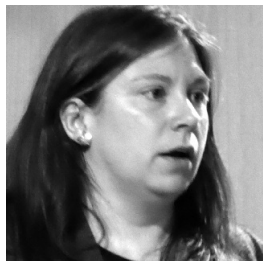




Olga Tornavaca i Lázaro

Doctora en bioquímica i biologia molecular (UAB-Cibbim Vall d'Hebron), llicenciada en biologia sanitària (UB), post doc al University College of London. Premi 2011 a joves investigadors de la Fundació Biogen Idec. Especialista en fisiopatologia renal i biologia vascular



Olga Tornavaca i Lázaro

La ZO-1, proteïna constituent dels complexos d'unió cel·lular: un important regulador del comportament de cèl·lules endotelials

Resum

Les cèl·lules interactuen entre elles i amb el seu entorn a través de contactes físics que coneixem com a *adhesions cel·lulars*. En les cèl·lules endotelials que cobreixen la superfície interna dels vasos sanguinis, aquestes estructures regulen, entre altres aspectes, la permeabilitat, la resposta al flux sanguini i l'angiogènesi.

L'estructura d'aquests complexos d'adhesió sovint es troba alterada en patologies com certs càncers, desordres cardiovasculars i problemes d'infertilitat. Per aquest motiu, entendre els mecanismes que en regulen la formació i funció ha estat objecte de recerca en els darrers anys.

La ZO-1 és una proteïna adaptadora associada als complexos d'unió intercel·lulars. El seu estudi demostra que la ZO-1 dirigeix l'organització espacial del citoesquelet d'actomiosina, controla la tensió entre cèl·lules i regula la integritat de les unions estretes i el potencial angiogènec de l'endoteli. Es descriu, així, una nova xarxa molecular de regulació on les unions intercel·lulars controlen el comportament de les cèl·lules endotelials.

Paraules clau:

ZO-1, adhesions cel·lulars, citoesquelet, mecanotransducció, angiogènesi.

Introducció

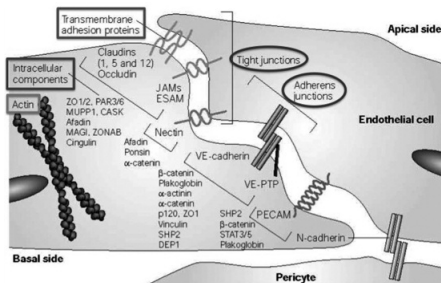
L'endoteli vascular

Els vasos sanguinis estan revestits d'una monocapa de cèl·lules endotelials; és el que coneixem com a **endoteli**. L'endoteli actua com una membrana semipermeable i regula el pas aquós, de gasos i macromolècules en els vasos sanguinis. Més enllà de ser una barrera altament selectiva, l'endoteli també regula el to vascular i la pressió sanguínia, participa en els processos de coagulació de la sang, regula la resposta immunitària i inflamatòria i intervé en la formació de vasos sanguinis nous o angiogènesi.

El paper clau de les cèl·lules endotelials en l'homeòstasi vascular es dona en part per la capacitat de les cèl·lules de comunicar-se entre elles i amb el seu entorn mitjançant les **adhesions cel·lulars**. Aquests complexos d'adhesió funcionen com a estructures de senyalització que regulen l'angiogènesi i controlen la permeabilitat i el flux sanguini, entre altres funcions. Per tant, qualsevol canvi en l'organització d'aquestes unions cel·lulars pot comprometre les funcions de l'endoteli i l'arquitectura dels vasos sanguinis.¹

Les unions cel·lulars i el citoesquelet

Hi ha diferents tipus d'unions cèl·lula-cèl·lula, entre elles les **unions estretes o tight junctions (TJ)**, que actuen principalment com a barrera regulant la permeabilitat, i les **unions adherents o adherens junctions (AJ)**, responsables de la integritat dels teixits. La idea més estesa és que aquestes dos estructures, que en l'endoteli s'organitzen de forma menys rígida que en altres teixits, estan interconnectades (figura 1). Així, les AJ es formen en els estadis inicials de l'establiment dels contactes intercel·lulars i a continuació es formen les TJ.¹



Article de referència

TORNABACA, O.; CHIA, M.; DUFTON, N.; ALMAGRO, L.O.; CONWAY, D.E.; RANDI, A.M.; SCHWARTZ, M.A.; MATTER, K.; BALDA, M.S. "ZO-1 controls endothelial adherens junctions, cell-cell tension, angiogenesis, and barrier formation." *J Cell Biol.* 2015 Mar 16; 208(6):821-38. doi: 10.1083/jcb.201404140.

Figura 1. Organització molecular de les unions intercel·lulars en cèl·lules endotelials. Es representen diferents proteïnes transmembrana components d'unions estretes o TJ i unions adherents o AJ. S'hi observen també alguns dels elements intracel·lulars que formen part dels complexos d'unió identificats fins ara, entre ells la ZO-1. Alguns d'aquests components ajuden a ancorar aquests complexos al citoesquelet d'actomiosina. Adaptat de Dejana, E.¹

En ambdós casos, l'adhesió és mitjançada per **proteïnes transmembrana** que promouen interaccions homofíliques. Entre les TJ trobem diferents famílies de proteïnes: claudines, ocludines i JAM, mentre que en les AJ la principal proteïna transmembrana a l'endoteli és la VE-cadherina.

Aquestes proteïnes transmembrana interactuen a través de les seves cues citoplasmàtiques amb altres **proteïnes intracel·lulars** que formaran part també d'aquests complexos d'adhesió. Tenen funcions molt diverses: transduir senyals, actuar com a factors de transcripció, sensors de forces mecàniques, proteïnes

d'unió al citoesquelet, etc. Això permet el manteniment de la forma i la polaritat cel·lular, així com la transmissió de senyals cap a l'interior de la cèl·lula.^{1,2}

El **citoesquelet** és una xarxa dinàmica de proteïnes que actuen com un esquelet i coordinen l'arquitectura cel·lular, la motilitat, el transport intracel·lular, etc. Està constituït per diferents tipus de filaments, però és el **citoesquelet d'actomiosina** el que mostra una íntima relació amb els contactes intercel·lulars tipus AJ i TJ. La formació i maduració d'aquests contactes cel·lulars implica una important reorganització del citoesquelet d'actomiosina.³

La proteïna zona occludens-1 (ZO-1)

Una de les proteïnes que formen part dels complexos d'unió intercel·lulars és la **ZO-1**, que es localitza majoritàriament a les unions estretes. La presència en la seva estructura de diferents dominis d'unió a altres proteïnes permet que actuïn com a proteïnes adaptadores. Dit d'una altra manera, actuen com a punt d'ancoratge per a múltiples proteïnes apropant elements de l'interior cel·lular a les unions intercel·lulars localitzades a la membrana, i així permeten la formació de grans complexos proteics que regulen les vies de senyalització.

Diferents estudis han identificat algunes de les proteïnes capaces d'interaccionar amb la ZO-1; alguns exemples són diferents proteïnes transmembrana (claudina, ocludina, JAM), proteïnes d'unió al citoesquelet (cortactina, cingulina o α -catenina), altres proteïnes de la seva pròpia família (ZO-2 i ZO-3) i mediadors de la senyalització com el factor de transcripció ZONAB, entre d'altres. La ZO-1 també té la capacitat d'unir-se directament al citoesquelet d'actina.^{1,3}

La funció de la ZO-1 s'ha estudiat majoritàriament en cèl·lules epitelials on s'ha vist que, juntament amb la ZO-2, no només participa sinó que la seva presència és necessària per a l'assemblatge de les unions intercel·lulars del tipus TJ.^{4,5} Ratolins en els quals s'ha eliminat l'expressió de la ZO-1 (ZO-1 knock-out) moren en estadi embrionari i mostren defectes en els vasos sanguinis del sac vitel·lí. Tot i que se'n desconeixen els mecanismes moleculars responsables, s'ha suggerit que la ZO-1 podria regular funcions cel·lulars importants per a l'angiogènesi.⁶

L'angiogènesi

L'angiogènesi és el procés fisiològic consistent en la formació de vasos sanguinis nous a partir de vasos preexistents. És vital durant el desenvolupament embrionari però també en l'adult, en què és un fenomen habitual durant el creixement de l'organisme, la cicatrització de les ferides o en l'úter durant el cicle menstrual.⁷

La formació d'una nova xarxa vascular consisteix en múltiples passos seqüencials, coordinats i interdependents que depenen de diferents factors angiogènics, entre els quals hi ha factors de creixement, enzims, receptors de membrana i molècules d'adhesió.⁸

En diferents **estats patològics** es dona una desregulació de l'angiogènesi, ja sigui per excés, com en el càncer o la retinopatia diabètica, o per defecte, com en problemes cardíacs o d'infertilitat.⁸ Per aquest motiu, entendre els mecanismes moleculars que regulen el complex procés d'angiogènesi ha estat i continua sent objecte de recerca.

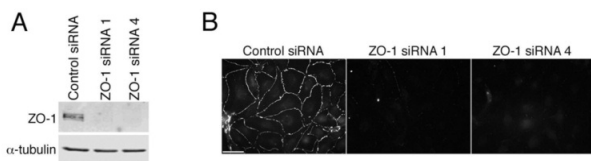
Resultats

La ZO-1 a l'endoteli

Els laboratoris dels professors K. Matter i MS. Balda han centrat la seva recerca en l'estudi dels complexos d'unió intercel·lulars i com regulen processos biològics com la proliferació, la migració, la resposta a l'estrès i la funció de barrera dels teixits. Davant el suggeriment que la ZO-1, una proteïna associada a les TJ, podria ser important en l'organització del teixit endotelial, es plantegen els interrogants següents: és la ZO-1 una proteïna important per a la integritat i funció de l'endoteli i el seu potencial angiogènic? I, si és així, quins són els mecanismes moleculars que ho regulen?

L'aproximació experimental utilitzada per tal d'estudiar la funció de la ZO-1 es coneix amb el nom de **pèrdua de funció**. Consisteix a silenciar l'expressió de la ZO-1 en el model

Figura 2. Silenciament de la ZO-1 en cèl·lules endotelials. S'analitza la presència de la proteïna ZO-1 en cèl·lules control (Control siRNA) i cèl·lules on s'ha silenciat l'expressió de ZO-1 (ZO-1 siRNA 1 i 4). S'utilitzen dos tècniques diferents d'anàlisi: detecció de la ZO-1 per Western blot en extractes proteics (A) i per immunofluorescència en cèl·lules crescudes sobre vidre (B). En ambdós casos es demostra el correcte silenciament de la proteïna



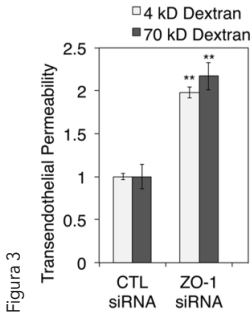


Figura 3

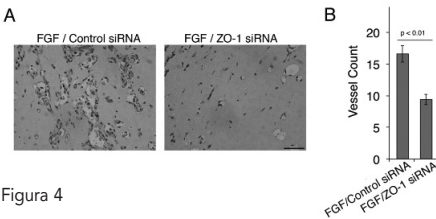


Figura 4

Figura 3. El silenciament de ZO-1 augmenta la permeabilitat en cèl·lules endotelials i afecta el funcionament de la barrera endotelial. S'assaja la permeabilitat de cèl·lules endotelials control (Control siRNA) i cèl·lules on s'ha silenciada l'expressió de ZO-1 (ZO-1 siRNA). La pèrdua de ZO-1 duplica la permeabilitat observada en cèl·lules control i es demostra un mal funcionament de la barrera endotelial

Figura 4. El silenciament de ZO-1 redueix el potencial angiogènic. S'assaja *in vivo* la capacitat de cèl·lules control (Control siRNA) i cèl·lules silenciades per ZO-1 (ZO-1 siRNA) de formar vasos sanguinis en presència del factor de creixement FGF. Les cèl·lules, un cop silenciades *in vitro*, s'injecten als ratolins juntament amb components de la matriu extracel·lular i FGF. Passats set dies, es recullen les mostres i es preparen per a la tinció amb hematoxilina i eosina (A). La quantificació dels vasos sanguinis formats es mostra en el panel B mitjana \pm SD; siRNA, n=12) Barra: 250 μ m

d'estudi triat, en aquest cas cèl·lules endotelials. És a dir, s'impedeix l'expressió de la ZO-1 en aquestes cèl·lules, on ara els nivells de la proteïna d'estudi són indetectables (figura 2). Aquesta manca d'expressió de la ZO-1 provoca un seguit de canvis en el comportament de les cèl·lules que ens permeten inferir quina és la funció de la proteïna.

L'endoteli actua com una barrera altament selectiva regulant el pas de fluids i macromolècules entre la sang i els teixits circumdants mitjançant el control de les unions estretes o TJ. La sola pèrdua de ZO-1 de les TJ en cèl·lules endotelials augmenta el doble la permeabilitat de l'endoteli i assenyalta defectes en la formació de la barrera endotelial (figura 3).

L'estudi també demostra que l'absència de ZO-1 en cèl·lules endotelials compromet la formació de vasos sanguinis nous, efecte que s'observa tant en un model cel·lular *in vitro* com en un model *in vivo* en ratolí. La ZO-1, per tant, és essencial per a la regulació de l'angiogènesi (figura 4).

Així doncs, la ZO-1 participa en la regulació d'almenys dos aspectes funcionals de la cèl·lula endotelial, la formació de la barrera endotelial i l'angiogènesi. Però quins són els mecanismes a escala molecular responsables d'aquestes funcions de la ZO-1?

La ZO-1 regula la tensió mecànica entre cèl·lules a l'endoteli

La funció de barrera en els teixits es regula de manera molt precisa especialment per canvis en la contractilitat del citoesquelet d'actomiosina íntimament lligat a les TJ i AJ. Altres funcions en la cèl·lula requereixen una complexa reorganització del citoesquelet d'actomiosina, per exemple durant el procés d'angiogènesi. I sabem que la ZO-1, proteïna associada a les TJ, té la capacitat d'unir-se a l'actina. Per tot això, s'analiza el possible paper del citoesquelet d'actomiosina en els efectes provocats per la pèrdua de ZO-1 en les cèl·lules endotelials.

El citoesquelet d'actomiosina és una xarxa dinàmica constituïda per filaments d'actina i altres proteïnes associades com la miosina. La miosina és un motor molecular capaç de transformar l'energia química en energia mecànica i desplaçar-se sobre els filaments d'actina i induir, així, la

contractilitat del citoesquelet. Aquest fenomen està altament regulat i la proteïna MLC2 (cadena lleugera de la miosina 2) n'és en part responsable. Quan aquesta proteïna es fosforila, és a dir, guanya grups fosfat, s'activa, promou l'activitat de la miosina i, per tant, augmenta la força contràctil del citoesquelet.⁹

L'anàlisi del citoesquelet d'actina en les cèl·lules amb l'expressió de la ZO-1 silenciada demostra que la ZO-1 actua orquestrant l'organització espacial del citoesquelet d'actomiosina. En presència de ZO-1, l'actina i la miosina es distribueixen i formen un cinturó en el perímetre de la cèl·lula resseguint la posició de les unions entre cèl·lules. Amb la pèrdua de ZO-1, aquestes proteïnes es redistribueixen dràsticament, desapareixen de les unions intercel·lulars i formen fibres d'estrès (figura 5). Les fibres d'estrès són feixos d'actomiosina que s'ancoren a la membrana basal de les cèl·lules en estructures anomenades adhesions focals. Aquestes fibres tenen una elevada contractilitat i són essencials per a l'adhesió cel·lular.

La pèrdua del cinturó d'actomiosina a les unions intercel·lulars per la manca de ZO-1 resulta en una reducció de la força tensora entre cèl·lules adjacents. Per tant, la ZO-1 no tan sols regula l'organització del citoesquelet, sinó també la tensió en els contactes entre cèl·lules.

La ZO-1 controla la localització de proteïnes d'unions estretes i mecanotransductors

L'estudi també demostra que la pèrdua de ZO-1 en cèl·lules endotelials redueix el reclutament de dos proteïnes transmembrana components de les TJ, la Claudina-5 i la JAM-A (figura. 6A). En canvi, no es produeixen canvis destacables en la localització de diferents components de les AJ, com la VE-cadherina, α - i β -catenines o p120-catenina (figura. 6B).

Els mecanotransductors converteixen els estímuls mecànics en activitat química capaç de desencadenar senyals que afecten la fisiologia cel·lular, com la mobilitat, la proliferació i la supervivència. La vinculina és una proteïna del citoesquelet que participa en processos d'adhesió cel·lular i actua com a transductor de forces mecàniques en les AJ a través de la unió amb l' α -catenina.⁹ El silenciament de la ZO-1 en cèl·lules endotelials promou la redistribució de la vinculina des dels contactes intercel·lulars cap a les adhesions focals a la base de la

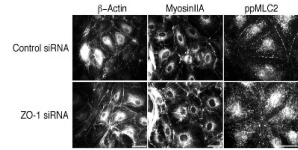
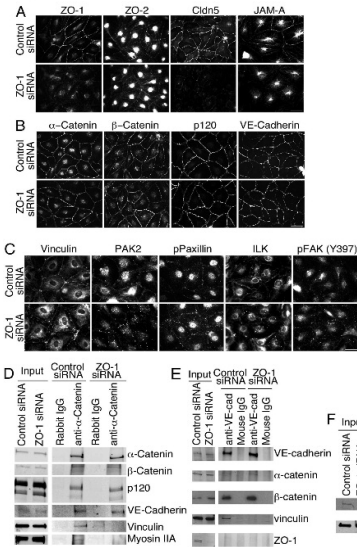


Figura 5. ZO-1 regula la distribució del citoesquelet d'actomiosina. S'analiza, per immunofluorescència, la distribució de la β -actina, la miosina IIA i la ppMLC2 en cèl·lules control (Control siRNA) i cèl·lules silenciades per ZO-1 (ZO-1 siRNA). Quan s'elimina l'expressió de ZO-1 s'observa, per als tres marcadors utilitzats, la pèrdua de senyal en els contactes intercel·lulars i la formació de fibres d'estrès



Figures. 6, 6A, 6B, 6C, 6D, 6E, 6F

cèl·lula (figura 6C, D, E i F). Resultats similars s'obtenen en analitzar altres components de la maquinària responsable de la generació i transducció de forces com les proteïnes PAK2, paxilina fosforilada, ILK o FAK activada (figura 6C). Així doncs, la ZO-1 regula el reclutament de diferents mecanotransductors en els contactes entre cèl·lules amb conseqüències significatives en la tensió entre cèl·lules veïnes.

La JAM-A actua de manera cooperativa amb la ZO-1

La pèrdua de ZO-1 promou la desaparició de la JAM-A i la claudina-5 dels contactes intracel·lulars (figura 6A). Però com són d'importants aquestes proteïnes en la reorganització del citoesquelet i la integritat de les TJ?

Figura 6. El silenciament de ZO-1 condueix a la redistribució selectiva de les proteïnes de les unions estretes i dels mecanotransductors. S'analitza per immunofluorescència la distribució d'alguns dels components de TJ (A), AJ (B) i mecanotransductors (C) en cèl·lules control (Control siRNA) i cèl·lules silenciades per la ZO-1 (ZO-1 siRNA). S'identifica per assajos d'immunoprecipitació el complex d'unió on es troba la vinculina en cèl·lules control o silenciades. Com a marcador del complex d'unió d'AJ s'utilitza l' α -catenina (D) i la VE-cadherina (E); per identificar el complex d'unió d'adhesions focals s'utilitza la talina (F). En cèl·lules sense ZO-1 s'observa la pèrdua de claudina-5 i JAM-A dels contactes intercel·lulars, així com de tots els mecanotransductors analitzats. Aquesta redistribució dels mecanotransductors es confirma en observar-se que, en cèl·lules control, la vinculina es troba unida als components d'AJ α -catenina i VE-cadherina. Per contra, en cèl·lules sense ZO-1 es perd aquesta interacció i la vinculina passa a detectar-se en els complexos d'adhesions focals que contenen talina. Barres: (A), 40 μ m; (B), 50 μ m; (C), 30 μ m

Figures. 7, 7A, 7B

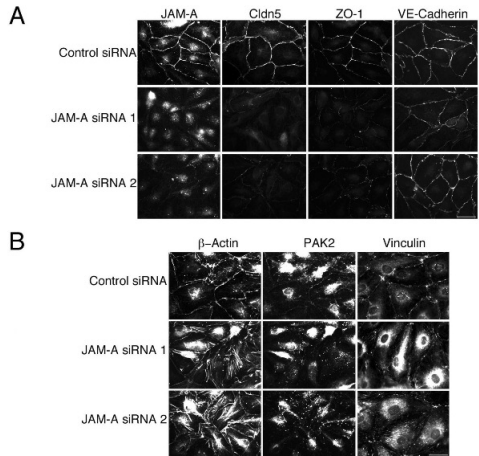


Figura 7 El silenciament de JAM-A promou la redistribució de ZO-1 i claudina-5 i induïx la formació d'adhesions focals. Utilitzant assajos d'immunofluorescència es determina els efectes del silenciament de la JAM-A en cèl·lules endotelials: pèrdua de les TJ Claudina-5 i ZO-1 en els contactes intercel·lulars (A), reorganització del citoesquelet d'actina formant fibres d'estrès i redistribució dels mecanotransductors PAK2 i vinculina a les adhesions focals (B) Barres: 30 μ m

El silenciament de la JAM-A provoca la pèrdua de ZO-1 i claudina-5, la redistribució del citoesquelet d'actomiosina promovent la formació de fibres d'estrès i la relocalització de PAK2 i vinculina a les adhesions focals (figura 7A i B), és a dir, mimetitza els resultats obtinguts prèviament amb el silenciament de la ZO-1. Sembla, doncs, que ZO-1 i JAM-A actuen de manera cooperativa, ja que cada una d'elles influencia la distribució de l'altra, i ambdós són necessàries per a la localització de la claudina-5 a les unions estretes.

En canvi, el silenciament de la claudina-5 no altera la localització de ZO-1, ni l'organització del citoesquelet, ni la distribució dels mecanotransductors PAK 2 i vinculina (figura 8A). Tampoc compromet l'angiogènesi en cèl·lules endotelials (figura 8C). Per contra, la pèrdua de la claudina-5 mimetitza els efectes de la pèrdua de ZO-1 en la permeabilitat endotelial i assenjala defectes en la formació de la barrera endotelial (figura 8B).

Així doncs, la claudina-5 participa en la formació de la barrera endotelial depenent de ZO-1, però no té cap paper rellevant en la via que regula l'angiogènesi. I, d'altra banda, es pot descriure ZO-1 i JAM-A com una unitat funcional que regula l'assemblatge de les unions estretes i l'organització del citoesquelet; per tant, ambdós controlen la formació de la barrera i el potencial angiogènec de les cèl·lules endotelials.

La ZO-1 regula l'activació de la miosina als contactes intercel·lulars

El silenciament de la ZO-1 promou la pèrdua de la miosina en els contactes intercel·lulars a favor de la formació de fibres d'estrès (figura 5), la pèrdua de components de les TJ (figura 6A) i la redistribució de la maquinària de transducció de forces mecàniques (figura 6C, D, E i F). Experiments posteriors demostren que aquesta reorganització del citoesquelet i deformació de les TJ es deu a un desequilibri en la distribució de la tensió generada per la miosina. Com regula aquest fenomen la ZO-1?

La miosina genera forces entre els filaments d'actina induint la

Figures 8, 8A, 8B, 8C

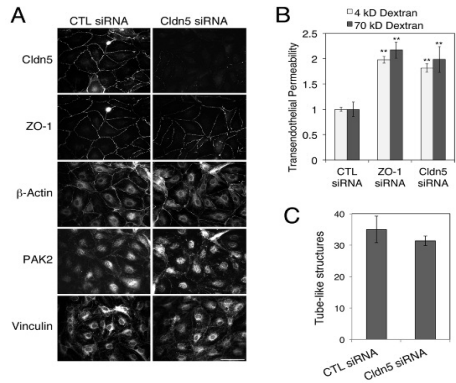


Figura 8. La pèrdua de claudina-5 perjudica el funcionament de la barrera endotelial. S'analitza per immunofluorescència la distribució de diferents proteïnes en cèl·lules silenciades per a l'expressió de la claudina-5 sense observar-se cap canvi destacable (A). La pèrdua de claudina-5 promou un augment significatiu de la permeabilitat cel·lular similar a l'observada en cèl·lules silenciades per a la ZO-1 (B), mentre que no afecta la capacitat angiogènica de les cèl·lules en un assaig de tubulogènesi in vitro (C)

Notes i Bibliografia

1. DEJANA, E. "Endothelial cell-cell junctions: Happy together". *Nat. Rev. Mol Cell Biol.* 2004 Apr; 5(4):261-70.
2. WALLEZ, Y., HUBER, P. "Endothelial adherents and tight junctions in vascular homeostasis, inflammation and angiogenesis." *Biochim. Biophys. Acta* 2008 Mar; 1778(3):794-809.
3. HARTSOCK, A., NELSON, W.J. "Adherents and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton." *Biochim. Biophys. Acta* 2008 Mar; 1778(3):660-9.

Figures. 9, 9A, 9B

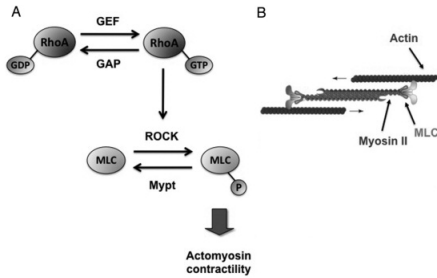
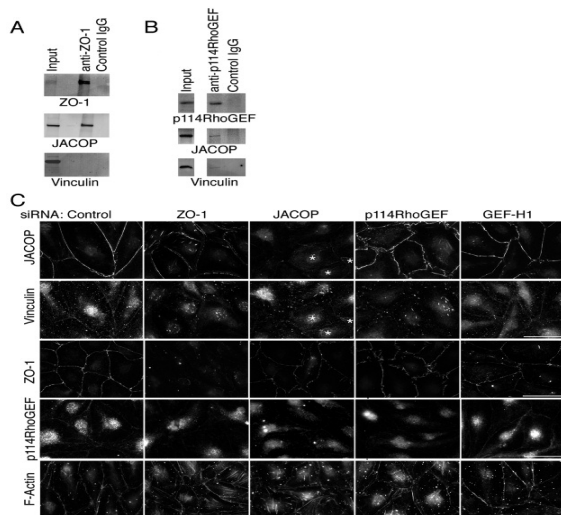


Figura 9 Activació de la via RhoA/ROCK. Esquema simplificat de l'activació de la via RhoA/ROCK (A) i diagrama de l'assemblatge del citoesquelet d'actomiosina adaptat de Clark *et al.*⁹ (B). L'activació de la capacitat motora de la miosina guia el moviment dels filaments d'actina (en la direcció de les fletxes) per induir la contracció

contractilitat del citoesquelet. L'activació de la miosina requereix una sèrie de passos en cascada, simplificats en la figura 9. Cal que una proteïna de la família GEF activi la GTPasa RhoA, que, al seu torn, activa la quinasa ROCK. Aquesta quinasa és la responsable d'afegir grups fosfat a l'MLC activant-la. A l'últim, l'MLC fosforilada activa la miosina i dona lloc a la contracció dels filaments d'actina del citoesquelet.^{9,11,12}

Els resultats de l'estudi demostren que la ZO-1, en cèl·lules endotelials, fa un rol essencial en aquesta cascada d'activació. Diferents experiments condueixen a identificar el lligam entre ZO-1 i el citoesquelet d'actomiosina. Així, per una banda, es descriu la interacció de ZO-1 amb la proteïna JACOP en les TJ (figura 10A). Aquesta interacció en els contactes intercel·lulars és necessària per al reclutament de p114RhoGEF a la membrana lateral de les cèl·lules (figura 10B i C). La p114RhoGEF té la capacitat d'activar la GTPasa RhoA, que finalment duu a l'activació de la miosina.

Tant és així que quan la ZO-1 s'expressa i localitza les TJ es pot detectar l'activitat de RhoA en els contactes intercel·lulars. Però la pèrdua de ZO-1 provoca la reducció de l'activitat RhoA en el perímetre cel·lular i un augment de



Figures. 10, 10A, 10B, 10C

Figura 10. La ZO-1 és necessària per al reclutament de JACOP i p114RhoGEF als contactes intercel·lulars. Assaigs d'immunoprecipitació demostren la interacció de ZO-1 i JACOP (A) i de JACOP, p114RhoGEF i vinculina (B) en cèl·lules endotelials formant un complex en els contactes intercel·lulars. La presència de ZO-1 i JACOP a la membrana és necessària per al reclutament de p114RhoGEF i el manteniment del fenotip de la cèl·lula endotelial (C)

l'activitat en la resta de la cèl·lula. Aquesta redistribució de l'activitat de RhoA genera un desequilibri en l'activitat de la miosina, responsable última dels canvis observats en les cèl·lules endotelials per la pèrdua de ZO-1. En efecte, quan en cèl·lules silenciades per la ZO-1 s'inhibeix l'activitat de la miosina amb un inhibidor específic, la blebistatina, es restableix el fenotip i es recupera l'expressió de JAM-A als contactes intercel·lulars i se suprimeixen les fibres d'estrès. Així doncs, la ZO-1 regula la via RhoA/ROCK mitjançant el reclutament de JACOP i p114RhoGEF als contactes entre cèl·lules per així controlar l'activitat del citoesquelet d'actomiosina en aquests llocs.

Conclusions

Els contactes entre cèl·lules han de ser prou estables per permetre la formació de la barrera i mantenir la integritat dels teixits i, alhora, prou plàstiques per a situacions de remodelatge. Aquesta habilitat de resposta als canvis de tensió en els teixits permet als contactes intercel·lulars mantenir-se funcionals en processos com l'angiogènesi. Per tal de mantenir aquesta plasticitat, proteïnes dels contactes entre cèl·lules interaccionen amb el citoesquelet d'actomiosina i permeten una activació localitzada de les RhoGTPases, i regulen així la dinàmica del citoesquelet. Proteïnes adaptadores amb capacitat per unir-se a diferents efectors poden actuar com a mòduls de senyalització que regulen l'estructura i contractilitat del citoesquelet per tal d'aconseguir l'adhesió cel·lular apropiada.

En aquest sentit, la recerca duta a terme demostra que la ZO-1, en cèl·lules endotelials, actua dirigint l'organització espacial de l'activitat del citoesquelet d'actomiosina pel que fa a les unions intercel·lulars. Forma amb la JAM-A una unitat cooperativa que estimula l'activació de l'actomiosina dels contactes cel·lulars via el reclutament de JACOP i p114RhoGEF, amb la consegüent regulació de la formació de la barrera endotelial, la tensió entre cèl·lules i el potencial angiogènic.

La comprensió dels mecanismes moleculars que regulen la formació i el manteniment de la barrera en l'endoteli o l'angiogènesi ha de permetre el futur desenvolupament de noves teràpies per a la inflamació vascular, els desordres cardiovasculars, la retinopatia diabètica i el càncer, per exemple.

4. GUILLEMOT, L.; PASCHOU, S.; PULIMENO, P.; FOGLIA, A.; CITI, S. "The cytoplasmic plaque of tight junctions: a scaffolding and signalling center." *Biochim Biophys Acta* 2008 Oct;19(10):4442-53.
5. FANNING A.S.; ANDERSON, J.M. "Zonula Occludens-1 and -2 are cytosolic scaffolds that regulate the assembly of cellular junctions." *Ann NY Acad Sci.* 2009 May; 1165:113-120.
6. KATSUNO, T.; UMEDA, K.; MATSUI, T.; HATA, M.; TAMURA, A.; ITOH, M.; TAKEUCHI, K.; FUJIMORI, T.; NABESHIMA, Y.; NODA, T.; TSUKITA, S.; TSUKITA, S. "Deficiency of zonula occludens-1 causes embryonic lethal phenotype associated with defected yolk sac angiogenesis and apoptosis of embryonic cells." *Mol Biol Cell.* 2008 Jun;19(6):2465-75.
7. ADAMS, R.H.; ALITALO, K. "Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis." *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007 Jun;8(6):464-78.
8. CARMELIET, P.; JAIN, R.K. "Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis." *Nature.* 2011 May 19;473(7347):298-307.
9. CLARK, K.; LANGESLAG, M.; FIGDOR, C.G.; VAN LEEUWEN, F.N. "Myosin II and mechanotransduction: a balancing act." *Trends Cell Biol.* 2007 Apr;17(4):178-86.
10. HUVENEERS, S.; OLDENBURG, J.; SPANJAARD, E.; VAN DER KROGT, G.; GRIGORIEV, I.; AKHMANOVA, A.; REHMANN, H.; DE ROOIJ, J. "Vinculin associates with endothelial VE-cadherin junctions to control force-dependent remodeling." *J Cell Biol.* 2012 Mar 5;196(5):641-52.
11. NARUMIYA, S.; THUMKEO, D. "Rho signaling research: history, current status and future directions." *FEBS Lett.* 2018 Jun;592(11):1763-1776.
12. SCHAEFER, A.; REINHARD, N.R.; HORDLIK, P.L. "Toward understanding RhoGTPase specificity: structure, function and local activation." *Small GTPases.* 2014;5(2):6.