

# Tabla de Contenido

<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. La Insuficiencia Ovárica Prematura (POI)	1
1.2. Terapia Celular	2
1.3. Células Madre	2
1.3.1. Embrionarias	3
1.3.2. Pluripotentes Inducidas	3
1.3.3. Mesenquimales	3
<b>2. Objetivos</b>	<b>5</b>
2.1. General	5
2.2. Específicos	5
2.3. Limitaciones	5
<b>3. Marco Teórico</b>	<b>6</b>
3.1. Uso de Células Madre en terapia celular como tratamiento para la POI	6
3.2. Expansión de células madre	7
3.2.1. Obtención	7
3.2.2. Placas Adherentes	7
3.2.3. Cultivo en suspensión con Microcarriers - Spinner Flasks	7
3.2.4. Cultivo en suspensión con Microcarriers - Matraz Erlenmeyer	8
3.2.5. Consideraciones clave para el cultivo en microcarriers	9
3.3. Medio de cultivo	9
3.3.1. Tipos de Medio	10
3.3.2. Composición del Medio de cultivo	10
3.4. Eficiencia en la producción de energía de las células	12
3.5. Métodos de conteo celular para cultivo en microcarriers	12
<b>4. Materiales y Método</b>	<b>13</b>
4.1. Materiales	13
4.1.1. Reactivos	13
4.1.2. Equipos	13
4.1.3. Material de Laboratorio	14
4.2. Método	14
4.2.1. Preparación del medio de cultivo alpha-MEM suplementado con anti-oxidantes	14
4.2.2. Obtención de WJ-MSCs	15

4.2.3.	Obtención de ADSCs . . . . .	15
4.2.4.	Conservación de las células: Criopreservación . . . . .	16
4.2.5.	Conteo celular . . . . .	16
4.2.6.	Cultivo en placas adherentes . . . . .	18
4.2.7.	Cultivo en suspensión . . . . .	19
4.2.8.	Caracterización del Cultivo . . . . .	22
<b>5.</b>	<b>Resultados y discusión</b>	<b>24</b>
5.1.	Calibración del método de medición de la densidad celular por fluorescencia .	24
5.1.1.	Curva de fluorescencia: Cytodex <sup>®</sup> 1 . . . . .	24
5.1.2.	Curva de fluorescencia: Cytodex 3 . . . . .	27
5.1.3.	Sobre el método de conteo por fluorescencia . . . . .	30
5.2.	Crecimiento celular en placas - ADCs . . . . .	32
5.2.1.	Primera Instancia . . . . .	32
5.2.2.	Segunda instancia . . . . .	35
5.3.	Crecimiento celular en suspensión . . . . .	38
5.3.1.	Cultivos A, B y C: ADCs en Spinner Flasks . . . . .	38
5.3.2.	Cultivo D: ADCs en Matraz de Erlenmeyer . . . . .	43
5.3.3.	Cultivo E: WJ-MSCs en Spinner Flask . . . . .	46
5.3.4.	Comparación entre cultivos . . . . .	50
5.4.	Potencial de diferenciación . . . . .	52
5.5.	Sobre el estudio de marcadores . . . . .	53
	<b>Conclusiones</b>	<b>54</b>
	<b>Anexo</b>	<b>62</b>
5.6.	Anexo A . . . . .	62