

Role of Gap Junction in Atrial Fibrillation Pathophysiology

Alexander Edo Tondas, Yoga Yuniadi

Departement of Cardiology and Vascular Medicine, Faculty of Medicine, University of Indonesia National Cardiovascular Center "Harapan Kita", Jakarta, Indonesia

Initiation of atrial fibrillation (AF) occurred when there is a combination of triggering factors (mainly originated from thoracic veins) and arrhythmogenic substrate, such as : reduction of effective refractory period (ERP), increase in refractory spatial dispersion, or abnormal atrial impulse conduction. Atrial fibrillation has an ability to maintain its own progression, so called 'AF begets AF'. Prolonged AF episodes will lead to structural and electrical remodeling, making the patient prone to the recurrent and sustained AF. Structural remodeling, detected in the late phase, involve changes in mitochondrial size, disorder of sarcoplasmic reticulum in subcellular level, and myocardial cell hypertrophy, fiber disarray and elevated collagen deposition in the tissue level. Meanwhile, electrical remodeling of AF will cause delayed effective refractory period, promoting reentry mechanisms. Changes in gap junction regulation and distribution has been noted as part of this remodeling process. Mutation of connexin40 gene, a component protein of gap junction, also has a role in some cases of lone AF.

(J Kardiol Indones. 2010; 31: 48-57.)

Keywords: Gap Junction, atrial fibrillation

Peran Gap Junction pada Patofisiologi Fibrilasi Atrial

Alexander Edo Tondas, Yoga Yuniadi

Inisiasi fibrilasi atrial (AF) dimulai bila terjadi kombinasi antara faktor pemicu (terutama berasal dari vena-vena thoraks) dengan substrat aritmogenik yang disebabkan oleh : penurunan periode refrakter efektif (ERP), peningkatan dispersi spasial refrakter atau konduksi impuls atrial abnormal. Fibrilasi atrial merupakan penyakit yang dapat mempertahankan progresivitasnya sendiri, sehingga muncul istilah '*AF begets AF*'. Episode AF lama akan berakibat pada *remodeling* struktural dan elektrik yang mempermudah berulang atau bertahannya AF. *Remodeling* struktural, yang terdeteksi pada fase akhir, telah melibatkan perubahan ukuran mitokondria dan kerusakan retikulum sarkoplasmik pada level subselular, hipertrofi sel miokardial pada level selular, serta kekacauan serat dan peningkatan deposisi kolagen pada level jaringan. *Remodeling* elektrik pada AF akan menyebabkan perubahan dari periode refrakter efektif (ERP) yang memudahkan *reentry*. Perubahan dari regulasi dan distribusi *gap junction* merupakan bagian dari proses *remodeling* ini. Mutasi genetik dari gen connexin40, suatu protein penyusun *gap junction* juga dapat menjadi predisposisi pada beberapa kasus *lone AF*.

(J Kardiol Indones. 2010; 31: 48-57.)

Kata kunci: gap junction, fibrilasi atrium

Struktur dan Fungsi Gap Junction

Pada akhir abad ke-19, mikroskop dan percobaan-percobaan awal fisiologi menghasilkan suatu paradoks : walaupun otot jantung terdiri atas sel-sel individual, ia bertindak sebagai satu kesatuan unit fungsional. Penjelasananya ialah : ada suatu komponen dalam sel yang bertanggungjawab menghubungkan (*coupling*) sel-sel tersebut dan mengkoordinasi fungsinya sebagai satu kesatuan unit elektromekanik. Pada tahun 1960an, mikroskop resolusi tinggi mengidentifikasi

membran yang memiliki sifat fungsional yang dapat menjelaskan fenomena ini. Bagian ini kemudian dikenal sebagai "gap junction" dan mulai menjadi subjek penelitian di tahun 1970an. Pada dekade terakhir, struktur dan sifat-sifat dari kanal *gap junction* telah didokumentasikan secara ekstensif. Era modern dari biologi connexin jantung dimulai tahun 1987 dengan berhasilnya kloning connexin43 (Cx43), protein *gap junction* utama dari jantung. Dengan ditemukannya *genomic sequencing*, sekarang kita tahu bahwa genom manusia terdiri atas 21 gen connexin yang berbeda.¹

Gap junction adalah sekumpulan saluran/kanal antar sel yang menghubungkan kompartemen sitoplasma dari sel-sel yang berdekatan, membentuk jalur komunikasi langsung antar sel. Oleh karena itu mereka dapat berfungsi dalam *coupling* elektrik dan metabolik. *Coupling* metabolik dapat berupa

Alamat Korespondensi:

dr. Alexander Edo Tondas, Departemen Kardiologi dan Kedokteran Vaskular, FKUI dan Pusat Jantung Nasional Harapan Kita, Jakarta, Jl S Parman Kav 87 Jakarta 11420. E-mail: tondas2000@gmail.com

transpor metabolit-metabolit kecil, nukleotida dan *second messenger* dengan berat molekul hingga 1,2 kD dapat juga memainkan peranan penting pada jaringan spesifik (seperti sinaps neuron), bahkan fungsi kritis pada embrio- dan organogenesis. *Coupling* elektrik memenuhi peranan kunci pada jaringan yang dapat tereksitasi (mis. otot polos dan otot jantung) dimana propagasi dari impuls listrik dimediasi oleh lewatnya ion-ion melalui kanal *gap junction*. Pada sel secara umum, komunikasi antar sel via *gap junction* memainkan peranan penting pada homeostasis jaringan, regulasi pertumbuhan, perkembangan, dan diferensiasi. Pada jantung, *gap junction* memediasi *coupling* elektrik antara sel kardiomyosit, membentuk jaring untuk penyebaran gelombang eksitasi listrik yang teratur dalam rangka sinkronisasi kontraksi.²

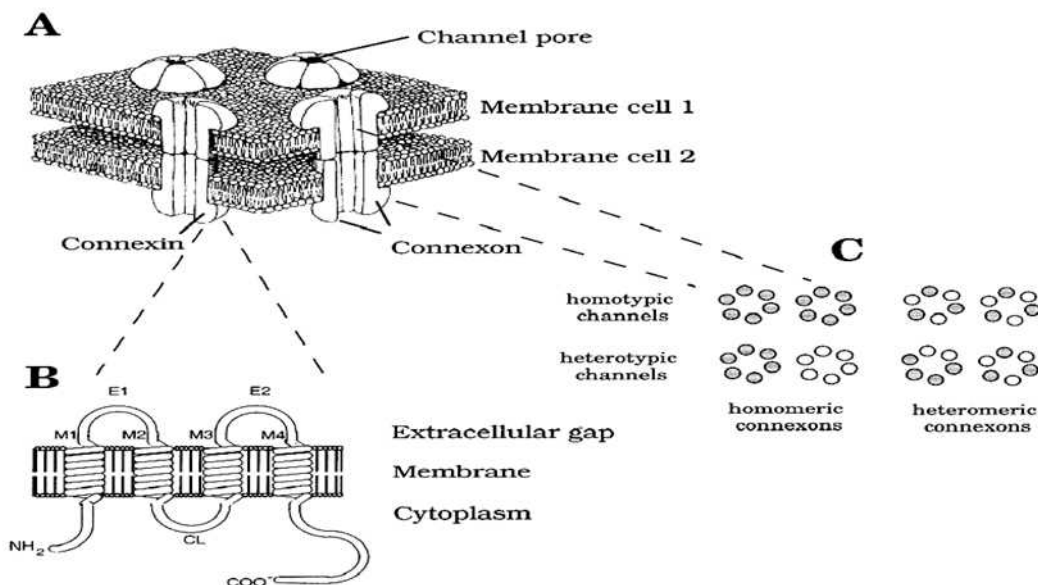
Satu kanal *gap junction* dibentuk dari penyatuan dua hemikanal (connexon), dan tiap hemikanal merupakan kontribusi dari masing-masing kardiomyosit yang berdekatan. Connexon dibentuk dari oligomerisasi 6 molekul protein transmembran bernama connexin yang tersusun secara heksagonal mengelilingi *aqueous pore*.

Bila kedua connexon tersusun atas connexin yang identik, akan terbentuk kanal homotipik. Kesamaan *loop* ekstraselular kedua yang sama diantara berbagai isoform connexin yang berbeda memberikan kesempatan pada connexon yang dibentuk dari connexin yang setipe (connexon homomerik) untuk menyatu dengan connexon yang terbentuk dari isoform

lainnya, menjadi kanal heterotipik. Selain itu, satu hemikanal dapat tersusun atas connexin yang berbeda (connexon heteromerik) dan dapat membentuk kanal homotipik (dengan pasangan hemikanal yang sama) maupun kanal heterotipik (dengan pasangan hemikanal yang berbeda).²

Pada kardiomyosit, terdapat 3 connexin yang penting : connexin40 (Cx40), connexin43 (Cx43) dan connexin45 (Cx45) yang dinamai sesuai berat molekulnya dalam kilodalton. Kanal *gap junction* bersifat permeabel terhadap substansi dengan berat molekul ≤ 1 kDa. Permeabilitas tergantung pada tipe connexin dan muatan dari molekul yang lewat. Berbeda dengan kanal ion konvensional yang menunjukkan selektivitas ion yang tinggi serta sifat *gating* yang ketat, kanal *gap junction* secara esensi bersifat non selektif dalam permeabilitasnya terhadap ion dan molekul kecil. Pada kondisi fisiologis, *gap junction* menunjukkan sensitivitas terhadap voltase yang sangat rendah dalam fungsi *gating*.

Di antara connexin jantung, kanal Cx40 memiliki konduktansi tunggal yang tertinggi (biasanya 121 atau 158 pS) dan Cx45 yang terendah (29 pS). Karena itu, ekpresi selektif dari Cx40 pada otot atrium dan serat Purkinje dapat memfasilitasi konduksi cepat dari kedua jaringan tersebut. Kanal Cx43 menunjukkan konduktansi multipel (yang paling sering diamati adalah 50 dan 90 pS), relatif tidak sensitif terhadap voltase transmembran dan sangat permeabel terhadap



Gambar 2. Ilustrasi skematik dari struktur gap junction. Dikutip dari (2)

anion, kation dan pewarna fluoresensi dari berbagai densitas muatan dan berat molekul. Sebaliknya, kanal Cx40 dan Cx45 relatif selektif terhadap kation. *Gating* dari Cx45 sangat tergantung pada voltase. Pewarna *Lucifer yellow* yang sering dipakai pada asai klasik dari *coupling* lebih bebas melewati kanal Cx43 daripada Cx40, dan tidak dapat terdeteksi melewati kanal Cx45. Konduktansi *gap junction* dapat mengalami modulasi oleh voltase transjunctional, oleh influks $[H^+]$ dan $[Ca^{2+}]$, oleh status fosforilasi dari connexin, dan oleh komposisi asam lemak ekstraselular.³⁻⁴

Eksresi & Distribusi Protein Gap Junction pada Miokardium Normal

Connexin43 adalah connexin predominan yang diekspresikan oleh kardiomyosit, dengan jumlah yang melimpah pada ventrikel dan atrium jantung dewasa pada semua spesies mamalia, termasuk manusia. Connexin40 dan connexin45 juga diekspresikan, walaupun dalam jumlah total yang lebih sedikit. Walaupun connexin43 secara keseluruhan paling banyak jumlahnya, secara tipikal ia biasanya mengalami ko-eksresi bersama dengan Cx40 dan atau Cx45. Banyak studi telah menunjukkan bahwa ketiga connexin ini diekspresikan dalam kombinasi dan jumlah yang unik sesuai ruang jantung dan spesifik terhadap tipe miosit.⁵⁻⁶





Dalam beberapa jurnal telah dilaporkan beberapa isoform lainnya pada beberapa spesies : connexin37 diekspresikan pada sel endotel dari endokardium,

aortal dan pembuluh koroner bersama dengan Cx40. Connexin46 telah ditemukan pada nodus sinoatrial dari kelinci, sementara connexin50 terdeteksi pada katup-katup atrioventrikular dari jantung tikus.²

Suatu pengamatan penting yang ditemukan selama hampir dua dekade penelitian dari *gap junction* jantung adalah fakta bahwa *gap junction* menghubungkan kardiomyosit pada jaringan jantung yang berbeda dengan pola tiga dimensi dan jumlah yang bervariasi, konsisten dengan sifat konduksi dari jaringan tersebut. Walaupun mayoritas *gap junction* terletak pada *intercalated disc* besar di ujung-ujung miosit ventrikel, banyak *gap junction* yang lebih kecil tersebar sepanjang batas lateral dari miosit ventrikel.

Sebagai contoh, miosit ventrikel anjing tipikal rata-rata terhubung dengan 11 miosit lainnya dalam otot ventrikel. Hubungan ini terjadi dalam berbagai derajat orientasi ujung-ke-ujung (*end-to-end*) dan sisi-ke-sisi (*side-to-side*), sehingga kurang lebih separuh dari koneksi antara sel-sel tetangga berorientasi *end-to-end* (tipe III dan tipe IV) dan separuh lagi *side-to-side* (tipe I dan tipe II).

Sebaliknya, pola koneksi antar sel yang jauh berbeda terjadi pada crista terminalis anjing. Konduksi pada berkas otot atrium yang menghubungkan nodus SA dan AV ini sangat cepat (~1 m/s) dan sangat anisotropik. Miosit terhubung dengan 6 sel tetangga, sebagian besar berorientasi *end-to-end* (60% tipe IV dan 19% tipe III). Berbeda dengan ventrikel, sel-sel crista terminalis hanya memiliki sedikit *gap junction* yang tersebar di aksis memanjangnya. Rasio kecepatan konduksi longitudinal terhadap transversal adalah 10:1.

	Left Ventricle	Crista Terminalis	Sinoatrial Node
I	 $3.3 \pm 1.4 (29)^*$	$0.8 \pm 0.6 (12)$	$0.7 \pm 0.5 (14)$
II	 $2.0 \pm 0.7 (18)$	$0.7 \pm 0.6 (11)$	$1.4 \pm 1.0 (30)$
III	 $2.1 \pm 0.9 (19)$	$1.1 \pm 0.7 (17)$	$2.1 \pm 0.9 (44)$
IV	 $3.9 \pm 1.1 (34)^*$	$3.8 \pm 0.7 (60)^*$	$0.6 \pm 0.7 (12)$
C	11.3 ± 2.2 cells connected to each myocyte	6.4 ± 1.7 cells connected to each myocyte	4.8 ± 0.7 cells connected to each myocyte

Gambar 4. Orientasi spasial hubungan antar sel pada jaringan jantung anjing yang berbeda. Dikutip dari (3)

Gap Junction dan Connexin pada Ruang Jantung Spesifik

Kardiomyosit dari atrium merupakan sel-sel yang lebih ramping, dengan *intercalated disc* yang lebih pendek dan dengan batas yang kurang tegas dibandingkan sel sejenis pada ventrikel. *Gap junction* miosit atrial dari kebanyakan spesies mamalia, termasuk manusia, kaya akan kandungan connexin40 dan diekspresikan bersama dengan connexin43 dalam plak *gap junction* yang sama. Belum ada data yang mengkalkulasikan area plak *gap junction* per ID pada atrium. Pada miokardium ventrikel dan atrium manusia, connexin45 sangat sedikit jumlahnya, dengan level yang sedikit lebih tinggi di atria dibandingkan ventrikel.

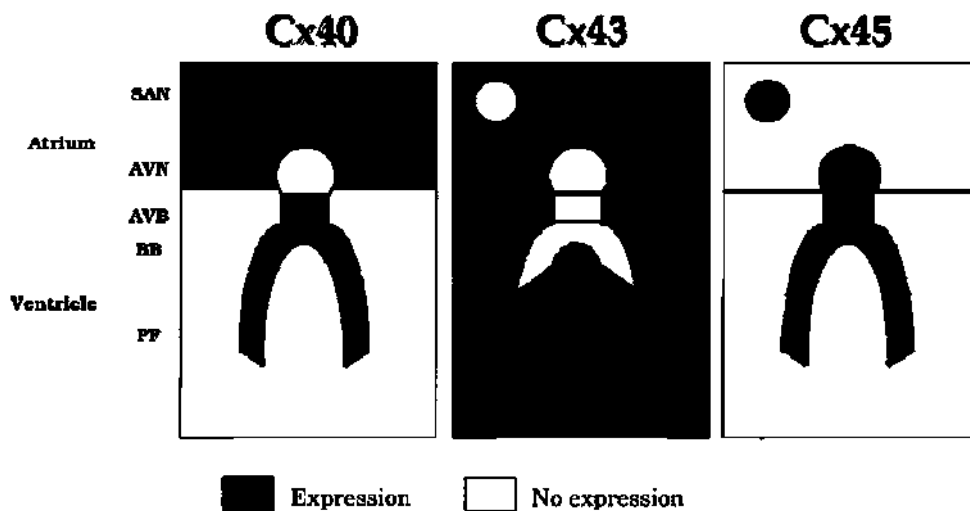
Pada atrium kiri dan kanan manusia, didapatkan ekspresi Cx43 yang serupa, tetapi level Cx40 lebih tinggi di atrium kanan dibandingkan kiri. Pada kambing, Cx40 ditemukan lebih rendah pada atrium kanan dibandingkan kiri, sementara level Cx43 sama pada kedua atria.⁷

Pengukuran fungsional dengan EKG dan pengukuran kecepatan konduksi epikardial telah dilakukan pada mencit yang sengaja dihilangkan (*knockout*) ekspresi gen Cx40 atau Cx43-nya. Model tikus yang dikondisikan Cx43 *knockout* atau haploinsufisiensi Cx43 tidak menunjukkan perubahan durasi gelombang P atau kecepatan konduksi atrial yang bermakna.⁸ Bahkan pada level dimana Cx43 hanya 10%, durasi gelombang P pada atrium mencit tidak menunjukkan

pemanjangan yang signifikan.⁹ Studi-studi ini mengindikasikan bahwa Cx43 bukanlah determinan utama dari konduksi impuls atrium bila terdapat level Cx40 yang normal.

Beberapa studi terhadap mencit Cx40 *knockout* (Cx40^{-/-}) menunjukkan bahwa Cx40 adalah connexin dominan untuk konduksi impuls atrium. Mayoritas dari studi-studi ini menunjukkan bahwa defisiensi Cx40 memperpanjang durasi gelombang P, interval PQ/PR, durasi QRS dan durasi QTc pada EKG permukaan. Pemetaan epikardial menunjukkan bahwa pemanjangan gelombang P dan interval PQ/PR disebabkan penurunan konduksi kecepatan konduksi atrium, sementara pemanjangan kompleks QRS disebabkan oleh blok cabang berkas kanan (RBBB) dan penurunan kecepatan konduksi pada cabang berkas kiri. Bagaimanapun, pemanjangan dari gelombang P bukanlah temuan yang lazim dan tidak didapatkan pada beberapa studi yang lain. Selain itu, mencit Cx40 *knockout* ternyata lebih rentan terhadap aritmia supraventrikular.⁷⁻⁸

Beberapa studi lain pada mencit menemukan bahwa tidak adanya Cx40 selama periode perkembangan dapat menyebabkan abnormalitas dan malformasi jantung, seperti hipertrofi kardiak bersama dengan defek septum atrioventrikular atau ventrikular. Aspek perkembangan ini tidak terlihat pada beberapa studi yang lain, yang menunjukkan bahwa perbedaan latar belakang genetik mungkin adalah modulator yang penting yang menentukan muncul atau tidaknya malformasi.⁸



Gambar 5. Pola umum ekspresi connexin pada daerah yang berbeda dari jantung mamalia. Dikutip dari (²)

Suatu temuan yang mengejutkan adalah mengenai hubungan antara konduksi impuls atrial dan rasio dari ekspresi Cx40 dan Cx43. Kanagaratnam et al menunjukkan bahwa kecepatan konduksi atrium kanan pada manusia berbanding terbalik dengan rasio $Cx40/(Cx40+Cx43)$, tetapi berbanding lurus dengan $Cx43/(Cx40+Cx43)$.¹⁰ Menariknya, kecepatan konduksi tidak memiliki hubungan dengan level Cx43 saja atau level Cx total ($Cx40+Cx43$) saja. Temuan ini dikonfirmasi oleh Beauchamp et al pada kultur serabut otot atrium dari tikus dengan defisiensi genetik Cx40 atau Cx43.¹¹ Cx40 yang relatif lebih banyak menurunkan kecepatan konduksi sementara dominasi Cx43 meningkatkan kecepatan konduksi.

Studi-studi pada sistem ekspresi eksogen telah menunjukkan bahwa *gap junction* yang terdiri atas hemikanal Cx40 dan hemikanal Cx43 (homomerik/heterotipik) tidak kompatibel atau membentuk *gap junction* dengan konduktansi total yang lebih rendah. Pada miosit atrial dimana Cx40 dan Cx43 diekspresikan pada *gap junction* yang sama, secara teori kanal heteromerik/heterotipik dapat terbentuk, tetapi belum jelas apakah kanal seperti ini benar-benar fungsional. Beberapa studi menunjukkan kanal heteromerik/heterotipik Cx40/Cx43 yang fungsional, sementara yang lain menunjukkan bahwa fungsinya tidak bermakna. Secara umum, koekspresi dari Cx40 dan Cx43 terkait dengan konduktansi antar sel yang lebih rendah, yang menjelaskan temuan Kanagaratnam dan Beauchamp. Pada studi-studi yang disebutkan terdahulu, haploinsufisiensi Cx40 yang menurunkan konduktansi antar sel mungkin disebabkan pola ekspresi spesifik dari miosit menciit dewasa, dan perlu diingat bahwa pada hewan transgenik, dapat terjadi alterasi ekspresi gen selain gen target.^{8, 10-11}

Mekanisme Selular dari Remodeling Gap Junction

Pemahaman kita akan mekanisme selular dari *remodeling gap junction* masih sangat terbatas. Seperti halnya semua protein lain, ekspresi connexin dapat diregulasi pada level transkripsional dan post-transkripsional. Pengetahuan akan interaksi dari faktor transkripsi dengan elemen targetnya semakin maju seiring kemajuan ilmu tentang struktur gen-gen yang mengkode Cx43, Cx40 dan Cx45.¹²

Dari segi regulasi post-transkripsional, suatu studi baru-baru ini telah mengidentifikasi peran dari microRNA-1 dalam mengunci fungsi GJA1

(gen yang mengkode Cx43) dan KCNJ2 (subunit Kir2.1 dari kanal K^+) pada penyakit jantung iskemik. MicroRNA adalah RNA endogen yang tidak berfungsi dalam pengkodean, yang berinteraksi dengan mRNA target untuk mencegah translasi; peningkatan ekspresi microRNA-1 ditemukan pada ventrikel manusia yang sakit, dan blokade dari elevasi ini dapat mencegah aritmia pada model binatang.¹²

Terlepas dari sintesis connexin, mekanisme regulasi dapat bekerja pada level perakitan connexon, kanal dan plak *gap junction* dan saat degradasi. Jalur sinyal ekstraselular yang berakhir pada perubahan ekspresi connexin pada penyakit dapat dipicu oleh gaya mekanik dan melibatkan cAMP, angiotensin II dan faktor pertumbuhan seperti VEGF, yang diaktivasi via protein kinase seperti *focal adhesion kinase* dan c-Jun N-terminal kinase (JNK). Aktivasi JNK pada model tikus transgenik menyebabkan *downregulation* dari Cx43, perlambatan konduksi ventrikel, disfungsi kontraktil dan gagal jantung kongestif.¹²

Akhir-akhir ini fokus dari riset terkini berkisar seputar protein mitra dari connexin, yaitu beberapa protein dengan sifat regulasi yang berinteraksi dengan gugus C-terminus dari Cx43. Gugus ini terdiri atas berbagai situs penting, terutama terlibat dalam *gating* kanal dan fosforilasi (suatu proses yang berpengaruh luas termasuk dalam pengaturan lalu lintas connexin dan degradasi). Selain dari protein c-Src dan protein adhesi, mitra pengikat connexin lainnya termasuk tubulin, caveolin dan zonula occludens-1 (ZO-1). Tubulin dan protein transpor motor penyertanya memediasi lalu lintas connexin menuju tempat tujuan yang tepat di permukaan sel, sementara ZO-1 terutama mengatur ukuran dari *gap junction*. ZO-1 tampaknya bekerja dengan membatasi rekrutmen dari connexon ke *gap junction* dan dengan cara ini berkontribusi dalam penurunan ukuran dan kandungan connexin *gap junction* pada jantung manusia yang berpenyakit.¹²

Efek dari ZO-1 ini juga memiliki aksi kooperatif dengan protein mitra lainnya yang berinteraksi dengan connexin. Isu mengenai adanya *cross-talk* antar komponen dari tipe-tipe perlekatan sel yang berbeda (desmosom, fascia adherens) saat ini sedang hangat dibicarakan. Molekul-molekul yang secara klasik terkait dengan hubungan adhesif, seperti N-cadherin, β -catenin, γ -catenin (plakoglobin), plakophilin-2 (PKP2) dan desmoplakin, adalah beberapa dari protein-protein mitra yang berinteraksi dengan Cx43 secara langsung atau via protein lain. Tugas yang masih menanti di masa yang akan datang

adalah mengungkap interaksi kompleks antara molekul-molekul ini dan bagaimana hubungannya dengan *remodeling gap junction* pada berbagai penyakit jantung yang berbeda.¹²

Connexin Jantung dan Perpetuasi AF

Tahun 1995, tim peneliti Alessie *et al* mengenalkan konsep *remodeling* elektrik yang dapat diinduksi oleh AF yang bekepanjangan. Intinya adalah bahwa perubahan molekular dan struktural dari jaringan atrium sebagai respons dari aktivitas fibrilasi akan mempengaruhi durasi dan heterogenitas dari periode refrakter efektif atrium. Perubahan dari ukuran sel, geometri, deposisi fibrosis dan perubahan ekspresi atau aktivitas kanal ion dapat memfasilitasi *reentry* dan meningkatkan kepekaan terhadap AF (*AF begets AF*). Walaupun penelitian-penelitian pendahulu ini telah memberikan pengertian dasar dari mekanisme AF, masih sangat sedikit yang diketahui tentang defek primer yang merupakan predisposisi dari kepekaan terhadap AF.¹³

Model klasik menunjukkan bahwa suatu reduksi dari laju propagasi aksi potensial dan pemendekan periode refrakter efektif (ERP) dari atrium dapat mempermudah *reentry* dan aritmogenesis. Karena itu, perlambatan konduksi akibat *remodeling* dari proses *coupling* pada *gap junction* menjadi salah satu kandidat penting untuk melengkapi penjelasan patogenesis dari AF.

Studi-studi awal untuk menyelidiki peran *gap junction* pada AF dikerjakan pada model hewan. Induksi AF persisten (> 2 bulan) pada model kambing berakhir pada distribusi spasial heterogen dari Cx40, sementara ekspresi Cx43 tidak berubah. Ekspresi heterogen didefinisikan sebagai pola label Cx40 yang tidak seragam dimana sel-sel yang tidak mengandung Cx40 tersebar di antara sel-sel dengan ekspresi Cx40 yang hampir normal. Distribusi heterogen ini terjadi setelah 2 minggu paparan terhadap pemacu cepat dari atrium.¹⁴ Menariknya, penghentian AF mengakibatkan pembalikan dari proses *remodeling* dan normalisasi gradual dari pola *gap junction* dan ekspresi Cx40.¹⁵ Level protein Cx40 total tidak berubah atau dapat menurun pada AF lama, dengan level Cx40 mRNA yang tetap.^{14,15}

Pada manusia, beberapa studi menyelidiki ekspresi dan distribusi connexin selama AF pada beberapa kondisi yang berbeda (Tabel 1). Selama irama sinus (SR), *gap junction* terutama diekspresikan pada ujung-

ujung dari sel (*end-to-end*), walaupun penyebaran *side-to-side* juga umum dijumpai pada atrium. Selama AF, ekspresi Cx40 terutama bersifat *side-to-side*.¹⁶ dan tersebar secara heterogen.¹⁷ Sementara ekspresi dari N-cadherin dan desmoplakin tetap normal. Sepertinya, kecepatan konduksi *side-to-side* relatif lebih lambat dan menciptakan suatu substrat untuk blok unidireksional dan *reentry* dari impuls prematur. Pada pasien dengan penyakit jantung iskemik tanpa riwayat aritmia sebelumnya, AF post-operatif lebih sering dijumpai bila terdapat level protein Cx40 awal yang lebih tinggi.¹⁶

Bagaimanapun, terdapat beberapa studi yang meneliti pasien-pasien dengan AF lama (sedikitnya 3 bulan) menunjukkan hasil yang inkonsisten dari aspek jumlah level protein Cx40. Beberapa studi menunjukkan peningkatan level Cx40 dengan ekspresi lateral di atrium,¹⁷ studi lain tidak menemukan perbedaan level ekspresi protein Cx40 antara pasien SR dan AF lama.¹⁸ Temuan yang tampaknya berbeda dari berbagai studi hingga saat ini sebagian mungkin disebabkan perbedaan pendekatan metodologi dan desain percobaan, antara lain : penggunaan antibodi poliklonal antiCx40 mencit/kelinci dan spesifik antiCx40 manusia; penggunaan analisis *western blot* atau imunofluoresensi dengan keterbatasan interpretasinya masing-masing untuk menilai jumlah Cx40; dan inklusi pasien dari berbagai etiologi AF.

Bagaimanapun, hampir semua studi menunjukkan bahwa *gap junction* Cx40 terdistribusi secara heterogen di atrium pasien dengan AF. Ekspresi connexin seperti ini menghasilkan *coupling* antar sel yang heterogen pula, yang mengarah pada defek konduksi dan karakteristik anisotropik tidak seragam, yang dapat memfasilitasi sirkuit *reentry* dan merupakan predisposisi takikardia atrial. Efek kedua dari *uncoupling* yang inhomogen adalah peningkatan dispersi dari kemampuan refrakter. Pada gagal jantung, ekspresi heterogen dari Cx43 terkait dengan dispersi konduksi impuls dan juga dispersi dari kemampuan refrakter.⁷

Aktivitas pemicu dari vena-vena thoraks, yaitu vena pulmonalis (PV) dan vena cava superior (SVC) adalah faktor penting dalam inisiasi dan perpetuasi dari AF. Kerah miokardial (*myocardial sleeves*), suatu perluasan dari miokardium atrium ke dalam PV dan SVC telah diidentifikasi sebagai substrat di balik pemicuan ini. Mekanisme yang melatarbelakangi aktivitas ektopik dari vena thoraks diduga merupakan otomatisitas atau *reentry* mikro dan beberapa studi telah meneliti sifat aritmogenik ini.⁷

Aktivitas ektopik dari PV adalah pemicu yang paling sering dari AF. Saito *et al* telah meneliti anatomi dari PV pada jantung manusia dan menunjukkan bahwa sel-sel miokardium atrium terpisah dari media muskular dari vena.¹⁹ Arora *et al* menunjukkan bahwa konduksi pada bagian proksimal dari PV anjing memiliki konduksi yang jauh lebih rendah daripada bagian atrium kiri lainnya.²⁰ Bukti dari dugaan ini diberikan oleh Verheule *et al* yang menunjukkan bahwa, walaupun miosit dari PV mirip dengan LA, *gap junction* pada kerah miokardial terutama mengekspresikan Cx43 dan bahwa level dari Cx40 lebih rendah secara bermakna daripada LA.²¹ Sel-sel mirip nodus teridentifikasi dalam kerah miokardial PV dan *intercalated disc* dari sel-sel ini terdiri atas spesialisasi *gap junction* kecil-kecil yang serupa dengan nodus SA. Ternyata kerah miokardial dan nodus SA memang secara embrionik berasal dari segmen sinus venosus yang sama. Studi pada anjing dengan *remodeling* atrium akibat regurgitasi katup mitral atau pemacuan cepat atrium menunjukkan bahwa ekspresi Cx40 pada PV mengalami *downregulation* yang mungkin penting pada mekanisme perpetuasi AF. Secara ringkas, pada PV, *reentry* mikro akibat otomatisitas dan perlambatan aktivasi dapat menjadi sumber pemicuan AF. *Remodeling* dari *gap junction* tampaknya memainkan peran penting dalam dua cara. Pertama, fakta bahwa PV mengandung sel-sel autoritmik, yang memiliki ekspresi mirip nodus, dapat memicu atrium. Kedua, ekspresi *gap junction* abnormal dan diskontinu dengan perubahan dari arah serat dapat memfasilitasi *reentry* mikro, menjadi pemicu preeksitasi pada miokardium.⁷

Pada vena cava superior (SVC), kerah miokardial juga meluas dari perbatasan RA-SVC hingga 2-5 mm ke arah SVC. Pada bagian proksimal dari kerah, area atipik ditemukan dimana Cx43 diekspresikan ditengah dan dikelilingi oleh bercak-bercak Cx40. Menariknya, pola ekspresi area atipik ini analog dengan yang dilaporkan pada nodus SA anjing. Chen *et al* menunjukkan bahwa sel-sel SVC memiliki otomatisitas dan pola ekspresi Cx yang mirip nodus SA ini memudahkan keluarnya aktivitas spontan dari sel-sel yang bersifat *pacemaker* ke miokardium sekelilingnya.²² Pada model anjing yang diberi pemacuan atrium cepat selama 2 dan 6-8 minggu, terjadi *remodeling* struktural dan elektrik dari kerah miokardial SVC. Selain perubahan ukuran, susunan dan proliferasi miosit, terdapat *remodeling* dari *gap junction* dimana pada pemacuan kontinu selama 2 minggu terjadi *upregulation* dari

Cx43 dan *downregulation* dari Cx40. Pemacuan juga menghasilkan pergeseran distribusi dari Cx ke batas lateral dari kardiomyosit, penurunan kecepatan konduksi, pemendekan periode refrakter, dan peningkatan kepekaan terhadap AF. Pola spesifik dari ekspresi Cx, dikombinasi dengan otomatisitas intrinsik dari miosit SVC dapat menjadi penentu mekanisme pemicuan pada kondisi normal. Selama AF, perubahan ekspresi dan distribusi Cx40 dapat mengubah karakteristik kelistrikan dari SVC dan menyebabkan propagasi inhomogen dan diskontinu dari impuls, serta perlambatan aktivasi yang melewati kerah miokardial, suatu substrat *reentry*.⁷

Mutasi dan Polimorfisme Gen Cx40 sebagai Predisposisi AF

AF memiliki presentasi klinis dan karakter yang berbeda, yang mungkin timbul dari substrat genetik akibat mutasi dan/atau polimorfisme gen-gen yang berbeda. Bentuk familial autosom dominan dari AF pertama kali dijelaskan pada sebuah keluarga kecil di Spanyol oleh Brugada *et al*. Peningkatan atau pengurangan fungsi akibat mutasi dari beberapa gen kanal potassium (K⁺) seperti KCNQ1, KCNE2, KCNJ2 dan KCNA5 juga telah ditemukan sebagai bentuk familial AF. Selain itu, sifat herediter juga ditunjukkan pada kasus dimana keluarga dari pasien *lone AF* (AF tanpa predisposisi struktural) juga berisiko mendapatkan aritmia ini. Selain mutasi gen, banyak polimorfisme genetik juga ditemukan pada AF idiopatik, seperti polimorfisme dari *angiotensin converting enzyme*, polimorfisme kanal potassium dan kanal sodium.⁷

Selain kanal ion, abnormalitas dari gen Cx40 (GJA5) telah dilaporkan terkait dengan aritmia atrial. Firouzi *et al*²³ adalah yang pertama mengkorelasikan vulnerabilitas AF dengan polimorfisme promotor Cx40 pada pasien tanpa penyakit jantung struktural dan tanpa *remodeling* atrial. Mereka membandingkan karakteristik elektrofisiologis dari 30 pasien dengan takikardia supraventrikular dan episode jarang AF dengan pasien tanpa bukti AF atau riwayat episode detak jantung ireguler. Dijelaskan bahwa, karier homozigot dari haplotipe minor (-44AA/+71GG) lebih rentan baik terhadap induksi AF dari stimulasi listrik terprogram maupun kejadian AF spontan. Predisposisi terhadap inisiasi AF ini sepertinya terkait dengan peningkatan dispersi dari kemampuan refrakter atrial. Juang *et al*²⁴ juga menemukan relasi yang serupa pada pasien Taiwan dengan AF paroksismal

atau permanen. Mereka menunjukkan bahwa pasien dengan AF (n=173) memiliki frekuensi genotip Cx40 (-44AA/+71GG) yang lebih tinggi daripada grup kontrol (n=232).

Sejauh mana penurunan level distribusi protein Cx40 akibat polimorfisme ini masih belum jelas. Diperlukan studi lebih lanjut untuk menentukan korelasi keberadaan alel minor (-44A/+71G) dengan level protein Cx40.

Gap Junction sebagai Target Terapi AF

Karena ekspresi abnormal dari Cx40 terkait dekat dengan kepekaan terhadap AF, normalisasi dari ekspresi Cx40 mungkin dapat berhasil sebagai metode terapeutik. Bagaimanapun, masih sangat sedikit yang diketahui tentang mekanisme yang mendasari *remodeling* atrium secara umum dan faktor-faktor yang secara spesifik memodulasi fungsi Cx40 selama AF. Baru-baru ini, Sarrazin *et al*²⁶ menunjukkan bahwa pemberian oral dari n-3-PUFA (*polyunsaturated fatty acid*) dapat menurunkan vulnerabilitas terhadap induksi AF pada anjing. Proteksi terhadap AF ini sangat terkait dengan penurunan level ekspresi Cx40. Agen yang memodifikasi status fosforilasi connexin berpotensi meregulasi *coupling* antar sel selama AF. Untuk Cx43, telah diketahui bahwa defosforilasi terkait dengan redistribusi antar sel dan *uncoupling* elektrik.¹⁵

Agen antiaritmia potensial baru, yang disebut AAP (*antiarrhythmic peptides*) telah menunjukkan kemampuannya, terutama pada ventrikel dimana didapatkan penurunan dispersi durasi aksi potensial dan peningkatan konduktansi *gap junction*. Rotigaptide (juga dikenal sebagai ZP123, suatu analog AAP poten dengan stabilitas plasma yang sudah disempurnakan) diharapkan dapat memberikan efek penghambatan terhadap defosforilasi Cx43 akibat stres metabolik akut, seperti pada keadaan iskemia. Walaupun peranan status fosforilasi dalam mengontrol konduktansi *gap junction* yang dibentuk oleh connexin lain belum banyak diketahui, efek rotigaptide pada AF merupakan subjek dari beberapa studi. Pada model kelinci dengan AF yang diinduksi kelebihan beban volum, rotigaptide meningkatkan kecepatan konduksi atrium, namun tanpa penurunan vulnerabilitas AF. Level ekspresi dari Cx43 dan Cx40 mengalami *downregulation* pada model tersebut tetapi dapat ditekan setelah pengobatan dengan rotigaptide. Di lain pihak, studi terhadap model anjing dengan AF akibat iskemia miokardium, pemberian rotigaptide mencegah perlambatan konduksi

yang disebabkan iskemia dan menurunkan durasi AF. Studi lainnya pada model tikus, menunjukkan bahwa ZP13 mencegah penurunan kecepatan konduksi artium selama stres metabolik, namun pada kondisi fisiologis normal, obat ini tidak menunjukkan efek.^{2,25}

Banyak studi menunjukkan bahwa fungsi dari connexin dapat dimodifikasi, akan tetapi riset lebih lanjut harus dilakukan untuk mengetahui agen mana yang paling berhasil untuk pengobatan AF.

Daftar Pustaka

1. Beyer EC, Paul DL, Goodenough DA. Connexin43: A protein from rat heart homologous to a gap junction protein from liver. *J Cell Biol* 1987;105:2621-9.
2. Van Veen TAB, Van Rijen HVM, Opthof T. Cardiac gap junction channels: Modulation of expression and channel properties. *Cardiovasc Res* 2001;51:217-29.
3. Saffitz JE, Lerner DL, Yamada KA. Gap junction distribution and regulation in the heart. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac Electrophysiology: From Cells to Bedside*. Fourth ed. Philadelphia: WB Saunders; 2004:181-91.
4. Francis D, Siergiopoulos K, Ek Vitorin JF, Cao FL, Taffet SM, Delmar M. Connexin diversity and gap junction regulation by pH. *Dev Genet* 1999;24:123-36.
5. Van Kempen MJA, Wessels A, Oosthoek PW, Gros D, Jongsma HJ. Differential connexin distribution accommodates cardiac function in different species. *Microsc Res Tech* 1995;31:420-36.
6. Vozzi C, Dupont E, Coppens SR, Yeh HI, Severs NJ. Chamber related differences in connexin expression in the human heart. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:991-1003.
7. Chaldoupi SM, Loh P, Hauer RN, de Bakker JMT, van Rijen HVM. The role of connexin40 in atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 2009;84:15-23.
8. Jansen JA, Van Veen TAB, de Bakker JMT, Van Rijen HVM. Cardiac connexins and impulse propagation. In: *J Mol Cell Cardiol*; 2009.
9. Eckardt D, Theis M, Degen J, Ott T, Van Rijen HVM, Kirschhoff S. Functional role of connexin43 gap junction channels in adult mouse heart assessed by inducible gene deletion. *J Mol Cell Cardiol* 2004;36:101-10.
10. Kanagaratnam P, Rothery S, Patel P, Severs NJ, Peters NS. Relative expression of immunolocalized connexins 40 and 43 correlates with human atrial conduction properties. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:116-23.
11. Beauchamp P, Yamada KA, Baertschi AJ, et al. Relative contributions of connexin 40 and 43 to atrial impulse propagation in synthetic strands of neonatal and fetal murine cardiomyocytes. *Circ Res* 2006;99:1216-24.

12. Severs NJ, Bruce AF, Dupont E, Rothery S. Remodeling of gap junction and connexin expression in diseased myocardium. *Cardiovasc Res* 2008;80:9-19.
13. Gollob MH. Begetting atrial fibrillation : connexin and arrhythmogenesis. *Heart Rhythm* 2008;5:888-91.
14. Van der Velden, Ausma J, Rook MB, Hellemons AJ, van Veen TA, Allesie MA et al. Gap junctional remodeling in relation to stabilization of atrial fibrillation in the goat. *Cardiovasc Res* 2000;46:476-486.
15. Ausma J, van der Velden HMW, Lenders MH, van Ankeren EP, Jongtsma HJ, Ramaekers FC et al. Reverse structural and gap junctional remodeling after prolonged atrial fibrillation in the goat. *Circulation* 2003;107:2051-2058.
16. Thijssen VL, van der Velden HMW, van Ankeren EP, Ausma J, Allesie MA, Borgers M et al. Analysis of altered gene expression during sustained atrial fibrillation in the goat. *Cardiovasc Res* 2002;54:427-437.
17. Dupont E, Ko Y, Rothery S, Coppens SR, Baghai M, Haw M et al. The gap junctional protein connexin40 is elevated in patients susceptible to postoperative atrial fibrillation. *Circulation* 2001;103:842-849.
18. Nao T, Ohkusa T, Hisamatsu Y, Inoue N, Matsumoto T, Yamada J et al. Comparison of expression of connexin in right atrial myocardium in patients with chronic atrial fibrillation versus those in sinus rhythm. *Am J Cardiol* 2003;91:678-683.
19. Saito T, Waki K, Becker AE. Left atrial myocardial extension onto pulmonary veins in humans: anatomic observations relevant for atrial arrhythmias. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2000;11:888-894.
20. Arora R, Verheule S, Scott L, Navarrete A, Katari V, Wilson E et al. Arrhythmogenic substrate of the pulmonary veins assessed by high resolution optical mapping. *Circulation* 2003;107:1816-1821.
21. Verheule S, Wilson EE, Arora R, Engle SK, Scott LR, Olgin JE. Tissue structure and connexin expression of canine pulmonary veins. *Cardiovasc Res* 2002;55:727-738.
22. Chen YJ, Chen YC, Yeh HI, Lin CI, Chen SA. Electrophysiology and arrhythmogenic activity of single cardiomyocytes from canine superior vena cava. *Circulation* 2002;105:2679-2685.
23. Firouzi M, Ramanna H, Kok B, Jongtsma HJ, Koeleman BP, Doevendans PA et al. Association of human connexin40 gene polymorphisms with atrial vulnerability as a risk factor for idiopathic atrial fibrillation. *Circ Res* 2004;95:e29-e33.
24. Juang JM, Chern YR, Tsai CT, Chiang FT, Lin JL, Hwang JJ et al. The association of human connexin 40 genetic polymorphisms with atrial fibrillation. *Int J Cardiol* 2007;116:107-112.
25. Wit AL, Duffy HS. Drug development for treatment of cardiac arrhythmias:targeting the gap junctions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H16-H18.