

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 1 **Caracterización citogenética y molecular de leucemia mieloide aguda en pacientes del Hospital Juárez de México**
Andrea Perero Polit, Katy Sánchez Pozos, Jorge Cruz Rico, Mónica Tejeda Romero, Faustino Cruz Leyto, Bogar Pineda Terreros, Vicky Moncada Gadea, Samantha Stefany Coutiño Ochoa, Sandra López Palafox, Andrea Milán Salvatierra
- 11 **Identificación de la inversión del intrón 22 por medio de IS-PCR en dos familias con hemofilia A y B**
Iveth Mendoza Salas, Irma Olarte Carrillo, Tatiana Sarai Rivera Domínguez, Rafael Cerón Maldonado, Adrián De la Cruz Rosas, Juan Collazo Jaloma, Carlos Martínez Murillo, Adolfo Martínez Tovar

REVISIÓN SISTEMÁTICA

- 18 **Anemia perniciosa: efectos en la salud del adulto mayor y tratamiento**
Lizbeth Morales Castillejos, María de la Cruz Cardoso Reyes

CASO CLÍNICO

- 31 **Linfoma de células B de alto grado derivado del centro germinal, tipo Burkitt asociado con virus de Epstein-Barr en un paciente con VIH**
Alejandro Nájera Luengo, Arianna Stephania Zatarain Osuna, Jesús Alberto López Moreno

Revista de **HEMATOLOGÍA**

EDITOR EN JEFE

Christian RAMOS-PEÑAFIEL. Ciudad de México, México

COORDINADOR EDITORIAL

Adán Germán GALLARDO-RODRÍGUEZ. Ciudad de México, México

EDITORES ASOCIADOS

Oscar GONZÁLEZ-LLANO. Monterrey, México

Carlos BEST-AGUILERA. Guadalajara, México

Amalia BRAVO-LINDORO. Ciudad de México, México

Alejandro LAZO-LANGNER, London, ON, Canadá

COMITÉ EDITORIAL

Álvaro AGUAYO. Ciudad de México, México

Javier BOLAÑOS-MEADE. Baltimore, EUA

Jorge CORTÉS. Houston, EUA

Aurora DE-LA-PEÑA. Ciudad de México, México

Sergio GIRALT. Nueva York, EUA

David GÓMEZ-ALMAGUER. Monterrey, México

Renán A. GÓNGORA-BIACHI†. Mérida, México

Bertha IBARRA. Guadalajara, México

José Carlos JAIME-PÉREZ. Monterrey, México

Francesco LO COCO. Roma, Italia

Xavier LÓPEZ-KARPOVITCH. Ciudad de México, México

Alejandro MADRIGAL. Londres, Inglaterra

Carlos MARTÍNEZ-MURILLO. Ciudad de México, México

Héctor MAYANI. Ciudad de México, México

Rubén A. MESA. Scottsdale, EUA

José María MORALEDA. Murcia, España

Rubén NIESVIZKY. Nueva York, EUA

Victoria OTERO. Argentina

Guillermo J. RUIZ-ARGÜELLES. Puebla, México

Guillermo J. RUIZ-DELGADO. Puebla, México

Arlette RUIZ-de-SAEZ, Caracas, Venezuela

Jesús F. SAN-MIGUEL. Salamanca, España

Sofía SÁNCHEZ. Ciudad de México, México

Luz del Carmen TARIN-ARZAGA. Monterrey, México

José Francisco TOMAS. Madrid, España

Enrique TORRE-LÓPEZ. San Luis Potosí, México

Jorge VELA-OJEDA. Ciudad de México, México

Rev Hematol Mex 2024; 25: enero-marzo

FUNDADOR

Dr. Luis SÁNCHEZ-MEDAL†

PRESIDENTE

Dra. María de los Angeles DEL CAMPO MARTÍNEZ

VICEPRESIDENTE

Dr. Efrén MONTAÑO FIGUEROA

SECRETARIO

Dr. Pedro Arturo ZÁRATE RODRÍGUEZ

TESORERO

Dra. Brenda Lizeth ACOSTA MALDONADO

VOCAL DE ACTIVIDADES ACADÉMICAS

Dr. Andrés GÓMEZ DE LEÓN

VOCAL DE MEMBRESÍA

Dr. Efraín AQUINO FERNÁNDEZ

GERENTE ADMINISTRATIVO

Mayra OVIEDO-PELL

Revista de Hematología, año 25, enero-marzo, 2024, es una publicación trimestral editada por la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C. San Francisco 1626, Desp. 406, Colonia Del Valle, Delegación Benito Juárez, CP 03100, México, DF. Tel.: 52 (55) 5524-1112, 52 (55) 5534-1856, www.amehac.org.

Editor responsable: Christian Ramos-Peñañiel. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor: 04-2024-072414160200-102. ISSN: 2448-4709, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Certificado de Licitud de Título en trámite. Certificado de Licitud de Contenido en trámite, otorgados por la Comisión Calificadora de Publicaciones y Revistas Ilustradas de la Secretaría de Gobernación.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.

Publicación realizada, comercializada y distribuida por **Edición y Farmacia SA de CV** (Nieto Editores®). Av. Chamizal 97, Colonia La Trinidad, Texcoco 56130, Estado de México. www.nietoeditores.com.mx.



CONGRESO NACIONAL DE HEMATOLOGIA 2024

30 OCTUBRE AL
2 DE NOVIEMBRE
BOCA DEL RÍO

*Toda la
Información*



World Trade Center Veracruz

CONTENIDO

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 1** **Caracterización citogenética y molecular de leucemia mieloide aguda en pacientes del Hospital Juárez de México**
Andrea Perero Polit, Katy Sánchez Pozos, Jorge Cruz Rico, Mónica Tejeda Romero, Faustino Cruz Leyto, Bogar Pineda Terreros, Vicky Moncada Gadea, Samantha Stefany Coutiño Ochoa, Sandra López Palafox, Andrea Milán Salvatierra
- 11** **Identificación de la inversión del intrón 22 por medio de IS-PCR en dos familias con hemofilia A y B**
Iveth Mendoza Salas, Irma Olarte Carrillo, Tatiana Sarai Rivera Domínguez, Rafael Cerón Maldonado, Adrián De la Cruz Rosas, Juan Collazo Jaloma, Carlos Martínez Murillo, Adolfo Martínez Tovar

REVISIÓN SISTEMÁTICA

- 18** **Anemia perniciosa: efectos en la salud del adulto mayor y tratamiento**
Lizbeth Morales Castillejos, María de la Cruz Cardoso Reyes

CASO CLÍNICO

- 31** **Linfoma de células B de alto grado derivado del centro germinal, tipo Burkitt asociado con virus de Epstein-Barr en un paciente con VIH**
Alejandro Nájera Luengo, Arianna Stephania Zatarain Osuna, Jesús Alberto López Moreno

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES

- 1** **Cytogenetic and molecular characterization of acute myeloid leukemia in patients of Hospital Juarez of Mexico**
Andrea Perero Polit, Katy Sánchez Pozos, Jorge Cruz Rico, Mónica Tejeda Romero, Faustino Cruz Leyto, Bogar Pineda Terreros, Vicky Moncada Gadea, Samantha Stefany Coutiño Ochoa, Sandra López Palafox, Andrea Milán Salvatierra
- 11** **Identification of intron 22 inversion by IS-PCR in two families with hemophilia A and B**
Iveth Mendoza Salas, Irma Olarte Carrillo, Tatiana Sarai Rivera Domínguez, Rafael Cerón Maldonado, Adrián De la Cruz Rosas, Juan Collazo Jaloma, Carlos Martínez Murillo, Adolfo Martínez Tovar

SYSTEMATIC REVIEW

- 18** **Pernicious anemia: Effects on the health of older adults and treatment**
Lizbeth Morales Castillejos, María de la Cruz Cardoso Reyes

CLINICAL CASE

- 31** **High-grade B-cell lymphoma derived from the germinal center, Burkitt type associated with Epstein-Barr virus in an HIV-patient**
Alejandro Nájera Luengo, Arianna Stephania Zatarain Osuna, Jesús Alberto López Moreno

https://doi.org/10.24245/rev_hematol.v25id.10041

Caracterización citogenética y molecular de leucemia mieloide aguda en pacientes del Hospital Juárez de México

Cytogenetic and molecular characterization of acute myeloid leukemia in patients of Hospital Juarez of Mexico.

Andrea Perero Polit,¹ Katy Sánchez Pozos,² Jorge Cruz Rico,³ Mónica Tejeda Romero,³ Faustino Cruz Leyto,³ Bogar Pineda Terreros,³ Vicky Moncada Gadea,¹ Samantha Stefany Coutiño Ochoa,¹ Sandra López Palafox,¹ Andrea Milán Salvatierra³

Resumen

INTRODUCCIÓN: La leucemia mieloide aguda surge a partir de la adquisición seriada de mutaciones somáticas, donde las células madre y progenitoras hematopoyéticas tienen la capacidad de autorrenovación y propagación del clon neoplásico. El objetivo de este estudio es identificar las características citogenéticas y moleculares de los pacientes con leucemia mieloide aguda que acuden al Hospital Juárez de México.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio descriptivo, longitudinal y ambispectivo efectuado en pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de leucemia mieloide aguda según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), atendidos en el servicio de Hematología del Hospital Juárez de México entre enero de 2021 y marzo de 2023. Se practicaron aspirados de médula ósea, citometría de flujo, qPCR, cariotipo y análisis de rearrreglos moleculares al diagnóstico para clasificar la leucemia mieloide aguda.

RESULTADOS: Se incluyeron 32 pacientes, la edad de aparición de la leucemia mieloide aguda fue similar a la de los reportes previos en población hispana y latina. Las mutaciones más frecuentes detectadas por qPCR y cariotipo fueron: *FLT3-IDT* (6.25%), *FLT3-TKD* (6.25%), *inv(16)/t(16;16)* (6.25%), *NPM1* (6.25%), *t(8;21)* (3%) y *CBFB-MYH11* (3%). Once pacientes tuvieron remisión completa.

CONCLUSIONES: Las mutaciones principales y genes de fusión identificados fueron: *FLT3-IDT*, *FLT3-TKD*, *inv(16)/t(16;16)*, *NPM1*, *t(8;21)* y *CBFB-MYH11*. La caracterización citogenética y molecular permite proporcionar un tratamiento personalizado a los pacientes con leucemia mieloide aguda.

PALABRAS CLAVE: Leucemia mieloide aguda; cariotipo; *NPM1*; inversión cromosomal.

Abstract

INTRODUCTION: Acute myeloid leukemia (AML) develops through sequential acquisition of somatic mutations, where hematopoietic stem and progenitor cells have the capacity for self-renewal and propagation of the neoplastic clone. The objective of this study is to identify cytogenetic and molecular characteristics of acute myeloid leukemia patients attending Hospital Juarez of Mexico.

MATERIALS AND METHODS: A descriptive, cross-sectional, prospective study was conducted on men and women over 18 years old diagnosed with acute myeloid leukemia according to WHO criteria, treated at the Hematology Service of Hospital Juarez of Mexico from January 2021 to March 2023. Bone marrow aspirations, flow cytometry, PCR, karyotyping, and molecular rearrangement analysis at diagnosis were performed to classify acute myeloid leukemia.

¹ Médico residente del servicio de Hematología.

² División de Investigación.

³ Médico adscrito al servicio de Hematología. Hospital Juárez de México, Ciudad de México.

Recibido: 15 de febrero 2024

Aceptado: 26 de julio 2024

Correspondencia

Andrea Milán Salvatierra
doc.milandrea@gmail.com

Este artículo debe citarse como:

Perero-Polit A, Sánchez-Pozos K, Cruz-Rico J, Tejeda-Romero M, Cruz-Leyto F, Pineda-Terreros B, Moncada-Gadea V, Coutiño-Ochoa SS, López-Palafox S, Milán-Salvatierra A. Caracterización citogenética y molecular de leucemia mieloide aguda en pacientes del Hospital Juárez de México. Hematol Mex 2024; 25 (1): 1-10.

RESULTS: There were included 32 patients, onset age of acute myeloid leukemia was similar to previous reports in Hispanic and Latin-American population. Genetic rearrangements were identified in one patient, and age, sex and clinical manifestations of each patient were determined. The most frequent mutations detected by PCR and karyotyping were: *FLT3-IDT* (6.25%), *FLT3-TKD* (6.25%), *inv(16)/t(16;16)* (6.25%), *NPM1* (6.25%), *t(8;21)* (3%), and *CBFB-MYH11* (3%). Complete remission was observed in 11 patients.

CONCLUSIONS: The main mutations and fusion genes identified were: *FLT3-IDT*, *FLT3-TKD*, *inv(16)/t(16;16)*, *NPM1*, *t(8;21)*, *CBFB-MYH11*. Cytogenetic and molecular characterization allows to provide personalized treatment to patients with acute myeloid leukemia.

KEYWORDS: Acute myeloid leukemia; Karyotype; *NPM1*; Chromosome inversion.

ANTECEDENTES

La leucemia mieloide aguda es una enfermedad hematológica maligna caracterizada por la proliferación no controlada de blastos inmaduros en la médula ósea, lo que interfiere con la producción normal de células sanguíneas.¹ La leucemia mieloide aguda aparece a partir de la adquisición seriada de mutaciones somáticas, debido a la capacidad de autorrenovación y propagación del clon neoplásico de las células madre y progenitoras hematopoyéticas. Esto conduce a la expansión de tal clon de células, fenómeno conocido como hematopoyesis clonal.²

La leucemia mieloide aguda es la forma más común de leucemia en adultos, representa aproximadamente el 77% de los casos en países industrializados; la edad media de aparición es a los 68 años. De acuerdo con la Sociedad Americana de Cáncer (ACS), se esperan alrededor de 20,800 nuevos casos durante 2024, la mayoría en adultos, y alrededor de 11,220 muertes por leucemia mieloide aguda.³

Los estudios llevados a cabo en pacientes hispanos en Estados Unidos mostraron una edad de aparición de leucemia mieloide aguda más temprana en comparación con poblaciones caucásicas, esto aunado a un peor pronóstico. Asimismo, en países de Latinoamérica se ha reportado una edad media de diagnóstico entre 32 y 43 años.^{4,5} A pesar de los múltiples estudios de esta enfermedad efectuados en otros países, en México son escasos los reportes de su incidencia y prevalencia.

El tratamiento adecuado y a tiempo de la leucemia mieloide aguda depende de un buen diagnóstico y clasificación de la enfermedad. De este modo, el diagnóstico debe establecerlo un equipo multidisciplinario que debe tomar en cuenta la caracterización clínica, morfológica, citogenética y molecular de la leucemia mieloide aguda.² La clasificación se hace de acuerdo con los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud 2022 (*Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms, WHO 2022*).⁶ Así, gracias

al diagnóstico y clasificación oportunos, el pronóstico de los pacientes con leucemia mieloide aguda ha mejorado de manera significativa en los últimos años, alcanzando una tasa global de supervivencia hasta del 50% en pacientes tratados con quimioterapia intensiva.⁷

En la actualidad las anomalías genéticas tienen mayor peso en el proceso diagnóstico, porque su correcta identificación y clasificación son decisivas en el pronóstico y respuesta al tratamiento, por lo que su identificación y caracterización en los pacientes cobra relevancia en la toma de decisiones en la práctica clínica.⁸ Las anomalías genéticas más frecuentes incluyen: translocaciones (t)/inversiones (inv), así como mutaciones, que representan del 20 al 30% en pacientes con leucemia mieloide aguda.

Entre las translocaciones destacan: t(8;21)(q22;q22.1), t(3; 3)(q21.3; q26.2) y t(1; 22)(p13.3; q13.1).⁹ La Red Europea de Leucemia (*European Leukemia Net*, ELN) sugiere que el proceso diagnóstico incluya la búsqueda de mutaciones en los genes NPM1, CEBPA, ASXL1, RUNX1 y TP53, así como variaciones genéticas en FLT3 (ITD y TKD).^{10,11}

Ciertas variaciones genéticas se asocian con el pronóstico de la leucemia mieloide aguda. Por ejemplo, en pacientes con la translocación (8;21) las variaciones genéticas en KIT se han asociado con un pronóstico desfavorable.² Por otro lado, la translocación (8;21) con hipodiploidía y eliminación del cromosoma 9 se ha relacionado con mejor supervivencia global. Lo mismo ocurre con la inversión (16) con la trisomía del cromosoma 8.¹²

Ciertas variaciones genéticas repercuten en la eficacia del tratamiento. En este sentido, no hay tratamientos específicos contra las leucemias mieloides agudas debidas a mutaciones en el gen TP53.¹³ No obstante, hoy día existen dos inhibidores de FLT3 (además de dos en proceso

de aprobación), un inhibidor de IDH1 y un inhibidor de IDH2 para pacientes con estas variaciones patogénicas.^{14,15}

En la actualidad los estudios disponibles en México de los efectos fisiopatológicos de las mutaciones de pacientes con leucemia mieloide aguda en nuestra población son pocos, por lo que el objetivo de este trabajo fue identificar las características citogenéticas y moleculares de los pacientes con leucemia mieloide aguda que acuden al Hospital Juárez de México y su repercusión en el pronóstico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio descriptivo, longitudinal y ambispectivo, en el que se incluyeron todos los pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de leucemia mieloide aguda de acuerdo con los criterios de la OMS 2022, de enero de 2021 a marzo de 2023.⁶ El criterio de inclusión fue tener al menos un 20% de blastos en médula ósea. El origen celular mieloide se confirmó por inmunofenotipo mediante citometría de flujo. Todos los pacientes fueron tratados en el servicio de Hematología del Hospital Juárez de México. Se excluyeron los pacientes con leucemia promielocítica aguda, enfermedad extramedular aislada, sarcoma mieloide aislado y neoplasias de células dendríticas blásticas plasmocitoides. Se consideró criterio de eliminación un expediente clínico incompleto.

Asimismo, se registraron los resultados de citometría de flujo para determinar si había enfermedad mínima residual. Se consideró remisión total de acuerdo con el criterio de Cheson y colaboradores: menos del 5% de blastos en médula ósea, recuperación hematopoyética con cuentas absolutas de neutrófilos > 1000/ μ L y cuentas de plaquetas > 100,000/ μ L, ausencia de blastos en sangre periférica o enfermedad extramedular.¹⁶

También se observó la supervivencia a uno y tres años según el resultado del tipo de egreso.

Otras variables registradas fueron: edad, sexo y comorbilidades que incluyeron cardiopatías u otras afecciones de la infancia que pudieran alterar el diagnóstico y tratamiento.

Todos los sujetos firmaron consentimiento informado de participación voluntaria en el estudio. El protocolo se registró en el Hospital Juárez de México (HJM 037/22-R) y se llevó a cabo de acuerdo con la Declaración de Helsinki.

Caracterización citogenética y molecular

Al inicio del estudio se efectuaron análisis morfológicos, citogenéticos y moleculares. La reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (RT-qPCR) se utilizó para identificar 45 genes de fusión, que incluyeron *CBFB-MYH11*, *BCR-ABL1*, *RUNX1-RUNX1T1* y *MLL (mixed lineage leukemia)*. El análisis citogenético se hizo por medio de un cariotipo convencional (bandas G). Las anomalías cromosómicas numéricas y clonales estructurales se reportaron de acuerdo con la Nomenclatura en Citogenómica Humana 2020 (*International System for Human Cytogenetics Nomenclature*, ISCN 2020).

Análisis estadístico

Para el cálculo del tamaño de muestra se utilizó la fórmula para calcular proporciones en poblaciones infinitas. Por tanto, se determinó un tamaño de muestra de al menos 32 participantes teniendo en cuenta lo siguiente: prevalencia de leucemia mieloide aguda en la Ciudad de México de 8.18 casos por millón de habitantes¹⁷ con poder estadístico del 80%, precisión del 5% y nivel de confianza del 95%.

Los datos se analizaron con el programa SPSS versión 25.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, Estados Unidos). Los resultados se representaron como el promedio \pm desviación estándar (SD) o como medianas (percentiles 25-75) de acuerdo con la distribución de los datos. Se hizo una prueba t

de Student o U de Mann-Whitney para llevar a cabo comparaciones según el caso. Las variables categóricas se representaron como frecuencias. Las frecuencias se expresaron como porcentajes y se analizaron mediante prueba χ^2 . Se consideraron diferencias significativas cuando el valor de p fue menor a 0.05.

RESULTADOS

Durante el periodo de estudio se diagnosticaron 32 pacientes *de novo* con leucemia mieloide aguda. De éstos, 23 tenían menos de 60 años y 9 eran mayores de 60 años. La distribución por sexo fue 2:1, las mujeres fueron las más afectadas (**Cuadro 1**). Por otro lado, la mediana del IMC fue de 24.5 kg/m² y la mediana del valor de hemoglobina fue de 6.60 g/dL, mientras que el valor de plaquetas fue de 38.0 $\times 10^9/L$, el de leucocitos de 12.5 $\times 10^9/L$ y blastos en médula ósea del 64%. **Cuadro 1**

El 81.25% de los pacientes se clasificó como ECOG 0 y 1, escala determinada para estimar la calidad de vida o estado funcional de los pacientes con leucemia mieloide aguda. Del mismo modo, el 12.5% de los pacientes estaban en ECOG 2 y el 6.25% en ECOG 3.

Trece pacientes con leucemia mieloide aguda tuvieron baja mortalidad y 19 tuvieron alta mortalidad. En este sentido, la población de 60 a 69 años (n = 7) tenía múltiples comorbilidades, evidenciado por un índice de Charlson mayor a 3, mientras que la población de 30 a 39 años (n = 9) y de 70 a 89 años tuvo pocas comorbilidades (índice de Charlson < 3). **Cuadro 1**

Se practicó una ecocardiografía a 18 pacientes con el fin de estimar la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) para evaluar la afectación cardíaca en los pacientes con leucemia mieloide aguda. De los pacientes evaluados, 16 mostraron una FEVI normal (50 al 70%) al momento del diagnóstico, mientras que dos pa-

cientes tuvieron una FEVI menor al 45%, valor indicativo de una fracción de eyección al límite (41 al 49%).

De acuerdo con la clasificación Francesa-Americana-Británica (FAB), 14 pacientes se clasificaron como M2, 7 como M0, 6 como M4 y 2 como M5 (**Cuadro 1**). Los tipos M1, M6 y M7 se observaron en un paciente cada uno.

Caracterización citogenética y molecular

El 40.6% (n = 13) de los casos mostró un cariotipo normal (**Cuadro 1**), el 31.3% (n = 10) tuvo un cariotipo positivo para algunas alteraciones citogenéticas y en el 28.1% (n = 9) los resultados no fueron concluyentes. **Cuadro 1**

En el análisis de mutaciones a los pacientes con leucemia mieloide aguda, en 16 de los pacientes incluidos no se hicieron las evaluaciones de *KIT*, *RUNX1*, *CEBPA*, *NMP1*, *ASLX1*, *TP53*, *IDH1* e *IDH2* por cuestiones ajenas al estudio. Se analizaron los 16 pacientes restantes y se encontró que 2 fueron positivos para *FLT3-ITD*, 2 para *FLT3-TKD*, 2 mostraron variaciones genéticas en *NPM1* y 1 paciente en *CBFB-MYH1*. **Cuadro 1**

De acuerdo con la ELN 2022, 22 de los 32 pacientes mostraron un riesgo citogenético intermedio, mientras que 4 tuvieron un riesgo no favorable o adverso y 6 pacientes tuvieron un riesgo favorable.

Tratamiento y respuesta posinducción

De los 32 pacientes con leucemia mieloide aguda, 22 recibieron un tratamiento intensivo que incluyó citarabina y antraciclina. Siete pacientes se trataron con un esquema de baja intensidad, que incluyó azacitidina venetoclax, azacitidina y citarabina subcutánea. Por último, 2 recibieron un tratamiento dirigido con midostaurina y únicamente 3 no recibieron ningún tipo de tratamiento.

Cuadro 1. Parámetros sociodemográficos y hematológicos de la población de estudio (n = 32)

Parámetro	Total (n)
Edad (años)	48.5 (33.0, 60.3)
Sexo	
Masculino	13
Femenino	19
IMC (kg/m ²)	24.5 (23.0, 27.0)
Leucocitos (x 10 ⁹ /L)	12.5 (2.9, 50.0)
Hemoglobina (g/L)	6.60 (5.40, 9.00)
Plaquetas (x 10 ⁹ /L)	38.0 (16.5, 79.0)
Blastos en médula ósea (%)	64.0 (38.5, 89.0)
Clasificación FAB	
M0	7
M1	1
M2	14
M4	6
M5	2
M6	1
M7	1
ELN 2022	
Favorable	6
Intermedio	22
Adverso	4
Genes de fusión	
<i>RUNX1-RUNX1T1</i>	0
<i>CBFB-MYH11</i>	1
Cariotipo	
Normal	13
Complejo	
t(8;21)	1
Inv (16)/t (16;16)	2
No disponible	9
Otro	4
Tratamiento	
Régimen 3 + 7	22
Baja intensidad	7
Mutaciones identificadas	
<i>FLT3-ITD</i>	2
<i>FLT3-TKD</i>	2
<i>NPM1</i>	2

Después de la inducción 11 pacientes lograron remisión completa, mientras que 21 mostraron una respuesta incompleta.

Nueve pacientes fallecieron durante la inducción. A los pacientes que no tuvieron buena respuesta posinducción se les hizo reinducción (n = 6); 4 mostraron respuesta completa en la reinducción.

Solo a un paciente con leucemia mieloide aguda se le practicó trasplante de células progenitoras (procedimiento efectuado en el Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca), quien mostró remisión. El resto de los pacientes continuó bajo un esquema terapéutico.

En el seguimiento a los pacientes, 16 fallecieron y 15 están en vigilancia continua por el servicio de Hematología del hospital.

Datos clínicos y moleculares por edad

Los pacientes se estratificaron por edad en menores de 60 años y de 60 años o más. La distribución por sexo 2:1 solo se observó en los sujetos mayores de 60 años; en los menores de 60 años la relación fue 1.3:1 (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Características clínicas y demográficas de los pacientes con leucemia mieloide aguda estratificados por edad (n = 32) (continúa en la siguiente columna)

Parámetro	Total	
	Edad menor de 60 años, n = 23	Edad ≥ 60 años, n = 9
Edad	37.0 (32.5, 49.0)	66.0 (65.0, 69.0)
Sexo		
Masculino	10	3
Femenino	13	6
IMC (kg/m ²)	25.0 (23.5, 28.0)	24.0 (22.0, 25.0)
Leucocitos (x 10 ⁹ /L)	8.5 (2.9, 56.3)	16.5 (4.0, 46.4)
Hemoglobina (g/L)	6.60 (5.55, 8.10)	7.20 (4.00, 9.30)
Plaquetas (x 10 ⁹ /L)	42.0 (19.0, 89.0)	22.0 (9.0, 47.0)
Blastos en médula ósea (%)	64.0 (46.5, 86.0)	57.0 (32.0, 90.0)

Cuadro 2. Características clínicas y demográficas de los pacientes con leucemia mieloide aguda estratificados por edad (n = 32) (continuación)

Parámetro	Total	
	Edad menor de 60 años, n = 23	Edad ≥ 60 años, n = 9
Clasificación FAB		
M0	5	2
M1	0	1
M2	10	4
M4	4	2
M5	2	0*
M6	1	0
M7	1	0*
ELN 2022		
Favorable (%)	4	2
Intermedio (%)	16	6
Adverso (%)	3	1
Genes de fusión		
RUNX1-RUNX1T1	0	0
CBFB-MYH11	1	0
Cariotipo		
Normal	7	6
Complejo	2	1
t(8;21)	1	0
Inv(16)/t(16;16)	1	1
No disponible	8	1
Otro	4	0
Tratamiento		
Régimen 3 + 7	19	3*
Baja intensidad	4	6*
Mutaciones identificadas		
FLT3-ITD	2	0*
FLT3-TKD	1	1
NPM1	1	1

* p < 0.05 se consideró estadísticamente significativa. Se utilizó χ^2 .

Asimismo, ningún paciente mayor de 60 años mostró variantes morfológicas tipo M5, M6 o M7; esta diferencia fue significativa. Otro

parámetro en el que se observaron diferencias significativas fue en el tratamiento: el 82.6% de los pacientes con leucemia mieloide aguda menores de 60 años recibieron tratamiento de alta intensidad, mientras que solo el 33.3% de los pacientes mayores de 60 años recibieron ese esquema. En contraste, el 66.7% de los pacientes mayores de 60 años recibieron un esquema de baja intensidad comparado con el 17.4% de los pacientes menores de 60 años. Solo los pacientes menores de 60 años tuvieron la mutación *FLT3-ITD*.

El objetivo de este análisis fue evidenciar si había diferencias clínicas de acuerdo con la mutación presente en los pacientes con leucemia mieloide aguda (**Cuadro 3**). La diferencia más marcada fue en la cantidad de leucocitos; los pacientes con menor cantidad de leucocitos tuvieron mutaciones en los genes *NPM1* y *t(8;21)*, junto con aquéllos con un cariotipo complejo. Del mismo modo, se observaron diferencias en la cantidad de plaquetas en los pacientes con *t(8;21)* y fenotipo complejo. El porcentaje de blastos en médula ósea fue menor de manera significativa en los pacientes con mutaciones en *FLT3* y con *inv(16)/t(16;16)*. Por último, el porcentaje de fallecidos fue mayor en el grupo con cariotipo.

DISCUSIÓN

La incidencia de leucemia mieloide aguda en México es baja en comparación con otros países. Esto posiblemente se deba a un subdiagnóstico de la enfermedad en nuestra población, resultado de los recursos limitados para establecer el diagnóstico preciso. El objetivo inicial del estudio fue describir las características citogenéticas y moleculares por medio de secuenciación en los pacientes del Hospital Juárez de México; sin embargo, debido a las limitaciones económicas, solo se tuvo acceso al cariotipo y a la qPCR, lo que es valioso debido a los pocos estudios en esta área en nuestra población.

Cuadro 3. Rearreglos y mutaciones identificadas por PCR y cariotipo

Parámetro	FLT3 (n = 4)	INV(16)/t(16;16) (n = 2)	NPM1 (n = 2)	CBFB-MYH11 (n = 1)	t(8;21) (n = 2)	Complejo (n = 3)
Sexo	Masculino Femenino	1 1	1 1	1 -	- 2	- 3
Leucocitos (x 10 ⁹ /L)	70.2 ± 134.0	46.3 ± 29.2	3.2 ± 1.2	66.4	20.5 ± 7.3	8.8 ± 6.6
Hemoglobina (g/L)	8.3 ± 2.2	6.6 ± 1.3	8.4 ± 2.3	5.7	7.4 ± 0.1	4.3 ± 2.2
Plaquetas (x 10 ⁹ /L)	53.3 ± 30.2	46.5 ± 0.7	31.5 ± 19.2	46.0	76.0 ± 41.0	107.0 ± 124.0
Blastos en médula ósea (%)	46.8 ± 21.9	57.5 ± 46.0	82.0 ± 11.3	90.0	50.5 ± 36.1	46.0 ± 18.5
Fallecidos	2	1	1	0	1	2*

* p < 0.05 se consideró estadísticamente significativa.

En este estudio la edad media de aparición de la leucemia mieloide aguda fue de 48 años, similar a lo encontrado en un estudio previo en población mexicana.¹⁸ En ese estudio, que incluyó 525 pacientes, se reportó una edad promedio al diagnóstico de 47 años (límites: 14 y 95 años), con mayor predominio en el sexo masculino. Sin embargo, la edad reportada en este trabajo y en el anterior es menor en comparación con otras poblaciones de origen no latino o hispano, lo que sugiere una edad de manifestación menor en nuestro país.²

Para establecer el diagnóstico de leucemia mieloide aguda se requiere una serie de análisis que incluyen cariotipo, qPCR, FISH y citometría de flujo para determinar enfermedad mínima residual; esta batería de determinaciones, además de proporcionar un diagnóstico certero, es muy importante no solo en la clasificación del riesgo y pronóstico, sino también en la toma de decisiones respecto al esquema de tratamiento.

En los pacientes con leucemia mieloide aguda incluidos en el estudio las alteraciones morfológicas prevalentes (42.4%) fueron las clasificadas como M2 de acuerdo con la FAB, aunque las alteraciones morfológicas de los tipos M5, M6 y M7 no se identificaron en los pacientes mayores de 60 años. La importancia de una clasificación correcta radica en que puede aportar información valiosa sobre el tratamiento y pronóstico de cada paciente.

La recomendación de la OMS en la clasificación de la leucemia mieloide aguda es estratificar el riesgo de los pacientes y, con base en esto, determinar el tratamiento adecuado. Otras organizaciones, como la Red Nacional Integral de Cáncer (NCCN, *National Comprehensive Cancer Network*), la ELN y la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO, *European Society for Medical Oncology*), han presentado guías muy similares para la estratificación del riesgo y

también, con base en ello, determinar la terapia farmacológica de cada paciente. La ELN integra las características citogenéticas y moleculares de leucemia mieloide aguda, con lo que surgen tres grupos de riesgo.¹⁴

En este estudio también se consideraron los rearrreglos moleculares y las mutaciones identificadas por qPCR y cariotipo. Los datos obtenidos en la búsqueda de las mutaciones arrojaron que la mutación más frecuente fue *FLT3-IDT* en el 6.25% de los pacientes y *FLT3-TKD* en otro 6.25% de los pacientes. Otras mutaciones identificadas fueron: *inv(16)/t(16;16)* (6.25%), *NPM1* (6.25%), *t(8;21)* (3%), *CBFB-MYH11* (3%), similar a lo encontrado en otras investigaciones. Sin embargo, en la mayor parte de ellas no puede observarse una asociación clara entre la evolución clínica y la alteración genética, lo que indica la gran heterogeneidad de todas las características (clínicas, moleculares y genéticas) que existen en esta enfermedad.

Todas las variables son importantes, sin dejar de lado la genética y el metabolismo de cada paciente. El interés en el uso de análisis moleculares ha ido en aumento para identificar marcadores de pronóstico o blancos terapéuticos en la identificación de clones genómicos en clases asociadas con la leucemia mieloide aguda. Según los análisis de riesgo citogenético del ELN 2022, en este trabajo de los 32 pacientes 22 tuvieron un riesgo citogenético intermedio, 4 tuvieron un riesgo desfavorable o adverso y 6 mostraron riesgo favorable.

La OMS 2022 reclasificó el riesgo y le dio más peso a los rearrreglos moleculares. Según la OMS 2017, el cambio de riesgo citogenético por la mutación *FLT3-IDT* o *FLT3-TKD*, que era adverso, pasó a ser intermedio.¹²

Respecto a los 32 pacientes estudiados con diagnóstico de leucemia mieloide aguda, el 68.7% tuvo tratamiento intensivo con el es-

quema 7 + 3, de estos pacientes 2 recibieron, además, midostaurina. En contraste, el 21.9% (n = 7) tuvo tratamiento de baja intensidad con los esquemas azacitidina venetoclax, azacitidina subcutánea, citarabina subcutánea y citarabina, mientras que el 9.4% (n = 3) no recibió tratamiento.

Dieciséis de los 32 pacientes fallecieron. La tasa de mortalidad mundial por cáncer al momento del diagnóstico es de 67 años; aproximadamente una tercera parte se diagnostica a los 75 años o más, por lo que a medida que la población envejece la incidencia de leucemia mieloide aguda ha aumentado.

Un estudio efectuado en nuestro hospital de la mortalidad tras la inducción de leucemia mieloide aguda en dos grupos principales de leucemias mieloides no promielocíticas encontró mortalidad relacionada con la inducción del 25%. El retraso en el diagnóstico, la alta carga tumoral, las infecciones en el momento del diagnóstico, las altas tasas de infecciones resistentes y otros problemas sociales y financieros son factores que contribuyen a que muchos pacientes no reciban tratamiento y que quienes lo reciben tengan alto riesgo de mortalidad.

Una de las decisiones más importantes en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda es la estimación del riesgo/beneficio asociado con la práctica de un alotrasplante de células madre hematopoyéticas en la primera remisión. El trasplante ofrece la mejor alternativa para prevenir las recaídas de la leucemia mieloide aguda, pero se asocia con mortalidad y morbilidad altas relacionadas con el tratamiento.

Clásicamente, el alotrasplante de células madre hematopoyéticas se ha ofrecido a pacientes con riesgo citogenético intermedio-alto, aunque deben considerarse varias cuestiones. En pacientes de riesgo favorable, el riesgo de recaída es lo suficientemente bajo como para retrasar

su práctica en pacientes que recaen y en quienes se obtienen segundas remisiones. Además, hay que tener en cuenta que la mayor parte de los estudios se han efectuado en pacientes con un familiar emparentado y con un régimen de acondicionamiento mieloablato, los beneficios evidentes se han demostrado en pacientes menores de 40 años. En los últimos años, la mortalidad relacionada con el procedimiento se ha reducido sustancialmente gracias al uso de regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida, así como al uso de fuentes alternativas de células progenitoras hematopoyéticas.¹²

En este estudio solo fue posible llevar a cabo un trasplante de células progenitoras (un sujeto) en el Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca. De los 32 pacientes 16 fallecieron y los demás reciben actualmente un esquema de quimioterapia.

CONCLUSIONES

En este estudio logró identificarse la prevalencia según edad y sexo, que tienen importancia clínica en cuanto al diagnóstico y pronóstico de cada paciente. Asimismo, se integraron los resultados de los análisis citogenéticos y moleculares con los datos clínicos para poder establecer el diagnóstico y ofrecer un tratamiento oportuno a los pacientes con leucemia mieloide aguda en la medida de nuestras posibilidades. Se determinaron las regiones mínimas comunes compartidas por nuestros pacientes en las que se encontraron genes que participan directa o indirectamente en el cáncer, se señalaron vías como proliferación, supervivencia y apoptosis. Las mutaciones principales y genes de fusión identificados fueron: *FLT3-IDT*, *FLT3-TKD*, *inv(16)/t(16;16)*, *NPM1*, *t(8;21)* y *CBFB-MYH11*. Hubo hallazgos importantes en el grupo de pacientes sin mutaciones de riesgo medio, lo que podría orientar para la comprensión de la leucemia mieloide aguda. Se hizo un análisis personalizado de cada paciente, con lo que se observaron cambios significativos

en la remisión de la enfermedad. Esto podría explicar la evolución favorable en el 34.4% de los pacientes con remisión completa.

Es necesario llevar a cabo estudios que consideren mayor tamaño de muestra. Del mismo modo, se requieren estudios que impliquen técnicas de secuenciación que permitan identificar rearrreglos moleculares aún no descritos en la población para seguir avanzando en el entendimiento de esta enfermedad.

Consideraciones éticas

Este estudio se realizó en apego a la Declaración de Helsinki y a lo dispuesto en la Ley General de Salud en materia de investigación. Asimismo, se obtuvo el registro HJM 037/22-R ante el Comité de Ética del Hospital Juárez de México.

REFERENCIAS

1. Saif A, Kazmi SFA, Naseem R, Shah H, Butt MO. Acute myeloid leukemia: Is that all there is? *Cureus* 2018; 10 (8): e3198. doi: 10.7759/cureus.3198
2. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield C. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2024; 373 (12): 1136-52. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1406184>
3. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2024*. Atlanta: American Cancer Society; 2024.
4. Darbinyan K, Shastri A, Budhathoki A, Helbig D, et al. Hispanic ethnicity is associated with younger age at presentation but worse survival in acute myeloid leukemia. *Blood Adv* 2017; 1 (24): 2120-3. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2017007013>
5. Gómez-Almaguer D, Marcos-Ramírez ER, Montaña-Figueroa EH, Ruiz-Argüelles GJ, et al. Acute leukemia characteristics are different around the world: the Mexican perspective. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017; 17 (1): 46-51. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2016.09.003>
6. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia* 2022; 36 (7): 1703-19. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01613-1>
7. Röllig C. Improving long-term outcomes with intensive induction chemotherapy for patients with AML. *Hematology* 2023; 2023 (1): 175-85. <https://doi.org/10.1182/hematology.2023000504>
8. Hou HA, Tien HF. Genomic landscape in acute myeloid leukemia and its implications in risk classification and targeted therapies. *J Biomed Sci* 2020; 27 (1): 81. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00674-7>
9. Hwang SM. Classification of acute myeloid leukemia. *Blood Res* 2020; 55 (0): S1-4.
10. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017; 129 (4): 424-47. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-08-733196>
11. Tallman MS, Wang ES, Altman JK, Appelbaum FR, et al. Acute myeloid leukemia, version 3.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2019; 17 (6): 721-49. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2019.0028>
12. Han S young, Mrózek K, Voutsinas J, Wu Q, Morgan EA, Vestergaard H, et al. Secondary cytogenetic abnormalities in core-binding factor AML harboring inv(16) vs t(8;21). *Blood Adv* 2021; 5 (10): 2481-9. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020003605>
13. Shin DY. TP53 Mutation in acute myeloid leukemia: An old foe revisited. *Cancers* 2023; 15 (19). <https://doi.org/10.3390/cancers15194816>
14. Negotei C, Colita A, Mitu I, Lupu A, et al. A review of FLT3 kinase inhibitors in AML. *J Clin Med* 2023; 12: 6429. doi: 10.3390/jcm12206429
15. Singh S, Jain K, Singh J, Garg N, Arora A. FLT3 and IDH1/2 inhibitors for acute myeloid leukemia: Focused clinical narrative review of forthcoming drugs from an Indian context. *Indian J Med Paediatr Oncol* 2024; 45. DOI <https://doi.org/10.1055/s-0044-1779621>
16. Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, Büchner T, et al. Revised recommendations of the international working group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2003; 21 (24): 4642-9. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.04.036>
17. Arana-Luna LL, Alvarado-Ibarra M, Silva-Michel LG, Morales-Maravilla A, et al. Consenso de leucemia mieloide aguda en México. *Gac Med Mex* 2023; 158 (73).
18. Demichelis-Gómez R, Zapata-Canto N, Leyto-Cruz F, et al. Acute myeloid leukemia in Mexico: The specific challenges of a developing country. Results from a multicenter national registry. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2020; 20 (6): e295-303. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2019.12.015>

https://doi.org/10.24245/rev_hematol.v25id.10083

Identificación de la inversión del intrón 22 por medio de IS-PCR en dos familias con hemofilia A y B

Identification of intron 22 inversion by IS-PCR in two families with hemophilia A and B.

Iveth Mendoza Salas,¹ Irma Olarte Carrillo,¹ Tatiana Sarai Rivera Domínguez,¹ Rafael Cerón Maldonado,¹ Adrián De la Cruz Rosas,¹ Juan Collazo Jaloma,¹ Carlos Martínez Murillo,² Adolfo Martínez Tovar¹

Resumen

ANTECEDENTES: Las hemofilias son genopatías recesivas ligadas al cromosoma X que sobrevienen por deficiencia en la producción de los factores de coagulación. El objetivo de este estudio fue determinar la inversión del intrón 22 del factor 8 de la coagulación en dos familias con hemofilia A y B y su repercusión clínica.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio observacional, descriptivo, que evaluó la alteración molecular en la inversión del intrón 22 en el gen que codifica para el factor VIII de la coagulación en tres familias con hemofilia A y B. Como control negativo se utilizaron individuos sanos. Se tomó muestra de sangre periférica de cada miembro de la familia y del paciente, se aislaron los leucocitos de los que se extrajo ADN. Se realizó por medio de la reacción en cadena de la polimerasa con desplazamiento inverso (IS-PCR) mediante restricción con la enzima BclII, los fragmentos digeridos fueron ligados con T4 ligasa y finalmente se realizó PCR inversa con primers específicos para los tipos 1 y 2 de la inversión del intrón 22.

RESULTADOS: En la familia 1, el paciente tuvo inversión del intrón 22 tipo 2, la madre fue positiva y portadora de ésta, una hija del paciente fue negativa a la inversión del intrón 22 y la otra positiva con tipo 2. En la familia 2 el paciente tuvo inversión del intrón 22 tipo 2, la hermana, madre y abuela del paciente eran portadoras de ésta y dos tías y una prima fueron negativas. En la familia 3, el paciente tenía hemofilia B moderada, dos hermanas y la madre fueron negativas para inversión del intrón 22. Los individuos sanos fueron negativos.

CONCLUSIONES: La inversión del intrón 22 tipo 2 fue la más frecuente en los pacientes con hemofilia A severa. La técnica de IS-PCR para el estudio de la inversión del intrón 22 constituye una herramienta útil y confiable en el análisis de pacientes y familias afectadas con hemofilia A severa porque permite caracterizar en una sola muestra de sangre el tipo de inversión del intrón 22 (tipo 1 o 2) del paciente.

PALABRAS CLAVE: Hemofilia; factores de coagulación; PCR.

Abstract

BACKGROUND: Hemophilias are recessive genopathies linked to the X chromosome that occur due to deficiency in the production of coagulation factors. The objective of this study was to determine the coagulation factor 8 intron 22 inversion (Inv22) in two families with hemophilia A and B and its clinical impact.

MATERIALS AND METHODS: Observational, descriptive study that evaluated the molecular alteration in intron 22 inversion in the gene that codes for coagulation factor VIII in three families with hemophilia A and B. Healthy individuals were negative controls. Peripheral blood samples were taken from each member of the family as well as from the patient, leukocytes were isolated from which DNA was extracted. *In situ*-PCR was performed by restriction with the enzyme BclII, the digested fragments were ligated with T4 ligase and finally inverse PCR was performed with specific primers for types 1 and 2 of intron 22 inversion.

¹ Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Hematología.

² Servicio de Hematología. Hospital General de México, Ciudad de México.

Recibido: 8 de abril 2024

Aceptado: 20 de agosto 2024

Correspondencia

Adolfo Martínez Tovar
mtadolfo73@hotmail.com

Este artículo debe citarse como:

Mendoza-Salas I, Olarte-Carrillo I, Rivera-Domínguez TS, Cerón-Maldonado R, De la Cruz-Rosas A, Collazo-Jaloma J, Martínez Murillo C, Martínez-Tovar A. Identificación de la inversión del intrón 22 por medio de IS-PCR en dos familias con hemofilia A y B. Hematol Méx 2024; 25 (1): 11-17.

RESULTS: In family 1, the patient had intron 22 inversion type 2, the mother was positive and a carrier of Inv22 type 2; one the two daughters of the patient was negative for Inv22 and the other was positive for Inv22 with type 2. In family 2, the patient had Inv22 type 2, the patient's sister, mother and grandmother were carriers of Inv22 type 2, two aunts and a cousin were negative for Inv22. In family 3 the patient had moderate hemophilia B, two sisters and the mother were negative for Inv22. Healthy individuals were negative for intron 22 inversion.

CONCLUSIONS: Inv22 type 2 was the most frequent in patients with severe hemophilia A. The *in situ*-PCR technique for the study of Inv22 is a useful and reliable tool in the analysis of patients and families affected by severe hemophilia A, since it allows the characterization of the type of intron 22 inversion (type 1 or 2) of the patient in a single blood sample.

KEYWORDS: Hemophilia; Coagulation factors; PCR.

ANTECEDENTES

Las hemofilias son genopatías recesivas ligadas al cromosoma X que sobrevienen por deficiencia en la producción de los factores de coagulación, como el factor VIII en hemofilia A y el factor IX en hemofilia B. El cuadro clínico incluye hemartrosis, hematomas musculares profundos y hemorragias cerebrales en un 95%, aunque pueden afectar cualquier parte del cuerpo.^{1,2,3}

La prevalencia mundial aproximada de la hemofilia A es de 1 por cada 10,000 varones, representa entre el 80 y el 85% de la población total y en México se estiman aproximadamente 6300 casos al año; la cifra exacta se desconoce debido a que no existe un registro nacional metódico y completo.^{4,5}

En el 70% de los casos es heredada, en el otro 30% es consecuencia de una mutación *de novo* cuya alteración será transmitida a su descendencia con el mismo patrón recesivo ligado al cromosoma X.^{6,7,8} La concentración funcional

del factor permite clasificar la enfermedad en: grave: menos del 1% de la actividad del factor, moderada: del 1 al 5% de la actividad del factor y leve: del 5 al 40% de la actividad del factor. Entre los defectos moleculares implicados en el FVIII están las duplicaciones o eliminaciones, que abarcan uno o varios nucleótidos; el fenotipo de estos pacientes varía entre hemofilia moderada y severa.^{2,9,10}

Guo y su grupo analizaron la concentración molecular de 216 familias con hemofilia A mediante 3 técnicas diferentes: reacción en cadena de la polimerasa (PCR), secuenciación de nueva generación y detección de ligandos múltiples.¹⁷ Identificaron mutaciones en 209 familias; inversión del intrón 22 en 89 e inversión 1 en 5. No hubo inversiones en 115 familias, 42 mutaciones *de novo*, 29 variaciones nulas y 13 sin sentido, demostrado por bioinformática.^{11,12}

En otro estudio se reportó que en la hemofilia A las alteraciones moleculares impiden la producción del factor VIII, como la inversión del intrón 22,

eliminaciones, mutaciones sin sentido, además de que se asocian con mayor frecuencia de inhibidores que aquéllos con eliminaciones.^{13,14,15}

El objetivo de este estudio fue determinar la inversión del intrón 22 del factor 8 de la coagulación en dos familias con hemofilia A y B y su repercusión clínica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio observacional, descriptivo, que evaluó la alteración molecular en la inversión del intrón 22 en el gen que codifica para el factor VIII de la coagulación en tres familias con hemofilia A y B.

Se incluyeron 2 familias con hemofilia A y una con hemofilia B, así como 20 donadores sanos, mayores de edad, previa firma del consentimiento informado y con expediente clínico completo.

Se recolectaron muestras heparinizadas de sangre periférica de pacientes con hemofilia; para aislar los leucocitos de los eritrocitos se utilizó un buffer de lisis para eritrocitos (Roche AppliedScience). Los leucocitos obtenidos se lavaron dos veces con PBS 1X pH 7.4 y se almacenaron a -80°C hasta su utilización para la extracción de ADN.

El aislamiento de ADN genómico se hizo mediante el reactivo DNAzol (DNAzol® Reagent-Family, Life Technologies) siguiendo la técnica del distribuidor.

Detección de la inversión del intrón 22 por IS-PCR

Para la detección de la inversión del intrón 22 en las familias con hemofilia se utilizó el protocolo descrito por Rosette y colaboradores. La digestión con la enzima de restricción *Bcl I* (Invitrogen) se hizo durante la noche. El ADN se extrajo en fenol, cloroformo y alcohol isoamílico y se precipitó en 0.3 mol/L KCl utilizado en el

protocolo de Rosette y su grupo. La ligación del ADN se efectuó durante la noche con la ligasa de ADN T4 (Fermentas, Alemania) seguida de la amplificación por PCR del ADN ligado. El ADN ligado se amplificó en condiciones de PCR estándar utilizando los primers IU (intragénico río arriba; 5'-CCTTTCAACTCCATCTCCAT-3'), el primer ID (intragénico río abajo; 5'-ACATACGGTTTGTAGTCACAAGT-3') y el primer ED (extragénico río abajo; 5'-ICCGTCACTTAGGCTCAG-3').

Brevemente, la PCR se llevó a cabo con 6 µL de ADN en un volumen de 25 µL, que contenía 0.5 U de ADN polimerasa Taq (Promega), 0.6 µM de cada primer, 200 µM de desoxinucleótidos trifosfatos, 1.5 mM de MgCl₂ y tampón de polimerasa Taq estándar [50 mM Tris-HCl (pH 9.0), 50 mM NaCl, 0.1 µg/µL de albúmina de suero bovino]. El paso de desnaturalización inicial de 2 min a 94 °C fue seguido por 30 ciclos de 94 °C durante 30 segundos, 55 °C durante un minuto y 72 °C durante 90 segundos; la extensión final fue a 72 °C durante 5 minutos.

Análisis de restricción y electroforesis de productos de PCR

Los productos de PCR se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5% teñidos con midigreen y con marcador de peso de Invitrogen. Las imágenes del gel se documentaron con una cámara digital (HP Photosmart 735) equipada con filtros ultravioleta y las intensidades de las señales electroforéticas se estimaron mediante el programa de análisis GelPro 3.2 (Syrex).

RESULTADOS

Se analizaron 16 muestras derivadas de 3 familias con hemofilia, la separación de leucocitos de sangre periférica y el aislamiento del ADN se hizo mediante DNAzol (Invitrogen), se analizó la integridad del ADN mediante un gel de agarosa

al 1% (**Figura 1**) y la concentración se cuantificó en un nanodrop (Thermo Scientific).

Se utilizó un control positivo previamente reportado para la estandarización de las condiciones de amplificación por medio de IS-PCR, los productos amplificados se visualizaron en un gel de agarosa al 1%. **Figura 2**

Al evaluar la familia 1, conformada por 5 miembros, se identificó la inversión del intrón 22 por IS-PCR en el paciente con hemofilia grave, así como en su madre y hermana, que fueron portadoras de la enfermedad. **Figura 3**



Figura 1. ADN de las familias con hemofilia.

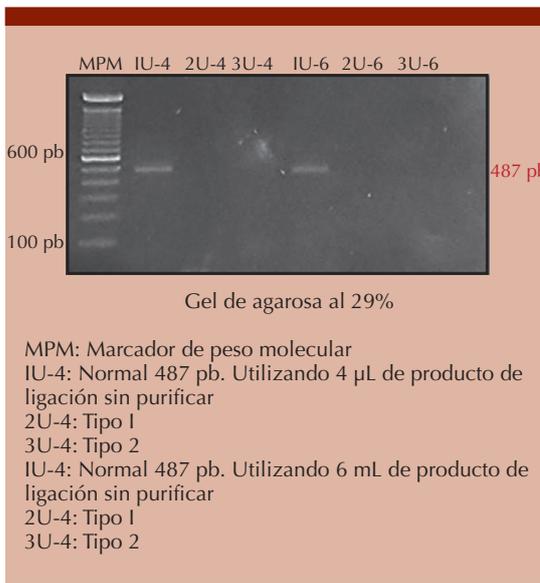


Figura 2. Dos controles sanos de la amplificación del intrón 22 normal con 487 pb de producto de ligación sin purificar.

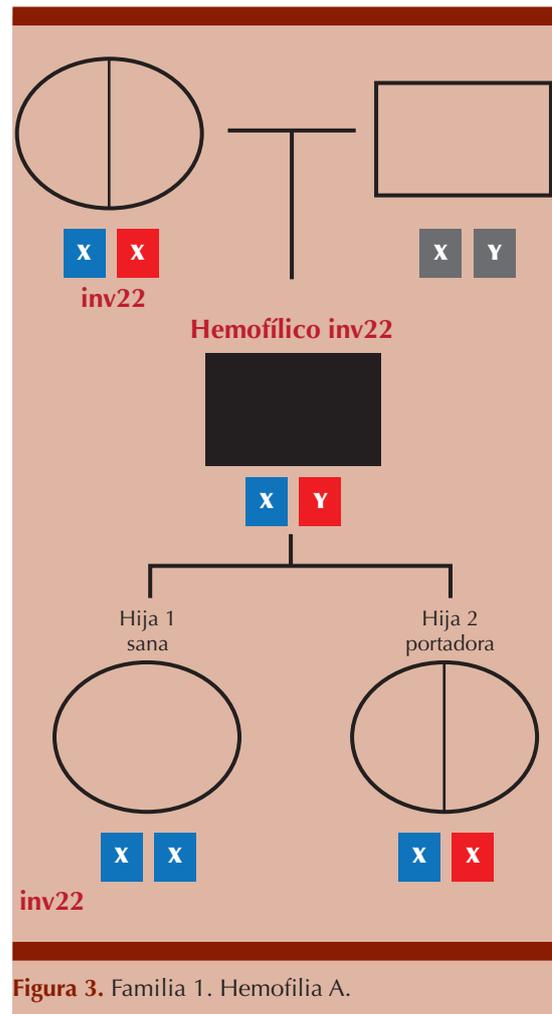


Figura 3. Familia 1. Hemofilia A.

En la familia 2, conformada por 7 miembros, el paciente con hemofilia A grave tuvo la inversión 22, así como 4 portadoras, los demás carecían de tal alteración. **Figura 4**

Ninguno de los miembros de la familia con hemofilia B y de los 20 donadores sanos tuvo la inversión del intrón 22. **Figura 5**

DISCUSIÓN

La hemofilia A y B son enfermedades crónicas hereditarias de la coagulación, la primera es la más común de todas; ambas constituyen un reto

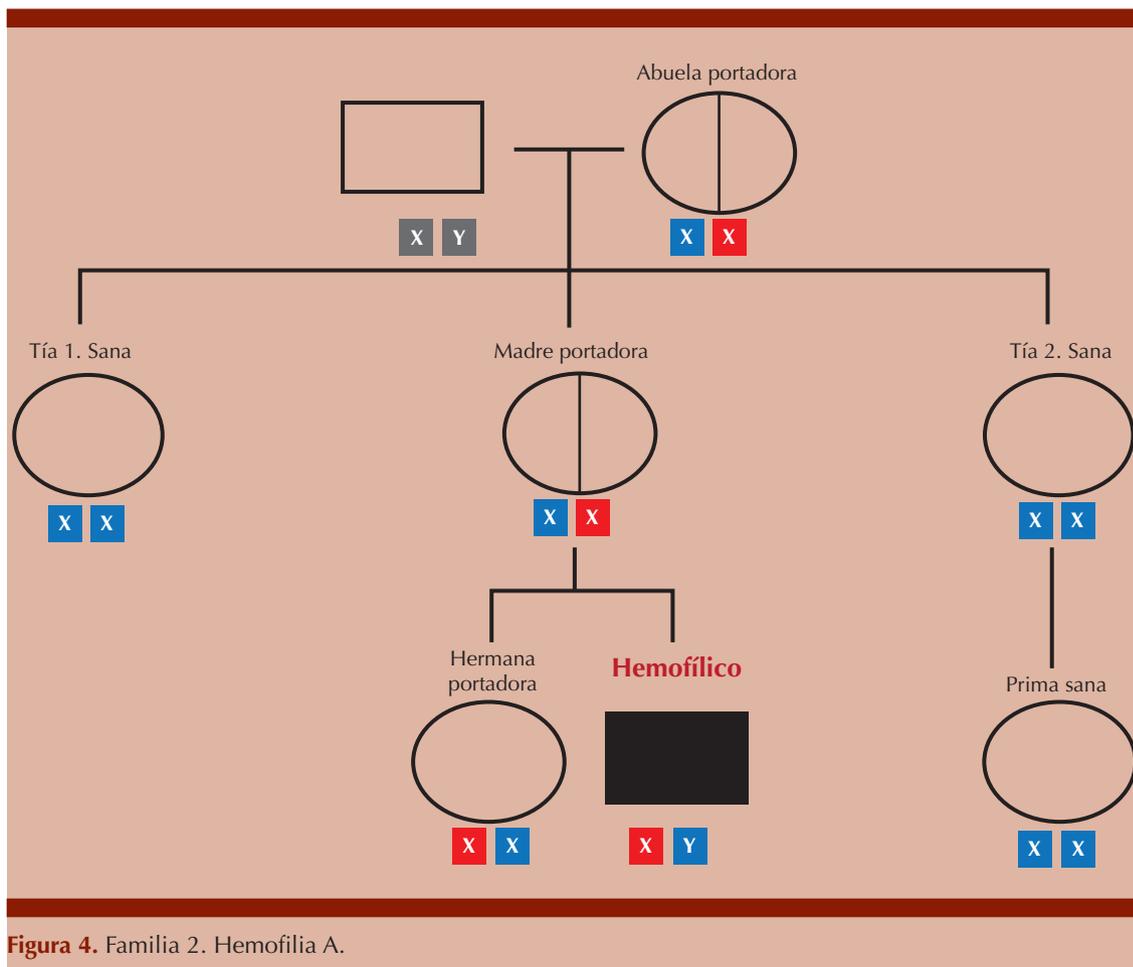


Figura 4. Familia 2. Hemofilia A.

importante a los sistemas de salud, debido a que el tratamiento patrón de referencia es la suplementación del factor deficiente, con la finalidad de mantener concentraciones del factor en plasma y así evitar los episodios de hemorragias espontáneas y, en consecuencia, el daño articular.^{16,17}

El desarrollo de inhibidores es la complicación más adversa en el tratamiento de los pacientes con hemofilia, que impiden su efectividad, lo que aumenta su morbilidad y mortalidad drásticamente, a pesar de que en todo el mundo se han llevado a cabo múltiples estudios que intentan establecer una causa contundente, como los diversos factores de riesgo genéticos y ambientales.^{18,19,20}

En este estudio se analizaron tres familias para identificar la inversión del intrón 22 en pacientes con hemofilia A y B del gen que codifica al factor VIII. De las tres familias ninguna tenía antecedentes familiares genéticos, descritos previamente, lo que fue relevante para comprender los posibles mecanismos genéticos asociados con la aparición de la enfermedad en estas familias, así como el asesoramiento genético correspondiente. Los resultados mostraron la inversión del intrón 22 en los pacientes con hemofilia A, así como en las portadoras.

Debido a la amplia heterogeneidad en los tipos de mutaciones que pueden afectar la funcionalidad y estructura del gen del FVIII, el proceso

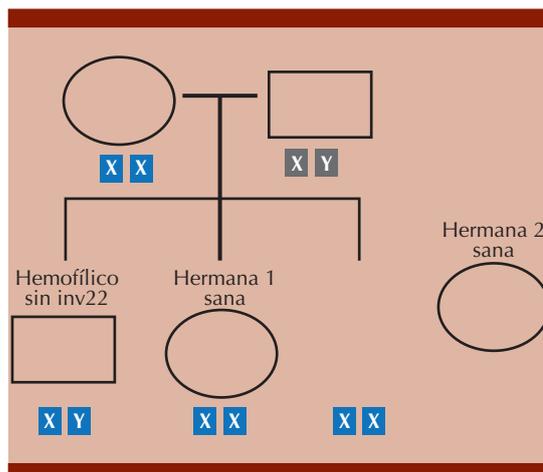


Figura 5. Familia 3. Hemofilia B.

diagnóstico de la población de estudio se hizo partiendo del análisis de la inversión del intrón 22 y, posteriormente, debería hacerse el abordaje de mutaciones *missense*, *nonsense*, inserciones, eliminaciones y de sitios de *splicing*, según recomendaciones de especialistas en el tema.^{22,23}

En un estudio efectuado en población mexicana se observó que el 29% de los pacientes positivos para la inversión del intrón 22 desarrollaron inhibidores; sin embargo, al considerar un paciente por familia y hacer un análisis cruzado, se obtuvo un valor de OR a partir de 14 pacientes que confirmó que la inversión del intrón 22 no se observó en esta población como un factor de riesgo del desarrollo de inhibidores ($p = 1.0$).²³

En un estudio efectuado en población china se asociaron grandes eliminaciones y mutaciones *nonsense* con altos títulos de inhibidores (57.1 y 42.9%, respectivamente). La inversión del intrón 22, pequeñas inserciones y eliminaciones mostraron altos títulos de inhibidores con frecuencia del 20, 21.4 y 37.5%, respectivamente.²⁴

CONCLUSIONES

La inversión del intrón 22 de tipo II fue la más frecuente en los pacientes con hemofilia A

severa. La técnica de IS-PCR para el estudio de la inversión del intrón 22 constituye una herramienta útil y confiable en el análisis de pacientes y familias afectadas con hemofilia A severa, porque permite caracterizar en una sola muestra de sangre el tipo de inversión del intrón 22 (tipo I, II) del paciente.

Agradecimientos

Proyecto apoyado por la dirección de investigación con registro DI/08/103/4/17 y DI/16/103/3/035.

REFERENCIAS

1. Pandey GS, Mittal B. Molecular diagnosis in hemophilia A. *J Postgrad Med* 2001; 47 (4): 273-274.
2. Lakich D, Kazazian H, Antonarakis SE, Gitschier J. Inversions disrupting the factor VIII gene are a common cause of severe haemophilia A. *Nature Genet* 1993; 5 (3): 236-241. doi: 10.1038/ng1193-236
3. Naylor J, Brinke A, Hassock S, Green P, Giannelli F. Characteristic mRNA abnormality found in half the patients with severe haemophilia A is due to large DNA inversions. *Hum Mol Genet* 1993; 2 (11): 1773-1778. doi: 10.1093/hmg/2.11.1773
4. Walsh PN, Rainsford SG, Biggs R. Platelet coagulant activities and clinical severity in haemophilia. *Thromb Diath Haemorrh* 1973; 29 (3): 722-729. DOI: 10.1055/s-0038-1648115
5. Bauer KA, Mannucci PM, Gringeri A, et al. Factor IXa-factor VIIIa-cell surface complex does not contribute to the basal activation of the coagulation mechanism in vivo. *Blood* 1992; 79 (8): 2039-2047.
6. Rossetti LC, Raic CP, Larripa IB, De Brasi CD. Genotyping the hemophilia inversion hot spot by using Inverse PCR. *Clin Chem* 2005; 51 (7): 1154-1158. doi: 10.1373/clinchem.2004.046490
7. Rafeeq A, Kannan M, Choudhary VP, Renu S. Mutation report: intron 1 & 22 inversion in Indian hemophiliacs. *Ann Hematol* 2003; 82 (9): 546-547. doi: 10.1007/s00277-003-0704-3
8. Soares RPS, Chamone DAF, Bydlowski SP. FVIII gene inversion and polymorphism in Brazilian patients with hemophilia A: carrier detection and prenatal diagnosis. *Hemophilia* 2001; 7 (3): 299-305. doi: 10.1046/j.1365-2516.2001.00508.x
9. Akkarapatumwong V, Oranwiroon S, Pung-amritt P. Mutation of FVIII gene in Thai haemophilia A patients. *Hum*

- Mutat 2000; 15 (1): 117-118. doi: 10.1002/(SICI)1098-1004(200001)15:1<117::AID-HUMU27>3.0.CO;2-E
10. Naylor JA, Buck D, Green PM, Williamson H, et al. Investigation of the factor VIII intron 22 repeated región (int22h) and the associated inversion junctions. *Hum Mol Genet* 1995; 4 (7): 1217-1224. doi: 10.1093/hmg/4.7.121
 11. Guo Z, Yang L, Qin X, Liu X, Zhang Y. Spectrum of molecular defects in 216 Chinese families with hemophilia A: Identification of noninversion mutation hot spots and 42 novel mutations. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2018; 24 (1): 70-78. doi: 10.1177/1076029616687848
 12. Antonarakis SE, Rossiter JP, Young M, et al. Factor VIII gene inversions in severe hemophilia A: results of an international consortium study. *Blood* 1995; 86 (6): 2206-22113
 13. Liu Q, Sommer SS. Subcycling-PCR for multiplex long-distance amplification of regions with high and low GC content: application to the inversion hotspot in the factor VIII gene. *Biotechniques* 1998; 25 (6): 1022-1028. doi: 10.2144/98256rr01
 14. Leiria LB, Roisenberg I, Salzano FM, Bandinelli E. Introns 1 and 22 inversions and factor VIII inhibitors in patients with severe haemophilia A in southern Brazil. *Haemophilia* 2009; 15 (1): 309-13. doi: 10.1111/j.1365-2516.2008.01868.x
 15. Gouw SC, van den Berg HM. The multifactorial etiology of inhibitor development in hemophilia: Genetics and environment. *Semin Thromb Hemost* 2009; 35 (8): 723. doi: 10.1055/s-0029-1245105
 16. Graw J, Brackmann HH, Oldenburg J, Schneppenheim R, et al. Haemophilia A: from mutation analysis to new therapies. *Nat Rev Genet* 2005; 6 (6): 488-501. doi: 10.1038/nrg1617
 17. Ananyeva NM, Lee TK, Jain N, Shima M, Saenko EL. Inhibitors in hemophilia A: advances in elucidation of inhibitory mechanisms and in inhibitor management with bypassing agents. *Semin Thromb Hemost* 2009; 35 (8): 735-51. doi: 10.1055/s-0029-12451018
 18. Hemophilia A Mutation, Search, Test and Resource Site (HAMSTeRS) database (<http://europium.csc.mrc.ac.uk>)
 19. World Federation of Hemophilia Report on the Annual Global Survey 2010. Report on the Annual Global Survey 2010 is published by the World Federation of Hemophilia. www.wfh.org
 20. Kershaw G, Jayakodi D, Dunkley S. Laboratory identification of factor inhibitors: the perspective of a large tertiary hemophilia center. *Semin Thromb Hemost* 2009; 35 (8): 760-8. doi: 10.1055/s-0029-1245108
 21. Bogdanova N, Markoff A, Pollmann H, Nowak-Göttl U, et al. Prevalence of small rearrangements in the factor VIII gene F8C among patients with severe hemophilia A. *Hum Mutat* 2002; 20 (3): 236-7. doi: 10.1002/humu.90622
 22. Margaglione M, Castaman G, Morfini M, Rocino A, et al; AICE-Genetics Study Group. The Italian AICE-Genetics hemophilia A database: results and correlation with clinical phenotype. *Haematologica* 2008; 93 (5): 722-8. doi: 10.3324/haematol.124223
 23. Brower C, Thompson AR. Hemophilia A. In: Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, Stephens K, editors. *GeneReviews*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-20024.
 24. Reitter S, Sturn R, Horvath B, Freitag R, et al; The Austrian Molecular Haemophilia Study Group. Spectrum of causative mutations in patients with haemophilia A in Austria. *Thromb Haemost* 2010; 104 (1): 78-85. doi: 10.1160/TH09-11-0795

https://doi.org/10.24245/rev_hematol.v25id.8122

Anemia perniciosa: efectos en la salud del adulto mayor y tratamiento

Pernicious anemia: Effects on the health of older adults and treatment.

Lizbeth Morales Castillejos, María de la Cruz Cardoso Reyes

Resumen

ANTECEDENTES: El envejecimiento humano es un proceso gradual y adaptativo que se caracteriza por la disminución relativa de la respuesta homeostática como consecuencia de una serie de modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, ocasionadas por los cambios inmanentes a la edad. El objetivo de este artículo es analizar los efectos y diferentes tratamientos prescritos en la anemia perniciosa en adultos mayores.

MATERIALES Y MÉTODOS: Búsqueda sistemática de artículos originales según las indicaciones propuestas en la guía PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*); las bases de datos consultadas fueron PubMed, MedicLatina, Nutrition Reference Center, Sage Journals, Apa PsycNet, Eric y Food Science Source, con los ordenadores booleanos AND y OR, con las palabras clave *Anemia perniciosa*, *Efectos*, *Tratamiento* y *Adultos mayores*, sustentadas en el MeSh (Medical Subject Heading) y DeCS (Descriptores de Ciencias de la Salud). Las búsquedas fueron en español e inglés durante mayo y junio de 2021.

RESULTADOS: Se encontraron 458 artículos, de los que se eliminaron 379 debido a criterios de no inclusión, inconsistencias, artículos no disponibles en texto completo y otras razones (instrumentos inválidos), por lo que se incluyeron y analizaron 30 artículos. Los efectos de la anemia perniciosa en adultos mayores encontrados en estos estudios fueron: déficit cognitivo leve y síndrome demencial, depresión, complicaciones neoplásicas, anemia mieloptísica y tromboembolia venosa.

CONCLUSIONES: Destacan diversos factores implicados en la afectación del rendimiento de los adultos mayores, especialmente cuando se asocian con deficiencia cognitiva que resulta en discapacidad significativa y en pérdida de la calidad de vida.

PALABRAS CLAVE: Anemia perniciosa; vitamina B₁₂; adulto mayor.

Abstract

BACKGROUND: Human aging is a gradual and adaptive process characterized by a relative decrease in the homeostatic response as a consequence of a series of morphological, physiological, biochemical and psychological modifications, caused by changes immanent in age. The objective of this article is to analyze the effects and different treatments prescribed in pernicious anemia in older adults.

MATERIALS AND METHODS: A systematic search of original articles was carried out according to the indications proposed in the PRISMA guide (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*), the databases consulted were PubMed, MedicLatina, Nutrition Reference Center, Sage Journals, Apa PsycNet, Eric and Food Science Source, with the Boolean AND and OR computers, under the keywords *Pernicious anemia*, *Effects*, *Treatment* and *Older adults*, based on the MeSh (Medical Subject Heading) and DeCS (Descriptors of Health Sciences). The searches were in Spanish and English, during May and June 2021.

Departamento de Investigación en Enfermería, Universidad de Puebla, Puebla, México.

Recibido: 6 de septiembre 2022

Aceptado: 20 de mayo 2023

Correspondencia

Lizbeth Morales Castillejos
lizmorales0100@gmail.com

Este artículo debe citarse como:
Morales-Castillejos L, Cardoso-Reyes MC. Anemia perniciosa: efectos en la salud del adulto mayor y tratamiento. Hematol Méx 2024; 25 (1): 18-30.

RESULTS: Four hundred fifty-eight papers were found, 379 of these were removed due to non-inclusion criteria, inconsistencies, articles not available in full text and other reasons (invalid instruments); 30 papers were included in total and analyzed in this study. The effects of pernicious anemia in older adults found in these studies were: mild cognitive deficit and dementia syndrome, depression, neoplastic complications, myelophthisic anemia and venous thromboembolism.

CONCLUSIONS: Various factors involved in affecting the performance of older adults are highlighted, especially when they are associated with cognitive deficiency that result in significant disability and loss in the quality of life.

KEYWORDS: Pernicious anemia; Vitamin B12; Elderly.

ANTECEDENTES

El envejecimiento, como proceso universal de todos los seres vivos, implica diversas interacciones genéticas de un individuo con el medio que lo rodea que, a la larga, se traduce en pérdida de funciones fisiológicas.^{1,2} El envejecimiento humano es un proceso gradual y adaptativo que se caracteriza por la disminución relativa de la respuesta homeostática como consecuencia de una serie de modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, ocasionadas por los cambios inherentes a la edad y al desgaste propiciado por las consecuencias del estilo de vida a lo largo de la vida cada individuo.

La vejez es la etapa que varía de acuerdo con cada sociedad y cultura. En los países en desarrollo, como México, el inicio de la vejez se considera a los 60 años, mientras que en los países industrializados comienza a los 65 años.³

De acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI),⁴ en 2015 la población mayor de 60 años representó el 10%; los mayores de 80 años fueron el grupo con mayor tasa de crecimiento. Además, las estimaciones pobla-

cionales indican que para 2025 las personas adultas mayores constituirán entre el 12 y el 13% de la población mexicana. Este crecimiento se desarrollará en un contexto social particular que es desfavorable para los adultos mayores y una transición epidemiológica caracterizada por aumento en la prevalencia de las enfermedades crónicas no transmisibles.

Es frecuente que el efecto del envejecimiento en el adulto mayor sano no repercuta en la respuesta basal de órganos y aparatos. Sin embargo, cuando aparece una situación de estrés, puede revelarse una reducción de la reserva fisiológica normal, lo que retrasa y disminuye la respuesta compensadora de los sistemas.⁵ Este escenario es el que aparentemente se encuentra al momento de valorar los cambios que el envejecimiento provoca en la eritropoyesis. Aunque la anemia perniciosa no está asociada directamente con el envejecimiento, es uno de los padecimientos más comunes en este grupo etario.^{2,5}

Los cambios en estilo de vida, las comorbilidades del adulto mayor y la administración de diversos fármacos para el tratamiento de estas comorbilidades disminuye la absorción de hierro, cobalamina y ácido fólico.³

Los cambios en la eritropoyesis, sin embargo, no son producto del envejecimiento, a pesar de que la anemia es un padecimiento común en los adultos mayores. La anemia se considera un problema de salud global debido a su alta incidencia que va en aumento con cada década de la vida y la morbilidad y mortalidad en esta población.⁵ Al respecto, diversos estudios indican que el envejecimiento no conlleva cambios de la eritropoyesis; sin embargo, la anemia es común en los ancianos y es el trastorno hemático que más los afecta, de manera que constituye un problema de salud en este grupo etario, debido a su vulnerabilidad a contraerla.^{5,6}

La prevalencia de la anemia se incrementa con la edad y según las características específicas de los ancianos; sin embargo, la deficiencia de vitamina B₁₂ en muchos de los casos no se identifica en las personas de la tercera edad. De acuerdo con publicaciones recientes, la prevalencia de esta deficiencia en ancianos es del 17% en otros países;¹ desafortunadamente en México hacen falta más estudios que aporten un conocimiento más comprensivo de la deficiencia de B₁₂ y su efecto en este grupo de población.

La desnutrición es muy común en la población geriátrica, de origen multifactorial y graves consecuencias. La pérdida de proteínas corporales que resulta de una ingesta insuficiente de proteínas, o bien del aumento de las necesidades en caso de enfermedades, es característica de la malnutrición.⁶

La anorexia en el adulto mayor es uno de muchos cambios fisiológicos que ocurren en esta etapa, lo que reduce su ingesta energética y aumenta la probabilidad de desnutrición; entre sus efectos destacan: sarcopenia, caquexia y cambios en el tubo gastrointestinal.^{6,7}

Para diagnosticar la desnutrición en el adulto mayor, algunos estudios de metanálisis y revisiones sistemáticas reportan el uso de *Mini*

Nutritional Assessment (MNA) como una herramienta de cribado que ayuda a identificar a los ancianos desnutridos o en riesgo; se compone de 18 preguntas. Una versión abreviada de este cribado que con mayor frecuencia se utiliza por ser rápida y fácil de aplicar es MNA-SF que incluye seis componentes: pérdida de peso, apetito, movilidad, estrés psicológico, problemas neuropsicológicos e IMC.⁸ Sin embargo, el uso de MNA no es apropiado en los casos en que la persona no es capaz de proporcionar información confiable sobre sí mismo o está recibiendo apoyo nutricional a través de la alimentación por sonda nasogástrica.⁸

Sarcopenia

La sarcopenia es la pérdida progresiva de masa y función del músculo esquelético relacionada con la edad, el término se deriva del griego *sarx* (carne) y *penia* (pobre); es causada por proteínas de fase aguda que se originan por el aumento de la actividad de las citocinas, entre las cuales destacan: PCR, IL-6, TNF- α e IL-10. Éstas se producen por un cambio en la producción de la albúmina y provocan un equilibrio de nitrógeno negativo y pérdida de masa muscular.⁷

Caquexia

La caquexia se distingue por la pérdida involuntaria de masa libre de grasa, es decir, músculo, órgano, tejido, piel y hueso o masa celular corporal, originada por el catabolismo; se asocia con padecimientos crónicos como cáncer y enfermedad pulmonar obstructiva crónica.^{7,8}

Entre los cambios en el tubo gastrointestinal que comúnmente tienen lugar está la disminución de la secreción del ácido gástrico y pepsina que limita el metabolismo de diversos nutrientes, con la vitamina B₁₂, hierro y las proteínas, así como la prevalencia de *H. pylori* y gastritis atrófica.⁷ En la actualidad la definición consensuada señala que es “un síndrome metabólico complejo asociado

con una enfermedad subyacente caracterizada por la pérdida de músculo con o sin masa grasa. Su característica prominente es la reducción del peso en adultos corregido por retención de líquidos o la falta de crecimiento en niños (excluyendo causas endocrinas).⁹

Deficiencias nutricionales

Los seres humanos no pueden sintetizar B₁₂ y, por tanto, dependen completamente de la ingesta dietética, los complementos o los alimentos fortificados. La dieta de los adultos mayores generalmente se ve afectada por factores económicos o emocionales que, a largo plazo, generan deficiencia en su estado nutricional, lo que repercute negativamente en la salud, el funcionamiento cognitivo y físico y la calidad de vida de la población mundial que envejece.⁵

Las deficiencias de vitamina B₁₂ en conjunto con el ácido fólico son menos frecuentes y en la mayoría de los casos ocurren en combinación con la falta de hierro.⁵

La vitamina B₁₂ es un nutriente esencial para la síntesis de ADN celular. Generalmente se acepta que las necesidades diarias en adultos son de 1 a 2 µg al día; actualmente los estándares recomiendan de 3 a 4 µg al día.²

Sin embargo, los requerimientos de energía en los ancianos suelen ser menores debido a la composición corporal alterada y la actividad física reducida. En ellos es necesaria una dieta más baja en energía, pero más densa en nutrientes.⁶

En el 10 al 15% de los ancianos con anemia se encuentran concentraciones bajas de vitamina B₁₂, pero únicamente del 1 al 2% manifiesta deficiencia de esta vitamina.^{6,7}

La ingesta reducida de alimentos y nutrientes se debe a la reducción del apetito que puede ocurrir debido a la disminución de la percepción

sensorial del gusto, la pérdida de piezas dentales y la polifarmacia. Existe evidencia de ingesta baja, absorción alterada y estado bajo de ciertas vitaminas del complejo B en los adultos mayores. Las vitaminas B₁₂, B₆ y B₉ están implicadas en el metabolismo de la homocisteína. Esta elevación se ha relacionado con enfermedades cardiovasculares, deterioro de la función cognitiva y demencia.⁷

Los alimentos que contienen concentraciones altas de vitamina B₁₂ y, a su vez, son excelente fuente son: hígado crudo de res, cerdo y pollo (contienen 52.8, 25.2 y 44.4 µg/100 g de peso húmedo, respectivamente). Otros alimentos con buena fuente de B₁₂ son: leche de rumiantes, como oveja (0.71 µg/100 g de leche), vaca (0.35 µg/100 g de leche) y cabra (0.06 µg/100 g de leche). Los huevos de gallina contienen 0.9 µg de B₁₂ por 100 g de peso húmedo de la porción comestible y la mayor parte de B₁₂ se encuentra en la yema de huevo. Los alimentos vegetales no contienen vitamina B₁₂.^{8,10,11}

Los adultos mayores deben consumir la mayor parte de la vitamina B₁₂ en forma cristalina, es decir, de complementos y de alimentos enriquecidos debido a que, probablemente, esta forma sea mejor absorbida por los pacientes con malabsorción de alimentos y cobalamina.¹¹

Causas

Las causas de la anemia perniciosa en el adulto mayor se dividen en dos grupos de factores: exógenos y endógenos. Entre los primeros destacan membrana ileal, alcoholismo crónico, cirugía bariátrica y administración prolongada de inhibidores de la bomba de protones y de metformina debido a que provoca antagonismo calcio-dependiente. Los factores endógenos incluyen: gastritis asociada con *H. pylori* o tipo B, gastritis atrófica autoinmunitaria o tipo A, la asociación de dos haplotipos de histocompatibilidad HLA-DRB* 103, HLA, insuficiencia

endocrina pancreática y síndrome de Sjögren, entre otros.^{12,13}

Epidemiología

La prevalencia general de la anemia es del 17% en adultos mayores. En la mayoría de los casos es causada por deficiencias nutricionales, enfermedades crónicas o por causa desconocida. La prevalencia de anemia por déficit de vitamina B₁₂ es variable (del 5 al 60%), en países industrializados es del 20%.¹⁴ En pacientes mayores sanos es del 12% y en los pacientes mayores enfermos o internados la prevalencia es del 30 al 40%. Su incidencia es de 25/100,000 en población general, es más común en personas de ascendencia africana o europea; sin embargo, extensas series de publicaciones actuales confirman que puede ocurrir en cualquier edad, sexo, raza y continente.¹⁵ A pesar de ello, la deficiencia de vitamina B₁₂ sigue siendo generalizada, con promedio nacional del 8.5% en mujeres, y prevalencia del 4% en adultos mayores con ascendencia europea; del 1.9% en la región norte del país y del 3.3% en los grupos socioeconómicos más altos.¹⁶

Fisiopatología

La vitamina B₁₂, o cobalamina, es un cofactor para dos enzimas: la metionina sintetasa y la L-metilmalonil-coenzima A mutasa; a su vez, forma parte de los complejos de tres grupos de proteínas importantes: el factor intrínseco, la haptocorrina y la transcobalamina, este último polipéptido es responsable de la entrega de la vitamina B₁₂ a todas las células de los tejidos.¹⁷

La vitamina B₁₂ ingerida en la dieta se separa de las proteínas animales por la acción de la enzima pepsina y el ácido clorhídrico gástrico, lo que permite la unión a la glicoproteína haptocorrina de origen salival y gástrico de la que se disgrega en el duodeno debido a la activación de las proteasas pancreáticas; se absorbe en el íleo distal posterior al atravesar el intestino delgado donde

se une al factor intrínseco, que es una proteína sintetizada en las células parietales del fondo gástrico con gran resistencia a la proteólisis y activa en un intervalo de pH de 3 a 9; este mecanismo facilita la absorción de la vitamina B₁₂.¹⁸

La anemia perniciosa es consecuencia del déficit de vitamina B₁₂ debido a la disminución del factor intrínseco por atrofia de la mucosa gástrica, lo que origina el descenso o ausencia de producción de ácido clorhídrico, lo que evita la absorción de la vitamina B₁₂. Se ha sugerido que las células T CD4 participan en la destrucción de las células parietales del fondo gástrico.^{19,20,21} **Figura 1**

Signos y síntomas

En la mayoría de los casos los pacientes cursan de manera asintomática, esto debido al lento progreso de la enfermedad que da tiempo para que se efectúen compensaciones cardiopulmonares y en el interior del eritrocito; sin embargo, en los casos graves se hacen evidentes las manifestaciones de anemia, como adelgazamiento, pérdida de peso, vómito, diarrea frecuente y estreñimiento; todo esto causado por el bajo hematocrito.^{9,22,23}

Las manifestaciones hematológicas se caracterizan por afectación de las tres líneas celulares (anemia, leucopenia, trombocitopenia) que causa síntomas de cada déficit celular, como astenia, adinamia, palidez mucocutánea, palpitaciones, dolor torácico en pacientes con anomalías coronarias y petequias. En algunos casos es común el tinte icterico debido a hiperbilirrubinemia a expensas de la bilirrubina indirecta por hematópoyesis ineficaz, que se traduce en hemólisis intramedular. Solo el 33% de los pacientes refieren síntomas digestivos, los más frecuentes son: náuseas, dolor en el hemiabdomen superior y pirosis.⁷

La deficiencia de vitamina B₁₂ también puede cursar con glositis, ictericia (por hiperbilirrubinemia indirecta), fiebre y otros síntomas digestivos.²⁴

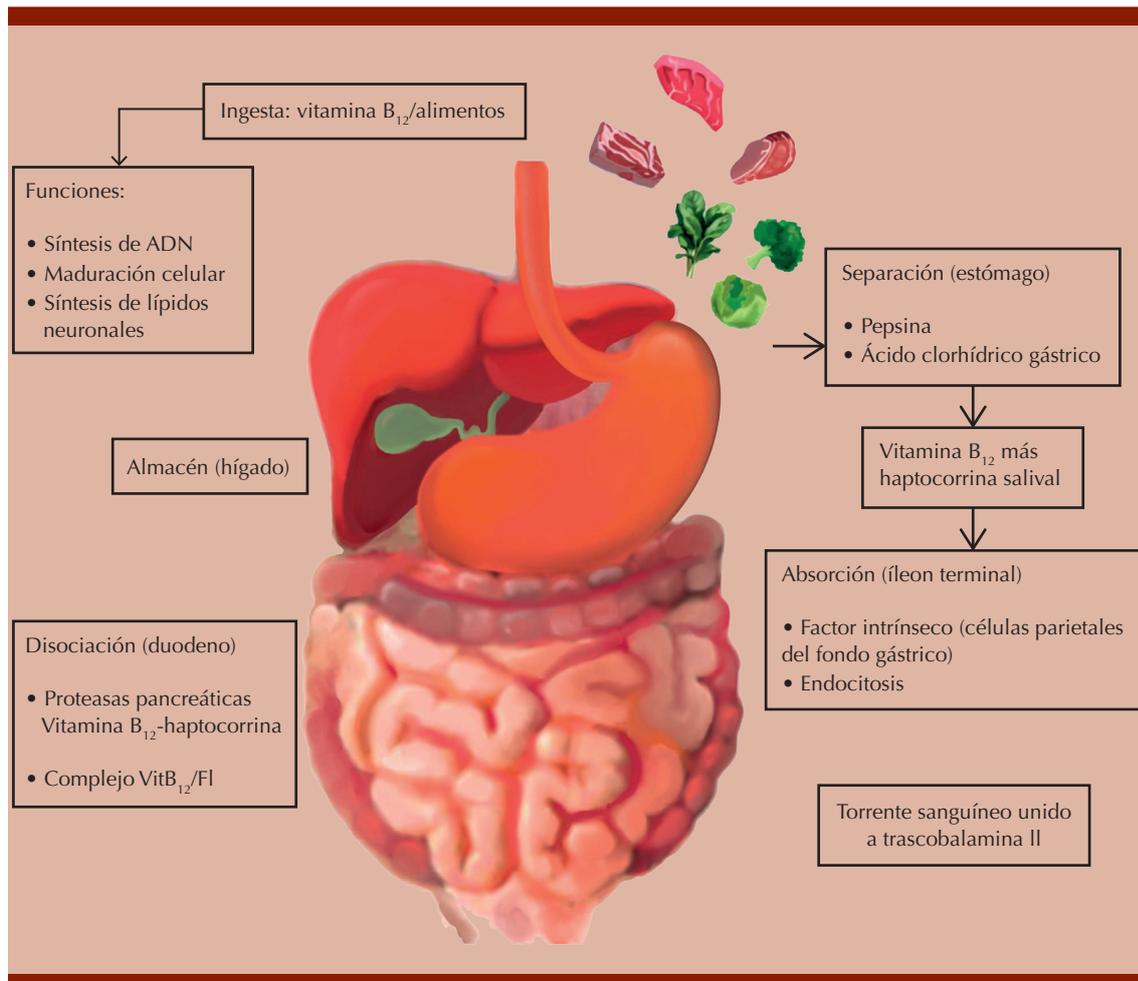


Figura 1. Fisiopatología de la anemia perniciosa. Fuente: referencia 17.

En términos neurológicos, pueden generarse defectos en el metabolismo de la mielina que afectan al encéfalo y a la médula espinal, lo que conlleva a la pérdida sustancial de la memoria, alteraciones en el comportamiento, intencionalidad de los movimientos, percepción consciente del cuerpo y vibración.²⁵ De manera secundaria puede haber trastornos emocionales, como depresión, angustia y estrés; posterior al daño del sistema nervioso central se afectan los epitelios del sistema digestivo, urinario y respiratorio. En el 10% de los casos se observa hiperpigmentación de la piel y puede asociarse con el vitíligo autoinmunitario.²⁶

Diagnóstico

Para el diagnóstico se requiere hemograma completo, frotis periférico y determinación de concentraciones séricas de B₁₂. Se considera deficiencia cuando los valores son inferiores a 200 pg/mL.^{27,28} El hemograma debe denotar anemia, como lo demuestra la disminución de la hemoglobina y el hematocrito (concentración de hemoglobina menores de 13 g/dL en hombres y de 12 g/dL en mujeres).⁸ El volumen corpuscular medio (VCM) sería mayor o igual a 100 fl, un hallazgo esperado en la anemia macrocítica. El

frotis de sangre periférica puede mostrar neutrófilos hipersegmentados (neutrófilos con cinco lóbulos o más).¹⁹

Sin embargo, una vez que las pruebas iniciales confirman la deficiencia de B₁₂, el diagnóstico de anemia perniciosa dependerá de las pruebas complementarias, como la coexistencia de gastritis corporal atrófica y deficiencia de factor intrínseco positivos en el 75% de los casos con sensibilidad y especificidad del 70 y 90%, respectivamente, aunque su negatividad no excluye el diagnóstico, así como los anticuerpos contra las células parietales presentes en el 90% de los pacientes, este último es menos específico.^{27,28}

Las mediciones del ácido metilmalónico sérico y de la homocisteína total son útiles para establecer el diagnóstico de deficiencia de vitamina B₁₂ en los pacientes que no han recibido tratamiento.¹⁸ Se han evaluado nuevas herramientas para el diagnóstico, una de ellas es la prueba de absorción de cobalamina que tiene su base en la medición del cambio en holoTC después de la ingestión oral de cobalamina no radiomar-

cada. Otra es la espectrometría de masas con acelerador para cuantificar el 14C en la sangre después de una dosis administrada por vía oral de cianocobalamina.²⁰ Es importante detectar la infección por *H. pylori* con endoscopia oral para confirmar histológicamente la gastritis atrófica por medio de la toma de biopsia del antro, cuerpo y fundo gástrico.²⁷

El diagnóstico diferencial incluye: eritropoyesis aumentada: respuesta a hemorragia, anemia hemolítica, anemia hipoplásica, síndrome mielodisplásico, enfermedad ileal o resección, gastrectomía, enfermedad del hígado, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, terapia con inhibidores de la bomba de protones, tenia del pescado, insuficiencia pancreática, gastritis por *H. pylori* con predominio del cuerpo, la administración de fármacos (fenobarbital, azatioprina, metotrexato, 6-mercaptopurina, 5-fluorouracilo, aciclovir) y el vegetarianismo.

El objetivo de este artículo es analizar los efectos y diferentes tratamientos prescritos en la anemia inflamatoria en adultos mayores.

Cuadro 1. Menú de suplementación para pacientes con deficiencia de vitamina B₁₂

Desayuno	Colación 1	Comida	Colación 2	Cena
1 taza de yogurt (1.4 µg)	1 manzana 1 cucharada de camote	90 g de salmón (2.4 mg)	½ taza de arándanos 10 almendras	1 taza de papaya
1 taza de fruta cortada en cubitos		Ensalada verde 1 cucharada de arroz hervido con vegetales		120 g de queso cottage bajo en grasa (0.7 µg) 3 cucharadas de amaranto
2 rebanadas de pan de granos enteros (2.5 µg)				
90 g de atún en agua (2.5 µg)				
1 cucharada de leche desnatada (1.3 µg)				
Total de vitamina B ₁₂ : 8.3 µg al día				

Fuente: referencia 29.

METODOLOGÍA

Búsqueda sistemática de artículos originales según las indicaciones propuestas en la guía PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*),²² las bases de datos consultadas fueron PubMed, MedicLatina, Nutrition Reference Center, Sage Journals, Apa PsycNet, Eric y Food Science Source, con los ordenadores booleanos AND y OR, bajo las palabras clave *Anemia perniciosa*, *Efectos*, *Tratamiento* y *Adultos mayores*, sustentados en el MeSh (*Medical Subject Heading*) y DeCS (Descriptores de Ciencias de la Salud). Las búsquedas fueron en español e inglés durante mayo y junio de 2021.

Se consideraron artículos de asociación, revisiones sistemáticas y ensayos clínicos que hicieran recomendaciones de los efectos de la anemia perniciosa en una población de adultos mayores publicados entre el 1 de enero de 2015 y el 31 de diciembre de 2020.

Se siguieron las pautas del proceso metodológico para las revisiones sistemáticas desarrollado en PRISMA. Los artículos identificados en las diferentes bases de datos se seleccionaron y los duplicados se eliminaron manualmente. Una investigadora independiente hizo la selección de elementos por título y resumen, se resolvieron los desacuerdos con respecto a la inclusión de ítems por consenso; luego se analizaron en texto completo.

Cada artículo de texto completo se sometió a una evaluación de calidad (consistencia y plausibilidad del propósito, resultados y discusión) y riesgo de sesgo (cumplimiento de los criterios de los Estándares Consolidados de Reporte de Ensayos y cumplimiento de los criterios PRISMA), esto permitió los aspectos metodológicos de la evaluación y la validez del estudio.

RESULTADOS

Se encontraron 458 ítems, de los que se eliminaron 379 debido a criterios de no inclusión, inconsistencias, artículos no disponibles en texto completo y otras razones (instrumentos inválidos); se incluyeron y analizaron 30 ítems.

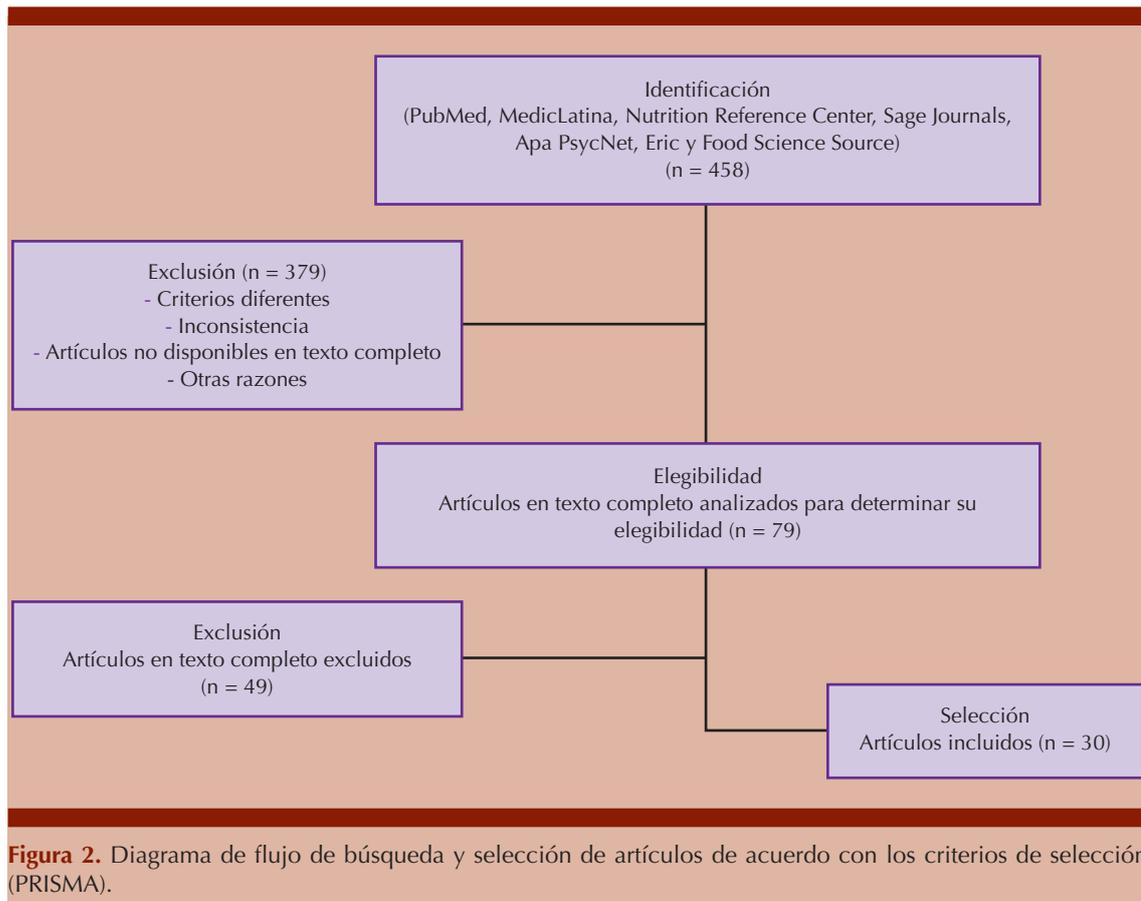
Figura 2

La anemia perniciosa tiene diversos efectos en la salud de los pacientes adultos mayores, se ha relacionado con aumento de mortalidad y mayor incidencia de cáncer gástrico, trastornos cognoscitivos y de la percepción, disminución de la capacidad física y aumento del riesgo de caídas, entre otros padecimientos como cardiovasculares y comorbilidades hematológicas.

Entre los factores de riesgo reportados en la bibliografía, el mal estado nutricional y la mala absorción de los alimentos se reconocen como factores contribuyentes. Recientemente el papel de la vitamina B₁₂ en el envejecimiento ha atraído una considerable atención; la evidencia emergente indica que deficiencias subclínicas de la misma pueden estar implicadas en diversas enfermedades crónicas relacionadas con la edad,¹⁹ representado la deficiencia de esta vitamina del 20 al 50% de las causas de anemia en los adultos mayores.¹⁸

Debido a que es una afección común y a menudo no se diagnostica a tiempo, no existe un patrón de referencia en las pruebas para detectar deficiencia de vitamina B₁₂.

Se sugiere que las concentraciones séricas de homocisteína total (Hcy) y ácido metilmalónico (MMA) son indicadores más sensibles del estado de la vitamina B₁₂ en pacientes con anemia perniciosa sin otro trastorno del metabolismo de la vitamina B₁₂.¹⁶



Existen biomarcadores asociados con la vitamina B₁₂, el ácido metilmalónico no está disponible en todos los laboratorios, la holotranscobalamina es poco sensible y la homocisteína tiene baja especificidad.¹²

Para el diagnóstico de anemia perniciosa debe documentarse la concentración sérica baja de cianocobalamina asociada con anomalías de la mucosa gástrica determinadas por atrofia, que debe confirmarse con biopsia.²¹

El tratamiento está dirigido a recuperar las concentraciones de vitamina B₁₂; la mejor forma de lograrlo es con la aplicación diaria de 1 mg de vitamina B₁₂ intramuscular durante 7 días, seguida de una dosis cada semana por un mes

para llenar los depósitos y después una dosis mensual de por vida para mantener las concentraciones.²¹ Se prefiere el tratamiento parenteral sobre el enteral debido a la fisiopatología de la enfermedad.

Efectos de la anemia perniciosa en la salud de los adultos mayores reportados en la bibliografía

Déficit cognitivo leve y síndrome demencial

En un estudio se reportó el caso de una paciente de 68 años con diagnóstico de anemia perniciosa asociada con cambios comportamentales, de ocho meses de evolución, con agresividad, taquialia y agitación psicomotora, asociadas

con deterioro progresivo de las funciones cognitivas. Se tomaron biopsias para estudio por patología que confirmaron una gastritis crónica atrófica con metaplasia intestinal.^{16,17}

Se han realizado múltiples estudios en personas de edad avanzada que concluyen que quienes padecían deficiencias en sangre de B₁₂ tenían habilidades cognitivas menores y resultaron tener menos volumen cerebral total.

Depresión

El déficit de la vitamina B₁₂ se considera factor de riesgo independiente de depresión en pacientes mayores de 65 años. Los estudios efectuados en pacientes ancianos muestran que tener concentraciones séricas de B₁₂ inferiores a 180 pg/mL aumenta 2 a 2.5 veces el riesgo de depresión. La deficiencia de vitamina B₁₂ genera hiperhomocisteinemia y disminución de la S-adenosilmetionina, que es un factor de riesgo de depresión.¹⁷

Complicaciones neoplásicas

En la anemia perniciosa, los tumores carcinoides gástricos suelen ser de bajo grado, de origen fúndico, múltiples en el 50% de los casos, de ahí la necesidad de múltiples biopsias. Pueden acompañarse de metástasis en el 16% de los casos, sin diagnóstico clínico de síndrome carcinoide.¹⁸ Un metanálisis concluyó mayor riesgo relativo de cáncer de vías biliares, mieloma múltiple, leucemia y linfoma de Hodgkin y no Hodgkin.¹³

Anemia mieloptísica

En un paciente de 64 años se asoció el antecedente de anemia crónica con fatiga, dolor torácico de esfuerzo, dispepsia, edemas de pies, disnea y concentraciones séricas de B₁₂ de 89.9 µmol/L. También se reportó que en pacientes con anemia mieloptísica hay deficiencia de cobalamina que explica la ineficacia de la eritropoyesis, ya que el deterioro anormal y

frágil de precursores de glóbulos rojos conduce a hemólisis intramedular.²¹

Tromboembolismo venoso

Se comunicó el caso de un paciente indio de 60 años con trombosis concomitante de las venas portal, mesentérica superior y esplénica debido a hiperhomocisteinemia secundaria a anemia perniciosa y sin otros factores de riesgo.¹⁸

Tratamiento de la anemia perniciosa en adultos mayores reportado en la bibliografía

El tratamiento de elección y que, de acuerdo con la literatura ha demostrado mayor efectividad, es la administración de 1000 µg de vitamina B₁₂ intramuscular diariamente durante una semana, posteriormente semanal durante un mes y después mensualmente durante toda la vida.²⁷ Los pacientes con anemia megaloblástica precisarán tratamiento de por vida y en ellos se recomienda la práctica de endoscopia cada 3 a 4 años.^{27,28,30}

En algunas de las revisiones clínicas se afirma que muchos no recurren al reemplazo oral de vitamina B₁₂ debido a la preocupación por la absorción impredecible en dosis bajas de reemplazo oral. La tasa de renovación diaria de vitamina B₁₂ es de alrededor de 2 µg al día, por lo que una dosis oral de 100 a 250 µg al día es suficiente para pacientes sanos. Sin embargo, en vista del 1% estimado de absorción total por difusión pasiva en pacientes con anemia perniciosa, se recomienda una dosis diaria de 1000 µg.^{21,28,30}

La dosis de vitamina B₁₂ recomendada actualmente en el Formulario Nacional Británico (BNF) para pacientes con anemia perniciosa u otras anemias macrocíticas sin disfunción neurológica es de 1000 µg de OH-B₁₂ inicialmente administrada por vía intramuscular tres veces a la semana durante dos semanas y luego una vez cada tres meses.³⁰

Tratamiento nutricional

Evidencias de la dieta y la administración complementaria

Un estudio de intervención aleatoria de un año de duración demostró que la ingesta diaria aumenta las concentraciones de vitamina B₁₂ plasmática y la holotranscobalamina en personas mayores danesas con dos complementos diarios de 30 mg que contienen cantidades de B₁₂, suero (3.1 µg B₁₂/día), colágeno (1.3 µg B₁₂/día) o carbohidratos (0.3 µg de B₁₂/día), sobre los biomarcadores del estado de B₁₂.³¹

Existe evidencia de un ensayo cruzado controlado con distribución al azar en el que se reunieron participantes mujeres entre 45 y 75 años que consumieron 50 g de suero WPI activo o aislado de proteína de soya y se comparó con un grupo control con seguimiento durante 8 semanas. Se reportó que el consumo de WPI mejoró significativamente las concentraciones de la B₁₂ activa y estado de folato, pero sin mejoras directas en la función cognitiva.³²

Otro estudio comparó los biomarcadores del estado de vitamina B₁₂ durante cuatro semanas de administración complementaria con cantidades equivalentes de B₁₂ en una población india con concentraciones bajas de vitamina B₁₂. Se administró en cápsulas de vitamina (CN-B₁₂), leche de vaca (HO-B₁₂ en la dieta) o leche de búfala (HO-B₁₂ en la dieta); se obtuvo como resultado que ambas presentaciones son igualmente eficientes para mejorar los biomarcadores de la deficiencia de B₁₂.³³

DISCUSIÓN

La anemia perniciosa del adulto mayor es un problema que con mayor frecuencia sobreviene en esta etapa de la vida, se asocia con alto índice de morbilidad y mortalidad, en la mayoría de los casos existen dos o más causas, por lo que es

indispensable el adecuado proceso diagnóstico y análisis.

De acuerdo con la revisión de los estudios destacan diversos factores implicados en la afectación del rendimiento de los adultos mayores, especialmente cuando se asocia con deficiencia cognitiva que resulta en discapacidad significativa y pérdida en la calidad de vida.

Los resultados obtenidos muestran que la anemia por deficiencia de vitamina B₁₂ tiene diferentes consecuencias en los adultos mayores: trastornos cardiovasculares de graves repercusiones, neoplásicos, cognoscitivos y conductuales.

Según los datos epidemiológicos y estadísticos reportados, se espera un crecimiento en la incidencia de trastornos neurológicos y hematológicos en los siguientes años, por lo que es fundamental el desarrollo de nuevos avances diagnósticos, de modelos de promoción y prevención que repercutan en la evaluación de la enfermedad evitando complicaciones en los pacientes adultos mayores.

En relación con el tratamiento farmacológico se prefiere el parenteral sobre el enteral debido a la fisiopatología de la enfermedad y está dirigido a mantener normales las concentraciones de cianocobalamina.

Como complemento al tratamiento farmacológico debe diseñarse una dieta basada en alimentos de origen animal y vegetales fortificados que supla la deficiencia de la vitamina B₁₂.

CONCLUSIONES

Aún quedan varias preguntas sin respuesta con respecto a la deficiencia de B₁₂, incluidos los posibles efectos nocivos de las concentraciones altas de folato en sujetos con concentraciones bajas de B₁₂, particularmente con respecto al daño neurológico.

REFERENCIAS

- Varela Pinedo LF. Salud y calidad de vida en el adulto mayor. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2016; 33 (2): 199-201. doi: 10.17843/rpmesp.2016.332.2196
- Sanz-Cuesta T, Escortell-Mayor E, Cura-Gonzalez I, Martín-Fernández J, et al. Oral versus intramuscular administration of vitamin B12 for vitamin B12 deficiency in primary care: a pragmatic, randomised, non-inferiority clinical trial (OB12). *BMJ Open* 2020; 10 (8). doi: 10.1136/bmjopen-2019-03368.
- Instituto Nacional de Geriátría. Envejecimiento. Gobierno de México. 2017: 1-5. <http://www.geriatria.salud.gob.mx/contenidos/institucional/envejecimiento.html>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Estadísticas a propósito del Día Internacional de las Personas de Edad (1º de octubre). Comunicado de Prensa Núm. 475/19. 30 de septiembre de 2019:1-9. Disponible en: https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2019/edad2019_Nal.pdf
- Bustillo B, Aguilar-Jiménez M, Solano-Sandí LA, Pabón C, Chuprine Sisfontes K. Manejo de anemia en el adulto mayor. *Rev Cienc Salud* 2020; 4 (3): 123-31.
- Clegg ME, Williams EA. Optimizing nutrition in older people. *Maturitas* 2018; 11 (2): 34-8. doi: 10.1016/j.maturitas.2018.04.001
- Volkert D, Beck AM, Cederholm T, Cereda E, et al. Management of malnutrition in older patients—Current approaches, evidence and open questions. *J Clin Med* 2019; 8 (7): 974. doi: 10.3390/jcm8070974
- Norman K, Haß U, Pirlich M. Malnutrition in older adults—Recent advances and remaining challenges. *Nutrients* 2021; 13 (8): 2764. doi: 10.3390/nu13082764
- López D, Arteaga-Eraza CF, González-Hilamo IC, Montero-Carvajal JB. Consideraciones generales para estudiar el síndrome anémico. Revisión descriptiva. *Arch Med (Manizales)* 2021; 21 (1): 165-81. doi: 10.30554/arch-med.21.1.3659.2021
- Corish CA, Bardon LA. Desnutrición en adultos mayores: cribado y determinantes. *Actas de la Sociedad de Nutrición. Prensa de la Universidad de Cambridge* 2019; 78 (3): 372-9.
- Dror DK, Allen LH. Vitamin B-12 in human milk: A systematic review. *Adv Nutr* 2018; 9 (Suppl 1): 358S-66S. doi: 10.1093/advances/nmx019
- Palacios G, Sola R, Barrios L, Pietrzik K, Castillo MJ. Algorithm for the early diagnosis of vitamin B12 deficiency in elderly people. *Nutr Hosp.* 2013;28(5):1447-52. doi: 10.3305/nh.2013.28.5.6821
- Watanabe F, Bito T. Vitamin B12 sources and microbial interaction. *Exp Biol Med (Maywood)* 2018; 243 (2): 148-58. doi: 10.1177/1535370217746612
- Boletín de Información Clínica Terapéutica de la ANMM. Características y consecuencias de la anemia en ancianos. *Rev Fac Med (Mex)* 2013; 56 (6): 54-8. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422013000900009&lng=es
- Carrillo Nañez L, Carrillo García P, Varas Álvarez M, Aliaga Córdova F, Chian García C. Demencia reversible por déficit de vitamina B12 en el adulto mayor. *Horiz Med* 2017; 17 (2): 77-81. <http://dx.doi.org/https://doi.org/10.24265/horizmed.2017.v17n2.11>
- Bolaños-Barrantes K, Mora-Figuls D, León-Bratti MP. Deficiencia de vitamina B12: una presentación atípica. *Med Costarric* 2019; 61 (4): 183-6.
- Gómez CF, Uña C, González F, Russi F. Paciente con anemia perniciosa y cambios comportamentales. *Repert Med Cir* 2020; 29 (1): 61-5. doi: 10.31260/RepertMedCir.v29.n1.2020.219
- Khalid Serra EA. Optimal management of pernicious anemia. *J Blood Med* 2012; 3: 97-103. doi: 10.2147/JBM.S25620
- Miroglu C, Görpelioglu S, Aypak C. The relationship between nutritional status, anemia and other vitamin deficiencies in the elderly receiving home care. *J Nutr Health Aging* 2019; 23 (7): 677-82. doi: 10.1007/s12603-019-1215-9
- Langan RC, Goodbred JA. Vitamin B12 deficiency: Recognition and management. *Am Fam Physician* 2017; 96 (6): 384-9.
- Green R. Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist. *Blood* 2017; 129 (19): 2603-11. doi: 10.1182/blood-2016-10-569186
- Cavalcoli F, Zilli A, Conte D, Massironi S. Deficiencias de micronutrientes en pacientes con gastritis autoinmune atrófica crónica: una revisión. *World J Gastroenterol* 2017; 23 (4): 563-72. doi: 10.3748/wjg.v23.i4.563
- Marín Castro MJ. Anemia megaloblástica, generalidades y su relación con el déficit neurológico. *Arch Med Univ Manizales* 2019; 19 (2). doi: 10.30554/arch-med.19.2.2776.2019
- Shipton MJ, Thachi J. Vitamin B12 deficiency—A 21st century perspective. *Clin Med (Lond)* 2015; 15 (2): 145-50. doi: 10.7861/clinmedicine.15-2-145
- Gómez del Río MZ, Sánchez Soberón MJ, Saiz Careaga MT, Gutiérrez López ML, et al. Trastorno de la memoria secundario a anemia perniciosa. *Med Gen Fam* 2019; 8 (4): 178-80. doi: 10.24038/mgyf.2019.043
- Rodríguez NM, Shackelford K. Pernicious anemia. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
- Nagao T, Hirokawa M. Diagnosis and treatment of macrocytic anemias in adults. *J Gen Fam Med* 2017; 18 (5): 200-4. doi: 10.1002/jgf2.31
- Qiu Hua Chan C, Leng Low L, Hock Lee K. Oral vitamin B12 replacement for the treatment of pernicious anemia. *Front Med (Lausanne)* 2016; 3: 38. doi: 10.3389/fmed.2016.00038
- Santoyo-Sánchez A, Aponte-Castillo JA, Parra-Peña RI, Ramos-Peña CO. Dietary recommendations in patients

- with deficiency anaemia. *Rev Méd Hosp Gen Méx* 2015; 78 (3): 144-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hgmx.2015.06.002>
30. Wang H, Li L, Ling L, Qin L, et al. Oral vitamin B12 versus intramuscular vitamin B12 for vitamin B12 deficiency. *Cochrane Database Syst Rev* 2018; 2018 (3). doi: 10.1002/14651858.CD004655.pub3
 31. Zajac IT, Herreen D, Bastiaans K, Dhillon VS, Fenech M. The effect of whey and soy protein isolates on cognitive function in older Australians with low vitamin B12: A randomised controlled crossover trial. *Nutrients* 2018; 11 (1): 19. doi: 10.3390/nu11010019
 32. Mahalle N, Bhide V, Greibe E, Heegaard CW, et al. Comparative bioavailability of synthetic B₁₂ and dietary vitamin B12 present in cow and buffalo milk: A prospective study in lactovegetarian Indians. *Nutrients* 2019; 11 (2): 304. doi: 10.3390/nu11020304
 33. Greibe E, Reitelseder S, Bechshøft RL, Bülow J, et al. Effects of prolonged whey protein supplementation and resistance training on biomarkers of vitamin B12 status: A 1-year randomized intervention in healthy older adults (the CALM study). *Nutrients* 2020; 12 (7): 2015. doi: 10.3390/nu12072015

https://doi.org/10.24245/rev_hematol.v25id.9032

Linfoma de células B de alto grado derivado del centro germinal, tipo Burkitt asociado con virus de Epstein-Barr en un paciente con VIH

High-grade B-cell lymphoma derived from the germinal center, Burkitt type associated with Epstein-Barr virus in an HIV-patient.

Alejandro Nájera Luengo,¹ Arianna Stephania Zatarain Osuna,² Jesús Alberto López Moreno²

Resumen

ANTECEDENTES: Los linfomas asociados con el VIH-SIDA son neoplasias que surgen a partir de linfocitos T y B; las personas con VIH tienen un riesgo 20 veces mayor de padecer linfoma no Hodgkin que la población general.

CASO CLÍNICO: Paciente masculino de 52 años, con antecedente de VIH en control con terapia antirretroviral, la última carga viral fue indetectable. Acudió a consulta por crecimiento de una masa en el hemicuello derecho de 12 x 14 cm, fiebre, disfagia y disfonía. El estudio histopatológico reportó una lesión indiferenciada difusa proliferativa que correspondió a linfoma no Hodgkin. El estudio inmunohistoquímico documentó un linfoma de células B de alto grado derivado del centro germinal, tipo Burkitt, asociado con virus de Epstein-Barr (CD20+, BCL6+, CD10+, C-MYC+, EBER+, índice de proliferación del 100%, doble hit). Se inició tratamiento con DA-EPOCH-R, con lo que disminuyó el tamaño de la masa a 6 x 6 cm después del segundo ciclo. Actualmente el paciente se encuentra en buen estado clínico, en el cuarto ciclo de DA-EPOCH-R, sin masas ni adenomegalias palpables.

CONCLUSIONES: El linfoma no Hodgkin doble hit, tipo Burkitt asociado con virus de Epstein-Barr en pacientes con VIH es raramente reportado en la bibliografía; sin embargo, su diagnóstico temprano es fundamental para la correcta estadificación de la enfermedad e inicio del tratamiento de manera oportuna, debido al alto índice de proliferación y las altas tasas de fracaso del tratamiento, recaída o muerte.

PALABRAS CLAVE: Linfoma no Hodgkin; VIH; linfoma de Burkitt; virus de Epstein-Barr.

Abstract

BACKGROUND: HIV/AIDS-associated lymphomas are neoplasms that develop from T and B lymphocytes. People with HIV have a 20 times higher risk of developing non-Hodgkin lymphoma than the general population.

CLINICAL CASE: A 52-year-old male patient, with HIV under control with antiretroviral therapy, last viral load undetectable, attended due to growth of a 12 x 14 cm mass in the right side of the neck, fever, dysphagia and dysphonia. Histopathological study reported a proliferative diffuse undifferentiated lesion corresponding to non-Hodgkin lymphoma. The immunohistochemical study documented a high-grade B-cell lymphoma derived from the germinal center, Burkitt type associated with Epstein-Barr virus (CD20+, BCL6+, CD10+, C-MYC+, EBER+, proliferation index 100%, double hit). Treatment with DA-EPOCH-R was started, achieving a reduction in the size of the mass to 6 x 6 cm after the second cycle. The patient is currently in good clinical condition, in the fourth cycle of DA-EPOCH-R, with no masses or palpable lymph nodes.

¹ Médico, especialista en Hematología.

² Médico pasante del servicio social. Hospital Municipal Margarita Maza de Juárez, Mazatlán, Sinaloa, México.

Recibido: 30 de julio 2023

Aceptado: 10 de mayo 2024

Correspondencia

Arianna Stephania Zatarain Osuna
ariannazatarain@gmail.com

Este artículo debe citarse como: Nájera-Luengo A, Zatarain-Osuna AS, López-Moreno JA. Linfoma de células B de alto grado derivado del centro germinal, tipo Burkitt asociado con virus de Epstein-Barr en un paciente con VIH. Hematol Méx 2024; 25 (1): 31-35.

CONCLUSIONS: Double-hit non-Hodgkin lymphoma, Burkitt type associated with Epstein-Barr virus in patients with HIV is rarely reported in the literature; however, its early diagnosis is essential to the correct staging of the disease and start treatment in a timely manner, given the high rate of proliferation and the high rates of treatment failure, relapse or death.

KEYWORDS: Lymphoma, non-Hodgkin; HIV; Burkitt lymphoma; Epstein-Barr virus.

ANTECEDENTES

Los linfomas asociados con el VIH-SIDA son neoplasias hematológicas que surgen a partir de linfocitos T y B, células del sistema inmunitario, en diversas etapas de diferenciación. Casi el 90% de los linfomas se originan en las células B.¹

Las personas con VIH tienen un riesgo de padecer linfoma no Hodgkin 20 veces mayor que la población general; es el tipo más común de linfoma en personas VIH-positivas y la causa más común de morbilidad y mortalidad. Los dos virus oncogénicos asociados principalmente con el linfoma en esta población son el virus de Epstein-Barr (VEB) y el virus de herpes humano tipo 8.^{1,2} Sus principales subtipos son el linfoma de Burkitt y el linfoma difuso de células B grandes.³

El linfoma no Hodgkin puede manifestarse como una neoplasia maligna primaria en la cabeza y el cuello en alrededor del 1% de los casos y puede ser un signo vital de una infección por VIH no diagnosticada. Chetty y su grupo informaron una incidencia de linfoma no Hodgkin relacionado con el VIH en el 28% de los linfomas de cabeza y cuello.⁴ La mayoría de los casos de linfoma de Burkitt son patológicamente impulsados por MYC a través de una translocación que involucra a los cromosomas 8 y 14.³⁻⁹ Es un linfoma no Hodgkin de células B sumamente agresivo que

fue descrito por Denis Burkitt en 1958^{5,8} del que se han identificado tres afecciones diferentes: endémica, esporádica y relacionado con la inmunodeficiencia.^{1,3,5-8,10}

El tipo endémico ocurre principalmente en áreas de malaria holoendémica en África y Papúa Nueva Guinea/Irian Jaya y se asocia con el virus de Epstein-Barr en casi todos los casos. El sitio más común de afectación es el esqueleto facial y principalmente la mandíbula.^{5,11}

La variante esporádica se diagnostica predominantemente en Europa occidental, América del Norte y Asia oriental, clasificadas como áreas de bajo riesgo. Se asocia con menos frecuencia con la infección por virus de Epstein-Barr y el abdomen es el sitio afectado con más frecuencia, seguido de la cabeza y el cuello. La forma relacionada con la inmunodeficiencia se observa principalmente en pacientes con infección por VIH, ocurre comúnmente cuando los recuentos de células T CD4 son mayores de 200 células/ μ L.⁵

El linfoma difuso de células B grandes, cuya frecuencia ha aumentado durante la última década, ha llevado a que se reconozca una sola categoría de anomalías de mayor riesgo en la clasificación de la OMS de 2016: linfoma de células B de alto grado con reordenamientos MYC, BCL2 o BCL6, llamado linfoma de doble o triple hit.¹²⁻¹⁶

En este reporte de caso se describe la clasificación, epidemiología, manifestación clínica, tratamiento y pronóstico del linfoma no Hodgkin de alto grado, doble hit, tipo Burkitt, asociado con el virus de Epstein-Barr en un paciente con VIH.

CASO CLÍNICO

Paciente masculino de 52 años, originario de Mezquital, Durango, México, homosexual, VIH positivo desde los 18 años en tratamiento con etravirina, ritonavir, darunavir y dolutegravir; última carga viral indetectable, sin padecimientos crónico-degenerativos. Acudió por padecer una masa de 12 x 14 cm en la zona III y II en el hemicuello derecho, fiebre, disfagia y disfonía. Se dio tratamiento antibiótico de amplio espectro, sin respuesta. La tomografía computada de cuello simple y contrastada mostró conglomerado ganglionar en el hemicuello derecho con zonas de necrosis central y daño de la glándula parótida derecha, que condicionaba desviación de la vía aerodigestiva hacia la izquierda con afectación de los trayectos vasculares y de los niveles ganglionares II, III, IV y V del hemicuello derecho; medía aproximadamente 9.5 x 7.5 x 13 cm.

Se tomó cultivo de secreción en el que no hubo desarrollo bacteriano. El reporte histopatológico fue de lesión indiferenciada difusa proliferativa que probablemente correspondía a linfoma no Hodgkin. Una nueva tomografía computada de cuello y toracoabdominal contrastada evidenció una masa heterogénea del lado derecho del cuello con componente necrótico que medía 13 x 9.5 x 8.6 cm; ésta se extendía al espacio parotídeo, carotídeo, parafaríngeo derecho, retrofaríngeo, submandibular y masticador, infiltraba la parótida derecha, rodeaba la carótida común, interna y externa. La vena yugular interna estaba comprimida por la masa, contactaba y desplazaba a la glándula submandibular derecha y a la faringe del lado derecho. No se encontraron adenomegalias ni masas en el mediastino, las

axilas, el abdomen ni las regiones inguinales. Se encontró un quiste simple en el hígado.

Debido a la gran actividad tumoral se inició tratamiento con R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona) por riesgo de obstrucción de las vías aéreas superiores. Asimismo, se inició hiperhidratación por alto riesgo de síndrome de lisis tumoral, además de profilaxis de infección con antibióticos de amplio espectro, antifúngico y profilaxis de trombosis.

El antígeno de superficie de hepatitis B fue negativo, los anticuerpos contra virus de hepatitis C fueron negativos, TORCH con IgM positivo para herpes tipo II y citomegalovirus, memoria alta para rubéola, anticuerpos anti-Epstein Barr cápside IgG 30.8 S/CO, anticuerpos anti-Epstein Barr cápside IgM 0.03 S/CO.

La masa tumoral alcanzó un crecimiento máximo de 15 x 14 cm dos días después del inicio de la quimioterapia; se inició antiviral y factor estimulante de colonias de granulocitos.

El cultivo de exudado faríngeo mostró aislamiento de *S. aureus*, el cultivo de exudado nasal y ótico no tuvieron desarrollo bacteriano, el coprocultivo tuvo aislamiento de *E. coli*, por lo que se inició tratamiento con imipenem.

El estudio de inmunohistoquímica reportó linfoma de células B de alto grado derivado del centro germinal, tipo Burkitt asociado con virus de Epstein Barr (CD20+, BCL6+, CD10+, C-MYC+, EBER+, índice de proliferación del 100%, doble hit). Se colocó catéter Porth a Cath subclavio derecho y se inició tratamiento con DA-EPOCH-R de acuerdo con las guías del *National Comprehensive Cancer Network*, con lo que se redujo el tamaño de la masa a 6 x 6 cm posterior al segundo ciclo. En la actualidad el paciente se encuentra en buen estado clínico, en el cuarto ciclo de DA-EPOCH-R, sin masas ni adenomegalias palpables.

DISCUSIÓN

El linfoma no Hodgkin es el tipo más agresivo; es más común entre los hombres, mayores de 65 años, con enfermedades autoinmunitarias, con antecedentes familiares de neoplasias malignas hematológicas, tabaquismo y exposición a productos químicos ocupacionales.¹¹

Afecta a pacientes en una etapa avanzada de infección por VIH porque la inmunosupresión repercute directamente en la linfomagénesis y se considera el factor más relevante en la promoción de la oncogénesis en la población con VIH. El riesgo de linfoma aumenta con recuentos de células CD4 más bajos, sobreviene con frecuencia cuando los recuentos de células T CD4 son mayores de 200 células/ μ L.^{1,3,5,6,7,17}

El paciente del caso era masculino de 52 años, con antecedente de VIH en control con terapia antirretroviral, con última carga viral indetectable, linfoma de células B de alto grado, tipo Burkitt, asociado con virus de Epstein Barr, doble hit.

El linfoma de Burkitt es el segundo subtipo más común de linfoma no Hodgkin que afecta a pacientes VIH positivos, con edad media de 44 años. Representa hasta el 40% de los linfomas asociados con el VIH. Los pacientes suelen tener un estado funcional deficiente y la afectación extraganglionar es frecuente.^{1,7}

En un estudio retrospectivo de 504 pacientes con linfomas de cabeza y cuello, la edad media fue de 40.4 años. El ganglio cervical fue el sitio anatómico más común (115 casos), y el 25% de los casos correspondieron al linfoma de Burkitt.⁴ En este caso, el paciente era mayor a la edad promedio descrita, con estado funcional adecuado para la edad, sin afectación extraganglionar, lo que contrasta con lo esperado; sin embargo, concuerda con la cadena ganglionar más afectada en el hemicuello derecho.

Aunque el VIH es el factor de riesgo más común de linfoma de Burkitt, algunos estudios han demostrado que puede afectar a pacientes con recuentos saludables de células CD4, como el paciente del caso descrito.⁷

El linfoma de Burkitt endémico y el asociado con inmunodeficiencia por VIH tienen relación con el VEB, este último se reporta en 30-60% de los casos.^{3,11} Es importante esta asociación porque el VEB mayoritariamente se relaciona con casos de linfoma de Burkitt endémico de áreas africanas, situación diferente a la del subtipo y región del paciente estudiado.

El linfoma de Burkitt asociado con inmunodeficiencia es clínicamente agresivo, los pacientes tienen más síntomas B y estado funcional deficiente.⁶ Se caracteriza por un índice de proliferación extremadamente alto (casi el 100%) y recambio celular; en el momento del diagnóstico podría estar asociado con el síndrome de lisis tumoral espontánea,^{5,8} de ahí la importancia de un diagnóstico temprano para la correcta estadificación de la enfermedad, porque la mayoría de los pacientes tienen una enfermedad avanzada (estadio III o IV) al momento del diagnóstico.^{2,3,5}

La prueba FISH es actualmente el patrón de referencia para identificar linfomas de alto grado de células B.¹⁸

Históricamente, el linfoma de doble o triple hit tiene malos resultados con la quimioterapia convencional, con altas tasas de fracaso temprano del tratamiento y recaída o muerte.¹² El tratamiento del linfoma doble hit sigue siendo relativamente controvertido en ausencia de ensayos con distribución al azar. Por lo general, ha habido malos resultados con R-CHOP y por ello se han llevado a cabo investigaciones de tratamiento más intensivas, a diferencia de los pacientes con linfoma difuso de células B grandes, en los que es posible la remisión completa

después de 6 ciclos de tratamiento de quimioterapia similar a R-CHOP o similar a CHOP.¹⁹

Los datos retrospectivos demuestran una tasa de supervivencia libre de enfermedad a 2 años menor al 20% con R-CHOP en comparación con aproximadamente el 50% con regímenes de tratamiento más intensivos, como DA-EPOCH-R; por ello, algunos estudios lo respaldan como tratamiento de primera línea.^{10,12,16,20,21}

Estos datos coinciden con lo reportado por Dunleavy y colaboradores, quienes inscribieron a 30 pacientes con linfoma de Burkitt que eran positivos o negativos para el VIH a un régimen de infusión de dosis ajustada de etopósido, doxorubicina, vincristina, ciclofosfamida, prednisona y rituximab (DA-EPOCH-R). Los pacientes con enfermedad de bajo riesgo recibieron tres ciclos y los pacientes con enfermedad de alto riesgo, seis ciclos. En la mediana de seguimiento, el 95% de los pacientes del grupo DA-EPOCH-R no mostró progresión de la enfermedad y la supervivencia global fue del 100%.⁷

Estos datos sustentan el tratamiento pautado en el paciente del caso comunicado porque debido a la gran actividad tumoral e, incluso, sin el reporte de estudio inmunohistoquímico, se inició tratamiento con R-CHOP por el riesgo de obstrucción de las vías aéreas superiores y plan de hiperhidratación por riesgo de síndrome de lisis tumoral; sin embargo, posterior al reporte inmunohistoquímico, se inició con DA-EPOCH-R con lo que se redujo el tamaño de la masa y se obtuvo mejoría de parámetros clínicos y bioquímicos.

A pesar de ello, históricamente el pronóstico de los linfomas doble hit ha sido malo, con mediana de supervivencia promedio menor a un año;¹⁰ esta última parece estar intrínsecamente relacionada con el estadio en el momento del diagnóstico porque la supervivencia a 5 años en la enfermedad en estadio I al momento del

diagnóstico es del 83.5%, mientras que en la enfermedad en estadio IV es del 63.3%.¹¹

Desde la introducción de la terapia antirretroviral combinada, el riesgo de linfoma ha disminuido y el pronóstico ha mejorado;^{1,2,3} no obstante, los pacientes con VIH tienen un riesgo de por vida del 10 al 20 % de padecer linfoma de Burkitt independientemente de la terapia antirretroviral.⁷

CONCLUSIONES

El linfoma no Hodgkin doble hit, tipo Burkitt asociado con VEB en pacientes con VIH, raramente se reporta en la bibliografía; sin embargo, su diagnóstico temprano es fundamental para la correcta estadificación de la enfermedad e iniciar el tratamiento de manera oportuna, con el fin de prevenir complicaciones y mejorar la supervivencia de los pacientes, debido al alto índice de proliferación y las altas tasas de fracaso del tratamiento, recaída o muerte.

REFERENCIAS

1. Berhan A, Bayleyegn B, Getaneh Z. HIV/AIDS associated lymphoma: review. *Blood Lymphat Cancer* 2022; 12: 31-45. doi: 10.2147/BLCTT.S361320
2. Tazi I, Lahlimi FZ. Virus de l'immunodéficience humaine et lymphome [Human immunodeficiency virus and lymphoma]. *Bull Cancer* 2021; 108 (10): 953-62. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2021.03.014>
3. Giordano D, Castellucci A, Merli F, Garlassi E, Pernice C. HIV-related non-Hodgkin lymphoma: case report and review of the literature. *Acta Biomed* 2019; 89 (4): 576-80. doi: 10.23750/abm.v89i4.6627
4. Alli N, Meer S. Head and neck lymphomas: a 20-year review in an oral pathology unit, Johannesburg, South Africa, a country with the highest global incidence of HIV/AIDS. *Oral Oncol* 2017; 67: 17-23. doi: 10.1016/j.oraloncology.2017.01.011
5. Saleh K, Michot JM, Camara-Clayette V, Vassetsky Y, Ribrag V. Burkitt and Burkitt-like lymphomas: a systematic review. *Curr Oncol Rep* 2020; 22 (4): 33. doi: 10.1007/s11912-020-0898-8
6. Casulo C, Friedberg JW. Burkitt lymphoma - a rare but challenging lymphoma. *Best Pract Res Clin Haematol* 2018; 31 (3): 279-84. doi: 10.1016/j.beha.2018.07.013

7. Atallah-Yunes SA, Murphy DJ, Noy A. HIV-associated Burkitt lymphoma. *Lancet Haematol* 2020; 7 (8): 594-600. DOI: 10.1016/S2352-3026(20)30126-5
8. Crombie J, LaCasce A. The treatment of Burkitt lymphoma in adults. *Blood* 2021; 137 (6): 743-50. doi: 10.1182/blood.2019004099
9. Merron B, Davies A. Double hit lymphoma: how do we define it and how do we treat it? *Best Pract Res Clin Haematol* 2018; 31 (3): 233-40. doi: 10.1016/j.beha.2018.07.012
10. Johnson PC, Abramson JS. Current treatment of Burkitt lymphoma and high-grade B-cell lymphomas. *Oncology (Williston Park)* 2022; 36 (8): 499-505. doi: 10.46883/2022.25920970
11. Thandra KC, Barsouk A, Saginala K, Padala SA, et al. Epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma. *Med Sci (Basel)* 2021; 9 (1): 5. doi: 10.3390/medsci9010005
12. Laude MC, Lebras L, Sesques P, Ghesquieres H, et al. First-line treatment of double-hit and triple-hit lymphomas: survival and tolerance data from a retrospective multi-center French study. *Am J Hematol* 2021; 96 (3): 302-11. doi: 10.1002/ajh.26068
13. Liu Y, Barta SK. Diffuse large B-cell lymphoma: 2019 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol* 2019; 94 (5): 604-16. doi: 10.1002/ajh.25460
14. Novo M, Castellino A, Nicolosi M, Santambrogio E, et al. High-grade B-cell lymphoma: how to diagnose and treat. *Expert Rev Hematol* 2019; 12 (7): 497-506. doi: 10.1080/17474086.2019.1624157
15. Mehta A, Verma A, Gupta G, Tripathi R, Sharma A. Double hit and double expresser diffuse large B cell lymphoma subtypes: discrete subtypes and major predictors of overall survival. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2020; 36 (4): 627-34. doi: 10.1007/s12288-019-01248-w
16. Phuoc V, Sandoval-Sus J, Chavez JC. Drug therapy for double-hit lymphoma. *Drugs Context*. 2019; 8: 2019-8-1. doi: 10.7573/dic.2019-8-1
17. Chapman JR, Bouska AC, Zhang W, Alderuccio JP, et al. EBV-positive HIV-associated diffuse large B cell lymphomas are characterized by JAK/STAT (STAT3) pathway mutations and unique clinicopathologic features. *Br J Haematol* 2021; 194 (5): 870-8. doi: 10.1111/bjh.17708
18. Dunleavy K. Double-hit lymphoma: optimizing therapy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2021; 2021 (1): 157-63. <https://doi.org/10.1182/hematology.2021000247>
19. Ting CY, Chang KM, Kuan JW, Sathar J, et al. Clinical significance of BCL2, C-MYC, and BCL6 genetic abnormalities, Epstein-Barr virus infection, CD5 protein expression, germinal center B cell/non-germinal center B-cell subtypes, co-expression of MYC/BCL2 proteins and co-expression of MYC/BCL2/BCL6 proteins in diffuse large B-cell lymphoma: a clinical and pathological correlation study of 120 patients. *Int J Med Sci* 2019; 16 (4): 556-66. doi: 10.7150/ijms.27610
20. Doderò A, Guidetti A, Marino F, Tucci A, et al. Dose-adjusted EPOCH and rituximab for the treatment of double expressor and double-hit diffuse large B-cell lymphoma: impact of TP53 mutations on clinical outcome. *Haematologica* 2022; 107 (5): 1153-62. doi: 10.3324/haematol.2021.278638
21. Dunleavy K, Fanale MA, Abramson JS, Noy A, et al. Dose-adjusted EPOCH-R (etoposide, prednisone, vincristine, cyclophosphamide, doxorubicin, and rituximab) in untreated aggressive diffuse large B-cell lymphoma with MYC rearrangement: a prospective, multicentre, single-arm phase 2 study. *Lancet Haematol* 2018; 5 (12): 609-17. doi: 10.1016/S2352-3026(18)30177-7

Lista de verificación de sometimiento

1. Leer los objetivos y alcance de la *Revista de Hematología* para tener una visión completa y saber si el manuscrito es adecuado para esta revista.
2. Usar la plantilla de Microsoft Word para preparar el manuscrito.
3. Asegurarse de que los apartados de Ética de publicación, Ética de investigación, Copyright, Autoría, Formatos de tablas y figuras y Presentación de datos y Referencias estén debidamente completados.
4. Asegúrese que todos los autores hayan aprobado el contenido del manuscrito sometido y que confirmen que han leído las Instrucciones para los autores.

Tipos de publicaciones aceptadas

La *Revista de Hematología* no tiene restricciones en cuanto al largo del manuscrito, excepto en los artículos de series de casos. El texto del manuscrito tiene que ser conciso y comprensible. Se recibirán artículos en español e inglés. Los manuscritos enviados serán de carácter anónimo para asegurar la confiabilidad del proceso de revisión por pares.

El manuscrito deberá ser escrito con tipo de fuente *Times New Roman* con tamaño de letra de 12 puntos. Interlineado sencillo, con márgenes de 2.5 cm en todos los lados de la página y todas las páginas deben estar enumeradas.

Los manuscritos enviados a la *Revista de Hematología* no deben haber sido sometidos previamente ni estar en consideración de publicación por otra revista. Los principales tipos de artículos aceptados se enlistan a continuación.

- **Artículo original:** El trabajo debe reportar algún avance de índole científica derivado de un ejercicio experimental y que provea información sustancial nueva. El artículo debe incluir las referencias más actualizadas con respecto al campo que se está estudiando (últimos 10 años). El artículo debe estar estructurado en: Resumen, Palabras clave, Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones. Utilizar las guías CONSORT como base para la estructuración de este artículo.
- **Artículos de revisión breve:** Las revisiones ofrecen un análisis profundo de la lectura existente dentro del campo de estudio identificando posibles problemas a desarrollar. Tienen que ser manuscritos críticos y constructivos que incluyan recomendaciones para futuras investigaciones. La estructura puede incluir: Resumen, Palabras clave, Introducción, Metodología, Secciones relevantes, Discusión y Conclusiones. Favor de basarse en las guías PRISMA para la estructuración de tipo de manuscritos, al igual que se debe incluir el diagrama de flujo apropiado. Las guías, al igual que la plantilla para el diagrama de flujo, pueden obtenerse del siguiente link: <https://www.prisma-statement.org/scoping>.
- **Revisiones sistemáticas:** Las revisiones sistemáticas presentan búsquedas detalladas de investigaciones previas relacionadas con un tema en particular. Este tipo de artículos usa un método de búsqueda para identificar, categorizar, analizar y reportar evidencia. Se debe realizar un análisis estadístico el cual permita llegar a una conclusión contundente sobre el tema.
- **Cartas al editor:** Las cartas al editor tienen como objetivo dar retroalimentación y como un foro de discusión abierta para hablar de temas abordados previamente en la revista u otros asuntos de interés. Deberán estar conformadas por: título, nombre y filiación del autor, texto y referencias.
- **Artículos de opinión:** En este apartado se incluyen manuscritos que se dedican a la crítica y reflexión acerca de temas relacionados con la hematología desde el punto de vista del autor o autores. Deberá cumplir con los criterios de calidad y estructura similar a los artículos de revisión. Se abordarán temas relevantes y serán analizados y sustentados con argumentos que defiendan la postura del autor.
- **Series de casos:** Este tipo de artículos corresponde a los diseños más básicos en la investigación clínica. Su objetivo es describir

el cuadro clínico de un paciente con una enfermedad rara, así como variables sociodemográficas y antecedentes de importancia de la enfermedad. Su estructura se compone de: Título, Autores y Afiliaciones, Resumen, Palabras clave, Introducción, Descripción del caso, Confidencialidad del paciente, Figuras o Cuadros, Tablas, Discusión, Conclusión y recomendaciones, Referencias. El texto no debe exceder 1500 palabras, mínimo 20 referencias y no debe superar los 3 cuadros, figuras y tablas.

Proceso de sometimiento

Los artículos deberán someterse vía electrónica mediante el sistema de gestión OJS (*Open Journal System*) de la *Revista de Hematología*, junto con la carta de presentación y el formato de cesión de derechos (firmado por todos los autores). El registro se realizará en el link <https://www.revisionporpares.com/index.php/RHematol/login> en donde se dará de alta en la plataforma y deberá seguir paso a paso el proceso para cargar los archivos. El autor que somete el artículo generalmente es el que se identificará como autor de correspondencia y éste será el responsable del manuscrito durante el sometimiento y el proceso de revisión por pares. El autor que somete el artículo deberá asegurarse que todos los coautores hayan sido registrados de manera correcta, que cumplan con los criterios de autoría y que hayan leído y aprobado la última versión del manuscrito.

En el enlace <https://www.amehac.org/open-journal-system-para-autores-de-la-revista-de-hematologia/> podrá encontrar una guía para hacer uso del sistema.

Carta de presentación

Se debe incluir una carta de presentación con el sometimiento de cada manuscrito. Ésta debe incluir el título en español e inglés, los autores y sus afiliaciones, así como los datos del autor de correspondencia: nombre, dirección y correo electrónico.

Además, debe incluirse un párrafo que explique de manera concisa y clara por qué el contenido del manuscrito es significativo y por qué el manuscrito entra en los objetivos y alcance de la revista.

Por último, debe incluir las siguientes declaraciones:

- Confirmamos que ni el manuscrito ni las partes de su contenido están bajo consideración de publicación o publicados en otra revista.
- Todos los autores aprueban el manuscrito y aceptan el sometimiento a la *Revista de Hematología*.

Preparación del manuscrito

Consideraciones generales

- **Artículos originales**
 - Carta de presentación
 - Carta de cesión de derechos
 - Manuscrito anónimo:
 - Resumen en español e inglés (máximo 250 palabras) con los apartados de Introducción, Material y métodos, Resultados, Conclusiones y Palabras clave.
 - Secciones: Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión, Conclusiones.
 - Figuras y tablas: Un máximo de 5 (contando figuras y tablas).
 - Secciones complementarias: Agradecimientos (opcional), Contribución de los autores, Conflictos de interés (si es necesario), Referencias.
- **Revisiones breves, sistemáticas y artículos de opinión**
 - Carta de presentación
 - Carta de cesión de derechos
 - Manuscrito anónimo:

- Resumen en español e inglés (máximo 250 palabras) con las secciones de Antecedentes, Metodología, Resultados, Conclusiones y Palabras clave
 - Secciones: La revisión tiene que ser organizada de manera lógica con secciones y subsecciones específicas que permitan un mejor entendimiento del artículo. Tiene que cumplir con las especificaciones de las guías Prisma.
 - Figuras y tablas: Un máximo de 7 (contando figuras y tablas).
 - Secciones complementarias: Agradecimientos (opcional), Contribución de los autores, Conflictos de interés (si es necesario), Referencias.
- **Cartas al editor**
 - Carta de presentación
 - Carta de cesión de derechos
 - Manuscrito anónimo:
 - Texto no mayor a 2000 palabras, dirigido al editor de la revista.
 - Secciones: de acuerdo con el criterio del autor.
 - Figuras y tablas: Un máximo de 2 (contando figuras y tablas).
 - Secciones complementarias: Agradecimientos (opcional), Conflictos de interés (si es necesario), Referencias (hasta 6 referencias).
 - **Series de casos**
 - Carta de presentación
 - Carta de cesión de derechos
 - Manuscrito anónimo:
 - Resumen en español e inglés (máximo 150 palabras) con las secciones de Antecedentes, Caso Clínico, Conclusiones y Palabras clave.
 - Texto no mayor a 1500 palabras.
 - Secciones: Introducción, Descripción del caso, Confidencialidad del paciente, Figuras o tablas, Discusión, Conclusión y recomendaciones.
 - Figuras y tablas: Un máximo de 3 (contando figuras y tablas).
 - Secciones complementarias: Agradecimientos (opcional), Conflictos de interés (si es necesario), Referencias (mínimo 15 referencias).

Acrónimos o abreviaciones: Se deben definir la primera vez que aparecen en el texto, tanto en el resumen, como en el texto y en las figuras o tablas si es necesario. Cuando se añade por primera vez, se debe escribir entre paréntesis después de las siglas. En caso de que las siglas estén en otro idioma se deberán escribir con el estilo *Itálica*.

Unidades internacionales: Se deben usar los términos aprobados por el Sistema Internacional de Unidades.

Ecuaciones: Si se utiliza el software de Word para escribir el manuscrito, favor de usar el editor de ecuaciones de Microsoft. Las ecuaciones se deben presentar en formato editable para el comité editorial y no aparecer en formato de imagen.

Secciones

Título: El título del manuscrito debe ser conciso, específico y relevante. Al final del título se debe especificar si es un artículo original, de revisión, serie de casos, etc. No se deben incluir abreviaciones en el título, a menos de que se trate de un gen o alguna proteína específica. No es necesario agregar un título corto, en caso de que se incluya, éste será removido por la oficina editorial.

Lista de autores y afiliaciones: Se debe enlistar el nombre completo de los autores en el orden en que serán registrados. Para las afiliaciones se debe incluir la dirección completa incluyendo, ciudad, código postal, estado/provincia y país. Al menos uno de los autores tiene que ser designado como autor de correspondencia. Es responsabilidad del autor de correspondencia asegurarse que firmen la carta de cesión de derechos y acepten la publicación del manuscrito en la *Revista de Hematología*. Después de ser aceptado, ya no se podrá hacer cambios en cuanto al nombre de los autores o las afiliaciones.

Resumen: Se deberá incluir en el manuscrito el resumen en español e inglés. El largo del resumen será de 250 palabras. No debe contener resultados que no estén comprobados en el texto principal. Para los artículos originales debe conformarse por los siguientes apartados: **Introducción:** se menciona el propósito del estudio, introducción hacia la pregunta de investigación y el contexto que envuelve el tema principal del estudio. **Métodos:** se describe el método principal aplicado, resaltando las características de los participantes o pacientes incluidos en el estudio, al igual que el periodo del estudio y dónde se realizó. En caso de que el estudio esté registrado y aprobado por algún comité, se menciona el número de registro. **Resultados:** Se resumen las principales aportaciones del estudio. **Conclusiones:** se describen las principales interpretaciones y relevancias que se demostraron con el estudio que deben estar en concordancia con su objetivo. **Palabras clave:** Se deben incluir después del resumen, de tres a seis palabras clave adecuadas. Se recomienda que estas palabras clave estén basadas en los términos MeSH (*Medical Subject Headings*) utilizados por la *National Library of Medicine* o que sean términos comunes dentro de la disciplina hematológica.

Introducción

La introducción debe situar brevemente el estudio en un contexto amplio y subrayar su relevancia. Es esencial definir el objetivo del trabajo y su importancia, incluyendo las hipótesis específicas que serán evaluadas. Deben revisarse detalladamente los avances más actuales de la investigación en el campo y citar los estudios clave. Finalmente, mencionar de manera concisa el objetivo principal del estudio y resaltar las conclusiones más relevantes. La introducción debe ser accesible para personas que no estén especializadas en el tema del artículo.

Material y métodos

Deben describirse con suficiente detalle para que otras personas puedan replicar y utilizar los resultados publicados. Los métodos y protocolos nuevos deben explicarse en detalle, mientras que los métodos ya establecidos pueden describirse de manera breve y con las citas correspondientes. Proporcione el nombre y la versión de cualquier software utilizado, al igual que el tipo de equipos utilizados. Incluir el tipo, periodo y lugar del estudio.

Resultados

Proporcionar una descripción clara y concisa de los resultados obtenidos en el estudio, su interpretación y las tendencias encontradas orientadas hacia las conclusiones que puedan extraerse.

Discusión

Los autores deben discutir los resultados más relevantes y cómo pueden interpretarse en comparación con la perspectiva de estudios previos. Los hallazgos y sus implicaciones deben discutirse en un contexto más amplio. Deben mencionarse las limitaciones del estudio, al igual que futuras direcciones que puede tomar la investigación.

Conclusiones

Esta sección debe darle cierre al trabajo y mencionar la repercusión que pueden tener los resultados encontrados en el estudio sobre la situación actual del tema elegido.

Contribución de los autores

Se espera que cada autor haga contribuciones sustanciales con la concepción y el diseño del manuscrito, o en la adquisición, análisis o interpretación

de los datos, o en la creación o uso de software para la realización del manuscrito, o que haya participado en la escritura del borrador o el artículo final, y que hayan aprobado la versión final del manuscrito. Se recomienda incluir en los artículos, en los que haya varios autores, un pequeño párrafo que especifique (con las iniciales de los nombres) las contribuciones de cada autor con el manuscrito:

Conceptualización, X.X. y Y.Y.; Metodología, X.X. y Y.Y.; Software, X.X.; Validación X.X.; Análisis formal, X.X. y Y.Y.; Investigación, X.X.; Obtención de recursos, X.X. y Y.Y.; Análisis de datos, X.X. y Y.Y.; Escritura-preparación del borrador original, X.X., Y.Y. y Z.Z.; Escritura-revisión y edición, X.X. y Y.Y.; Visualización, X.X.; Supervisión, X.X. y Z.Z.; Administración del proyecto, X.X. y Y.Y.; Adquisición de financiamiento, Y.Y.

Financiamiento

Si el estudio recibió financiamiento es importante mencionar todas las fuentes de financiamiento involucradas, indicando claramente becas o fondos que haya recibido en apoyo a su investigación.

Agregar la siguiente declaración: “Esta investigación no recibió ningún financiamiento externo” o “Esta investigación fue financiada por (Nombre del financiador) con el número de beca o fondo (xx).

Consideraciones éticas

En esta sección, en los artículos que lo requieran, debe agregarse la declaración del Comité Revisor Institucional y el número de registro aprobado para estudios realizados en humanos o animales. Agregar el apartado: “Este estudio fue realizado de acuerdo con las guías de la Declaración de Helsinki, y aprobado por el Comité de Ética y/o Investigación y/o Bioseguridad o Nombre del instituto (Código de protocolo XXX y fecha de aprobación)” o “En este estudio no se necesitó la aprobación del Comité de Ética, debido a la siguiente razón (detallar la justificación)” o “No aplica” para estudios que no involucren estudios en humanos o animales.

Declaración del consentimiento informado

Cualquier tipo de artículo que incluya estudios en humanos debe tener la siguiente declaración: “Se obtuvo consentimiento informado de todos los sujetos involucrados en el estudio” o “En este estudio no se necesitó consentimiento informado debido a la siguiente razón (detallar la justificación)” o “No aplica” en estudios que no involucren humanos.

Agradecimientos

En esta sección puede reconocerse cualquier apoyo recibido para la elaboración del estudio que no sea por parte de los autores o de algún financiador. Puede incluir apoyo técnico, administrativo o donaciones de cualquier índole.

Conflictos de interés

Los autores deben identificar y declarar cualquier circunstancia o interés personal que pueda entenderse como una influencia en la representación o interpretación de los resultados de la investigación. Si no existe ningún conflicto de intereses, mencionar la siguiente declaración: “Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses”.

Cualquier influencia de los patrocinadores en la selección del proyecto de investigación, diseño del estudio, recopilación, análisis o interpretación de datos, redacción del manuscrito, o en la decisión de publicar los resultados debe ser declarada en esta sección. Los proyectos financiados por la industria deben prestar especial atención a declarar completamente la participación del financiador. Si los patrocinadores no tuvieron ninguna participación, se debe indicar: “Los patrocinadores no participaron en el diseño, ejecución, interpretación o redacción del estudio”.

Referencias

Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden de aparición en el texto (identifique las referencias en el texto colocando los números en superíndice y sin paréntesis). Cuando la redacción del texto requiera puntuación, la referencia será anotada después de los signos pertinentes. Las bibliografías deben estar en estilo Vancouver. Para referir el nombre de la revista utilizará las abreviaturas que aparecen enlistadas en el número de enero de cada año del Index Medicus. Si el artículo referido se encuentra en un suplemento, se agregará Suppl X entre el volumen y la página inicial. Todas las referencias que lo contengan deben incluir su DOI.

La cita bibliográfica se ordenará de la siguiente forma en caso de revista:

Grunwald MR, McDonnell MH, Induru R, Gerber JM. Cutaneous manifestations in leukemia patients. *Semin Oncol* 2016; 43: 359-365. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2016.02.020>

Si se trata de libros o monografías se referirá de la siguiente forma: Hernández RF. Manual de anatomía. 2ª ed. México: Méndez Cervantes, 1991; 120-129.

Si se trata del capítulo de un libro se indicarán el o los autores del capítulo, nombre del mismo, ciudad de la casa editorial, editor del libro, año y páginas.

Transmisión de los derechos de autor

Se incluirá con el manuscrito una carta firmada por todos los autores, conteniendo el siguiente párrafo: “El/los abajo firmante/s transfiere/n todos los derechos de autor a la revista, que será propietaria de todo el material remitido para publicación”. Esta cesión tendrá validez solo en el caso de que el trabajo sea publicado por la revista. No se podrá reproducir ningún material publicado en la revista sin autorización.

Figuras y tablas

- Todas las tablas incluidas en el artículo deben colocarse al final del manuscrito anónimo después de las referencias. Las tablas deben estar referenciadas en el texto y enumeradas según el orden de aparición. (Tabla 1, Tabla 2, etc.)
- Todas las tablas deben de tener un título claro y conciso y una breve explicación de lo que se quiere representar.
- Todas las figuras deben tener un pie de imagen claro y conciso y una breve explicación de lo que se quiere representar. Éste debe colocarse al final del manuscrito anónimo.
- En el caso de las tablas muy grandes, puede reducirse el tamaño de la letra hasta 10 puntos. Para la elaboración de tablas debe utilizarse la herramienta de Tabla de Microsoft Word.
- La *Revista de Hematología* acepta figuras o esquemas a color.
- Las gráficas o esquemas deben enviarse como archivo editable, ya sea en formato .XLS o .PPT.
- Las fotografías deben enviarse en .JPG o .TIFF, con 300 ppp de resolución y medir aproximadamente 10 x 13 cm.
- Se recomienda que las imágenes se realicen en software profesionales. En caso de que no se tenga la disponibilidad, el grupo editorial se reserva el derecho de solicitar los datos o la información necesaria para la elaboración apropiada de dicha imagen.

La *Revista de Hematología* se reserva el derecho de realizar cambios o introducir modificaciones en el estudio en aras de una mejor comprensión de éste, sin que ello derive en un cambio de su contenido.

Si tiene dudas puede dirigirse al editor en jefe, Dr. Christian Ramos, al correo: editorenjefe@amehac.org

Instrucciones para los autores

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Los abajo firmantes estamos conformes con lo mencionado en los incisos previos, como en el tipo de crédito asignado en este artículo:

• TÍTULO DEL ARTÍCULO _____

• NOMBRE COMPLETO DEL AUTOR O AUTORES _____

• LOS AUTORES CERTIFICAN QUE SE TRATA DE UN TRABAJO ORIGINAL, QUE NO HA SIDO PREVIAMENTE PUBLICADO NI ENVIADO PARA SU PUBLICACIÓN A OTRA REVISTA. MANIFIESTAN QUE NO EXISTE CONFLICTO DE INTERESES CON OTRAS INSTANCIAS.

• TAMBIÉN ACEPTAN QUE, EN CASO DE SER ACEPTADO PARA PUBLICACIÓN EN REVISTA DE HEMATOLOGÍA, LOS DERECHOS DE AUTOR SERÁN TRANSFERIDOS A LA REVISTA.

NOMBRE Y FIRMA DE TODOS LOS AUTORES:	NOMBRE	FIRMA
	_____	_____
	_____	_____
	_____	_____
	_____	_____
	_____	_____

• VISTO BUENO (NOMBRE Y FIRMA) DE AUTORIZACIÓN DE LA INSTITUCIÓN DONDE SE REALIZÓ EL TRABAJO:

NOMBRE	FIRMA
_____	_____
_____	_____
_____	_____

LUGAR: _____ FECHA: _____