



Nombre del proyecto: Consumo de alcohol y gestación: Vulnerabilidad de la embriogénesis y de las células troncales neurales a los efectos del etanol y su repercusión en el síndrome alcohólico fetal

Investigador principal: Dra. Consuelo Guerri Sirera.

Entidad y Centro: Fundación Comunidad Valenciana Centro de Investigación Príncipe Felipe.

Resumen del proyecto

Está establecido que el alcohol es una droga, pero además es un tóxico celular y un teratógeno ya que su consumo durante la gestación puede causar malformaciones fetales y en el desarrollo y Síndrome Alcohólico Fetal (SAF). Aunque el feto es sensible a los efectos tóxicos del etanol durante todo su desarrollo, estudios clínicos y experimentales han demostrado que uno de los periodos críticos más relevantes para la aparición de las malformaciones faciales que se observan en el SAF y de retraso mental en el niño es la fase de embriogénesis, que tiene lugar en humanos durante los primeros meses de gestación. El mecanismo celular y molecular del efecto del etanol sobre esta fase inicial del desarrollo del sistema nervioso central se desconoce.

Utilizando un modelo experimental en la rata desarrollado en nuestro laboratorio y que reproduce las alteraciones del Síndrome Alcohólico fetal (SAF), hemos demostrado que la exposición al etanol durante la embriogénesis altera, *in vivo* y en *cultivo primario*, a la glía radial (GR), su posterior transformación en astrocitos, induciendo deficiencias en el desarrollo y función de la astrogliá. Hallazgos recientes demuestran que la GR es una célula troncal (célula madre neural) con capacidad de generar neuronas y astrocitos. En base al nuevo papel de la GR, la hipótesis que planteamos es que “*alteraciones en la GR inducidas por la exposición in útero al etanol van a afectar su potencial de célula troncal, conduciendo a una reducción en el número de neuronas y astrocitos que se generan y a una disminución en el tamaño cerebral*”. Estas alteraciones pueden subyacer a la disminución en la neurogénesis y astrogliogénesis así como a una reducción en el tamaño cerebral que se observa en niños con SAF.

Para abordar esta hipótesis utilizaremos células troncales o células madre humanas y de rata.

- 1) RATA: se utilizarán embriones procedentes de ratas de madre alcohólica y cultivos de GR aislada de embriones de 12 días control y expuestos al etanol, pretendemos analizar: a) si la GR en cultivo es capaz de generar neuronas y astrocitos y evaluar si la exposición *in útero* al etanol afecta su potencial para dar lugar a estos tipos celulares; b) el efecto del etanol sobre el número de células troncales, mediante la utilización de análisis clonal; c) si la exposición al etanol altera la proliferación y/o supervivencia de la GR (células nestina+), mediante la incorporación de BrdU y TUNEL a embriones de 12 días y a GR *en cultivo*; d) si el etanol modifica determinadas señales y/o vías de transducción implicadas en la transformación de GR a astrocitos o a neuronas; e) finalmente, si se confirmara la hipótesis, pretendemos analizar si la adición de diferentes factores de crecimiento, tales como FGF, EGF, BDNF, CTNF, a cultivos de GR expuesta al etanol, pueden restaurar la capacidad de generar neuronas y astrocitos.
- 2) *Efecto del etanol sobre la diferenciación de células embrionarias troncales humanas (hESC) a células neurales.* Pretendemos abordar el efecto del etanol sobre la diferenciación *in vitro* de precursores neurales a partir de hESC. El etanol se añadirá a dosis muy bajas y a diferentes concentraciones (1-25 mM) en el medio de cultivo y se analizarán los progenitores neurales mediante la expresión de nestina (glia radial), Tuj-1, MAP-2 (neuronas), GFAP (astrocitos), utilizando técnicas de inmunofluorescencia, Western Blotting y RT-PCR, a los diferentes estadios de la diferenciación. Durante estos estadios se analizará el efecto del etanol sobre las vías de señalización Notch 1/FGFR2, LIF/ERK y BLBP así como la expresión de noggin y PAX-6. Estos datos nos permitirán contestar a que dosis el alcohol afecta las células neurales troncales, su diferenciación y su supervivencia así como evaluar la reversión de estos efectos mediante el uso de factores tróficos y péptidos.