



Struktur dan Regulasi Connexin43 dalam Komunikasi Antar Sel Otot Jantung

Fransisca Chondro

Bagian Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti,
Jakarta, Indonesia

ABSTRAK

Jantung memiliki kerja yang sangat kompleks. Salah satu hal yang memungkinkan jantung berfungsi baik adalah komunikasi antar sel. Di dalam jantung, komunikasi antar sel otot jantung terjalin antara lain melalui kanal *gap junction*. Kanal *gap junction* terbentuk dari dua *hemichannels* atau connexon, masing-masing connexon tersusun dari 6 molekul connexin. Kanal *gap junction* berperan penting dalam proses konduksi impuls listrik, melalui kanal ini terjadi penghantaran ion dan solut kecil. Pengaturan komunikasi antar sel dapat dipengaruhi juga oleh interaksi connexin dan protein seperti fosfatase dan kinase, protein struktural (seperti zona occludens-1), dan mikrotubulus. Dalam makalah ini akan dibahas protein connexin43 penyusun *gap junction* otot jantung, struktur dan regulasinya dalam kaitan dengan komunikasi antarsel.

Kata kunci: Jantung, *gap junction*, kanal, connexin

ABSTRACT

Heart is a very complex organ. In the heart, communication between myocyte was conducted through gap junction canal. This canal is formed by 2 hemichannels, connexon, and each connexon consists of 6 molecules of connexin. Gap junction canal maintain the conduction of electrical impulse and the ion and small solute is transferred within this canal. Communications between myocyte is affected by the interaction between connexin and other protein, e.g. phosphatase, kinase, structural protein (zona occludens-1) and microtubule. In this paper, the main protein of myocyte's gap junction, connexin43, will be discussed regarding the structure and regulation in the communication between myocyte. **Fransisca Chondro. Structure and Regulation of Connexin43 in Heart Myocyte Inter-cell Communication.**

Key words: Heart, gap junction, canal, connexin

PENDAHULUAN

Pada jantung manusia, terdapat 2 sampai 3 milyar sel otot jantung sedangkan jantung memiliki kerja yang sangat kompleks. Salah satu yang memungkinkan hal itu adalah adanya komunikasi antar sel. Banyak rute yang dapat ditempuh untuk komunikasi antar sel, misalnya dengan bantuan sel endokrin, parakrin, autokrin, melalui kontak fisik (misalnya dengan pembentukan kompleks ligand-reseptor, dan melalui pembentukan kompleks adhesi), serta bisa juga melalui kontak antara sel dengan matriks ekstraseluler. Salah satu cara komunikasi secara langsung antar sel otot jantung adalah melalui *gap junction*. *Gap junction* terdapat pada sebagian besar sel mamalia dan memungkinkan jalur komunikasi untuk ion dan solut kecil. Pada jantung, *gap junction* dan *protein gap junction* dari *family connexin* telah terbukti memainkan peranan

penting dalam mempertahankan konduksi impuls dan morfogenesis jantung. Gangguan fungsi *gap junction* dapat menimbulkan gangguan fungsi normal jantung, bahkan mengakibatkan kematian. Oleh karena itu, sangatlah penting untuk memahami lebih lanjut *gap junction* dan protein penyusunnya yakni protein connexin sehingga hal yang dapat mencetuskan gangguan fungsi hantaran impuls jantung dapat dicegah.^{1,2}

GAP JUNCTION

Gap junction pada jantung manusia terletak pada diskus interkalaris, yakni persambungan antara dua sel otot jantung. *Gap junction* berupa plak dari beberapa kanal transmembran antar sel yang menghubungkan sitoplasma sel yang berkontak sehingga akan membentuk porus dengan tahanan rendah di antara sel yang tersusun dari protein subunit yang dikenal dengan

connexin, serta memungkinkan terjadinya hantaran impuls dan *metabolic coupling*.²⁻⁸ Connexin pada *gap junction* hanya ditemukan pada vertebrata. Connexon yang tersusun dari satu jenis connexin dikenal sebagai homomeric connexon, sedangkan yang tersusun dari dua macam atau lebih connexin dikenal sebagai heteromeric connexon, masing-masing memiliki fungsi berbeda, di antaranya hantaran porus *gap junction*, selektivitas ukuran dan muatan molekul yang dihantarkan, *voltage gating*, dan *chemical gating*. *Gap junction channel* yang tersusun dari dua connexon identik dikenal sebagai kanal homotypic sedangkan yang tersusun dari dua connexon berbeda dikenal sebagai kanal heterotypic.^{7,9}

Pada manusia terdapat 21 tipe connexin. Selain Cx43, pada jantung manusia ditemukan pula Cx30.2, Cx37, Cx40, dan Cx45.



Hubungan erat antara penurunan kecepatan hantaran dan perubahan ekspresi protein *gap junction*, modifikasi post translasi, dan lokalisasi dengan penyakit jantung, mengarahkan pada simpulan bahwa perubahan ekspresi protein pada *gap junction* berperan pada penurunan kecepatan konduksi dan tercetusnya aritmia.⁸⁻¹⁰ Kemampuan hantaran dan selektivitas setiap *gap junction* bervariasi dipengaruhi isoform connexin yang menyusun kanal *gap junction*. *Gap junction* dapat membuka dan menutup sebagai respons terhadap stimulus fisiologis termasuk potensial listrik, konsentrasi ion, pH, dan interaksi antara lipid lokal dan protein.^{2-5,9}

Peranan fisiologis *gap junction*

Gap junction memegang peranan dalam beberapa proses, antara lain^{8,13}:

1. Transmisi cepat potensial aksi di jantung dan jaringan saraf melalui sinap listrik.
2. Difusi metabolit dan nutrisi seperti nukleotida dan glukosa. Hal ini dipengaruhi oleh jenis kanal, misalnya Cx32 lebih permeabel terhadap adenosine dibandingkan dengan kanal Cx43, tetapi ATP lebih permeabel pada Cx43.
3. Difusi *second messenger* seperti Ca²⁺, inositol-triphosphate (IP₃), dan *cyclic nucleotida*.

CONNEXIN

Struktur

Gen connexin memiliki berat antara 26–60 kDa, memiliki panjang rata-rata 380 asam amino. Sebagian besar connexin memiliki struktur gen yang mirip, yakni terdiri dari dua ekson yang terpisah oleh satu sekuens intron. Sekuens intron pada connexin memiliki panjang yang bervariasi dan terletak di antara *5'-untranslated region* dan *coding region*. Protein connexin terdiri dari sembilan *domain* utama yakni empat segmen transmembran (M1-M4), dua *loop* ekstraseluler (E1 dan E2), satu *loop* intraseluler (CL), dan satu *cytoplasmic amino* dan *carboxy terminus*. Tiga dari empat transmembran (yakni M1, M2, dan M4) terdiri dari asam amino hidrofobik, sedangkan segmen trans-membran M3 bersifat amfipatik sehingga M3 inilah yang berperan sebagai pembentuk *aqueous pore*. Kedua *loop* ekstrasel masing-masing terdiri dari 3 molekul sistin yang memegang peranan penting dalam proses perlekatan kedua *hemichannels*. Ikatan disulfida di antara sistin yang terdapat

pada E1 dan E2, serta ikatan antar sistin antara E1 dan E2 memungkinkan terbentuknya konformasi *β-sheet* yang diperlukan untuk interaksi antara dua connexon yang saling berhadapan.^{6,7,10} Perubahan jumlah kanal dapat terjadi dipengaruhi oleh perubahan tingkat ekspresi protein connexin, rasio *turnover*, dan distribusinya (yang dipengaruhi oleh tingkat fosforilasi kanal itu sendiri).⁶

Proses membuka dan menutupnya *hemichannel*, sebagai respons terhadap perubahan potensial membran kanal dan sinyal kimia, dipelajari dengan teliti. Pada awalnya, Unwin dan Zampighi mengusulkan bahwa membuka dan menutupnya *gap junction* disebabkan karena rotasi *hemichannel* yang saling berhubungan sehingga mengecilkan diameter porus. Baru-baru ini, Thimm et al mengemukakan ide adanya *calcium dependent folding/refolding* dari *loop* ekstraseluler yang mengakibatkan penutupan atau pembukaan porus kanal. Delmar et al mengemukakan hipotesis partikel-reseptor atau dikenal juga sebagai "*ball and chain*". Hipotesis ini merupakan konsensus bahwa regio *carboxyl terminal* (CT) dari Cx43 berperan sebagai *domain* regulator; hipotesis ini menjadi dasar fungsi Cx43 sebagai *voltage gate* ataupun *pH gate*. Dalam keadaan pH normal, partikel *gate* akan terletak jauh dari porus dan kanal membuka. Pada keadaan asam, partikel tersebut akan berikatan dengan bagian terpisah dari protein yang disebut sebagai reseptor dan menutup porus. Berdasarkan penelitian diketahui bahwa *domain* CT berperan sebagai partikel *gate* yang berikatan dengan reseptor yang kemudian akan menutup porus dalam regulasi kanal Cx43. Berdasarkan hipotesis ini, rantai *cytoplasmic tail* yang panjang akan melipat membentuk "bola" atau partikel penutup gerbang kanal, dan berikatan dengan *domain loop* sitoplasmik (reseptor) dan mengakibatkan penutupan kanal. Namun, hipotesis ini masih diteliti lebih lanjut.¹¹⁻¹³

Penamaan

Nomenklatur connexin didasarkan pada dua sistem¹⁰:

1. Berdasarkan nomor sistem berat molekul diprediksi dari sekuensi cDNA connexin. Sebagai contoh Cx26, Cx32, Cx43 dimaksudkan untuk connexin dengan berat molekul 26 kDa, 32 kDa, dan 43 kDa.

2. Berdasarkan kemiripan sekuensi dan panjang *domain* sitoplasmik dari connexin. Dengan dasar ini connexin diklasifikasikan menjadi subgrup α, β, dan γ. Pada sistem kedua, connexin disingkat sebagai GJ dan diberi penomoran serial berdasarkan urutan penemuannya dalam setiap subgrup. Sebagai contoh, Cx43 merupakan connexin pertama yang ditemukan pada subgrup α dan diberi nama sebagai Gja1, sedangkan Cx32 yang ditemukan pertama kali dalam subgrup β dan diberi nama Gjb1.

Ekspresi protein *gap junction* di jantung

Pada jantung mamalia, sel otot jantung paling banyak mengekspresikan *gap junction* yang tersusun dari Cx40, Cx43, dan Cx45. Pada jantung mamalia, Cx43 diekspresikan hampir di semua sel otot jantung atrium dan ventrikel, namun tidak ditemukan pada nodus SA dan AV. Pada sistem konduksi ventrikel mencit dan tikus, Cx43 juga tidak ditemukan pada berkas His dan pada kedua *bundlebranch* proksimal. Namun pada spesies yang lebih besar seperti pada sapi, anjing, babi, dan manusia, Cx43 diekspresikan pada semua bagian sistem konduksi ventrikel.⁶

Cx45 diekspresikan pada nodus SA kelinci. Pada jantung tikus dan mencit, Cx45 ditemukan pada nodus AV dan seluruh sistem konduksi ventrikel namun pada kadar yang lebih rendah pada otot atrium dan ventrikel jantung yang aktif.⁶

Cx40 di ko-ekspresikan bersama Cx43 pada otot atrium yang aktif. Pada perkembangan jantung, Cx40 masih ditemukan pada ventrikel dengan intensitas ekspresi menurun dari endokardium sampai ke epikardium. Ekspresi Cx40 ini menurun dan pada dewasa Cx40 sudah tidak ditemukan pada otot ventrikel yang aktif. Kadar Cx40 yang rendah juga ditemukan pada nodus SA dan AV pada anjing dan sapi, serta pada nodus SA kelinci.

Biosintesis dan Internalisasi⁶

Pada keadaan normal sintesis dan degradasi protein dipertahankan pada keadaan seimbang. Salah satu hal penting untuk diperhatikan adalah bahwa connexin memiliki waktu paruh relatif singkat yakni hanya 1-3 jam, bahkan Beardslee et al menemukan bahwa waktu paruh Cx43 adalah 1,3 jam. Hal ini membuat siklus sintesis dan penggantian connexin terjadi



sangat cepat. Siklus hidup *gap junction* ini melibatkan berbagai tahap termasuk sintesis dan oligomerisasi connexin, translokasi *hemichannel* ke plasma membran untuk pembentukan *gap junction*, dan proses degradasi.¹⁴

PENYUSUNAN GAP JUNCTION

Retikulum endoplasmik ke apparatus Golgi

Seperi sebagian besar protein membran integral, connexin secara ko-translasi dimasukkan ke dalam membran retikulum endoplasmik untuk ditranspor melalui jalur sekresi. Untuk membentuk *hemichannel*, connexin harus mengalami oligomerisasi membentuk heksamer pada tahap tertentu pada jalur sekresi dan terjadi perbedaan spesifik untuk tiap isoform pada tahap oligomerisasi ini. Sebagai contoh, Cx32 akan mengalami oligomerisasi pada retikulum endoplasmik dan/atau kompartemen *intermediate* ER-Golgi, sedangkan Cx43 mengalami oligomerisasi pada tahap akhir jalur sekresi pada *trans-Golgi network*. Tidak terjadinya oligomerisasi Cx43 di retikulum endoplasmik ini konsisten dengan keberadaan mekanisme kendali yang mencegah terjadinya oligomerisasi sebelum mencapai *trans-Golgi network*. Selain itu juga ada bukti terdapatnya determinan struktural spesifik di dalam connexin yang menentukan pada tahap mana connexin itu akan mengalami oligomerisasi dan menentukan kompatibilitasnya untuk mengalami oligomerisasi bersama connexin tipe lain.^{7,9}

Oligomerisasi connexin menjadi connexon dilaporkan pada awalnya terjadi di ER. Namun pada beberapa kasus, connexin tetap berada dalam bentuk monomer pada saat mencapai apparatus Golgi tempat connexin tersebut akan mengalami oligomerisasi menjadi connexon. Oleh karena itu, diyakini bahwa oligomerisasi connexin terjadi secara sekuensial selama transpor connexin di dalam retikulum endoplasmik sampai ke *trans Golgi network*, tempat proses oligomerisasi ini selesai dan lengkap. Proses oligomerisasi connexin ini penting untuk ekspresi fungsi normal; mutasi yang menyebabkan penyakit diketahui menghambat proses oligomerisasi connexin sehingga mengakibatkan penghancuran connexin ini melalui *ER-associated degradation pathway* (ERAD).⁹

Mekanisme yang meregulasi transpor connexin pada jalur sekretorik awal masih belum diketahui pasti. Sampai saat ini, hanya beberapa protein yang telah diketahui berinteraksi dengan connexin dan meregulasi transpornya melalui jalur sekresi tersebut. *Cx43-interacting protein* (CIP75) yang ditemukan pada ragi merupakan *ubiquitin-like* atau *ubiquitin-associated domain* yang mengandung *Cx43-interacting protein* dengan berat molekul 75kDa yang meregulasi *turnover* Cx43 pada awal jalur sekretorik melalui ERAD. Penelitian baru-baru ini menyimpulkan bahwa guanosine triphosphat (GTPase) kecil yakni Rab20 merupakan regulator potensial untuk transpor Cx43 antara ER dan apparatus Golgi. Pada pemeriksaan sel mamalia, diketahui bahwa Rab20 mencegah pengeluaran abnormal Cx43 dari ER dan oligomerisasi Cx43 abnormal. Ekspresi berlebihan mutan Cx43 yang tertahan pada ER akan berakibat pada saturasi mekanisme retensi sehingga berakibat pengeluaran dari ER dan Cx43 terlokalisasi pada kompartemen perinuklear Golgi. Ekspresi berlebihan Rab20 diketahui dapat mencegah lokalisasi Golgi dan membawa kembali Cx43 pada tempat lokalisasi primer. Lebih jauh lagi, pada sel yang mengekspresikan Cx43 *wild-type*, ekspresi berlebihan Rab20 mengakibatkan retensi connexin pada ER dan mencegah transpor connexin ke membran plasma.⁹

Apparatus Golgi ke membran plasma

Connexin ditranspor melalui apparatus Golgi dan dikemas dalam bentuk vesikel transpor pada *trans-Golgi network* untuk kemudian ditranspor ke membran plasma. Sampai saat ini, mekanisme regulasi proses pengemasan dari connexin menjadi bentuk vesikel transpor dan proses transpor serta dinamika yang terjadi di membran plasma belum diketahui secara lengkap. Berdasarkan penelitian diketahui terjadi pembentukan vesikel pleomorfik post-Golgi yang membawa connexin ke membran plasma. Saat tiba di tepi *gap junction*, connexon diduga akan mengalami *flipping* dan mengalami difusi ke bagian tengah plak, di mana protein connexin yang telah ada sebelumnya akan bergeser ke bagian tepi untuk kemudian mengalami degradasi.^{9,16}

Cx43 diketahui berikatan langsung dengan mikrotubulus dan gangguan farmakologis

pada mikrotubulus ini akan mengganggu proses transpor Cx43 ke membran plasma, namun tidak sampai mencegah proses tersebut. Penelitian Shaw menunjukkan adanya transpor vesikel Cx43 langsung menuju *adherent junction* melalui mikrotubulus. Transpor Cx43 dengan *microtubule-mediated target-delivered* melalui mikrotubulus dan interaksi dengan p150 (kompleks dynein/dynactin) akan membawa mikrotubulus ke *adherent junction*. Diketahui bahwa mikrotubulus akan memanjang ke arah plak *gap junction* pada tepi sel. Ujung plus mikrotubulus akan berikatan dengan EB1, EB1 akan menyediakan situs ikatan untuk p150 (protein yang berhubungan dengan *adherent junction*) dan catenin. Hal ini berbeda dengan sistem transpor connexin ke membran plasma yang dikemukakan sebelumnya, bahwa connexon ditranspor ke regio unapposed membran plasma di mana connexon akan dibiarkan bebas berdifusi pada membran tersebut. Connexon yang berdifusi ke lateral akan melekat pada bagian tepi tempat *gap junction* berada kemudian berpasangan dengan sel untuk membentuk kanal *gap junction* yang baru. Mekanisme yang berbeda terjadi untuk transpor connexon ke membran plasma, tergantung apakah connexon akan berperan sebagai *hemichannel* atau akan diinkorporasikan membentuk *gap junction*.^{9,16}

Dinamika gap junction pada membran plasma: peran sebagai mechanical junction

Diperlukan *intact mechanical junction* antara sel untuk membentuk dan mempertahankan fungsi *gap junction*. Peranan *intact mechanical junction* telah ditunjukkan oleh protein zonula-occluden 1 (ZO-1) dalam meregulasi fungsi *gap junction*. ZO-1 adalah *domain* PDZ yang mengandung protein *scaffolding* yang diidentifikasi sebagai salah satu komponen *tight junction*. Berdasarkan penelitian diketahui bahwa Cx43 berikatan langsung dengan *domain* PDZ kedua dari ZO-1 melalui CT PDZ *binding* motif. Studi lebih lanjut menunjukkan bahwa ZO-1 meregulasi akumulasi Cx43 pada plak *gap junction* perifer dan interaksi Cx43/ZO-1 ini penting dalam mengatur ukuran *gap junction*. Lebih jauh lagi, interaksi Cx43/ZO-1 ini terlibat juga dalam proses remodeling patologis *gap junction* yang terjadi pada penyakit hati. Selain berinteraksi dengan



Cx43, ZO-1 juga diketahui berikatan dan meregulasi fungsi beberapa connexin lain yakni Cx35, 36, Cx45, Cx47, dan Cx50.⁹

Protein *adherent junction* diketahui memainkan peranan dalam pembentukan *gap junction*. Shaw et al menunjukkan bahwa *adherent junction* diperlukan untuk transpor yang tepat Cx43 menuju ke membran plasma. Gangguan pada beta-catenin atau p150, protein *adherent junction* lainnya, oleh *small interfering RNA* (siRNA) akan menghambat interaksi N-cadherin homofilik dengan peptida penghambat yang mengakibatkan terhambatnya pembentukan *gap junction* pada sel HeLa. Penelitian lain menunjukkan hilangnya N-cadherin akan mengakibatkan aritmia dan kematian jantung disebabkan perlambatan konduksi listrik jantung dan remodeling *gap junction*.⁹

Desmosom juga diperlukan untuk pembentukan *gap junction* yang efisien. Gangguan pada protein desmosom yakni plakophilin 2 akan mengakibatkan gangguan pembentukan *gap junction* dan komunikasi antar sel. Lebih jauh lagi, pada mencit transgenik dengan kardiomiopati berkaitan dengan gangguan fungsi desmin, terlihat adanya gangguan pembentukan *gap junction*.⁹

Salah satu yang diketahui berperan penting dalam menstabilkan *gap junction* adalah lemak inositol terfosforilasi. Hidrolisis PIP2 pada membran plasma menghasilkan penutupan *gap junction*, hal ini menjelaskan bagaimana aktivasi phospholipase C beta oleh protein Gαq mengakibatkan inhibisi komunikasi *gap junction*. ZO-1 diperlukan untuk penutupan *gap junction* yang dikaitkan dengan PIP2, dan *scaffolding* oleh ZO-1 akan membentuk kompleks di antara Cx43 (melalui *domain* PDZ2 ZO-1) dan PLCB3 (melalui *domain* PDZ3 ZO-1) sehingga membentuk pengumpulan PLCB3 di dekat Cx43 yang akan memediasi hidrolisis PIP2.⁹

Internalisasi dan degradasi *gap junction*

Cepatnya penggantian *gap junction* dikaitkan dengan mekanisme internalisasi dan degradasi *gap junction* yang ketat. *Gap junction* disingkirkan dari membran plasma melalui proses seluler yang unik, seluruh plak *gap junction* akan masuk ke dalam salah satu dari 2 sel yang berkomunikasi.⁹

Oligomerisasi connexin yang tepat dibutuhkan untuk pembentukan *hemichannels* dan transpornya ke membran plasma. Proses *folding* dan oligomerisasi connexin merupakan langkah penting dalam pembentukan *hemichannel*. Jika terjadi gangguan pada kedua proses tersebut maka protein tersebut akan dikeluarkan dari ER dan akan dihancurkan di proteosom melalui suatu proses yang disebut *ER-associated degradation* (ERAD).^{14,17}

Terdapat 2 jalur degradasi protein sel, yakni melalui lisosom dan proteasom. Jalur lisosomal mendegradasi material yang diendositoses termasuk di dalamnya protein membran, sedangkan jalur proteasomal adalah rute degradasi untuk protein sitosol dan protein inti. Plak *gap junction* yang akan dihancurkan akan mengalami internalisasi melalui proses endositoses, mengalami fusi dengan lisosom, dan mengalami degradasi oleh enzim lisosom. Pada beberapa sel, terapi dengan inhibitor lisosom menginduksi peningkatan kadar connexin dan penurunan rasio degradasinya.^{14,17}

Lau et al mengidentifikasi dua protein yang berinteraksi dengan Cx43 dan terlibat dalam degradasi Cx43 yakni protein dengan berat molekul 85 kDa (CIP85) dan 75 kDa (CIP75) yang akan berikatan dengan Cx43 pada *domain* CT. CIP85 sebelumnya merupakan protein dengan aktivitas Rav-Gap yang akan berikatan dengan sekuens CT Cx43 yang kaya proline. Sekuens asam amino ini juga mengandung situs fosforilasi MAPK yang memainkan peranan dalam penurunan komunikasi *gap junction* melalui proses internalisasi plak *gap junction*. CIP85 meregulasi degradasi *gap junction* melalui jalur lisosom. CIP75 adalah famili protein ubiquitin yang berikatan dengan CT dari Cx43. Asam amino ini juga memiliki situs fosforilasi MAPK yang terlibat dalam internalisasi *gap junction*. CIP75 mengalami co-lokalisasi dengan Cx43 di retikulum endoplasmik dan meregulasi penggantian Cx43 melalui jalur proteasomal.⁹

Regulasi *gap junction* melalui fosforilasi Cx43

Cx43 mengalami fosforilasi pada residu asam amino pada *domain* CT. Fosforilasi Cx43 berperan dalam proses pembentukan dan destruksi *gap junction* dalam keadaan tertentu. Peningkatan kadar cAMP intrasel

akan meningkatkan penyusunan *gap junction*, dan respons ini diduga dipengaruhi oleh protein Kinase A (PKA). Situs utama untuk fosforilasi PKA-dependen adalah residu serin yang terletak pada situs RXSS pada bagian distal CT dari Cx43 (Ser364/5, Ser368/9, and Ser372/3). Aktivasi PKA dapat meningkatkan transpor Cx43 ke membran plasma. Aktivasi PKA mengakibatkan peningkatan plak *gap junction*. CK1 juga dikatakan berkaitan dengan penyusunan *hemichannel* Cx43 menjadi bagian dari plak *gap junction*. Inhibisi CK1 meningkatkan jumlah Cx43 yang tidak menyusun *gap junction* dan memfosforilasi Cx43 pada kombinasi S325, 328, dan S330. Sampai saat ini masih belum diketahui pasti apakah Cx43 merupakan substrat bagi PKA atau pengaruh PKA dimediasi melalui aktivasi kinase atau fosfatase lain.^{9,15}

Tumor promoter forbol ester, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-asetat (TPA) merupakan aktivator langsung protein kinase C (PKC). TPA akan mengaktifasi PKC dan fosforilasi Cx43 pada S262 dan S368 terjadi melalui aktivasi PKC, fosforilasi S262 menurunkan migrasi connexin. TPA dapat mengakibatkan internalisasi Cx43 dan *epidermal growth factor* dilaporkan mengakibatkan akumulasi *gap junction* yang diikuti dengan internalisasi. Protein kinase C (PKC) memfosforilasi Cx43 pada Ser368 dan menghambat komunikasi *gap junction* dengan menurunkan hantaran kanal *gap junction*. Penutupan *gap junction* yang dimediasi oleh PKC juga dikaitkan dengan peningkatan internalisasi dan degradasi *gap junction*. TPA juga meningkatkan fosforilasi pada S255 dan S279, situs yang diketahui merupakan substrat famili MAP kinase. TPA dapat mengaktifasi jalur MAPK pada beberapa sel. Fosforilasi S279, S282 sangat penting dalam *downregulasi* komunikasi *gap junction* karena mempersingkat lama terbukanya kanal *gap junction*.^{9,15}

Berdasarkan penelitian diketahui bahwa stimulasi *growth factor* oleh *epidermal growth factor* (EGF) dapat mengganggu komunikasi *gap junction* melalui fosforilasi Cx43, situs fosforilasi Cx43 setelah stimulasi EGF adalah Ser255/279/282, yang semuanya difosforilasi oleh MAPK. Gangguan komunikasi *gap junction* diketahui dapat terjadi melalui stimulasi beberapa jenis faktor pertumbuhan misalnya *platelet*



derived growth factor, vascular endothelial growth factor, fibroblast growth factor, dan insulin. Fosforilasi dependen MAPK dari Cx43 sering dikaitkan dengan internalisasi plak *gap junction*. Stimulasi EGF menunjukkan induksi monoubiquitination dari Cx43 pada membran plasma, diikuti dengan internalisasi dan degradasi *gap junction*.⁹

Gangguan komunikasi *gap junction* ditunjukkan melalui fosforilasi residu tirosin dari Cx43. Cx43 mengalami fosforilasi langsung pada Tyr265 oleh v-Src. Peranan c-Src yang merupakan homolog v-Src dalam inhibisi komunikasi *gap junction* ditunjukkan dalam suatu penelitian yang menunjukkan bahwa tyr265 dari Cx43 merupakan substrat langsung untuk fosforilasi oleh c-Src dan kedua protein berinteraksi baik *in vitro* maupun *in vivo*. Adanya perubahan fosforilasi c-Src pada Cx43 terlihat pada kardiomiopati; beberapa peneliti mengungkapkan bahwa pada sel otot jantung, interaksi antara c-Src dan Cx43 dan

fosforilasi Tyr265 meregulasi ikatan antara Cx43 dan ZO-1. Fosforilasi Cx43 oleh c-Src memiliki implikasi pada variasi stimulus ekstrasel yang meregulasi perubahan pada komunikasi *gap junction* termasuk di dalamnya endotelin-1, lipopolisakarida, dan *tumor necrosis factor (TNF)-alpha*. Fosforilasi Src Cx43 dapat menghambat komunikasi *gap junction* diasumsikan karena menurunkan kemungkinan pembukaan kanal.⁹

SIMPULAN

1. Komunikasi antarsel otot jantung melalui *gap junction*, yang terutama tersusun oleh protein connexin43, sangatlah penting untuk mempertahankan komunikasi dan penghantaran impuls listrik jantung yang efektif.
2. Interaksi antara protein connexin43 dengan protein connexin lainnya akan mengakibatkan pembentukan *gap junction* dengan permeabilitas berbeda sehingga akan memengaruhi penghantaran impuls

jantung.

3. Supaya protein connexin43 dapat berfungsi baik, protein tersebut harus berada dalam keadaan terfosforilasi pada ujung karboksil.
4. Protein connexin43 akan menyusun *hemichannel* pembentuk *gap junction*. Namun *hemichannel* ini baru dapat berfungsi jika terdapat hubungan antara dua *hemichannel* pada diskus interkalaris.
5. Protein lain yang terletak pada diskus interkalaris, seperti zona occludens-1, desmosom memungkinkan *hemichannel* yang tersusun dari protein connexin43 dapat ditranspor ke diskus interkalaris untuk berinteraksi dengan *hemichannel* sel otot jantung di sebelahnya, sehingga kedua *hemichannels* dapat membentuk satu *gap junction* yang berfungsi normal.
6. Jika terdapat gangguan pembentukan dan penyusunan *hemichannels*, protein abnormal tersebut akan segera dihancurkan melalui proses degradasi protein.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tirziu D, Giordano F, Simons M. Cell communications in the heart. *Circulation*. 2010;122:928-37.
2. Sherwood L. Human Physiology From Cells to Systems. 7th ed. Canada: Nelson Education Ltd; 2010.
3. Silverthorn DE. Human Physiology An Integrated Approach. 3rd ed. San Fransisco: Pearson Education; 2004.
4. Aaronson PI, Ward JPT. At A Glance Sistem Kardiovaskular. Edisi 3. Jakarta: Penerbit Erlangga; 2007.
5. Matthew GG. Cellular Physiology of Nerve and Muscle. 4th ed. Malden : Blackwell Publishing; 2003.
6. Veen TAB, Rijen HVM, Opthof T. Cardiac gap junction channels: modulation of expression and channel properties. *Cardiovascular Research*. 2001;51:217-29.
7. Dbouk HA, Mroue RM, El-Sabban ME, Talhouk RS. Review : Connexins : a myriad of functions extending beyond assembly of gap junction channels. *Cell Communication and Signaling*. 2009;7(4).
8. Bedner P, Niessen H, Odematt B, Kretz M, Willecke K, Harz H. Selective permeability of different connexin channels to the second messenger cyclic AMP. *The Journal of Biological Chemistry*. 2006;281(10):6673-81.
9. Hesketh GG, Eyk JEV, Tomaselli GF. Mechanisms of Gap Junction Traffic in Health and Disease. *J Cardiovasc Pharmacol*. October 2009;54(4):263-72.
10. Sohl G, Willecke K. Review : Gap junction and the connexin protein family. *Cardiovascular Research*. 2004;62:228-32.
11. Liu F, Arce FT, Ramachandran S, Lal R. Nanomechanics of hemichannels conformations : Connexin flexibility underlying channel opening and closing. *The Journal of Biological Chemistry*. 2006;281(32):23207-17.
12. Delmar M, Coombs W, Sorgen P, Duffy HS, Taffet SM. Review : Structural bases for chemical regulation of connexin43 channels. *Cardiovascular Research*. 2004;62:268-75.
13. Giepmans BNG. Review : Gap junctions and connexin-interacting proteins. *Cardiovascular Research*. 2004;62:233-45.
14. Berthoud VM, Minoguw PJ, Laing JG, Beyer EC. Review : Pathways for degradation of connexins and gap junctions. *Cardiovascular Research*. 2004;62:256-67.
15. Solan JL, Lampe PD. Connexin 43 phosphorylation – structural changes and biological effects. *Biochem J*. 2009;419(2):261-72.
16. Prochnow N, Dermietzel R. Connexons and cell adhesion : a romantic phase. *Histochem Cell Biol*. 2008;130:71-7.
17. Saffitz JE, Laing JG, Yamada KA. Connexin expression and turnover : implications for cardiac excitability. *Circ. Res*. 2000;86:723-8.