

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION



TITULO:

Buscando las bases moleculares y funcionales para explicar la entrada de vitamina C al cerebro a través de los plexos coroideos.



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

Viviana Angélica Ulloa Jofré

2009

RESUMEN

Los plexos coroideos forman la barrera sangre-LCR y las células epiteliales de los plexos sintetizan el LCR y regulan la entrada y la salida de numerosos compuestos en el SNC. La acumulación de ascorbato en el cerebro ocurre a través del cotransportador de sodio-ascorbato SVCT2, tal como quedó demostrado en los ratones *knock-out* para este transportador. Estos ratones presentan niveles de vitamina C prácticamente indetectables en el cerebro y mueren pocos minutos después de nacer. La expresión de SVCT2 en los plexos coroideos y estudios funcionales realizados *in vivo* e *in vitro*, sugieren que la captación de ascorbato desde el plasma es mediada por SVCT2 en la membrana basolateral de las células epiteliales de los plexos coroideos, para ser posteriormente liberado al LCR. Además, se ha demostrado que la forma oxidada de la vitamina C o ácido deshidroascórbico, corresponde a un escaso porcentaje de vitamina C circulante, y puede ser captado a través de algunas isoformas de transportadores facilitativos de hexosas, GLUTs.

En esta tesis analizamos la expresión y localización de SVCT2 en los plexos coroideos normales y en distintas condiciones *in vivo* e *in vitro* y evaluamos la función de SVCT2 y GLUT1 en la incorporación de ambas formas de la vitamina C en células de plexos coroideos en cultivo. Definimos la expresión y localización de SVCT2 realizando ensayos de RT-PCR, Western blot e inmunocitoquímica en explantes de plexos coroideos de ratón, además de analizar la localización en cobayos normales y en cobayos deficientes en vitamina C. Los análisis

funcionales de la incorporación de ascorbato y ácido deshidroascórbico se realizaron en células humanas de papiloma de plexos coroideos.

Nuestros resultados demuestran la polarización basolateral de SVCT2 en las células epiteliales de los plexos coroideos de ratón, incluso en el desarrollo postnatal temprano. Utilizando una inyección intracerebroventricular de lentivirus, logramos sobreexpresar hSVCT2-EYFP en células epiteliales de los plexos, confirmando *in vivo* y en un contexto de células normales (no transformadas) la polarización basolateral de SVCT2. En las células de papiloma de plexos coroideos definimos los parámetros cinéticos para la captación de ascorbato y ácido deshidroascórbico. La incorporación de la forma oxidada de la vitamina C, se incrementa fuertemente al realizar el cocultivo de células de plexos con neutrófilos estimulados con PMA, generadores de oxidantes.

Nuestros datos muestran que vitamina C puede ser incorporada en los plexos coroideos utilizando transportadores SVCT2 o GLUT1, polarizados basolateralmente.