



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD CIENCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ÁREA BIOLOGIA CELULAR Y MOLECULAR

## **Efecto de la vitamina C en la diferenciación postnatal de neuronas corticales**



Profesor Guía: Francisco Nualart Santander  
Dpto. de Biología Celular  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

Tesis para ser presentada a la Dirección de Postgrado de la  
Universidad de Concepción

KATTERINE ANDREA SALAZAR MARTÍNEZ  
CONCEPCIÓN-CHILE  
2010

## RESUMEN

La vitamina C presenta altas concentraciones durante el desarrollo de la corteza cerebral. Esto puede estar relacionado con la capacidad de este nutriente de estimular la génesis de neuronas y astrocitos desde precursores corticales en cultivo. SVCT2 es un cotransportador de sodio y de la forma reducida de la vitamina C, el AA, el cual es expresado en neuronas de la corteza cerebral adulta y embrionaria. Hacia el periodo postnatal, se ha demostrado que la carencia de SVCT2 en animales Knock-out genera daño cortical, y la muerte de los animales a los pocos minutos de nacer. Además, cultivos de neuronas hipocampales de este animal presentan dendritas más cortas y en menor número. Estos resultados sugieren que el AA y SVCT2, son moléculas esenciales en los procesos de diferenciación y maduración de las neuronas corticales. Sin embargo, hasta la fecha no existen estudios que analicen la expresión de esta proteína en la corteza cerebral postnatal, periodo durante el cual las neuronas de la corteza cerebral completan su diferenciación morfológica y adquieren su madurez funcional. Por otra parte, se ha demostrado que muchos de los efectos celulares del AA dependen de la activación de proteínas quinasas, como ERK1/2, las cuales son claves en la diferenciación de líneas neuronales indiferenciadas y de neuronas corticales durante el desarrollo postnatal. Sin embargo, se desconoce si el AA podría activar estas quinasas en células del sistema nervioso y si dicha activación podría estimular la diferenciación celular. Por otra parte, se ha demostrado la existencia de una isoforma corta de SVCT2 expresada en el cerebro fetal humano, que es incapaz de transportar AA y que actuaría como un dominante negativo. Sin embargo, se desconoce el mecanismo exacto de inhibición de la isoforma corta sobre hSVCT2wt y si esta isoforma es expresada en la corteza cerebral postnatal y adulta y en líneas celulares de neuronas.

En esta tesis realizamos estudios de qRT-PCR, hibridación *in situ* e inmunolocalización en preparaciones obtenidas desde diferentes períodos del desarrollo de la corteza cerebral de ratón (P1-P20) y adulto. Nuestros resultados indican que SVCT2 se induce postnatalmente a nivel de las neuronas de la corteza interna, que se encuentran en una etapa activa de diferenciación y maduración. Durante el desarrollo demostramos la presencia

de la forma larga y una forma corta de SVCT2 de ratón. Utilizando técnicas de transfección y transducción lentiviral de la isoforma funcional hSVCT2wt-EYFP, sobreexpresamos este transportador en líneas neuronales inmortalizadas, neuronas corticales *in vitro* y en corteza de animales de 1 día postnatal. Demostramos que SVCT2 sobreexpresado y la incorporación de AA inducen la diferenciación neuronal y, probablemente, estimulan la madurez funcional de las neuronas corticales en cultivo. Determinamos que la sobreexpresión de SVCT2 y el tratamiento con AA promueven la fosforilación de ERK1/2, que podrían participar en la diferenciación de las células neuronales mediada por AA. Mediante análisis de FRET demostramos la heterooligomerización de SVCT2 a nivel intracelular, lo cual podría regular la función de SVCT2 a nivel de la membrana celular. Finalmente, demostramos que la inyección de un lentivirus para SVCT2 en la corteza de animales de 1 día postnatal, promueve diferenciación de neuronas corticales y la migración y arborización en la corteza cerebral.

Podemos concluir que SVCT2 se induce durante el desarrollo postnatal temprano de la corteza cerebral y AA promueve la diferenciación y maduración *in vitro* de neuronas, estimulando fuertemente su arborización. Estudios *in vivo*, demostraron que la sobreexpresión de SVCT2 potencia el fenotipo neuronal, su migración cortical y arborización celular.