

## CONSEQUÊNCIAS DOS DEFEITOS DA PROTEÍNA DA JUNÇÃO COMUNICANTE CONEXINA43 (CX43) DECORRENTES DA DOENÇA DE CHAGAS

### CONSEQUENCES OF CONNEXIN43 (CX43) GAP JUNCTION PROTEIN DEFECTS RESULTING FROM CHAGAS DISEASE

Giovana Camili Maluf<sup>1</sup>, Beatriz Essenfelder Borges<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Faculdades Pequeno Príncipe, Curitiba, Paraná, Brasil

\*Autor correspondente: Rua Coronel Airton Plaisant, 970, Santa Quitéria, Curitiba.

Telefone: 41 999975311. E-mail: biaessenfelder@gmail.com

#### RESUMO

A Doença de Chagas é uma infecção endêmica causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Suas principais consequências incluem danos celulares ocasionados pela multiplicação do protozoário, que acometem substancialmente as células cardíacas causando cardiomiopatias. Assim, o objetivo deste trabalho é compreender os danos causados na proteína da junção comunicante conexina43, decorrentes da doença de Chagas e suas consequências no organismo humano. Foi realizada uma revisão integrativa com busca nos bancos de artigos Scielo, MedLine e PubMed, utilizando como descritores "Doença de Chagas", "junções comunicantes", "fibrilação atrial", "conexina43" (Cx43) e suas traduções, com auxílio do operador booleano "AND". Sequencialmente, foram selecionados os artigos que melhor abordavam o tema. Ao afetar os miócitos cardíacos, o parasito prejudica o funcionamento celular, alterando os canais de junção gap responsáveis pela comunicação intercelular. As principais alterações incluem a fosforilação, ou não, de resíduos de aminoácidos e a desregulação das concentrações de pH intercelular e de Ca<sup>+</sup>. Alterações na estrutura, expressão e distribuição da Cx43 alteram também as junções comunicantes, o que ocorre em pacientes infectados por *T. cruzi* em fase aguda e em doenças arritmogênicas. Nessa perspectiva, há uma remodelação evidente no arranjo da Cx43 nos discos intercalares do miocárdio e, visto que a comunicação pelas junções gap é fundamental para a propagação do sinal elétrico, consequentes anormalidades nas vias de condução do impulso atrial, como fibrilações. Conclui-se que a gravidade das possíveis complicações da patologia, derivada da disfunção e desorganização da proteína Cx43, ocasionam a redução do acoplamento elétrico tornando o indivíduo mais suscetível a arritmias.

**Palavras-chave:** Doença de Chagas, junções comunicantes, conexina43 (Cx43), fibrilação atrial.

#### ABSTRACT

Chagas disease is an endemic infection caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. Its main consequences include cellular damage caused by the multiplication of the protozoan, which substantially affects cardiac cells, causing cardiomyopathies. Thus, the objective of this work is to understand the damage caused in the protein of the communicating junction Connexin43 due to Chagas disease and its consequences in the human organism. An integrative review was carried out by searching the article databases Scielo, MedLine, and PubMed using the keywords "Chagas disease," "communicating junctions," "atrial fibrillation," "Connexin43" (Cx43) and their translations

with the aid of the Boolean operator "AND". Sequentially, the articles that best addressed the subject were selected. By affecting cardiac myocytes, the parasite impairs cell function, altering the gap junction channels responsible for intercellular communication. The main changes include the phosphorylation, or not, of amino acid residues and the downregulation of intercellular pH and Ca<sup>+</sup> concentrations. Alterations in the structure, expression and distribution of Cx43 also alter communicating junctions, which occurs in patients infected with *T. cruzi* in the acute phase and in arrhythmogenic diseases. In this perspective, there is an evident remodeling in the arrangement of Cx43 in the intercalary disks of the myocardium and, since communication through the gap junctions is fundamental for electrical signal propagation, consequent abnormalities in the atrial impulse conduction pathways, such as fibrillations. It is concluded that the severity of the possible complications of the pathology, derived from dysfunction and disorganization of the Cx43 protein, cause a reduction in electrical coupling, making the individual more susceptible to arrhythmias.

**Keywords:** Chagas disease, gap junctions, connexin43 (Cx43), atrial fibrillation.

## INTRODUÇÃO

Descrita pela primeira vez em 1909, pelo pesquisador Carlos Chagas, a doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase por *Trypanosoma cruzi* ou tripanossomíase americana (terminologia adotada pela Nomenclatura Internacional de Doenças, a NID), é uma enfermidade causada por protozoários do gênero *Trypanosoma*, que se alocam no sangue e nos tecidos humanos e de animais. Os principais vetores do *Trypanosoma* para os humanos são insetos das espécies *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus*, entre outras (VINHAES et al., 2000).

O vetor, popularmente conhecido como barbeiro, transmite o agente etiológico ao defecar após acabar de se alimentar, eliminando assim os protozoários em contato com a pele da vítima. Ademais, a transfusão sanguínea, a ingestão de alimentos contaminados e de mãe para filho durante a gravidez, são outras formas de contágio da doença. Uma vez infectado, o diagnóstico pode ser realizado por meio de exames de sangue, sorologia, reação em cadeia da polimerase (PCR), imunofluorescência indireta (IFI), hemaglutinação indireta (HAI) e através de enzimas (Elisa) (VINHAES et al., 2000).

A doença se desenvolve em duas fases: aguda e crônica. Após um período de incubação de 1 a 2 semanas inicia-se a fase aguda da doença, geralmente assintomática e inexpressiva e com duração de 6 a 8 semanas. Quando aparente, os primeiros sinais e sintomas da infecção pelo protozoário são inespecíficos e podem incluir vômitos, mialgia, diarreia, anorexia, febre e mal-estar. Complicações cardíacas são pouco frequentes na fase inicial e condições como a miocardite surgem em menos de 1% dos casos (SANTOS et al., 2020). A fase crônica da doença de Chagas surge após 20 a 40 anos da infecção original, entretanto, sua manifestação é muito mais grave. A clínica caracteriza-se por febre, mal-estar, inflamação dos gânglios linfáticos e inchaço do fígado e do baço. Característico dessa fase da doença, o chagoma se refere à inflamação aliada ao edema no local da penetração do parasito. Ademais, outra clínica característica é o sinal de Romaña, um edema inflamatório unilateral das pálpebras que ocorre em 10% a 20% dos casos, quando a contaminação ocorre na mucosa ocular. Os casos mais graves da doença podem ser potencialmente fatais, causando danos no coração e inflamações que comprometem a meninge e o cérebro (PEREIRA et al., 1992).

Uma das principais e mais decorrentes manifestações da doença, na fase crônica sintomática, são as lesões cardíacas que caracterizam a cardiomiopatia chagásica crônica (CCC). A cardiopatia dá-se,

pois, ao penetrar nos miócitos cardíacos. O protozoário se multiplica acometendo substancialmente as junções gap, essenciais para a comunicação entre as células (PEREIRA et al., 1992). Essas alterações podem resultar em diferentes condições patológicas dependendo do sítio cardíaco acometido. As mais frequentes incluem cardiomiopatia dilatada e arritmias (SANTOS et al., 2020).

As junções gap ou junções comunicantes são complexos de hemicanais proteicos formados pelo agrupamento de seis subunidades de conexinas, resultando em um duto com um canal central que realiza a comunicação entre os citoplasmas de células adjacentes, permitindo o transporte de moléculas e íons. Esse acoplamento metabólico e elétrico, mediado pelas JG é especialmente importante no tecido cardíaco para garantir uma contração e bombeamento coordenados e adequados. Entretanto, os portadores da doença de Chagas, ao sofrerem desregulações internas em consequência dos danos causados pelo parasito, têm suas conexinas afetadas, principalmente a conexina43 (Cx43). Essa isoforma é mais abundante no coração humano e acaba tendo sua estrutura alterada, bem como sua expressão e distribuição no organismo (RIBEIRO-RODRIGUES et al., 2017).

A remodelação da Cx43 acaba por alterar também as junções gap, afetando a comunicação célula-célula e danificando o transporte do sinal elétrico essencial para a condução do impulso atrial. Desse modo, o indivíduo infectado fica altamente propenso a alterações no ritmo cardíaco devido às falhas na propagação dos estímulos elétricos. A fibrilação atrial é a principal arritmia desenvolvida, caracterizada por causar irregularidades na frequência cardíaca além de aumentar as chances de desenvolvimento de outras complicações, como o acidente vascular cerebral (AVC) e o aumento de tamanho do próprio órgão (cardiomegalia chagásica) (CARVALHO et al., 1994).

O quadro descrito de cardiomiopatia chagástica ocorre em 20/40% dos infectados. Além disso, estima-se que há cerca de 2 a 3 milhões de portadores da doença crônica no Brasil, representando uma importante causa de morte entre adultos entre 30 e 60 anos, além de uma das principais causas de implante de marca-passo e transplante cardíaco (SANTANA, 1987). Embora a ocorrência da doença tenha diminuído nos últimos anos, ainda representa uma ameaça à saúde pública, visto que, mais de 50% das microrregiões brasileiras têm incidência de casos agudos. Ainda não há vacina contra a doença e a prevenção está associada à educação sanitária da população, bem como o controle público dos locais suscetíveis à proliferação dos vetores. No entanto, tais medidas não são postas em prática da maneira como deveriam (SANTOS et al., 2020).

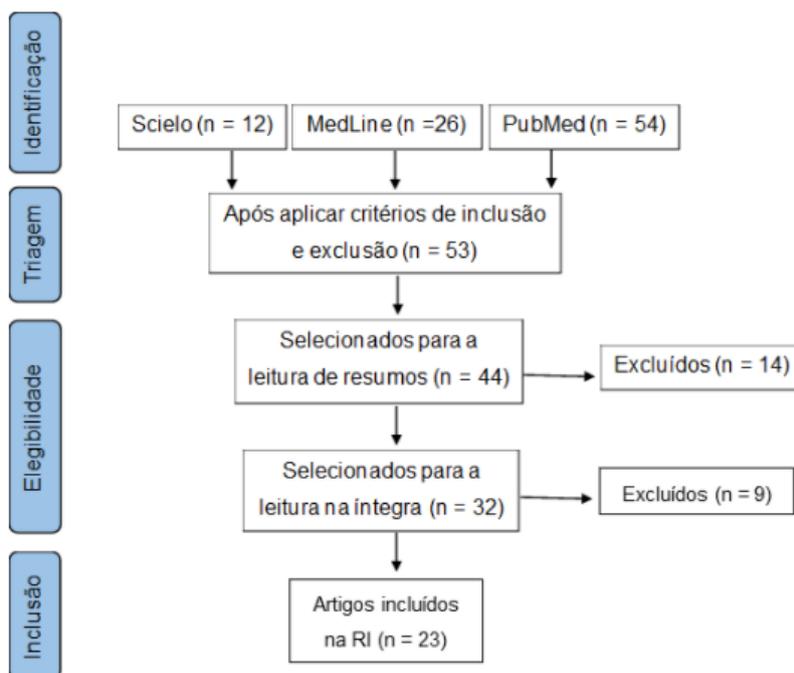
Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é compreender os danos causados na proteína da junção comunicante conexina43, decorrentes da doença de Chagas e suas consequências no organismo humano, tendo em vista a alta prevalência epidemiológica no Brasil e a relevância da patologia em sua fase crônica sintomática.

## MÉTODOS

O trabalho consiste em uma revisão integrativa da literatura dividida em etapas, proposta por MENDES, SILVEIRA E GALVÃO (2008). Primeiramente foi escolhido o tema do estudo, que é “Consequências dos defeitos da proteína da junção comunicante conexina43 (Cx43), decorrentes da doença de chagas”. Dessa forma, foi realizada uma busca de artigos científicos nos bancos de dados das revistas Scielo, MedLine e PubMed, utilizando os seguintes descritores: “Doença de Chagas”; “junções comunicantes” e seu correspondente em inglês “gap junctions”; “connexin43 (Cx43)” e “fibrilação atrial”. Foram identificadas 92 publicações, sendo 12 na Scielo, 26 na MedLine e 54 no PubMed. Após leitura

prévia e análise, realizou-se uma triagem e foram selecionados 53 artigos, os quais abordavam da melhor forma o tema em pauta. Desses, 44 foram escolhidos para a leitura do resumo e, com isso, 14 deles foram excluídos por não terem relação com a temática proposta, enquanto 32 foram eleitos para uma avaliação detalhada. Outros 9 artigos foram excluídos após a leitura na íntegra. Assim, a amostra final dessa revisão integrativa de literatura contou com 23 artigos para sua elaboração (Figura 1).

**Figura 1** - Esquema da seleção dos artigos incluídos.



Fonte: Autores, 2022.

## RESULTADOS

A partir dos artigos analisados iniciou-se a revisão com o propósito de entender os danos da proteína da junção comunicante Connexina43 (Cx43), ocasionados pela Doença de Chagas e explorar suas consequências. Em relação ao ano de publicação foram incluídos estudos de 1987 a 2020.

Para auxiliar a discussão do trabalho foi construída uma tabela de categorização dos artigos selecionados (tabela 1). A mesma contém a distribuição dos estudos de acordo com o ano de publicação, autor, título e desfecho, no qual se apresenta uma síntese das informações do artigo, em questão, relacionadas ao objetivo deste trabalho.

Tabela 1 - Categorização dos artigos selecionados.

Ano do estudo/ Autor	Título	Desfecho
ADESSE, D., et al, 2011.	Gap junctions and chagas disease.	Estudos em corações de camundongos infectados com <i>Trypanosoma cruzi</i> revelaram a diminuição da expressão da proteína de junção comunicante conexina43 e a remodelação dos padrões de expressão gênica, comprometendo assim o ritmo cardíaco e resultando em uma patologia funcional.
ADESSE, D., et al, 2008.	<i>Trypanosoma cruzi</i> induces changes in cardiac connexin43 expression.	As proteínas das junções comunicantes (conexinas) permitem a transmissão de corrente e sinalizadores no miocárdio. Entretanto, ao infectar miócitos cardíacos de camundongos com <i>Trypanosoma cruzi</i> , observa-se perda significativa na distribuição da conexina43 após longo período. As alterações ocorrem tanto in vitro quanto in vivo e contribuem para o desenvolvimento de alterações elétricas cardíacas.
A R A Ú J O - JORGE, T. C., et al, 2012.	The TGF- $\beta$ Pathway as an Emerging Target for Chagas Disease Therapy.	O fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ) é uma proteína que controla a proliferação e diferenciação celular, além de estar relacionada ao desenvolvimento de doenças cardíacas. A mesma influencia o desenvolvimento da cardiopatia na doença de Chagas através de cinco diferentes fatores.
AXELSEN, L. N., et al, 2013.	Managing the complexity of communication: regulation of gap junctions by post-translational modification.	A função das conexinas pode ser regulada através de diferentes modificações pós-transducionais, em especial as fosforilações.
BARBOSA, M. P. T., et al, 2015.	Ventricular arrhythmias in Chagas disease.	A doença de Chagas caracteriza-se pelo desenvolvimento de cardiopatias potencialmente fatais, incluindo arritmias ventriculares malignas. Com esse diagnóstico, a abordagem terapêutica indicada conta com o uso de desfibriladores implantáveis e drogas arrítmicas, visando prevenir a recorrência de arritmias e a morte súbita cardíaca.
BARRETO, B. C., 2019.	Caracterização da expressão da conexina 43 miocárdica na doença de chagas crônica.	A conexina43 é uma proteína presente nas junções comunicantes em cardiomiócitos. Em estudo com corações de camundongos com 6 e 12 meses de infecção pelo <i>Trypanosoma cruzi</i> foram observadas alterações na expressão e no padrão de distribuição da Cx43 no tecido cardíaco. Tal remodelação pode estar associada com a alta produção de citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$ e IL-1 $\beta$ , além de contribuir para o desenvolvimento de arritmias e outros distúrbios de condução característicos da cardiomiopatia chagásica crônica.
CARVALHO, A. C. C., et al, 1994.	Conduction Defects and Arrhythmias in Chagas' Disease.	A doença de Chagas caracteriza-se pelo aparecimento de distúrbios de condução cardíaca, nos quais o batimento torna-se menos regular e há a redução do acoplamento elétrico. Tais distúrbios têm como fonte a proteína de junção comunicante Cx43, que tem suas propriedades eletrofisiológicas alteradas com a modificação da função dos canais iônicos cardíacos.
CHALDOUPI, S. M., et al, 2009.	The role of connexin40 in atrial fibrillation.	A conexina40 é uma das proteínas de junção comunicante presentes no miocárdio, responsável pelo acoplamento elétrico entre células adjacentes. A expressão alterada das conexinas cardíacas está associada ao aumento da propensão a arritmias, sendo a fibrilação atrial a mais comum. Episódios prolongados de FA induzem a remodelação elétrica e estrutural, perpetuando a condição e causando alterações na expressão e distribuição da Cx40.

continua

continuação

Ano do estudo/ Autor	Título	Desfecho
FERNANDEZ-COBO, M., et al, 1999.	Downregulation of connexin 43 gene expression in rat heart during inflammation. The role of tumour necrosis factor.	As junções comunicantes formam canais responsáveis pela comunicação intercelular e, quando alteradas, contribuem para a disfunção cardíaca. A conexina43 é a subunidade mais abundante e foi analisada em coração de rato durante inflamação. Foi observada a redução da expressão da Cx43 e a diminuição da atividade da região promotora desse gene, provavelmente moduladas por citocinas circulantes.
FIALOVÁ, M., et al, 2008.	Adaptation of the heart to hypertension is associated with maladaptive gap junction connexin-43 remodeling.	A remodelação do miocárdio relacionada à hipertensão pode ser acompanhada por alterações nas junções comunicantes intercelulares, especialmente na expressão da proteína conexina43. As estruturas foram analisadas em tecidos cardíacos de ratos hipertensos. A observação revelou que a adaptação do coração à sobrecarga mecânica induzida pela patologia gera uma remodelação nas proteínas de junção comunicante, propiciando o desenvolvimento de arritmias.
JELICKS, L. A., et al, 2014.	Molecular imaging, biodistribution and efficacy of mesenchymal bone marrow cell therapy in a mouse model of Chagas disease.	Camundongos infectados pelo <i>Trypanosoma cruzi</i> foram tratados com células-tronco mesenquimais, a fim de verificar a hipótese de que tais células teriam um potencial terapêutico para a cardiomiopatia chagásica. A terapia obteve efeitos benéficos, como a recuperação da conexina43 afetada pela doença, provavelmente devido à ação indireta das células cardíacas.
KOHUTOVA, J., et al, 2018.	Anti-arrhythmic cardiac phenotype elicited by chronic intermittent hypoxia is associated with alterations in connexin-43 expression, phosphorylation and distribution.	A adaptação à hipóxia hipobárica crônica (IHH) aumenta a incidência e a intensidade das arritmias ventriculares. Tais arritmias estão relacionadas à remodelação da proteína de junção comunicante conexina43. Dessa forma, estudos em ratos expostos a IHH comprovaram alterações na expressão, fosforilação e distribuição de Cx43.
KOSTIN, S., et al, 2003.	Gap junction remodeling and altered connexin43 expression in the failing human heart.	As junções comunicantes são estruturas importantes na condução cardíaca e alterações na expressão de suas conexinas constituintes podem levar ao acoplamento anormal, propiciando o desenvolvimento de arritmias. Investigações em miocárdio humano normal e em pacientes com cardiomiopatias dilatadas, isquêmicas e inflamatórias evidenciaram a desorganização da distribuição das junções comunicantes e a remodelação das Cx43 nos tecidos doentes, desempenhando assim um gatilho arritmogênico.
MICHELA, P., et al, 2015.	Role of connexin 43 in cardiovascular diseases.	Os canais das junções comunicantes permitem o intercâmbio metabólico entre as células, sendo fundamental para a comunicação intercelular no sistema cardíaco. Nos cardiomiócitos a isoforma mais abundante é a conexina43 que, quando alterada, encontra-se relacionada ao desenvolvimento de doenças do miocárdio. Ademais, ela também está presente na membrana mitocondrial interna, atuando no pré-condicionamento isquêmico.
MONNERAT, G., et al, 2016.	Macrophage-dependent IL-1 $\beta$ production induces cardiac arrhythmias in diabetic mice.	A taquicardia ventricular é uma das principais doenças cardíacas induzidas pela diabetes mellitus. A relação entre a disfunção metabólica e as arritmias, no paciente diabético, é estabelecida pela IL-1 $\beta$ . O fato foi evidenciado ao observar alterações subjacentes à propensão à arritmia desencadeadas pela IL-1 $\beta$ em camundongos DM.

continua

continuação

Ano do estudo/ Autor	Título	Desfecho
PERACCHIA, C., 2004.	Chemical gating of gap junction channels: roles of calcium, pH and calmodulin.	Os canais das junções comunicantes são quimicamente regulados através da ação de íons, entre eles Ca <sup>2+</sup> e H <sup>+</sup> . Entretanto, nenhum deles é capaz de induzir a ativação dos canais interagindo diretamente com as conexinas. Algumas evidências sugerem que são as alterações no pH que tornam viáveis tais ativações iônicas.
PEREIRA, I. R., et al, 2015.	Pentoxifylline reverses chronic experimental chagasic cardiomyopathy in association with repositioning of abnormal CD8+ T-cell response.	A cardiomiopatia chagásica crônica (CCC) está associada a anormalidades imunológicas de células TCD8+. Dessa forma, foram testados os efeitos da pentoxifilina (PTX) nessas anormalidades, visto que ela possui propriedades imunorreguladoras e cardioprotetoras. A terapia com PTX obteve bons resultados com a melhora de aspectos críticos da CCC e reorganização das células TCD8+.
R I B E I R O - RODRIGUES, T. M., et al, 2017.	Role of connexin 43 in different forms of intercellular communication—gap junctions, extracellular vesicles and tunnelling nanotubes.	A comunicação intercelular é essencial para manter a homeostase e o bom funcionamento do organismo. Ela se dá através da secreção de moléculas, por meio de estruturas tubulares que conectam células adjacentes ou por canais intercelulares que ligam o citoplasma de células próximas. Uma das proteínas de junção comunicante, a conexina43, se destaca por fazer parte de todas essas formas de comunicação.
SANTOS, É, et al, 2020.	Chagas cardiomyopathy and heart failure: From epidemiology to treatment.	A doença de Chagas é endêmica em várias regiões da América Latina e já atingiu regiões da América do Norte e da Europa. Sua clínica é diversa, mas destacam-se os vários níveis de comprometimento cardíaco. Para o diagnóstico utilizam-se estudos imunoenzimáticos e eletrofisiológicos. Não há um tratamento específico, mas atualmente o transplante cardíaco é visto como uma opção viável.
SEVERS, N. J., 2001.	Gap junction remodeling and cardiac arrhythmogenesis: cause or coincidence?	As junções comunicantes são canais transmembrana que ligam células adjacentes e medeiam o acoplamento elétrico. Suas proteínas componentes são chamadas conexinas e três isoformas – conexina43, conexina40 e conexina45 - são responsáveis pelo fluxo de corrente que governa o ritmo cardíaco. Estudos em camundongos evidenciaram que remodelações nessas conexinas contribuem para o desenvolvimento de gatilhos pró-arrítmicos em corações doentes.
SOLAN, J. L., et al, 2009.	Connexin43 phosphorylation: structural changes and biological effects.	As junções comunicantes são compostas por proteínas da família das conexinas e desempenham importantes papéis intracelulares. A conexina43 é a mais abundante e sofre fosforilações regulares e dinâmicas. Essas fosforilações causam mudanças na estrutura e na função da conexina43, regulando a biologia das junções comunicantes.
TANOWITZ, H. B., et al, 2009.	Perspectives on Trypanosoma cruzi-induced heart disease (Chagas disease).	A doença de Chagas, causada pelo Trypanosoma cruzi, é uma causa comum de doença cardíaca em áreas endêmicas. A cardiomiopatia chagásica se desenvolve em 10-30% dos pacientes e seu acompanhamento é feito por meio de ecocardiografia e ressonância magnética. Os mecanismos patogênicos incluem a persistência do parasito, autoimunidade e anormalidades microvasculares como alterações nas junções comunicantes. O diagnóstico dá-se por sorologia e o tratamento inclui transplante cardíaco em casos graves.
ZHONG, C., et al, 2018.	Up-regulated Cx43 phosphorylation at Ser368 prolongs QRS duration in myocarditis.	O QRS de duração prolongada no eletrocardiograma representa um fator de risco em várias condições cardíacas. Estudos com ratos sugerem que o prolongamento da onda é acompanhado pela alta fosforilação da conexina43, regulada pela citocina inflamatória IL-1β.

Fonte: Autores, 2022.

## DISCUSSÃO

Ao afetar os miócitos cardíacos o parasito prejudica o funcionamento celular, uma vez que altera os canais de junção gap, responsáveis pela comunicação célula-célula, essencial no coração para a manutenção das contrações sistólicas. Conhecidas também como junções comunicantes ou hiato, as junções gap realizam o intermédio para a interlocução entre duas células vizinhas. Localizadas no domínio basolateral celular, elas permitem a passagem de íons e moléculas transportadoras de corrente (<100 KDa) diretamente do citosol de uma célula para outra (ADESSE et al., 2011).

*Gap junctions*, ou junções comunicantes (JC) são complexos que possuem hemicanais proteicos, os quais permitem o contato entre as células de modo que seus citoplasmas se conectem. Esses hemicanais são constituídos pela reunião e enfileiramento de seis subunidades de uma proteína transmembrana da família das conexinas (Cx), formando assim uma estrutura alongada em forma de duto com um canal central proveniente do alinhamento dos poros de cada subunidade. Essa estrutura recebe o nome de conéxon. No coração humano, dentre as vinte e uma presentes, quatro isoformas principais das conexinas são expressas e formam os conéxons, sendo elas a Cx43, Cx45, Cx37 e Cx40 (ADESSE et al., 2011).

Conexinas são proteínas integrais de membrana de 4 domínios transmembrana, 2 alças extracelulares, 1 alça citoplasmática e extremidades C e N terminais (SOLAN & LAMPE., 2009 e AXELSEN et al., 2013). No seu processo de biossíntese, seis Cx são oligomerizadas no Complexo de Golgi e são direcionadas para a membrana plasmática. Elas podem ficar na membrana como hemicanal fazendo comunicação com o meio externo, ou como parte das JCs (RIBEIRO-RODRIGUES et al., 2017).

As Cxs permitem o transporte de pequenas moléculas para o meio extracelular, como por exemplo AMPc, IP3, Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, ou o transporte de íons e moléculas, nas JCs, as quais irão agir como segundo mensageiros na célula adjacente (RIBEIRO-RODRIGUES et al., 2017).

A Connexin43 (Cx43) é a proteína de junções comunicantes mais abundante nas câmaras cardíacas, em especial nos ventrículos, sendo determinante na condução miocárdica. Todavia, a função e a distribuição da Cx43, no meio intercelular, podem ser alteradas por desregulações internas, que afetam sua condutividade e permeabilidade. O principal seria alterações na Cx43, alguns exemplos são: a fosforilação, ou não, de diferentes resíduos de aminoácidos (SOLAN & LAMPE., 2009 e RIBEIRO-RODRIGUES et al., 2017); a concentração de pH intercelular e a concentração de Ca<sup>+</sup>, podendo causar a disfunção, desorganização e redistribuição da Cx43 na célula cardíaca (PERACCHIA., 2004; KOHUTOVA et al., 2019), uma das razões dessa última desregulação seria a fosforilação no resíduo de aminoácido de serina 368 (S368), por exemplo (RIBEIRO-RODRIGUES et al., 2017).

Alterações na estrutura, expressão e distribuição da Cx43 provocam alterações também nas JCs, o que ocorre em pacientes infectados por *T. cruzi* em fase aguda (ADESSE et al., 2008; ADESSE et al., 2011), assim como em doenças arritmogênicas como isquemia e infarto (SEVERS, 2001), hipertensão (FIALOVÁ, et al., 2008), insuficiência cardíaca congestiva (SEVERS, 2001) e infarto agudo do miocárdio (KOSTIN et al., 2003). Nessa perspectiva patológica há uma remodelação evidente no arranjo da Cx43 nos discos intercalados do miocárdio, ocasionando anormalidades nas vias de condução elétrica.

As principais mudanças nas conexinas 43 ocorrem na sua estrutura, expressão e distribuição. Há diversos fatores que influenciam essas alterações em corações com Chagas, dentre eles a atuação de TGF- $\beta$  (fator transformador de crescimento -  $\beta$ ), IL-1 $\beta$  (interleucina-1 $\beta$ ), TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral- $\alpha$ ) (TANOWITZ et al., 2009). Essas citocinas podem atuar na estrutura da junção

comunicante, alterando-a, ou na distribuição e expressão da Cx43, ambas comprometem a condução elétrica (FERNANDEZ-COBO et al, 1999; ARAÚJO JORGE et al., 2008; WHAGABI et al., 2009). Outro fator que impacta é a fosforilação dos resíduos de serina e/ou tirosina na parte C-terminal da proteína (AXELSEN et al., 2013; RIBEIRO-RODRIGUES et al., 2017). Esse processo contribui para o desacoplamento elétrico cardíaco diminuindo a velocidade de condução de estímulos e facilitando o desenvolvimento de arritmias ventriculares em decorrência da formação de um circuito de reentrada (MICHELA et al., 2015; BARBOSA et al., 2015).

Um estudo de imunofluorescência realizado com camundongos, por Barreto (2019), concluiu que coração de camundongos-controles não infectados apresentaram as Cx43 majoritariamente em discos intercalares. Por outro lado, em corações infectados por chagas, houve alterações na localização das Cx43, observadas 6 meses após a infecção. As Cx43 foram encontradas fora dos discos intercalares principalmente na membrana lateral e no interior dos cardiomiócitos, sem alterações na quantidade quando comparado ao grupo controle. Em 12 meses essas alterações ficaram ainda mais evidentes, principalmente no citoplasma dos cardiomiócitos, sendo evidenciado aumento na expressão das Cx43.

Foram observadas as mesmas alterações na expressão e distribuição das Cx43 em humanos com doença de chagas: em pacientes normais havia expressão de Cx43 mais intensa nos discos intercalares e com menor intensidade de marcação. Enquanto pacientes infectados possuíam Cx43 discos intercalares e ainda na membrana e no citoplasma, com intensidade maior (BARRETO, 2019).

Barreto (2019) também analisou a expressão do gene *Gja1*, responsável pela expressão da Cx43 em camundongos, e foi notado que em 6 meses de infecção os níveis estão reduzidos. Contudo, em 12 meses estão aumentados.

Ademais, a IL-1 $\beta$  é uma importante citocina pró-inflamatória que vai influenciar na arritmia sofrida por pacientes com a doença de chagas. Ela vai incentivar que o potencial de ação dure mais tempo do que o normal, o que fará com que ocorram correntes de potássio e aumentem os picos de cálcio no cardiomiócito (MONNERAT et al, 2016).

Outra forma que a IL-1 $\beta$  impacta em paciente com Chagas é por meio da fosforilação da p38 MAPK (proteína que levará ao aumento da fosforilação no resíduo S368 da Cx43). Essa fosforilação prolonga a duração do intervalo QRS, prejudicando a comunicação celular (ZHONG et al, 2018).

Sabe-se que, em ratos, a expressão da IL-1 $\beta$  chagásicos é maior que em animais normais, essa diferença aumenta ainda mais com o tempo (BARRETO, 2019).

Além disso, o TNF- $\alpha$  reduz a atividade do promotor do gene de expressão de Cx43, em processos inflamatórios no coração. Os níveis de TNF- $\alpha$  seguem os mesmos padrões de comportamento que os de IL-1 $\beta$ . Barreto (2019) analisou a expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias no coração de camundongos saudáveis e com 6 a 12 meses de infecção por chagas, evidenciando o aumento da expressão desses em animais infectados.

O estado de fosforilação de diferentes resíduos de aminoácidos pode estar associado a alterações na expressão da Cx43 (SOLAN & LAMPE., 2009, RIBEIRO-RODRIGUES et al., 2017). Além disso, o pH intercelular e a concentração de Ca<sup>+</sup>, assim como a fosforilação do resíduo S368, pode levar à disfunção, desorganização e redistribuição da Cx43 nas células cardíacas (RIBEIRO-RODRIGUES et al., 2017). Em camundongos, as alterações do Cx43 são codificadas pelo gene *Gaj1*, o qual já foi identificado

in vivo (JELICKS et al., 2014; PEREIRA et al., 2015) e in vitro (ADESSE et al., 2008; ADESSE et al., 2011) em cardiomiócitos infectados por chagas.

Uma vez que a comunicação por meio das junções gap é fundamental para a propagação do sinal elétrico e o consequente funcionamento cardíaco normal e o que fora descrito acima, relata-se que há uma remodelação nas conexinas43, em decorrência da Doença de Chagas. Evidencia-se a relação entre a patologia citada e a presença de anormalidades na condução do impulso atrial, como fibrilações (CARVALHO et al., 1994).

A fibrilação atrial (FA) é uma arritmia supraventricular caracterizada pela desregulação dos estímulos elétricos cardíacos e consequentemente alterações no ritmo, tornando-o de alta frequência e irregular. Nessa condição, os átrios cardíacos não realizam as contrações rítmicas por conta da alta taxa de estímulos elétricos que chegam ao sistema de condução átrio ventricular, causando uma transmissão do impulso elétrico inconsistente e uma consequente frequência ventricular fora da normalidade. Durante a arritmia, os átrios normalmente atingem frequências nos limites da taquicardia, mas podem chegar até 600 batimentos por minuto, tornando-se incapazes de bombear o sangue aos ventrículos, pois apenas fibrilam/tremem, não contraindo adequadamente (CHALDOUPI et al., 2009).

A FA é o tipo de arritmia cardíaca mais comum, atinge cerca de 2 a 4% da população mundial e representa a segunda maior causa de mortes em todo o mundo. Os riscos aumentam com a idade, atingindo cerca de 80% dos indivíduos acima dos 80 anos, e a prevalência aumenta nos homens e caucasianos. Mesmo sendo uma condição relativamente comum, a FA apresenta um alto risco devido a uma perigosa lista de possíveis complicações. A principal e pior consequência é o aumento das chances de desenvolvimento de acidente vascular cerebral (AVC), além das alterações no débito cardíaco (CHALDOUPI et al., 2009).

Tendo em vista tais riscos, decorrentes da fibrilação atrial, e que a cardiomiopatia chagásica é altamente arritmogênica e ocorre em 20/40% dos infectados, evidencia-se a gravidade das possíveis complicações da doença, que pode até mesmo levar à morte súbita por arritmia ventricular decorrente de tais distúrbios microvasculares. Como citado anteriormente, toda essa condição deriva da disfunção e desorganização da proteína Cx43, principalmente, ocasionando a redução do acoplamento elétrico que torna o indivíduo suscetível a tais arritmias, uma vez que o ventrículo fica mais propenso à reentrada e a conseguinte perpetuação do ciclo arritmico. Ademais, o quadro pode ser agravado com a progressão da patologia, que envolve um processo de remodelamento do órgão, a fim de compensar o comprometimento mecânico, caracterizado por alterações no tamanho e forma cárdica e na própria função do miocárdio (SANTOS et al., 2020).

## CONCLUSÃO

Conclui-se que, na cardiomiopatia chagásica, o parasito afeta principalmente os miócitos cardíacos, causando deterioração funcional e levando à redução da expressão das conexinas43 (Cx43). As conexinas são as subunidades funcionais que formam as junções comunicantes, também chamadas de junções gap. Elas são responsáveis pela condução do sinal elétrico através do coração. Dessa forma, o débito cardíaco depende da ativação sincronizada e progressiva desses canais. Assim, com a redução das conexinas, em especial a Cx43, ocorre a desaceleração focal da condução e consequentemente o comprometimento da contração das câmaras cardíacas.

Dessa forma, tal desacoplamento funcional dos miócitos é responsável por anormalidades na condução do impulso atrial. Sendo assim, a Doença de Chagas representa um grande fator de risco para o desenvolvimento de arritmias supraventriculares, em especial a fibrilação atrial (FA). Essa condição ocorre em 20 a 40% dos infectados e, além das alterações rítmicas potencialmente fatais, também aumenta a probabilidade de desenvolvimento de acidente vascular cerebral (AVC). A cardiomegalia chagásica e outras alterações no miocárdio também podem ocorrer com a evolução da patogenia, agravando o quadro clínico.

## REFERÊNCIAS

- ADESSE, D.; GOLDENBERG, R.C.; FORTES, F.S. Gap junctions and chagas disease. **Advances in Parasitology**, v. 76, n. 5, p. 63-81, 2011.
- ADESSE, D. Trypanosoma cruzi induces changes in cardiac connexin43 expression. **Microbes and Infection**, v. 10, n. 1, p. 21-8, 2008.
- ARAÚJO-JORGE, T. C. et al. The TGF- $\beta$  Pathway as an Emerging Target for Chagas Disease Therapy. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 92, n. 5, p. 613-621, 2012.
- AXELSEN, L. N. et al. Managing the complexity of communication: regulation of gap junctions by post-translational modification. **Frontiers in Pharmacology**, v. 4, p. 130, 2013.
- BARBOSA, Marco Paulo Tomaz et al. Ventricular arrhythmias in Chagas disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, p. 4-10, 2015.
- BARRETO, B. C. **Caracterização da expressão da conexina 43 miocárdica na doença de chagas crônica**. 2019. 55 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal da Bahia; Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2019.
- CARVALHO, A. C. C., MASUDA, M. O., TANOWITZ, H. B., WITTNER, M., GOLDENBERG, R. C. S., & SPRAY, D. C. Conduction Defects and Arrhythmias in Chagas' Disease. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 5, n. 8, p. 686–698, 1994.
- CHALDOUPI, S. M.; LOH, P.; HAUER, R. N.W.; BAKKER, J. M.T.; RIJEN, H. V.M. The role of connexin40 in atrial fibrillation. **Cardiovascular Research**, v. 84, n. 1, p. 15–23, 2009.
- COSTA, P.C.S. Sera from chronic chagasic patients depress cardiac electrogenesis and conduction. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 4, p. 439-446, 2000.
- DUFFY, H. S.; FORT, A. G.; SPRAY, D. C. Cardiac connexins: genes to nexus. In: Cardiovascular Gap Junctions. **Karger Publishers**, p. 1-17, 2006.
- FERNANDEZ-COBO, M. et al. Downregulation of connexin 43 gene expression in rat heart during inflammation. The role of tumour necrosis factor. **Cytokine**, v. 11, n. 3, p. 216-224, 1999.
- FIALOVÁ M, DLUGOSOVÁ K, OKRUHLICOVÁ L, KRISTEK F, MANOACH M, TRIBULOVÁ N. Adaptation of the heart to hypertension is associated with maladaptive gap junction connexin-43 remodeling. **Physiol Res**. 2008;57(1):7-11.
- JANSEN JA, VAN VEEN TA, DE BAKKER JM, VAN RIJEN HV. Cardiac connexins and impulse propagation. **J Mol Cell Cardiol**. 2010;48(1):76-82.

- JELICKS, L. A. et al. Molecular imaging, biodistribution and efficacy of mesenchymal bone marrow cell therapy in a mouse model of Chagas disease. **Microbes and Infection**, v. 16, n. 11, p. 923-935, 2014.
- KOHUTOVA, J. et al. Anti-arrhythmic cardiac phenotype elicited by chronic intermittent hypoxia is associated with alterations in connexin-43 expression, phosphorylation and distribution. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, p. 789, 2018.
- KOSTIN S, RIEGER M, DAMMER S, HEIN S, RICHTER M, KLOVEKORN WP, et al. Gap junction remodeling and altered connexin43 expression in the failing human heart. **Mol Cell Biochem**. 2003;242(1-2):135-44.
- MENDES, K. D. S., SILVEIRA, R. C. DE C. P. & GALVÃO, C. M. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. *Texto Context. - Enferm.* 17, 758-764 (2008).
- MICHELA, Pecoraro et al. Role of connexin 43 in cardiovascular diseases. **European journal of pharmacology**, v. 768, p. 71-76, 2015.
- MONNERAT, G. et al. Macrophage-dependent IL-1 $\beta$  production induces cardiac arrhythmias in diabetic mice. **Nature Communications**, v. 7, p. 13344, 2016.
- NOVO, R.; AZEVEDO, P. S.; MINICUCCI, M. F.; ZORNOFF, L. A. M.; PAIVA, S. A. R. Effect of Beta-Carotene on Oxidative Stress and Expression of Cardiac Connexin 43. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S.L.], p. 233-239, set. 2013. Sociedade Brasileira de Cardiologia.
- PERACCHIA, C. Chemical gating of gap junction channels: roles of calcium, pH and calmodulin. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1662, n. 1-2, p. 61-80, 2004.
- PEREIRA, I. R. et al. Pentoxifylline reverses chronic experimental chagasic cardiomyopathy in association with repositioning of abnormal CD8+ T-cell response. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 3, p. e0003659, 2015.
- PEREIRA, J. B.; WILCOX, H. P. F.; COURA, J. R. Evolução da cardiopatia chagásica crônica I-Influência da Parasitemia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 25, p. 101-108, 1992.
- RIBEIRO-RODRIGUES, T. M. et al. Role of connexin 43 in different forms of intercellular communication—gap junctions, extracellular vesicles and tunnelling nanotubes. **Journal Cell Science**, v. 130, n. 21, p. 3619-3630, 2017.
- SANTANA, O. O. Arritmia ventricular e evolução clínica de pacientes na fase crônica da Doença de Chagas. 1987.
- SANTOS, É.; FALCÃO, L. M. Chagas cardiomyopathy and heart failure: From epidemiology to treatment. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 39, n. 5, p. 279-289, 2020.
- SANTOS EF, SILVA ÂAO, LEONY LM, FREITAS NEM, DALTRO RT, et al. Acute Chagas disease in Brazil from 2001 to 2018: A nationwide spatiotemporal analysis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, 14(8), 2020.
- SEVERS, N J. Gap junction remodeling and cardiac arrhythmogenesis: cause or coincidence? **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 5, n. 4, p. 355-66, 2001.
- SHINTANI-ISHIDA K, UNUMA K, YOSHIDA K. Ischemia enhances translocation of connexin43 and gap junction intercellular communication, thereby propagating contraction band necrosis after reperfusion. **Circ J**. 2009;73(9):1661-8.

SÖHL, G.; WILLECKE, K. Gap junctions and the connexin protein family. **Cardiovascular Research**, v. 62, n. 2, p. 228-232, 2004.

SOLAN, J. L.; LAMPE, P. D. Connexin43 phosphorylation: structural changes and biological effects. **Biochemical Journal**, v. 419, n. 2, p. 261-272, 2009.

TANOWITZ, Herbert B. et al. Perspectives on Trypanosoma cruzi-induced heart disease (Chagas disease). **Progress in cardiovascular diseases**, v. 51, n. 6, p. 524-539, 2009.

VINHAES, M. C.; DIAS, J. C. P. Doença de chagas no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, p. S7-S12, 2000.

ZHONG, C. et al. Up-regulated Cx43 phosphorylation at Ser368 prolongs QRS duration in myocarditis. **Journal of Cellular and Molecular medicine**, v. 22, n. 7, p. 3537-3547, 2018.