

## Conexinas

As características e funcionamento das conexinas, a surdez hereditária e a mutação do gene da conexina 26 e a displasia oculodentodigital e a mutação do gene da conexina 43

Andreia Cruz, Diana Martins

Alunas do 1º de Farmácia da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra  
Com a colaboração da Professora Mestre Cristina Girão

As conexinas são proteínas que foram descobertas há relativamente poucas décadas. A sua investigação suscitou grandes progressos a partir da década de 80, quando se associou uma mutação da conexina 26 à surdez não síndrómica, que até então não se tinha conhecimento sobre a causa da doença.

Para contextualizar as conexinas, há necessidade de se abordar as junções intercelulares. Assim, são especializações da membrana plasmática das células, que têm como principal função a ligação entre células vizinhas ou entre células e a matriz extracelular.

Como é observável na imagem.1, existem três tipos de junções intercelulares: as junções apertadas, os desmossomas ou junções aderentes e as junções comunicantes ou *gap junctions*.

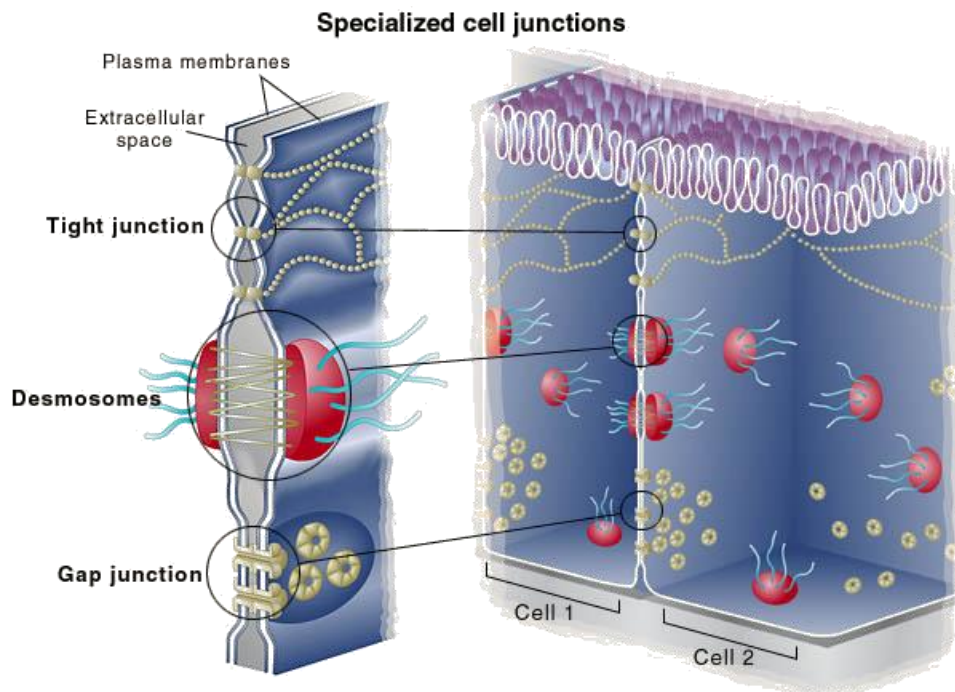


Imagem.1 - As junções intercelulares: junções apertadas, desmossomas e gap junctions

No contexto deste trabalho, as *gap junctions* são as junções mais importantes. Desta forma, este tipo de junções têm como principal função a ligação entre duas células adjacentes. As *gap junctions* são constituídas por 6 conexinas, que organizam o canal proteico, sendo o responsável pela passagem de moléculas hidrófilas e de iões entre as duas células, uma vez que o interior do canal proteico é hidrofílico. De acordo com o que a imagem 2 expõe, o canal proteico é formado, na totalidade, por 12 conexinas, já que cada uma das duas células adjacentes participa com 6 conexinas. Assim, cada célula é responsável por meio canal. É de

salientar, ainda, que ao conjunto de 6 conexinas designa-se por conexão ou hemicanal.

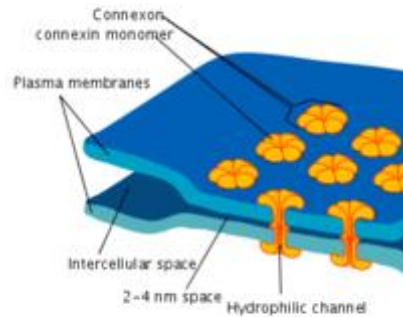


Imagem.2 - Constituição das gap junctions

Diante o exposto, as conexinas são proteínas transmembranares, que originam os canais proteicos das *gap junctions*. Como a imagem 3 demonstra, estas proteínas são constituídas por 4 subunidades cilíndricas, apresentando duas extremidades, uma amínica e outra carboxílica, que se encontram no lado citoplasmático, assim como um loop. Apresentam, também, dois loops no lado extracelular.

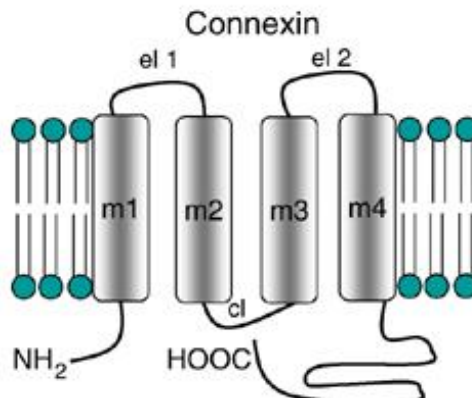


Imagem.3 - Constituição interna de uma conexina

As conexinas projetam-se pouco da bicamada fosfolipídica para o lado citoplasmático e mais para o lado extracelular. É de salientar, ainda, que as conexinas que formam o canal proteico são sintetizados por células diferentes, ou seja, cada 6 conexinas responsáveis pela formação de meio canal, são produzidas pela célula de onde se inserem.

Os canais proteicos das *gap junctions* apresentam características muito próprias, já que atravessam duas membranas plasmáticas de uma vez só e, que conectam citosol a citosol, sem contactarem com o espaço extracelular. É de referir que estes canais têm a capacidade de abrir e fechar. Desta forma, quando se formam tendem a permanecer abertos, e quando estão sujeitos a elevadas concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$  e a um pH baixo, tendem a fechar. O processo de fecho constitui um evento cooperativo, uma vez que as conexinas constituintes do canal giram e deslizam ao mesmo tempo e da mesma maneira, cooperando entre si para o fecho eficiente do canal. Este processo pode servir para lacrar as células normais das células vizinhas traumatizadas ou mortas.

As faces polares das subunidades das *gap junctions* permanecem sempre em contacto

com a água, enquanto que as faces apolares permanecem no interior hidrófobo da bicamada, viradas umas para as outras.

A mudança do canal do estado aberto para o estado fechado é fácil, uma vez que as energias livres dos dois estados não diferem muito, não sendo, por isso, necessário despende muita energia para a alternância de estado.

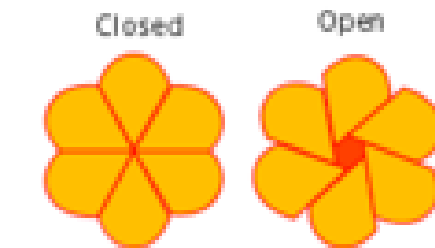


Imagem.4 - Abertura e fecho das conexas

Existem 3 tipos de canais proteicos, que diferem devido às conexas que os constituem. Deste modo, existem os canais homoméricos e homotípicos, que são constituídos por conexas iguais entre si numa célula e iguais às conexas da outra célula, com as quais forma a *gap junction*. Outro tipo de canais são os canais homoméricos e heterotípicos, que são constituídos por conexas iguais entre si numa célula, mas diferentes em relação às conexas da outra célula, com as quais forma a *gap junction*. Por último, existem os canais heteroméricos e heterotípicos, que são constituídos por conexas diferentes entre si numa célula e diferentes em relação às conexas da outra célula, com as quais forma a *gap junction*.

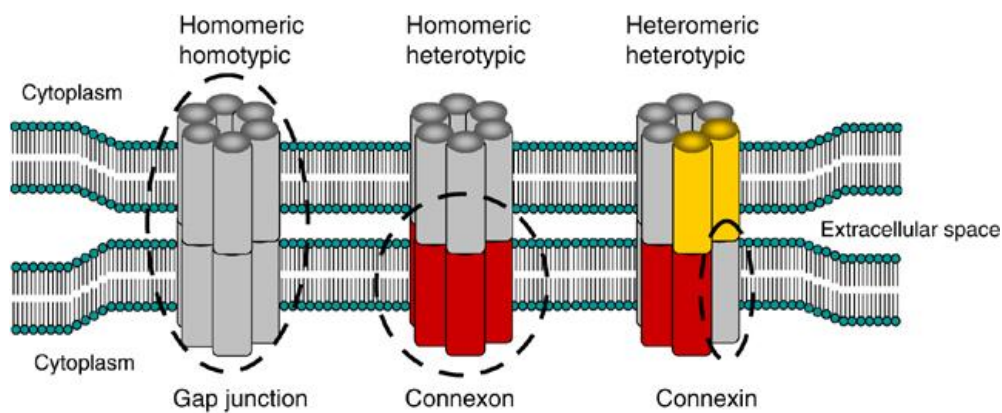


Imagem.5 - Tipo de canais das *gap junctions*

As conexas são essenciais em processos fisiológicos tais como a despolarização do músculo cardíaco, permitindo um rápido fluxo de iões e assegurando uma resposta rápida e sincronizada dos músculos aos estímulos.

Desta forma, mutações que ocorram nos genes responsáveis pela codificação da conexina, dependendo da sua natureza e local, podem provocar alterações na sua estrutura e função, e consequentemente, podem provocar alterações na função e desenvolvimento do organismo.

Os estudos das causas de patologias relacionadas com mutações nos genes que codificam as conexas, progrediram significativamente nos últimos anos. Assim, recentes e contínuos avanços no campo da genética molecular têm proporcionado, cada vez mais, a identificação de genes responsáveis por diversas patologias, permitindo a sua detecção precoce.

Diante o exposto, a surdez hereditária e a displasia oculodentodigital são os exemplos

de patologias mais investigadas, e cujo as suas causas se devem a mutações que ocorrem nos genes que codificam a conexina correspondente.

A deficiência auditiva neurossensorial não-sindrômica autossômica recessiva, como já foi referido, é uma das muitas doenças causadas pelas mutações que se estabelecem nos genes que codificam as conexinas e é a forma mais comum de perda auditiva de origem genética.

Este tipo de deficiência auditiva provoca a lesão das células sensoriais e nervosas, pelo que é designada neurossensorial. O indivíduo afectado por esta enfermidade manifesta apenas a surdez, não apresentando outros sinais ou sintomas, sendo uma doença não-sindrômica e, para além disso, o indivíduo, também, herda duas cópias mutadas do mesmo gene, uma de cada um dos pais, sendo, assim, considerada uma patologia autossômica recessiva.

A mutação ocorre no gene GJB2 (Gap Junction Beta 2), que codifica a conexina 26, que se localiza no braço longo do cromossoma 13. A mutação que ocorre neste gene é designada por mutação 35delG, uma vez que consiste na deleção de uma Guanina localizada na posição 35 da região codificadora do exão 2 do gene GJB2, fomentando, assim, a conversão do codão 12 de Glicina (GGT) para Valina (GTG), seguida de um codão de terminação prematuro na posição 13. Uma possível origem desta mutação corresponde ao “deslizamento” da polimerase durante a síntese de DNA.

As *gap junctions* têm como função promover a rápida remoção de iões  $K^+$  das células ciliadas sensoriais permitindo a reciclagem de iões  $K^+$  nos fluidos cocleares, a fim de se manter a capacidade auditiva, realizando assim um papel crucial na função fisiológica relacionada com a homeostase iónica coclear, e no processo fisiológico do potencial endococlear. Assim, ao ocorrerem mutações no gene GJB2 da conexina 26, surgem alterações na estrutura proteica dessas junções que prejudicam a remoção dos iões de  $K^+$  das células ciliadas e impedem a sua excitação a novos estímulos sonoros, resultando na perda auditiva (imagem.6).

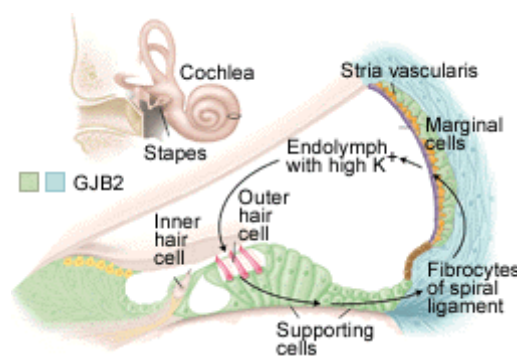


Imagem.6 - Mutação no GJB2

Para que se manifeste a surdez de herança autossômica recessiva é necessário que o indivíduo infectado herde dois alelos mutados, sendo um do pai e outro da mãe, isto é, que seja homocigoto. Sendo assim, há impossibilidade da conexina 26 ser codificada pelo gene GJB2 alterado. Nos casos de heterocigose, quando o indivíduo infectado apresenta a mutação em apenas um dos alelos, é possível que o outro alelo codifique a proteína.

Como é visível na imagem.7, há 25% de probabilidade de o descendente herdar dois alelos não mutados dos seus progenitores, não apresentando a doença. Também, se verifica que há 50% de probabilidade de o descendente apresentar um alelo mutado e o outro normal, pelo que o indivíduo é heterocigoto e que há 25% de probabilidade de o descendente herdar os dois alelos mutados, apresentando a patologia na forma homocigótica.

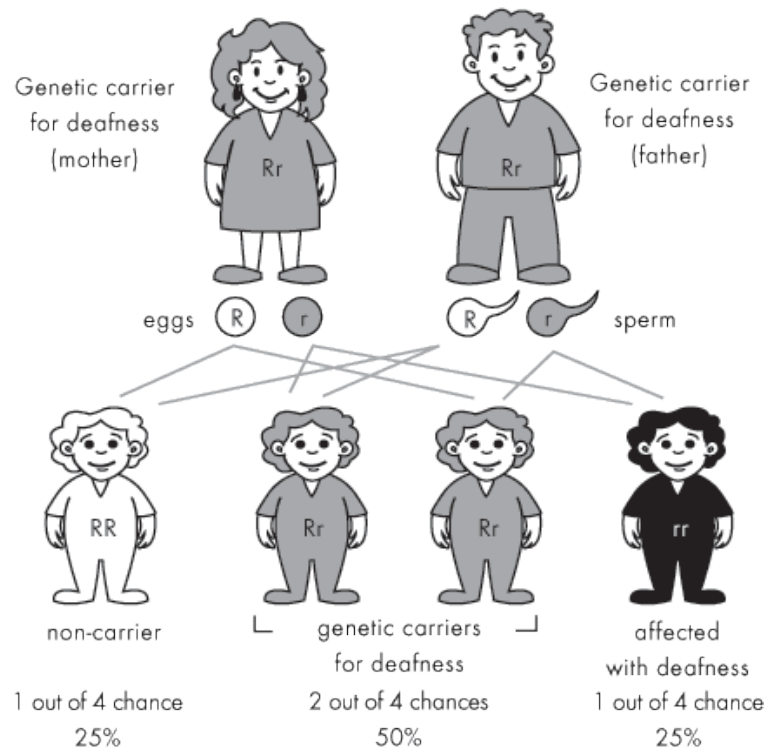


Imagem.7 – Manifestação da surdez hereditária em descendentes com progenitores que possuam um alelo mutado

Para além da doença que foi referida anteriormente, a conexina 26 também é responsável por outras alterações no desenvolvimento do organismo que resultam noutras enfermidades. Esta conexina é responsável pelo excesso de produção de queratina, que resulta num espessamento da pele. Também, é responsável por uma hipertrofia do estrato córneo, por um espessamento da pele e das mãos e por uma mal formação das unhas.

A displasia oculodentodigital é outra patologia relacionada com mutações em genes codificadores de conexinas. Sendo assim, a doença é provocada por mutações que ocorrem no gene GJa1 (Gap Junction Alfa 1), que codifica a conexina 43 e se localiza no cromossoma 6.

A conexina 43 é a principal proteína de *gap junction* no coração, permitindo a sua contracção sincronizada e apresenta grande relevância no desenvolvimento embrionário e no sistema límbico. É de salientar, ainda que, a proteína apresenta 43 KDa de massa atómica.

Durante a embriogénese, o GJa1 é expresso nos blastócitos. Este gene é candidato a várias mutações devido à sua localização no mapa genético, visto que o cromossoma 6 é uma região de genes imunológicos, designada como Complexo de Histocompatibilidade Principal (MHC), que é responsável por direccionar os linfócitos T e anticorpos, para eliminar agentes invasores.

A displasia oculodentodigital é uma doença autossómica dominante e de alta penetrância, que causa anomalias craniofaciais, como o desenvolvimento de colunas nasais muito salientes e finas, de dentição anormal, de anomalias ao nível das mãos e dos pés, de problemas visuais e é responsável, também, por um anormal desenvolvimento do crânio (Imagem.8).

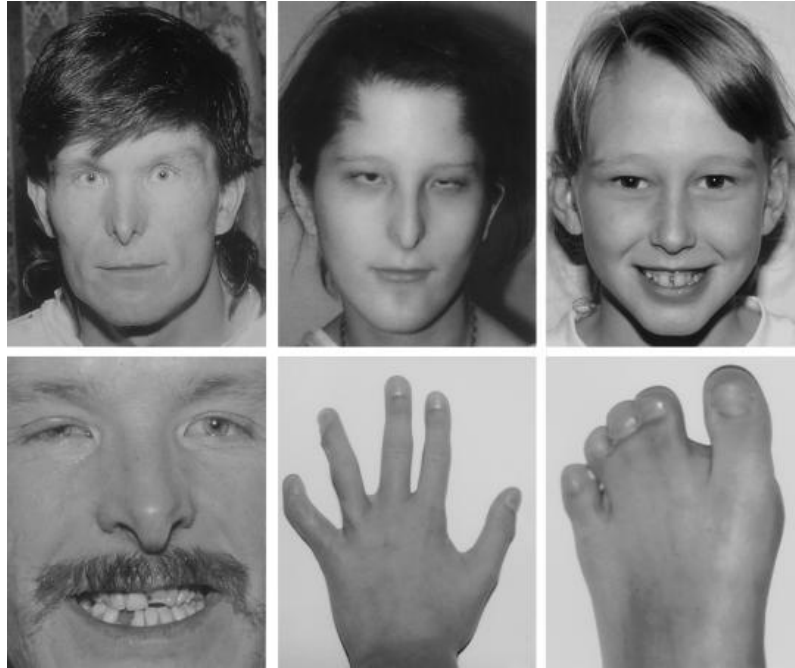


Imagem.8 - Anomalias craniofaciais provocadas pela Displasia Oculodentodigital

Nesta patologia, ocorre várias mutações ao longo do GJA1, sendo mais frequentes na parte terminal. As mutações que ocorrem são do tipo missense, pois há troca de bases azotadas, formando um novo aminoácido, e por consequente, alterando a função, a estrutura, a carga e o tamanho da proteína da conexina.

Esta enfermidade é considerada autossômica, já que é somente necessário que um alelo se encontre mutado, para que o indivíduo seja portador dela. Deste modo, se um dos progenitores forem portadores da doença existe 50% de probabilidade de a transmitir à descendência.

Uma vez que cada mutação afecta um aminoácido, que se mantém conservado entre a sequência da conexina 43 e que a mutação ocorre na mesma proteína, considera-se que a displasia oculodentodigital apresenta alta penetrância.

Como já foi referido, os portadores desta patologia apresentam um alelo mutado e outro normal, pelo que podem não vir a desenvolvê-la. No entanto, pode ocorrer na forma recessiva (ODDD), em que o indivíduo apresenta dois alelos mutados, havendo desenvolvimento da doença.

Em suma, diante todo o exposto, as mutações nos genes responsáveis pela codificação de conexina podem causar alterações na função e no desenvolvimento do organismo, pelo que uma das preocupações das equipas especializadas de investigação deverá concentrar-se em formas eficazes e rápidas de localização de genes mutados, possibilitando um diagnóstico preciso e precoce.

#### Bibliografia:

oMagni, Teresa –“Deficiência auditiva não sindrômica” -Curitiba, 2007; pág. 16; 18 –23; 27 –31; 33 –38; 41 – 42Tese final –Curso de Pós-Graduação em Genética –Universidade Federal do Panamá –Sector de Ciências Biológicas

oSchmidt, Paula Michele da Silva; Tochetto, Tânia Maria –“Investigação genética da surdez hereditária: mutação do gene da Conexina 26” –2009 –pág. 142 –147Artigo de Revisão –Revista Sociedade Brasileira Fonoaudiol

oStryer, Lubert –“Bioquímica” –4ªedição –Guanabara Koogan –Rio de Janeiro, 1996 –Capítulo 12 “Canais e Bombas da Membrana” –pág. 287 –289

oQuintas, Alexandre; Freire, Ana Ponces; Halpern, Manuel J. –“Bioquímica –Organização Molecular da Vida” –LIDEL –Lisboa, janeiro de 2008 –pág. 128

oHonkaniemi, Jari; Kalkkila, Juha-Pekka; Koivisto, Pasi; Kahara, Veikko; Latvala, Terho; Simola, Kalle –“Novel *GJA1 Mutation in Oculodentodigital Dysplasia*” -American Journal of Medical Genetics –13 de Setembro de 2005 –pág. 48-49

ohttp://es.wikipedia.org/wiki/Conexina

ohttp://www.google.pt/images?hl=pt-PT&q=conexina&um=1&ie=UTF-8&source=og&sa=N&tab=wi

ohttp://www.google.pt/images?um=1&hl=pt-

PT&tbs=isch%3A1&sa=1&q=conexina+26&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs\_rfai=

ohttp://www.google.pt/images?um=1&hl=pt-

PT&tbs=isch%3A1&sa=1&q=conexina+43&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs\_rfai=

ohttp://www.google.pt/images?hl=pt-PT&source=imghp&q=connexin&gbv=2&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs\_rfai=