



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla



Facultad de Medicina

Licenciatura en Biomedicina

Instituto de Fisiología

Laboratorio de Oncoinmunología, CIBIOR, IMSS

**Acervo celular del PRONAI de Leucemia Infantil para el fortalecimiento de la
medicina de precisión basada en evidencia**

Tesis que para obtener el grado de

Licenciado en Biomedicina

Presenta

Pedro Alberto Gaspar Mendoza

Directora

Codirectora


Dra. Diana Casique Aguirre


Dra. Amira del Rayo Flores Urbina

H. Puebla de Zaragoza, Pue., Junio 2024

Agradecimientos

Quisiera agradecer a las personas que me han otorgado su apoyo a lo largo de esta etapa de mi vida, durante mi proceso de formación tanto académica, como personal.

A mi familia, gracias por apoyarme, darme fuerza y estar a mi lado siempre, ofreciéndome su amor de manera incondicional. A mi madre, que es mi ejemplo para seguir de cómo un guerrerense debe ser, siempre digna, que siempre está ahí para recordarme quien soy y de dónde vengo, a nunca rendirme, ser perseverante y humilde, y que me enseñó que siempre tendré un lugar en casa donde ser recibido con los brazos abiertos.

A mi padre, quien siempre fue un ejemplo de fortaleza para mí, alguien que me ha enseñado que la mejor forma de afrontar al mundo es con calma y paciencia, quien siempre se ha asegurado de que nada me falte y siempre me invita a seguir preparándome más para la vida.

A mis hermanas, a Licha por ser siempre una hermana mayor comprensiva y serena, que siempre está dispuesta a escuchar, y a Camila, por ser una hermanita tan empática, que siempre se las arregla para sacarme una sonrisa y hacerme sentir mejor.

A mi abuelito Mariano, por siempre darme su apoyo y amor incondicional y compartirme sus consejos para preparar un buen café. A mi abuelita Rafa, que siempre me ha recibido en su casa con los brazos abiertos y una sonrisa. Al resto de mi familia, mis tíos, primos y sobrinos, que siempre voy a querer mucho y tener en una alta estima. Gracias a ustedes por ser este pilar tan importante en mi vida y mi ejemplo a seguir, con sus enseñanzas y alentarme a ir a comerme al mundo.

También quiero agradecer a todas las amistades que hice a lo largo de la carrera de Biomedicina por acompañarme y atravesar juntos esta etapa de nuestras vidas, aprendiendo y compartiendo nuestros pensamientos sobre qué nos deparará el futuro, todos aspirando a ser profesionistas y dedicarnos a esto que nos apasiona que es la ciencia.

A mis profesores de la licenciatura, que siempre compartieron sus enseñanzas y experiencia en este mundo que para nosotros lucía tan lejano, sorprendente y desconocido, al Dr. Juan Carlos Balandrán por invitarme a pasar un Verano Delfín inolvidable, donde aprendí mucho sobre la ciencia y encontré el laboratorio donde habría decidido realizar mi proyecto de tesis, también quisiera agradecer a mis profesores quienes son mis revisores de este trabajo de tesis, la Dra. Elena Hernández, y el Dr. Eduardo Monjaraz, por su tiempo y atención que me brindaron.

A mis compañeras y compañeros del Laboratorio de Oncoinmunología y Citómica del Cáncer Infantil, a quienes les debo el haber llegado tan lejos, a la Dra. Rosana Pelayo por haberme abierto las puertas a su equipo de trabajo y darme hospedaje en la Oncocasa durante dos años, a la Dra. Diana Casique, por instruirme, guiarme

y confiar en que siempre puedo dar más. A mis compañeros Liz, Eli y Jio, mis amigos, con quienes he podido compartir experiencias inolvidables. A Rubí, por ser un apoyo importante y alguien con quien pude convivir mucho en mi estadía en la Oncocasa. A Laura, Dulce, Lucero y Areli, por siempre tener esa energía contagiosa y darme ánimos, y al resto de mis compañeros de laboratorio que me han enseñado tanto.

A Gaby, gracias por estar a mi lado y recibir tu apoyo incondicional en todo momento de esta travesía. Hemos pasado por muchas experiencias juntos, y no podría imaginarme realizando esto sin tu apoyo y ánimo todos los días. Regresar a casa junto a ti en el autobús después de un día de trabajo se volvió mi momento favorito del día. Gracias por siempre confiar en mí, por no dejar que me rinda en ningún momento, te amo.

Quisiera finalizar agradeciéndole a Dios, por permitirme recibir todas estas experiencias y aprendizajes, que me están forjando para ser un buen profesionalista del área de la salud y la ciencia, que me ha permitido finalizar esta etapa de mi vida con una sonrisa, a la expectativa de todas las nuevas experiencias que vendrán en el futuro.

Índice

1	Resumen	8
2	Introducción	9
3	Antecedentes.....	10
3.1	Antecedentes generales	10
3.1.1	Acervo celular	10
3.1.2	Historia de los acervos celulares	10
3.1.3	Biobancos	13
3.1.4	Tipos de biobancos.....	21
3.1.5	Normas nacionales e internacionales que regulan un Biobanco.....	22
3.1.5.1	Normas Nacionales	22
3.1.5.2	Normas Internacionales	21
3.1.6	Panorama mundial de los biobancos	22
3.1.7	Biobancos en México.....	24
3.1.8	Acervos en la Investigación de la Leucemia	27
3.2	Antecedentes específicos	27
3.2.1	Investigación de la Leucemia Infantil en México	27
3.2.2	PRONAI de Leucemia Infantil	27
3.2.3	Laboratorio de Oncoinmunología y Citómica del Cáncer Infantil	28
3.2.3.1	Microambiente tumoral	31
3.2.3.2	Células Estromales Mesenquimales.....	31
3.2.4	La Ruta de Atención del PRONAI de Leucemia Infantil	31
4	Justificación	32
5	Planteamiento del problema	33
6	Hipótesis científica	33

7	Objetivos.....	34
7.1	Objetivo general.....	34
7.2	Objetivos particulares.....	34
8	Material y métodos	34
8.1	Diseño del estudio.....	34
8.2	Ubicación espacio temporal.....	34
8.3	Estrategia de trabajo	35
8.4	Muestreo	36
8.4.1	Definición de la población	36
8.4.2	Selección de la muestra.....	37
8.4.3	Criterios de selección de la muestra	37
8.4.3.1	Criterios de inclusión	37
8.4.3.2	Criterios de exclusión	37
8.4.3.3	Criterios de eliminación	37
8.4.4	Diseño y tipo de muestreo	38
8.4.5	Tamaño de la muestra	38
8.5	Definición de las variables y escalas de medición	38
8.6	Método de recolección de datos	38
8.7	Técnicas y procedimientos.....	39
8.7.1	Desarrollar una plataforma electrónica para el registro y la identificación eficiente de las muestras almacenadas.	39
8.7.1.1	Desarrollo de la Plataforma de Registro de Almacenamiento... ..	39
8.7.1.2	Vincular Plataforma de Registro de Almacenamiento a una Hoja de Cálculo.....	40
8.7.1.3	Compartir Plataforma de Registro de Almacenamiento	40

8.7.2	Conocer el comportamiento de cultivos primarios de CEM provenientes de especímenes de Leucemia Infantil.	40
8.7.2.1	Desarrollo de la Plataforma de Seguimiento del crecimiento de CEM	40
8.7.2.2	Vincular Plataforma de Registro de Almacenamiento a una Hoja de Cálculo.....	41
8.7.2.3	Compartir Plataforma de Seguimiento del crecimiento CEM	41
8.7.2.4	Protocolo de seguimiento de crecimiento de CEM	41
8.7.2.5	Cálculo de radios de crecimiento	42
8.7.3	Verificar la calidad de las muestras almacenadas por medio de pruebas de viabilidad celular	42
8.7.3.1	Tinción por exclusión de colorante azul tripán	42
8.7.4	Elaborar un informe detallado sobre los costos de los insumos utilizados para el acervo celular.....	43
8.7.4.1	Cálculo de cantidad de costo de insumos por protocolo de procesamiento y almacenamiento	43
8.7.5	Identificar los procedimientos de funcionamiento del acervo celular con el fin de apoyar la investigación biomédica.....	46
8.7.5.1	Desarrollo del Sistema de Gestión	46
8.7.5.2	Gestión de salida de muestras	47
8.8	Análisis de datos	48
8.9	Diseño estadístico.....	48
9	Resultados.....	48
9.1	Plataforma electrónica para el registro e identificación de muestras del Acervo Celular	49
9.2	Seguimiento de cultivos primarios de CEM provenientes de MO	56
9.3	Validación de las muestras del acervo celular	61

9.4	Costos de procesamiento del acervo celular	63
9.5	Procedimiento para el funcionamiento del acervo celular	64
10	Discusión	70
11	Conclusiones	80
12	Bibliografía.....	82
13	Anexos.....	99
13.1	Definiciones operacionales	99
13.2	Definiciones conceptuales	100
13.3	Descripción de las técnicas de medición de las variables relevantes ...	100
13.4	Formatos de captura de datos	101
13.5	Formatos de consentimiento informado.....	102
13.1	Productos.....	102
13.2	Autoevaluación de las Buenas Prácticas recomendadas por la ISBER	102

1 Resumen

La leucemia infantil es considerada un problema de salud pública significativo debido a su alta incidencia y mortalidad mundial, particularmente en países en vías de desarrollo como México. En respuesta a esta problemática, el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) implementó el Proyecto Nacional de Investigación e Incidencia (PRONAI) de Leucemia Infantil. Actualmente, el PRONAI de Leucemia Infantil cuenta con un acervo celular compuesto principalmente por muestras remanentes utilizadas para el diagnóstico.

Este proyecto de tesis tuvo por objetivo implementar la gestión de almacenamiento de las muestras almacenadas en el acervo celular del PRONAI de Leucemia Infantil, esto ha permitido la identificación precisa y rápida de cada muestra almacenada, gracias a un registro detallado de todo el proceso a través de formularios y bases de datos digitales que se actualizan en tiempo real y fueron especialmente diseñadas para registrar los datos referentes a las muestras almacenadas. Desde marzo de 2022 hasta mayo de 2023, este repositorio único en México albergó un total de 4920 muestras de 402 sujetos pediátricos provenientes de regiones vulnerables del país. De estas muestras, el 72% correspondió a especímenes de remanentes de aspirado de médula ósea (MO), el 24% de sangre periférica (SP) y el 4% de orina (O). Una de las características que apoyan la riqueza de este acervo es la diversidad de tipos de muestras obtenibles por paciente, lo que le da una amplia gama de posibilidades para los tipos de proyectos de investigación a los que pueda apoyar, un ejemplo de esto es la colección de 332 muestras de células estromales mesenquimales (CEM) derivadas de remanentes de MO de 105 pacientes pediátricos.

La correcta identificación de los procedimientos para el funcionamiento del acervo celular ha permitido la cesión del 12% de las muestras almacenadas en este repositorio a cinco proyectos del PRONAI de Leucemia Infantil, impulsando el fortalecimiento de la medicina de precisión basada en evidencia.

2 Introducción

En el 2022, la leucemia fue el tipo de cáncer en el mundo con mayor incidencia y mortalidad en pacientes de 0 a 19 años, teniendo una incidencia mundial de 3.1 casos por cada 100,000 habitantes y una mortalidad de 1.2 casos por cada 100,000 habitantes (1). Las leucemias agudas representan el principal tipo de cáncer en pacientes dentro de este rango de edad (2).

México es uno de los países con la mayor tasa de incidencia y mortalidad de leucemia infantil, presentando una incidencia de 5.7 casos por cada 100,000 habitantes y una mortalidad de 2.5 casos por cada 100,000 habitantes (1).

Una de las regiones de este país de las que se ha estudiado la incidencia de leucemia aguda es la Ciudad de México, reportando una de las tasas de incidencia más altas en el mundo, con 63.3 casos por millón durante el periodo de 2010–2017 en población de 0-14 años (3).

Otro estudio poblacional que fue publicado como resultado del proyecto de “Epidemiología y supervivencia de las leucemias agudas en niños de zonas marginales de México”, del PRONAI de Leucemia Infantil, evaluó la incidencia de leucemias agudas en poblaciones pediátricas diagnosticadas con leucemia aguda entre el 2021 y 2022, provenientes de regiones marginadas del centro-sur de México: Puebla, Tlaxcala y Oaxaca (4). El estudio de estas poblaciones vulnerables resulta de mucho interés, pues, de acuerdo con datos publicados por el (CONEVAL) en 2018, presentan un alto porcentaje de población viviendo en pobreza, así como un limitado acceso a servicios de salud (5,6). En el estudio se identificó un total de 388 casos de leucemia aguda, con una predominancia de la leucemia linfoblástica aguda (LLA) del 81.7% de los casos, seguido de leucemia mieloide aguda (LMA) con el 17.3%. En el grupo de edad de 0-14 años la tasa de incidencia estandarizada global fue de 51.5 casos por millón, al dividirlo por estados, el estado de Tlaxcala tuvo una mayor tasa de incidencia con 54.7, seguido de Puebla con 53.2 y por último Oaxaca con 47.7. Al aumentar el rango de edad a 0-19 años, estos valores disminuyen, presentando una tasa de incidencia global de 44.3 casos por millón, mientras que Tlaxcala presentó 48.2, Puebla 46.4 y Oaxaca 39.6. Los datos de

tasas de incidencia de estas regiones de México se encuentran dentro del rango reportado en otras poblaciones de poblaciones de origen latino, además, se encontraron variaciones en las tasas de incidencia de las subregiones de estos Estados, como una alta tasa de incidencia en la Mixteca de Puebla, de hasta 96.7, lo que se podría atribuir a factores sociales, como el origen étnico de los habitantes, sin embargo, aún se requieren de más estudios para corroborar esto (4).

3 Antecedentes

3.1 Antecedentes generales

3.1.1 Acervo celular

La Sociedad Internacional para Repositorios Biológicos y Ambientales (ISBER, por sus siglas en inglés para “*International Society for Biological and Environmental Repositories*”), define a un acervo, repositorio, o biorepositorio, como una entidad real o virtual que puede recibir, procesar, almacenar y/o distribuir especímenes tomados de un sujeto de estudio o donante y sus datos asociados en apoyo de uno o múltiples estudios de investigación, el término engloba tanto a la locación física, así como todas las actividades asociadas con esta operación. Los especímenes pueden ser tejidos específicos, sangre, orina u otro material recogido para su análisis, de los cuales se puede obtener una única unidad que contiene material derivado de ellos, conocida como muestra (7,8).

3.1.2 Historia de los acervos celulares

Para tener un contexto del surgimiento de los acervos y su importancia en la investigación, es necesario hacer una recapitulación de los puntos clave que propiciaron su establecimiento, comenzando por los primeros registros de congelación de material biológico, desde hace más de 280 años, específicamente en el año 1665, cuando se describen los experimentos del científico británico Robert Boyle sobre los efectos de las bajas temperaturas en animales (9,10). Posteriormente surge el Instituto Pasteur en Francia, fundado en 1888, uno de los casos más tempranos de una institución que ha mantenido un acervo de células y microorganismos en la historia de la humanidad. La Colección del Instituto Pasteur (CIP, por sus siglas en francés para *Collection de l'Institut Pasteur*) fue creada por

el médico y microbiólogo francés Jean Binot, quien comenzó a conservar cepas bacterianas en 1891. Desde hace más de un siglo, cepas bacterianas del CIP se encuentran en el campus del Instituto Pasteur (11).

Otra institución importante en ser fundada en este periodo fue la Colección Bacteriológica y la Oficina para la Distribución de Cultivos Bacterianos de EE. UU., fundada en 1911, como un acervo de cultivos bacteriológicos, posteriormente, esta colección pasaría a ser incorporada en 1925 por la, en ese entonces, recién fundada Colección de Cultivos de Tipo Americano (ATCC, por sus siglas en inglés para *American Type Culture Collection*) de EE. UU. (12,13).

Fue en el año 1940, cuando el biólogo suizo Basile Luyet examinó por primera vez en detalle los efectos de las bajas temperaturas en una amplia gama de células provenientes de diversos organismos, desde bacterias, hasta células y tejidos de origen vegetal y animal (14). Tiempo después, el almacenamiento de células comenzó a ser explorado por primera vez en 1949 en un estudio encabezado por el biólogo inglés Christopher Polge, reportando la capacidad del glicerol para contrarrestar los efectos adversos del congelamiento y descongelamiento en la viabilidad celular de espermatozoides (15). Otro de estos ejemplos es el comienzo del uso de liofilización en el CIP para el almacenamiento de cultivos microbianos a partir de la década de 1950 (11). También, en 1952, B. Luyet comenzó con los trabajos para idear una forma de criopreservación de muestras biológicas con otros agentes protectores, probando las propiedades del etilenglicol, glucosa y cloruro de sodio para evitar el daño en tejidos al ser congelados, ampliando la variedad de los agentes protectores disponibles (16). Fue hasta 1959, que los científicos ingleses, James Lovelock y Marcus Bishop, revolucionan la criopreservación al introducir el uso de dimetilsulfóxido (DMSO) como agente protector, marcando un antes y un después en los métodos de criopreservación utilizados actualmente (17,18).

Durante el periodo en que sucedían estos avances, nuevos acervos celulares que presentaban un mejor estándar de calidad fueron surgiendo, un ejemplo de esto es la fundación del Instituto Coriell para Investigación Médica, de EE. UU., en 1953 por el virólogo estadounidense Lewis Lemon Coriell, este acervo posteriormente llegó a

ser reconocido como un banco celular por los Institutos Nacionales de Salud (NIH, por sus siglas en inglés *National Institutes of Health*) de EE. UU. en 1960, y es descrito en 1973 como un acervo celular, siendo la primera vez en ser empleado este término, haciendo hincapié en sus innovadoras técnicas de esterilidad en cultivo celular y criopreservación (19), creando los cimientos para que el término de biobanco surja por primera vez en 1996, en un estudio científico que hizo uso de una colección de muestras biológicas obtenidas de poblaciones humanas, con fines de investigación genética (20) (**Figura 1**).

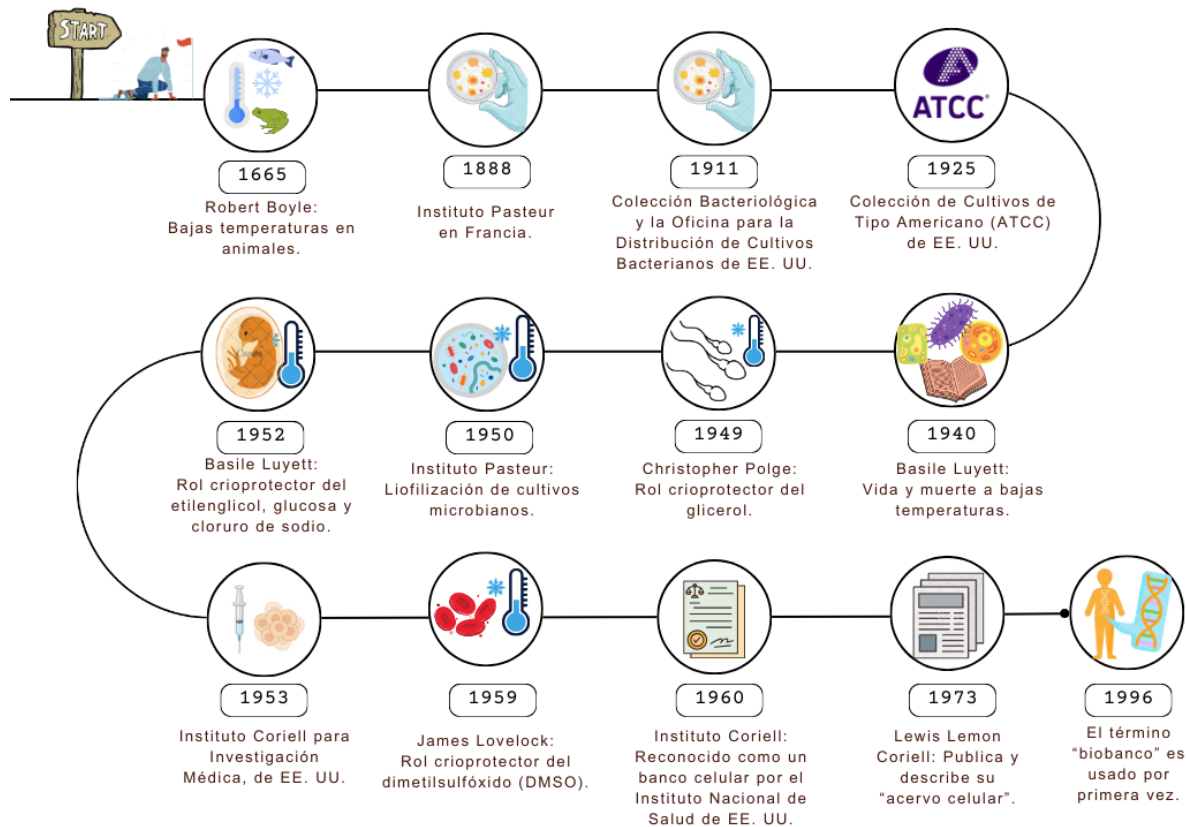


Figura 1. *Historia de los acervos celulares.* Recapitulación de la historia de los acervos celulares hasta el surgimiento de los biobancos. Iniciando desde el año 1665 hasta el año 1996, en el que se describen 13 hechos históricos clave para el establecimiento de los acervos. Figura creada a partir de (9–20)

A lo largo de la historia, han surgido regulaciones a través de instituciones tanto internacionales como nacionales para el almacenamiento del material biológico, Solo cuando un acervo celular cumple con todas las certificaciones y normativas exigidas por la institución de salud pertinente establecida en las políticas de cada país, puede ser oficialmente reconocido y operar como un biobanco (21)

3.1.3 Biobancos

Actualmente, un biobanco incluye la definición de un acervo celular pero adicionalmente se define como una entidad física o virtual, certificada y gestionada formalmente, con fines científicos (8,22–24). Todos los biobancos deben de registrarse bajo los marcos éticos y legales aplicables, y deben cumplir con las normativas nacionales, regionales y locales. Seguir estas normativas, permite asegurar la calidad de sus procesos y garantizar su trazabilidad, precisión y fiabilidad. En el apartado **3.1.5. Normas nacionales e internacionales que regulan un Biobanco** se mencionará dichas normativas (8,25).

Existen diversos manuales internacionales que tienen como objetivo promover la armonización y la colaboración internacional en este tipo de organizaciones, en el caso de la Red Mexicana de Biobancos (REMBIOBAN), se encuentra trabajando con las prácticas promovidas por la guía de la ISBER (26,27). En esta guía, titulada “Buenas Prácticas: Recomendaciones para biobancos”, la ISBER enlistar los puntos más importantes que deben de contar acervos y biobancos. Se encuentra dividida en trece secciones fundamentales que engloban las características, estrategias y metodologías que se pueden tomar como orientación en la implementación de este tipo de entidades (**Figura 2**) (8).

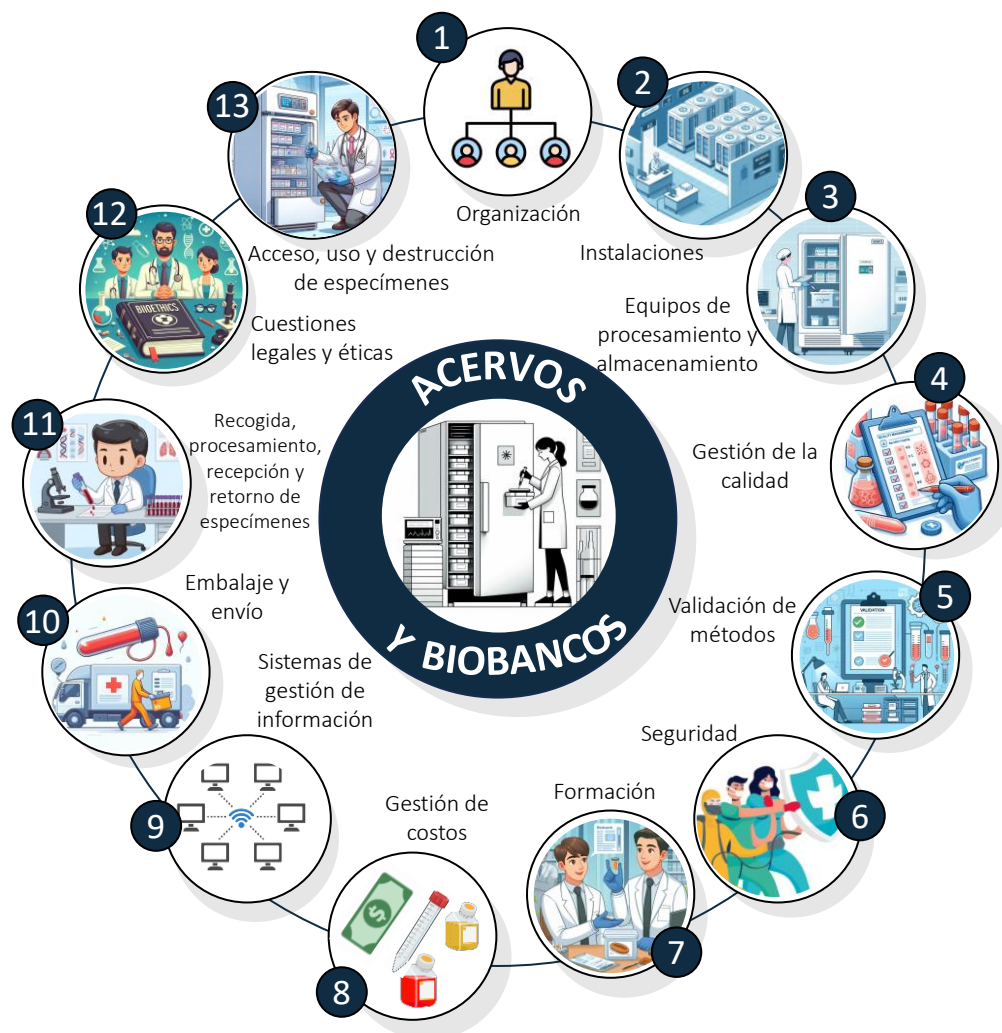


Figura 2. Características, estrategias y procedimientos recomendados para Acervos y Biobancos. En la guía de la ISBER de Buenas Prácticas: Recomendaciones para biobancos, la correcta planeación e implementación de acervos y biobancos se dividen en 13 secciones que engloban las características, estrategias y procedimientos recomendados para que se pueda cumplir con éxito el propósito de la colección creada. Figura creada a partir de (8).

Estas secciones se describirán a continuación, de acuerdo con su orden de aparición en la obra (8):

1. Consideraciones sobre la Organización del biobanco: La efectividad de acervos y biobancos depende en gran medida de la implementación de un sistema de gobernanza sólido que implemente y supervise las políticas y procedimientos de sus actividades. La estructura de este sistema se debe adaptar a las características específicas de cada biobanco, como su tamaño,

propósito, financiamiento y afiliación institucional. Es posible mencionar algunos elementos clave que se recomienda incluir en un plan de gobernanza para este tipo de entidades:

- Elementos necesarios para el mantenimiento, integridad y seguridad de los especímenes, muestras y sus datos asociados.
 - Políticas de transparencia con respecto al acceso y uso de los especímenes, muestras y datos.
 - Canales de comunicación disponibles para las partes interesadas.
 - Plan para la adecuada gestión física y electrónica de especímenes, muestras y datos.
 - Políticas para la adquisición de especímenes y la destrucción o eliminación selectiva de la colección.
2. Instalaciones: Planificar la ubicación y el diseño del espacio de almacenamiento de material biológico es crucial para garantizar su conservación adecuada, la seguridad del personal y el óptimo funcionamiento del equipamiento. Para ello, es fundamental considerar diversos factores, entre los que destacan la temperatura, ventilación, humedad, iluminación, características del suelo y sistemas de energía.
 3. Equipos de almacenamiento y procesamiento: Para un óptimo funcionamiento, los biobancos y acervos requieren de un equipamiento adecuado para el procesamiento y almacenamiento de especímenes y muestras obtenidas a partir de ellos. La selección de dicho equipamiento debe basarse en criterios como el tipo de material a almacenar, el tiempo previsto de conservación y los recursos disponibles para su adquisición con los que cuente la entidad para cumplir con su propósito principal.
 4. Gestión de la calidad: Este sistema engloba las actividades necesarias para una correcta organización de acervos y biobancos, como la administración y seguimiento de las muestras, desde su almacenamiento hasta su utilización en investigación. Un componente crucial de esta sección es la implementación de pruebas de calidad para las muestras, con el objetivo de evaluar sus características y el desempeño de los procesos o productos

involucrados. Dichas pruebas se basan en estándares específicos definidos por cada acervo o biobanco, y pueden variar según el alcance de la entidad y el tipo de muestra a analizar. Entre los ejemplos de estas pruebas se encuentran: viabilidad celular y viabilidad de microorganismos, niveles de expresión génica, estado de metilación del ADN, niveles de metabolitos, estructura de proteínas y función de enzimas.

5. Consideraciones de validación y control de calidad de métodos: Es importante que los métodos utilizados para el procesamiento de especímenes en los acervos y biobancos sean evaluados y validados mediante la literatura científica, retroalimentación de usuarios finales, o resultados obtenidos de las pruebas de calidad. En caso de no contar con bibliografía apropiada para tomar como referencia, el acervo o biobanco puede realizar estudios específicos sobre el espécimen en cuestión. Estos estudios tienen como objetivo evaluar el impacto potencial de variables preanalíticas que podrían influir en los resultados de las pruebas de calidad. Entre dichas variables se encuentran: estado clínico del sujeto, tipo de hábitat ambiental, ingesta de medicamentos, momento de la recolección del espécimen, procedimientos y materiales utilizados durante la recolección, transporte, procedimientos de procesamiento, fijación, y tipo de almacenamiento a largo plazo.
6. Seguridad: Las normativas de seguridad para este tipo de entidades pueden establecerse de manera nacional, federal, regional o local. Para garantizar la seguridad tanto del personal como de los visitantes, es fundamental desarrollar un plan de seguridad integral que considere diversos aspectos, entre los que destacan la infraestructura, uso de equipos de protección, evaluación del riesgo biológico, bioseguridad, planes de higiene, planes contra incendios, seguridad física, eléctrica, radiológica y química. En este último punto, es especialmente importante contemplar medidas para el uso de sustancias que pueden ser utilizadas en los procedimientos de almacenamiento, como el nitrógeno líquido, o en el transporte de las muestras, como el hielo seco. Para asegurar la correcta implementación de

estas medidas de seguridad, es fundamental que sean integradas en un plan de formación para el personal.

7. Formación: El personal del acervo o biobanco debe de contar con la formación adecuada para realizar las tareas específicas en su puesto de trabajo. Esta formación puede abarcar procedimientos de seguridad, procedimientos técnicos, gestión de registros y bases de datos, cuestiones éticas, requisitos normativos, reglamentos, privacidad y confidencialidad de los donantes, destrucción de material y buenas prácticas de laboratorio. Es importante que, al finalizar la capacitación del personal, se emita un documento que avale la adquisición de los conocimientos y habilidades necesarios, el cual debe estar firmado por el responsable de la formación y por el propio participante.
8. Gestión de costos: Para el correcto funcionamiento de estas entidades, es fundamental contar con un plan de negocio global que detalle las actividades a realizar, así como los recursos financieros necesarios para su puesta en marcha, desarrollo y mantenimiento. Este plan debe contemplar al personal, materiales, consumibles, suministros, equipamiento, servicio técnico, instalaciones, licencias de software utilizado y posibles gastos de certificación. La estructura del plan puede variar dependiendo del tipo de institución a la que esté afiliado el biobanco, sus objetivos, estrategias de financiación, así como tomar en consideración la aplicación de cuotas a los investigadores para cubrir el costo de la recolección, procesamiento, almacenamiento y distribución del material biológico.
9. Sistemas de gestión de la información de biobancos: En los acervos y biobancos es fundamental contar con un sistema de gestión eficaz para asegurar que las muestras puedan ser localizadas con precisión. Este sistema abarca el uso de formularios de consentimiento e identificadores únicos para cada muestra, las cuales deben ser etiquetadas y registradas en un sistema electrónico de inventario de datos para asegurar la trazabilidad, este sistema debe brindar la información referente a los datos necesarios para los requerimientos de la investigación, como la ubicación de la muestra,

característica de los especímenes, y, en el caso de muestras humanas, información del donante, diagnóstico y disponibilidad de otros especímenes del mismo donante, es altamente recomendado que este sistema de informática cuente con almacenamiento de la información en la nube y debe tener la capacidad de generar informes para respaldar el flujo de trabajo realizado. Es de suma importancia que el acceso a los datos sea controlado para cuidar la confidencialidad de los donantes

10. Embalaje y envío: Los procedimientos de embalaje y envío de especímenes para su recibimiento en los acervos y biobancos, así como los especímenes o muestras que serán enviadas a investigadores para su utilización en estudios, deben de cumplir con las normas nacionales o federales aplicables, y el personal implicado en este transporte de material biológico debe de contar con la debida formación. El tipo de espécimen o muestra que se va a transportar determinará las características necesarias para el embalaje y envío, estas pueden ser las condiciones de temperatura, humedad, tiempo que puede resistir el material biológico durante el envío y tipo de contenedor en el que será transportado. Durante este proceso, es importante de enviar un aviso de envío y número de seguimiento al destinatario, y este debe de confirmar la recepción y las condiciones de llegada del espécimen o de la muestra en cuestión.
11. Recogida, procesamiento, recepción y retorno de especímenes: Para comenzar con el proceso de recolección, es importante escoger el protocolo que se adapte a las necesidades particulares de la entidad que almacenará las muestras y los tipos de estudios que tiene planeado apoyar. Al momento de recibir los especímenes es importante tomar en consideración criterios para aceptarlos o devolverlos, como la disponibilidad de estos, así como su utilidad para investigación, asegurándose siempre que todos los especímenes recogidos sean adecuados para el propósito del acervo o biobanco. Estos especímenes pueden someterse a una amplia variedad de métodos de procesamiento y almacenamiento, dependiendo del tipo de origen del espécimen, como tejidos sólidos, sangre, saliva y orina; y las

muestras de interés a obtener de estos procedimientos de procesamiento, por ejemplo, los tejidos sólidos pueden ser fijados en formol y embebidos en parafina, mientras que los especímenes de sangre pueden ser sometidos a técnicas de fracciones celulares viables y las muestras obtenidas pueden ser críoconservadas.

12. Cuestiones legales y éticas para especímenes biológicos: Todas las actividades de obtención, almacenamiento, distribución y el uso de material biológico en investigación implica cuestiones legales y éticas. Existen varias normativas internacionales clave que discuten la ética en el uso de especímenes humanos en investigación, como la Declaración de Helsinki, adoptada por la Asociación Médica Mundial, otro documento importante es el Informe Belmont, publicado por el Departamento de Salud y Servicios Sociales de Estados Unidos. Estos documentos, así como otros que se mencionarán posteriormente en el apartado **3.1.5.2. Normas Internacionales**, engloban conceptos clave fundamentales para el buen diseño de los estudios con especímenes humanos.

Otro punto fundamental para tener en cuenta en la utilización de especímenes humanos es el requerimiento de someter el protocolo respecto a los procesos y procedimientos para la obtención, almacenamiento, distribución y uso al comité de ética de la investigación designado por la institución donde se llevará a cabo el estudio para aprobar el inicio de la colección del material biológico. En el caso de trabajar con especímenes de pacientes, se debe de asegurar que su recolección y uso no interfiera con el diagnóstico o cuidado apropiado del sujeto. Una vez que el protocolo es aprobado, se requiere el consentimiento informado del donante, o en caso de menores de cierta edad, el asentimiento del sujeto pediátrico y el consentimiento informado de los padres o tutores legales. Es importante asegurar la confidencialidad y privacidad de los datos de los donantes y que ellos estén informados que, si cambian de parecer y desean rechazar participar en el proceso, este consentimiento puede ser retirado en cualquier momento.

13. Acceso, uso y destrucción de especímenes: Como fue mencionado anteriormente, en el plan de gobernanza de los acervos y biobancos se deben establecer políticas y procedimientos escritos que aborden la forma en que se accederá a los especímenes, muestras y sus datos asociados, y los criterios para la aprobación de estas solicitudes, estas políticas de acceso y uso a disposición son importantes para crear confianza en el buen funcionamiento de la entidad. En esta política de acceso y uso, es importante establecer los siguientes puntos:

- Definir qué clase de público puede acceder a la colección y qué tipo de especímenes, muestras y datos asociados están disponibles.
- Establecer un procedimiento de solicitudes en donde se incluya el canal para comunicación para los interesados.
- Definir los criterios que se considerarán para aprobar o rechazar una solicitud.
- Designar una persona o grupo que evaluará las solicitudes y tomará la decisión sobre su aprobación o rechazo.
- Establecer un proceso para apelar la decisión del rechazo de una solicitud.
- Solicitar a los interesados el reconocimiento formal del acervo o biobanco en las publicaciones donde se utilicen los recursos biológicos obtenidos y sus datos asociados.

Otro punto importante para tomar en cuenta es la eliminación selectiva de especímenes o muestras de la colección que ya no sean adecuadas para el propósito del acervo o biobanco, ya sea mediante destrucción o por transferencia a un nuevo custodio. Para ello es importante establecer criterios para la evaluación de la conservación o descarte, que deben incluirse en las políticas de gobernanza la entidad, algunos de las situaciones o criterios que debe considerar esta evaluación son:

- La información asociada a las muestras se ha perdido, dificultando su identificación y evaluación de riesgos biológicos.

- La calidad de las muestras se ha visto comprometida por fallos del equipo, que limitan su viabilidad para usos en investigación.
- Cuando lo exija el consentimiento, o cuando este sea retirado.
- Cuando se hayan recolectado especímenes en exceso según el protocolo aprobado, el diseño del estudio o la normativa.
- Cuando el estado de un sujeto cambie de elegible a no elegible según el objetivo de la colección, como en el caso de un estudio de caso o control.

El cumplimiento y conjunta implementación de estas características, estrategias y procedimientos pueden servir como una guía para proporcionar muestras aptas para investigación y que el acervo o biobanco cumpla satisfactoriamente con el propósito para el cual fue diseñado (8).

3.1.4 Tipos de biobancos

Los biobancos se pueden agrupar de acuerdo con los criterios de clasificación que se dividen en tipo de estudios que generan, tipo de servicio, tipo de origen, tamaño, y tipo de muestra (28–51) (**Tabla 1**).

Tabla 1. Tipos de biobancos y ejemplos en México

Criterios de clasificación	Tipos de biobancos	Nombres de ejemplos de biobancos en México	Datos de almacenamiento
<i>Tipos de estudios que generan</i> (28)	Biobancos poblacionales	El biobanco del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) (33).	700,000 muestras
	Biobancos orientados a enfermedades	Biobanco de Enfermedades Metabólicas, del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) (33).	>9,000 muestras
	Biobancos forenses	Ciencia Forense Ciudadana (40).	450 muestras
<i>Tipos de servicio</i> (29)	Público	Biobanco del IMSS (43).	110,000 muestras
	Privado	Biobanco Cordón VITAL (44).	1 millón de muestras
<i>Tipo de Origen</i> (32,35,52)	Humanos	Biobanco de la Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro) (33).	Sin dato de cantidad de muestras
	No Humanos	Banco de semillas de la FES Iztacala de la UNAM (41).	2300 especies
<i>Tamaño</i> (36)	Grandes (>1000 participantes)	Proyecto oriGEN, del Instituto Tecnológico de Monterrey (46).	Datos de 1500 individuos
	Pequeños (<1000 participantes)	Banco Nacional de Demencias, UNAM (39).	5 órganos
<i>Tipo de muestra</i> (31,37)	Cuerpos	Programa de Donación de Cuerpos, UNAM (48).	3800 personas registradas

Órganos	Banco Nacional de Cerebros, CINVESTAV (47).	400 órganos
Tejidos	Biobanco Labopat (38).	Sin dato de cantidad de muestras
Sangre	Centro Nacional de la Trasfusión Sanguínea (49).	>7.6 millones de individuos
Células	Biobanco del Hospital Infantil de México Federico Gómez (50).	Sin dato de cantidad de muestras
Desechos Biológicos	Biobanco del Instituto Nacional de Medicina Genómica (51).	>24,500 muestras procesadas en 2019

Tabla1. *Tipos de biobancos.* Clasificación de los tipos de biobancos de acuerdo con el tipo de estudio que genera, tipo de servicios, tipo de colección, tipo de origen, tamaño y tipo de muestras. Tabla generada a partir de Ocampo et al., 2018 & Annaratone et al., 2021 (28–51).

3.1.5 Normas nacionales e internacionales que regulan un Biobanco

3.1.5.1 Normas Nacionales

En México, la regulación de los biobancos recae en la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). Esta agencia federal de la Secretaría de Salud es la responsable de establecer y supervisar las normas para el manejo de muestras biológicas humanas, asegurando su uso adecuado y seguro. (22,24,53,54). Para realizar una solicitud de licencia sanitaria para establecimientos de servicio de salud, pueden usarse las páginas oficiales de la COFEPRIS (<https://www.gob.mx/cofepris/acciones-y-programas/licencia-sanitaria-de-servicios-de-salud-nuevo>), o a través del Catálogo Nacional del Gobierno de México (<https://catalogonacional.gob.mx/FichaTramite/COFEPRIS-09-024.html>) (53,54).

Esta solicitud de licencia sanitaria para la acreditación de biobancos tiene su fundamento jurídico en los siguientes artículos (54):

- Artículos 15 y 17-A de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo
- Artículo 315 de la Ley General de Salud
- Artículo 195-A de la Ley Federal de Derechos
- Artículos 90 y 121 del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario de la disposición de órganos, tejidos y cadáveres de seres humano

Estos documentos fundamentan temas relacionados al proceso de acreditación, tales como el fundamento que da origen al trámite, el plazo para cumplir con la solicitud, el establecimiento del canal de atención, y el criterio de resolución de la solicitud (54).

3.1.5.2 Normas Internacionales

Tanto acervos, como biobancos que emplean el uso de muestras humanas, deben de cumplir con normas de bioética internacionales, como (8,55):

- Declaración de Helsinki, de la Asociación Médica Mundial.
- Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos, de la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO, por sus siglas en inglés para *United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization*)
- Informe Belmont del Departamento de Salud y Servicios Sociales de EE. UU.
- Recomendación Rec (2006)4 del Consejo de Europa

Estos documentos incluyen diversos conceptos fundamentales sobre la ética en la investigación con seres humanos, de los que se puede destacar cuatro puntos clave (8):

- 1) Es necesario contar con el consentimiento libre e informado del sujeto antes de la recolección de los especímenes.
- 2) El estudio debe ser correctamente diseñado por especialistas en el área y debe de conducir a conclusiones significativas.
- 3) El estudio debe de reducir en todo lo posible los riesgos para los sujetos y que estos riesgos no excedan los beneficios de los hallazgos esperados.
- 4) Los resultados de estudios en animales previos deben proporcionar una razón de peso para proponer que es necesario el estudio con seres humanos y que esta es la única forma de obtener la información que proporcionar el estudio.

Cuando se habla de normativas internacionales aplicables en este tipo de entidades, es importante tomar en consideración a la norma ISO 9001, elaborada por la Organización Internacional de Normalización (ISO, por sus siglas en inglés para

International Organization for Standardization) que determina los requisitos para un Sistema de Gestión de la Calidad, proporcionando a las organizaciones modelos útiles para demostrar la calidad de todos los procedimientos para su adecuado funcionamiento, permitiendo proporcionar de forma coherente un producto final que cumpla con los requisitos de los clientes y de los reglamentos aplicables (8).

La ISBER reconoce certificaciones internacionales bajo la norma ISO 9001, a través de un organismo que esté acreditado como organismo de certificación. La certificación de biobancos también puede obtenerse de la Red Canadiense de Repositorios de Tejidos (CTRNet, del inglés "*Canadian Tissue Repository Network*"), el Programa de Certificación de Patología de la Salud de Nueva Gales del Sur (NSW-HP, del inglés "*New South Wales Health Pathology*"); o mediante la realización de una encuesta de autoevaluación del Programa de Certificación de Biobancos del Consorcio de Infraestructura de Investigación Europeo - Recursos Biomoleculares y Bancos de Tejidos (BBMRI-ERIC, del inglés "*Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure - European Research Infrastructure Consortium*") (8).

3.1.6 Panorama mundial de los biobancos

Durante los últimos años, ha habido un incremento importante en el establecimiento de biobancos, se espera una alta tendencia de crecimiento del mercado de biobancos, especialmente en Asia, Europa y América del Norte, durante los siguientes 5 años (2023-2028) (56). Algunos de los biobancos más importantes a nivel mundial que son reconocidos por el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial para el depósito de material biológico incluyen la Colección Europea de Cultivos Celulares Autenticados (ECACC, por sus siglas en inglés para *European Collection of Authenticated Cell Cultures*) del Reino Unido, una colección de 45 especies diferentes de líneas celulares y 50 tipos de tejidos, la Colección de Cultivos de Tipo Americano (ATCC, por sus siglas en inglés *American Type Culture Collection*) de los Estados Unidos (EE.UU.), una colección de más de 80,000 muestras biológicas que abarcan microorganismos, líneas celulares, ADN, hongos, tejidos vegetales y virus, la Colección Alemana de Microorganismos y Cultivos

Celulares (DSMZ, por sus siglas en alemán para *Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen*) de Alemania, con un total de 83,000 muestras biológicas de microorganismos, líneas celulares humanas y animales y virus vegetales y el Centro de Colección de Cultivos Microbiológicos (CGMCC, por sus siglas en inglés para *China General Microbiological Culture Collection Center*) de China, con 40,000 cepas diferentes de microorganismos (57–61).

Existe una estimación total de 1380 biobancos registrados en el mundo hasta el año 2023 (**Figura 3A**), Europa es el continente en donde se encuentran la mayor cantidad de biobancos registrados, con el 57% del total de biobancos (n=788), Norteamérica es el segundo continente con mayor cantidad de biobancos, con el 20% (n=275), seguido de Asia, con el 9% (n=123), América Latina con el 8% (n=110), Oceanía con el 5% (n=74) y África con el 1% (n=10). Del total de 51 países analizados de los que se encontró registro de biobancos en las distintas fuentes mencionadas anteriormente, el país que cuenta con mayor número de biobancos es Reino Unido con 247, seguido de Canadá con 232, y Países Bajos con 115, en esta lista, México se encuentra en el lugar 15°, con 20 biobancos (**Figura 3B**), sin embargo, es importante recalcar que las métricas en relación a biorepositorios no siempre tienen que referirse a la cantidad de biobancos en los países, pues no refleja necesariamente la calidad o cantidad de las muestras almacenadas en ellos, es necesario mencionar que cada país cuenta con sus propias políticas de regulación de biobancos, por ejemplo, en Asia, Corea del Sur cuenta con 17 biobancos regionales establecidos geográficamente por las regiones de este país, otro ejemplo es Japón, que cuenta con seis biobancos en redes establecidos en el país, conocidos como, red de biobancos de centros nacionales (<https://ncbiobank.org/en/home.php>), que están diseñados para almacenar una gran cantidad de muestras para proveer a los proyectos de investigación del país (38–40,43–51,62–83).

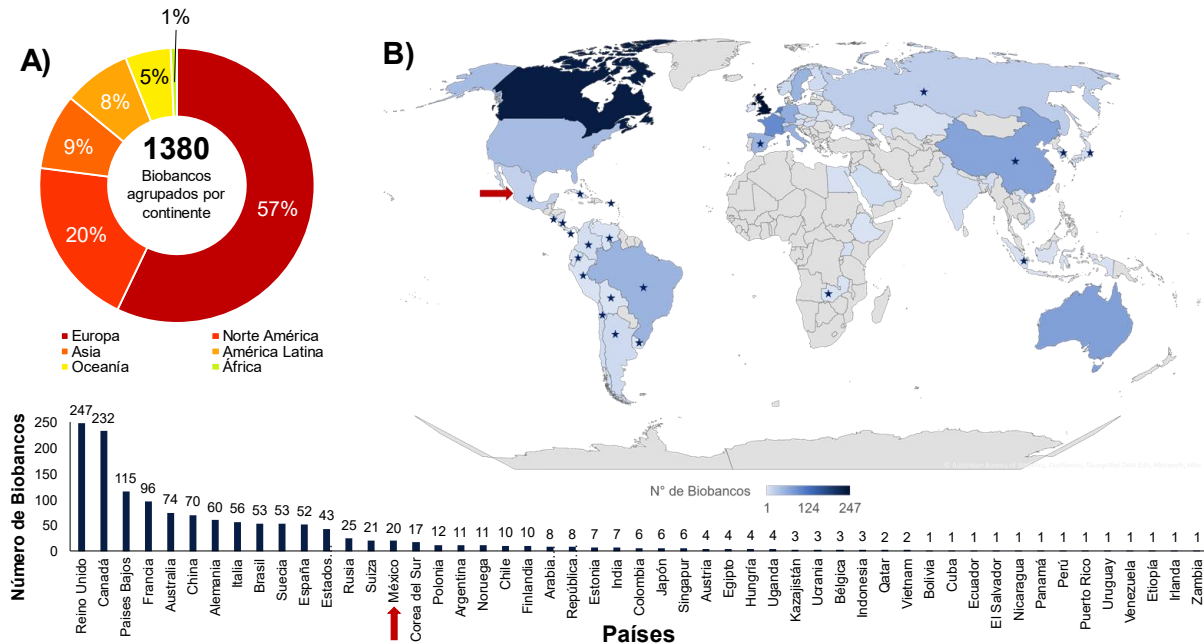


Figura 3. *Biobancos registrados a nivel global.* A) Número total de biobancos publicados, agrupados por cada continente. B) Biobancos por país. Se presenta un mapa de calor de países de acuerdo con su número de biobancos. Las estrellas azules indican aquellos países de los cuales la información se obtuvo de artículos de revisión. México es señalado por una flecha roja. *BBMRI-ERIC: Recursos Biomoleculares y Bancos de Tejidos - Consorcio de Infraestructura de Investigación Europeo (del inglés *Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure - European Research Infrastructure Consortium*); UKCRC -TD: Directorio de Tejidos de la Colaboración de Investigación Clínica del Reino Unido (del inglés *UK Clinical Research Collaboration Tissue Directory*); CTRNet: Red Canadiense de Repositorios de Tejidos (del inglés *Canadian Tissue Repository Network*); NSW-HP: Patología de la Salud de Nueva Gales del Sur (del inglés *New South Wales Health Pathology*); NIH: Institutos Nacionales de Salud (del inglés *National Institutes of Health*), REBLAC: Red de Biobancos de Latinoamérica y del Caribe. Imagen creada a partir de (38–40,43–51,62–83).

3.1.7 Biobancos en México

Para entrar en contexto con la situación actual de biobancos en México, es necesario hablar acerca de cómo ha ido evolucionado a lo largo de los años, comenzando por el Biobanco de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), el cual inició en 2002 como un proyecto de un acervo para el laboratorio de la UANL que, en colaboración con el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSCZ), en 2015 adquirió el estatus de Laboratorio

Nacional, por el CONAHCYT, adquiriendo el nombre de Laboratorio Nacional Biobanco (LANBIOBAN). Posteriormente, este proyecto continuó expandiéndose y se fueron anexando a este proyecto las siguientes instituciones:

- El biobanco de la Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro)
- El biobanco de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP)
- El biobanco del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP)
- El biobanco del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN)

En 2017, debido al anexo de más biobancos, se dio paso a la Red Mexicana de Biobancos (REMBIOBAN). Las instituciones integrantes de la REMBIOBAN hacen un esfuerzo de mantener estándares nacionales e internacionales, siguiendo las buenas prácticas de biobancos estipuladas por la ISBER (26). En 2019, la REMBIOBAN dio a conocer en la reunión anual del ISBER, en China, un total de 9 biobancos que integran a esta red, incluyendo ahora al Instituto Tecnológico de Monterrey, el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), y el Instituto Nacional de Cancerología (INCan) (80).

A lo largo del tiempo, estas instituciones fueron consideradas como un biobanco, sin embargo, a partir de julio de 2023 la COFEPRIS otorgó la primera licencia sanitaria específica para biobancos al INCMNSZ. Anteriormente, esta institución ya contaba con una licencia sanitaria expedida por la COFEPRIS en modalidad de “Extracción (procuración) de órganos, tejidos, células, trasplante de riñón, hígado, páncreas, tejido músculo esquelético, vascularizado (cara) y células progenitoras hematopoyéticas”, sin embargo, adquiere la nueva licencia sanitaria en la modalidad de “Biobanco con fines de investigación (saliva, sangre total y orina)”, marcando un precedente histórico en la regulación y definición de un biobanco en el país, siendo este, oficialmente, el primer biobanco en México (22,24,84,85).

Es importante mencionar que para la creación y mantenimiento de un acervo la acreditación de esta o algún otro tipo de licencia no es obligatoria y queda a consideración de cada acervo la decisión de buscar o no las acreditaciones que sean pertinentes para cumplir con su propósito para el cual fue diseñado, tomando en cuenta sus limitaciones físicas o restricciones financieras (8). En México, existen instituciones con acervos que cumplen con su propósito sin contar con información

publicada acerca de contar con una certificación, hay otros acervos que, para avalar con el cumplimiento de estándares de calidad y seguridad, han recibido licencias de la COFEPRIS en modalidades de bancos celulares, de órganos, bancos de sangre, entre otras (33,82), así como establecimientos que han optado por el registro de su acervo en el catálogo internacional de la CTRNet (38,83). Tomando en cuenta estas colecciones, es posible llegar a mencionar un total de 20 acervos de muestras humanas en el país de los que se puede encontrar información publicada en páginas oficiales, artículos o catálogos (**Figura 4**) (33,38–40,43–51,80–83).

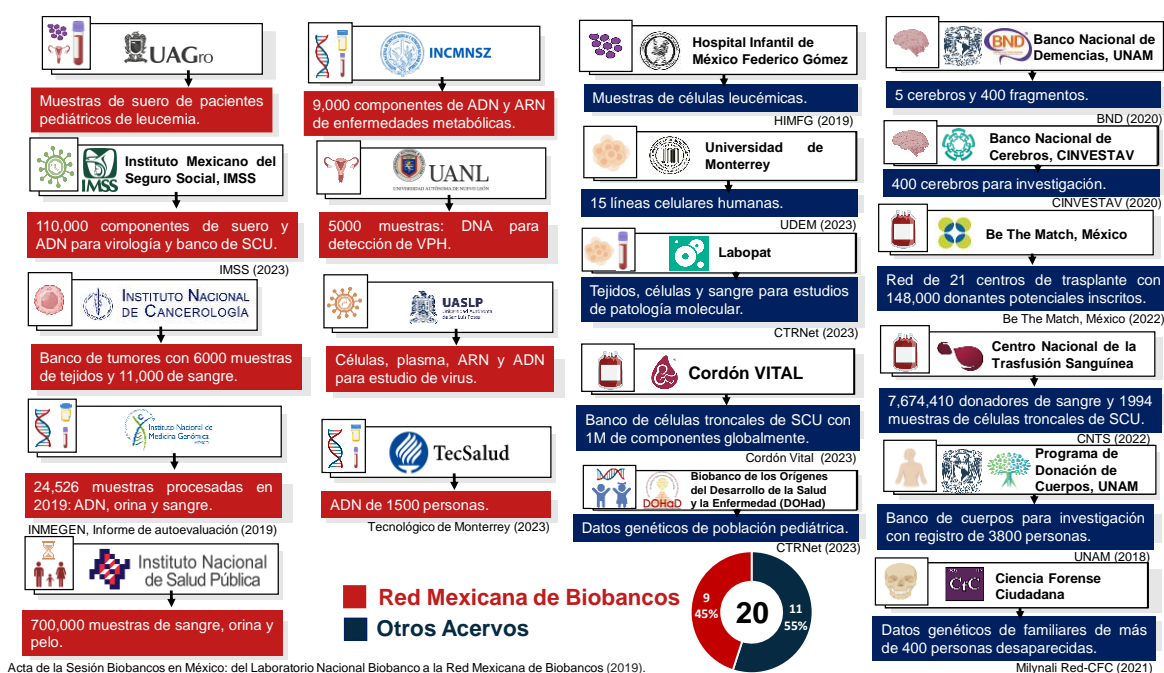


Figura 4. Acervos en México (2023). En total se encuentran establecidos 20 acervos, de los cuales 11 acervos pertenecen a muestras de pacientes enfocados a la salud humana, 7 poblacionales, y 2 forenses. El total presenta una distribución del 9% de los acervos pertenecientes a la Red Mexicana de Biobancos (rojo) y un 11% para otros acervos (azul). Se muestra la información del tipo de muestras y cantidad almacenada. INCyTU: Oficina de Información Científica y Tecnológica para el Congreso de la Unión. Imagen creada a partir de (33,38–40,43–51,80–83).

3.1.8 Acervos en la Investigación de la Leucemia

De los diferentes biorepositorios establecidos en la **Figura 4**, se encuentran 2 instituciones que cuentan con acervos enfocados en el estudio de la Leucemia Infantil (33,50,86,87):

1. “Biobanco de la Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro)”, miembro de la REMBIOBAN, con muestras de suero de pacientes pediátricos con leucemia, provenientes del Instituto Estatal de Cancerología de Guerrero (33,87).
2. “Biobanco de Investigación en Células Leucémicas”, del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG), con muestras de suero y leucocitos provenientes especímenes de MO y sangre de pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) al Debut, es decir, tomados al diagnóstico (50,86).

3.2 Antecedentes específicos

3.2.1 Investigación de la Leucemia Infantil en México

Para un país en vías de desarrollo, como México, en donde el estudio de la Leucemia Infantil es considerado una prioridad de salud debido al aumento de casos con pronóstico desfavorable, es necesario el apoyo a programas exhaustivos que promuevan el registro, detección temprana y estratificación de riesgo de los casos de leucemia infantil (88).

3.2.2 PRONAI de Leucemia Infantil

El PRONAI de Leucemia Infantil existe con la finalidad de disminuir la mortalidad de esta enfermedad en regiones vulnerables de Puebla, Tlaxcala y Oaxaca, al apoyar la investigación en leucemia en México, tomando en cuenta el contexto social y ambiental de los pacientes (89). Para abordar la complejidad de esta enfermedad de manera integral, el PRONAI de Leucemia Infantil puso en marcha once proyectos enlistados a continuación (90):

1. Uso de la terapia celular inmunológicamente específica por medio de linfocitos T quiméricos desarrollados en México para mejorar la sobrevida de

niños con leucemia aguda linfoblástica Pre-B en recaída/refractaria del sureste de México

2. Plataformas biotecnológicas para la innovación y desarrollo de terapias contra el microambiente tumoral en leucemias
3. Expansión ex vivo a escala clínica de células troncales y progenitoras hematopoyéticas de la sangre de cordón umbilical para el tratamiento de leucemia infantil
4. Armonización nacional de sistemas de registro y diagnóstico por citometría de flujo
5. Perfil de expresión de snoRNAs (small nucleolar RNAs) en leucemia linfoblástica aguda
6. La cortactina como un nuevo blanco terapéutico para prevenir la infiltración de órganos, la colonización de la médula ósea y la recaída en la leucemia linfoblástica aguda
7. Modulación de la cascada de señalización del calcio para mejorar la eficacia del tratamiento en leucemia linfoblástica aguda
8. Células troncales leucémicas
9. Abordaje genómico integral de la leucemia linfoblástica aguda (LLA) en pacientes pediátricos
10. Epidemiología y supervivencia de las leucemias agudas en niños de zonas marginales de México
11. Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil

3.2.3 Laboratorio de Oncoinmunología y Citómica del Cáncer Infantil

Uno de los proyectos que conforman al PRONAI de Leucemia Infantil es el Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil, dirigido por la Dra. Rosana Pelayo Camacho. Este innovador proyecto tiene como objetivo central establecer un laboratorio de citómica sin precedentes en América Latina. Equipado con tecnología de citometría de flujo y citometría de masas de alto rendimiento, este laboratorio tendrá la capacidad de revolucionar el diagnóstico y pronóstico de precisión para pacientes con leucemia infantil provenientes de zonas vulnerables (91).

Entre los diferentes campos de estudio del equipo de trabajo que dirige la Dra. Pelayo se encuentra la caracterización del microambiente tumoral de la MO durante la leucemia, mediante el uso de una técnica de cultivo en 3D conocida como organoide **(Figura 5A)**, que funciona como una plataforma *ex vivo* personalizada para cada paciente, mediante la cual se realizaron diversos estudios para simular un nicho leucémico de la MO, haciendo un cocultivo de células leucémicas con un esferoide de CEM provenientes de pacientes pediátricos de leucemia, estas células son importantes para la investigación del microambiente por medio del estudio de la expresión de marcadores de membrana presentados en estas células constitutivas de la MO. También ha permitido la caracterización del nicho específico de la leucemia, esto fue por medio de secuenciación de las CEM provenientes de pacientes de esta enfermedad, permitiendo identificar hasta 103 genes sobreexpresados consistentemente **(Figura 5B)**. Este hallazgo clave condujo al descubrimiento de dos firmas principales de ontología genética (92).

La primera firma, proinflamatoria, se caracteriza por un conjunto de quimiocinas que impulsan el reclutamiento de neutrófilos, la señalización de IL-17, la activación de metaloproteasas y la migración de leucocitos. Entre estas quimiocinas se encuentran CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL8, CCL20, junto a moléculas proinflamatorias como IL-1 β , IGF1, MMP1, MMP3 y MMP8. La segunda firma, en contraste, presenta señalización TLR, señalización mediada por citocinas y regulación negativa de la proliferación de leucocitos. Además, se observó una alta expresión de las quimiocinas CXCL10 y CXCL11, y de moléculas supresoras como la indolamina-2,3-dioxigenasa 1 (IDO1) y la galectina-9 (LGALS9). Gracias a esto se conoce que el microambiente de la MO es una pieza clave en el panorama inmunológico de la leucemia, el cual puede presentarse como un nicho inflamatorio y de expansión de la leucemia, que promueve la proliferación del cáncer, la inflamación y que reduce el soporte a la hematopoyesis normal; y que también puede presentarse como un nicho supresor, que favorezca la quiescencia de la leucemia, quimiorresistencia e inmunosupresión **(Figura 5C)** (92).

El Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil ofrece oportunidad diagnóstica en niñas, niños y adolescentes de regiones vulnerables, así como la estratificación de estos pacientes de acuerdo con los datos obtenidos de los diagnósticos (**Figura 5D**) y de la inmunofenotipificación de las CEM obtenidas posteriormente de los remanentes de las muestras de MO (**Figura 5E**), esto último se hizo con el objetivo del estudio del nicho de las CEM por el análisis de moléculas de superficie de interés para regulación de funciones inmunológicas. Esta estratificación ha demostrado ser una potencial herramienta predictiva para el riesgo del desarrollo de Enfermedad Medible Residual (EMR) en pacientes, uno de los hallazgos más importantes fue que los adolescentes de 10-18 años que padezcan de LLA ProB o LMA enfrentan el mayor riesgo relativo para EMR, el análisis de la expresión de marcadores en las CEM permitió observar que la LLA ProB y LLA ProB-PreB es promovida por un nicho supresor, apoyando los estudios descritos anteriormente en este apartado. En este estudio se demostró que el análisis del microambiente tumoral por medio de las CEM puede ayudar a generar un perfil de riesgo para los pacientes pediátricos, integrando además en este perfil, el fenotipo de la leucemia y el contexto inmunológico, obtenido de los diagnósticos (93).

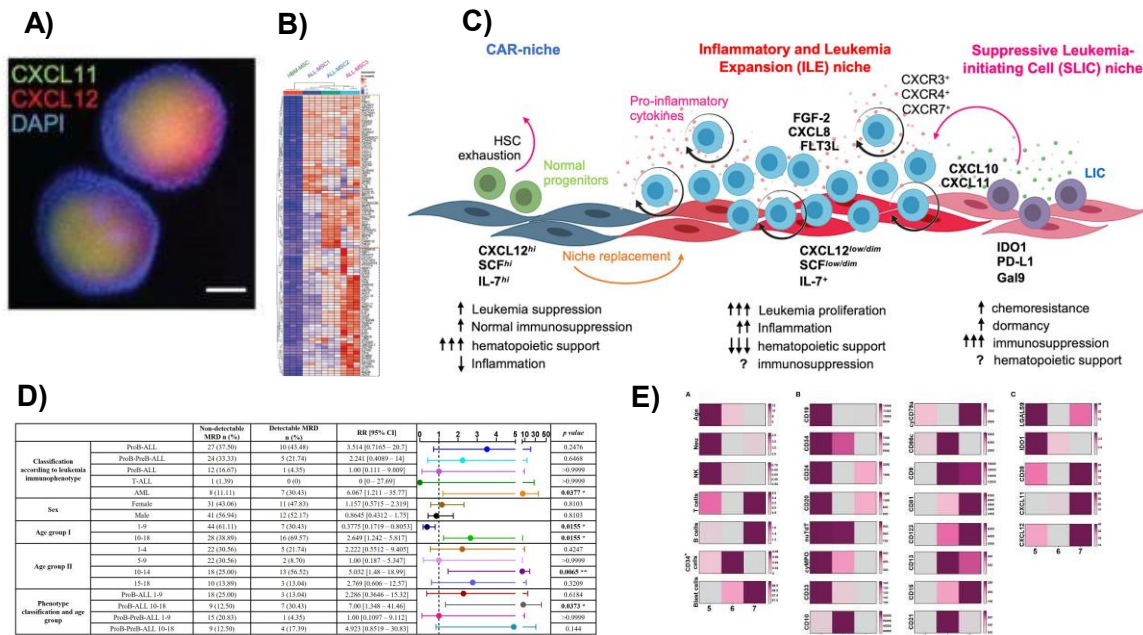


Figura 5. Panorama académico del Laboratorio de Oncoinmunología y Citómica del Cáncer Infantil. A) Plataformas tridimensionales (organoides) para el estudio microambiental de la leucemia. B) Expresión diferencial de genes en CEM derivadas de pacientes de leucemia infantil. C) Modelo de nichos de la MO normal y leucémica. D) Riesgo Relativo de EMR por inmunofenotipo, sexo y edad en pacientes pediátricos de leucemia. E) Perfiles de riesgo de recaída para los pacientes pediátricos, basado en el fenotipo de la leucemia, el contexto inmunológico y microambiente tumoral.

3.2.3.1 Microambiente tumoral

Los estudios de microambiente mencionados anteriormente son una pieza clave para la mejor comprensión del micro ecosistema especializado de la MO. En un ambiente normal, estos nichos juegan un papel importante en el mantenimiento de la hematopoyesis, influyendo en la supervivencia, autorrenovación y diferenciación de las células hematopoyéticas. Durante la leucemia, las células cancerígenas alteran estos nichos de la MO, promoviendo la expansión de la leucemia y creando una condición que las favorezca. Como ya se mencionó anteriormente, las CEM juegan un papel importante en este proceso de edición de nichos durante la leucemia, lo que las vuelve un blanco importante para investigación (92–94).

3.2.3.2 Células Estromales Mesenquimales

Las CEM son un tipo de células multipotentes presentes en la MO, que juegan un papel importante en el mantenimiento de su micro ecosistema, promoviendo la hematopoyesis normal. No obstante, durante la edición de los nichos, son condicionadas por las células cancerígenas para participar a favor de la fisiopatología de la leucemia. Estos cambios tan importantes que ocurren en el microambiente de la MO durante la leucemia convierten a las CEM en importantes blancos de estudio para comprender mejor la fisiopatología de esta enfermedad mediante el estudio de marcadores de membrana presentes en estas células, que reflejan la condición del microambiente tumoral en que se encuentra la MO durante la leucemia (92).

3.2.4 La Ruta de Atención del PRONAI de Leucemia Infantil

El PRONAI de Leucemia Infantil ha implementado una Ruta de Atención que tiene por objetivo garantizar un diagnóstico y seguimiento oportuno, completo y continuo

para cada niña, niño y adolescente con sospecha de leucemia en las regiones de Puebla, Tlaxcala y Oaxaca que se encuentre participando en el programa. Esto es mediante un algoritmo sistematizado, que inicia desde la llegada del paciente al hospital, hasta la emisión del informe de diagnóstico estandarizado al médico tratante. Esta Ruta de Atención establece una red de colaboración entre aproximadamente 50 especialistas en el área de la salud para facilitar el diagnóstico, seguimiento y estudio de la leucemia en pacientes pediátricos. El proceso inicia con la identificación de casos sospechosos por parte de hematólogos y oncólogos, seguido de la recolección de especímenes (MO, SP y O) y datos clínicos en hospitales participantes de Puebla, Oaxaca y Tlaxcala. Los especímenes de MO se transportan al laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil para el diagnóstico y posteriormente sus remanentes se procesan para luego ser almacenados junto con las muestras de SP y O para ser distribuidas a investigadores interesados en estudios sobre la leucemia (6).

La gran variedad de proyectos del PRONAI de Leucemia Infantil es la base fundamental de este necesario esfuerzo multidisciplinario para conocer más a fondo esta enfermedad, y al mismo tiempo, muestra la necesidad aumentar el número de muestras provenientes de especímenes de pacientes de leucemia infantil, que estén disponibles para investigación. Estas necesidades dan pauta para promover la generación de nuevos acervos para investigación en leucemia infantil en México.

4 Justificación

La leucemia infantil representa un desafío para la salud pública en México, teniendo una alta incidencia y mortalidad en este segmento de la población. Debido a la necesidad de comprender a fondo esta enfermedad, los investigadores enfrentan constantemente el obstáculo de no tener acceso a muestras clínicas para sus estudios. Se requiere de la generación de acervos planeados con base en las cualidades necesarias que hacen falta en una colección de este tipo en el país, realizando la importancia de que este acervo celular sea correctamente gestionado, organizado y eficiente; y que incluya diversos tipos de muestra de un mismo paciente, entre estas, es imprescindible la inclusión de CEM, cuya existencia de un

acervo de este tipo de células para estudios de leucemia infantil no se encuentra reportada en México. Es importante que estas muestras provengan de especímenes de pacientes que habiten los Estados vulnerables de la república que sean de los más afectados por esta enfermedad, y que presenten diferentes etapas del seguimiento para enriquecer los estudios en la leucemia en el país.

En este contexto, el PRONAI de Leucemia Infantil proporciona acceso a muestras de pacientes de 3 de las poblaciones más vulnerables de la república, mediante un proceso detallado de procedimientos y procesamientos para maximizar el uso de cada espécimen. La gestión eficiente de estos procesamientos es crucial para asegurar un suministro organizado de muestras, vital para impulsar la investigación. Este acervo no solo es fundamental desde el punto de vista científico, sino que también tiene un profundo impacto social, mejorando las perspectivas de salud y calidad de vida de los niños y adolescentes mexicanos afectados por esta enfermedad.

5 Planteamiento del problema

A pesar de la relevancia de investigar a la leucemia infantil, nos encontramos con el desafío de la escasa disponibilidad de muestras clínicas en México. Los remanentes de MO del diagnóstico de leucemias agudas realizado por el Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil ofrecen una solución a este problema, proporcionando acceso a muestras de los pacientes participantes, por lo que es indispensable una gestión eficaz de estos recursos para crear un acervo celular robusto, y así fortalecer la investigación sobre leucemias agudas.

6 Hipótesis científica

La correcta gestión de un acervo celular de pacientes pediátricos con diagnóstico de leucemia aguda proveerá de muestras a diferentes proyectos de investigación en leucemias agudas infantiles.

7 Objetivos

7.1 Objetivo general

Gestionar el Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil, que recopila muestras derivadas de especímenes de remanentes de médula ósea, sangre periférica y orina de pacientes pediátricos que hayan participado en los protocolos del PRONAI de Leucemia Infantil.

7.2 Objetivos particulares

- 1) Desarrollar una plataforma electrónica para el registro y la identificación eficiente de las muestras.
- 2) Conocer el comportamiento de cultivos primarios de CEM provenientes de especímenes de Leucemia Infantil.
- 3) Verificar la calidad de las muestras almacenadas por medio de pruebas de viabilidad celular.
- 4) Elaborar un informe detallado sobre los costos de los insumos utilizados para el acervo celular.
- 5) Identificar los procedimientos de funcionamiento del acervo celular con el fin de apoyar la investigación biomédica.

8 Material y métodos

8.1 Diseño del estudio

El presente proyecto se cataloga como descriptivo, longitudinal, observacional y con temporalidad prospectiva.

8.2 Ubicación espacio temporal

El presente proyecto se realizó en el Laboratorio de Oncoinmunología y el Laboratorio de Citómica del el Cáncer Infantil del CIBIOR, que se encuentra en las instalaciones del Hospital General de Zona 05 IMSS, Metepec, Atlixco, Puebla.

Se incluyen muestras obtenidas de los especímenes proporcionados por la Ruta de Atención del PRONAI de Leucemia Infantil, procesadas y almacenadas en el Laboratorio de Oncoinmunología y Citómica del Cáncer Infantil del CIBIOR en Puebla y Laboratorio Juárez en Oaxaca en el periodo de tiempo de mayo de 2021 hasta mayo de 2023. Se incluyen las muestras provenientes de especímenes de los

hospitales en Puebla, Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades "Dr. Manuel Ávila Camacho" Hospital del Instituto Mexicano del Seguro social (IMSS), Hospital para el Niño Poblano (HNP), el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado de Puebla (ISSSTEP) y el Hospital General del Sur. En Tlaxcala, el Hospital Infantil de Tlaxcala (HIT). En Oaxaca, el Hospital de la Niñez Oaxaqueña (HNO) del Instituto de Salud para el Bienestar (INSABI), y el Hospital General de Zona No. 1 (HGZ01) IMSS Oaxaca.

8.3 Estrategia de trabajo

Todas las muestras son almacenadas a -80°C y son registradas en una bitácora de almacenamiento, esta información de almacenamiento será posteriormente registrada en la Plataforma de Registro de Almacenamiento, que fue desarrollada para contar con una plataforma electrónica para el registro y la identificación eficiente de las muestras almacenadas. Todos los procedimientos de procesamiento y almacenamiento son realizados por el personal capacitado del Laboratorio de Oncoinmunología. También se desarrolló la Plataforma de Seguimiento de CEM para crear un registro digital en tiempo real de la supervisión de los cultivos en donde se registre la información de la muestra, el crecimiento celular y las características del cultivo. Para garantizar la calidad de las muestras almacenadas, se descongeló una serie de muestras representativas y se evaluó la viabilidad celular por medio del método de exclusión de colorante azul tripán. Para garantizar la sustentabilidad económica del acervo, se llevó a cabo un informe detallado en los costos del consumo de insumos utilizados para los procedimientos de procesamiento de especímenes y almacenamiento de las muestras. Por último, para cumplir el objetivo del acervo de apoyar la investigación biomédica, se desarrollaron los procedimientos de funcionamiento del acervo celular, de manera que se puedan ceder las muestras almacenadas, y bases de datos con la información relevante de la muestra de manera eficiente. Esta estrategia de trabajo se encuentra ilustrada en la **Figura 6**.

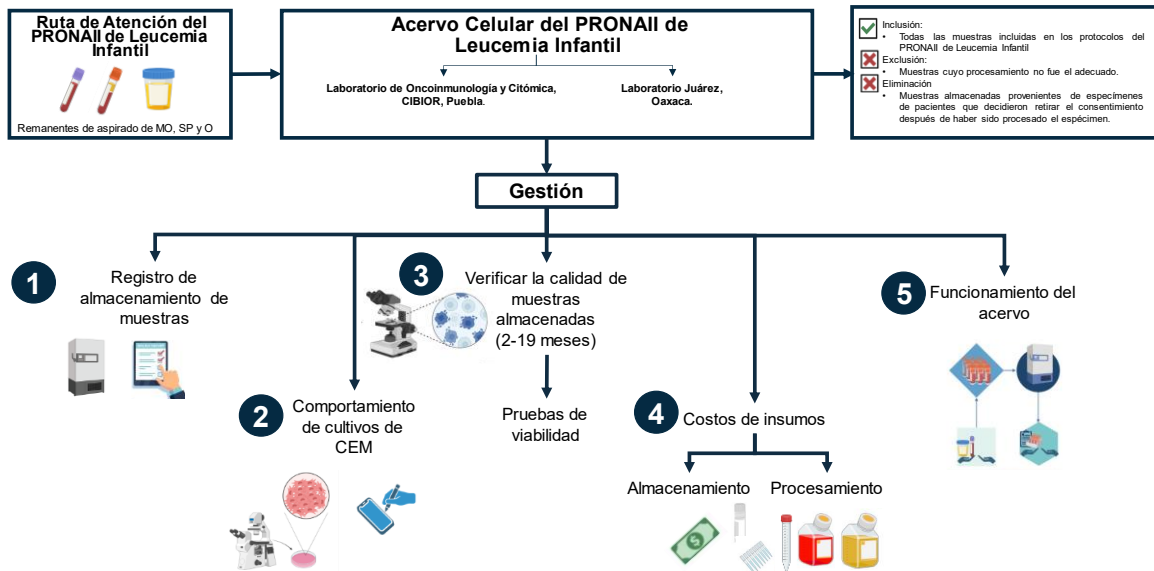


Figura 6. Estrategia de trabajo de los procesos de gestión del acervo celular del PRONAI de Leucemia Infantil. El Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil se enriquece de diversas muestras obtenidas a través del procesamiento de especímenes provenientes de la Ruta de Atención del PRONAI de Leucemia Infantil, almacenados en el Laboratorio de Oncoinmunología y Citómica del Cáncer Infantil, CIBIOR, Puebla; y Laboratorios Juárez, Oaxaca. El acervo debe de ser correctamente gestionado, para esto, fue necesario cumplir con aspectos importantes, como tener una correcta gestión del almacenamiento de muestras, y monitoreo de los cultivos primarios de CEM, para el cumplimiento de estos puntos, se desarrolló plataformas digitales para el registro en línea. Otro punto importante es verificar la calidad de las muestras almacenadas, por lo que se realizó pruebas de viabilidad para aquellas muestras que requieran de células viables. También, se realizó la gestión de los recursos económicos necesarios en los procesos de procesamiento y almacenamiento utilizados para el acervo. Por último, se llevó a cabo la identificación de los procesos necesarios para el funcionamiento del acervo y llevar a cabo la cesión de las muestras almacenadas en el acervo hacia los investigadores, con el objetivo de apoyar la investigación en la leucemia en el país.

8.4 Muestreo

8.4.1 Definición de la población

El proyecto cuenta con dos poblaciones diferentes:

- Casos: Muestras obtenidos de especímenes de remanentes de aspirado de MO, SP, y O, provenientes de pacientes pediátricos con diagnóstico de leucemia, que aceptaron participar en el PRONAI de Leucemia.

- Controles: Muestras obtenidas de especímenes de SP y O provenientes de niñas, niños y adolescentes que no presentan diagnóstico de leucemia, estos especímenes pertenecen al protocolo de “Epidemiología y supervivencia de las leucemias agudas en niños de zonas marginadas de México (303019)” perteneciente al PRONAI de Leucemia Infantil.

8.4.2 Selección de la muestra

Debido a que el objetivo de este proyecto es la gestión del acervo, las muestras que componen este biorepositorio se clasificarán de la manera descrita a continuación:

- Muestras provenientes de especímenes de remanentes de aspirado de MO, obtenidos de casos, que posteriormente fueron reclutados y procesados por el Laboratorio de Oncoinmunología para obtener estas muestras, que fueron almacenadas a -80°C .
- Muestras provenientes de especímenes de SP, obtenidos de casos o controles, que posteriormente fueron reclutados y procesados por el Laboratorio de Oncoinmunología para obtener estas muestras, que fueron almacenadas a -80°C .
- Muestras provenientes de especímenes de O, provenientes de casos o controles, que posteriormente fueron reclutados por el Laboratorio de Oncoinmunología y directamente fueron almacenados a -80°C .

8.4.3 Criterios de selección de la muestra

8.4.3.1 Criterios de inclusión

- Todas las muestras incluidas en los protocolos del PRONAI de Leucemia Infantil

8.4.3.2 Criterios de exclusión

- Muestras cuyo procesamiento no fue el adecuado.

8.4.3.3 Criterios de eliminación

- Muestras almacenadas provenientes de especímenes de pacientes que decidieron retirar el consentimiento después de haber sido procesado el espécimen.

8.4.4 Diseño y tipo de muestreo

Este proyecto presenta un muestreo no probabilístico e intencional, ya que se incluyeron todas las muestras que cumplieron con los criterios de inclusión.

8.4.5 Tamaño de la muestra

Se incluyeron todas las muestras que cumplían con los criterios de inclusión establecidos dentro del período de tiempo de mayo de 2021 hasta mayo de 2023, almacenados en el Laboratorio de Oncoinmunología y Laboratorios Juárez, Oaxaca.

8.5 Definición de las variables y escalas de medición

Para el proyecto se definieron las siguientes variables

- Tipo de espécimen: Escala de medición nominal, se clasifican según su origen biológico en remanentes de aspirado de MO, SP y O.
- Tipo de leucemia: Escala de medición nominal, asignado con base en el resultado de la prueba diagnóstica realizada en el Laboratorio de Citómica del cáncer Infantil. Las categorías son LLA, LMA o No LA.
- Seguimiento de la enfermedad: Escala de medición nominal, refleja la etapa de la leucemia representada por el espécimen de MO remanente, pudiendo ser al inicio de la enfermedad (Debut) o en seguimiento de la EMR.
- Muestra: Se identifica la muestra obtenida después del procesamiento del espécimen mediante una escala nominal. Las posibilidades incluyen: CEM, CMN, L, L-RLT, L-SB, O, MOT y P.
- Procedencia del espécimen: Con una escala nominal, se registra la procedencia geográfica del espécimen, especificando el nombre y la ubicación del hospital de origen, así como el Estado de donde proviene.

8.6 Método de recolección de datos

Con ayuda de formularios de Google se dispuso de información en tiempo real en hojas de cálculo de Google y se logró crear las bases de datos utilizadas en este proyecto, cuyos métodos de recolección de datos se explican a continuación.

1. Base de Datos de Almacenamiento. Esta base de datos almacena la información de almacenamiento de las muestras, así como la información clínica referente al espécimen del que provienen.

2. Base de Datos de Seguimiento de CEM: Se registró la información obtenida a partir de los datos obtenidos del monitoreo de CEM.
3. Base de Datos de Cesión de Muestras del Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil: Esta base de datos registra las muestras cedidas a los diferentes investigadores, así como la información clínica referente al espécimen del que provienen.

8.7 Técnicas y procedimientos

La metodología se abarcará de acuerdo con los objetivos planteados en este proyecto de tesis.

8.7.1 Desarrollar una plataforma electrónica para el registro y la identificación eficiente de las muestras almacenadas.

8.7.1.1 Desarrollo de la Plataforma de Registro de Almacenamiento

1. Se accedió a la página principal de Google Drive a través del correo de Gmail que se utilizó para administrar la información de la Base de Datos de Almacenamiento.
2. Se seleccionó la opción de Nuevo – Formularios de Google – Formulario en Blanco para comenzar.
3. Se ingresó el nombre del formulario en el título y se agregó la descripción.
4. Se utilizó la opción de “Agregar pregunta” para ingresar los 14 apartados de opción múltiple o complementación necesarios para permitir registrar la información referente al espécimen, incluyendo los siguientes puntos:
 - 1) Institución de donde se procesa el espécimen
 - 2) Tipo de leucemia referente al espécimen
 - 3) Tipo de ingreso del espécimen
 - 4) Fecha de almacenamiento de la muestra procesada
 - 5) Número de folio PRONACE referente al espécimen del paciente
 - 6) Iniciales del paciente, empezando por el apellido paterno
 - 7) Tipo de espécimen
 - 8) Tipo de muestra
 - 9) Estado de procedencia

- 10) Código de la muestra escrito en el criovial
- 11) Viabilidad (%)
- 12) Nombre de la caja de almacenamiento
- 13) Coordenadas de almacenamiento de la muestra en la caja
- 14) Comentarios

8.7.1.2 Vincular Plataforma de Registro de Almacenamiento a una Hoja de Cálculo.

1. Se ingresó a la interfaz de edición, siguiendo la ruta Respuestas – Vínculo a Hojas de cálculo – Crear una nueva hoja de cálculo. De esta manera, se creó una Base de Datos de Almacenamiento.

8.7.1.3 Compartir Plataforma de Registro de Almacenamiento

1. Se seleccionó la opción de Enviar – Enviar por – Vincular, lo que brindó un enlace para que el formulario sea compartido con el personal.

8.7.2 Conocer el comportamiento de cultivos primarios de CEM provenientes de especímenes de Leucemia Infantil.

8.7.2.1 Desarrollo de la Plataforma de Seguimiento del crecimiento de CEM

1. Se desarrolló un formulario con una descripción.
2. Utilizando la opción de “Agregar pregunta”, se ingresó los 20 apartados de opción múltiple o complementación necesarios para permitir registrar la información de las observaciones realizadas durante la supervisión del crecimiento de los cultivos, estos apartados se enlistan a continuación:
 - a) Información del cultivo
 - 1) Tipo de leucemia referente al espécimen
 - 2) Tipo de ingreso del espécimen
 - 3) Fecha de siembra
 - 4) Número de folio PRONACE referente a la muestra del paciente
 - 5) Iniciales del Paciente, empezando por el apellido paterno

- 6) Institución de Procedencia
- 7) Número de Placa
- 8) Número de Pase
- b) Observaciones
 - 9) Presencia de estrés
 - 10) Presencia de vacuolas
 - 11) Presencia de Desechos
 - 12) Contaminación
 - 13) Células no adheridas
 - 14) Crecimiento
 - 15) Morfología
 - 16) Fotografía de la morfología celular
- c) Toma de Decisiones
 - 17) Hacer siguiente pase
 - 18) Crioconservar
 - 19) Cultivo Eliminado
 - 20) Comentarios

8.7.2.2 Vincular Plataforma de Registro de Almacenamiento a una Hoja de Cálculo.

1. Se siguió la ruta Respuestas – Vínculo a Hojas de cálculo – Crear una nueva hoja de cálculo para crear la Base de Datos de Seguimiento de CEM.

8.7.2.3 Compartir Plataforma de Seguimiento del crecimiento CEM

1. Se seleccionó la opción de Enviar – Enviar por – Vincular, lo que brindó un enlace para que el formulario sea compartido con el personal.

8.7.2.4 Protocolo de seguimiento de crecimiento de CEM

1. Mediante el uso del microscopio invertido, se realizó el monitoreo de las placas de cultivo de CEM y se contestó el formulario de acuerdo con los apartados de:

- a) Información del cultivo: Incluye el folio PRONACE, institución de procedencia, iniciales del paciente, fecha de siembra, seguimiento, número de placa de cultivo, número de pase del cultivo.
- b) Observaciones: Incluye el porcentaje de confluencia observada, morfología, presencia de estrés, vacuolas, desechos, células no adheridas, fotografía del cultivo y comentarios.
- c) Toma de decisiones: Incluye la tripsinización al siguiente pase, crioconservación o eliminación del cultivo.

8.7.2.5 Cálculo de radios de crecimiento

1. Con base en los datos obtenidos de la Base de Datos de Seguimiento de Crecimiento de CEM, se seleccionó la información del porcentaje de confluencia de los cultivos que fueron tripsinizados en P0 a P1 y la fecha de siembra del cultivo.
2. Se escogió una cohorte de cultivos representativos para cada paciente y su seguimiento, correspondiendo a LLA – Debut, LLA – EMR, LMA – Debut, LMA – EMR y a No LA.
3. Se calculó el radio de crecimiento de los cultivos, dividiendo el porcentaje de confluencia en la placa al momento de ser tripsinizada, entre el tiempo en días que tardó el cultivo en llegar a ese determinado porcentaje de confluencia, como se muestra en la siguiente fórmula.

$$C = \frac{A}{B}$$

A = Porcentaje de confluencia (%) en la placa

B = Tiempo (días) que duró el cultivo desde su siembra

C = Radio de crecimiento

8.7.3 Verificar la calidad de las muestras almacenadas por medio de pruebas de viabilidad celular

8.7.3.1 Tinción por exclusión de colorante azul tripán

1. Utilizando la Base de Datos de Almacenamiento, se seleccionó aleatoriamente una muestra que haya sido almacenada desde 53 hasta 583

días, cuya viabilidad celular pueda ser cuantificada, estas muestras son CMN, CEM, L, y MOT.

2. Una vez ubicada la muestra, se realizó el descongelamiento utilizando un baño María a 37°C y 2 lavados con 7 mL de medio DMEM para limpiar el DMSO de la muestra y resuspender en 1 mL de medio.
3. Tomar una alícuota de la muestra y proceder a hacer la tinción por exclusión de colorante azul tripán en una relación 1:1.
4. Con el uso de un microscopio y una cámara de Neubauer, se realizó el conteo celular. Las células comprometidas se tiñeron de azul, mientras que las células viables no adquirieron colorante.
5. Se calculó el porcentaje de viabilidad de las células por medio de la siguiente fórmula:

$$F = \frac{D}{E} \times 100$$

D = Número de células vivas contadas

E = Total de células (vivas y muertas)

F = Viabilidad (%)

8.7.4 Elaborar un informe detallado sobre los costos de los insumos utilizados para el acervo celular.

8.7.4.1 Cálculo de cantidad de costo de insumos por protocolo de procesamiento y almacenamiento

1. A partir de los protocolos de procesamiento de especímenes y almacenamiento de muestras, se realizó un conteo del número de insumos utilizados en cada protocolo, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Cantidad de insumos utilizados en los procesos de procesamiento y almacenamiento del acervo.

Tipo de protocolo	Nombre del Protocolo	Cantidad de insumos utilizados
Procesamiento	Aislamiento de L	<ul style="list-style-type: none"> • 3mL de buffer de lisis • 13 mL de Solución Salina de Fosfatos (PBS) (1X) filtrado • 19 μL de líquido de Turk • 19 μL de colorante azul de tripán • 1 tubo estéril de 15 mL • 5 puntas estériles de 1000 μL • 2 puntas estériles de 200 μL • 2 puntas estériles de 10 μL
Procesamiento	Aislamiento de CMN	<ul style="list-style-type: none"> • 3mL de reactivo Ficoll-Paque • 7 mL de PBS (1X) filtrado • 2 mL de medio DMEM adicionado con 10% de suero fetal bovino (SFB) y 1% de antibiótico-antimicótico, filtrado. • 19 μL de líquido de Turk • 19 μL de colorante azul de tripán • 2 pipetas serológicas estériles de 10 mL • 2 tubos estériles de 15 mL • 7 puntas estériles de 1000 μL • 2 puntas estériles de 200 μL • 2 puntas estériles de 10 μL • 2 espacios para sembrar en microplaca estéril de 24 pozos
Procesamiento	Cultivo y recolección de CEM	<ul style="list-style-type: none"> • 61 mL de medio DMEM adicionado con 10% de suero fetal bovino (SFB) y 1% de antibiótico-antimicótico, filtrado. • 4 mL de tripsina • 2 mL de PBS (1X) filtrado

		<ul style="list-style-type: none"> • 14 puntas estériles de 1000 µL • 2 puntas estériles de 200 µL • 1 placa estéril de 100 mm
Almacenamiento	Almacenamiento con SFB	<ul style="list-style-type: none"> • 450 µL de SFB • 50 µL de DMSO • 1 criovial • 1 espacio en la caja para crioconservar
Almacenamiento	Almacenamiento con RLT	<ul style="list-style-type: none"> • 500 µL de buffer RLT • 1 criovial • 1 espacio en la caja para crioconservar
Almacenamiento	Almacenamiento sin buffer	<ul style="list-style-type: none"> • 1 criovial • 1 espacio en la caja para crioconservar

2. Utilizando la lista de costos de los insumos, se calculó el recurso monetario necesario para realizar cada protocolo multiplicando la cantidad del insumo necesaria por el costo unitario del producto, para realizar el análisis de los costos se omiten el recurso utilizado en personal, luz eléctrica, equipos, e infraestructura.
3. Con base en la cantidad de recurso necesario para los protocolos de procesamiento, almacenamiento, y en el número total de muestras almacenadas, calcular un aproximado del costo total de insumos utilizados para el funcionamiento del acervo utilizando la siguiente fórmula:

$$K = \left(\frac{G}{H} + I \right) * J$$

G = Costo de procesamiento de la muestra

H = Cantidad de componentes obtenidos por procesamiento

I = Costo de almacenamiento

J = Cantidad total de componentes almacenados en el acervo

K = Costo total de insumos utilizados en almacenamiento y procesamiento

8.7.5 Identificar los procedimientos de funcionamiento del acervo celular con el fin de apoyar la investigación biomédica

8.7.5.1 Desarrollo del Sistema de Gestión

El sistema de gestión implementado se planificó con base en la Norma ISO 9001, recomendada para la gestión de biobancos por la ISBER, que consistió en:

1. Contar con un responsable de la dirección: Fue necesario contar con un directivo que determine los objetivos y la toma de decisiones del acervo celular. En este caso, se contó con una responsable técnica, la Dra. Rosana Pelayo Camacho, y la responsable de los procesos, la Dra. Diana Casique Aguirre.
2. Gestión de los recursos: El responsable de dirección se encargó de la gestión de recursos financieros y humanos necesarios para llevar a cabo las funciones del acervo.
3. Un proceso de reclutamiento, procesamiento de especímenes, y almacenamiento y redistribución de muestras: Esta parte del proceso incluyó todas las actividades que abarcan los procedimientos del acervo. El Laboratorio de Oncoinmunología cuenta con procedimientos estandarizados para el procesamiento de especímenes y almacenamiento de muestras, los cuales son los siguientes:
 - Recuperación de Sangre Total
 - Aislamiento de plasma sanguíneo
 - Obtención de CMN por gradiente de densidad
 - Lisis de eritrocitos para obtención de leucocitos totales
 - Etiquetado
 - Registro de Almacenamiento
 - Seguimiento de CEM
4. Un proceso de medición y análisis: Esta parte incluyó las mediciones de los datos que pueden ser obtenidos de los resultados de las actividades del acervo. Con base en los datos obtenidos del registro de almacenamiento, se

graficó la información de las muestras almacenadas de acuerdo con su tipo de espécimen, tipo de muestra, Estado de procedencia, así como la identificación de cada paciente diferente por medio del rastreo de su número de folio PRONACE. Con base en la información de la base de datos de seguimiento de los cultivos de CEM, se graficó las características e indicadores de crecimiento presentados en los cultivos monitoreados.

5. Para la gestión de salida de muestras, se considera la entrada a este proceso, las solicitudes de las muestras de interés por parte del investigador y como salida del proceso se otorgan aquellas muestras aptas para el proyecto de investigación, una hoja técnica, copia del reporte de entrega y una hoja de datos con información de los especímenes de los que proviene la muestra, obtenida de la Base de Datos de Cesión de Muestras del Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil, creada con la información de las muestras cedidas a los investigadores, obtenida de la Base de Datos de Almacenamiento.

8.7.5.2 Gestión de salida de muestras

En lo que respecta a la gestión de salida de muestras, se identificaron los siguientes procedimientos:

1. El investigador realizó una solicitud al correo del responsable de la dirección del acervo, detallando las especificaciones de las muestras requeridas para su proyecto, las cuales pueden ser:
 - a. Tipo de espécimen necesitada (O, SP o MO).
 - b. Tipo de Leucemia o control requerido (LLA, LMA o subtipo específico).
 - c. Número de folio PRONACE, solo si es que el investigador contara con este dato.
 - d. Tipo de muestras requeridas.
2. Utilizando la Base de Datos de Almacenamiento, se realizó una búsqueda catalogada de la disponibilidad de las muestras en el acervo que coincidan con los criterios especificados por el investigador solicitante.

3. Se generó una Base de Datos de Cesión de Muestras del Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil con la información de ubicación de las muestras, así como los datos referentes a los especímenes. Después, las muestras seleccionadas fueron preparadas en cajas para su envío.
4. Se coordinó con el investigador solicitante la fecha de entrega y los requerimientos para el empaquetamiento en hielo seco del envío que el transportista debe cumplir.
5. El día de la entrega, se proporcionó al transportista de los siguientes productos:
 - a. Muestras solicitadas
 - b. Hoja de datos con la información de ubicación de las muestras, así como los datos referentes a los especímenes de los que provienen.
 - c. Copia de reporte de entrega
 - d. Hoja técnica
6. Se llevó a cabo un punto de control con el transportista, verificando la cantidad de crioviales y su concordancia con la hoja de datos, y se procede con la movilización de las muestras.
7. El investigador confirma el recibido de las muestras solicitadas a través del mismo canal de comunicación utilizado para la solicitud.

8.8 Análisis de datos

El software Prisma Graph Pad 6.0 se utilizó para realizar análisis de datos estadísticos.

8.9 Diseño estadístico

Se usó la prueba de ANOVA de una vía para comparar las medias de tres o más grupos independientes con respecto a una variable continua para determinar si existe una diferencia significativa entre las medias de los grupos.

9 Resultados

Los resultados de este proyecto de tesis serán abarcados de acuerdo con los objetivos.

9.1 Plataforma electrónica para el registro e identificación de muestras del Acervo Celular

Objetivo específico 1, Desarrollar una plataforma electrónica para el registro y la identificación eficiente de las muestras almacenadas.

Se puso en marcha a Plataforma de Registro de Almacenamiento del Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil (**Figura 7**), que permitió el registro e identificación eficiente de muestras biológicas almacenadas. Esta plataforma permitió generar una base de datos, con la cual se logró cuantificar y dar seguimiento a las muestras almacenadas, además de permitir identificar y localizar muestras de interés de acuerdo con las diversas características que permitió registrar la plataforma. Gracias a los datos cuantificados, es posible saber que, desde Marzo de 2022 a Mayo de 2023, el Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil contó con un total de 4920 muestras de 402 individuos diferentes.

Plataforma de Registro de Almacenamiento del Acervo Celular del Proyecto Nacional de Investigación e Incidencia (PRONAI) de Leucemia Infantil

Instituto Mexicano del Seguro Social, CIBIOR, Puebla
Formulario creado por Pedro Alberto Gaspar Mendoza
Dra. Rocana Pelayo Camacho
Dra. Diana Castique Aguirre
Responsable de la Base de Datos: Diana Castique Aguirre

<p>1. Institución de donde se procesa el espécimen *</p> <p><input type="radio"/> CIBIOR</p> <p><input type="radio"/> Laboratorio Juárez</p>	<p>8. Tipo de Muestra *</p> <p><input type="radio"/> Leucocitos</p> <p><input type="radio"/> Leucocitos RLT</p> <p><input type="radio"/> Leucocitos SB</p> <p><input type="radio"/> Mononucleares</p> <p><input type="radio"/> CEM</p> <p><input type="radio"/> Orina</p> <p><input type="radio"/> Plasma</p> <p><input type="radio"/> Sangre Total</p> <p><input type="radio"/> Suero</p> <p><input type="radio"/> RNA</p>
<p>2. Tipo de Leucemia referente al espécimen</p> <p><input type="radio"/> LLA</p> <p><input type="radio"/> LMA</p> <p><input type="radio"/> No LA</p> <p><input type="radio"/> Control Poblacional</p>	<p>9. Estado de Procedencia *</p> <p><input type="radio"/> Puebla</p> <p><input type="radio"/> Oaxaca</p> <p><input type="radio"/> Tlaxcala</p>
<p>3. Tipo de Ingreso del espécimen</p> <p><input type="radio"/> Debut</p> <p><input type="radio"/> EMR</p> <p><input type="radio"/> Control Poblacional</p>	<p>10. Código de la muestra escrito en el críoval *</p> <p>Tu respuesta _____</p>
<p>4. Fecha de almacenamiento de la muestra procesada</p> <p>Fecha</p> <p>dd/mm/aaaa 📅</p>	<p>11. Viabilidad (%)</p> <p>Tu respuesta _____</p>
<p>5. Número de Folio PRONACE referente al espécimen del paciente *</p> <p>Tu respuesta _____</p>	<p>12. Nombre de la caja de almacenamiento *</p> <p>Tu respuesta _____</p>
<p>6. Iniciales del paciente, empezando por el apellido paterno *</p> <p>Tu respuesta _____</p>	<p>13. Coordenadas de almacenamiento de la muestra en la caja *</p> <p>Tu respuesta _____</p>
<p>7. Tipo de Especimen *</p> <p><input type="radio"/> MO</p> <p><input type="radio"/> O</p> <p><input type="radio"/> SP</p>	<p>14. Comentarios</p> <p>Tu respuesta _____</p>

Figura 7. *Plataforma de Registro de Almacenamiento.* Se añadió una descripción para presentar a la plataforma y se registró la información clínica del espécimen, como la Institución de procesamiento, tipo de leucemia, tipo de ingreso del espécimen, fecha de almacenamiento, número de folio PRONACE, iniciales del paciente, tipo de espécimen, tipo de muestra, Estado de

procedencia, código de la muestra, viabilidad, nombre de la caja, coordenadas de almacenamiento y comentarios.

La composición del acervo se distribuyó en un 48% (n=2345) de muestras correspondientes a especímenes provenientes de un hospital participante ubicado en el Estado de Puebla, mientras que un 44% (n=2171) provino de Oaxaca y un 8% (n=404) fue de Tlaxcala (**Figura 8A**).

En cuanto al tipo de espécimen, esta colección se compuso principalmente de muestras provenientes de remanentes de aspirado de MO, las cuales representaron el 72% (n=3526) del total almacenado, también se observó un 24% correspondiente a especímenes de SP (n=1177), mientras que los de O constituyeron la proporción más reducida, con un 4% (n=217) (**Figura 8B**). El acervo celular del PRONAI de Leucemia Infantil recibió principalmente especímenes de remanentes de MO provenientes del Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil, es debido a esto que hay una mayor cantidad de muestras provenientes de este tipo de espécimen, pero también se reciben SP y O, destinados para proyectos específicos.

A partir de marzo de 2022, hasta mayo de 2023, mensualmente se estuvieron almacenando un promedio de 272 muestras por mes (**Figura 8C**). Durante ese periodo de tiempo, el mes con la mayor cantidad de muestras almacenadas en el acervo fue octubre de 2022, representando el 9.9% (n=487) del total. Por otro lado, enero de 2023 fue el mes con la menor cantidad de muestras almacenadas, con apenas el 2.7% (n=136). Octubre de 2022 también se destacó por tener el mayor almacenamiento de muestras provenientes de MO, representando el 12.3% (n=433) del total de muestras de MO almacenadas en el acervo. En contraste, enero de 2023 tuvo el menor almacenamiento de muestras provenientes de MO, con solo el 1.9% (n=95) del total. En cuanto a las muestras provenientes de SP, el mes de marzo de 2022 fue el que tuvo el mayor almacenamiento, con el 13.8% (n=163) del total de SP. En cambio, septiembre de 2022 fue el mes con el menor almacenamiento de muestras de SP, con solo el 2.5% (n=29). En el caso de las muestras de O, mayo de 2023 destacó por tener la mayor cantidad almacenada, conformando el 23% (n=50) del total de muestras de O. Por otro lado, los meses de julio, noviembre y

diciembre de 2022 tuvieron la menor cantidad de muestras de O almacenadas, con un 1.4% (n=3) cada uno.

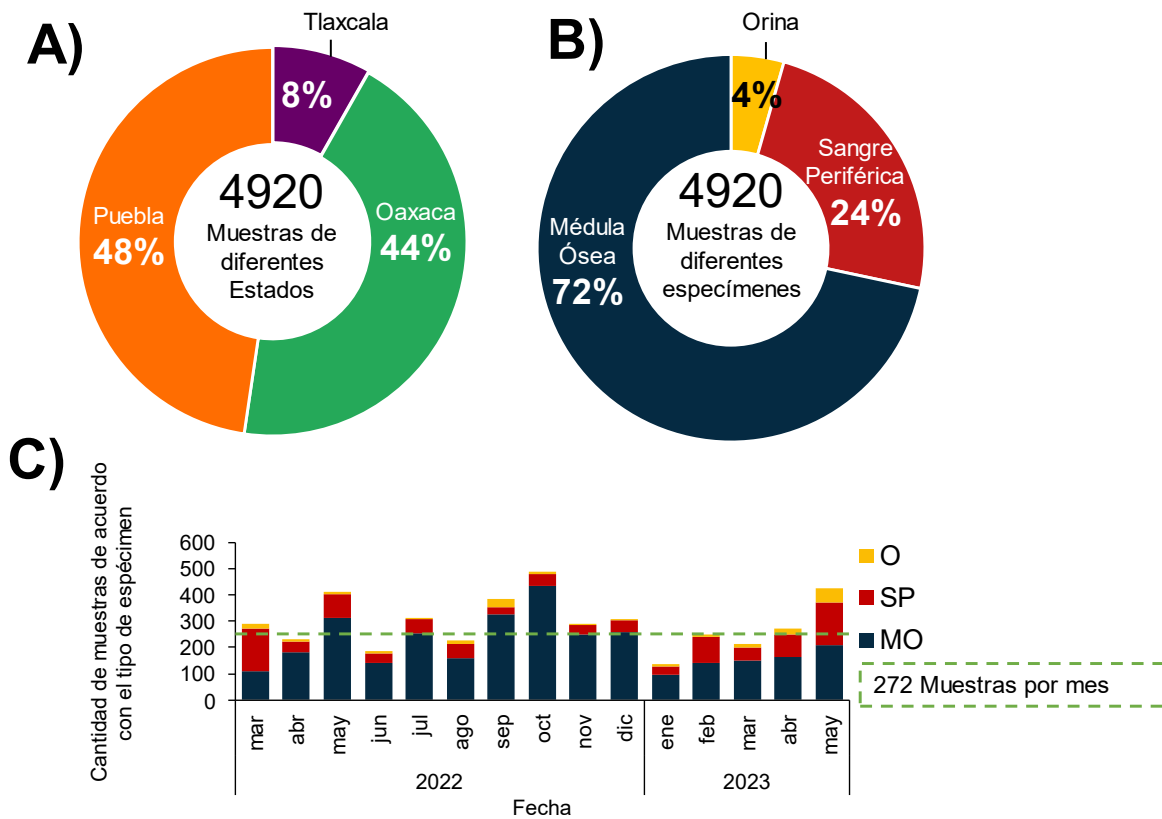


Figura 8. Muestras almacenadas en el Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil. A) Número de muestras almacenadas en el acervo, organizados de acuerdo con su Estado de procedencia. B) Número de muestras almacenadas en el acervo celular del PRONAI de Leucemia Infantil organizados de acuerdo con su tipo de espécimen. C) Número de muestras almacenadas en el acervo celular del PRONAI de Leucemia Infantil organizados de acuerdo con el mes de almacenamiento y tipo de espécimen. *Puebla (naranja), Oaxaca (verde), Tlaxcala (morado), MO: Médula ósea (azul marino), SP: Sangre periférica (rojo), O: Orina (amarillo).

De los 3 tipos de especímenes diferentes que almacena el acervo, se llegó a obtener hasta 10 tipos de muestras distintas (**Figura 9**). Se almacenó un total de 5 muestras diferentes provenientes de especímenes de MO, y de las 3526 muestras de MO almacenadas, los Leucocitos representaron la mayor parte, siendo el 42.8% (n=1512), además, los leucocitos son almacenados de 3 maneras distintas, siendo un 54% (n=820) L-SFB, un 23% (n=349) L-RLT, y un 23% (n=343) por L-SB. En

cuanto al resto de total de muestras de MO, un 22.4% (n=789) correspondió a CMN, un 20% (n=704) a P, un 9.4% (n=332) a CEM, un 5.4% (n=189) a MOT.

De los especímenes de SP, fue posible obtener hasta 4 tipos de muestras diferentes. De las 1177 muestras de SP almacenadas, los Leucocitos fueron también la mayor parte, siendo un 42% (n=499), que fueron almacenados un 49% (n=245) como L-SFB, un 47% (n=232) como L-RLT y un 2% (n=22) como L-SB. Del resto de muestras de SP, el Suero representó un 35% (n=411), de las cuales, un 69% (n=283) de estas fueron muestras obtenidas de especímenes de casos y un 31% (n=128) de especímenes de control poblacional; por último, también se obtuvo un 1% (n=7) de CMN. En el caso de los especímenes de O, fueron almacenadas 217 muestras, de las cuales, un 64% (n=138) corresponde a casos, mientras que un 36% (n=79) a control poblacional.

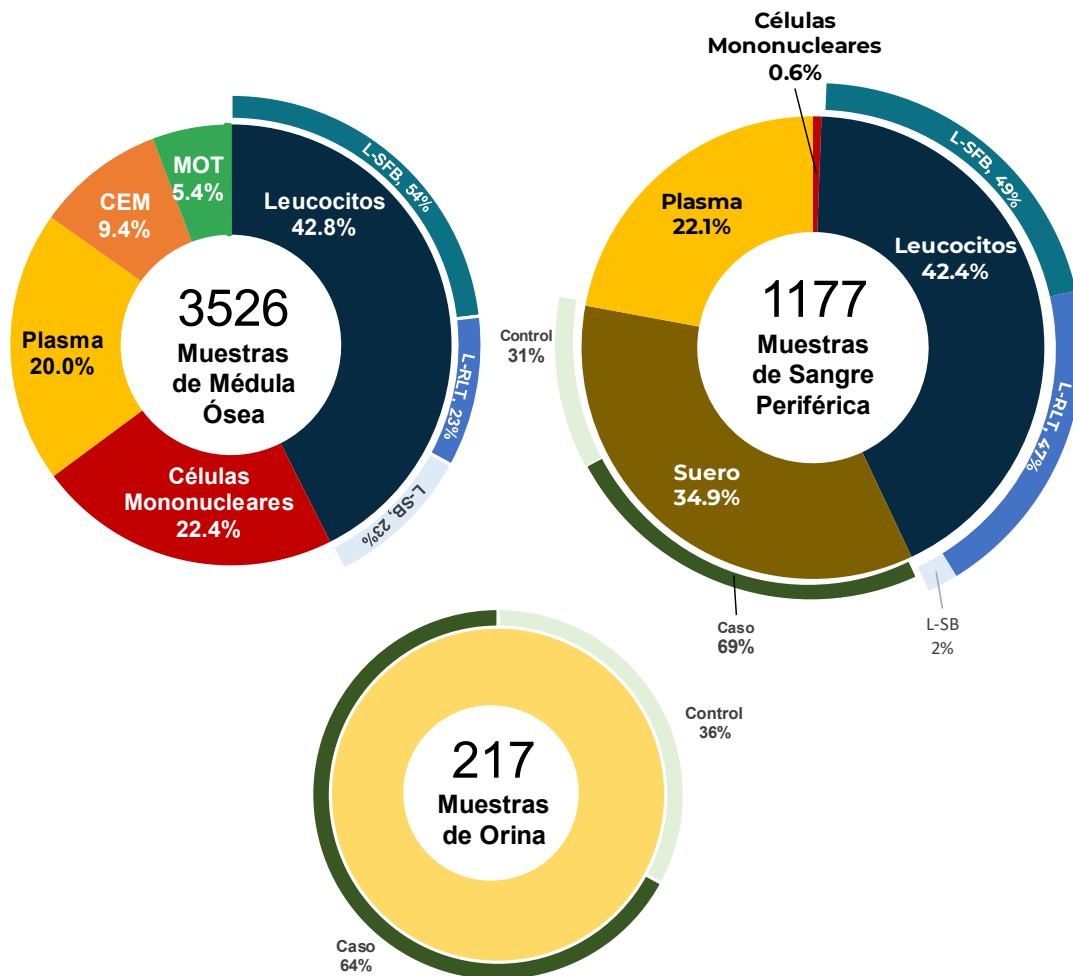


Figura 9. Muestras almacenadas en el acervo. Número de muestras almacenadas en el Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil, organizados de acuerdo con su tipo de espécimen, y tipo de muestra almacenada. *Leucocitos: azul oscuro; L-SFB (Leucocitos almacenados en Suero Fetal Bovino): Azul rey; L-RLT (Leucocitos almacenados en RLT): azul marino; L-SB (Leucocitos almacenados sin buffer): Azul cielo; Mononucleares: rojo; Plasma: amarillo; CEM (Células Estromales Mesenquimales): naranja; MOT (Médula Ósea Total): verde; RNA: café; Mononucleares-SB (Mononucleares almacenados sin buffer): rosa; Suero: marrón; Orina: amarillo claro; Caso: verde oscuro; Control: gris.

El acervo de CEM del PRONAI de Leucemia contó con 332 muestras de 105 pacientes diferentes. De estos pacientes, un 72.4% (n=76%) correspondió a aquellos con especímenes de LLA, de estos, un 42.1% (n=32) incluyó pacientes con únicamente especímenes de su Debut, un 44.7% (n=34) a pacientes con sólo EMR y un 13.2% (n=10) incluyó pacientes con especímenes de ambos tipos de seguimiento. Siguiendo con el resto de los pacientes, un 11.4% (n=12) correspondió a aquellos con especímenes de LMA, de los cuales, el 50% (n=6) provino únicamente de Debut, un 41.6% (n=5) de únicamente EMR, y el 8.4% restante (n=1) a ambos tipos de seguimiento. El 16.2% (n=17) restante de los pacientes correspondió a aquellos con un diagnóstico negativo a leucemia aguda (**Figura 10A**).

En cuanto al número de muestras, el 73.8% (n=245) correspondió a aquellas provenientes de especímenes de pacientes con LLA, de las cuales, el 55.1% (n=135) fue conformado por muestras de Debut, mientras que el 44.9% (n=110) restante correspondió a EMR. Del resto de muestras de CEM almacenadas, un 13.3% (n=44) fue de LMA, del cual, un 61.4% provino de un espécimen de Debut, mientras que un 38.6% de EMR. El 13% (n=43) de muestras restantes, fue obtenido de especímenes negativos a leucemia aguda (**Figura 10B**). Se almacenó un promedio de 19.5 muestras de CEM por mes (**Figura 10C**), siendo agosto de 2022 el mes con mayor número de muestras almacenadas, con el 18.9% (n=63) del total de CEM almacenadas, y septiembre de 2022 el mes con menor número de muestras de CEM almacenados, con sólo el 0.9% (n=3) del total.

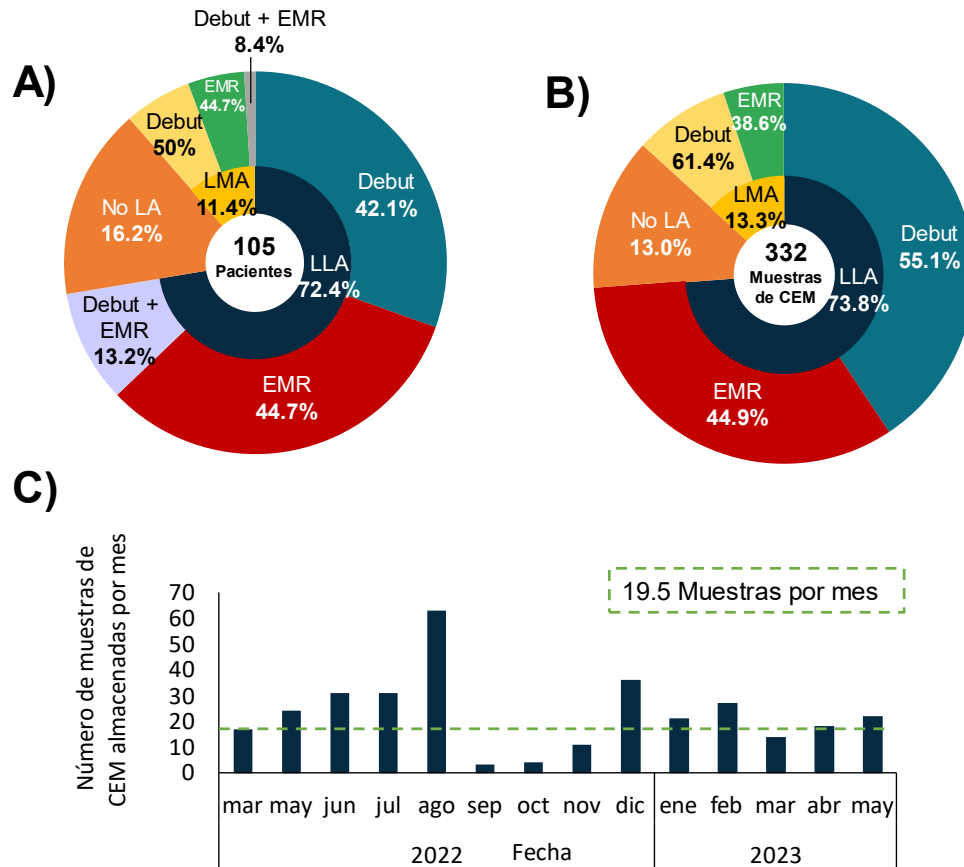


Figura 10. Tipos de leucemia de las CEM del PRONAI de leucemia infantil. Contando con 332 crioviales de 105 pacientes diferentes. A) Número de Pacientes cuyas muestras de CEM se encuentran almacenados en el acervo. B) Número de muestras de CEM almacenados en el acervo, ordenadas de acuerdo con el tipo de leucemia y tipo de seguimiento del espécimen. C) Muestras de CEM almacenados mensualmente en el acervo. *LLA: Leucemia linfoblástica aguda (azul marino), LLA – Debut: Debut de leucemia linfoblástica aguda (azul rey), LLA – EMR: Enfermedad medible residual de leucemia linfoblástica aguda (rojo), LMA: Leucemia mieloide aguda (amarillo), LMA – Debut: Debut de leucemia mieloide aguda (amarillo claro), LMA – EMR: Enfermedad medible residual de leucemia mieloide aguda (verde), No LA: Especímenes con diagnóstico negativo a leucemia (naranja).

9.2 Seguimiento de cultivos primarios de CEM provenientes de MO

Objetivo específico 2, Conocer el comportamiento de cultivos primarios de CEM provenientes de especímenes de Leucemia Infantil.

Gracias a la plataforma de seguimiento de CEM, mostrada en la **Figura 11**, se pudo llevar un registro de las características observadas durante el monitoreo del crecimiento de los cultivos primarios realizados en el laboratorio, logrando conocer que durante el periodo de la realización de este proyecto de tesis, se sembró 488 cultivos primarios en pase 0 (P0), realizando un promedio de 31.2 cultivos P0 por mes durante el periodo de tiempo estipulado. Del total de cultivos P0 sembrados, el 39.1% (n=191) logró diferenciarse de CMN a CEM, mientras que el 60.9% (n=297) restante no mostró crecimiento celular.

Para el análisis de radios de crecimiento y características morfológicas se escogió una cohorte de 117 cultivos representativos a cada paciente y su seguimiento, 42 corresponden a LLA – Debut, 44 corresponden a LLA – EMR, 8 corresponden a LMA – Debut, 6 corresponden a LMA – EMR y 17 corresponden a No LA.

Los 117 cultivos P0 tardaron un promedio de 27.2 días para diferenciarse a CEM y alcanzar el 100% de confluencia, fueron organizados en diferentes rangos según su radio de crecimiento (**Figura 12A**). Del total de cultivos, el 4.3% (n=5) presentó un rango de crecimiento entre [0,0.99], el 13.7% (n=16) entre [1,1.99], el 27.4% (n=34) entre [2,2.99], el 26.5% (n=31) entre [3,3.99], el 10.3% (n=12) entre [4,4.99], el 6.8% (n=8) entre [5,5.99], el 8.5% (n=9) entre [6,6.99], el 0.9% (n=1) entre [7,7.99] y el 0.9% (n=1) entre [9,9.99]. La media de los radios de crecimiento fue de 3.38, el valor mínimo fue de 0.55 y el valor máximo fue de 9.48.

Plataforma de Seguimiento del crecimiento CEM Proyecto Nacional de Investigación e Incidencia (PRONAI) de Leucemia Infantil

Instituto Mexicano del Seguro Social, CIBIOR, Puebla
 Hoja de Recolección de MDC
 Formulario creado por Pedro Alberto Gaspar Mendoza
 Dra. Rosana Pelayo Camacho
 Dra. Diana CastiQue Aguirre
 Responsable de la Base de Datos: Diana CastiQue Aguirre

1. Tipo de leucemia referente al espécimen
 LLA
 LMA
 No LA
 otros: _____

2. Tipo de ingreso del espécimen
 Debut
 EMR
 otros: _____

3. Fecha de siembra *
 Fecha
 dd/mm/aaaa

4. Número de folio PRONACE referente a la muestra del paciente
 Tu respuesta _____

5. Iniciales del Paciente, empezando por el apellido paterno *
 Tu respuesta _____

6. Institución de Procedencia
 Hospital de la Niñez Coahuila (HNC)
 Hospital General de Zona No. 1 (HGZD1) IMSS Coahuila
 Hospital General del Sur
 Hospital Infantil de Tlaxcala (HIT)
 Hospital para el Niño Poblano (HNP)
 Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado de Puebla (ISSSTEP)
 Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades "Dr. Manuel Ávila Camacho" Hospital del Instituto Mexicano del Seguro social (IMSS)

7. Número de Placa *
 1
 2
 Otros: _____

8. Número de Pase *
 0
 1
 otros: _____

9. Presencia de estrés *
 Si
 No

10. Presencia de vacuolas *
 Si
 No

11. Presencia de Desechos *
 Si
 No

12. Contaminación *
 Si
 No

13. Células no adheridas *
 Si
 No

14. Crecimiento *
 0%
 1-5%
 6-10%
 11-20%
 21-40%
 41-60%
 61-80%
 81-100%

15. Morfología *
 Normal
 Anormal

16. Fotografía de la morfología celular.

17. Hacer siguiente pase *
 Si
 No

18. Crioconservar *
 Si
 No

19. Cultivo Eliminado *
 Si
 No

20. Comentarios
 Tu respuesta _____

Figura 11. *Plataforma de Seguimiento de Crecimiento de CEM.* Se añadió una descripción para presentar a la plataforma. Se registró la información del cultivo (folio PRONACE, institución de procedencia, iniciales del paciente, fecha de siembra, seguimiento, número de placa de cultivo, número de pase del cultivo). Observaciones (porcentaje de crecimiento, morfología, presencia de estrés, vacuolas, desechos, células no adheridas, fotografía del cultivo y comentarios), y toma de decisiones (tripsinización al siguiente pase, crioconservación o eliminación del cultivo), esta última es de carácter opcional.

Se separaron y compararon los radios de crecimiento de acuerdo con el seguimiento de la enfermedad (**Figura 12B**). Los 42 cultivos pertenecientes a LLA - Debut se distribuyeron de la siguiente manera: el 9.5% (n=4) en el rango [0,0.99], el 16.7% (n=7) en [1,1.99], el 30.9% (n=13) en [2,2.99], el 28.6% (n=12) en [3,3.99], el 9.5% (n=4) en [4,4.99] y el 4.8% (n=2) en [6,6.99]. La media de los radios de crecimiento para este grupo fue de 2.8, el valor mínimo fue de 0.55 y el valor máximo fue de 6.97. De los 44 cultivos pertenecientes a LLA - EMR, el 14.0% (n=6) se ubicó en el rango [1,1.99], el 20.9% (n=11) en [2,2.99], el 16.3% (n=7) en [3,3.99], el 18.6% (n=8) en [4,4.99], el 9.3% (n=4) en [5,5.99], el 14.0% (n=6) en [6,6.99], el 2.3% (n=1) en [7,7.99], y el 2.3% (n=1) en [9,9.99]. La media de los radios de crecimiento para este grupo fue de 4.24, se realizó una prueba de ANOVA de una vía con $p=0.0063$, con una significancia estadística de (**) para LLA – Debut vs LLA – EMR. El valor mínimo fue de 1.1 y el valor máximo fue de 9.48.

Los 8 cultivos pertenecientes a LMA - Debut se distribuyeron de la siguiente manera: el 25% (n=2) en el rango [2,2.99], el 50% (n=4) en [3,3.99], el 12.5% (n=1) en [5,5.99] y el 12.5% (n=1) en [6,6.99]. La media de los radios de crecimiento para este grupo fue de 4.09, el valor mínimo fue de 2.26 y el valor máximo fue de 6.93. De los 6 cultivos pertenecientes a LMA - EMR, el 50.0% (n=3) se ubicó en el rango [2,2.99] y el 50.0% (n=3) en [3,3.99]. La media de los radios de crecimiento para este grupo fue de 2.75, el valor mínimo fue de 2.11 y el valor máximo fue de 3.39.

En cuanto a los 17 cultivos pertenecientes a No LA, el 6.0% (n=2) se observó en el rango [0,0.99], el 17.6% (n=3) en [1,1.99], el 29.4% (n=5) en [2,2.99], el 29.4% (n=5) en [3,3.99] y el 17.6% (n=3) en [5,5.99]. La media de los radios de crecimiento para este grupo fue de 3.12, el valor mínimo fue de 0.6 y el valor máximo fue de 5.13.

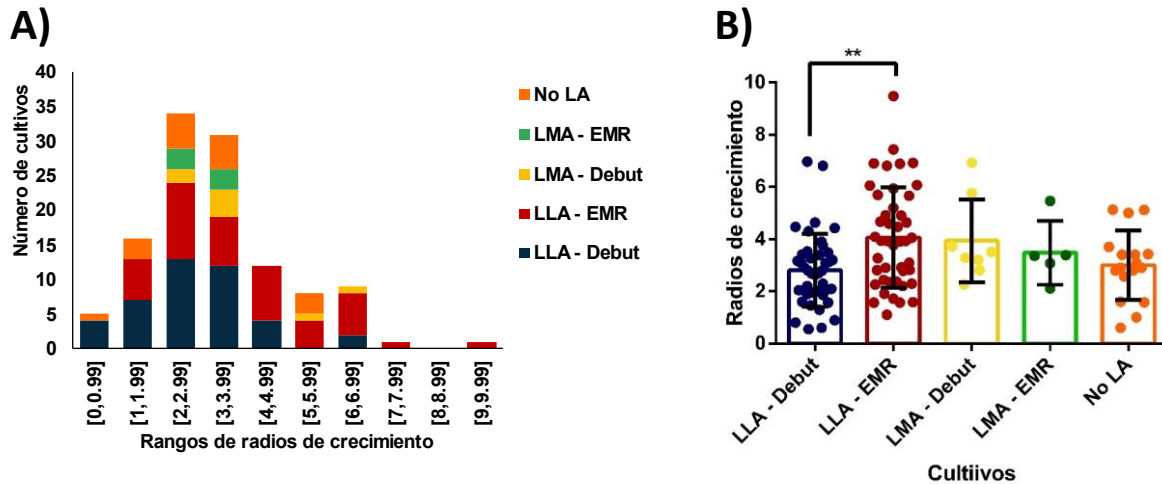


Figura 12. Radios de crecimiento en cultivos en P0. A) Número de cultivos que presentaron un radio de crecimiento ubicado entre los rangos asignados, clasificados de acuerdo con su tipo de leucemia y estadio de la enfermedad (n=117). B) Radios de crecimiento que presentaron los cultivos en P0, organizados de acuerdo con su tipo de leucemia y estadio de la enfermedad. Se colocó la desviación estándar (SD). Se realizó una prueba de ANOVA de una vía con $p=0.0063$. *LLA – Debut: Debut de leucemia linfoblástica aguda (n=42) (azul marino), LLA – EMR: Enfermedad medible residual de leucemia linfoblástica aguda (n=44) (rojo), LMA – Debut: Debut de leucemia mieloide aguda (n=8) (amarillo), LMA – EMR: Enfermedad medible residual de leucemia mieloide aguda (n=6) (verde), No LA: Especímenes con diagnóstico negativo a leucemia (naranja) (n=17).

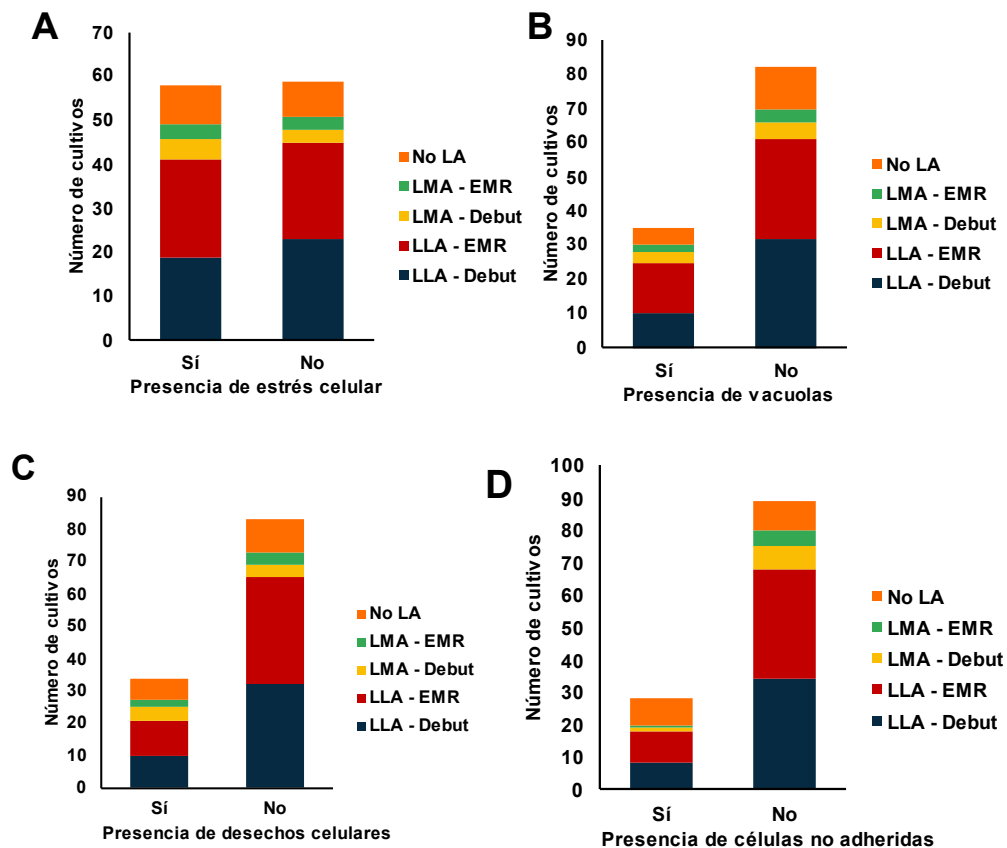
En el monitoreo de los 117 cultivos, se identificaron características de estrés celular (**Figura 13A**), observables mediante la presencia de vacuolas (**Figura 13B**), desechos celulares (**Figura 13C**), células no adheridas (**Figura 13D**) y morfología celular anormal (**Figura 13E**). Del total de cultivos, el 48.7% (n=57) presentó alguna característica de estrés celular. De estos, la presencia de vacuolas se registró en el 29.1% (n=17) de los casos, desechos celulares en el 29.1% (n=17), células no adheridas en el 23.9% (n=28), y morfología celular normal en el 85.5% (n=100), observada con morfología fibroblastoide (**Figura 13F**), por otro lado, se observó morfología anormal, alargada y ensanchada en el 14.5% (n=17) de los cultivos restantes (**Figura 13G**).

De los 42 cultivos de LLA – Debut, el 45.2% (n=19) mostró alguna característica de estrés. Entre estos, el 23.8% (n=10) presentó vacuolas, el 23.8% (n=10) desechos celulares, el 19.0% (n=8) células no adheridas y el 9.5% (n=4) morfología anormal.

En los 44 cultivos de LLA – EMR, el 50% (n=22) exhibió características de estrés. Entre ellos, el 34% (n=15) mostró vacuolas, el 4% (n=2) desechos celulares, el 22.7% (n=10) células no adheridas y el 15.9% (n=7) morfología anormal.

En cuanto a los 8 cultivos de LMA – Debut, el 50% (n=4) presentó características de estrés, de los cuales el 25% (n=2) mostró vacuolas, el 50% (n=4) desechos celulares, el 12.5% (n=1) células no adheridas y el 12.5% (n=1) morfología anormal. En los 6 cultivos de LMA – EMR, el 50.0% (n=3) presentó características de estrés, el 33.3% (n=2) mostró vacuolas, el 33.3% (n=2) desechos celulares y el 16.7% (n=1) células no adheridas.

De los 17 cultivos de No LA, el 52.9% (n=9) mostró características de estrés, el 29.4.0% (n=5) presentó vacuolas, el 41.17% (n=7) desechos celulares, el 47.1% (n=8) células no adheridas y el 29.4% (n=5) morfología anormal.



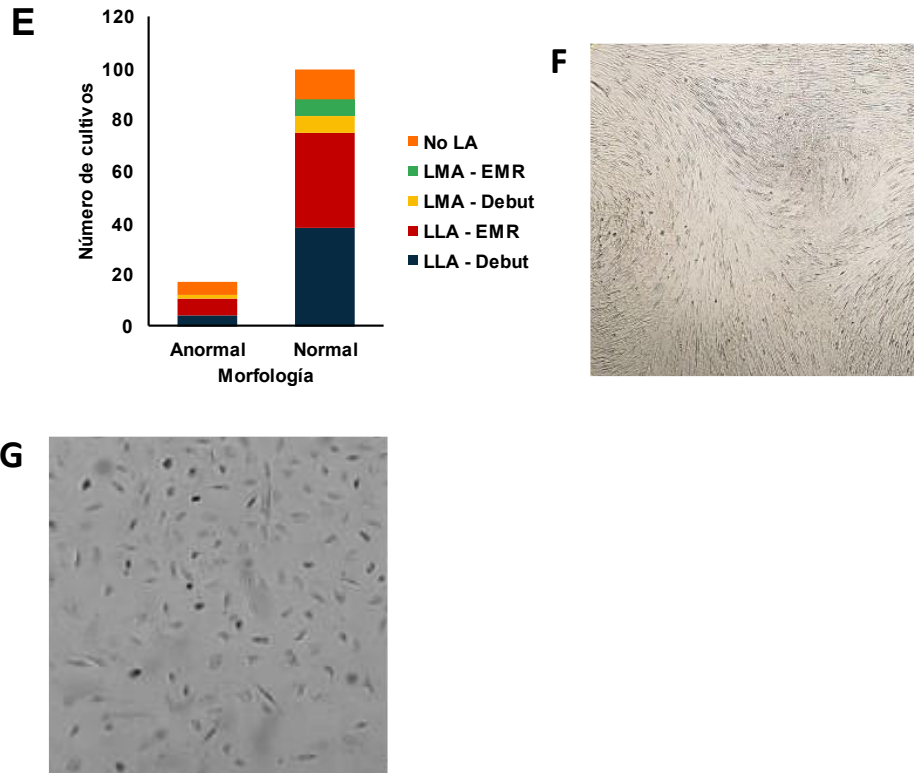


Figura 13. Características observadas en cultivos de CEM en P0. A) Presencia de al menos una característica de estrés celular. B) Presencia de vacuolas C) Presencia de desechos celulares. D) Presencia de células no adheridas. E) Presencia de morfología anormal. F) Ejemplo de morfología normal de CEM normal presentada en cultivo de CEM, imagen tomada a 10X. G) Ejemplo de morfología anormal, alargada y ensanchada presentada en cultivo de CEM, imagen tomada a 10X y ampliada. * Número de cultivos que presentaron estrés celular, clasificados de acuerdo con su tipo de leucemia y estadio de la enfermedad (n=117). LLA – Debut: Debut de leucemia linfoblástica aguda (n=42) (azul marino), LLA – EMR: Enfermedad medible residual de leucemia linfoblástica aguda (n=44) (rojo), LMA – Debut: Debut de leucemia mieloide aguda (n=8) (amarillo), LMA – EMR: Enfermedad medible residual de leucemia mieloide aguda (n=6) (verde), No LA: Especímenes con diagnóstico negativo a leucemia (n=17).

9.3 Validación de las muestras del acervo celular

Objetivo específico 3, Verificar la calidad de las muestras almacenadas por medio de pruebas de viabilidad celular.

Gracias a las pruebas de viabilidad en CEM, CMN, Leucocitos y MOT almacenadas por 53 a 583 días (**Figura 14A**), se logró validar la calidad de las muestras almacenadas en el acervo, obteniendo un promedio de porcentaje de células viables de un 71.2% para las CEM, que no demostraron una diferencia de la viabilidad entre las muestras almacenadas por menos de 9 meses (67.7%) y por más de 9 meses (74.7%) (**Figura 14B**). También se obtuvo un 70.88% para las CMN, seguidas de un 70% para las muestras de MOT, las cuales demostraron ser viables para el aislamiento de CMN obteniendo un promedio de 90% de viabilidad, y para aislamiento de Leucocitos, con un promedio de 47.5% de viabilidad (**Figura 14C**). En cuanto al resto de muestras descongeladas, se obtuvo un 28% de viabilidad para Leucocitos, siendo este el tipo de muestra que presentó la menor viabilidad durante las pruebas.

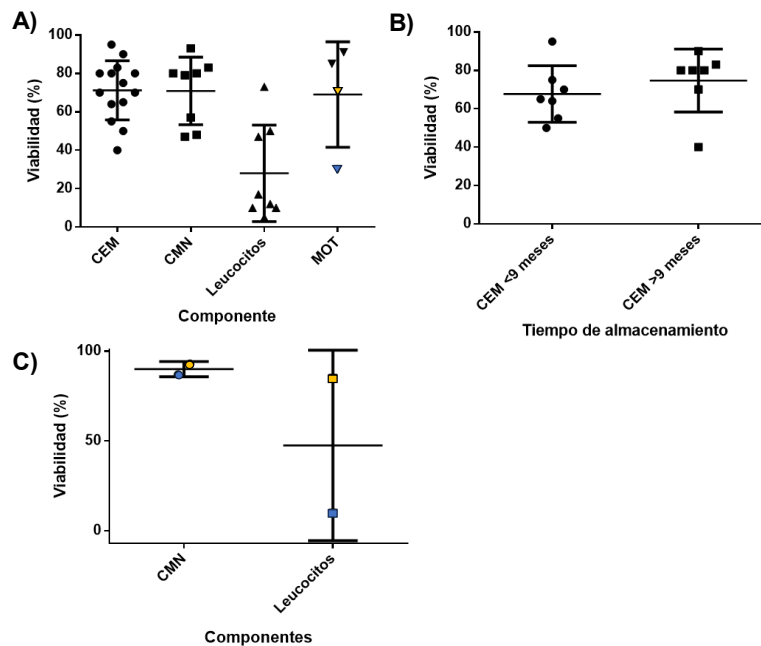


Figura 14. Pruebas de viabilidad de las muestras. A) Porcentaje de viabilidad de las células almacenadas. Se realizan pruebas de viabilidad a las muestras a las cuales son aplicables, mostrando un promedio del porcentaje de viabilidad de 71.2% para las CEM (n=14), 70.88% para las CMN (n=8), seguidas de un 70% para las muestras de MOT (n=4) y un 28% para L-SFB (n=8). B) Diferencia del porcentaje de viabilidad de CEM almacenadas durante un tiempo menor a 9 meses, con 67.7% de viabilidad (n=7) y mayor a 9 meses, con 74.7% de viabilidad (n=7). C) Promedio de viabilidad de las CMN, con 90% (n=2) y Leucocitos, con 47.5% (n=2) obtenidos a partir del

procesamiento de muestras de MOT descongeladas. Las figuras de color azul y amarillo representan que la muestra fue obtenida a partir de la muestra de MOT descongelada coloreada con su color correspondiente.

9.4 Costos de procesamiento del acervo celular

Objetivo específico 4, Elaborar un informe detallado sobre los costos de los insumos utilizados para el acervo celular.

Gracias a la elaboración del informe de costos de los insumos utilizados para el acervo, fue posible conocer el recurso monetario que es necesario invertir únicamente para los insumos utilizados en cada proceso de procesamiento de especímenes y almacenamiento de muestras, así como una relación del total de recurso económico utilizado en los insumos para el procesamiento y almacenamiento de todas las muestras del acervo.

Los costos de insumos utilizados para los diferentes protocolos de procesamiento y almacenamiento fueron calculados y representados en forma gráfica en la **Figura 15A**. De los procedimientos de procesamiento (azul marino), el cultivo y recolección de CEM fue el de mayor costo, requiriendo una inversión de \$345.8 MXN en insumos para llevarse a cabo, después estuvo el aislamiento de CMN con \$70.0 MXN y el aislamiento de leucocitos totales con \$28.3. En cuanto a los costos de almacenamiento (rojo), de mayor a menor, se encontró el almacenamiento con SFB, costando \$28.3 MXN por cada vez que se realizó para crioconservar una muestra, después el almacenamiento con RLT con \$13.7 MXN y, por último, el almacenamiento sin buffer, con \$5.3 MXN.

Teniendo esta información, fue posible calcular que el acervo celular del PRONAIL de Leucemia Infantil ha requerido una inversión total de \$198,593.6 MXN en insumos (**Figura 15B**). El 53.25% (\$105,746.34 MXN) del recurso utilizado correspondió al costo de los procedimientos de procesamiento y almacenamiento de muestras de CEM en SFB, el 20.43% (\$40,581.08 MXN) correspondió a CMN almacenadas en SFB, el 14.74% (\$29,275.3 MXN) al de Leucocitos almacenados

en SFB, un 5.46% (\$10,835 MXN) en Leucocitos almacenados con buffer RLT, un 2.58% (\$5,118.84 MXN) en el almacenamiento de plasma, un 1.90% (\$3,765.13 MXN) en Leucocitos almacenados sin buffer, un 1.09% (\$2,182.41 MXN) en almacenamiento de suero, un 0.5% (\$1,003.59) en el de sangre total, y un 0.05% (\$85.96 MXN) en el almacenamiento de CMN sin buffer.

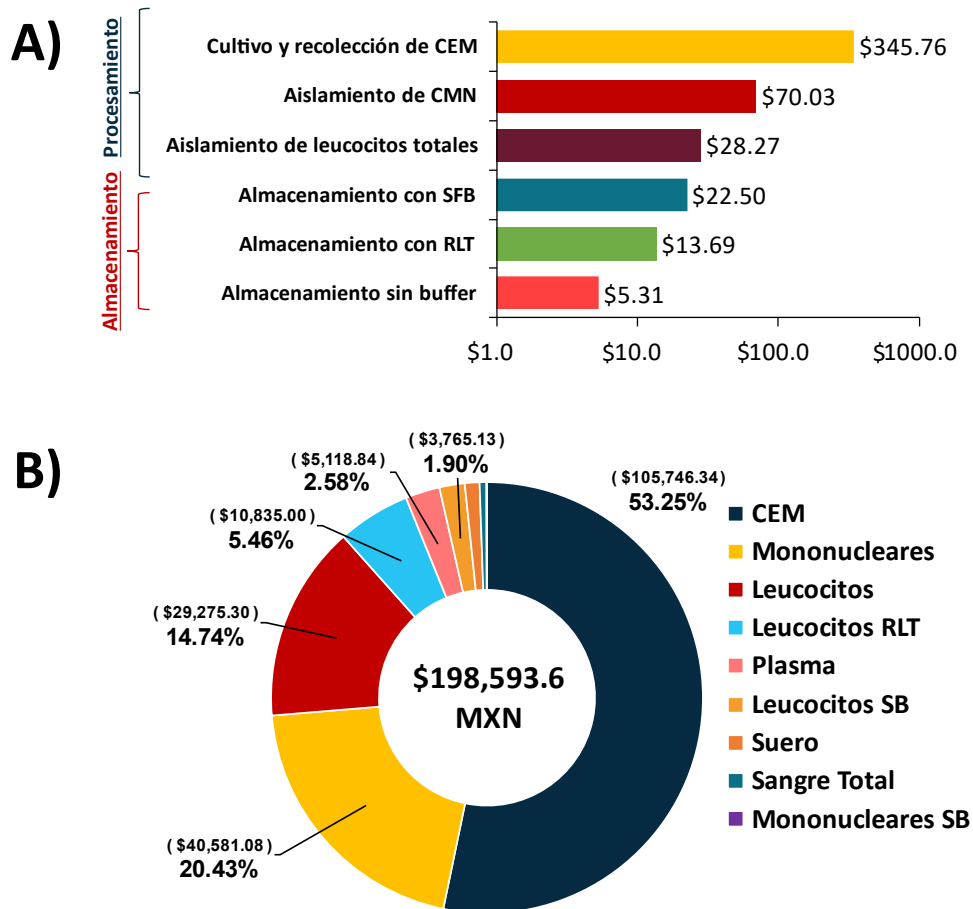


Figura 15. Informe de costos de insumos utilizados en el acervo. A) Costos de los insumos utilizados en los procesos de procesamiento y almacenamiento del acervo celular del PRONAI de Leucemia Infantil. B) Recurso financiero total usado en los procedimientos de procesamiento y almacenamiento de acuerdo con los distintos tipos de muestras. *Valores expresados en \$MXN. CEM: Células Estromales Mesenquimales, RLT: Buffer de lisis para RNA.

9.5 Procedimiento para el funcionamiento del acervo celular

Objetivo específico 5, Identificar los procedimientos de funcionamiento del acervo celular con el fin de apoyar la investigación biomédica.

Se logró identificar los procedimientos del funcionamiento del acervo y organizarlos bajo la estructura de la norma ISO 9001 en un mapa general del funcionamiento, localizando hasta 11 procedimientos que juegan un papel clave en el ciclo de vida del acervo. Este plan de trabajo estructurado fue esquematizado, como se muestra en la **Figura 16**, comenzando por el plan de organización, que establece la responsabilidad de la dirección, donde se encuentra el responsable técnico, la Dra. Rosana Pelayo Camacho, y la responsable de los procesos, la Dra. Diana Casique Aguirre, es en este punto donde se realizan las actividades de la dirección del acervo, en segundo lugar se identifica el plan de formación que debe de tener el personal para ser capacitados para realizar las actividades del acervo, como el reclutamiento de las muestras provenientes de los protocolos del PRONAI, después se procede a la identificación del espécimen, que incluye la toma de decisiones para su posterior procesamiento, etiquetado, almacenamiento y registro. Además, es importante incluir el procedimiento de cultivo celular y seguimiento de CEM.

El reclutamiento es catalogado como entrada de información al proceso, igual que las solicitudes de muestras, que posteriormente permite la salida de productos de este proceso, que, en este caso, son las muestras, la hoja de datos, la hoja técnica y la copia del reporte de entrega. Después de realizar el punto de control con el transportista, y llevada a cabo la entrega al investigador solicitante, su retroalimentación es añadida a los registros.

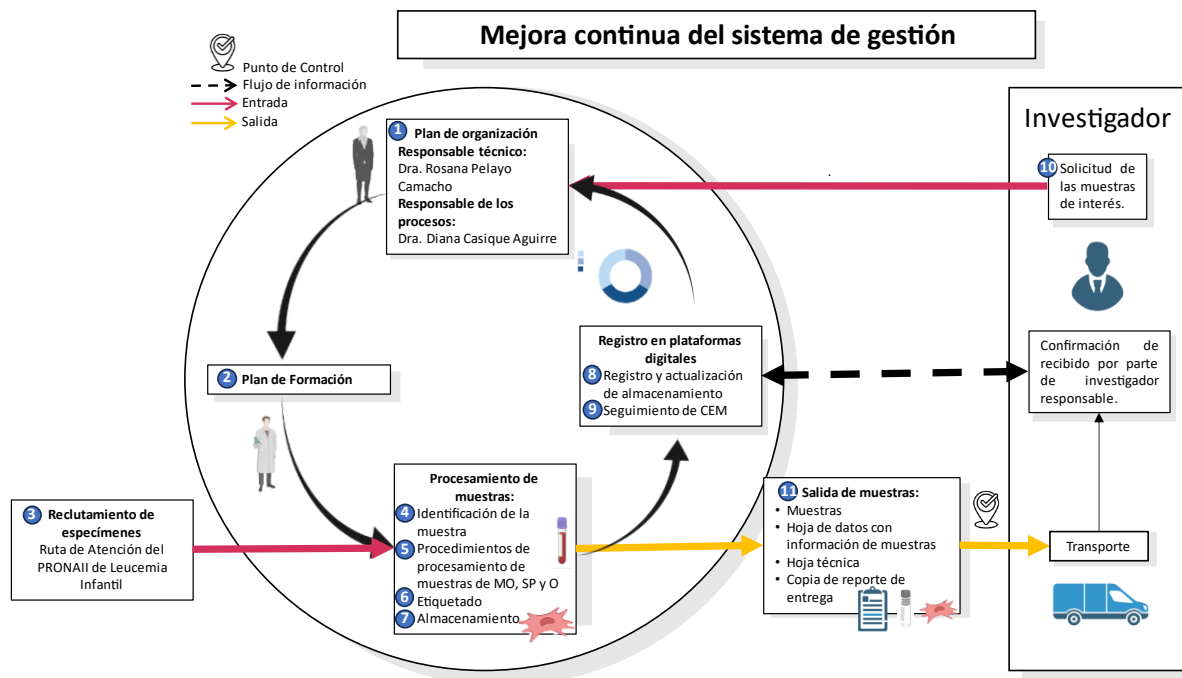


Figura 16. Mapa general de trabajo para el funcionamiento del acervo celular del PRONAI de Leucemia Infantil. Se encuentran dentro del proceso 11 procedimientos principales: Plan de organización, plan de formación, reclutamiento de especímenes, identificación del espécimen, procedimientos de procesamiento de muestras de médula ósea, sangre periférica y orina, etiquetado, almacenamiento, registro y actualización de almacenamiento; seguimiento de CEM, solicitud de las muestras de interés y la salida de muestras.

La estructuración del funcionamiento del acervo permitió cumplir con el propósito de este, al proveer de 590 muestras a investigadores para su utilización en al menos 1 de los 5 proyectos descritos a continuación (**Figura 17**):

- Epidemiología y supervivencia de las leucemias agudas en niños de zonas marginales de México.** En este proyecto entraron muestras de 164 pacientes y representa el 49.5% (n=287) del total de muestras cedidas del acervo. El 57.1% (n=164) de estas muestras cedidos son de orina, de las cuales el 56.7% (n=93) corresponde a casos de leucemia, mientras que el 43.3% (n=71) restante corresponde a controles poblacionales. También se proveyó de muestras de suero, que corresponde al 42.9% (n=123) de las muestras cedidas para este proyecto de investigación, de las cuales el 65%

(n=80) corresponde a casos de leucemia, mientras que el 35% (n=43) restante corresponde a controles poblacionales.

- **Perfil de expresión de snoRNAs (small nucleolar RNAs) en leucemia linfoblástica aguda y su papel en la enfermedad.** Para este estudio se usó muestras de 83 pacientes. Las muestras usadas para este proyecto representan el 15% (n=87) del total de muestras usadas para investigación. Para este proyecto se cedieron leucocitos provenientes de sangre periférica, en buffer de RLT, de los cuales, el 90.8% (n=79) corresponde a casos de leucemia, mientras que el 9.2% (n=8) es conformado por controles poblacionales.
- **Abordaje genómico integral de la leucemia linfoblástica aguda (LLA) en pacientes pediátricos.** Las muestras de 72 pacientes cumplieron con los requisitos de este proyecto. Las muestras provistas, abarcan el 24% (n=142) del total cedido. El 51.7% (n=72) de las muestras de este proyecto está conformado por leucocitos aislados de remanentes de especímenes de aspirado de MO, provenientes de casos de leucemia, almacenados sin buffer, mientras que el 48.3% (n=67) está conformado por leucocitos aislados de remanentes de especímenes de aspirado de MO, provenientes de casos de leucemia, almacenados con buffer RLT.
- **Laboratorio de Citómica para el Cáncer Infantil.** En este proyecto entraron muestras de 44 pacientes de los que se obtuvo CEM, las muestras usadas para dicho proyecto abarcan el 7.8% (n=52) del total de muestras usadas para un proyecto de investigación, siendo estas en su totalidad casos de leucemia.
- **La cortactina como un nuevo blanco terapéutico para prevenir la infiltración de órganos, la colonización de la médula ósea y la recaída en la leucemia linfoblástica aguda.** Para este proyecto de investigación se proveyó de muestras de 21 pacientes, abarcando el 3.8% (n=22) del total de muestras usadas para investigación. El 50% (n=11) de las muestras de este proyecto corresponde a CEM provenientes de casos de leucemia. El 40.9% (n=9) corresponde a CMN provenientes de casos de leucemia. También, el

9.1% (n=2) restante es representado por MOT proveniente de casos de leucemia.

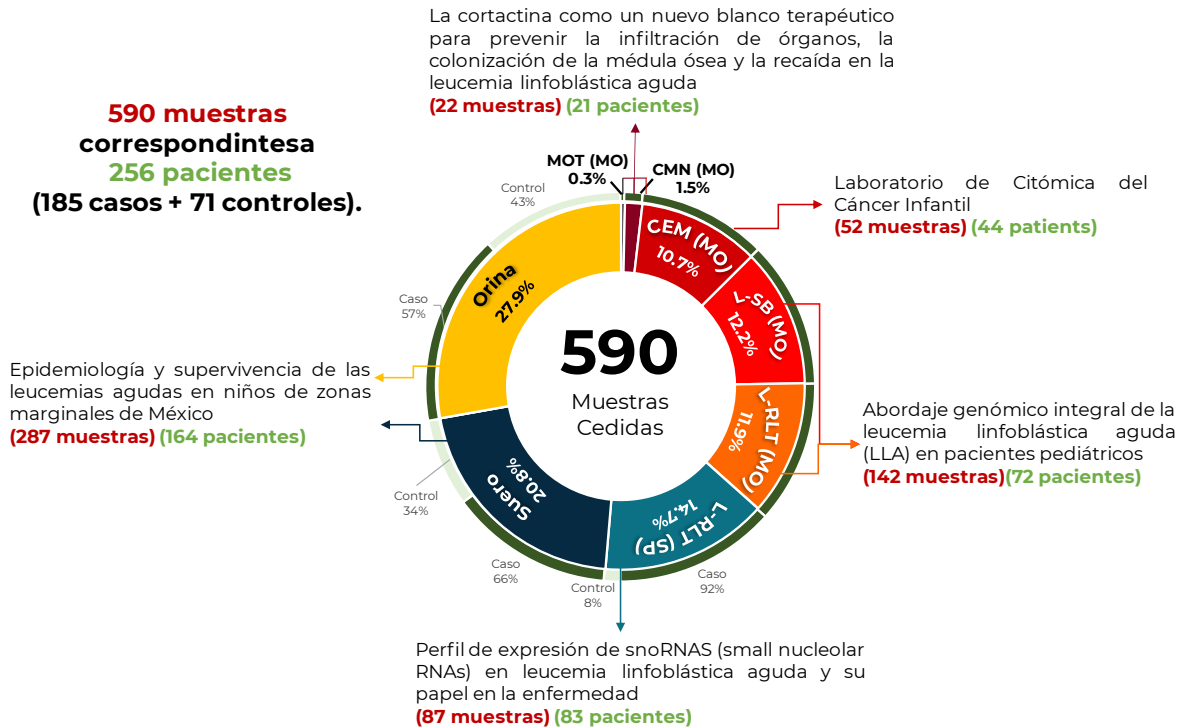


Figura 17. Contribución de muestras del acervo utilizados en el PRONAIII de Leucemia Infantil. Envíos y cesiones de muestras del acervo celular del PRONAIII de Leucemias Agudas, ordenados por tipos de muestra. Se muestra el nombre del proyecto apoyado, su número de proyecto, así como el número de muestras y pacientes que entraron en el proyecto. *MOT (MO): Médula Ósea Total (Azul eléctrico), MO-MN: Células Mononucleares provenientes de Médula Ósea (Azul rey), MO - CEM: Células estromales mesenquimales provenientes de Médula Ósea (azul), MO-L-RLT: Leucocitos en buffer RLT, provenientes de Médula Ósea (azul marino), MO-L-SB: Leucocitos sin buffer, provenientes de Médula Ósea (azul cielo), SP-L-RLT: Leucocitos en buffer RLT, provenientes de Sangre Periférica (rosa), SP-S: Suero (café), O: Orina (amarillo), Caso: Muestra de paciente leucémico (verde oscuro), Control: Muestra de control poblacional o paciente negativo a leucemia (gris).

Del total de las 4920 muestras almacenadas en el acervo, se ha apoyado en la investigación con un 12% (n=590) (Figura 18A) provenientes de 256 pacientes. De las muestras provistas, un 79% (n=469) corresponde a casos de leucemia, mientras que el 21% (n=121) corresponden a muestras de control poblacional. El 88%

(n=4330) restante corresponde a muestras que aún se encuentran almacenadas, de los cuales un 97% (n=4213) corresponde a casos y un 3% (n=117) a controles. De los 402 pacientes de los que se tienen muestras almacenadas, el 63.7% (n=256) cuenta con muestras que han sido integradas en al menos uno de los proyectos de investigación del PRONAI de Leucemia Infantil, de los cuales, el 72% (n=185) son pacientes de leucemia, mientras que el 28% (n=71) son pacientes de control poblacional. Los pacientes restantes, el 36.3% (n=146), cuentan con todas sus muestras almacenadas y disponibles actualmente para investigación, de las cuales, un 79% (n=115) corresponde a casos y un 21% (n=31) a controles (**Figura 18B**). Según la retroalimentación obtenida de los investigadores (**Figura 18C**), de las 590 muestras cedidas para investigación, el 99.3% (n=586) fueron utilizadas satisfactoriamente en el proyecto de investigación para el cual fueron cedidas, mientras que un 0.7% (n=4) no logró ser utilizado en su proyecto de investigación designado debido a cantidad de muestras insuficiente.

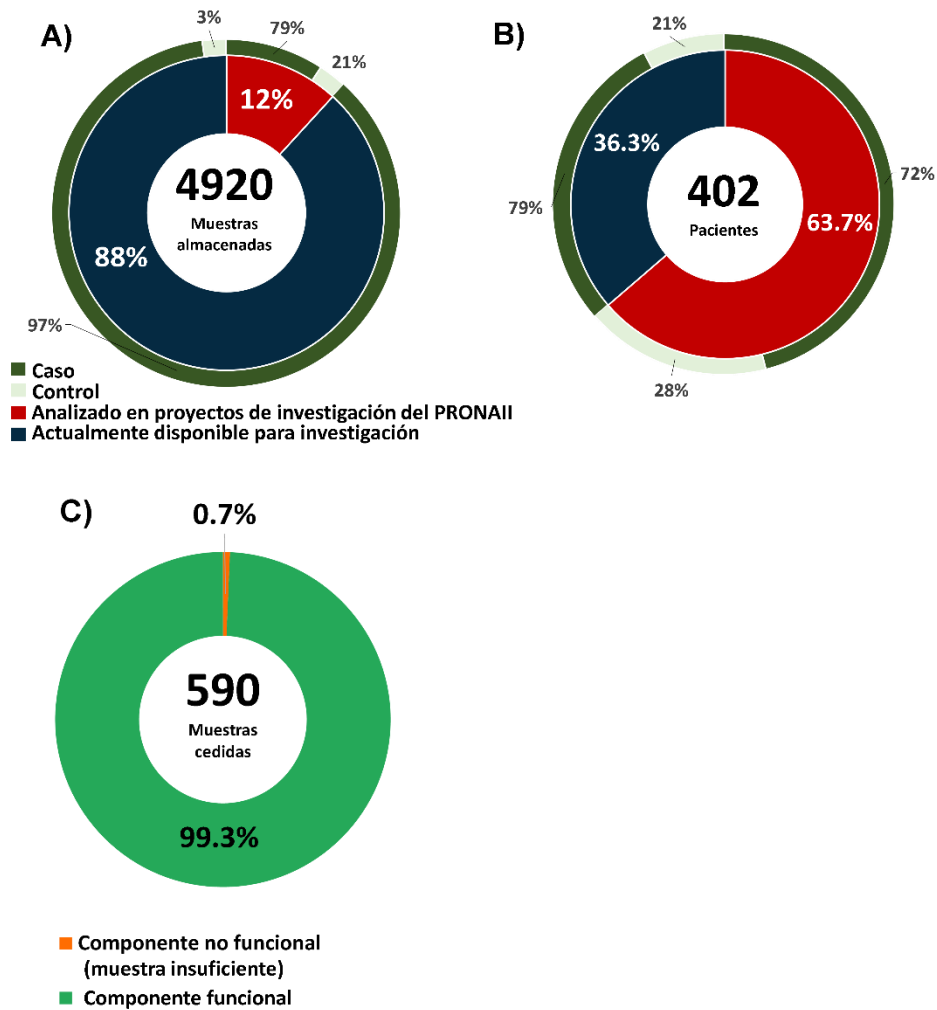


Figura 18. Aporte de muestras biológicas de pacientes para su análisis en proyectos de investigación del PRONAI. A) Número de muestras almacenadas que han sido analizadas en proyectos de investigación del PRONAI. B) Número de pacientes de los que se tiene muestras almacenadas que han sido analizadas en proyectos del PRONAI. C) Retroalimentación de la satisfacción del investigador con las muestras cedidos. Número de muestras satisfactoriamente utilizadas en proyectos de investigación (azul) y número de muestras cedidas que no lograron ser utilizadas para investigación por insuficiente cantidad de muestra (rojo).

10 Discusión

Para hacer una comparación del acervo con los demás repositorios de muestras de leucemia de pacientes pediátricos, es importante volver a mencionar los 2 acervos enfocados en el estudio de la leucemia en México y los tipos de muestras que

almacena (33,50,86), mencionados anteriormente en el apartado **3.1.7 Biobancos en México:**

1. Biobanco de la UAGro: suero de pacientes pediátricos con leucemia (33).
2. Biobanco de Investigación en Células Leucémicas, del HIMFG: suero y leucocitos provenientes especímenes de MO y SP de pacientes pediátricos con LLA al Debut (50,86).

Teniendo esta información, es posible poder comparar la cantidad de muestras diferentes obtenibles de un paciente, mientras que en el Biobanco de la UAGro se almacenan 1 tipo de muestra, siendo esta el suero, y en el Biobanco de Investigación en Células Leucémicas, del HIMFG, se almacenan 3 tipos de muestras (suero y leucocitos que provienen de MO y SP), en el Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil se almacenó hasta 16 muestras diferentes, provenientes de 3 tipos de especímenes (MO, SP y O), además de no limitarse únicamente al almacenamiento de muestras provenientes de especímenes de Debut, sino que también se contó con el almacenamiento de muestras provenientes de especímenes de EMR, teniendo esto presente, es posible afirmar que el Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil se posiciona como un repositorio único en el país, debido a su gran variedad de tipos de muestras almacenadas de un mismo paciente y su utilización satisfactoria en diversos proyectos de investigación (33,50,86).

Actualmente en México no se cuentan con información disponible de otros acervos de muestras de pacientes pediátricos de leucemia que cuenten con CEM derivadas de especímenes de MO, sin embargo, existen laboratorios que cuentan con líneas de trabajo en donde son utilizadas este tipo de células, estos son el Laboratorio de Células Troncales Mesenquimales, del Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional, Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), a cargo del Dr. Juan José Montesinos, este laboratorio cuenta con un sistema de expansión en un contexto clínico, las CEM son derivadas de MO de sujetos sanos, además de contribuir a trabajos de caracterización de estas células provenientes de especímenes diferente a la MO, como placenta, sangre de cordón umbilical, y piel.

También existe el Laboratorio de Nicho y Microambiente, a cargo de la Dra. Eugenia Flores, cuyo grupo de trabajo se enfoca en el estudio de CEM provenientes de pacientes con síndrome mielodisplásico. Por lo que, es posible mencionar al almacenamiento de CEM derivadas de MO de pacientes pediátricos como otra característica única del Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil (95).

En el resto de América Latina también existen biobancos dedicados a la investigación sobre la leucemia, un proyecto reciente que incluye una colaboración de estos biobancos es el Programa Multinacional de Biobancos Nutricionales en Oncología Pediátrica Cohorte de Microbioma/Metaboloma de Leucemia Infantil Internacional. Este estudio se centra en un esfuerzo conjunto de instituciones de diversos países, con un enfoque en la investigación del cáncer infantil, su objetivo principal es la creación de un biorepositorio multinacional que almacene muestras de heces y sangre de pacientes pediátricos, tanto en el momento del diagnóstico como durante y después del tratamiento. Entre los países latinoamericanos involucrados en este proyecto se encuentran Brasil, que cuenta con biobancos en el Hospital de Amor Infantojuvenil de Barretos y el Instituto de Tratamiento del Cáncer Infantil (ITAC, del portugués "*Instituto de Tratamento do Câncer Infantil*") de São Paulo. Guatemala participa a través de la Unidad Nacional de Oncología Pediátrica en la Ciudad de Guatemala, y Honduras se suma a través del Hospital Escuela en Tegucigalpa. Además, este estudio colaborativo incluye biobancos ubicados en el Centro Médico Irving de la Universidad de Columbia en Nueva York, Estados Unidos; el Instituto de Educación Médica e Investigación Postgraduada (PGIMER, del inglés "*Postgraduate Institute of Medical Education and Research*") en Chandigarh, India; y el Hospital Muhimbili en Dar es Salaam, Tanzania. Este proyecto se inició en octubre de 2022, actualmente se encuentra en etapa de reclutamiento de especímenes y se espera que el proyecto concluya en octubre de 2029 (96).

En América Latina existen biobancos privados de células troncales que son derivadas de sangre, tejido de cordón umbilical y pulpa dental para utilización clínica establecidos en países como México, Colombia, Perú, Argentina, Venezuela,

Ecuador, Chile, Argentina, Paraguay y Uruguay (97,98). También existen equipos de trabajo cuyas líneas de investigación están centradas en el estudio de CEM provenientes de distintos tejidos de humanos sanos, como MO, cordón umbilical, tejidos dentales, así como líneas celulares de CEM humanas. Sin embargo, no existen publicaciones acerca de la existencia de un biorepositorio de CEM derivadas de especímenes de MO de pacientes pediátricos leucémicos en Latinoamérica, lo que podría convertir al Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil en un biorepositorio único en su tipo en América Latina (99–101).

Es debido a esta importancia de la obtención y almacenamiento de CEM, que se utiliza la plataforma de seguimiento de CEM, que permitió observar diferencias entre los crecimientos de las células provenientes de diversos tipos de leucemia (LLA y LMA) en diferentes estados de la enfermedad (Debut y EMR), así como una comparación con CEM de pacientes sin leucemia aguda (No LA), siendo las células provenientes de especímenes de EMR las que presentaban un mayor radio de crecimiento, esto pudo deberse a que las CEM trataron de reestablecer las condiciones de una MO normal después de haber recibido el tratamiento y presentar una cantidad no detectable de blastos, adquiriendo un crecimiento más parecido a una MO normal, esto concuerda con lo descrito previamente por otros autores, pues la presencia de blastos leucémicos en LLA son capaces de alterar la proliferación de las CEM, además de su diferenciación, expresión de proteínas, activación de vías de señalización y capacidades de apoyo a la hematopoyesis normal (102). El motivo de la importancia de este estudio al clasificar las CEM de acuerdo con su radio de crecimiento es establecer por primera vez un comportamiento esperado en estas células provenientes de los pacientes pediátricos mexicanos, de tipos de LA diferentes, al diagnóstico y durante sus seguimientos de EMR. Es importante contar con esos estándares de crecimiento para el funcionamiento del acervo, pues permite la rastreabilidad de las características biológicas de los especímenes, o la identificación de patrones para encontrar posibles muestras de interés para futuros proyectos de investigación (103).

Siguiendo con los demás datos obtenidos del monitoreo de CEM, fue posible observar al menos una característica de estrés celular en un 48.7% de los cultivos de CEM, de las cuales, las más comunes fueron la presencia de vacuolas dentro de las células y vesículas celulares en el medio extracelular, apareciendo en el 29.1% de los cultivos. La presencia de vacuolas puede estar relacionada con el proceso de autofagia, presente en diferentes tipos de reacciones lisosomales que se dan en respuesta a una variedad de perturbaciones en el medio extracelular, por lo cual, las células ajustan el flujo autofágico para disminuir la carga metabólica y toxicidad, removiendo componentes celulares dañados, partículas y metales tóxicos, sin infligir daño a componentes citosólicos. Se ha demostrado que este proceso puede verse afectado por estresores ambientales, como falta de nutrientes, hipertermia, hipoxia, o contaminación del cultivo por bacterias, levaduras o metales tóxicos, esto puede convertir la función protectora de la autofagia en un mecanismo de muerte celular. Hay estudios que asocian la aparición de la autofagia y estrés, con una desregulación en las vías donde participa la proteína ligera 3 asociada a microtúbulos 1A/1B (LC3), una proteína que se encuentra de forma ubicua en tejidos de mamíferos y células en cultivo, que regula la formación del autofagosoma, si se deseara realizar un análisis a profundidad acerca de la aparición de estrés en las CEM, la detección de LC3 mediante inmunotransferencia o inmunofluorescencia es un método para monitorear la autofagia y los procesos relacionados con la autofagia, incluida la muerte celular autofágica (104).

En cuanto a la aparición de vesículas extracelulares con desechos, está descrito que, en condiciones normales, las células pueden liberar vesículas con desechos celulares, como exosomas, al medio extracelular, sin embargo, se ha descrito en células de melanoma que este mecanismo puede ser utilizado como un sistema de comunicación entre células para mediar la adaptación al estrés oxidativo, térmico y citostático (105). En contraste, otros autores describen la capacidad de las CEM para sintetizar masivamente exosomas con moléculas de microRNA, y secretarlos al medio extracelular, teniendo la capacidad de mediar y amplificar las funciones restaurativas y protectoras de las CEM, al poder inducir la traducción a nuevas proteínas después de ser endocitadas por otras células, que demuestran adquirir

protección contra el estrés oxidativo gracias a este mecanismo, además de mostrar efectos inmunomoduladores en modelos animales de enfermedades autoinmunes, como esclerosis múltiple, artritis reumatoide y diabetes tipo 1. Tomando esto en cuenta, la presencia de vesículas extracelulares no es necesariamente una señal de respuesta al estrés, sino que también puede tomarse como una característica propia de las CEM (106).

La morfología normal observada en el 85.5% de los cultivos de CEM corresponde al tipo de morfología fibroblastoide, largas y en forma de huso que presentan normalmente, diversos equipos de trabajo describen a la morfología anormal de las CEM de manera ensanchada y aplanada, la cual se pudo observar en el 14.5% restante de los cultivos observados, este tipo de morfología alterada está asociada con senescencia prematura asociada a estrés. Kundrotas y colaboradores describen la presencia de desregulación de los genes ACTA2, POU5F1, PTPRC, E2F3, CCNB1, CHEK1, PLAU, TBX2, TBX3, CDC25C, E2F1 y PCNA en CEM con este tipo de morfología anormal, estos genes participan en procesos biológicos como el ciclo celular, metabolismo, envejecimiento celular y respuesta al estrés (107). Está descrito que las CEM provenientes de donadores jóvenes pueden presentar esta senescencia inducida por estrés, afectando diversas funciones, como la capacidad de resistir el estrés oxidativo, funciones paracrinas, causar hipoxia y apoptosis inducida, es debido a esto que se reafirma la necesidad de realizar un monitoreo detallado de estas células, provenientes de pacientes pediátricos de leucemia, para identificar posibles indicios de estrés, así como permitir rastrear las características que presentaron estas células durante su crecimiento (107,108).

Además del seguimiento de CEM, otro método para fortalecer al acervo y garantizar el buen estado de las muestras cedidas son las pruebas de calidad por medio de las mediciones de porcentaje de viabilidad de las muestras descongeladas. A través de estas pruebas, se obtuvo un indicador cuantificable y comparable de la calidad de las muestras almacenadas en el acervo (8).

Es posible comparar la viabilidad obtenida de las CEM, de 71.2%, con los resultados obtenidos por otros estudios de viabilidad, existe un estudio de revisión de pruebas de viabilidad de CEM provenientes de especímenes de MO, publicado en 2019, en el cual se englobó hasta 37 estudios con resultados variados, que reportó como un resultado esperable una viabilidad desde 50% hasta 100% después del descongelamiento, con base en esto, es posible afirmar que la viabilidad de CEM del acervo está dentro de los rangos que podrían esperarse para este tipo de muestra (109). Además, existe una publicación de resultados de pruebas de viabilidad de CEM provenientes de tejido lipídico que demostró que durante un periodo de criopreservación de 9 meses, a temperaturas de -80°C, la viabilidad obtenida es de un promedio de 90%, sin embargo, al aumentar al tiempo a 18 meses, la viabilidad de las CEM almacenadas a -80°C cae a un promedio de 60%, este comportamiento difiere a lo observado en este proyecto de tesis, pues el promedio de la viabilidad de las CEM almacenadas a -80°C por <9 meses (67.7%) fue comparable con el de las almacenadas por >9 meses (74.7%), obteniendo que la viabilidad permanece cercana, en lugar de presentar un abrupto decremento. Estas diferencias pueden deberse a que el tipo de especímenes de origen de las CEM es diferente, siendo las de este proyecto provenientes de remanentes de aspirado de MO, además de que la manipulación de las muestras durante el descongelamiento también puede influir en estas variaciones de viabilidad (110).

Es posible comparar la viabilidad del 70.88% obtenida por las CMN provenientes de MO del acervo, con la viabilidad presentada por el Biobanco VIH, de España, en 2013, en CMN obtenidas de SP, con un promedio de viabilidad del 62.89%, con la misma densidad celular (111). También, otro estudio de viabilidad publicado en 2020 mostró un promedio del 71.9% con el mismo tipo de muestra, con base en esto, es posible afirmar que la viabilidad obtenida en este tipo de muestra es comparable a lo esperado (112).

Los leucocitos mostraron un 28% de viabilidad, no es posible compararla con otros estudios de descongelamiento por la falta de disponibilidad de estos, sin embargo, está publicado que esta viabilidad llega a ser desde un 86% hasta un 95% después

del procesamiento con especímenes de sangre, siendo esta una viabilidad mayor a la obtenida en las pruebas de descongelamiento realizadas (113). Este es un resultado esperable, debido a que, a diferencia del método de aislamiento por gradiente de densidad, el método de lisis de eritrocitos no es selectivo con las células viables, esto sumado a que el espécimen puede verse afectado al momento del transporte y tiempos de espera para la liberación de los especímenes después de su diagnóstico, sumado a los procesos de procesamiento, por lo que es esperable encontrar esta viabilidad de 28% después de descongelar, sin embargo, el tipo de método realizado para la obtención de leucocitos es un método óptimo para ensayos de aislamiento de ADN en leucocitos, al lisis por completo los eritrocitos y permitir obtener el pellet de glóbulos blancos, por lo que, es posible tomar como perspectiva incluir pruebas de cuantificación de DNA como otro método para medir la calidad para este tipo de muestra (8,114,115).

En cuanto a los resultados de la MOT, es posible comparar la viabilidad obtenida del 70% con lo publicado en un estudio de 2020 que mostró un promedio de 77%. Las muestras obtenidas a partir del procesamiento de MOT descongelada demostraron tener una viabilidad superior a los mismos tipos de muestras que fueron procesadas, almacenadas y después descongeladas, especialmente de los leucocitos, esto podría sugerir que es más eficaz procesar las muestras requeridas a partir de MOT descongelada si lo que se busca es tener la mayor viabilidad posible en las muestras a utilizar (116).

Con los resultados obtenidos de las pruebas de viabilidad, es posible tomar en consideración el uso de contenedores de almacenamiento en nitrógeno líquido para mejorar la calidad de las muestras almacenadas a largo plazo, ya que permite alcanzar temperaturas inferiores a la temperatura de vitrificación (-132°C), sin embargo, la ISBER no establece como obligatorio el uso de estos contenedores, debido a que cada acervo está sujeto a sus propias condiciones, recursos y equipos que les sean más accesibles para cumplir con su objetivo (8). El tipo de almacenamiento que se utiliza en el Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil es el almacenamiento con ultracongelación (-80°C), siendo este un tipo de

almacenamiento más accesible. Existen guías que permiten la crioconservación a -80°C de sangre, componentes celulares, muestras de ADN y células, como leucocitos, preparados para técnicas de investigación en genética, también existen reportes de que muestras provenientes de sangre periférica pueden ser almacenadas a esta temperatura hasta por 180 días sin verse afectada su viabilidad, esto lo convierte en un tipo de almacenamiento viable para los tipos de muestras que se almacenan en el acervo. Un ejemplo de un biorepositorio en México que utilice este tipo de almacenamiento es el biobanco del INCMNSZ, que ha reportado utilizar almacenamiento a -80°C para almacenar muestras de sangre, plasma y orina (23,117,118).

Otro punto importante que abarcó la gestión del acervo fue la realización del informe de costos generados por el uso de insumos para el funcionamiento de las actividades del acervo, con el objetivo de que pueda continuar en operación y asegurar la cesión gratuita de muestras. Es importante tomar en cuenta, así como el aproximado total del recurso monetario (MXN) invertido en estos, no se abarcan todos los factores que se recomiendan tomar en cuenta para un gasto de un biorepositorio, como costos de infraestructura, personal y el uso de energía eléctrica de los equipos, agua, limpieza y mantenimiento de los equipos e instalaciones, por lo que la cifra obtenida de \$198,593.63 MXN no refleja el total real del recurso monetario necesario para mantener el acervo, pero sirve como una aproximación para el costo de insumos utilizados para mantenerlo en funcionamiento (8,119). Si bien, hay autores que guían a que cada acervo haga uso de sus propios algoritmos para el cálculo de los costos, existen asociaciones, como la CTRNet, que promueven el uso de programas de pago para facilitar la realización de estos cálculos de manera automatizada (120,121).

Existen biobancos públicos y privados en México que aplican políticas de recuperación de costos, un ejemplo de esto son las instituciones miembros de la REMBIOBAN, que en 2018 realizaron una reunión para establecer una armonización en estimación de costos y modelos de estrategias para recuperación de costos, que incluyen, además de los insumos, servicios, equipo, salario del

personal e infraestructura, y proponen una cuota recomendada por muestra cedida para asegurar la sustentabilidad económica, además, el personal directivo de su sede reitera la importancia de la participación en convocatorias públicas para contar con recursos y asegurar el correcto funcionamiento de los biobancos (8,33,64).

En el caso del acervo, su correcto funcionamiento llevó a la realización satisfactoria de las cesiones de muestras, la Base de Datos de Cesión de Muestras del Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil, permitió tener un control en los registros de los envíos, la información de las muestras, así como permitir la planificación del embalaje apropiado para cada tipo de muestras a ceder, estos registros proporcionaron una visión general de la utilización de las muestras del acervo, destacando la variedad de los diferentes tipos de muestras cedidas en los 5 proyectos de investigación, permitiendo visualizar el impacto del acervo en la investigación de la leucemia. Con base en esto, es posible afirmar que el acervo en su estado actual cumple con su función de proveer a los investigadores muestras adecuadas para los diferentes trabajos de investigación que se respalden, para promover los estudios en la leucemia infantil, apoyar la investigación biomédica en el país y para el fortalecimiento de la medicina de precisión basada en evidencia (8,88).

En cuanto a las perspectivas a futuro de este proyecto, se puede comenzar a plantear a largo plazo la obtención de una certificación. Recientemente, la COFEPRIS emitió la nueva licencia sanitaria para un biobanco con fines de investigación (saliva, sangre total y orina), otorgada por primera vez en julio de 2023, al INCMNSZ, en este mismo evento se dio a conocer la Plataforma Digital de Investigación y Ensayos Clínicos en seres humanos (DigiPRIS), mediante la cual es posible implementar y ejecutar nuevos ensayos clínicos para adaptarse a la era de la digitalización, o de adquirir nuevas licencias sanitarias a institutos ya certificados, comenzando con un periodo de transición hacia los trámites digitales (22,24,84). Es debido a esto que, si se desea llevar a cabo esta certificación, es importante hacer uso de la nueva plataforma digital DIGIPRIS y llenar debidamente el formato de Servicios de Salud, realizar un pago de derechos, registrar al establecimiento,

registrar una persona física, entregar una copia del manual de operaciones del acervo, y llevar a cabo una auditoría con el personal de la COFEPRIS para evaluar el desempeño del acervo y posteriormente, dictaminar una conclusión (22,122,123). Una forma de poder asegurar el cumplimiento de este objetivo sería realizando una autoevaluación del cumplimiento de las prácticas recomendadas para biobancos, publicadas en la 4ª Edición de la Guía para Biobancos de la ISBER, implementando los puntos posibles en los que el acervo pueda mejorar, como la propuesta en el **Anexo 13.2 (8)**.

11 Conclusiones

La correcta gestión del Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil permitió proveer de muestras a investigadores, impulsando a la investigación de Leucemias Agudas en el país.

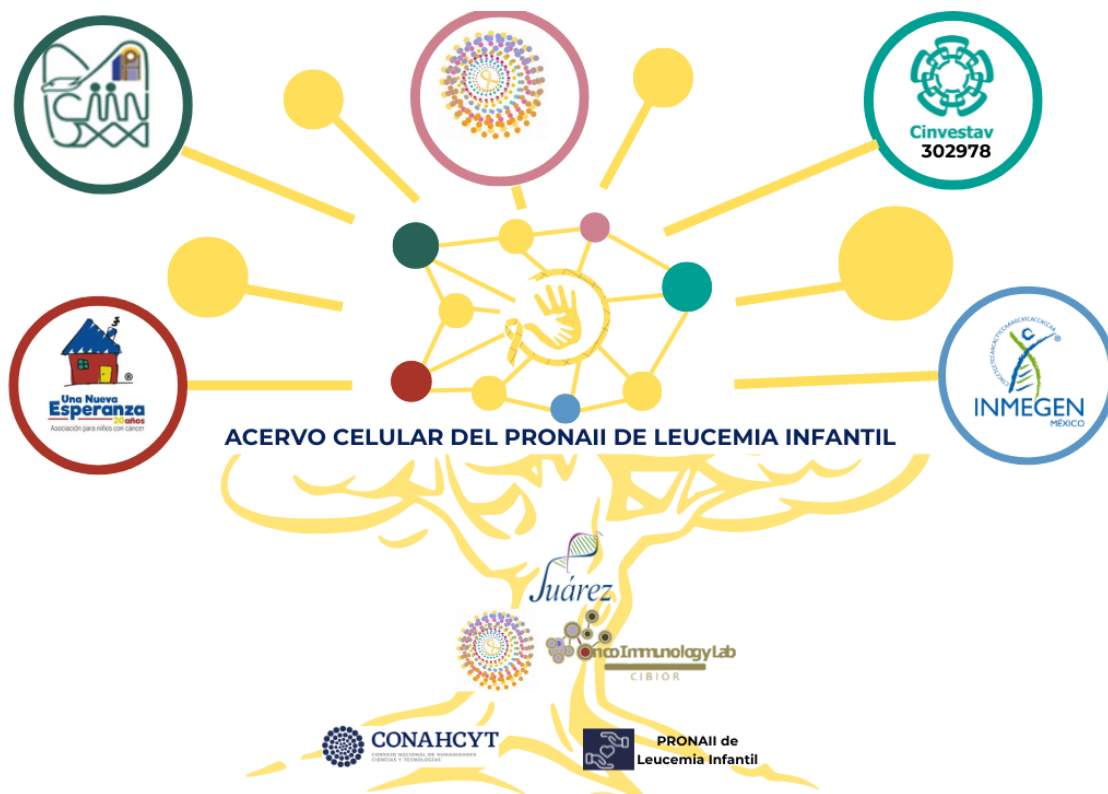


Figura 19. Esquema concluyente. Es posible ilustrar el esfuerzo conjunto de los laboratorios que, gracias al PRONAI de Leucemia Infantil, mantienen al Acervo Celular del PRONAI de Leucemia Infantil, que cumple con el objetivo de apoyar la investigación en medicina de precisión para el estudio de Leucemias Agudas en el país.

12 Bibliografía

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. noviembre de 2018;68(6):394-424.
2. NYU Langone Health. Types of Leukemia in Children [Internet]. 2024 [citado 19 de abril de 2024]. Disponible en: <https://nyulangone.org/conditions/leukemia-in-children/types>
3. Flores-Lujano J, Duarte-Rodríguez DA, Jiménez-Hernández E, Martín-Trejo JA, Allende-López A, Peñaloza-González JG, et al. Persistently high incidence rates of childhood acute leukemias from 2010 to 2017 in Mexico City: A population study from the MIGICCL. *Front Public Health*. 14 de septiembre de 2022;10:918921.
4. Flores-Lujano J, Allende-López A, Aldebará Duarte-Rodríguez D, Alarcón-Ruiz E, López-Carrillo L, Shamah-Levy T, et al. Epidemiology of childhood acute leukemias in marginalized populations of the central-south region of Mexico: results from a population-based registry. *Front Oncol* [Internet]. 20 de febrero de 2024 [citado 3 de marzo de 2024];14:1304263. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2024.1304263/full>
5. CONEVAL. IEPDS 2018 [Internet]. 2018 [citado 20 de abril de 2024]. Disponible en: https://www.coneval.org.mx/EvaluacionDS/PP/IEPDS/Paginas/IEPDS_2018.aspx
6. Núñez-Enríquez JC, Romo-Rodríguez R, Gaspar-Mendoza P, Zamora-Herrera G, Torres-Pineda L, Amador-Cardoso J, et al. Implementation of a roadmap for the comprehensive diagnosis, follow-up, and research of childhood leukemias in vulnerable regions of Mexico: results from the PRONAI Strategy. *Front Oncol* [Internet]. 3 de abril de 2024 [citado 19 de abril de 2024];14. Disponible en: [/pmc/articles/PMC11022691/](https://pmc/articles/PMC11022691/)

7. Campbell L. Best Practices for Repositories Collection, Storage, Retrieval, and Distribution of Biological Materials for Research International Society for Biological and Environmental Repositories [Internet]. Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA ; 2012 [citado 18 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/bio.2012.1022>
8. Campbell L, Jonas A, Rachel B, Yvonne DS, Judith G, Ashokkumar P, et al. BUENAS PRÁCTICAS: Recomendaciones para biobancos. [Internet]. 4.^a ed. The International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER). 2018 [citado 18 de octubre de 2023]. Disponible en: www.isber.org/bestpractices.
9. Smith AU. Introduction Current Trends in Cryobiology. Current Trends in Cryobiology [Internet]. 1970 [citado 22 de marzo de 2024]; Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4757-9933-0_1
10. Boyle R. New Experiments and Observations Touching Cold, or An Experimental History of Cold, Begun. To which are added An Examen of Antiperistasis, And An Examen of Mr. Hobs's Doctrine about Cold [Internet]. 1.^a ed. Crook J, editor. London: Sign of the Ship in St. Pauls Chiirch -yard; 1665 [citado 22 de marzo de 2024]. Disponible en: <https://www.e-rara.ch/download/pdf/12172551.pdf>
11. Institut Pasteur. About CIP [Internet]. 2019 [citado 23 de marzo de 2024]. Disponible en: <https://www.pasteur.fr/en/about-cip>
12. Clark WA, Geary DH. The Story of the American Type Culture Collection—Its History and Development(1899–1973). En 1974 [citado 26 de abril de 2024]. p. 295-309. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065216408705628>
13. American Type Culture Collection. Our History [Internet]. 2021 [citado 24 de marzo de 2024]. Disponible en: <https://www.atcc.org/about-us/who-we-are/our-history>

14. Luyet BJ, Gehenio MP. Life and death at low temperatures [Internet]. Normandy, Mo.,: Biodynamica,; 1940 [citado 24 de marzo de 2024]. Disponible en: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/29106#page/10/mode/1up>
15. Polge C, Smith AU, Parkes AS. Revival of Spermatozoa after Vitrification and Dehydration at Low Temperatures. *Nature*. octubre de 1949;164(4172):666-666.
16. Luyet BJ, Keane JF. Comparative efficiency of ethylene glycol, glucose and sodium chloride in protecting tissues against freezing injury. *Biodynamica* [Internet]. 1 de diciembre de 1952 [citado 24 de marzo de 2024];7(137-140):119-31. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/13041741>
17. Karow AM. Cryoprotectants—a new class of drugs. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* [Internet]. 1 de abril de 1969 [citado 24 de marzo de 2024];21(4):209-23. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.2042-7158.1969.tb08235.x>
18. Lovelock JE, Bishop MWH. Prevention of Freezing Damage to Living Cells by Dimethyl Sulphoxide. *Nature*. mayo de 1959;183(4672):1394-5.
19. Coriell LL. Cell repository. *Science* (1979) [Internet]. 1973 [citado 18 de octubre de 2023];180(4084):427-8. Disponible en: https://www.science.org/doi/10.1126/science.180.4084.427?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed
20. Loft S, Poulsen HE. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *J Mol Med* [Internet]. 1996 [citado 19 de octubre de 2023];74(6):297-312. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00207507>
21. Brena-Sesma I. Biobancos, Un asunto pendiente por Legislar. *Bol Mex Derecho Comp*. 2010;43(129):1055-79.

22. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ). Licencia Sanitaria COFEPRIS Biobanco. Secretaría de Salud. 2023;
23. Barrera-Gonzales M. Bio-Banco de Enfermedades Metabólicas avalado por COFEPRIS está en Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición. 889 Noticias. 10 de agosto de 2023;
24. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Gobierno de México. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Regulación de ensayos clínicos e investigación garantiza beneficios y resultados: Alcocer Varela. Disponible en: <https://www.gob.mx/cofepris/articulos/regulacion-de-ensayos-clinicos-e-investigacion-garantiza-beneficios-y-resultados-alcocer-varela-341197>
25. Liaño F, Torres AM. Biobancos: una nueva herramienta para la investigación clínica. Nefrología [Internet]. 1 de junio de 2009 [citado 19 de octubre de 2023];29(3):193-5. Disponible en: <https://www.revistanefrologia.com/es-biobancos-una-nueva-herramienta-investigacion-articulo-X0211699509004575>
26. Barrera-Saldaña H. Ciencia UANL. 2020 [citado 19 de octubre de 2023]. Los Siete Magníficos Emprendimientos Bio. Disponible en: <https://cienciauanl.uanl.mx/?p=9859>
27. Benítez-Arvizu G, Palma-Lara I, Alcántara-Quintana LE. Biobancos de células troncales para terapia celular Una realidad en México. Rev Med Inst Mex Seguro Soc [Internet]. 2014 [citado 19 de octubre de 2023];52(3):244-51. Disponible en: <http://www.iarc.fr>
28. Ocampo M, Santa-Catarina C. Biobancos y registros médicos electrónicos. Nota-INCyTU. marzo de 2018;13.
29. Tozzo P, Caenazzo L. The Skeleton in the Closet: Faults and Strengths of Public Versus Private Genetic Biobanks. Biomolecules [Internet]. 2020 [citado 19 de octubre de 2023]; Disponible en: www.mdpi.com/journal/biomolecules

30. Shaffer C. Biobanking Revitalized with Powerful IT Advances. Genetic Engineering & Biotechnology News . 2011;
31. Annaratone L, De Palma G, Bonizzi G, Sapino A, Botti G, Berrino E, et al. Basic principles of biobanking: from biological samples to precision medicine for patients On behalf of Alleanza Contro il Cancro (ACC) Pathology and Biobanking Working Group Fondazione IRCCS Istituto Nazionale. Virchows Archiv [Internet]. 2021 [citado 19 de octubre de 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00428-021-03151-0>
32. Zhang Y, Liao B, Lei R. A leap of faith: building the trust in human biobanks. Front Genet. 19 de octubre de 2023;14:1261623.
33. Barrera-Saldaña HA, Ulloa-Aguirre A, Alpuche-Aranda C, Reyes-Grajeda JP, Bernal-Silva S, Ortiz-Ortiz J. Academia Nacional de Medicina de México. 2019. Acta de la Sesión Biobancos en México: del Laboratorio Nacional Biobanco a la Red Mexicana de Biobancos.
34. Dolores M. Foro Consultivo. 2018 [citado 19 de octubre de 2023]. Biobancos, en busca de la identificación de restos humanos. Disponible en: <https://www.foroconsultivo.org.mx/FCCyT/boletines-de-prensa/biobancos-en-busca-de-la-identificaci%C3%B3n-de-restos-humanos>
35. Hewitt R, Watson P. Defining Biobank. <https://home.liebertpub.com/bio> [Internet]. 16 de octubre de 2013 [citado 28 de enero de 2024];11(5):309-15. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/bio.2013.0042>
36. O'Donoghue S, Dee S, Byrne JA, Watson PH. How Many Health Research Biobanks Are There? <https://home.liebertpub.com/bio> [Internet]. 13 de junio de 2022 [citado 28 de enero de 2024];20(3):224-8. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/bio.2021.0063>
37. Secretaría General. DOF 26-03-2014. 2014 [citado 19 de octubre de 2023]. Reglamentode la Ley General de Salud en materia de control sanitario de la disposición de órganos, tejidos y cadáveres de seres humanos. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmcsdotsh.html>

38. CTRNet, The University of British Columbia (UBC), Office of Biobank Education. Biobank Resource Centre. 2024 [citado 22 de febrero de 2024]. Labopat Biobank, Mexico. Disponible en: <https://biobanking.org/biobanks/view/115>
39. Plenilunia Salud Mujer. Plenilunia. 2020 [citado 22 de febrero de 2024]. Biobanco Nacional de Demencias, estudia enfermedades neurodegenerativas - Plenilunia. Disponible en: <https://plenilunia.com/voluntades-en-accion/biobanco-nacional-de-demencias-estudia-enfermedades-neurodegenerativas/80236/>
40. Dolores M. Foro Consultivo. 2018 [citado 22 de febrero de 2024]. Biobancos, en busca de la identificación de restos humanos. Disponible en: <https://www.foroconsultivo.org.mx/FCCyT/boletines-de-prensa/biobancos-en-busca-de-la-identificaci%C3%B3n-de-restos-humanos>
41. Pérez. Isabel. Ciencia UNAM-DGDC. 2019 [citado 22 de febrero de 2024]. Banco de Semillas, una opción para la conservación de especies de México. Disponible en: <https://ciencia.unam.mx/leer/874/banco-de-semillas-una-opcion-para-la-conservacion-de-especies->
42. Sohail M, Palma-Martínez MJ, Chong AY, Quinto-Cortés CD, Barberena-Jonas C, Medina-Muñoz SG, et al. Mexican Biobank advances population and medical genomics of diverse ancestries. *Nature* 2023 622:7984 [Internet]. 11 de octubre de 2023 [citado 22 de febrero de 2024];622(7984):775-83. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41586-023-06560-0>
43. Instituto Mexicano del Seguro Social. Gobierno de México. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. El Biobanco del IMSS en la vigilancia genómica del COVID-19. Disponible en: <https://www.gob.mx/imss/articulos/el-biobanco-del-imss-en-la-vigilancia-genomica-del-covid-19>
44. Peñafior-Juárez K. California Cryobank Company. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Cordón Vital: Preservación de células Madre. Disponible en: <https://cordovital.com/>

45. Comisión Coordinadora de Institutos Nacionales de Salud y Hospitales de Alta Especialidad. Gobierno de México. 2016 [citado 19 de octubre de 2023]. Concluye con éxito el primer curso de biobancos Llevado a cabo en México. INCan. Disponible en: <https://www.gob.mx/insalud/articulos/concluye-con-exito-el-primer-curso-de-biobancos-llevado-a-cabo-en-mexico>
46. Gutiérrez-Jaber I. TecScience. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. El Proyecto oriGen busca resolver el genoma mexicano |. Disponible en: <https://tecscience.tec.mx/es/salud/proyecto-origen-genoma-mexicano/>
47. Luna-Muñoz J. Gobierno de México. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Banco Nacional de Cerebros. Disponible en: <https://conexion.cinvestav.mx/multimedia/Galer%C3%ADa/emodule/395/gallery/80>
48. Páramo O. Gaceta UNAM. 2022 [citado 19 de octubre de 2023]. Donar tu cuerpo, un acto de vida más allá de la muerte. Disponible en: <https://www.gaceta.unam.mx/donar-tu-cuerpo-un-acto-de-vida-mas-alla-de-la-muerte/>
49. Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea. Gobierno de México. 2018 [citado 19 de octubre de 2023]. Datos Abiertos: Directorio de banco de sangre. Disponible en: <https://www.gob.mx/cnts>
50. Dorantes-Acosta E. Hospital Infantil de México Federico Gómez. 2019 [citado 19 de octubre de 2023]. Biobanco de Investigación en Células Leucémicas. Disponible en: <http://himfg.com.mx/interna/dirinvestiga/biobanco.php>
51. Herrera-Montalvo LA. Informe de autoevaluación del director general. Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) [Internet]. 30 de junio de 2019 [citado 19 de octubre de 2023]; Disponible en: https://www.inmegen.gob.mx/media/filer_public/6d/d9/6dd93a38-7ee0-44bf-8f08-dd540395107f/informe_de_autoevaluacion_2019_final.pdf
52. Holub P, Swertz M, Reihls R, Van Enckevort D, Müller H, Litton JE. BBMRI-ERIC Catalogue: Non Human. Biopreserv Biobank [Internet]. 1 de diciembre

de 2016 [citado 28 de enero de 2024];14(6):559-62. Disponible en: https://directory.bbmri-eric.eu/#/catalogue?type=NON_HUMAN

53. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Gobierno de México. 2017 [citado 19 de octubre de 2023]. Licencia Sanitaria de Servicios de Salud. Disponible en: <https://www.gob.mx/cofepris/acciones-y-programas/licencia-sanitaria-de-servicios-de-salud-nuevo>
54. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Catálogo Nacional. 2024 [citado 1 de febrero de 2024]. Solicitud de Licencia Sanitaria para Establecimientos de Salud con Servicio de Banco de Órganos, Tejidos No Hemáticos y Células. Disponible en: <https://catalogonacional.gob.mx/FichaTramite/COFEPRIS-09-024.html>
55. Lorca-Tobar C. BTUCH. 2023 [citado 20 de octubre de 2023]. SOBRE NOSOTROS – Biobanco de Tejidos y Fluidos de la Universidad de Chile. Disponible en: <https://biobanco.uchile.cl/sobre-nosotros/>
56. Mordor Intelligence. Biobanks Market Size & Share Analysis -Growth Trends & Forecasts (2023 - 2028) [Internet]. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-biobank-market>
57. Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. Gobierno de Méxio. 2018 [citado 19 de octubre de 2023]. Acuerdo por el que se da a conocer la lista de Instituciones reconocidas por el IMPI para el depósito de material biológico. Disponible en: <https://www.gob.mx/impia/acciones-y-programas/acuerdo-por-el-que-se-da-a-conocer-la-lista-de-instituciones-reconocidas-por-el-impia-para-el-deposito-de-material-biologico>
58. UK Health Security Agency. European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACC). Culture Collections; 2023.
59. American Type Culture Collection (ATCC). Cell Products [Internet]. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.atcc.org/>

60. Leibniz Institute. DSMZ - German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH [Internet]. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.dsmz.de/>
61. Institute of Microbiology Chinese Academy of Sciences. China General Microbiological Culture Collection Center (CGMCC) About Us [Internet]. 2013 [citado 19 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.cgmcc.net/english/product>
62. Holub P, Swertz M, Reihls R, Van Enckevort D, Müller H, Litton JE. BBMRI-ERIC Catalogue. Biopreserv Biobank [Internet]. 1 de diciembre de 2016 [citado 31 de enero de 2024]; Disponible en: <https://directory.bbMRI-eric.eu/#/catalogue>
63. UK Clinical Research Collaboration. Tissue Directory and Coordination Centre. 2023 [citado 31 de enero de 2024]. UKCRC Tissue Directory. Disponible en: <https://directory.biobankinguk.org/Profile/Biobanks>
64. CTRNet, The University of British Columbia (UBC), Office of Biobank Education and Research (OBER). Biobank Resource Centre [Internet]. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://biobanking.org/locator>
65. New South Wales Health Pathology (NSW-HP). NSW Government. 2023 [citado 31 de enero de 2024]. Biobank Locator. Disponible en: <https://nsw.biobanking.org/locator>
66. National Cancer Institute. Specimen Resource Locator [Internet]. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Disponible en: [https://www.specimens.cancer.gov/search/?](https://www.specimens.cancer.gov/search/)
67. Ruiz-Godoy L, Giménez L, Céspedes G, Neffa M, Puricelli L, Stefanoff G. Red de Institutos e Instituciones Nacionales de Cáncer. 2015 [citado 31 de enero de 2024]. Requerimientos mínimos para la implementación, organización y manutención de biobancos - Red de Biobancos de Latinoamérica y del Caribe (REBLAC) / RINC / UNASUR (Brasil). Disponible en:

https://ninho.inca.gov.br/jspui/bitstream/123456789/4666/1/Gustavo_poster3.pdf

68. Constantin Baltatu O, Lu Y, Jiao Tong University S, Zhen Yang C, Wang C, Chen Y, et al. The Scale, Collections, and Biospecimen Distribution of Grade A Tertiary Hospital Biobanks in China: A National Survey. *Hospital Biobanks in China: A National Survey Front Med* [Internet]. 2021 [citado 19 de octubre de 2023];1:560600. Disponible en: www.frontiersin.org
69. Omae Y, Goto YI, Tokunaga K. National Center Biobank Network. *Nature* [Internet]. 2022 [citado 19 de octubre de 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41439-022-00217-6>
70. ISBER Head Office. News & Press: Biorepository Profile. 2019 [citado 19 de octubre de 2023]. Developing Biobanking in Russia: the first essential steps are taken - ISBER. Disponible en: <https://www.isber.org/news/505240/Developing-Biobanking-in-Russia-the-first-essential-steps-are-taken.htm>
71. Kim H, So -, Kim Y, Joly Y. South Korea: in the midst of a privacy reform centered on data sharing. *Human Genetics* [Internet]. 2018 [citado 19 de octubre de 2023];137:627-35. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00439-018-1920-1>
72. Fernandez M. CIBERES. 2013 [citado 19 de octubre de 2023]. Plataforma Red Nacional de Biobancos: : Un valor añadido para la comunidad Científica. Disponible en: https://biobancopulmonar.ciberes.org/sites/default/files/triptico_Investigadores_Nuevo_reordenado.pdf
73. Ramalho IC, Maranduba CM da C. Biobanks: a basis for quality research. *Einstein (Sao Paulo)* [Internet]. 20 de diciembre de 2019 [citado 19 de octubre de 2023];18:eCE5266. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31859788/>

74. Comisión ad hoc en Biobancos, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. 2012 [citado 19 de octubre de 2023]. Resultados del Primer Relevamiento sobre biobancos para investigación y guías para su creación, funcionamiento y gestión. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/resultados-relevamiento.pdf>
75. Ríos JA, Alcalde E, Ramírez E, Campbell M, Labbé TP, Becerra S, et al. Una red de biobancos para Chile: investigar hoy, para curar mañana. Rev Med Chil [Internet]. 2019 [citado 19 de octubre de 2023];147(7):901-9. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872019000700901&lng=es&nrm=iso&tlng=es
76. Universidad Externado de Colombia. Los biobancos en Colombia: Informe sobre la investigación realizada en el Externado de Colombia en el marco del proyecto Latinbanks. Agencia de Noticias [Internet]. 2010 [citado 19 de octubre de 2023]; Disponible en: <https://www.uexternado.edu.co/wp-content/uploads/2017/10/Boletin-Der-y-Vida-89-Febrero-2010-2.pdf>
77. Biobank BGSi. Eijkman Institute for Molecular Biology. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Biobank Service Unit. Disponible en: <https://bgsi.kemkes.go.id/platform/biobank>
78. IMERI. Universitas Indonesia. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Bio-Bank: Indonesia Medical Education and Research Institute. Disponible en: <https://imeri.fk.ui.ac.id/bio-bank/>
79. Mukudu H, Martinson N, Sartorius B, Coetzee J, Dietrich J, Mokgatswana K, et al. Afri-Can Forum 2. BMC Infect Dis [Internet]. 12 de julio de 2016;16(S2):315. Disponible en: <http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-016-1466-6>
80. Barrera-Saldaña H. A Model For Implementing A Network of Biobanks In A Country. ISBER. Hong Kong: ISBER; 2019.

81. Instituto Nacional de Cancerología. Cancer.gov. 2021 [citado 20 de octubre de 2023]. Red de Biobancos de Latinoamérica y del Caribe (REBLAC). Disponible en: <https://www.cancer.gov.co/portafolio-1/servicios-apoyo/banco-nacional-tumores-terry-fox/red-biobancos-latinoamerica-del-caribe>
82. UDEM. Noticias. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Trabaja para apoyar investigaciones con tejido cardiovascular humano. Disponible en: <https://www.udem.edu.mx/es/institucional/noticia/trabajara-para-apoyar-investigaciones-con-tejido-cardiovascular-humano>
83. CTRNet, The University of British Columbia (UBC), Office of Biobank Education and Research (OBER). Biobank Resource Centre. 2024 [citado 22 de febrero de 2024]. Biobank of the Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD), Mexico. Disponible en: <https://biobanking.org/biobanks/view/604>
84. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. YouTube. 2023 [citado 31 de enero de 2024]. DIGIPRIS: Ensayos clínicos. Disponible en: https://www.youtube.com/watch?v=v_o8vaqx4M8&ab_channel=COFEPRIS
85. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. COFEPRIS-05-034-B Licencia Sanitaria para Establecimiento de Atención Médica con Disposición y/o Banco de Organos, Tejidos y Células. Listados de autorizaciones en servicios de salud [Internet]. 2017 [citado 31 de enero de 2024]; Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/322872/SEASS_TRASP.pdf
86. Aguirre-Guillén WA, Angeles-Floriano T, López-Martínez B, Reyes-Morales H, Zlotnik A, Valle-Rios R. Omics techniques and biobanks to find new biomarkers for the early detection of acute lymphoblastic leukemia in middle-income countries: a perspective from Mexico. Bol Med Hosp Infant Mex

- [Internet]. 1 de mayo de 2017 [citado 20 de octubre de 2023];74(3):227-32. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29382491/>
87. Academia Nacional de Medicina de México. Facebook Live. 2019 [citado 24 de febrero de 2024]. Biobancos en México: del Laboratorio Nacional Biobanco a la Red Mexicana de Biobancos. Disponible en: https://www.facebook.com/watch/live/?ref=watch_permalink&v=407389109878467
 88. Zapata-Tarrés M, Carlos Balandrán J, Rivera-Luna R, Pelayo R. Childhood Acute Leukemias in Developing Nations: Successes and Challenges. *Curr Oncol Rep* [Internet]. 2021 [citado 6 de febrero de 2024];23(56). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33755790/>
 89. CONAHCYT. Gobierno de México. 2024 [citado 20 de abril de 2024]. Leucemia Infantil. Disponible en: <https://conahcyt.mx/pronaces/pronaces-salud/leucemia-infantil/>
 90. CONAHCYT. Gobierno de México. 2024 [citado 6 de febrero de 2024]. Proyectos Leucemia. Disponible en: <https://conahcyt.mx/pronaces/pronaces-salud/leucemia-infantil/proyectos/>
 91. CONAHCYT. Gobierno de México. 2023 [citado 19 de octubre de 2023]. Laboratorio de Citómica para el Cáncer Infantil. Disponible en: <https://conahcyt.mx/pronaces/pronaces-salud/leucemia-infantil/proyectos/leucemia-infantil-proyecto-2/>
 92. Balandrán JC, Dávila-Velderrain J, Sandoval-Cabrera A, Zamora-Herrera G, Terán-Cerqueda V, García-Stivalet LA, et al. Patient-Derived Bone Marrow Spheroids Reveal Leukemia-Initiating Cells Supported by Mesenchymal Hypoxic Niches in Pediatric B-ALL. *Front Immunol* [Internet]. 19 de octubre de 2021 [citado 19 de octubre de 2023];12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34737747/>
 93. Romo-Rodríguez R, Zamora-Herrera G, López-Blanco JA, López-García L, Rosas-Cruz A, Alfaro-Hernández L, et al. Subclassification of B-acute

lymphoblastic leukemia according to age, immunophenotype and microenvironment, predicts MRD risk in Mexican children from vulnerable regions. *Front Oncol* [Internet]. 5 de enero de 2023 [citado 24 de febrero de 2024];13. Disponible en: [/pmc/articles/PMC10796993/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40711113/)

94. Ingangi V, Minopoli M, Ragone C, Motti ML, Carriero MV. Role of microenvironment on the fate of disseminating cancer stem cells. Vol. 9, *Frontiers in Oncology*. Frontiers Media S.A.; 2019.
95. Valladares-Salgado A, Reyes-Fuentes A, Cueto-Manzano A, Gallegos-Cigarroa A, Sepúlveda-Vildósola A, Gallardo-Hernández A, et al. *Contribuciones del imss a la medicina mundial. Pasado, presente y futuro*. Instituto Mexicano del Seguro Social; 2018.
96. Ladas E. Good Clinical Practice Network. 2023 [citado 24 de octubre de 2023]. InterNational Childhood Leukemia Microbiome/METabolome Cohort (NICHE). Disponible en: <https://ichgcp.net/clinical-trials-registry/NCT05929976>
97. CryoHoldco LATAM. Cryoholdco. 2020 [citado 24 de octubre de 2023]. Bancos de Células Madre. Disponible en: <https://www.cryoholdco.com/#hotspot-62>
98. Parent's Guide to Cord Blood Foundation. Parent's Guide to Cord Blood Foundation: News. 2018 [citado 24 de octubre de 2023]. NECBB and Cord Blood Banking in Latin America. Disponible en: <https://parentsguidecordblood.org/en/news/necbb-and-cord-blood-banking-latin-america>
99. Zatz M. Stem cell researches in Brazil: present and future challenges. *Stem Cell Rev Rep* [Internet]. 2009 [citado 24 de octubre de 2023];5(2):123-9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19225912/>
100. De Paula LB, Primo FL, Pinto MR, Morais PC, Tedesco AC. Combination of hyperthermia and photodynamic therapy on mesenchymal stem cell line treated with chloroaluminum phthalocyanine magnetic-nanoemulsion. *J Magn Magn Mater*. 15 de abril de 2015;380:372-6.

101. Cruz-Barrera M, Flórez-Zapata N, Lemus-Diaz N, Medina C, Galindo CC, González-Acero LX, et al. Integrated Analysis of Transcriptome and Secretome From Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cells Reveal New Mechanisms for the Modulation of Inflammation and Immune Activation. *Front Immunol* [Internet]. 30 de septiembre de 2020 [citado 24 de octubre de 2023];11. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33117373/>
102. Hughes AM, Kuek V, Oommen J, Chua GA, van Loenhout M, Malinge S, et al. Characterization of mesenchymal stem cells in pre-B acute lymphoblastic leukemia. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 20 de enero de 2023 [citado 24 de octubre de 2023];11. Disponible en: </pmc/articles/PMC9897315/>
103. Lindström HJG, Friedman R. Inferring time-dependent population growth rates in cell cultures undergoing adaptation. *BMC Bioinformatics* [Internet]. 1 de diciembre de 2020 [citado 18 de octubre de 2023];21(1):1-13. Disponible en: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12859-020-03887-7>
104. Klionsky DJ, Kamal Abdel-Aziz A, Abdelfatah S, Abdellatif M, Abdoli A, Abel S, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). *Autophagy* [Internet]. 8 de febrero de 2021; Disponible en: <https://www.tandfonline.com/loi/kaup20>
105. Harmati M, Gyukity-Sebestyen E, Dobra G, Janovak L, Dekany I, Saydam O, et al. Small extracellular vesicles convey the stress-induced adaptive responses of melanoma cells. *Sci Rep*. 1 de diciembre de 2019;9(1).
106. Lotfy A, AboQuella NM, Wang H. Mesenchymal stromal/stem cell (MSC)-derived exosomes in clinical trials. Vol. 14, *Stem Cell Research and Therapy*. BioMed Central Ltd; 2023.
107. Kundrotas G, Gasperskaja E, Slapsyte G, Gudleviciene Z, Krasko J, Stumbryte A, et al. Identity, proliferation capacity, genomic stability and novel senescence markers of mesenchymal stem cells isolated from low volume of

- human bone marrow. *Oncotarget* [Internet]. 3 de marzo de 2016 [citado 24 de octubre de 2023];7(10):10788. Disponible en: [/pmc/articles/PMC4905439/](#)
108. Meng QS, Liu J, Wei L, Fan HM, Zhou XH, Liang XT. Senescent mesenchymal stem/stromal cells and restoring their cellular functions. *World J Stem Cells* [Internet]. 9 de septiembre de 2020 [citado 24 de octubre de 2023];12(9):966. Disponible en: [/pmc/articles/PMC7524698/](#)
109. Bahsoun S, Coopman K, Akam EC. The impact of cryopreservation on bone marrow-derived mesenchymal stem cells: a systematic review. *J Transl Med* [Internet]. 29 de noviembre de 2019 [citado 14 de febrero de 2024];17(1):397. Disponible en: [/pmc/articles/PMC6883667/](#)
110. Gao S, Takami A, Takeshita K, Niwa R, Kato H, Nakayama T. Practical and safe method of cryopreservation for clinical application of human adipose-derived mesenchymal stem cells without a programmable freezer or serum. *bioRxiv* [Internet]. 7 de junio de 2019 [citado 5 de noviembre de 2023];664524. Disponible en: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/664524v1>
111. García-Merino I. Importancia en la investigación de un biobanco especializado en muestras y datos de pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). Universidad Autónoma de Madrid. 2013;
112. Cai Y, Prochazkova M, Kim YS, Jiang C, Ma J, Moses L, et al. Assessment and comparison of viability assays for cellular products. *Cytherapy*. 1 de febrero de 2024;26(2):201-9.
113. Froehlich T, Froehner S. Use of a reagent for the lysis of erythrocytes as well as methods and kits relating thereto. 4 de mayo de 2016;
114. Arslan M. Effects of centrifugation and washing of freeze-thawed blood on isolated DNA characteristics. *Turk J Vet Anim Sci* [Internet]. 2022 [citado 15 de febrero de 2024]; Disponible en: <https://doi.org/10.3906/vet-2106-94> Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol46/iss1/16>

115. Amersham Biosciences. Ficoll-Paque PLUS For in vitro isolation of lymphocytes. 2001 [citado 19 de mayo de 2024]; Disponible en: [https://pro.unibz.it/staff2/sbenini/documents/Protein%20purification%20hand books/Don't%20move/18115269AB.pdf](https://pro.unibz.it/staff2/sbenini/documents/Protein%20purification%20hand%20books/Don't%20move/18115269AB.pdf)
116. Berger DR, Aune ET, Centeno CJ, Steinmetz NJ. Cryopreserved bone marrow aspirate concentrate as a cell source for the colony-forming unit fibroblast assay. *Cytotherapy*. 1 de septiembre de 2020;22(9):486-93.
117. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Guía práctica para la utilización de muestras biológicas en investigación biomédica. Gobierno de España [Internet]. 2012 [citado 5 de noviembre de 2023]; Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/investigacionClinica/medicamentos/docs/cap2.pdf>
118. Linkova DD, Rubtsova YP, Egorikhina MN. Cryostorage of Mesenchymal Stem Cells and Biomedical Cell-Based Products. Vol. 11, *Cells*. MDPI; 2022.
119. Fernández-Lago O, Morente M. Modelo de Análisis de Costes para Biobancos. Red Biobancos Instituto de Salud Carlos III [Internet]. 2012 [citado 15 de febrero de 2024]; Disponible en: <https://redbiobancos.es/wp-content/uploads/modelo-analisis-costes-biobancos.pdf>
120. Beatriz Gonzalez-Sanchez M, Lopez-Valeiras E, Morente MM, Fernández Lago O. Cost Model for Biobanks. 2013;
121. CTRNet. Biobank Resource Centre: Biospecimen User Fee Calculator [Internet]. 2024 [citado 21 de abril de 2024]. Disponible en: <https://biobanking.org/webs/biobankcosting>
122. COFEPRIS. Solicitud de licencia sanitaria para establecimientos de salud con disposición de células troncales. Gobierno de México [Internet]. 2017 [citado 5 de noviembre de 2023]; Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/652290/COFEPRIS-09-026-B.pdf>

123. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. DOF - Diario Oficial de la Federación. 2020 [citado 20 de octubre de 2023]. Programa Institucional 2020-2024 del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (PIINCMNSZ). Disponible en: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5606078&fecha=27/11/2020&print=true
124. Campbell LD, Fay Betsou, Leiolani Garcia D, Judith Giri MG, Pitt KE, Pugh RS, et al. Best Practices for Repositories: Collection, Storage, Retrieval and Distribution of Biological Materials for Research International Society for Biological and Environmental Repositories Third Edition [Internet]. 2011. Disponible en: www.isber.org
125. Turrioni AP, de Oliveira Neto NF, Xu Y, Morse L, de Souza Costa CA, Battaglino R, et al. Proliferation rate and expression of stem cells markers during expansion in primary culture of pulp cells. Braz Oral Res [Internet]. 6 de diciembre de 2021 [citado 19 de mayo de 2024];35:e128. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/bor/a/n9tHwbXPVSGFGBPxNMZNRkh/?lang=en>
126. Díaz M, Herrero M, García LA, Quirós C. Flow Cytometry. En: Comprehensive Biotechnology. Elsevier; 2011. p. 967-81.

13 Anexos

13.1 Definiciones operacionales

El almacenamiento de muestras del Acervo Celular de Leucemia Infantil, así como los datos asociados a los especímenes, es registrado en la nube a través de Formularios de Google. La viabilidad de las células almacenadas en el acervo es medida por exclusión de azul de tripano, mientras que el recuento celular se lleva a cabo mediante tinción por líquido de Turk. El radio de crecimiento observado en las CEM derivadas de los especímenes fue calculado a través de la división del porcentaje de confluencia observado en la placa, sobre el número de días en que ésta demora en llegar a dicho crecimiento.

13.2 Definiciones conceptuales

- Acervo Celular: Entidad que recibe, procesa, almacena y/o distribuye muestras biológicas tomadas de un sujeto de estudio o donante y sus datos asociados para apoyo de estudios de investigación (124).
- Espécimen: Tejido específico, sangre, orina u otro material recogido para su análisis o un pequeño fragmento de tejido para estudio microscópico, tomado de un solo sujeto o donante en un momento específico (8).
- Muestra: Una única unidad que contiene material derivado de un espécimen (8).
- Viabilidad: Porcentaje de células vivas en una muestra biológica, puede verse afectada por los procedimientos de transporte del espécimen, purificación y almacenamiento, es necesario contar con una alta viabilidad en las muestras almacenadas en un acervo o biobanco (8).
- Crioconservación: Enfriamiento de células a bajas temperaturas (-80°C o 136°C) con el objetivo de retrasar o detener de forma efectiva la actividad biológica y reacciones bioquímicas que llevarían a la muerte celular (8).
- Radio de Crecimiento: Es una variable que indica qué tan rápido la población de un cultivo celular cambia a lo largo del tiempo, puede correlacionarse con factores como la presencia de fármacos, toxinas, temperatura o cambios genéticos en las células (103).

13.3 Descripción de las técnicas de medición de las variables relevantes

- Exclusión de azul de tripán: El fundamento de esta técnica de tinción consiste en que el colorante penetra en las células cuya membrana celular se encuentra comprometida, lo que hace que se tiñan de color azul, en cambio, las células con la membrana celular intacta, es decir, las células viables, no se teñirán (8).
- Radio de crecimiento: Generalmente es calculado por medio de la estimación del incremento del número de células a lo largo del tiempo (125). Los protocolos propuestos por diversos autores involucran el conteo celular por medio de la tinción de las células con marcadores fluorescentes o anticuerpos (126), lo que conllevaría imposibilitar que estas valiosas células

se puedan almacenar posteriormente para futuras investigaciones después de haber sido evaluado el crecimiento, impidiendo el cumplimiento del propósito del acervo, otros autores proponen que es posible tomar en consideración nuevas propuestas de fórmulas que tomen en cuenta otros factores, de manera que no sea necesaria la manipulación de las células, como la utilizada en este trabajo de tesis (103).

13.4 Formatos de captura de datos

Para la captura de datos del registro de almacenamiento de las muestras (**Figura 7**) se utilizó un formulario de Google vinculado a una hoja de cálculo al cual se le envía la información registrada en tiempo real. Los datos relevantes de los especímenes son registrados mediante preguntas de opción múltiple o complementación. Los datos registrados son el folio PRONACE, la Institución de donde se registra el almacenamiento de la muestra (de las instituciones sede del acervo), el tipo de leucemia (LLA, LMA, o No LA), iniciales del paciente, el Estado de procedencia (Puebla, Oaxaca o Tlaxcala), tipo de espécimen, tipo de muestra almacenada, seguimiento del paciente, fecha de procesamiento, código de la muestra (escrito con base en el protocolo de etiquetado de las muestras), nombre de la caja de almacenamiento, coordenada de almacenamiento, porcentaje de viabilidad y comentarios referentes a la muestra.

Se utilizó un formulario de Google vinculado a una hoja de cálculo para el registro de Seguimiento de CEM (**Figura 8**). Es posible dividir este seguimiento en 3 partes:

1. Información del cultivo: Incluye el folio PRONACE, institución de procedencia, iniciales del paciente, fecha de siembra, seguimiento, número de placa de cultivo, número de pase del cultivo.
2. Observaciones: Incluye el porcentaje de crecimiento, morfología, presencia de estrés, vacuolas, desechos, células no adheridas, fotografía del cultivo y comentarios.
3. Toma de decisiones: Incluye la tripsinización al siguiente pase del cultivo celular, crioconservación o eliminación del cultivo.

13.5 Formatos de consentimiento informado

Las muestras utilizadas son provenientes del PRONAI de Leucemia infantil cuentan con el debido formato de consentimiento informado para el uso de la muestra. La realización de este trabajo de tesis no requirió del sometimiento de un nuevo consentimiento informado, pues los objetivos solo involucraron la parte operativa de las muestras biológicas mencionadas.

13.1 Productos

Como producto de este trabajo de tesis, es posible mencionar la participación como segundo autor en el artículo “*Implementation of a roadmap for the comprehensive diagnosis, follow-up, and research of childhood leukemias in vulnerable regions of Mexico: results from the PRONAI Strategy*” publicado el 2 de Abril del 2024 en la editorial *Frontiers in Oncology* (<https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1304690>). Dentro del artículo aparecen resultados derivados de este trabajo de tesis.

13.2 Autoevaluación de las Buenas Prácticas recomendadas por la ISBER

Con el objetivo de comparar las prácticas de los biobancos con las recomendaciones establecidas por la ISBER, la 4ª Edición de la Guía para Biobancos de esta organización proporciona apartados específicos en cada sección que detallan las Buenas Prácticas Recomendadas para cada tema abordado.

Es importante destacar que la ISBER reconoce que estas buenas prácticas están conformadas por prácticas que están por encima del nivel básico recomendado, y que es posible que las limitaciones físicas y financieras pueden dificultar o impedir su implementación, por lo tanto, cada biobanco debe evaluar cuidadosamente la mejor manera de incorporar estas recomendaciones en función de sus propias circunstancias. A partir de esto, en la **Tabla 3** se presenta un ejemplo de una propuesta de autoevaluación del cumplimiento de las Buenas Prácticas Recomendadas por la ISBER, evaluando inicialmente 35 de las 199 recomendaciones, con la perspectiva de que permita identificar las prácticas que el acervo ya cumple y aquellas que requieren una mejora contemplando a una futura certificación, recalando que el objetivo no es el cumplimiento en su totalidad de las

199 recomendaciones mencionadas en la obra, sino identificar todas las posibles oportunidades de mejoras puntuales que puedan realizarse para una mejora continua en los procesos del acervo

Tabla 3. Lista de recomendaciones de la IBSER en la 4° Edición de Buenas Prácticas: Recomendaciones para biobancos

Sección	Buenas Prácticas Recomendadas	Autoevaluación
Consideraciones sobre la organización del Biobanco	1 Un biobanco debe contar con un órgano de gobierno y políticas escritas que cubran el ciclo de vida completo del biobanco.	1 Cumple
	2 Los planes de negocio del biobanco deben incluir los términos y condiciones del órgano de supervisión de gobernanza.	2 Cumple
	3 La información sobre las estructuras operativas y de gobernanza del biobanco debe estar disponible para las partes interesadas.	3 Cumple
	4 Se debe incorporar al plan de negocio del biobanco un plan de gobernanza escrito sobre los especímenes y datos, siendo ampliamente distribuido y fácilmente accesible.	4 Cumple
Instalaciones	5 La planificación de un repositorio dentro de unas instalaciones debe tener en cuenta las condiciones ambientales que experimenta la región donde está ubicado (por ejemplo, incendios, inundaciones, vientos fuertes, terremotos, tsunamis) y la disponibilidad de recursos (por ejemplo, acceso a agua refrigerada, electricidad estable, nitrógeno líquido). Se debe establecer un plan de recuperación ante desastres para el repositorio de acuerdo con la Sección B8. Preparación ante emergencias.	5 Cumple
	6 Para una vida útil óptima del equipo de refrigeración mecánica, la temperatura ambiente del biobanco se debe supervisar y controlar siguiendo las instrucciones de temperatura y humedad de los fabricantes. Esto es especialmente importante en las salas que contienen varias unidades mecánicas.	6 Cumple
	7 Se deben combinar dispositivos de supervisión adecuados (por ejemplo, monitores de oxígeno y/o CO ₂), preferiblemente con alarmas auditivas y visuales, con un sistema de escape exclusivo, e instalarlos dentro de áreas en las que el nivel de oxígeno pudiera descender o se puedan acumular gases dañinos. Este sistema proporciona una cantidad suficiente de aire en recirculación para reemplazar el volumen de aire de una habitación de acuerdo con las normativas locales. Los gases extraídos se vierten al exterior del edificio, según las normativas, y nunca a las zonas internas del edificio.	7 Oportunidad de mejora
	8 Los biobancos ubicados en áreas en las que la humedad es elevada (por ejemplo, en la costa) deben emplear un sistema de deshumidificación para asegurar un óptimo funcionamiento del equipo.	8 Oportunidad de mejora
Equipos de almacenamiento y procesamiento	9 Los biobancos deben contar con energía o sistemas alternativos de refrigeración, así como con un plan de respuesta frente a emergencias.	9 Cumple
	10 Los sistemas deben estar equipados con compresores redundantes que funcionen con un sistema de control eléctrico alternativo.	10 Cumple
	11 Se debe utilizar una señalización adecuada para el almacenamiento apropiado.	11 Cumple
	12 Con el fin de prever la posibilidad de contaminación del congelador por sangre u otros fluidos, se debe disponer con antelación de equipos y procedimientos de descontaminación.	12 Oportunidad de mejora
Gestión de la calidad	13 Los procedimientos normalizados de trabajo (PNT) deben revisarse anualmente y/o cuando la política o los métodos cambien.	13 Oportunidad de mejora

	<p>14 Debe establecerse un sistema para documentar la revisión por el personal de las versiones más recientes de los PNT.</p> <p>15 Debe existir un registro de la formación recibida para la implementación de un PNT.</p> <p>16 Los biobancos deben desarrollar un sistema completo de gestión de registros para poder trazar todas sus operaciones.</p>	<p>14 Oportunidad de mejora</p> <p>15 Oportunidad de mejora</p> <p>16 Cumple</p>
Consideraciones de métodos de validación y control de calidad	<p>17 Un método documentado y previamente aprobado de validación de procedimientos debe describir la metodología utilizada en la verificación/validación, lo que está dentro/fuera del alcance de la verificación/validación, y los criterios propuestos que se utilizarán para determinar el resultado de la evaluación. Debe crearse un documento resumen después de realizar la validación para informar con precisión los resultados de la validación del método.</p> <p>18 Los programas de Garantía de calidad externa deben llevarse a cabo, cuando estén disponibles, por lo menos una vez al año.</p> <p>19 Considere la posibilidad de crear un documento de "certificado de análisis" para biomateriales críticos (por ejemplo, células). Este documento contendría los detalles necesarios para asegurar la coherencia entre los lotes y los métodos de análisis utilizados.</p> <p>20 Para los excedentes de tejido recogido por el patólogo a partir de especímenes de resección quirúrgica diagnóstica, se debe realizar la verificación del diagnóstico y los porcentajes de tumor y necrosis para cada alícuota debido a la heterogeneidad del tejido. Esto puede hacerse mediante un análisis patológico del corte superior para muestras incluidas en un medio sólido o mediante un análisis del fragmento inmediatamente a continuación para las muestras conservadas sin medio de inclusión.</p>	<p>17 Oportunidad de mejora</p> <p>18 Oportunidad de mejora</p> <p>19 Oportunidad de mejora</p> <p>20 No aplica</p>
Seguridad	<p>21 Se debe llevar a cabo una evaluación de riesgos para asegurar que se cumplan todas las normativas.</p> <p>22 El personal en riesgo de exposición a enfermedades infecciosas prevenibles con vacunas debe recibir las vacunas apropiadas.</p> <p>23 Cuando sea posible, reemplace los productos químicos que son peligrosos para el personal o el medio ambiente con productos alternativos.</p> <p>24 Se deben seguir todas las normativas referentes a la seguridad química.</p>	<p>21 Cumple</p> <p>22 Cumple</p> <p>23 Cumple</p> <p>24 Cumple</p>
Formación	<p>25 Para asegurar la calidad de las actividades del biobanco, el rendimiento de los empleados debe supervisarse de forma rutinaria, para identificar las necesidades de formación adicional entre los intervalos de formación habituales. Cuando se contrata por primera vez a un empleado, se le debe informar de que la supervisión rutinaria del rendimiento de los empleados es parte de las prácticas habituales, para asegurar la calidad, y que incluye a todo el personal del biobanco.</p> <p>26 Una vez completada la formación, el instructor debe estar disponible para responder preguntas las primeras veces que el alumno esté realizando la tarea.</p>	<p>25 Cumple</p> <p>26 Cumple</p>

	27 La formación debe ser periódica y documentada, y estar de acuerdo con las necesidades de las tareas concretas que se van a realizar.	27 Oportunidad de mejora
Gestión de costes	28 Los biobancos deben desarrollar un plan de negocio basado en los objetivos y la estrategia, así como en los costes conocidos y estimados, asegurando al mismo tiempo que todos los costes estén documentados para apoyar las estrategias de sostenibilidad. 29 Los biobancos deben tener proyecciones de sostenibilidad a largo plazo, además de planes presupuestarios anuales. 30 Antes de valorar los costes, evalúe todos los flujos de trabajo, sistemas, equipos, suministros y servicios para permitir la recuperación de costes y minimizar los gastos innecesarios. 31 Se debe considerar la vida operativa del equipamiento para preparar las compras de sustitución y expansión que sean necesarias.	28 Cumple 29 Cumple 30 Oportunidad de mejora 31 Cumple
Sistemas de gestión de la información de biobancos	32 A las muestras que se reciben en el biobanco se les debe proporcionar una etiqueta impresa que incluya un código de barras y un número de identificación del espécimen, si no hay ninguno en el recipiente del espécimen. 33 Los sistemas de inventario deben poder brindar información referente a los datos necesarios para los requerimientos de la investigación y la gestión de las muestras. Los sistemas deben tener la capacidad de vincular las muestras con los datos asociados (es decir, clínicos, demográficos, preanalíticos). 34 Las características del congelador u otra unidad de almacenamiento deben mantenerse en el sistema (por ejemplo, tipo, situación, temperatura). 35 Para auditar (es decir, realizar el control de calidad) la ubicación del espécimen, se debe verificar una lista de muestras generadas aleatoriamente en un subconjunto de los especímenes almacenados regularmente, para garantizar que los especímenes se encuentren en la ubicación especificada correcta según el sistema de inventario.	32 Oportunidad de mejora 33 Cumple 34 Oportunidad de mejora 35 Cumple