

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y ANATOMÍA PATOLÓGICA  
FACULTAD DE MEDICINA



**IMPLICACIÓN DE LOS FILAMENTOS DE ACTINA EN LA ARQUITECTURA,  
HOMEOSTASIS Y TRÁFICO DE SALIDA DEL APARATO DE GOLGI  
Y  
ESTUDIO DE LA FORMACIÓN Y DEGRADACIÓN DE  
UN AGRESOMA DE ACTINA**

El director

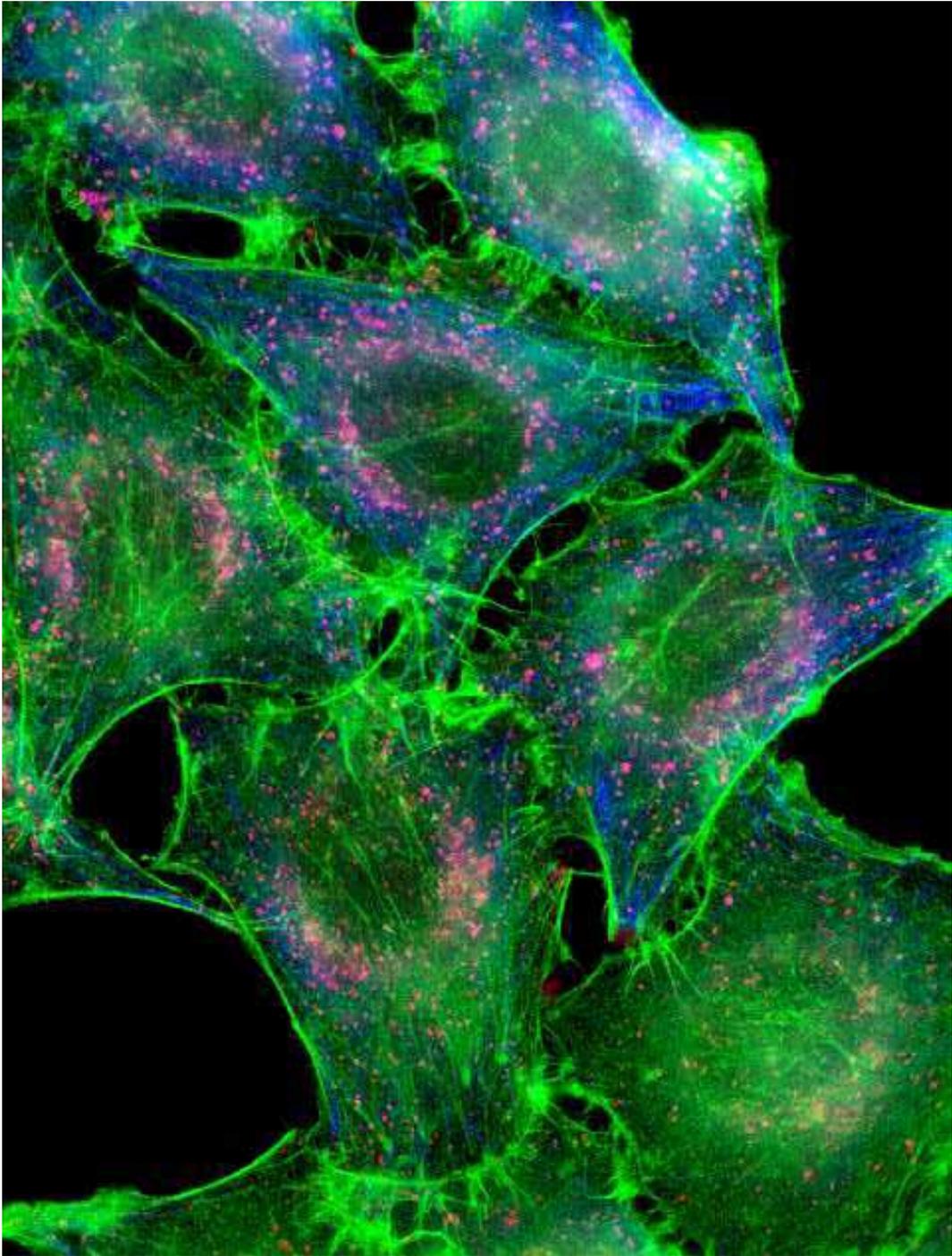
El autor

Gustavo Egea

Francisco Lázaro Diéguez

Tesis presentada por Francisco Lázaro Diéguez  
dirigida por el Dr. Gustavo Egea  
para optar al título de Doctor por la Universidad de Barcelona

Barcelona, Marzo de 2008



**- OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO -**



En los últimos años nuestro laboratorio ha demostrado que los MFs (al igual que ocurre con los MTs) interaccionan con el AG. Una de las herramientas utilizada para demostrar esta interacción son las toxinas de actina. La perturbación de los MFs comporta que el AG pierda su típica forma extendida y reticular por otra compacta, localizándose siempre alrededor del centrosoma en células de mamífero no polarizadas. También observamos una alteración del tráfico secretor en la zona entre el RE y el AG. En particular, las toxinas de actina que despolimerizan los MFs provocan un retraso en el transporte retrógrado (desde el AG al RE) pero no en el anterógrado (desde el RE al AG). Así, las toxinas de actina son una herramienta poderosa que nos ha permitido implicar a los MFs en la morfología del AG y en las fases tempranas del tráfico secretor.

El empleo sistemático de las toxinas de actina requiere estudiar en detalle su cinética/dinámica de acción y su reversibilidad, puesto que en función del tipo celular, la concentración y el tiempo de exposición a la toxina se pueden encontrar resultados dispares. En este sentido, el objetivo inicial fue realizar un estudio exhaustivo del uso de distintas toxinas de actina en distintos tipos celulares que empleamos con frecuencia para nuestros estudios del tráfico intracelular. Nos familiarizamos con concentraciones y tiempos de exposición a distintas toxinas de actina analizando en detalle las alteraciones que provocan a nivel de la organización de los MFs y la morfología/superficie celular.

El siguiente objetivo fue caracterizar exhaustivamente los efectos de las toxinas de actina (tanto las que bloquean/despolimerizan los MFs como las que promueven su polimerización/estabilización) sobre la arquitectura ultraestructural del AG. Según los resultados previos del grupo, cabría esperar que la perturbación del citoesqueleto de actina provocase alteraciones en la arquitectura del AG a nivel ultraestructural, las cuales podrían ser diferentes en función del tipo de alteración provocada sobre el citoesqueleto de actina y cuyo estudio debería aportarnos datos para entender cómo la dinámica de la actina participa en la peculiar arquitectura del AG (por ejemplo, en la estructura aplanada de las cisternas, en el apilamiento de las mismas y/o en la deformación de la cisterna para originar los ITs y el tráfico derivado del AG). A partir de los resultados obtenidos intentaríamos averiguar a continuación los mecanismos moleculares por los que dichas alteraciones se producen.

En lógica continuación con el objetivo anterior, los cambios estructurales suelen producir cambios funcionales. Ya sabíamos que los MFs participan en el transporte retrógrado pero hasta la fecha los datos publicados sobre su participación en el tráfico de salida del AG eran

incompletos y hasta cierto punto contradictorios. Esto se debía a que se utilizaban distintos *cargo* como trazadores del transporte de salida así como por el hecho de emplear sólo una toxina de actina (CyD habitualmente). Nuestra experiencia empleando toxinas de actina que despolimerizan MFs nos sugiere que es muy conveniente emplear más de una toxina para afirmar la participación de los MFs en cualquier proceso celular. Así pues nos planteamos estudiar el papel de los MFs en la vía secretora a nivel de la salida del AG y si existe relación alguna entre el cargo y su destino intracelular.

Paralelamente a este estudio y a partir de la observación circunstancial de la formación de agregados de actina filamentosa por ciertas toxinas de actina, nos planteamos desarrollar un modelo celular para generar agresomas de actina filamentosa. La formación de agresomas es una característica común a multitud de enfermedades neurodegenerativas, concretamente los enfermos de Alzheimer y alcohólicos crónicos presentan en el soma de neuronas del hipocampo agregaciones paracristalinas de actina filamentosa conocidas como cuerpos de Hirano (CHs), los cuales se ha postulado que se forman como consecuencia de la agregación centrosomal de pequeños agregados de actina filamentosa dispersos por el citoplasma. Sin embargo, se desconoce tanto la mecanística molecular implicada en su formación y si su presencia compromete la funcionalidad/vialidad celular. Por lo tanto, nuestro objetivo fue averiguar los sistemas y/o elementos moleculares implicados en la formación y degradación de un agresoma de actina filamentosa y las posibles alteraciones en la funcionalidad celular a nivel de tráfico secretor y la viabilidad celular que su presencia pudiese comportar. Por último, nos planteamos si una célula podría generar más de un agresoma y, en caso afirmativo, si sus componentes moleculares eran capaces de preservar su identidad. Hasta la fecha no hay datos al respecto.