

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION



TITULO:

**Expresión de SVCT2 en el área neurogénica post-natal y función de la vitamina C en las células precursoras cerebrales**

Tesis de doctorado presentada a la Escuela de Graduados de la Universidad de Concepción como parte de los requisitos para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas, área Biología Celular y Molecular

Por

***Patricia Loreto Pastor Faúndez***

2011

## RESUMEN

Se ha demostrado la existencia de neurogénesis post-natal en la pared anterior de los ventrículos cerebrales, a partir de una estructura denominada nicho neurogénico. Sin embargo, no existen estudios que permitan definir el estadio post-natal donde se forman este nicho. En relación a la organización celular del nicho neurogénico, células GFAP positivas tipo astrocitos (tipo B) actuarían como células precursoras, generando células progenitoras (tipo C) y posteriormente neuroblastos (tipo A) que migran al bulbo olfatorio por la corriente de migración rostral (RMS). Las células endimarias (tipo E) separan al nicho neurogénico de la cavidad ventricular y participan en la regulación de las células tipo B. No se ha logrado identificar marcadores específicos para las células tipo C, además se desconocen muchos aspectos regulatorios de las células del nicho. Definir los factores que regulan la diferenciación de estas células será fundamental en un futuro cercano, para tratar enfermedades complejas como las neurodegenerativas.

Vitamina C, es una de las moléculas que impacta directamente al nicho neurogénico, difundiendo del líquido cefalorraquídeo. Estudios recientes demuestran que vitamina C induce diferenciación neuronal en cultivos de células precursoras embrionarias, sin embargo, no existen estudios del efecto de vitamina C a nivel del nicho neurogénico post-natal. Aun más, no existen análisis sobre la expresión y función del transportador de vitamina C, SVCT2, en estos diferentes tipos celulares.

En esta tesis determinamos que que el nicho neurogénico subventricular se forma a los 15 días post-natal. Las células endimarias son las primeras

células en diferenciarse, comenzando en la segunda semana de desarrollo. Las células tipo B se diferencian a partir de la segunda semana, para originar células tipo C y A. Las células tipo C presentan una activa proliferación, incrementando fuertemente a los 21 días de desarrollo. Paralelamente demostramos la expresión de SVCT2 en el área neurogénica y RMS. Las células positivas para SVCT2, no presentaron reacción para tubulina  $\beta$ III o GFAP, sugiriendo la expresión de SVCT2 en células tipo C o progenitores altamente proliferativos. La expresión de SVCT2 en este tipo celular sugiere un efecto de la vitamina C a este nivel en el nicho neurogénico.

Diferentes estudios fueron realizados utilizando células aisladas de un tumor subventricular humano (HSVT-C3), la línea celular P19 y cultivos primarios de neurósferas postnatales. Los cultivos primarios de células precursoras postnatales presentaron multipotencialidad *in vitro*, generando neuronas, astrocitos y oligodendrocitos. En estos tipos celulares, determinamos que la vitamina C aumenta la expresión de nestina y tubulina  $\beta$ III, marcadores que definen la presencia de progenitores y células neuronales. Además, determinamos un incremento en la expresión y función de transporte de SVCT2, al suplementar con vitamina C. Al incrementar la expresión de SVCT2 se observó una co-localización directa con células nestina positiva. Neurosféricas obtenidas a partir de ratones Twitcher, animales que presentan acumulación de psicosis y una menor presencia de progenitores a nivel del nicho, mostraron una menor expresión de SVCT2 y nestina, correlacionando la presencia de células progenitoras y la expresión de SVCT2. De esta forma diferenciamos *in vitro* células progenitoras

nestina positivas, incrementando fuertemente la expresión de SVCT2 en estas células. Finalmente, proponemos que vitamina C y Wnt3 desarrollan una actividad sinérgica en la diferenciación neuronal a nivel del nicho neurogénico.

Hemos definido la presencia de SVCT2 en el área neurogénica y sugerimos que el transportador se encuentra preferentemente expresado en células progenitoras tipo C. Considerando la expresión y función de SVCT2, proponemos que vitamina C potencia la diferenciación neuronal, mediando en una primera etapa la génesis de progenitores y en una segunda etapa la diferenciación neuronal.

