

Título: “Control de la actividad de los retrotransposones LINE-1 en un modelo experimental de estrés por separación materna temprana.”

Alumno/a: CINTIA ROMINA GATTI

Director/a: Dr. Andrés Javier Orqueda

Codirector/a: Dra. María Laura Palumbo

Fecha de defensa: 21/12/2018

RESUMEN

Durante el período perinatal, el cerebro es particularmente sensible a la remodelación por factores ambientales. Esta remodelación de circuitos puede ser positiva o negativa en relación a los diversos contextos. En particular, experiencias adversas durante la vida temprana, como exposición a distintos tipos de estrés o un cuidado materno sub-óptimo, pueden generar consecuencias negativas a largo plazo: por ejemplo, pueden alterar los niveles de ansiedad, reducir la neurogénesis hipocampal y provocar discapacidades cognitivas. Los retrotransposones de la familia *Long interspersed nuclear element 1* (LINE-1 o L1) son elementos repetitivos que codifican una proteína de unión a ARN y una endonucleasa con actividad de transcriptasa inversa, ambos bajo el control de un promotor en la región 5' UTR, que modulan la movilización de L1. Estos elementos están activos durante la embriogénesis temprana, durante el desarrollo neuronal temprano y en progenitores neurales. Aunque los mecanismos de regulación de la retrotransposición de L1 siguen sin estar completamente dilucidados, la evidencia acumulada sugiere que los mecanismos epigenéticos, incluida la metilación del ADN, están implicados en la retrotransposición de L1, cuya movilización puede afectar la expresión de los genes en donde ocurren las inserciones. Por otro lado, SOX-11 es un factor de transcripción involucrado en la neurogénesis y la remodelación tisular, y es necesario para el crecimiento de las neuritas y la supervivencia de las neuronas. Interesantemente, se ha demostrado que SOX-11 puede unirse a dos regiones dentro del promotor de L1, modulando su actividad. El objetivo de este trabajo fue estudiar la alteración de la actividad de retrotransposones L1 en un modelo de estrés social por separación materna temprana. Para ello, evaluamos la actividad y expresión de los elementos L1 en hipocampos de ratas sometidas a estrés temprano mediante PCR cuantitativa a partir de ADN genómico y ARN. Para conocer los mecanismos de control de los elementos L1, analizamos la metilación del promotor de L1 y la unión de factores de transcripción controlando la retrotransposición de los mismos. Observamos que el contenido relativo de L1 en muestras de ADN genómico de hipocampo de animales estresados disminuye, no así en los tejidos usados como controles,

corteza y cerebelo, que no son nichos neurogénicos. Por otro lado, los niveles de ARN transcrito de L1 no mostraron una disminución significativa en las muestras de hipocampo de animales adultos que fueron estresados tempranamente. Mediante el método COBRA evaluamos la metilación en una región del promotor de L1 previamente reportada. Observamos un aumento de la metilación en el hipocampo de los animales estresados en comparación con los controles, lo que se correlaciona con la disminución en los niveles de contenido relativo de ADN de L1. Finalmente, para evaluar la participación de SOX-11 en el control de la actividad de los elementos L1, utilizamos un modelo *in vitro* de diferenciación neuronal de la línea celular de neuroblastoma SH-SY5Y: éstas fueron cultivadas en presencia de ácido retinoico (RA) inhibiendo la expresión de SOX-11 por interferencia al ARN (siRNA); posteriormente evaluamos los niveles de ARN de L1. Los resultados indican que en condiciones de diferenciación neuronal aumentan los niveles de L1, al tiempo que la expresión de SOX-11 es necesaria para la transcripción de L1, dado que el *knock-down* de SOX-11 inhibe la inducción por parte del RA. De esta manera, demostramos que SOX-11 es clave para la retrotransposición de L1 en condiciones diferenciación neuronal. En conclusión, estos resultados demuestran que los niveles de L1 en el ADN genómico de hipocampo disminuyen en ratas sometidas a estrés neo-natal, probablemente debido a un aumento de la metilación de su promotor. Así, estos resultados sugieren que el estrés temprano implica una reducción en la movilización de los L1. Por otro lado, también indican que la actividad de L1 durante la diferenciación neuronal es dependiente de SOX-11.