



Universidad de Concepción  
Dirección de Postgrado  
Facultad de Ciencias Biológicas - Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas,  
Área Biología Celular y Molecular



**La forma oxidada de vitamina C promueve la muerte celular  
en neuronas sometidas a estrés oxidativo.**

ANDREA ALICIA GARCÍA KRAUSS  
CONCEPCIÓN-CHILE  
2012

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

## RESUMEN

El cerebro es un órgano que debido a su elevado metabolismo oxidativo, genera constantemente una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno (ROS). De esta forma, es necesario que posea mecanismos enzimáticos y no enzimáticos eficientes para detoxificar este tipo de moléculas que pueden desencadenar la muerte celular. En el SNC se ha descrito que la vitamina C, una molécula que se encuentra altamente concentrada en esta zona en comparación a tejidos periféricos, cumpliría roles esenciales entre los cuales destaca su acción como antioxidante.

Existen dos formas en las cuales se puede encontrar la vitamina C. La forma reducida (AA) es incorporada a las neuronas mediante los cotransportadores de sodio ascorbato (SVCT2), en tanto que su forma oxidada (DHA) lo hace mediante los transportadores facilitativos de hexosas, GLUT1 en astrocitos y GLUT3 en neuronas. Se ha postulado que neurona y astrocito interaccionarían para reciclar la vitamina C, siendo el astrocito la célula encargada de mantener las concentraciones necesarias de AA, debido a su mayor poder reductor, para la defensa antioxidativa de la neurona en condiciones de estrés oxidativo; de esta manera, el AA sería incorporado en la neurona mediante SVCT2 en donde cumpliría su rol como molécula antioxidante. Sin embargo, dicho proceso podría ser sobrepasado en condiciones fisiopatológicas en las cuales las cantidades de ROS generados superan las defensas antioxidantes intracelulares. Esto favorecería la oxidación extracelular de AA y se generaría una mayor captación de DHA por las neuronas a través de GLUT3, desconociéndose el efecto que esto podría causar en la neurona bajo estas condiciones de estrés oxidativo crónico.

En esta tesis analizamos el efecto generado por estrés oxidativo e incorporación de DHA sobre la muerte neuronal *in vitro*. Mediante PCR convencional, *Western blot* e

inmunocitoquímica determinamos la presencia de transportadores de DHA, GLUT1 y/ó GLUT3 en nuestras células. Los resultados demuestran que DHA incrementa la muerte en células neuronales sometidas previamente a estrés oxidativo. Además hemos definido que la muerte neuronal no es producto de la incorporación de DHA por sí solo. Paralelamente, hemos determinado que las células astrocíticas, capaces de competir por la incorporación de DHA, pueden revertir la muerte de neuronas estresadas.

Por otro lado, mediante ensayos de *Western blot*, hemos determinado que la vía de señalización del factor nuclear NF- $\kappa$ B se activa rápidamente en células neuronales en respuesta a TNF- $\alpha$  y de forma más lenta en respuesta a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sin embargo, la muerte celular inducida por estrés oxidativo e incorporación de DHA no es mediada por la vía de señalización del factor nuclear NF- $\kappa$ B.

En conjunto nuestros resultados demuestran que la forma oxidada de la vitamina C, DHA, incrementa la muerte de neuronas estresadas siendo el astrocito esencial en el proceso de defensa antioxidativa frente a este fenómeno, y que la vía de señalización del factor nuclear NF- $\kappa$ B no se encuentra involucrada en dicho proceso.