

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA UNIÓN OCLUSORA

*Juan M. Gallardo****

*Catalina E. Flores-Maldonado*****

RESUMEN

La permeabilidad de los epitelios y endotelios depende de dos características de las células que los constituyen, la primera es que tienen a sus componentes de membrana polarizados en los dominios apical y basolateral, esto le permite tener un transporte vectorial de sustancias entre dos compartimientos biológicos diferentes, y la segunda, entre las células, se forma un complejo de unión que impide el paso de sustancias entre las células (a través de la ruta paracelular). Este complejo de unión está constituido por varios elementos, entre ellos la unión oclusora que es la responsable de mantener la polarización de los diferentes componentes de la membrana así como de regular el paso de electrolitos y agua a través de la ruta paracelular. El propósito del presente artículo es revisar algunos elementos que constituyen a las uniones ocluseras así como las funciones que ésta realiza.

Palabras clave: uniones ocluseras, uniones intercelulares, permeabilidad epitelial, resistencia eléctrica transepitelial, proteínas.

INTRODUCCIÓN

Los epitelios cubren la superficie del cuerpo y revisten todas sus cavidades. Estos tejidos actúan como una barrera de permeabilidad altamente selectiva, separa los líquidos internos y externos cuyas composiciones bioquímicas y gradientes electroquímicos son distintos. Por ejemplo, las células epiteliales intestinales o renales que separan la luz del tubo (donde se procesan los alimentos o se forma la orina) del lado seroso.

Las células epiteliales se caracterizan por poseer membrana plasmática con dos dominios, el apical o luminal y el basolateral, seroso o abluminal; estos dominios son diferentes tanto en su composición lipídica como proteica, esto es, existe distribución polarizada de lípidos y proteínas en la membrana. De igual forma, en el citoplasma existe distribución polarizada de organelos y citoesqueleto. Otra característica inherente a los epitelios la constituye la unión oclusora (UO), esta estructura se encuentra en el límite de los dominios apical y basolateral uniendo herméticamente a una célula con sus vecinas (Fig. 2).

Las uniones ocluseras (UOs) desempeñan un papel crucial en el mantenimiento de la función de barrera selectiva; por ejemplo, las células epi-

* Departamento de Fisiología Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV-IPN.

** Unidad en Investigación Médica en Farmacología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

*** Departamento de Fisiología de la ENCB-IPN.

teliales que revisten los túbulos de la nefrona mantienen en la cavidad interna (luz) muchas de las sustancias que fueron filtradas en el glomérulo; al mismo tiempo, las células han de bombear determinadas sustancias a través de la capa celular y hacia el espacio intersticial y de ahí hacia la sangre. Este transporte selectivo y vectorial se establece gracias a la polaridad proteica de los dominios apical y basolateral.

Es evidente que para mantener este bombeo direccional, el conjunto apical de bombeo no ha de poder difundir (en la membrana plasmática) hacia la superficie basolateral de la célula ni viceversa, esta difusión de moléculas transportadoras de membrana es impedida por la UO. Por otro lado las uniones ocluseras impiden que las moléculas transportadas hacia la sangre o desechadas hacia la luz se mezclen, ya que estas estructuras sellan el espacio intercelular y unen a una célula con sus vecinas. La distribución polarizada de las proteínas de membrana en estas células, está mediada por mecanismos de dirección intracelular que las dirigen ya sea al dominio apical o al basolateral, una vez establecida, el mantenimiento de dicha polaridad celular y la regulación de la función de barrera dependen, en gran medida, del complejo de unión. Este complejo es una característica de los endotelios y epitelios confluentes.

EL COMPLEJO DE UNIÓN

Descrito por vez primera por Farquhar y Palade en 1963,¹ el complejo de unión se forma cerca de la superficie apical justo en la unión de la cara apical con la basolateral de las células epiteliales. Este complejo está constituido por la unión oclusera (UO) (*zonula ocludens*, unión estrecha) que delimita el dominio apical basolateral de la membrana plasmática, rodea a la célula formando un cinturón que sella el espacio intercelular y regula el transporte a través de la ruta paracelular.

Inmediatamente debajo de las UOs se encuentran las uniones intermedias (*zonula adherens*), estructuras especializadas de adhesión entre dos células, y a este nivel el espacio intersticial es de 25-35 μm de ancho. En esta región el espacio intercelular contiene material filamentoso constituido por moléculas transmembranales de

uvomorulina (o E-caderina) cuya función es altamente dependiente de la presencia de calcio.² Al microscopio electrónico (ME) se observa una placa electrodensa en el lado citoplasmático de la unión intermedia, es el sitio al que se une un prominente anillo de filamentos de actomiosina³ y en el que se localizan también la vinculina (proteína que se une a la membrana) y α -actinina (proteína fijadora de actina).⁴

Le siguen en orden los desmosomas (*macula adherens*) que son zonas de adhesión fuerte, resistentes a la tensión mecánica y que unen células adyacentes. Finalmente se encuentran las uniones comunicantes (uniones de hendidura) constituidas por estructuras denominadas conexiones que facilitan la comunicación célula-célula⁵ (Fig. 2, cuadro 1).

Además del complejo de unión descrito arriba, los epitelios poseen características que los diferencian notablemente de otros tejidos, a continuación se describen los rasgos más notables de ellos.

LA UNIÓN OCLUSORA

Circunscribiendo el ápex de las células epiteliales, las UOs actúan como una estructura semejante a un cinturón que confiere ciertas propiedades de permeabilidad tanto a la ruta paracelular como a la transcelular (Figs. 1 y 2). Así la UO actúa como barrera entre compartimientos apical y basolateral y controla selectivamente la difusión pasiva de iones, moléculas pequeñas solubles en agua a través de la vía paracelular y mantiene de esa manera los gradientes creados por la actividad de las vías asociadas con la ruta transcelular.⁶ La elevada organización de los elementos de la UO pueden actuar como "cerca", la que asociada con otros mecanismos preserva las actividades polarizadas al impedir la redistribución de los lípidos, canales iónicos, bombas iónicas, las enzimas y otras proteínas que se encuentran inmersas en la cara apical o basolateral de la membrana plasmática.⁶

ESTRUCTURA DE LA UNIÓN OCLUSORA

Las UOs forman un sello continuo en la circunferencia celular, esta unión mide aproximadamente entre 0.1 y 0.7 μm de ancho, y está

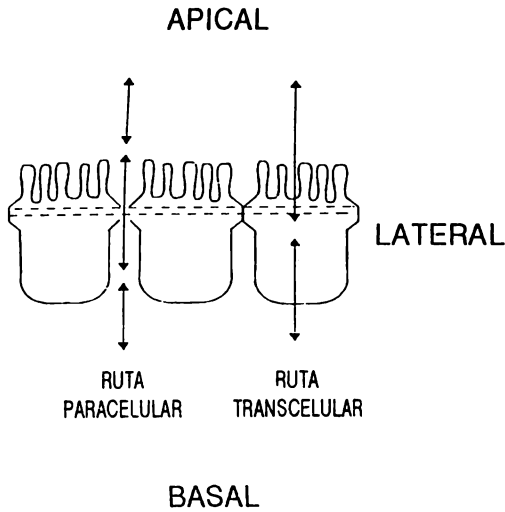


Fig. 1. Esquema en donde se muestran las rutas paracelular y celular, así como las funciones de barrera y cerca en los epitelios. Las líneas muestran el sitio donde se localiza a la UO.

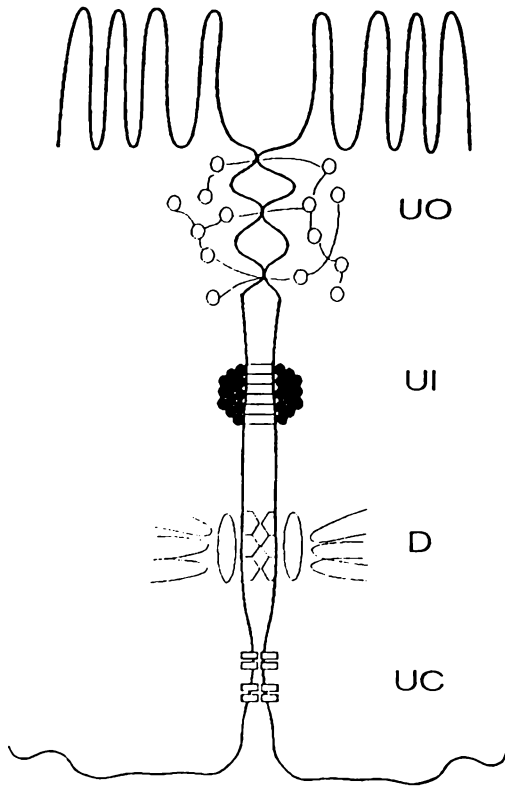


Fig. 2. Esquema del complejo de unión epitelial (endotelial). UO=unión oclusora; UI=unión intermedia; D=desmosoma; UC=unión comunicante.

Cuadro 1. Uniones intercelulares.

Uniones de adherencia

- a) desmosomas en banda
- b) desmosoma puntual
- c) hemidesmosoma

Uniones impermeables

- a) uniones oclusoras
- b) uniones septadas (únicamente en invertebrados)

Uniones comunicantes

- a) unión de tipo "gap" (unión de hendidura)
- b) sinapsis química

localizado cerca de la superficie apical tanto de los endotelios como de los epitelios. En corte fino de monocapas vistas al ME, las UOs aparecen como una serie de sitios discretos de aparente fusión que involucran a las hojas externas de las membranas plasmáticas de células adyacentes.¹ En réplicas de criofractura, se observa que a nivel del plano de la membrana aparecen sitios de fusión punteados y convexos, lo cual evidencia el arreglo lineal de las bandas en la cara proto-plasmática (cara P), en tanto que en la cara exoplasmática (cara E) aparecen como concavidades.⁷ Asimismo, en fotografías de ME se puede apreciar que en células tratadas con triton X-100, estos puntos de fusión están asociados con filamentos de actina.⁸

Las membranas laterales de células epiteliales adyacentes están tan íntimamente asociadas que reciben coloquialmente el nombre de "besos", y se piensa que es el sitio físico en el que la unión oclusora impide la difusión de moléculas a través de la ruta paracelular. En réplicas de criofractura de la membrana plasmática, la UO aparece como una red de bandas anastomosadas entre sí, éstas representan los sitios en donde las membranas se "besan".⁹

A pesar de que la composición química de las bandas de la UO aún se desconoce, actualmente se sabe que varias proteínas se encuentran asociadas a ella. Este aspecto lo tocaremos con mayor detalle en la siguiente sección. La organización de las bandas de la UO es muy variable y de-

pende de la naturaleza heterogénea de las células epiteliales y endoteliales que contribuyen a la formación de la UO.

Del trabajo de Claude y Goodenough¹⁰ se concluye que existe gran diversidad entre los epitelios, ya que pueden ser herméticos y/o laxos, cuyas diferencias podrían ser atribuidas a la profundidad y complejidad de las UOs. Estos autores sugieren que dichas diferencias pudieran ser determinantes en la permeabilidad transepitelial. Así por ejemplo, en el epitelio pulmonar existe un complejo sistema de unión entre las vías aéreas, los alveolos y la red vascular con diversos grados de sellado en sus uniones.^{11, 12}

Martínez-Palomo y Erij, ¹³ sugirieron que la permeabilidad de la UO no sólo es controlada por la complejidad de la misma, sino también por las características de las uniones o de sus fibras, ya que el fleo de conejo es permeable al lantano (un metal coloidal que es empleado en ME como marcador extracelular para evaluar la permeabilidad de los epitelios) en tanto que la vejiga de sapo no lo es; sin embargo en ambos epitelios la estructura de sus UOs es igual de compleja.

En un estudio realizado en glándulas submucosas de las vías aéreas, se observó que las células céricas, que sólo tenían dos bandas de UO, son permeables al paso de lantano, en tanto que las células que poseían alrededor de cinco bandas son impermeables a este marcador.¹² De estos trabajos se concluye que las bandas de UO pueden comportarse de manera variable y de acuerdo a cada tipo de epitelio.

COMPONENTES QUÍMICOS ASOCIADOS A LA UNIÓN OCLUSORA

La UO es la menos conocida de las estructuras que forman el complejo de unión a nivel molecular, en tanto que las otras estructuras intercelulares, como los desmosomas y las uniones comunicantes, han sido bien caracterizadas mediante diversas técnicas y se tiene un panorama relativamente amplio acerca de la estructura de sus interacciones célula-célula o célula-substrato.¹⁴

Pinto Da Silva y Kachar¹⁵ sugieren que la UO está constituida de micelas cilíndricas invertidas compuestas de lípidos en fase hexagonal II

(los fosfolípidos forman cilindros largos con las cabezas polares orientadas hacia un centro acuoso) y estabilizadas por proteínas, sin embargo Staehelin,¹⁶ en estudios hechos mediante ME, sugiere que el constituyente principal de la UO son las proteínas. Varios autores proponen que las proteínas están involucradas en la formación de la UO,¹⁷⁻²⁰ demostrando que la síntesis de proteínas es necesaria para el desarrollo de UO en las primeras horas de sembrada una monocapa, ya que si se añaden inhibidores de la síntesis de proteínas a células recién sembradas, no se desarrolla la resistencia eléctrica transepitelial (RET) porque no hay formación de UO; sin embargo, si estos inhibidores se añaden a las monocapas varias horas después de sembradas, el desarrollo de la UO y la RET de los epitelios no son afectados. Hasta el momento se han descrito varias proteínas que se sabe están asociadas a la UO, a continuación se hace una breve descripción de ellas.

a) ZO-1

Empleando una fracción enriquecida de membranas hepáticas, Stevenson y Goodenough²¹ encontraron una proteína a la que denominaron ZO-1 (ZO = *Zonula occludens*) por estar íntimamente asociada a la UO. ZO-1 se encuentra en el lado citoplasmático, en el punto de unión célula-célula. Su peso molecular es de 225 kDa en el ratón y de 210 kDa en las células renales de perro (MDCK). Es soluble en urea 6 M o a pH alcalino. Ahora se sabe que la ZO-1 es una molécula monomérica fosforilada en sus residuos de serina, y a partir de la secuenciación de su DNA complementario se ha determinado que existen dos isoformas: α^+ y α^- según presenten o no una porción extra de 80 aminoácidos, que otorga a la UO la capacidad de ser más plástica.²² El RNA mensajero de la ZO-1 se incrementa cuando no hay UOs, y una vez establecidas las uniones este RNA mensajero disminuye^{22, 23} (Fig. 3).

b) Cingulina

Citi y colaboradores^{24,25} caracterizaron otra proteína en las proximidades de la UO de varios tejidos epiteliales de aves y mamíferos a la que

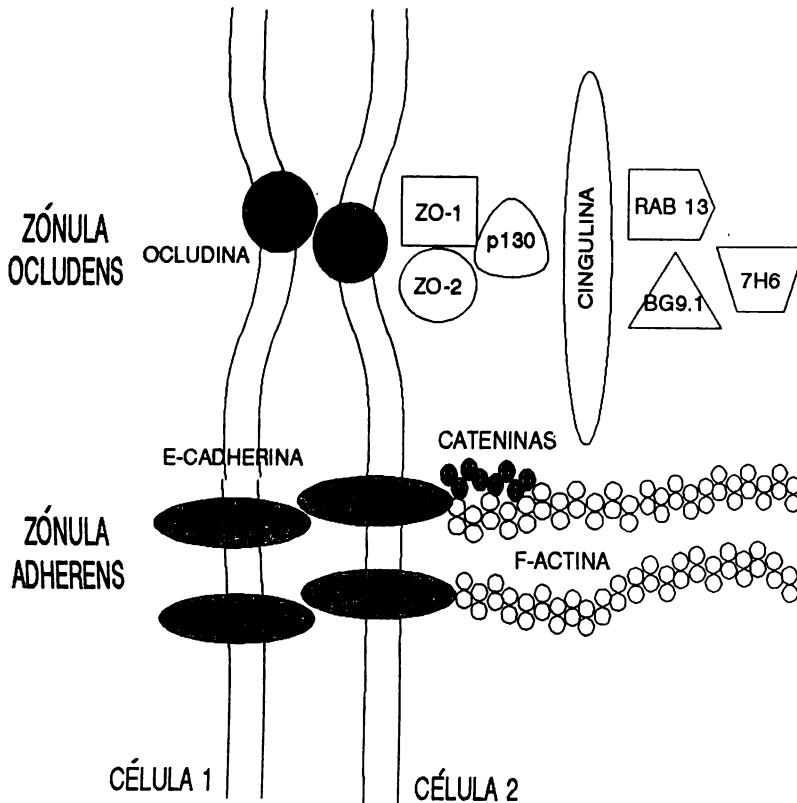


Fig. 3. Esquema de la ubicación anatómica de las proteínas asociadas a la UO.

llamaron cingulina. Se trata de una proteína intracelular, periférica, dimérica, ácida y termoestable. Sus isoformas pesan 140 y 108 kDa. La cingulina se encuentra tres veces más alejada de la UO que ZO-1 (Fig. 3) y es más abundante que la primera.²⁶

c) BG9.1

Chapman y Eddy²⁷ describieron una tercera proteína denominada BG9.1 de 192 kDa, purificada de hepatocitos de rata y ratón. Tiene localización muy cercana a las dos proteínas anteriormente referidas (Fig. 3). Esta proteína es insoluble en desoxicolato, se encuentra en el lado citoplasmático y en poca cantidad.

d) ZO-2

En 1991 Gumbiner y colaboradores²⁸ identificaron una proteína con peso molecular de 160 kDa, que se localiza en la vecindad citoplasmática de

la UO (Fig. 3), y coprecipita con ZO-1, esta proteína fue designada como ZO-2. Tanto ZO-2 como ZO-1 tienen varias secuencias de aminoácidos que son idénticas entre sí; a su vez, estas secuencias resultan ser muy semejantes a las de otras proteínas como la DGL (una proteína supresora de tumores) presente en las uniones septadas de los insectos; p55 (una proteína constitutiva del citoesqueleto de la membrana del eritrocito) y PSD-95/SAP-90 (proteínas de las regiones postsinápticas del sistema nervioso del mamífero).²⁹

e) Antígeno 7H6

La quinta proteína asociada a la UO fue descubierta por Zhong y colaboradores,³⁰ para ello emplearon un anticuerpo monoclonal denominado 7H6, el cual fue dirigido contra fracciones de membrana de canalículos biliares de rata. Esta nueva proteína tiene movilidad relativa de 155 kDa en la rata y de 175 kDa en las células

MDCK. Se le encuentra en el lado citoplasmático, aproximadamente a 40 nm de la UO (Fig. 3). Esta proteína se fosforila y parece encontrarse exclusivamente en los epitelios.³¹

f) p130

La proteína p130 (denominada así por su peso molecular aparente) es una fosfoproteína que coprecipita con ZO-1 y ZO-2 y que su localización es más próxima a la UO que cingulina.³²

g) Rab13

Rab13 es una pequeña proteína que une GTP (*GTP-binding protein*) y que fue identificada como un componente asociado a la UO en las células CaCo-2³³ (Fig. 3).

h) Ocludina

La más reciente de las proteínas relacionadas con la UO es la ocludina, ya que se le identificó como una proteína integral de membrana que se adosa a otra proteína idéntica pero de la célula vecina.³⁴ La ocludina, denominada así por encontrarse justo en los sitios de contacto de la UO tanto de las células endoteliales como epiteliales, pesa aproximadamente 65 kDa, es rica en tirosinas, su cDNA ha sido clonado y parcialmente secuenciado y codifica 504 residuos aminoácidos que darían un péptido de 55.9 kDa.³⁴

OTRAS PROTEÍNAS RELACIONADAS CON LA UNIÓN OCLUSORA

La uvomorulina es otra proteína relacionada, más que con la UO, con el complejo de unión, esta proteína pesa 118 kDa, es dependiente de calcio y pertenece a la familia de las cadherinas, es un polipéptido con peso molecular de 118 kDa³⁵ posee tres dominios identificados: extracelular, transmembranal e intracelular, los cuales están asociados con otras proteínas independientes conocidas como cateninas alfa, beta y gama.³⁶ Uvomorulina, aun cuando no es una proteína asociada a la UO, sí es requerida para la formación de esta última, es expresada basolateralmente³⁷ y ha sido localizada en la superficie

externa de la unión intermedia en el epitelio intestinal.³⁸

La actina también está involucrada con la funcionalidad de la UO, aunque los datos que existen son indirectos, ya que la permeabilidad de la unión es modificada en circunstancias en donde esta proteína es alterada.³⁹⁻⁴²

FUNCIONES DE LA UNIÓN OCLUSORA

Las dos principales funciones que se atribuyen a la UO son: 1) función de barrera, en la cual la permeabilidad y/o actividad de la UO determina los solutos, la cantidad de ellos y el agua que pueden atravesar el espacio paracelular entre las células epiteliales, y 2) función de cerca, en la cual la UO, por la situación de su localización entre los dominios apical y basolateral de la membrana plasmática, participa en el mantenimiento de la distribución asimétrica de los canales iónicos, bombas y acarreadores de la membrana plasmática (Fig. 4). Estos dos atributos de la UO son vitales para normar el transporte vectorial tanto de los epitelios como de los endotelios.

a) FUNCIÓN DE BARRERA

La función de barrera de la UO ayuda a mantener las diferencias en la composición del líquido

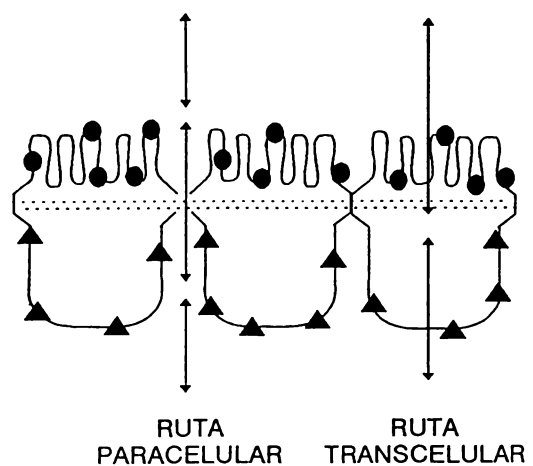


Fig. 4. La UO mantiene la polaridad de los componentes de la hoja externa de la membrana, evitando así que aquellos componentes que se encuentran en la cara apical se mezclen con los de la cara basolateral.

extracelular que existe a través de los epitelios como resultado del transporte vectorial. Esta función restringe el flujo de moléculas a través de la UO. Se sabe además que esta estructura es altamente dinámica. Por ejemplo, la RET de diferentes tejidos llega a variar hasta tres órdenes de magnitud, y estas diferencias reflejan en gran medida los cambios en la permeabilidad de la UO.⁴³

Los epitelios varían enormemente en su capacidad para generar y mantener los gradientes osmóticos e iónicos entre los compartimientos que separan. Esto depende en gran parte de las rutas de permeabilidad, paracelular y transcelular. Estas rutas, desde el punto de vista eléctrico, ofrecen resistencia al paso de iones, por lo que pueden ser consideradas como resistencias eléctricas arregladas en paralelo, donde una de ellas corresponde a la resistencia dada por la vía paracelular y la otra por la vía transcelular (Fig. 5). En la vía transcelular las membranas apical y basolateral constituyen dos resistencias arregladas

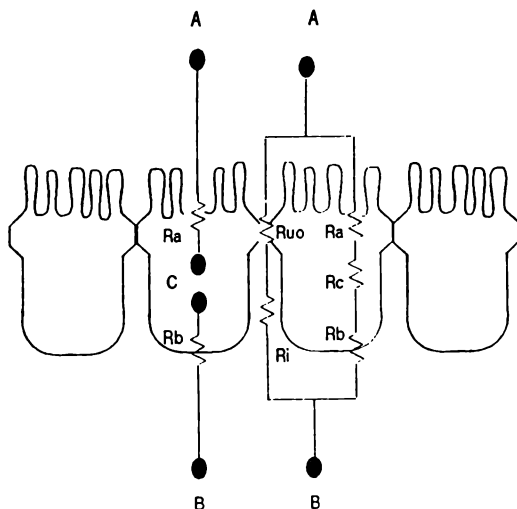


Fig. 5. Circuito eléctrico que representa las resistencias de un epitelio. Ra=resistencia de la membrana apical; Rb=resistencia de la membrana basolateral; Ruo=resistencia de la UO; Ri=resistencia del espacio intercelular; Rc=resistencia del interior celular. Los electrodos se colocan en la solución luminal (A), en la basal (B) o en el interior de la célula (C). La suma de las resistencias Ra, Rb y Rc dan la resistencia de una célula, en tanto que las resistencias Ruo y Ri dan la de la paracelular. (modificado de la ref. 57).

en serie. En los epitelios de baja resistencia eléctrica el movimiento pasivo de los iones ocurre predominantemente por la ruta paracelular, en tanto que en los epitelios con elevados valores de resistencia los iones fluyen por las dos vías⁴³ (Fig. 1). Las UOs son selectivas a los cationes, una propiedad que puede ser modificada por la aplicación de corriente eléctrica,⁴⁴ cambios de pH⁴⁵ y osmolaridad⁴⁶ así como alteraciones en la función del citoesqueleto.^{40,47}

El método más sensible para evaluar la función de barrera de los epitelios consiste en la determinación de la resistencia eléctrica transepitelial (RET).⁶ Se ha demostrado ampliamente que los cambios en la RET son directamente proporcionales a las modificaciones en la permeabilidad de las UOs para los iones.

La mayoría de los intentos para correlacionar las características estructurales de las UOs con su función de barrera, se han empleado técnicas de ME en réplicas de criofractura, asumiendo que las bandas de UO representan la unidad básica estructural del espacio extracelular. Los estudios originales de Claude y Goodenough¹⁰ propusieron que el número de bandas que componen las UOs se incrementa del túbulo proximal al distal en paralelo con su RET, sugiriendo que cada banda de UO podría ser comparada con un sistema de resistencias en serie y que, por lo tanto, debería existir correlación entre el número de bandas paralelas de la UO y la medición de la RET. Así, en el túbulo proximal de la nefrona, donde las UOs manifiestan una RET muy baja ($5 \Omega/\text{cm}^2$), las UOs están representadas por una sola banda. Por el contrario, en la vejiga urinaria de sapo, las UOs forma una malla elaborada de bandas en un arreglo que puede superar las ocho bandas, y donde se registran mediciones de RET mayores de $1,000 \Omega/\text{cm}^2$ (cuadro 2).

b) FUNCIÓN DE CERCA

Varios autores han demostrado que la UO juega un papel importante en el mantenimiento de la distribución asimétrica de varios de los componentes de la membrana y no participa en la inducción de la polarización.^{48,51} Cuando las células MDCK son sembradas sobre un substrato permeable en ausencia de Ca^{++} , la UO no se desarrolla, y un grupo de proteínas son libe-

radas a la cara apical en un periodo de 12-24 horas.^{49, 51} En ausencia continua de calcio, las proteínas de la membrana basolateral se distribuyen de manera estocástica sobre toda la superficie de la célula y no se forman las UOs. La inducción del contacto celular por la adición de Ca^{++} y por la mediación de moléculas dependientes de calcio⁵² da como resultado una organización gradual (24-36 h) del dominio basolateral⁵³ y de la formación del complejo de unión, incluidas las UOs.

Una vez que una proteína o lípido ha sido insertado en el lado correcto, es conservado en ese sitio gracias a la participación de las UOs^{54, 55} (Fig. 4). Van Meer y Simons⁵⁶ prepararon liposomas en los que incorporaron lípidos fluorescentes de manera simétrica (en ambas hojas de la membrana) o asimétrica (en una sola de ellas) y se les dejaba fusionarse a la membrana apical de las MDCK, encontraron que cuando la "sonda" era introducida en la hoja interna de la membrana, había difusión de la "sonda" a la cara basolateral, en cambio, cuando un lípido marcado se le localizaba en la hoja externa (vía liposomas asimétricos) la señal fluorescente per-

manecía en la membrana apical. Estas observaciones confirman que las UOs forman una barrera a la difusión de lípidos en el plano de la membrana sólo cuando se encuentran en la hoja externa de la bicapa lipídica. Esto es posible ya que la UO une a las hojas externas de las membranas plasmáticas de las células vecinas, creando un "broché" que impide el paso de las moléculas de un dominio al otro. La función de cerca, al igual que la función de barrera, se encuentra ligada al citoesqueleto, es modulada por el Ca^{++} y los contactos célula-célula y/o célula-substrato.⁵⁰

CONCLUSIÓN

La UO es una estructura altamente dinámica que regula el paso de sustancias a través de los epitelios como de los endotelios. La UO actúa como una barrera entre los compartimientos apical y basolateral, controla selectivamente la difusión pasiva de iones y moléculas pequeñas solubles en agua a través de la vía paracelular, manteniendo de esa manera los gradientes creados por la actividad de las vías asociadas con la ruta transcelular, la forma más sensible para estimar este paso de sustancias es calculando la RET. La elevada organización de los elementos de la UO pueden actuar como "cerca", la cual, asociada con otros mecanismos, preserva las actividades polarizadas al impedir la redistribución de los lípidos, canales iónicos, bombas iónicas, enzimas y otras proteínas que se encuentran inmersas en la cara apical o basolateral de la membrana plasmática. Hasta ahora se han descrito varias proteínas asociadas con la UO y cuyas funciones específicas están aún por dilucidarse.

SUMMARY

Epithelial and endothelial permeability depends on two cellular characteristics which constitute them, the first is that they have their membrane components polarized in the apical and basolateral domains, this permits them to have a vectorial transport of substances between two different biological compartments; and the second, between cells, a union complex is formed which prevents the passage of substances between cells (through the paracellular route). This

Cuadro 2. Valores de RET de diversos epitelios naturales y en cultivo.

<i>Epitelio</i>	<i>RET</i>
	(Ω/cm^2)
Vesícula biliar (conejo)	30
Intestino delgado (hámster)	50
Íleo (conejo)	100
Túbulo proximal (necturus)	260
Vesícula biliar (necturus)	310
Vesícula biliar (necturus)	300
Colon (conejo)	330
Colon (conejo)	100
Vejiga urinaria (sapo)	3,800 - 12,000
Vejiga urinaria (conejo)	10,000 - 80,000
Línea celular	
MDCK cepa II (renal)	100
T84 (intestinal)	1,000
MDCK cepa I (renal)	2,000 - 5,000

(Para consultar las referencias originales, ver la Ref. 58).

union complex is formed by several elements, among them the occlusive union which is responsible to maintain the polarization of different components of the membrane as well as to regulate the passage of electrolites and water through the paracellular route. The purpose of this article is to review some of the elements that constitute the occlusive unions as well as the functions that they realize.

Key words: occlusive unions, intercellular unions, epithelial permeability, transepithelial electric resistance, proteins.

REFERENCIAS

1. Farquhar, M.G. and Palade, G.E. "Junctional complexes in various epithelia." *J. Cell Biol.*, 1963; **17**:375-412.
2. Boller, K.; Vestweber, D. and Kembler, R. "Cell-adhesión molecule uvomorulin is localized in the intermediate junctions of adult intestinal epithelial cells." *J. Cell Biol.*, 1985; **100**:327-332.
3. Hirokawa, N. and Tilney, L.G. "Interactions between actin filaments and membrane in quick frozen and deeply etched hair cells of the chick ear." *J. Cell Biol.*, 1982; **95**:249-261.
4. Geiger, B.A.; Dutton, A.H.; Tokuyasu, K.T. and Singer, S.J. "Immunoelectron microscope studies of membrane microfilament interactions: distribution of α -actinin, tropomyosin and vinculin in intestinal epithelial brush border and in chicken gizzard smooth muscle cells." *J. Cell Biol.*, 1981; **91**:614-628.
5. Sheridan, J.D. and Atkinson, M.M. "Physiological roles of permeable junctions: some possibilities." *Annu. Rev. Physiol.*, 1985; **47**:337-353.
6. Diamond, J.M. "The epithelial junction: bridge, gate and fence." *Physiologist*, 1977; **20**:10-18.
7. Staehelin, L.A. "Structure and function of intercellular junctions." *Int. Rev. Cytol.*, 1974; **39**:191-282.
8. Madara, J.L. "Intestinal absorptive cell tight junctions are linked to cytoskeleton." *Am. J. Physiol.*, 1987; **253**:C171-C175.
9. Gumbiner, B. "Structure and biochemistry and assembly of epithelial tight junctions." *Am. J. Physiol.*, 1987; **253**:C749-C758.
10. Claude, P. and Goodenough, D.A. "Fracture faces of zonulae occludentes from 'tight' and 'leaky' epithelia." *J. Cell Biol.*, 1973; **58**:390-400.
11. Schneeberger, E.E. "Heterogeneity of tight junctions morphology in extrapulmonary airways of the rat." *Anat. Rec.*, 1980; **198**:193-208.
12. Schneeberger, E.E. and McCormack, J.M. "Intercellular junctions in upper airway submucosal glands of the tracer and freeze-fracture study." *Anat. Rec.*, 1984; **210**:421-433.
13. Martínez-Palomo, A. and Erlj, D. "Structure of tight junctions in epithelia with different permeability." *Proc. Nat. Acad. Sci.*, USA 1975; **72**:4487-4491.
14. Stevenson, B.R. and Paul, D.L. "The molecular constituents of intercellular junctions." *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 1989; **1**:884-891.
15. Pinto Da Silva, P. and Kachar, B. "On the tight junction structure." *Cell*, 1982; **28**:441-450.
16. Staehelin, L.A. "Structure and function of intercellular junctions." *Int. Rev. Cytol.*, 1974; **39**:191-283.
17. Cerejido, M.; Robbins, E.S.; Dolan, W.J.; Rottunno, C.A. and Sabatini, D.D. "Polarized monolayers formed by epithelial cells on a permeable and translucent support." *J. Cell Biol.*, 1978; **77**:853-880.
18. Cerejido, M.; Meza, I. and Martínez-Palomo, A. "Occluding junctions in cultured epithelial monolayers." *Am. J. Physiol.*, 1981; **240**:C688-C693.
19. Hoi Sang, U.; Saier, M.H. and Elliman, M.H. "Tight junction formation in the establishment of intramembranous particle polarity in aggregating MDCK cells." *Exp. Cell Res.*, 1980; **128**:223-235.
20. Griep, E.B.; Dolan, W.J.; Robbins, E.S. and Sabatini, D.D. "Participation of plasma membrane proteins in the formation of plasma membrane proteins in the formation of tight junctions by cultured epithelial cells." *J. Cell Biol.*, 1983; **96**:693-702.
21. Stevenson, B.R. and Goodenough, D.A. "Zonulae occludentes in junctional complex-enriched fractions from mouse liver: preliminary morphological and biochemical characterization." *J. Cell Biol.*, 1984; **98**:1209-1221.
22. Anderson, J.M.; Stevenson, B.R.; Jesaitis, L.A.; Goodenough, D.A. and Mooseker, M.S. "Characterization of ZO-1, a protein component of the tight junction from mouse liver and Madin-Darby canine kidney cells." *J. Cell Biol.*, 1988; **106**:1141-1149.
23. Balda, M.S. and Anderson, J.M. "Two classes of tight junctions are revealed by ZO-1 isoforms." *Am. J. Physiol.*, 1992; **264**:C918-C924.
24. Citi, S.H. Sabanay, H.; Jakes, H.; Geiger, B. and Kendrick-Jones, J. "Cingulin, a new periph-

- eral component of tight junctions." *Nature*, (London) 1988; **333**:272-276.
25. Citi, S.H. Sabanay, H. Kendrick-Jones, J. and Geiger, B. "Cingulin: characterization and localization." *J. Cell Sci.*, 1989; **93**:107-122.
 26. Stevenson, B.R.; Heintzelman, M.B.; Anderson, J.M.; Citi, S. and Mooseker, S. "ZO-1 and cingulin: tight junction protein with distinct identities and localizations." *Am. J. Physiol.*, 1989; **257**:C621-C628.
 27. Chapman, L.M. and Eddy, E.M. "A protein associated with the mouse and rat hepatocyte junctional complex." *Cell Tiss. Res.*, 1989; **257**:333-341.
 28. Gumbiner, B.; Lowenkopf, T. and Apatira, D. "Identification of a 160-kDa polypeptide that binds to the tight junction protein ZO-1." *Proc. Natl. Acad. Sci.*, USA 1991; **88**:3460-3464.
 29. Bryant, P.J. Molecular structure and function of invertebrate junctions. En: *Molecular mechanisms of epithelial cell junctions: from development to diseases*. ed. S. Citi. R.G. Landes Co. New York 1994.
 30. Zhong, Y.; Saitoh, T.; Minase, T.; Sawada, N.; Enomoto, K. and Mori, M. "Monoclonal antibody 7H6 reacts with novel tight junction-associated protein distinct from ZO-1, cingulin and ZO-2." *J. Cell Biol.*, 1993; **120**:477-483.
 31. Zhong, Y.; Enomoto, K.; Isomura, H.; Sawada, N.; Minase, T.; Oyadama, M.; Konish, Y. and Mori, M. "Localization of the 7H6 antigen at tight junction correlates with the paracellular barrier function of MDCK cells." *Exp. Cell Res.*, 1994; **214**:614-620.
 32. Balda, M.S.; González-Mariscal, L.; Matter, K.; Cerejido, M. and Anderson, J.M. "Assembly of the tight junction: the role of diacylglycerol." *J. Cell Biol.*, 1993; **123**:293-302.
 33. Zahraoui, A.; Joberty, G.; Arpin, M.; Fontaine, J.J.; Hellio, R. Tavitian, A. and Louvard, D. "A small GTPase is distributed in cytoplasmatic vesicles in no polarized cells but colocalizes with the tight junction marker ZO-1 in a polarized epithelial cells." *J. Cell Biol.*, 1994; **124**:101-115.
 34. Furuse, M.; Hirase, T.; Itoh, M.; Nagafuchi, A.; Yonemura, A. and Tsukita, S. "Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junction." *J. Cell Biol.*, 1993; **123**:1777-1788.
 35. Gumbiner, B. and Simons, K. "A functional assay for proteins involved in establishing an epithelial occluding barrier: identification of a uvomorulin-like polypeptide." *J. Cell Biol.*, 1986; **102**:457-468.
 36. Ozawa, M.; Ringwald, M. and Kemler, R. "Uvomoeulin-catenin complex formation is regulated by a specific domain in the cytoplasmatic region of the cell adhesion molecule." *Proc. Natl. Acad. Sci.*, USA, 1990; **87**:426-4250.
 37. Gumbiner, B.; Stevenson, B. and Grimaldi, A. "The role of the cell adhesion molecule uvomorulin in the formation and maintenance of the epithelial junctional complex." *J. Cell Biol.*, 1988; **107**:1575-1587.
 38. Boller, K.; Vestweber, D. and Kemler, R. "Cell-adhesion molecule uvomorulin is localized in the intermediate junctions of adult intestinal epithelial cells." *J. Cell Biol.*, 1985; **100**:327-332.
 39. Bentzel, C.H.; Hainau, B.; Ho, S.; Hui, S.W.; Edelman, A.; Anagnostopoulos, T. and Benedetti, E.L. "Cytoplasmic regulation of tight junction permeability: effect of plant cytokynins." *Am. J. Physiol.*, 1980; **239**:C75-C89.
 40. Meza, I.; Ibarra, G.; Sabanero, M.; Martínez-Palomo, A. and Cerejido, M. "Occluding junctions and cytoskeletal components in a cultured transporting epithelium." *J. Cell Biol.*, 1980; **87**:746-754.
 41. Madara, J.L.; Moore, R. and Carlson, S. "Alteration of intestinal tight junction structure and permeability by cytoskeletal contraction." *Am. J. Physiol.*, 1987; **253**:C854-C861.
 42. Madara, J.L. and Pappenheimer, J.R. "Structural basis of physiological regulation of paracellular pathways in intestinal epithelia." *J. Membr. Biol.*, 1987; **100**:149-164.
 43. Powell, D. "Barrier function of epithelia." *Am. J. Physiol.*, 1981; **241**:G275-G288.
 44. Finn, A.L. and Bright, J. "The paracellular pathway in toad urinary bladder: permselectivity and kinetics of opening." *J. Membr. Biol.*, 1978; **44**:67-83.
 45. Diamond, J.M. "Channels in epithelial cell membranes and junctions." *Federation Proc.*, 1978; **37**:2639-2644.
 46. Madara, J.L. "Increases in guinea pig small intestinal transepithelial resistance induced by osmotic loads are accompanied by rapid alterations in absorptive-cell tight junctions structure." *J. Cell Biol.*, 1983; **97**:125-136.
 47. Madara, J.L.; Barenberg, D. and Carlson, S. "Effects of cytochalasin D on occluding junctions of intestinal absorptive cells: Further evidence that the cytoskeleton may influence paracellular permeability and junctions charge selectivity." *J. Cell Biol.*, 1986; **102**:2125-2136.
 48. McNeil, H.; Ozawa, M.; Kemler, R. and Nelson, W.J. "Novel function of the cell adhesion molecule uvomorulin as an inducer cell surface polarity." *Cell*, 1990; **62**:309-316.
 49. Ojakian, G.K. and Schwimmer, R. "The polar-

- ized distribution of an apical cell surface glycoprotein is maintained by interactions with the cytoskeleton of Madin-Darby canine kidney cells." *J. Cell Biol.*, 1988; **107**:2377-2386.
50. Rodríguez-Boulán, E. and Nelson, W.J. "Morphogenesis of the polarized epithelial cell phenotype." *Science*, Wash. D.C. 1989; **245**:718-725.
 51. Vega-Salas, D.E.; Salas, P.J.I.; Gundersen, D. and Rodríguez-Boulán, E. "Formation of the apical pole of epithelial (Madin-Darby canine kidney) cells: polarity of an apical protein is independent of tight junctions while segregation of a basolateral marker requires cell-cell interactions." *J. Cell Biol.*, 1987; **104**:905-916.
 52. Takeichi, M. "Cadeherins: a molecular family important in selective cell-cell adhesion." *Annu. Rev. Biochem.*, 1990; **59**:237-252.
 53. Balcarova-Stander, J.; Pfeiffer, S.E.; Fuller, S.D. and Simmons, K. "Development of cell surface polarity in the epithelial Madin-Darby canine kidney (MDCK) cell line." *EMBO. J.*, 1984; **3**:2687-2694.
 54. Van Meer, G. Polarity and polarized transport of membrane lipids in a cultured epithelium. En: *Functional Epithelial Cells in Culture*, ed. K.S. Matlin and J.D. Valentich. New York, 1989: Liss, p. 43-69.
 55. Dragsten, P.R.; Blumenthal, R. and Handler, J.S. "Membrane asymmetry in epithelia: is the tight junction a barrier to diffusion in the plasma membrane?" *Nature*, Lond. 1981; **294**:718-722.
 56. Van Meer, G. and Simons, K. "The function of tight junctions in maintaining differences in lipid composition between apical and basolateral membrane domain of MDCK cells." *EMBO. J.*, 1986; **5**:1455-1464.
 57. Frömter, F. and Diamond, J. "Route of passive ion permeation in epithelia." *Nature New Biol.*, 1972; **235**:9-13.
 58. Gallardo, J.M. Identificación y caracterización parcial de un factor urinario que incrementa la resistencia eléctrica transepitelial en las células MDCK (Tesis), Depto. de Fisiología, CINVESTAV, 1995.

Correspondencia:

Juan M. Gallardo
 CINVESTAV-IPN, Departamento de Fisiología, Biofísica
 y Neurociencias
 Apdo. Postal 14-700
 México, D.F. 07000

Tel.: 747 70 00 ext. 5166
 Fax: 747 71 05

E-mail: gallardo @ fisio.cinvestav.mx