, Chung-Hsu L, His-Hsyun L, Chih-Hui Y et al. Risk of leukaemia in children infected with enterovirus: a nationwide, retrospective, population-based, Taiwanese-registry, cohort study. *The Lancet oncology* [Internet] 2015 [citado 2015 sep 06];23(2):[Aprox.16p]. Disponible en: <http://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045%2815%2900060-1/fulltext>
7. Whitehead TP, Metayer C, Wiemels JL, Singer AW, Miller MD. Childhood Leukemia and Primary Prevention. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. [Internet] 2016 [citado 2017 mar 04]; 46(10): [Aprox.35.p]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5161115/>
8. Bailey HD, Infante-Rivard C, Metayer C, Clavel J, Lightfoot T, Kaatsch P et al. Home pesticide exposures and risk of childhood leukemia: Findings from the Childhood Leukemia International Consortium. *Int J Cancer* [Internet] 2015 [citado 2017 mar 03];137(11):[Aprox.19.p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4572913/>

9. Hernández AF, Menéndez P. Linking Pesticide Exposure with Pediatric Leukemia: Potential Underlying Mechanisms. *Int J Mol Sci.* [Internet] 2016 [citado 2017 abr 01];17(4):461. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4848917/>
10. Gabriel AS, Lafta FM, Schwalbe EC, Nakjang S, Cockell SJ, Iliasova A, et al. Epigenetic landscape correlates with genetic subtype but does not predict outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Epigenetics* [Internet] 2015 [citado 2016 dic 15];10(8):[Aprox.9p]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4622588/>
11. Vicente C, Schwab C, Broux M, Geerdens E, Degryse S, Demeyer S et al. Targeted sequencing identifies associations between IL7R-JAK mutations and epigenetic modulators in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica.* [Internet] 2015 [citado 2016 dic 15];100(10):[Aprox.9.p]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4591762/>
12. Pombo-de-Oliveira MS, Emerenciano M, Winn AP, Costa I, Mansur MB, Ford AM. Concordant B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in non-twin siblings. *Blood Cells Mol Dis.* [Internet] 2015 [citado 8 Mar 2017];54(1):110-115. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25150625/>
13. Tian X, Shundong D, Sun J, Jiang S, Jiang Y. Association between TP53 Arg72Pro polymorphism and leukemia risk: a meta-analysis of 14 case-control studies. *Sci Rep.* [Internet] 2016 [citado 2017 abr 03];6: 24097. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4823650/>
14. Evans TJ, Milne E, Anderson D, Klerk de N, Jamieson SE, Talseth-Palmer BA, et al. Confirmation of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Variants, *ARID5B* and *IKZF1*, and Interaction with Parental Environmental Exposures. *PLoS One* [Internet] 2014 [citado 2016 nov 20];9(10):e110255. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4195717/>
15. Rudant J, Orsi L, Bonaventure A, Goujon-Bellec S, Baruchel A, Petit A et al. *ARID5B*, *IKZF1* and Non-Genetic Factors in the Etiology of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: The ESCALE Study. *PLoS One.* [Internet] 2015 [citado 2017 mar 08];10(3):e0121348. Disponible en: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0121348>
-



Anitery Travieso Tellez: Médica. Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral y Genética Clínica. Profesor Asistente e Investigador Agregado. Departamento Provincial de Genética Médica. Hospital Pediátrico Provincial Docente Pepe Portilla. Pinar del Río. Cuba. ***Si usted desea contactar con el autor de la investigación hágalo aquí***