

BIOTRANS

Programa de Pós-Graduação em
Biomedicina Translacional
Mestrado e Doutorado



Beatriz Lins de Oliveira

**Junções comunicantes no sistema imunológico e nos processos
patológicos: uma revisão integrativa da literatura**

Rio de Janeiro

2024

Beatriz Lins de Oliveira

**Junções comunicantes no sistema imunológico e nos processos patológicos:
uma revisão integrativa da literatura**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-Graduação Interinstitucional em Biomedicina Translacional da Universidade do Estado do Rio de Janeiro em regime de associação com o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia e UNIGRANRIO - Afya.

Orientadores: Sergio Henrique Seabra
Fabio da Silva de Azevedo Fortes

Rio de Janeiro

2024

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UNIGRANRIO – NÚCLEO DE COORDENAÇÃO DE BIBLIOTECAS

O48j Oliveira, Beatriz Lins de.

Junções comunicantes no sistema imunológico e nos processos patológicos: uma revisão integrativa da literatura / Beatriz Lins de Oliveira. – Duque de Caxias, Rio de Janeiro, 2024.

92 f. il.

Orientador: Fabio da Silva de Azevedo Fortes.

Orientador: Sergio Henrique Seabra.

Dissertação (mestrado) – Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Escola de Ciência da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional, Rio de Janeiro, 2024.

1. Conexinas. 2. Junções comunicantes. 3. Sistema imunológico. I. Fortes, Fabio da Silva de Azevedo. II. Seabra, Sergio Henrique. III. Título. IV. Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”.

CDD: 610

Rodrigo de Oliveira Brainer CRB-7: 6814

Beatriz Lins de Oliveira

**Junções comunicantes no sistema imunológico e nos processos patológicos:
uma revisão integrativa da literatura**

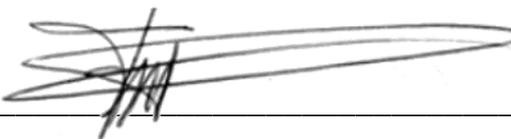
Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-Graduação Interinstitucional em Biomedicina Translacional da Universidade do Estado do Rio de Janeiro em regime de associação com o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia e UNIGRANRIO - Afya.

Aprovada em 10 de dezembro de 2024.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Sergio Henrique Seabra (Orientador – UENF)



Prof. Dr. Fabio da Silva de Azevedo Fortes (Orientador - UERJ-ZO)

Documento assinado digitalmente
gov.br LEONARDO DA CUNHA BOLDRINI PEREIRA
Data: 03/01/2025 15:40:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Leonardo da Cunha Boldrini Pereira (Titular Interno – INMETRO)

Gabriella Oliveira A.M. de Carvalho

Dr. Gabriella Oliveira Alves Moreira de Carvalho (Titular Externo – UFRJ)

Pedro Souto Rodrigues

Dr. Pedro Souto Rodrigues (Titular Externo – UENF)

Prof. Dr. Sergian Vianna Cardozo
Coordenador do PPE em Biomedicina
Translacional - BIOTRANS
UNIVERSIDADE
UNIGRANRIO

Sergian Vianna Cardozo

Dr. Sergian Vianna Cardozo (Suplente – UNIGRANRIO)

Rio de Janeiro

2024

RESUMO

As junções comunicantes são canais intercelulares que promovem comunicação direta por difusão passiva e não-específica de moléculas entre células e são formadas pela união de dois hemicanais (conexons). Estes, são por sua vez formados por seis proteínas integrais de membrana, as conexinas. O Sistema Imunológico é composto por células, órgãos especializados e fatores solúveis dedicados a identificar, isolar e eliminar ameaças microbiológicas, tóxicas e neoplásicas. Ele se organiza em duas faces distintas, porém, interdependentes: a imunidade inata e adaptativa. A coordenação desses processos e a comunicação entre os agentes que compõem o Sistema é mediada pelas junções comunicantes. Considerando o contínuo aumento do acervo de publicações científicas, o presente estudo consiste numa Revisão Integrativa que visa explorar como esses dois elementos se relacionam e apresentar o estado atual da pesquisa científica sobre os temas. Foram consultadas três bases de dados: PubMed®, Informação Científica e Técnica em Saúde da América Latina e Caribe (LILACS), e Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE). Após aplicação dos procedimentos propostos por Toronto e Remington (2020), 63 publicações foram escolhidas para compor a Revisão Integrativa. Os principais achados dos estudos incluídos foram apresentados e discutidos no presente trabalho sob a perspectiva da pesquisa básica e a perspectiva translacional, onde a atuação das conexinas é relacionada a processos patológicos. As junções comunicantes participam em diversos processos celulares e patogênicos, como a carcinogênese e a inflamação, evidenciando a sua importância para a manutenção de um organismo saudável. Concluiu-se que há um número baixo de publicações e de trabalhos aplicados que exploram as possibilidades terapêuticas das conexinas.

Palavras-chave: junções comunicantes, conexinas, sistema imunológico.

ABSTRACT

Gap junctions are intercellular channels that allow direct communication by passive and non-specific diffusion of molecules between cells and are formed by two hemichannels (connexons). Each connexon is made up of a complex of six integral membrane proteins, the connexins. The Immune System is a network of cells, specialized organs and soluble factors dedicated to identifying, isolating and eliminating microbiological, toxic and neoplastic threats. It is composed of two distinct categories: the innate and adaptive immunity. The coordination between these two processes and the communication between the agents that compose the Immune System are orchestrated by the gap junctions. Considering the continuous growth of the scientific literature, the current work consists of an Integrative Review that aims to explore how these two elements relate to each other and present the current state of scientific research about the topic. The following databases were consulted: PubMed®, Scientific Health Information from Latin America and the Caribbean Countries (LILACS) and Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE). After applying the procedures proposed by Toronto and Remington (2020), 63 studies were selected to compose the current Integrative Review. The main findings of the studies were presented and discussed in the current work from the perspective of basic and translational research, in which the role of connexin proteins is associated to pathological processes. Gap junctions are involved in various cellular and pathogenic processes, such as carcinogenesis and inflammation, highlighting their importance for maintaining a healthy organism. It was determined that there is a low number of publications and applied studies exploring the therapeutic possibilities of connexins.

Keywords: gap junctions, connexins, immune system.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema da organização dos canais juncionais na membrana plasmática.	17
Figura 2. Micrografias eletrônicas das junções comunicantes.	19
Figura 3. Esquema representativo das junções comunicantes.	20
Figura 4. Topologia proteica das conexinas.	21
Figura 5. Possibilidades combinatórias de diferentes conexinas e conexons.	24
Figura 6. Permeabilidade seletiva das junções comunicantes a mensageiros secundários.	27
Figura 7. Ciclo de vida das conexinas.	28
Figura 8. Vias de oligomerização das conexinas.	29
Figura 9. As três funções das conexinas no câncer.	32
Figura 10. Sinapse elétrica mediada por junções comunicantes.	33
Figura 11. Estrutura e função dos hemicanais formados por conexinas.	34
Figura 12. Imunidade inata e adaptativa.	37
Figura 13. Funções dos neutrófilos no combate de infecções.	39
Figura 14. Polarização dos macrófagos.	42
Figura 15. Localizações e ligantes dos receptores de reconhecimento de padrões do sistema imune inato.	43
Figura 16. Processamento e apresentação de antígeno exógeno via MHC-II.	46
Figura 17. Diferenciação e função dos linfócitos T CD4+.	48
Figura 18. Reconhecimento e morte mediada por linfócito T citotóxico.	49
Figura 19. Produção de anticorpos durante as respostas imune primária e secundária.	51
Figura 20. As cinco classes de anticorpos e sua estrutura.	52

Figura 21. As seis etapas do processo de revisão integrativa.	57
Figura 22. Distribuição dos resultados encontrados na busca ao longo dos anos. .	59
Figura 23. Fluxograma representativo do processo de seleção de trabalhos de acordo com os critérios previamente descritos.	60
Figura 24. Esquema da sinapse imunológica formada entre linfócito T citotóxico e célula derivada de melanoma.	73

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Nomenclatura das conexinas e seus respectivos genes em humanos e camundongos.23
- Tabela 2.** Resultado das buscas por artigos nas bases de dados consultadas.58

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Informações básicas dos artigos incluídos na Revisão.	61
---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ATP	Adenosina trifosfato
AC	Alça extracelular
AI	Alça intracelular
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
AP-1	Proteína adaptadora-1
APC	Célula apresentadora de antígeno
BCR	Receptor de célula B
BIREME	Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde
Ca²⁺	Íon de cálcio
CD	Grupamentos de diferenciação
cDNA	DNA complementar
CDS	receptores citosólicos de DNA
C-terminal	Carboxil-terminal
CTL	Célula T citotóxica
Cx	Conexina
DAMP	Padrões moleculares associados ao dano
ROS	Espécie reativa de oxigênio
Fab	Sítio de ligação ao antígeno
Fc	Fragmento cristalizável
GJ	<i>Gap Junction</i> (junção comunicante)
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
H₂S	Sulfeto de Hidrogênio
ICAM 1	Molécula de adesão intercelular 1
IEC	Célula epitelial intestinal
IFNγ	Interferon- γ
IL	Interleucina
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
IP₃	Inositol trifosfato
IRF3	Fator regulador do interferon 3
IRF7	Fator regulador do interferon 7
K⁺	Íon de potássio
kDa	Quilodalton

LFA-1	Antígeno 1 associado à função de leucócito
LILACS	Informação Científica e Técnica em Saúde da América Latina e Caribe
LPS	Lipopolissacarídeo
MAP-quinase	Proteína quinase ativada por mitógenos
MCSF	Fator estimulante de colônia de macrófago
ME	Microscopia eletrônica
MEDLINE	<i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
MHC-II	Complexo de histocompatibilidade II
Na	Sódio
NAD	Dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
NETs (NETosis)	Armadilhas extracelulares dos neutrófilos
NF-κB	Fator nuclear κB
NK	Natural killer
NLR	Receptor do tipo NOD
nm	Nanômetro
N-terminal	Amino-terminal
ox-LDL	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
PAMP	Padrões moleculares associados à patógenos
pH	Potencial hidrogênico
PKA	Proteína quinase A
PKC	Proteína quinase C
PKG	Proteína quinase G
PRR	Receptores de reconhecimento de padrões
RI	Revisão integrativa
RLR	Receptores do tipo RIG
SI	Sistema imune
siRNA	Pequeno RNA de interferência
SN	Sistema nervoso
TCR	Receptor de célula T
TFGβ	Fator de transformação do crescimento-β
TLR	Receptores do tipo Toll
TMx	Domínios transmembranares da conexina
TNFα	Fator de necrose tumoral-α

UDP

Difosfato de uridina

ZO1

Proteína de zona ocluyente 1

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	JUNÇÕES COMUNICANTES	16
2.1.1	ESTRUTURA E ORGANIZAÇÃO DAS JUNÇÕES COMUNICANTES	19
2.1.2	PROPRIEDADES DAS JUNÇÕES COMUNICANTES	25
2.1.3	FORMAÇÃO DAS JUNÇÕES COMUNICANTES.....	27
2.1.4	FUNÇÕES DAS JUNÇÕES COMUNICANTES	30
2.2	SISTEMA IMUNOLÓGICO.....	35
2.2.1	RESPOSTA INATA E SEUS COMPONENTES.....	37
2.2.2	RESPOSTA ADAPTATIVA E SEUS COMPONENTES	47
3	JUSTIFICATIVA	53
4	OBJETIVO	54
4.1	Objetivo Geral	54
4.2	Objetivos Específicos	54
5	MATERIAL E MÉTODOS	55
5.1	Descrição das etapas do processo de Revisão Integrativa, de acordo com TORONTO e REMINGTON (2020).....	55
5.1.1	Formulação de objetivo e/ou das perguntas da Revisão.....	55
5.1.3	Avaliação da qualidade dos trabalhos selecionados	56
5.1.4	Análise e Síntese.....	56
5.1.5	Discussão e Conclusão	57
5.1.6	Divulgação dos resultados.....	57
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
6.1	OCORRÊNCIA E FUNCIONAMENTO DAS JUNÇÕES COMUNICANTES E HEMICANAIS DE CONEXINA NAS CÉLULAS DO SISTEMA IMUNOLÓGICO ...	67
6.2	JUNÇÕES COMUNICANTES E HEMICANAIS DE CONEXINA NOS PROCESSOS PATOLÓGICOS: PARTICIPAÇÃO E IMPORTÂNCIA.....	71
7	CONCLUSÃO	76
	REFERÊNCIAS	78

1 INTRODUÇÃO

A atuação sinérgica de um tecido requer eficiente comunicação entre as células que o compõem. Essas interações são mediadas pelas junções celulares, entre elas: junções ocludentes, aderentes e comunicantes, que atuam diretamente sob os processos de morfogênese, crescimento, proliferação e diferenciação celular (Liu, *et al.*, 2020).

As junções comunicantes são aglomerados de poros seletivos concentrados em regiões de contato entre duas membranas plasmáticas de células adjacentes. Dois conexons – conjunto hexamérico de seis proteínas pertencentes à família das conexinas, panexinas e inexas – formam o poro juncional, que permite a passagem bidirecional de pequenas (de até 1.4nm) moléculas sinalizadoras, como íons cálcio, pequenos peptídeos, adenosina trifosfato (ATP), adenosina monofosfato cíclico (AMPc), pka (IP₃) e moléculas de microRNA (Tittarelli *et al.*, 2020).

As junções comunicantes também medeiam a passagem do potencial de ação ao acoplar eletricamente células adjacentes, compondo as sinapses elétricas (Pereda, 2014). Vale ressaltar também a importância dos hemicanais de conexina, formados por apenas um conexon desacoplado, que permite trocas entre o meio intercelular e o ambiente extracelular (Peng *et al.*, 2022).

O Sistema Imune humano é uma complexa rede de células, moléculas e processos que atuam em conjunto para proteger o organismo de potenciais ameaças. O funcionamento desse intrincado sistema depende da atuação altamente coordenada entre os seus agentes por meio de citocinas, receptores específicos e junções comunicantes (SILVERTHORN *et al.*, 2017). Esses canais juncionais participam de uma série de processos imunológicos, como produção de anticorpos, transferência e apresentação de antígenos, ativação de células imune, entre outros (Meng *et al.*, 2022; Neijssen *et al.*, 2007).

O crescente volume de trabalhos que demonstram alterações nos perfis de expressão, formação, degradação e funcionamento das junções comunicantes em condições patológicas de origem infecciosa, inflamatória e neoplásica (Dong, *et al.*, 2020; Vega *et al.*, 2013; Wong *et al.*, 2017) evidenciam a necessidade de trabalhos integradores que explorem a participação dessa estrutura celular no funcionamento do sistema imunológico.

Portanto, o presente trabalho consiste em uma Revisão Integrativa que visa preencher essa lacuna da literatura por evidenciar a participação da comunicação intercelular via junções comunicantes nas diferentes células e tecidos do sistema imunológico, com o objetivo de aproximar os achados experimentais da implementação terapêutica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 JUNÇÕES COMUNICANTES

O processo de comunicação celular é essencial para o desenvolvimento, proliferação, diferenciação, homeostase, regeneração e reparo dos tecidos. Esta comunicação é a base da multicelularidade, mas também está presente em seres unicelulares que precisam receber e enviar informações para o ambiente que se encontram. Dentre os vários sistemas de comunicação é possível destacar o formado pelas junções comunicantes, ou *gap junctions* (*gap* do inglês: vão, lacuna, abertura), que podem ser encontradas na maioria dos tecidos sólidos e também em células móveis do sistema imunológico (Landschaft, 2020; Valdebenito; Barreto; Eugenin, 2018).

As junções comunicantes são formadas por proteínas integrais de membrana que permitem comunicação direta entre células adjacentes, promovendo a passagem bidirecional de íons, metabólitos, mensageiros secundários, água e impulsos elétricos. Essa transferência de moléculas medeia diversos processos essenciais da fisiologia dos organismos, como a sinalização celular e a propagação de sinais elétricos entre as células de um tecido (Beyer; Berthoud, 2018; Nielsen *et al.*, 2012).

Nos vertebrados, estes canais intercelulares são formados pela justaposição de dois conexons, que são conjuntos hexaméricos de conexinas, proteínas integrais de membrana (figura 1). Já nos invertebrados, as inexas são as proteínas formadoras deste hexâmetro juncional, como pode observado nas espécies *Drosophila melanogaster* (mosca de fruta), *Caenorhabditis elegans* (nematódeo) e *Hirudo verbana* (sanguessuga), modelos de estudo frequentemente usados em trabalhos desta área (Beyer; Berthoud, 2018). Nos invertebrados, as inexas exercem papel importante no sistema reprodutor, nervoso, muscular, digestório, renal e imune (Güiza *et al.*, 2018).

Figura 1 – Esquema da organização dos canais juncionais na membrana plasmática

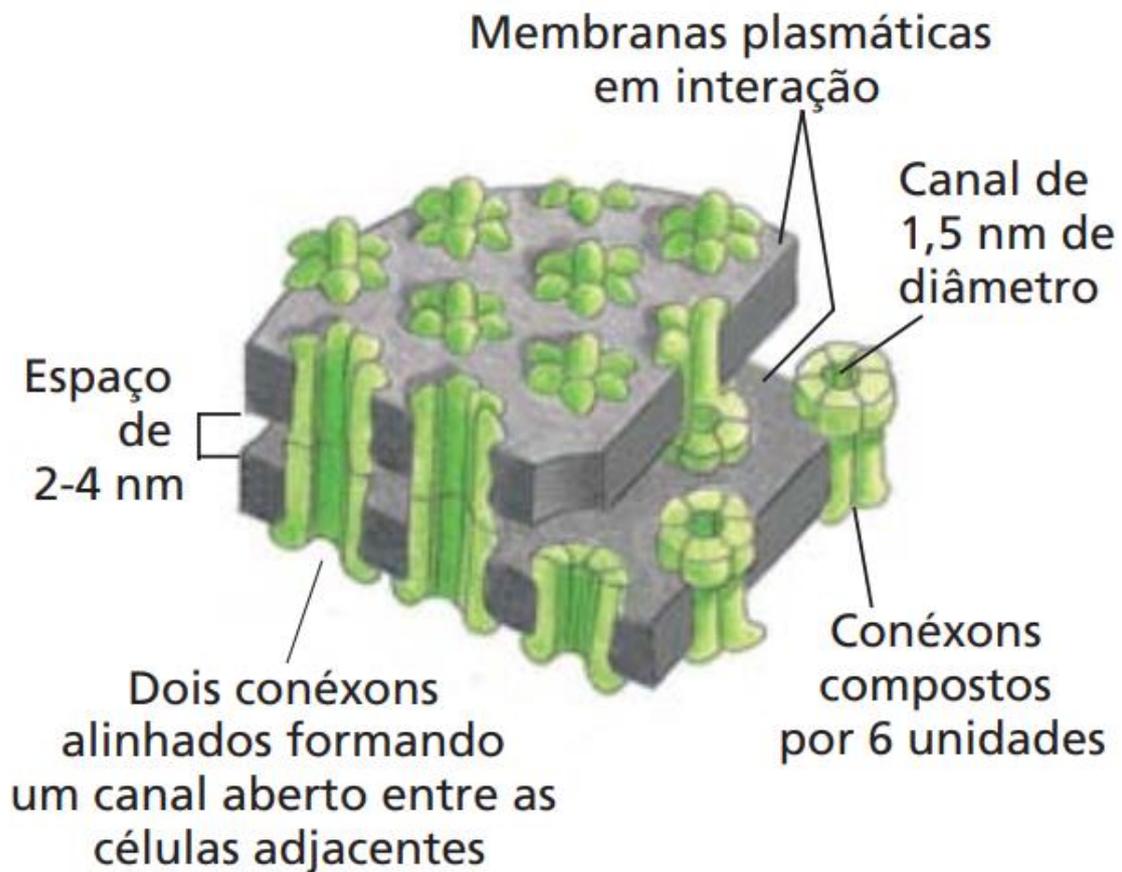


Ilustração representativa das junções comunicantes entre duas membranas celulares adjacentes (cinza). O complexo de 6 conexinas forma um conexon (verde) e dois conexons de células adjacentes justapostos formam um canal hidrofílico com aproximadamente 1,5nm de diâmetro para passagem de moléculas de até 1 kDa. Adaptado de alberts *et al.* (2017).

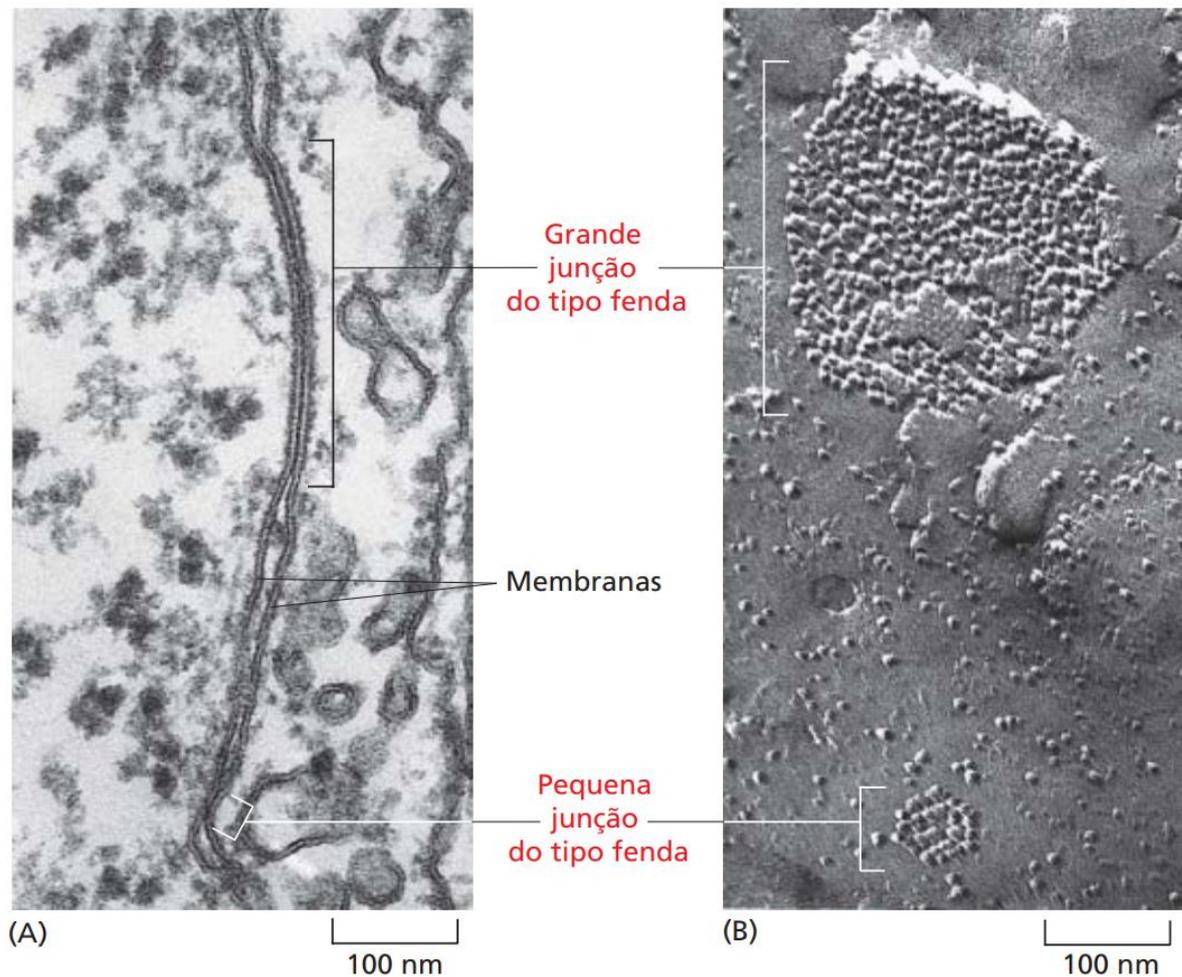
Há um terceiro grupo de proteínas formadoras de junções comunicantes, que são as panexinas: proteínas homólogas às inexinas, porém, presentes em animais vertebrados. Acredita-se que as panexinas são capazes de formar conectores intercelulares diferentes das junções comunicantes, pois estas proteínas tendem a sofrerem intensa glicosilação, que impede a ancoragem necessária. (Taylor *et al*, 2021)

A estrutura das junções comunicantes começou a ser caracterizada antes mesmo das suas unidades proteicas serem conhecidas. A técnica de Microscopia Eletrônica (ME) contribuiu muito para o estudo da biologia celular, incluindo a observação das junções presentes nas células. Em 1958, Sjostrand e colaboradores

demonstraram através de micrografias de ME a presença de estruturas laminares localizadas em regiões onde as membranas plasmáticas de cardiomiócitos murinos se aproximavam umas das outras. Estudos posteriores que utilizaram a mesma microscopia descreveram estruturas similares em músculo estriado, músculo liso e neurônios (Bennett *et al.*, 1963; Dewey; Barr, 1962; Karrer, 1960; Robertson, 1961; Robertson, 1963).

Naquele momento, ainda haviam incertezas sobre a classificação das junções por limitações técnicas, principalmente relacionadas à preparação da amostra para a microscopia eletrônica. Revel e Karnovsky (1967) compararam micrografias de junções contrastadas com nitrato de lantânio e acetato de uranila, análise que auxiliou significativamente a diferenciação das junções comunicantes das junções ocludentes. Na figura 2, a seguir, pode-se observar as junções comunicantes por duas modalidades microscópicas.

Figura 2 – Micrografias eletrônicas das junções comunicantes

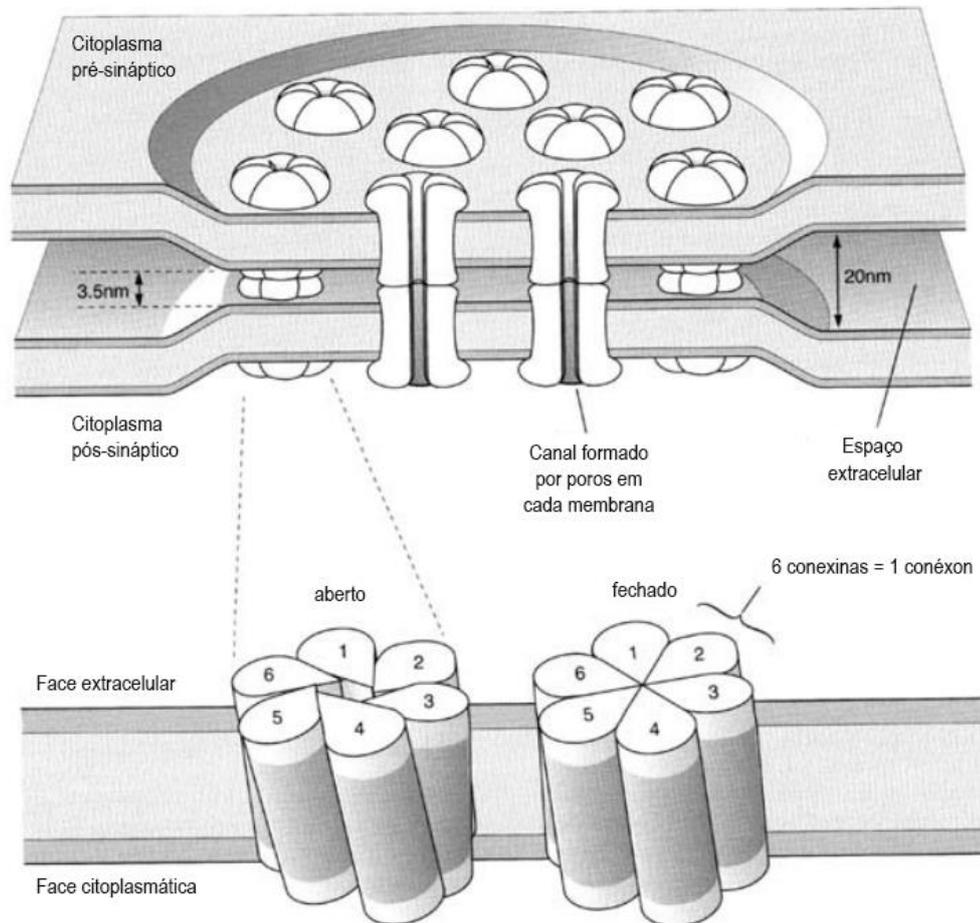


Ambas as figuras representam zonas de junção do tipo fenda (junção comunicante) de diferentes tamanhos. A imagem (A) é um corte fino observado por microscopia eletrônica de transmissão e a imagem (B) foi feita utilizando a técnica de criofatura, onde se pode observar os conexons individualmente. Fonte: alberts *et al.* (2017)

2.1.1 ESTRUTURA E ORGANIZAÇÃO DAS JUNÇÕES COMUNICANTES

A estrutura hexamérica (conexon) formada pelas conexinas de uma célula se liga ao conexon de outra célula adjacente com o auxílio de proteínas de adesão, deixando um espaço de aproximadamente 3,5nm entre as duas membranas (figura 3), sendo este o responsável pela denominação “*gap*” dessas junções (Rodjakovic; Salm; Beldi, 2021; Söhl; Willecke, 2004).

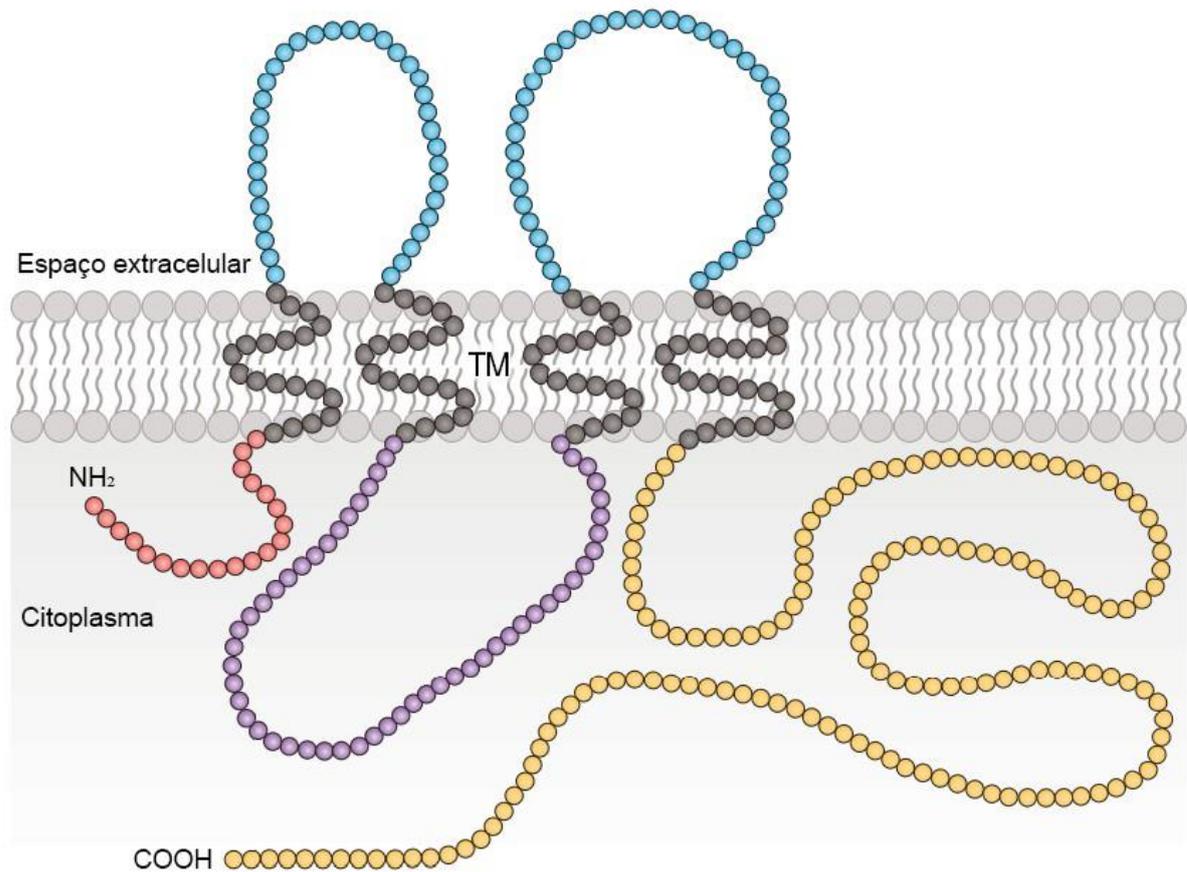
Figura 3 – Esquema representativo das junções comunicantes



Na parte superior da imagem podemos observar a formação do complexo juncional pela ligação de dois conexons de células adjacentes, o que forma um poro de 3,5nm entre elas. Na região inferior podemos observar com mais detalhes como a mudança de conformação dos conexons é capaz de abrir e fechar o poro. Traduzido de SÖHL & WILLECKE (2004).

As conexinas são proteínas com quatro domínios transmembranares, dois domínios intracelulares (amino-terminal e carboxil-terminal) e duas alças extracelulares (figura 4). Acredita-se que o domínio N-terminal seja responsável por regular o poro do canal juncional e as duas alças extracelulares auxiliam no posicionamento e ligação dos conexons das duas células adjacentes através de ligações não-covalentes (Dhein, 1998; Laird; Lampe, 2018).

Figura 4 – Topologia proteica das conexinas



Na ilustração, é possível observar os quatro domínios transmembranares da conexina, TM1, TM2, TM3 e TM4 (cinza), as duas alças extracelulares AC (azul), o domínio N-terminal (vermelho), o C-terminal (amarelo) e a alça intracelular AI entre os domínios TM2 e TM3. Traduzido de Laird & Lampe (2018).

As alças extracelulares das conexinas são altamente conservadas entre diferentes espécies e isoformas, assim como os domínios transmembrana (TM1, TM2, TM3 e TM4), diferente do domínio C-terminal, que varia significativamente de tamanho nas diversas conexinas, sendo o responsável pela variação no seu peso molecular (Delmar *et al.*, 2018; Dhein, 1998). Pela análise das diversas isoformas de conexinas, conclui-se que o domínio TM3 tem caráter anfipático, fato que sugere que ele faça o revestimento interno do canal (Kumar e Gilula, 1996).

As conexinas podem ser classificadas em grupos, de acordo com o seu peso molecular: Grupo I é composto pelas isoformas com menos de 32 kDa e domínio N-terminal mais curto e o Grupo II compreende o resto das conexinas, que possuem peso molecular maior que 32 kDa (Dhein, 1998). Outro sistema de classificação

amplamente utilizado divide as conexinas nos grupos α , β , γ , δ , ou ϵ baseado no tamanho da sequência proteica da alça intracelular da molécula (Nielsen *et al.*, 2012).

Grande parte dos genes correspondentes às conexinas humanas são ortólogos aos genes das conexinas em camundongos, porém, há exceções, como a conexina mCx33, exclusiva aos camundongos, e os genes referentes às conexinas hCx25 e hCx59, exclusivos ao genoma humano (Mikalsen; Kongsstovu; Tausen, 2021; Willecke *et al.*, 2002).

A nomenclatura das conexinas se dá de acordo com o peso molecular, por exemplo: a Cx43 pesa 43 kDa (Abou-Mrad *et al.*, 2020). Atualmente, a família genômica das conexinas é composta por 21 genes em humanos e 20 em camundongos (Söhl; Willecke, 2004). A nomenclatura dos genes codificadores das conexinas é feita da seguinte maneira: GJ (proveniente do inglês *gap junction*) seguido pela letra correspondente ao seu subgrupo, mais um número, que representa a ordem de descobrimento das conexinas (Axelsen *et al.*, 2013; Nielsen *et al.*, 2012). A tabela 1 faz a relação entre os nomes dos genes e das proteínas seguindo as regras supracitadas.

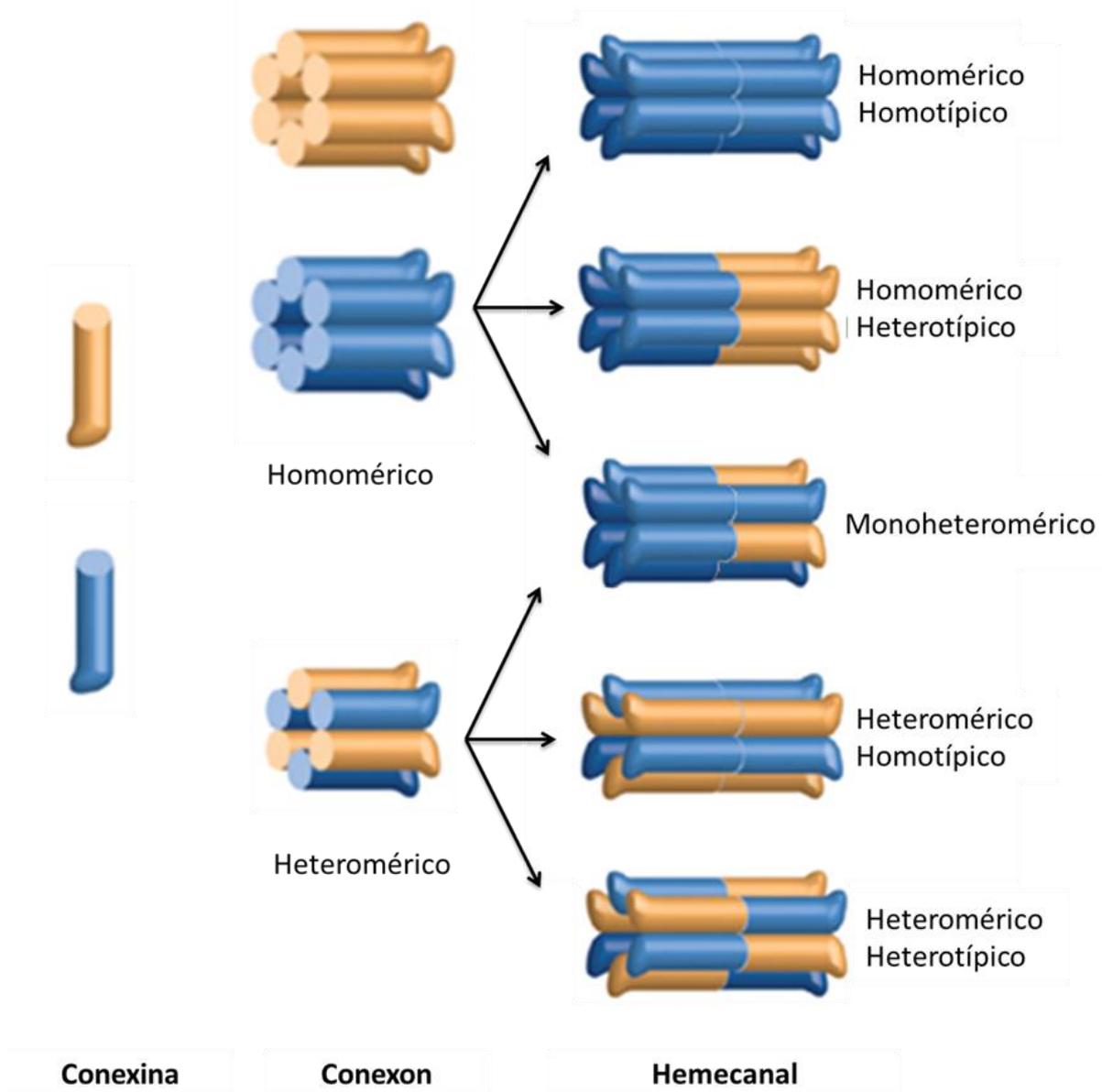
Tabela 1 – Nomenclatura das conexinas e seus respectivos genes em humanos e camundongos

Gene humano	Proteína humana	Gene camundongo	Proteína camundongo
GJE1	hCx23	Gje1	mCx23
GJB7	hCx25	-	-
BJB2	hCx26	Gjb2	mCx26
GJC3	hCx30.2	Gjc3	mCx29
GJB6	hCx30	Gjb6	mCx30
GJB4	hCx30.3	Gjb4	mCx30.3
GJB3	hCx31	Gjb3	mCx31
GJB5	hCx31.1	Gjb5	mCx31.1
GJD3	hCx31.9	Gjd3	mCx30.2
GJB1	hCx32	Gjb1	mCx32
-	-	Gja6	mCx33
GJD2	hCx36	Gjd2	mCx36
GJA4	hCx37	Gja4	mCx37
GJA5	hCx40	Gja5	mCx40
GJD4	hCx40.1	Gjd4	mCx39
GJA1	hCx43	Gja1	mCx43
GJC1	hCx45	Gjc1	mCx45
GJA3	hCx46	Gja3	mCx46
GJC2	hCx47	Gjc2	mCx47
GJA8	hCx50	Gja8	mCx50
GJA9	hCx59	-	-

Os traços (-) representam ausência de ortólogo correspondente na espécie. Traduzido de axelsen *et al.*, (2013).

Uma célula pode expressar múltiplas isoformas da conexina, dando assim origem à conexons homo ou heteroméricos e canais homo ou heterotípicos (Nielsen *et al.*, 2012). A figura 5 representa as possibilidades combinatórias das junções comunicantes acerca da homo ou heterogeneidade de suas conexinas e conexons.

Figura 5 – Possibilidades combinatórias de diferentes conexinas e conexons



As diferentes cores representam conexinas de diferentes isoformas. Canal juncional homomérico e homotípico, onde as conexinas e conexons são iguais; canal juncional homomérico e heterotípico, onde os conexons são formados pela mesma conexina, mas o canal é formado por conexons diferentes; canal monoheteromérico, onde um conexon é homomérico e o outro, heteromérico; canal juncional heteromérico e homotípico, ou seja, os conexons são formados por conexinas diferentes, mas o canal é formado por dois conexons iguais; canal juncional heteromérico e heterotípico, onde os conexons são formados por conexinas diferentes e o canal é formado por conexons também diferentes. Fonte: Acervo LTFCM; Adaptado de Meşe *et al* (2007) acrescido do esquema proposto por Peracchia & Wang, (1997).

Essa mistura de isoformas de conexinas na mesma junção confere maior diversidade a elas, o que afeta também sua funcionalidade e permeabilidade. Nem

todas as isoformas podem interagir entre si, por essa razão existe uma ampla quantidade de estudos que buscam compreender os motivos dessa incompatibilidade e as consequências dessas combinações para a fisiologia celular (Koval; Molina; Burt, 2014).

2.1.2 PROPRIEDADES DAS JUNÇÕES COMUNICANTES

A taxa de transporte de moléculas através das junções comunicantes pode ser modulada de forma rápida ou lenta. O controle da abertura e fechamento dos poros dos hemicanais corresponde ao controle rápido da comunicação intercelular. A rotação das conexinas no sentido horário fecha o poro juncional. O aumento ou diminuição na quantidade de canais na membrana plasmática depende da síntese das subunidades proteicas das junções, modificações pós-traducionais, montagem do hemicanal ou degradação dos canais existentes, mudanças que requerem mais tempo para acontecerem por dependerem de diversos mecanismos celulares (Goodenough; Paul, 2009; Söhl; Willecke, 2004).

Assim como nos canais iônicos, o funcionamento das junções comunicantes é voltagem-dependente (Bukauskas; Verselis, 2004), e a resistência elétrica da junção vai depender da conexina que a compõe. A Cx45 é a mais sensível a modificações de voltagem, seguida pelas Cx37, Cx40, enquanto a Cx43 é essencialmente resistente a alterações de voltagem transjuncional (Dhein, 1998). Os conéxons respondem a alterações na voltagem transjuncional e não a mudanças no potencial de membrana absoluto. Vale destacar que a voltagem transjuncional é o gradiente elétrico formado ao longo do poro da junção, sendo determinado pela diferença relativa de voltagem entre as células acopladas (Bargiello *et al.*, 2018).

Além dos fatores biofísicos que regulam a atividade das junções comunicantes, também existem fatores bioquímicos que modulam a abertura e fechamento destes canais, como a fosforilação mediada pela proteína quinase A (PKA), proteína quinase C (PKC), proteína quinase G (PKG), tirosina-quinases e proteína quinase ativada por mitógenos (MAP-quinase) (Dhein, 1998).

A Cx43 possui em sua porção C-terminal 23 sítios de fosforilação, sendo facilmente modulada por uma vasta quantidade de proteínas quinases e fosfatases (Evans, 2015). A fosforilação mediada pela PKA causa aumento na síntese desta

conexina, acelera a montagem dos conexons e o seu transporte à membrana, assim como diminui a degradação desta proteína em cardiomiócitos (Imanaga *et al.*, 2004).

Lampe e colaboradores (2000) demonstraram que a ativação da proteína quinase C por ésteres de forbol aumenta a fosforilação e consequente ativação da Cx43, entretendo, observou-se uma diminuição na comunicação celular através das junções comunicantes. Isso se dá devido ao forte efeito inibitório que estes compostos possuem sobre a montagem dos canais juncionais, assim como alterações nos estados de condução e probabilidade de abertura do canal (Lampe, 1994; Lampe *et al.*, 2000).

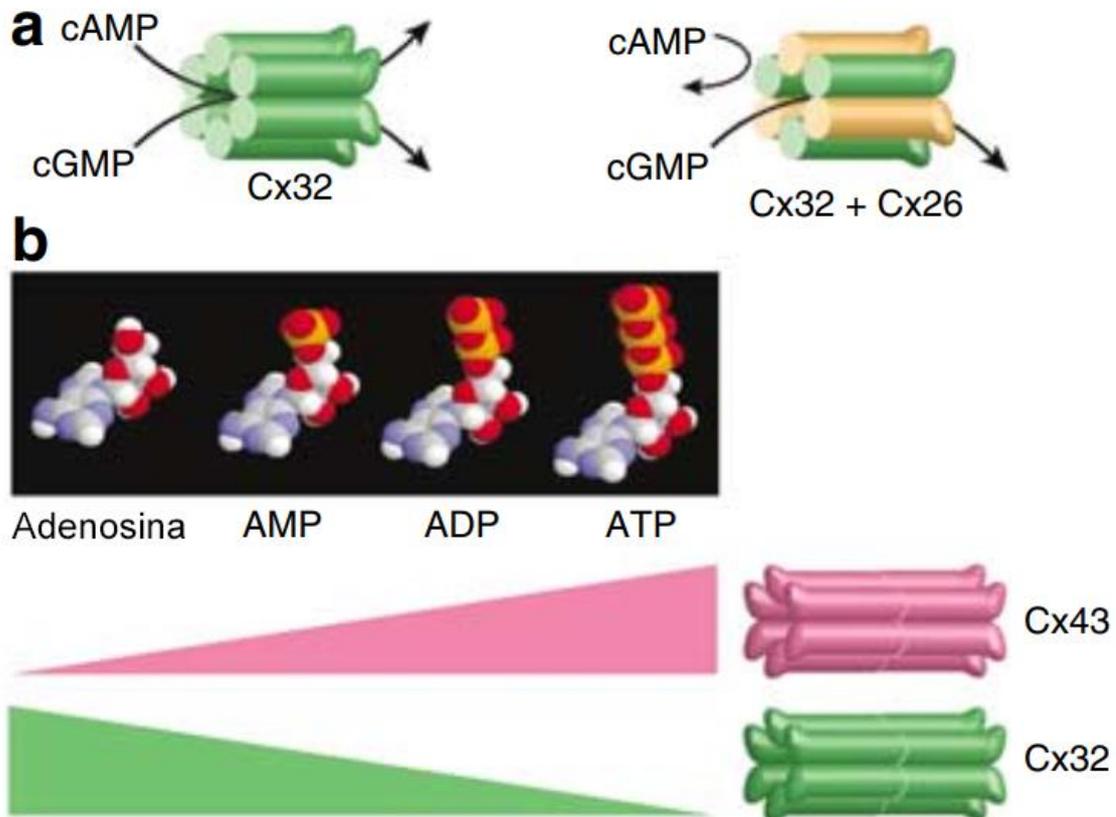
A liberação de grandes quantidades de íons Ca^{2+} no ambiente intracelular é um indicativo e regulador de morte celular extensamente estudado e estabelecido na literatura (Orrenius; Zhivotovsky; Nicotera, 2003). Em processo de morte por apoptose, células organizadas em tecidos tendem a se tornarem independentes como mecanismo de defesa, para evitar danos às suas vizinhas (IMANAGA *Et al.*, 2004; NIELSEN *et al.*, 2012). O desacoplamento juncional após adição de Ca^{2+} foi observado em cardiomiócitos, células embrionárias de anfíbios, células lacrimais de ratos, astrócitos, células acinares e β -pancreáticas, osteoblastos, linhagens neoplásicas, entre outras, confirmando o envolvimento das junções comunicantes no processo (Peracchia; Wang, 1997).

A diminuição do pH também é outro fator capaz de diminuir reversivelmente o acoplamento celular através das junções comunicantes, como demonstrado em embriões do gênero *Xenopus*, em glândulas de insetos, células pancreáticas, células cardíacas e outros tipos celulares (Imanaga *et al.*, 2004). Este fenômeno foi observado nas conexinas 26, 32, 38, 43, 46, 50 e 60. O nível de acidificação intracelular suficiente para causar o desacoplamento varia de acordo com a conexina que a compõe (Nielsen *et al.*, 2012).

Alguns trabalhos demonstraram que as junções comunicantes não são um simples poro de passagem livre baseada apenas em tamanho molecular (Goldberg; Valiunas; Brink, 2004). Acerca da passagem de íons através desses canais, as diferentes conexinas não apresentam diferenças muito significativas de seletividade, entretanto, a passagem de metabólitos e mensageiros secundários de maior tamanho

é um processo mais refinado (Meşe; Richard; White, 2007). A figura 6 ilustra algumas características de permeabilidade das conexinas a mensageiros secundários.

Figura 6 – Permeabilidade seletiva das junções comunicantes a mensageiros secundários



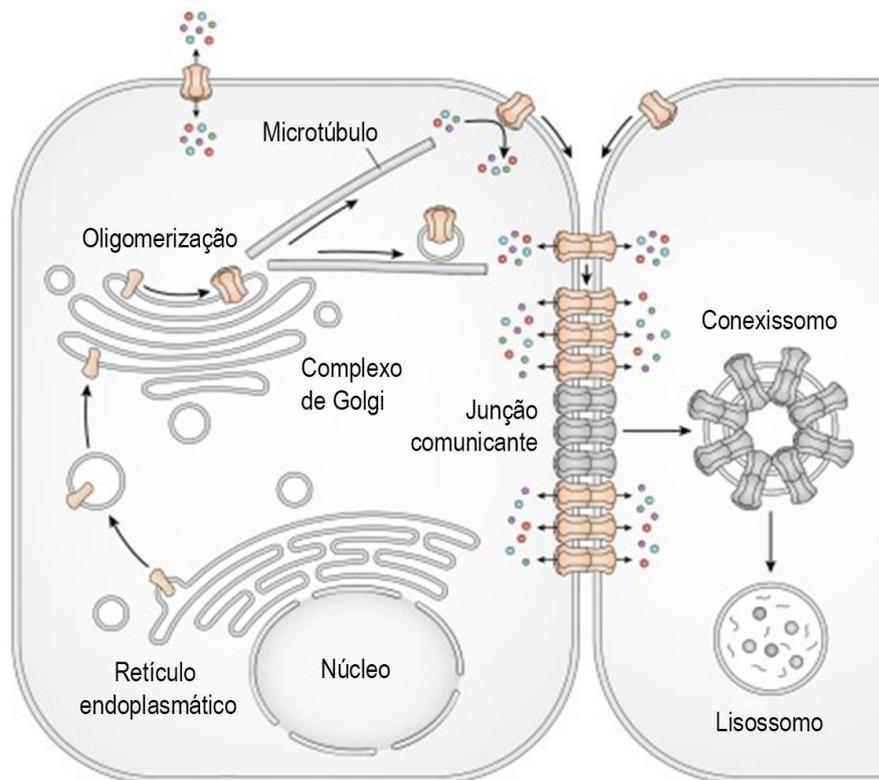
(A) Comparação de permeabilidade à adenosina monofosfato cíclico (AMPc) e guanosina monofosfato cíclico (GMPc) de hemicanais homoméricos e heteroméricos formados pelas Cx32 e Cx26. O hemicanal homomérico apresentou alta permeabilidade para ambos metabólitos, enquanto a presença de Cx26 no conexon heteromérico causou redução significativa na passagem de AMPc. (B) Análise da permeabilidade de moléculas com diferentes quantidades de grupos fosfato em dois tipos de junções. Pode-se observar comportamentos opostos nas junções homoméricas e homotípicas compostas pela Cx43 e Cx32 referente à taxa de passagem e quantidade de grupos fosfato nas moléculas. Traduzido de meşe; Richard; White (2007).

2.1.3 FORMAÇÃO DAS JUNÇÕES COMUNICANTES

Assim como a grande maioria das proteínas de membrana, as conexinas são sintetizadas pelos ribossomos do retículo endoplasmático e co-traducionalmente integradas à membrana da organela, de onde partem vesículas em direção à membrana plasmática depois de passar pelas cisternas do Complexo de Golgi (Yeager; Unger; Falk, 1998).

Com os conexons na membrana plasmática, os mesmos podem permanecer independentes, formando hemicanais, ou podem se unir a outro conexon de uma célula adjacente para formar uma junção comunicante (Laird; Lampe, 2018). A figura 7 ilustra o processo de síntese das conexinas, dos conexons e a formação das junções comunicantes.

Figura 7 – Ciclo de vida das conexinas.

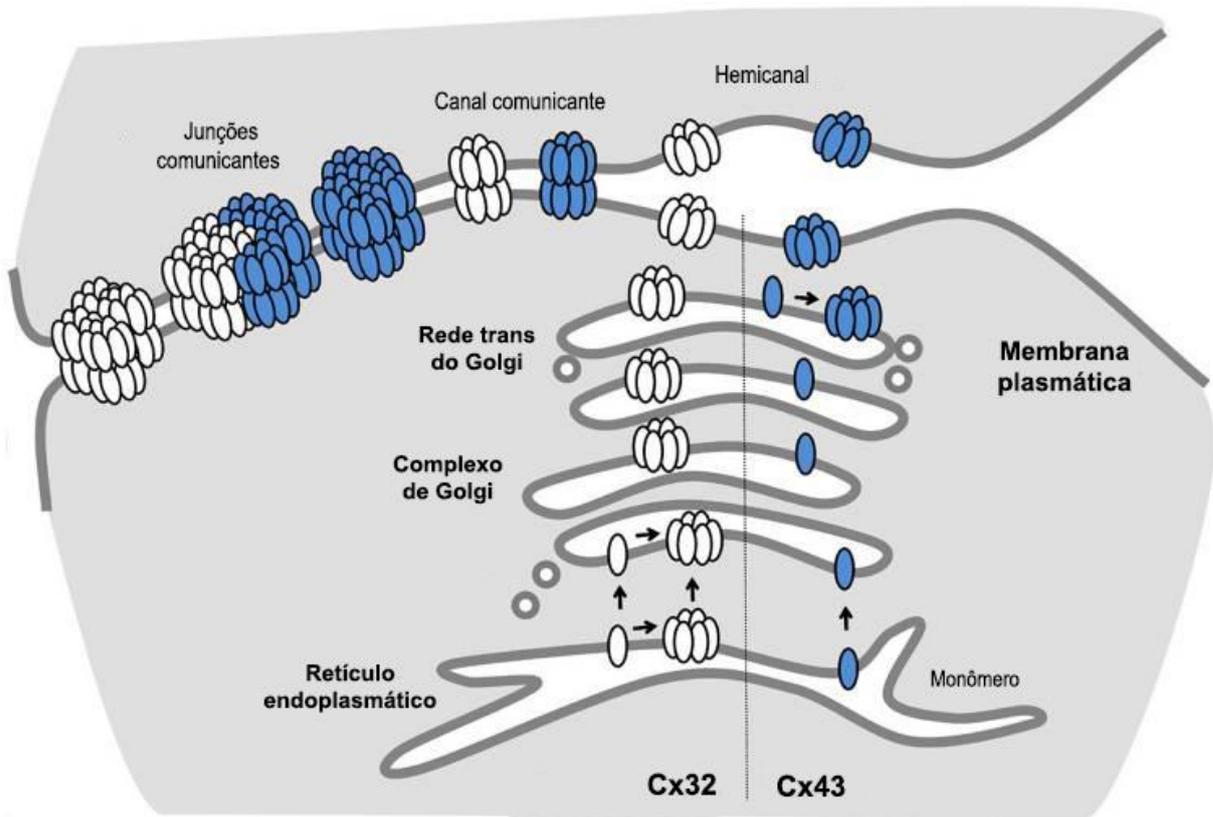


A proteína é sintetizada no retículo endoplasmático e se insere na sua membrana. No complexo de Golgi, ela sofre a oligomerização, formando um conexon que é em seguida inserido na membrana plasmática. A união de dois conexons de células adjacentes forma um canal juncional completo, estrutura que tende a se aglomerar, formando placas juncionais. Junções comunicantes e seus fragmentos podem ser internalizadas em vesículas de dupla membrana chamadas conexissomos, que prosseguirão para os lisossomos para degradação. Traduzido e adaptado de Lucaciu *et al.*, (2023).

O processo descrito acima demonstra as etapas de síntese e degradação da maioria das conexinas, porém, existem algumas exceções. A Cx26 e possivelmente outras isoformas podem ser inseridas diretamente na membrana do retículo endoplasmático pós-traducionalmente, diferente das outras Cxs onde a inserção é feita co-traducionalmente (Martin; Evans, 2004).

O oligomerização da Cx43 também se difere das outras proteínas, como é ilustrado na figura 8. Nela, podemos observar que a junção dos monômeros da maioria das Cxs ocorre no retículo endoplasmático, enquanto com a Cx43 o processo ocorre na rede trans do Complexo de Golgi (Koval; Molina; Burt, 2014).

Figura 8 – Vias de oligomerização das conexinas



Síntese de monômeros de Cx32 (branca) e Cx43 (azul) no retículo endoplasmático com consequente oligomerização da Cx32 na mesma organela. A oligomerização da Cx43 ocorre apenas na região trans da rede de Golgi. Posteriormente os processos são os mesmos: transporte dos conexons para a membrana e formação de canais, que por sua vez irão compor as placas juncionais. Traduzido e adaptado de Koval; Molina; Burt (2014).

As junções comunicantes se agregam em arranjos bidimensionais na membrana plasmática, formando placas juncionais que podem conter dezenas ou até milhares de poros comunicantes individuais. A rotatividade das conexinas na membrana é feita pela adição de novos conexons na periferia destas placas e difusão lateral dos conexons já existentes para acomodação (Goodenough; Paul, 2009; Segretain; Falk, 2004).

A adesão de conexons de células vizinhas é facilitada por moléculas de adesão dependentes de cálcio e pela interdigitação das alças E1 e E2 das conexinas, aumentando a superfície de contato e conseqüentemente as ligações químicas formadas entre elas (Segretain; Falk, 2004).

O *turnover* das junções se inicia com a internalização das placas juncionais integralmente em resposta a regulação negativa das conexinas, formando grandes vesículas (conexissomos) que se dirigem para vias de degradação celular, processo que pode durar algumas horas. Porém, a internalização e degradação também pode ocorrer continuamente de maneira mais rápida, com formação de vesículas menores que são capazes de se locomover mais rapidamente (Falk *et al.*, 2009). Estudos como os de Piehl e colaboradores (2007) sugerem que a internalização das junções comunicantes para degradação é um processo endocítico dependente de clatrina.

De uma maneira geral, o processo de rotatividade das conexinas é bem rápido em comparação à outras proteínas de membrana. Sob condições *in vivo*, a Cx32 de hepatócitos de camundongo apresenta uma meia-vida de aproximadamente 5 horas, podendo ser até mais curta em culturas *in vitro* (Goodenough; Paul, 2009).

2.1.4 FUNÇÕES DAS JUNÇÕES COMUNICANTES

As conexinas são expressas em todos os tecidos sólidos e em algumas células móveis, com exceção de células musculares esqueléticas diferenciadas e células livres como eritrócitos e espermatozoides (Fortes *et al.*, 2004; Söhl; Willecke, 2004). Suas funções permeiam basicamente todos os aspectos da vida celular, como crescimento, proliferação, diferenciação e morte celular, através da passagem direta de pequenas moléculas e íons entre células adjacentes sem difusão para o meio extracelular, o que promove respostas rápidas e coordenadas à estímulos internos e externos (Liu *et al.*, 2020; Sinyuk *et al.*, 2018).

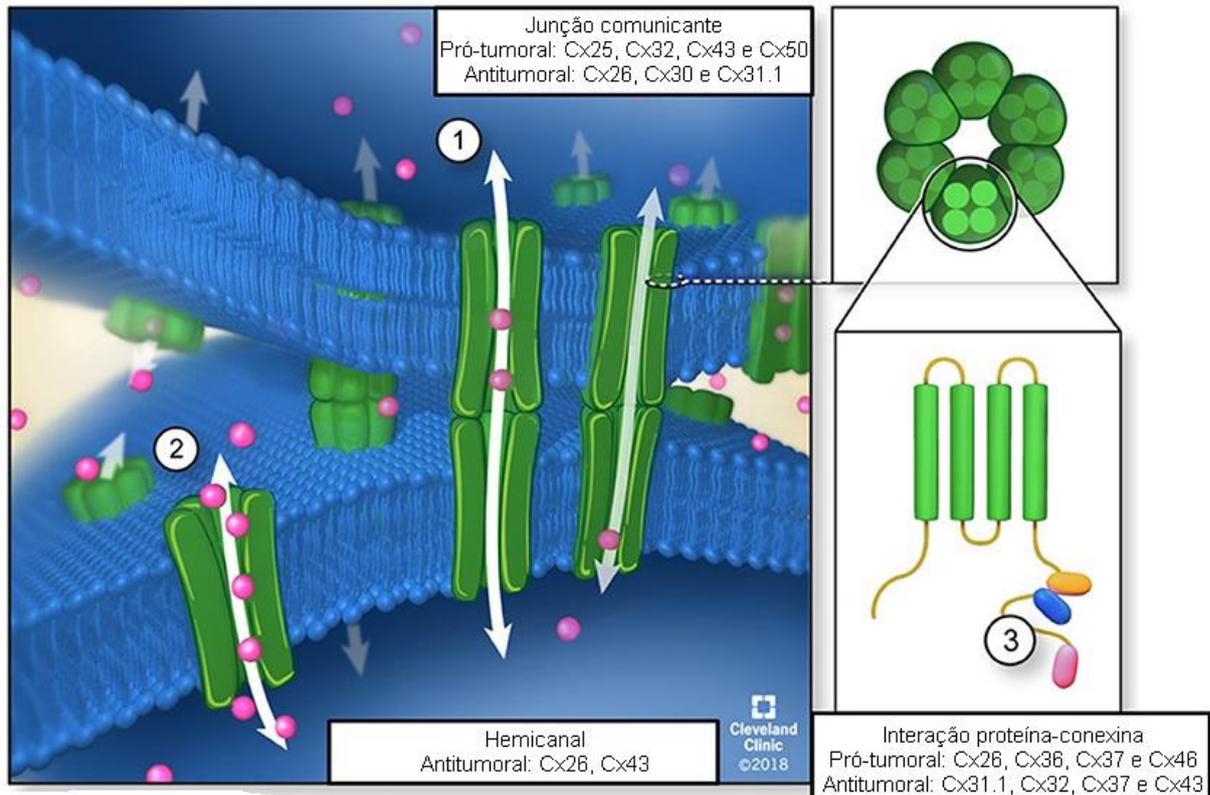
No tecido miocárdico, as conexinas mais expressas são Cx40, Cx43 e Cx45, distribuídas nas diferentes estruturas do coração de acordo com as diferentes necessidades de baixa ou alta condutância elétrica (Lo, 2000). As principais funções das junções comunicantes no órgão são: geração e manutenção do ritmo cardíaco e sincronização dos átrios e ventrículos. A ausência de certas conexinas em modelos animais demonstrou lentidão na condução elétrica ventricular e atrial e arritmias (Rozenal; Carvalho; Spray, 2000). A revisão de Martins-Marques e colaboradores

(2021) enfatiza a importância das junções do tipo *gap* no coração e sumariza os principais avanços terapêuticos para isquemia miocárdica pela modulação da atividade juncional.

A expressão das conexinas assim como a montagem das junções comunicantes podem se tornar alvo de microorganismos. A infecção *in vitro* por *Trypanosoma cruzi* leva ao desacoplamento de cardiomiócitos por diminuição na expressão de Cx43, sendo a maior presença de amastigotas intracelulares associadas à maior inibição da expressão desta conexina (Adesse *et al.*, 2011, 2008; Vega *et al.*, 2013). Estudos conduzidos em linhagens neuronais e macrofágicas demonstraram diminuição na presença da Cx43 nas membranas celulares e consequente diminuição na comunicação intercelular perante infecção por *Toxoplasma gondii* (Carvalho *et al.*, 1998; Carvalho *et al.*, 2021).

No câncer, doença caracterizada pela proliferação celular descontrolada, estudos baseados nas funções das conexinas e na formação de junções comunicantes ou de hemicanais encontraram resultados contrastantes. As diferentes isoformas de conexina se comportam ora como agentes antitumorais ora como agentes pró-tumorais, dependendo da sua posição e papel na célula (Sinyuk *et al.*, 2018). A figura a seguir relaciona as atividades pró e antitumorais das diferentes conexinas enquanto desempenham diferentes funções na célula, sendo a função “interação proteína-conexina” caracterizada pela capacidade da conexina participar de cascatas de sinalização celular por interação direta com proteínas pelo seu terminal carboxil intercelular.

Figura 9 – As três funções das conexinas no câncer



1. Transferência intercelular; 2. Transferência célula-espaco extracelular; 3. Interação proteína-conexina. Traduzido de SINYUK *et al.* (2018)

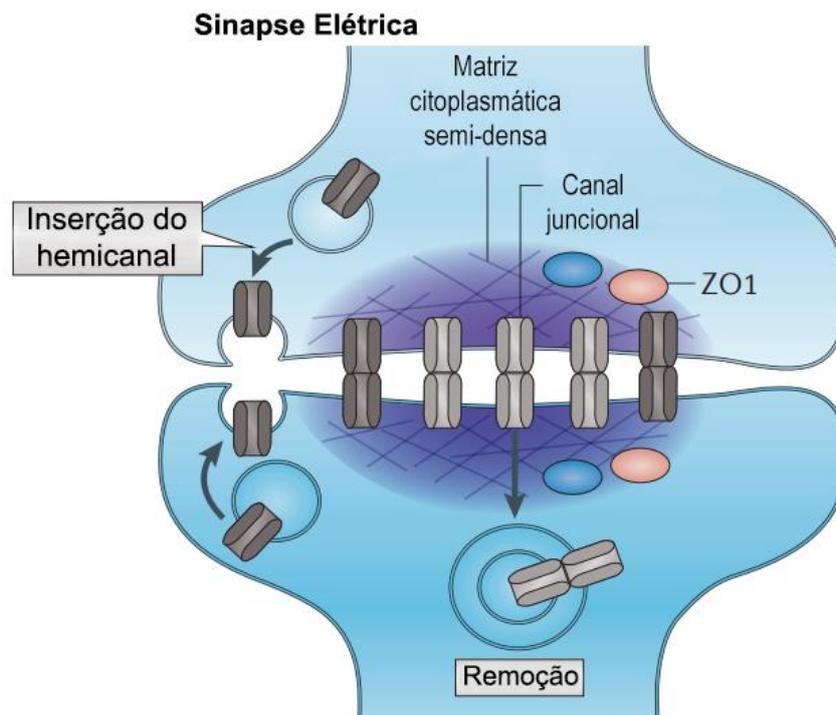
A comunicação intercelular via junções comunicantes também está envolvida na eficiência do “*bystander effect*” induzido por tratamento radio e quimioterápico no câncer. Nesse fenômeno, células não afetadas diretamente pelo agente terapêutico são induzidas a morte por células que foram alvos diretos através da transferência via junção comunicante de sinais de morte ainda pouco caracterizados (Arora *et al.*, 2018).

A comunicação entre células do sistema nervoso (SN) se dá através das sinapses, que podem ser de dois tipos: químicas ou elétricas, que apesar de distintas, são altamente dependentes uma da outra. A sinapse elétrica é mediada pelas junções comunicantes, sendo a Cx36 a principal responsável por essa transmissão no cérebro de mamíferos. No total foram relatados 11 tipos de conexinas no SN com destaque para a Cx43 que é necessária para a comunicação entre astrócitos e para a manutenção da barreira hematoencefálica (Dong; Liu; Li, 2018). Existem duas propriedades das junções do tipo *gap* que são as responsáveis pela sua grande

eficiência no processo sináptico: sua bidirecionalidade e independência do potencial de ação, diferente das sinapses químicas (Pereda, 2014).

A sinapse elétrica mediada por junções comunicantes apresenta atraso desprezível na transmissão de sinal, enquanto nas sinapses químicas observa-se atrasos na ordem dos milissegundos (Dong; Liu; Li, 2018). A figura 10 representa o processo de sinapse elétrica mediada pelas junções comunicantes.

Figura 10 – Sinapse elétrica mediada por junções comunicantes



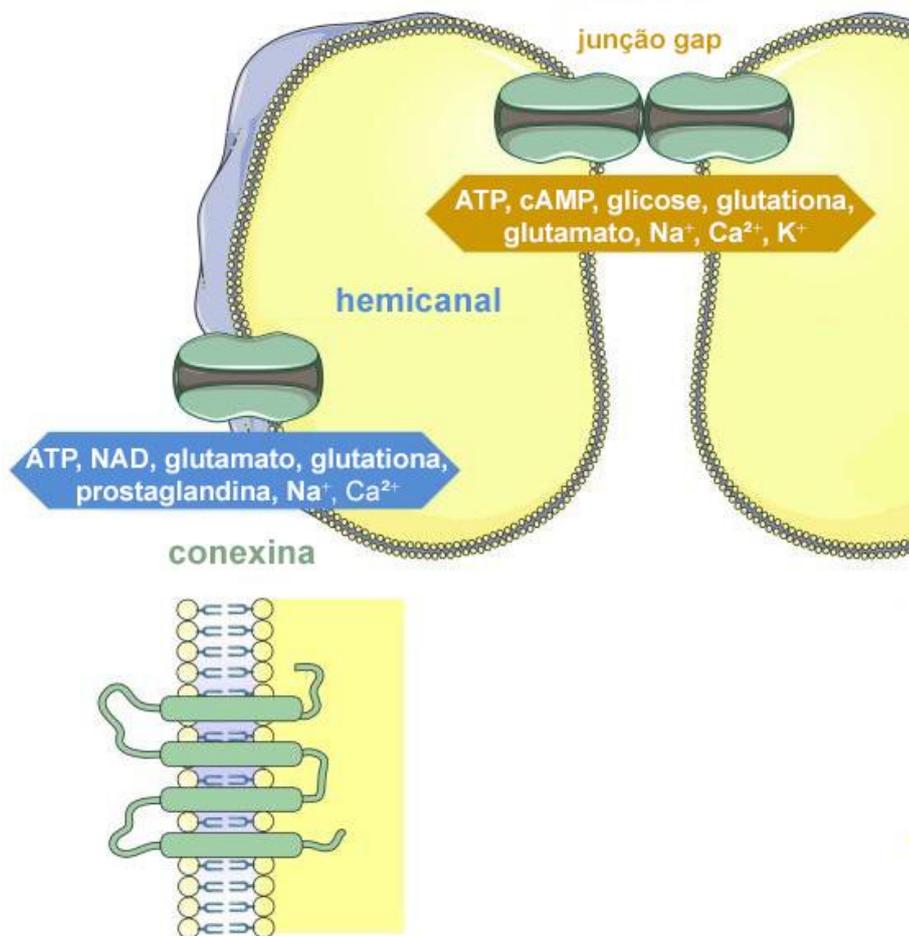
Em azul estão sendo representadas dois neurônios se comunicando através das junções *gap*. Na esquerda observa-se o processo de inserção dos hemicanais em forma de vesículas que se fundem com a membrana plasmática. A região em roxo representa uma matriz citoplasmática semi-densa, composta por diversas proteínas, entre elas, a proteína de zona ocludente 1 (ZO1), que oferece suporte para a placa juncional. A remoção das junções é feita pela internalização do complexo inteiro por uma das duas células acopladas. Traduzido e modificado de pereda (2014).

As sinapses elétricas também são extremamente importantes na retina, onde as junções foram extensamente estudadas. Neste tecido, as junções são reguladas pela iluminação do ambiente a partir de neuromoduladores sensíveis à luz, como o óxido nítrico e a dopamina, que respondem ao ciclo circadiano (Bloomfield; Völgyi, 2009). Neste tecido, as junções comunicantes não fazem a transmissão vertical dos sinais elétricos (fotorreceptores – células bipolares – células ganglionares) e sim

transmissão lateral entre células do mesmo tipo, formando uma extensa rede de comunicação neuronal (Cook; Becker, 1995).

Hemicanais independentes (não ancorados à outra célula), também exercem importante papel no funcionamento celular, apesar de terem baixa probabilidade de abertura, diferentemente das junções (Bargiello *et al.*, 2018). Outra particularidade é que os hemicanais tendem a ser ativados mais frequentemente por estímulos nocivos, como isquemia e estresse oxidativo, participando ativamente de processos como morte celular e inflamação. Todavia, eles também podem exercer papéis fisiológicos como progressão do ciclo celular, homeostase coclear, remodelação óssea e sensibilidade à mudanças de dióxido de carbono, como revisto por Vinken (2015). A figura a seguir ilustra a estrutura desses hemicanais e a sua permeabilidade.

Figura 11 – Estrutura e função dos hemicanais formados por conexinas



Hemicanais formados por proteínas conexinas permitem a passagem de trifosfato de adenosina (ATP), dinucleotídeo de nicotinamida (NAD), glutamato, glutatona, prostaglandina, Na^+ e Ca^{2+} entre os meios intra e extracelular. Os canais juncionais completos formados por conexinas permitem a passagem de

ATP, monofosfato cíclico de adenosina (AMPc), inositol trifosfato (IP₃), glicose, glutationa, glutamato, Na⁺ e Ca²⁺ e K⁺. Adaptado e traduzido de vinken (2015).

2.2 SISTEMA IMUNOLÓGICO

Imunidade é a capacidade de um organismo utilizar suas defesas corporais para evitar danos e doenças. O sistema imunológico (SI) tem como principal função diferenciar o “próprio” do “não-próprio”, evitando assim a colonização do organismo por invasores como bactérias, vírus, fungos, parasitas e vermes enquanto mantém a autotolerância (Tortora & Derrickson, 2012; Silverthorn *et al.*, 2017).

O SI humano é composto pelos órgãos e tecidos linfáticos, por células especializadas e pelas moléculas secretadas por estas, que atuam intra e extracelularmente orquestrando o processo de resposta imunológica. Grande parte das funções exercidas pelos componentes celulares desse sistema depende da comunicação intercelular, seja através das junções comunicantes ou sinalização mediada por moléculas que atuam localmente ou sistemicamente (Marshall *et al.*, 2018; Silverthorn *et al.*, 2017).

Os órgãos e tecidos linfáticos podem ser divididos em dois grupos de acordo com a sua função. As estruturas linfáticas primárias do organismo humano são a medula óssea vermelha e o timo, locais onde ocorre a produção e maturação de células imune. O baço é considerado um órgão linfoide secundário, encarregado de realizar a hemocaterese e iniciar respostas imunológicas contra antígenos encontrados no sangue. Os linfonodos e os nódulos linfáticos também são estruturas linfoides secundárias e possuem funções muito similares. Eles estão distribuídos pelo sistema linfático e acomodam diversas células imune como linfócitos, plasmócitos, macrófagos e células dendríticas, disponíveis para combater infecções que possam se apresentar (Marshall *et al.*, 2018; Silverthorn *et al.*, 2017).

Apesar do combate de microrganismos invasores nocivos ser a função mais notória do SI, ela não é a única. As células fagocíticas são capazes de remover células antigas e danificadas dos tecidos saudáveis, assim como destruir células que apresentam mutações malignas que podem dar origem ao câncer (Kale *et al.*, 2020; Silverthorn *et al.*, 2017).

Os principais componentes celulares do SI são os fagócitos (macrófagos e neutrófilos), células dendríticas, linfócitos T e suas subpopulações, linfócitos B, plasmócitos e linfócitos natural killer (NK). As imunoglobulinas (anticorpos) e as proteínas do sistema complemento são os componentes proteicos deste sistema, que assim como as células, vão atuar orquestrando a resposta imune inata e a sua transição para a resposta adaptativa (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015).

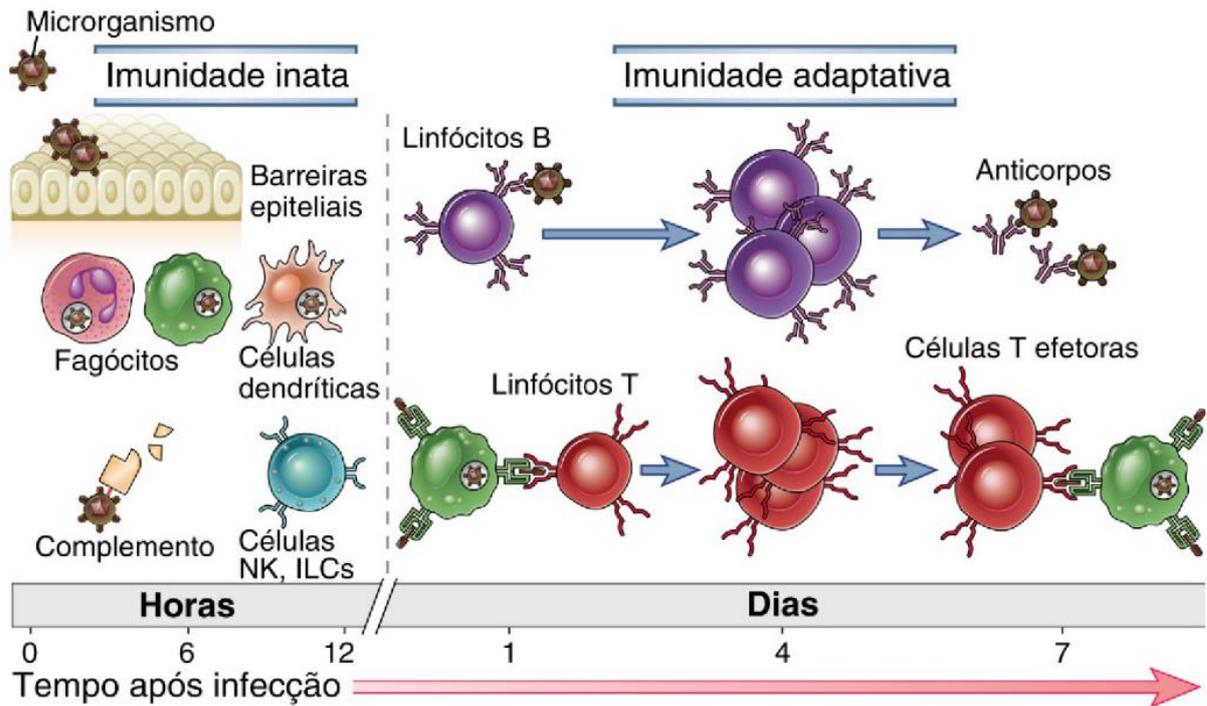
A resposta imune tem como objetivo primeiramente detectar e identificar a invasão, emitir sinais visando recrutamento de outras células do sistema e orquestrar de maneira organizada o processo de resposta para destruir ou suprimir o agente invasor (Silverthorn *et al.*, 2017).

A Imunidade Inata, Natural, Nativa ou Inespecífica, como o nome sugere, está presente no organismo desde o nascimento. Todos os seus componentes são produzidos antes de qualquer processo infeccioso se iniciar, por estarem codificados no genoma do hospedeiro (Marshall *et al.*, 2018). A resposta imune inata carece de especificidade, pois os mecanismos de detecção inatos reconhecem padrões comuns encontrados em diversos organismos, além de não ser capaz de apresentar memória imunológica, sendo pouco adaptável ao longo da vida (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015; Silverthorn *et al.*, 2017).

Em contraste, a Imunidade Adaptativa, Adquirida ou Específica é capaz de se adaptar às exposições que ocorrem ao longo da existência do ser. As células que conduzem essa resposta possuem receptores específicos, podendo responder particularmente aos mais diferentes patógenos (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015). A resposta adaptativa pode ser dividida em imunidade humoral, caracterizada pela atuação dos anticorpos, e imunidade celular, tipo de proteção dependente de contato célula-célula, que é mediada pelos receptores específicos dos linfócitos (Silverthorn *et al.*, 2017).

Apesar da separação didática, as imunidades inata e adaptativa trabalham cooperativamente no organismo, sendo a resposta nativa uma contenção primária da infecção enquanto a imunidade adquirida é ativada e as defesas específicas são construídas. A figura 12 a seguir apresenta os principais componentes das imunidades inata e adaptativa.

Figura 12 – Imunidade inata e adaptativa



Nas primeiras horas da linha do tempo podemos observar os principais representantes da imunidade inata, que responderão logo nas primeiras horas de infecção de maneira pouco específica. Ao longo do processo infeccioso, a imunidade adaptativa é iniciada, sendo esta dotada de memória e especificidade. Fonte: abbas; Lichtman; Pillai (2015).

2.2.1 RESPOSTA INATA E SEUS COMPONENTES

Os cinco principais elementos da resposta imune inata são: (1) barreiras físicas para a contenção dos microrganismos; (2) proteção química constitutiva para inibição do crescimento microbiano e invasão tecidual; (3) sistema de reconhecimento para identificação dos patógenos invasores; (4) sistema de ataque ativado pelo reconhecimento antigênico; e (5) sistema de recrutamento e amplificação do processo de defesa. Além de fornecer a proteção inicial, o sistema imune inato irá estimular e coordenar o início da resposta adaptativa (Gallo; Nizet, 2008; Marshall *et al.*, 2018).

A pele é a principal barreira física do organismo humano. Ela é composta por queratinócitos altamente compactados, portadores de junções ocludentes que selam o espaço intercelular, impedindo a passagem livre de patógenos. As mucosas também atuam como barreiras físicas, porém, ao contrário da pele, não são queratinizadas. Este epitélio mucoso é composto por células especializadas produtoras de muco e substâncias antimicrobianas como a lisozima. As mucosas realizam a proteção dos

tratos digestório, respiratório e urogenital do corpo humano (Tortora & Derrickson, 2012; Silverthorn *et al.*, 2017).

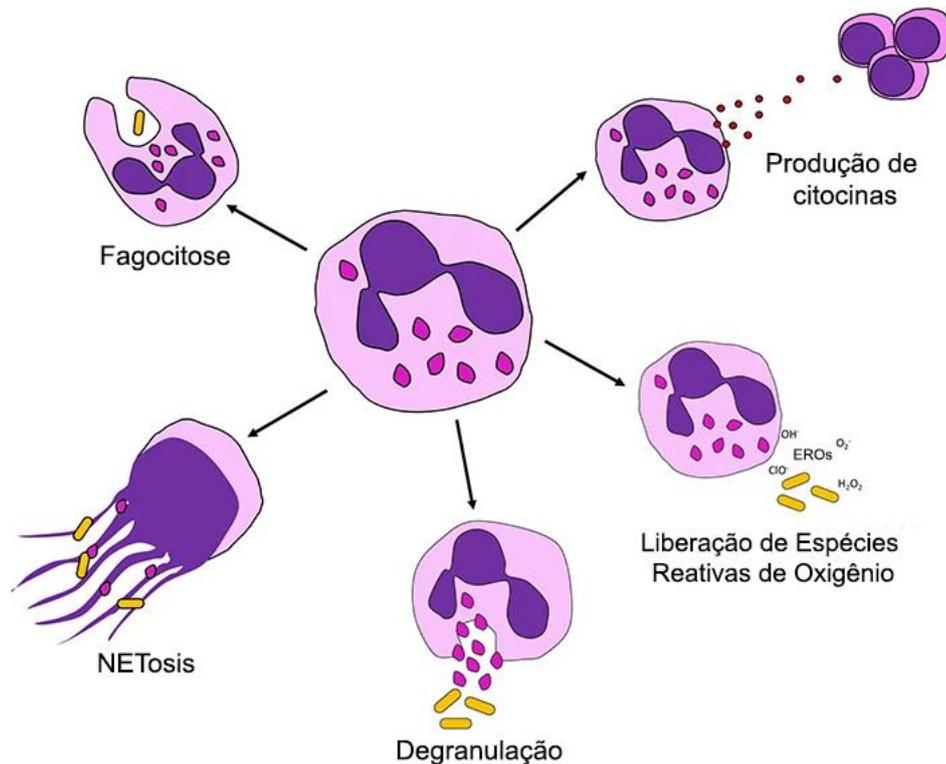
Quando os patógenos conseguem penetrar estas barreiras iniciais, eles encontram outra linha de bloqueio, que são as células imune subjacentes ao epitélio, os fagócitos. Devido à falta de especificidade da imunidade inata, estas células reconhecem apenas padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs: do inglês *Pathogen Associated Molecular Patterns*), que são antígenos compartilhados por várias classes de microrganismos (Alberts *et al.*, 2017).

Os fagócitos são um grupo de células composto pelos macrófagos e neutrófilos, células-chave da resposta imune inata. A principal característica do grupo, e a que dá o seu nome, é a capacidade fagocítica dessas células, apesar delas também exibirem outras funções particulares (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015).

O neutrófilo é o leucócito mais abundante na circulação humana, sendo produzido em enormes quantidades diariamente (da ordem de 10^{11}). São encontrados apenas na circulação, estando ausente em tecidos saudáveis. Diferente dos macrófagos, os neutrófilos têm a vida muito curta, morrendo após uma única fagocitose. Sua morfologia é bem distinta: núcleo segmentado dividido em 3 a 5 lobos conectados entre si, característica que os garante o nome alternativo “polimorfonucleados”, “*polis*” ou apenas “*segs*”, além de apresentarem grânulos no seu citoplasma (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015; Alberts *et al.*, 2017).

Suas três funções principais são fagocitose, degranulação, lançamento de armadilhas extracelulares dos neutrófilos (NETs: do inglês *neutrophil extracellular traps*) e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Esses leucócitos polimorfonucleados também são capazes de secretar diversas citocinas e fatores inflamatórios, orquestrando a resposta imune e a inflamação (Blanter; Gouwy; Struyf, 2021; Rosales, 2018). A figura 13 sumariza essas funções.

Figura 13 – Funções dos neutrófilos no combate de infecções



Fagocitose consiste na internalização de partículas ou microrganismos, neste caso. A produção de citocinas irá influenciar o comportamento de outras células imune mediando a inflamação e a resposta imunológica. ROS (espécies reativas de oxigênio) são moléculas reativas que podem danificar os patógenos intra e extracelularmente. A degranulação consiste na liberação de enzimas e peptídeos antimicrobianos. A *NETosis* consiste no lançamento das *NETs* (neutrophil extracellular traps), que são redes de DNA da própria célula polimorfonucleada junto de proteínas histonas e peptídeos granulares, capaz de capturar e matar microrganismos Traduzida de Blanter; Gouwy; Struyf (2021).

Além dos neutrófilos, o grupo dos granulócitos engloba também os eosinófilos e basófilos. Quanto à morfologia, os eosinófilos possuem tamanho similar aos neutrófilos, núcleo bilobulado característico e granações acidófilas – avermelhadas no seu citoplasma. Já os basófilos possuem núcleo volumoso frequentemente obscurecido pelos seus grânulos metacromáticos (Junqueira; Carneiro, 2023).

Os eosinófilos são importantes na defesa do organismo contra parasitas helmintos, participando também de reações alérgicas e asma. Eles são encontrados em baixa concentração na circulação e são recrutados para locais acometidos por infecções parasitárias e reações anafiláticas graças as moléculas de adesão e quimiocinas. Os eosinófilos são induzidos a se ligarem aos helmintos através da presença de anticorpos IgE que cobrem a superfície do parasita durante a infecção.

Esta ligação induz a degranulação dos eosinófilos, com a liberação de compostos tóxicos ao parasita no ambiente, como a proteína catiônica, peroxidases e neurotoxinas eosinofílicas (Cruvinel *et al.*, 2010; Parkin; Cohen, 2001).

Os basófilos são frequentemente mencionados na literatura junto aos mastócitos por possuírem morfologia e funcionalidade bem similar, apesar de serem oriundos de linhagens hematopoiéticas diferentes. Os mastócitos também são células granulares, porém não são encontradas na circulação. Sua forma madura só é encontrada nos tecidos, principalmente na derme e nos tratos digestivo e respiratório, exercendo importante papel nas reações inflamatórias agudas e processos anafiláticos (Cruvinel *et al.*, 2010; Junqueira; Carneiro, 2023). Estes dois grupos celulares possuem receptores de alta afinidade com anticorpos IgE, que quando ativados, induzem a degranulação de ambas as células, liberando no ambiente mediadores como aminas vasoativas, histamina e serotonina (Parkin; Cohen, 2001).

Os monócitos e macrófagos fazem parte do sistema de fagócitos mononucleares, que essencialmente são a mesma célula, apenas em estados e locais diferentes. Os monócitos são encontrados livres na circulação podendo migrar em direção ao tecido lesado, se transformando ali em macrófagos. Diversos tecidos possuem macrófagos residentes, como as células de Kupffer no fígado, as células da micróglia no cérebro, os macrófagos sinusoides no baço e os alveolares nos pulmões (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015).

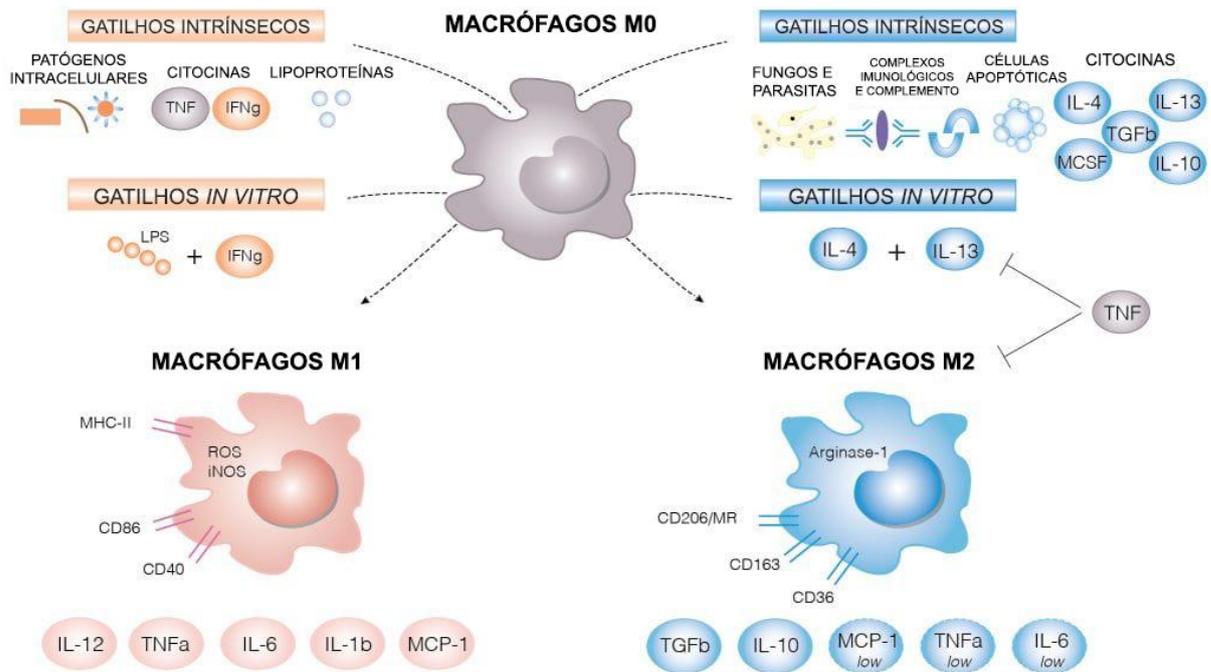
Os macrófagos são fenotipicamente heterogêneos, com características morfológicas e funcionais diversas, de acordo com a necessidade do tecido onde ele se encontra (Atri; Guerfali; Laouini, 2018). Os monócitos são células grandes (15 a 22µm), pouco variáveis, portadoras de núcleo claro, excêntrico em forma de rim ou ferradura com citoplasma basófilo e grânulos finos. O processo de transformação do monócito em macrófago causa aumento do Complexo de Golgi, aumento no número de lisossomos, aumento da quantidade de microtúbulos e microfilamentos, resultando no aumento da célula como um todo (Junqueira; Carneiro, 2023).

Os fagócitos mononucleados exibem alta diversidade funcional, atuando nos processos de desenvolvimento, homeostase, reparo tecidual e na imunidade do organismo (Wynn; Chawla; Pollard, 2013). Acerca de suas funções relacionadas ao SI, podemos citar a fagocitose e destruição de patógenos pela geração de espécies

reativas de oxigênio e nitrogênio, a ingestão e degradação de restos celulares, secreção de citocinas mediadoras da resposta imune e inflamatória, apresentação de antígenos capturados e reparo tecidual, como estimulador da angiogênese e fibrose (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015);

A ativação dos macrófagos se dá de uma maneira diferenciada e particular, o que irá modular o seu comportamento. A ativação clássica induz a transformação do macrófago em um fenótipo chamado de M1 enquanto a ativação alternativa faz dele um macrófago do tipo M2 (Wynn; Chawla; Pollard, 2013). O ambiente químico pró-inflamatório induz a transformação no fenótipo M1, com tendências pró-inflamatórias, antimicrobianas e causadoras de dano tecidual, o oposto de sua contraparte M2 que tem caráter anti-inflamatório, realizando a fagocitose de células apoptóticas e restos celulares e induzindo o reparo tecidual, como demonstra a figura 14. Durante o curso das doenças infecciosas, esses dois estados tendem a estarem presentes de forma intercalada ou até mesmo misturada (Atri; Guerfali; Laouini, 2018).

Figura 14 - Polarização dos macrófagos



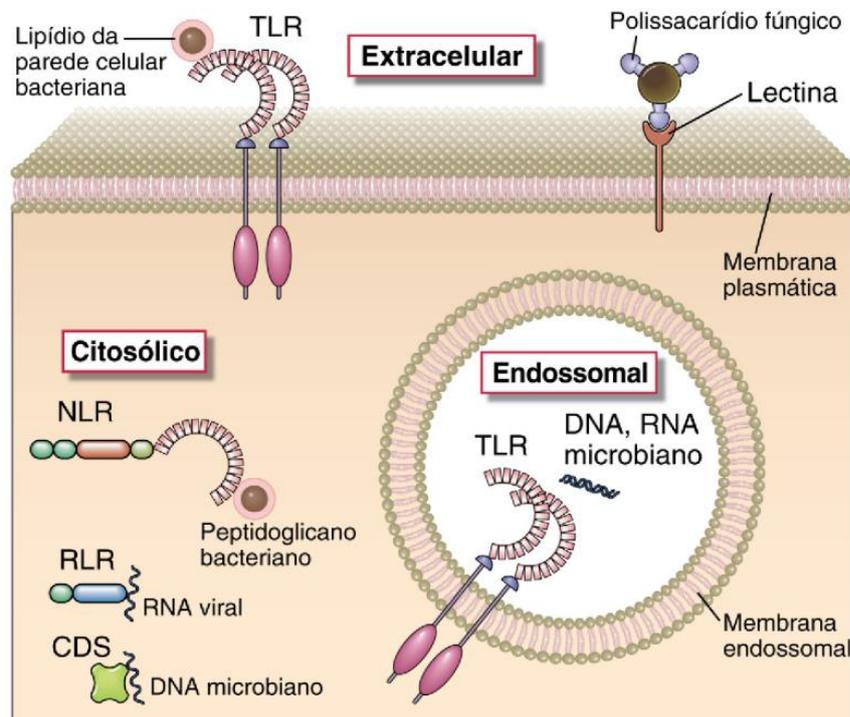
A figura representa os gatilhos que induzem a ativação dos dois fenótipos de macrófagos, M1 e M2, assim como os receptores de superfície que são expostos por eles durante cada estado e as moléculas que eles secretam. Os macrófagos inativados são chamados de M0, como representado em cinza na figura. TNF α : fator de necrose tumoral alfa. IFN γ : interferon gama. MHC-II: complexo de histocompatibilidade II. CD: grupamento de diferenciação. IL: interleucina. TGF β : fator de transformação do crescimento beta. MCSF: fator estimulante de colônia de macrófago. ROS: espécies reativas de oxigênio. iNOS: óxido nítrico sintase induzível. Modificado de Atri; Guerfali; Laouini (2018)

Células como os macrófagos conseguem reconhecer os PAMPs através dos receptores de reconhecimento de padrões (PRRs: do inglês *Pattern Recognition Receptors*), que podem estar presentes na forma de receptores na membrana plasmática, na sua forma livre secretada ou sob a forma de receptores intracelulares. Os receptores livres irão preparar aquele microrganismo para captura e destruição pelo sistema complemento enquanto os receptores intracelulares são particularmente úteis na identificação das infecções virais (Alberts *et al.*, 2017; Parkin; Cohen, 2001). Os fagócitos (macrófagos e neutrófilos) e as células dendríticas expressam grande número e variedades deste tipo de receptor (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015)

O estudo dos diferentes tipos de PRRs cresceu significativamente após o descobrimento dos receptores do tipo Toll (TLRs: do inglês *toll-like receptors*) na década de 90, observados inicialmente na espécie *Drosophila melanogaster*, posteriormente nos mamíferos. Existem diversas classes de PRRs descritos na

literatura, porém, o tipo de receptor mais explorado é o do tipo Toll. A figura 15 a seguir demonstra as localizações dos PRRs e seus principais ligantes.

Figura 15 – Localizações e ligantes dos receptores de reconhecimento de padrões do sistema imune inato



A figura representa a localização de alguns dos PRRs assim como os seus ligantes. As siglas representam os nomes dos receptores em inglês: NLR (*NOD-like receptor*, receptor do tipo NOD); RLR (*RIG-like receptors*, receptores do tipo RIG); CDS (*cytosolic DNA receptors*, receptores citosólicos de DNA); TLR (*toll-like receptors*, receptores do tipo Toll). Fonte: abbas; Lichtman; Pillai (2015).

A família dos TLR é bem conservada. O genoma humano codifica 10 tipos desse receptor e eles identificam diversas PAMPs, como flagelina, lipopolissacarídeo (LPS), RNA de fita simples e dupla, entre outros. A ligação do receptor do tipo Toll com o seu ligante na membrana plasmática ou endossomal irá ativar fatores de transcrição como o fator nuclear κ B (NF- κ B: do inglês *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), proteína adaptadora 1 (AP-1: do inglês *adaptor protein 1*) e os fatores reguladores do interferon 3 e 7 (IRF3 e IRF7: do inglês *interferon regulatory factor 3 e 7*) (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015; Kawai; Akira, 2010; Kumagai; Akira, 2010).

As células *natural killer* (NK) correspondem a um tipo de linfócito efetor, componente da imunidade inata capaz de eliminar células estressadas, contaminadas

ou tumorais, contribuindo para a homeostase do organismo (BJÖRKSTRÖM; STRUNZ; LJUNGGREN, 2021). Estas células atuam principalmente contra infecções virais, sendo também efetivas contra processos tumorais.

Como o nome sugere, as células NK controlam o dano por indução de morte da célula-alvo através da liberação de grânulos que contém perforinas e granzimas, proteínas que irão facilitar a entrada das outras enzimas granulares e gerar uma cascata de sinalização que irá induzir a morte da célula-alvo por apoptose, respectivamente (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015).

Além de sua função citotóxica a partir da secreção de grânulos citolíticos, outra função de extrema importância que as células NK exercem é a secreção de citocinas, quimiocinas, especificamente TNF- α e INF- γ . Diferentemente de outros linfócitos, as células NK não precisam de nenhum tipo de apresentação ou sensibilização para se tornarem efetivas, podendo assim exercer o seu papel no seu próprio estado natural (Orange; Ballas, 2006; Wang *et al.*, 2012).

O sistema complemento pode ser considerado um elemento tanto da imunidade inata quanto da adaptativa, sendo constituído por mais de 25 proteínas plasmáticas que possuem 3 vias de ativação distintas: a clássica, a alternativa e a via da lectina. Essas vias funcionam por ativação proteolítica, criando uma cascata de ativação sequencial de moléculas pelas proteinases que compõe o sistema. Os objetivos do sistema complemento é marcar microrganismos, recrutar células para destruí-los ou induzir a sua morte diretamente por lise osmótica (Chaplin, 2010).

A resposta inflamatória é uma ferramenta da resposta imune inata para erradicação de infecções e dano tecidual. Pela participação de componentes vasculares, celulares e substâncias solúveis, o objetivo final da inflamação é a remoção do estímulo agressor e início do reparo tecidual (Cruvinel *et al.*, 2010).

As células imune são capazes de reconhecer os PAMPs e os DAMPs (*damage-associated molecular patterns*) provenientes de invasões microbianas e dano tecidual, respectivamente, iniciando assim o processo inflamatório. Durante o processo inflamatório, ocorre vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, o que permite a diapedese, que é a saída dos leucócitos do sangue para o tecido. Substâncias quimiotáticas atraem leucócitos para o tecido lesado, onde cada célula realizará sua função especializada para conter o dano tecidual ou a infecção e secretar

mais mediadores pró-inflamatórios para modular o processo inflamatório agudo (Newton; Dixit, 2012).

Caso o estímulo nocivo permaneça atuando, o processo de inflamação aguda se cronifica, que é quando as células mononucleares assumem o local, onde pode-se observar sinais de angiogênese e fibrose. A inflamação crônica é característica de alguns processos infecciosos, como na doença tuberculose assim como em exposições à agentes químicos nocivos, à radiação, a traumas mecânicos persistentes e doenças autoimunes (Cruvinel *et al.*, 2010; Duan; Rao; Sigdel, 2019).

As células dendríticas são células apresentadoras de antígenos (APCs: do inglês *antigen presenting cells*) que atuam como uma ponte de comunicação entre os sistemas imunes inato e adaptativo. Além disso, elas exercem função imunoestimuladora devido à sua capacidade de estimular linfócitos T *naïve*. Sua forma imatura é encontrada na circulação, até que estímulos gerados pelo processo inflamatório as induzem a migrar em direção aos tecidos. As células dendríticas localizadas na pele são chamadas de células de Langerhans, atuando como sentinelas para o sistema imunológico, prontas para capturar e apresentar antígenos para os linfócitos T nos linfonodos (Junqueira; Carneiro, 2023).

A ativação e apresentação de antígenos à linfócitos T *naïve* é feita por estas células, enquanto a apresentação às células T auxiliares CD4⁺ é feita por outras APCs: os macrófagos e os linfócitos B. Para que a apresentação antigênica seja feita, é necessário o processamento deste antígeno dentro dessas células fagocíticas e exposição de peptídeos derivados de sua digestão através do complexo de histocompatibilidade principal (MHC: do inglês *major histocompatibility complex*) (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015).

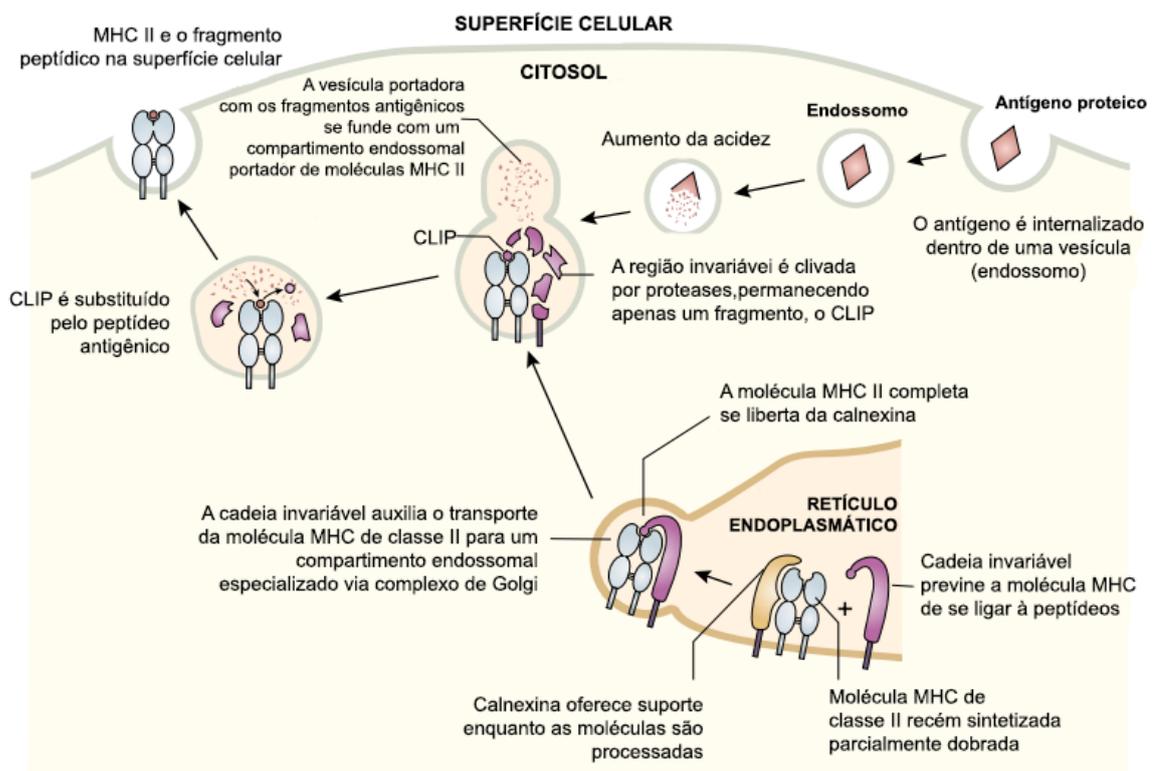
O MHC corresponde a uma região do genoma humano localizado no cromossomo 6 que está diretamente ligada ao reconhecimento de antígenos *self* e *não-self*, exercendo papel crucial no desenvolvimento de doenças autoimunes, infecciosas e inflamatórias (Fernando *et al.*, 2008). Dos seus 120 genes funcionais, 20% destes estão relacionados à imunidade, podendo ser divididos em três classes, I, II e III, porém, apenas as duas primeiras estão relacionadas à apresentação de antígenos proteicos aos linfócitos (Cruvinel *et al.*, 2010). Ambas são expressas na face extracelular da membrana plasmática. As moléculas MHC-I estão presentes na

membrana de todas as células nucleadas do corpo, enquanto apenas as APCs apresentam MHC-II (Kotsias; Cebrian; Alloatti, 2019).

A apresentação através do MHC-I também é chamada de apresentação direta, onde peptídeos citosólicos (próprios ou não-próprios, como por exemplo proteínas virais) são apresentados aos linfócitos T CD8⁺. Este mecanismo tem grande importância na proteção imunológica contra o câncer, considerando que peptídeos oriundos de mutações malignas podem ser apresentados via MHC-I e detectados por linfócitos T citotóxicos, assim como os peptídeos gerados por infecções virais ou por outros microrganismos intracelulares (Leone *et al.*, 2013).

As moléculas de MHC-II por sua vez são reconhecidas pelos linfócitos T CD4⁺. Neste processo, os peptídeos apresentados são produtos da endocitose das APCs, não de síntese própria, como no caso do MHC-I. A figura 16 demonstra o passo a passo do processamento do antígeno internalizado até a sua expressão no MHC-II.

Figura 16 – Processamento e apresentação de antígeno exógeno via MHC-II (complexo principal de histocompatibilidade II)



A resposta imune inata, na sua atuação inicial contra infecções, libera sinais na forma de citocinas que junto do antígeno, irão estimular a proliferação e diferenciação dos linfócitos B e T, iniciando assim a resposta imune adaptativa. Traduzido de Parkin e Cohen (2001).

2.2.2 RESPOSTA ADAPTATIVA E SEUS COMPONENTES

A resposta imune adaptativa se contrapõe à imunidade inata em diversos aspectos, os principais sendo a especificidade, a diversidade e memória. Memória imunológica pode ser definida como a habilidade de reconhecer um antígeno previamente presente no organismo e iniciar uma resposta correspondente, enquanto especificidade representa a habilidade que as estruturas imunes possuem de distinguir corretamente as variantes antigênicas (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015). As células imune orquestradoras dessa resposta são os linfócitos B e T e seus subgrupos.

A linhagem linfocítica apresenta morfologia extremamente semelhante entre os diferentes grupos (T, B e NK). Os linfócitos podem ter entre 6 a 18 μm de diâmetro, apresentando núcleo esférico e escuro, podendo migrar entre o tecido e o sangue facilmente, diferente dos outros leucócitos. Apenas 5% dos linfócitos totais do corpo se encontram no sangue, a grande maioria deles está presente nos órgãos linfáticos (Junqueira; Carneiro, 2023; Silverthorn *et al.*, 2017).

A diferenciação dos diferentes subgrupos linfocitários se dá por métodos moleculares, especificamente pela diferenciação dos tipos de moléculas que estas células apresentam em suas membranas. A imunofenotipagem dos linfócitos é atualmente feita com base nos *clusters of differentiation* (CD: grupamentos de diferenciação) que são moléculas características de cada linhagem ou de certos estágios de desenvolvimento linfocitário (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015).

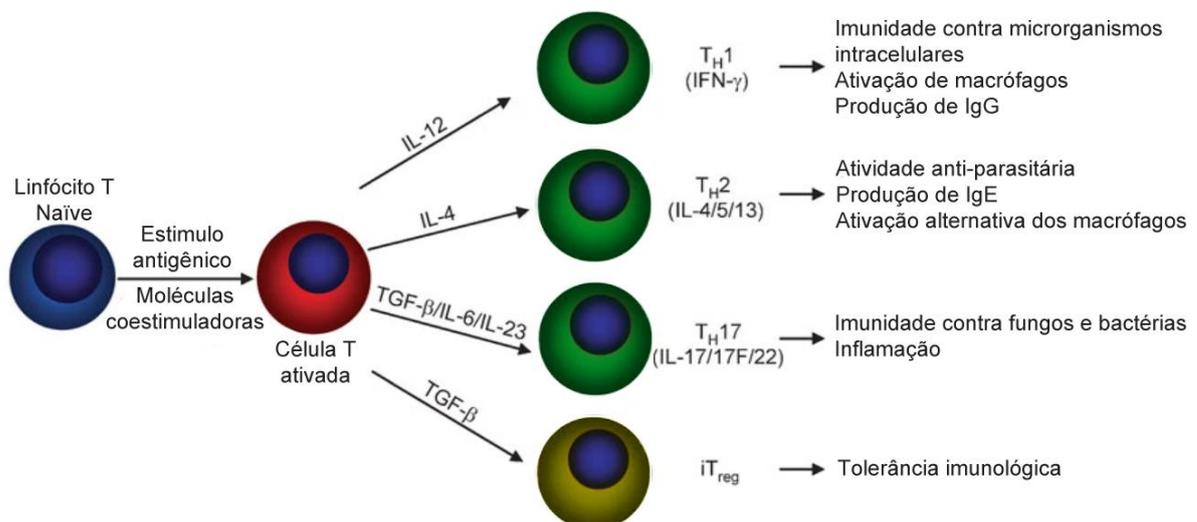
A imunidade celular é mediada pelos linfócitos T, que são produzidos na medula óssea e migram ao timo para maturação. A especificidade, característica da resposta imune adaptativa, se dá pela presença de receptores antigênicos altamente polimórficos presentes na membrana dessas células, os receptores de células T (TCRs: do inglês *T cell receptors*). Os TCRs são capazes de se modificar através de reorganização gênica durante a maturação das células T no timo, comprometendo aquele linfócito ao mesmo antígeno para o resto de sua existência. Os linfócitos que se tornam porventura reativos a antígenos *self* são eliminados por um processo chamado seleção negativa, evitando assim a autoimunidade (Fabbri; Smart; Pardi, 2003).

Os linfócitos T *naïve* ou virgens são células T que ainda não foram apresentadas a nenhum antígeno. As células T de memória são derivadas de

exposições anteriores, sendo responsáveis pela imunidade a longo prazo. Existe um outro grupo de linfócitos T, os regulatórios (Treg) que irão administrar a resposta imunológica, controlando outras células imune e mantendo a autotolerância. A ativação dos linfócitos T *naïve* se inicia perante encontro com células dendríticas que apresentam o antígeno e expressam ligantes coestimuladores, que irá induzir proliferação em massa (expansão clonal) e diferenciação em células T efetoras (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015; Kumar; Connors; Farber, 2018).

As células T podem por sua vez serem divididas em dois grandes grupos de acordo com o marcador de superfície que apresentam: CD4 ou CD8. As células CD4⁺ são chamadas também de T *helpers* (auxiliares), sendo classicamente divididas em dois subgrupos Th1 e Th2 de acordo com seu perfil de expressão de citocinas e funções. Relativamente recentemente um novo subgrupo de células CD4⁺ foi descrito na literatura, as células Th17, que receberam este nome baseado na sua produção elevada de interleucina-17 (IL-17), que participa de processos inflamatórios crônicos, doenças autoimunes e na defesa contra infecções bacterianas e fúngicas (Araújo *et al.*, 2016; Fabbri; Smart; Pardi, 2003; Huang; Wang; Chi, 2012). A figura 17 esquematizou este processo de diferenciação e maturação das células T auxiliares.

Figura 17 – Diferenciação e função dos linfócitos T CD4⁺

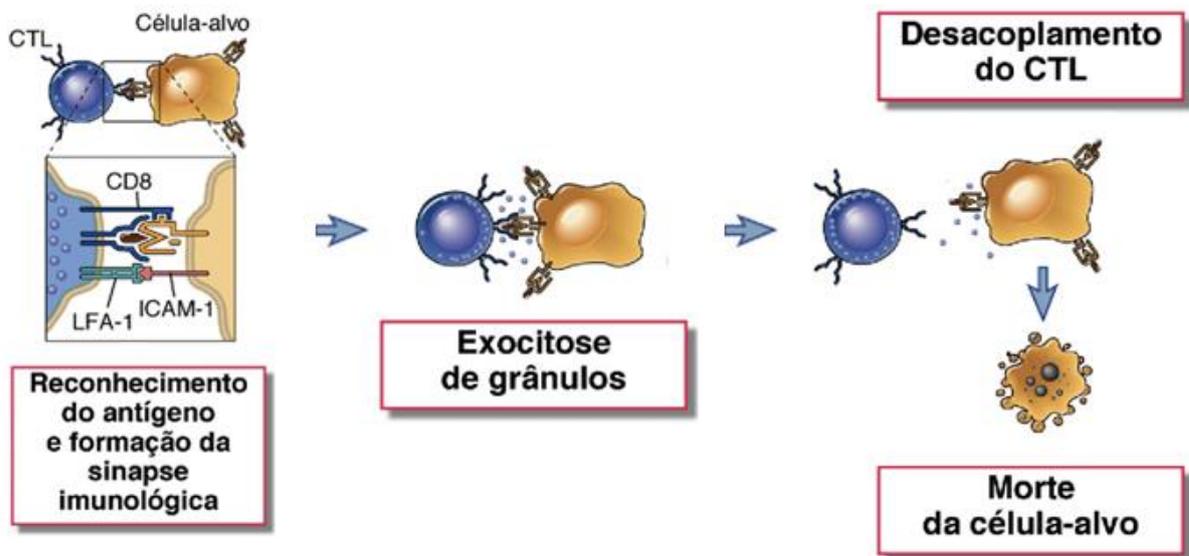


As células T *naïve* são apresentadas aos antígenos e a coestimuladores, se diferenciando nas quatro classes de acordo com as citocinas produzidas pelas células dendríticas. IL: interleucina. TGF- β : fator de transformação de crescimento beta. IFN- γ : interferon gama. Modificado de Huang; Wang; Chi (2012) acrescido de informações obtidas em Abbas; Lichtman; Pillai (2015).

As células CD8⁺ imaturas se diferenciam em células funcionais chamadas de linfócitos T citotóxicos (CTLs, do inglês *cytotoxic T cell*), devido à presença de proteínas citolíticas que induzem a apoptose na célula-alvo infectada ou tumoral. As células T auxiliares são essenciais nesse processo de diferenciação, estimulando as células dendríticas e secretando citocinas que incentivam o processo. Além da morte direta das células-alvo, os CTLs secretam INF- γ que induz a ativação clássica dos macrófagos (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015; Fabbri; Smart; Pardi, 2003).

Uma célula danificada ou infectada é reconhecida pelos linfócitos através dos seus TCRs, que são específicos ao antígeno exposto pelo MHC-I da célula-alvo. Para que a associação das células ocorra, é necessário também a ligação entre a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM 1: do inglês *intercellular adhesion molecule*), exposto pela célula-alvo e o antígeno 1 associado à função de leucócito (LFA-1: do inglês *lymphocyte function-associated antigen 1*). A molécula CD8 também participa dessa sinapse imunológica, como pode-se observar na figura 18.

Figura 18 – Reconhecimento e morte mediada por linfócito T citotóxico



A primeira etapa da atuação da célula T citotóxica é o reconhecimento da célula-alvo portadora de seu antígeno específico através dos receptores CD8, LFA-1, ICAM-1 e MHC-I. Esta ligação forma a sinapse imunológica e induz a exocitose de grânulos citotóxicos que irão, pós desacoplamento, induzir a morte da célula-alvo. Modificado de Abbas; Lichtman; Pillai (2015).

A ligação entre o CTL e a célula-alvo induz a exocitose dos grânulos citotóxicos do linfócito, fenômeno chamado de golpe letal. As principais proteínas dos grânulos

são as granzimas, perforinas e serglicina, que atuam apenas na célula-alvo sem agredir as células vizinhas, graças à alta proximidade e especificidade da sinapse imunológica (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015).

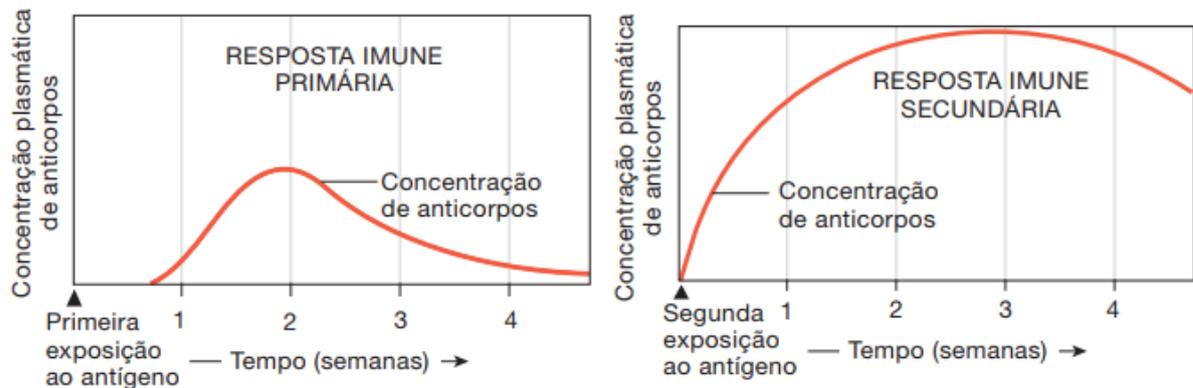
A imunidade adaptativa humoral é mediada pelos imunoglobulinas produzidas pelos plasmócitos, células derivadas da linhagem linfocítica, especificamente do linfócito B. Assim como nos linfócitos T, as células B precisam ter um antígeno apresentado a elas para que haja a expansão clonal e diferenciação. Os linfócitos B maduros expressam receptores de células B (BCRs: *B cell* receptors), que são essencialmente imunoglobulinas da classe M e D, que irão reconhecer o antígeno durante a apresentação pelas APCs, que ocorre nos órgãos linfoides secundários. O processo de ativação das células B depende desta apresentação antigênica e sinalização adicional de células como os linfócitos T auxiliares, macrófagos e células dendríticas (Ollila; Vihinen, 2005).

A ativação das células B causa expansão clonal e posteriormente estes clones podem sofrer alguns processos que irão os diferenciar entre si. Um deles é a troca de isotipo, referente ao tipo de anticorpo que aquela célula B irá secretar quando se diferenciar em plasmócito. Os plasmócitos que não sofreram essa modificação secretam IgM, porém, por influência de citocinas secretadas pelas células T auxiliares, como IFN- γ , eles passam a secretar anticorpos IgG que podem ser mais adequadas para a situação. Sinalização por IL-4 induz a troca para IgE, importante no combate de helmintoses. Os plasmócitos presentes na mucosa sofrem influência do microambiente para modificarem sua secreção para IgA, isotipo mais adequado para este epitélio, frequentemente encontrado em secreções corporais como lágrimas e saliva (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015).

A maturação de afinidade também pode ocorrer durante o processo de diferenciação das células B. O aumento da afinidade de um anticorpo ao seu antígeno depende diretamente da quantidade de vezes que o sistema entrou em contato com aquele microrganismo, frequência esta que vai modificar qualitativamente e quantitativamente a resposta imune humoral. Isso ocorre, pois, a partir da exposição, as células B que serão ativadas serão células de memória, localizadas na medula óssea, que possuem capacidade maior de proliferação e secreção de anticorpos em comparação aos plasmócitos de vida curta gerados na primeira infecção. Esse tipo de resposta progressiva costuma ser estimulada especificamente por antígenos

proteicos (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015). A figura 19 a seguir demonstra comparativamente as taxas de resposta humoral após exposição primária e secundária.

Figura 19 – Produção de anticorpos durante as respostas imune primária e secundária

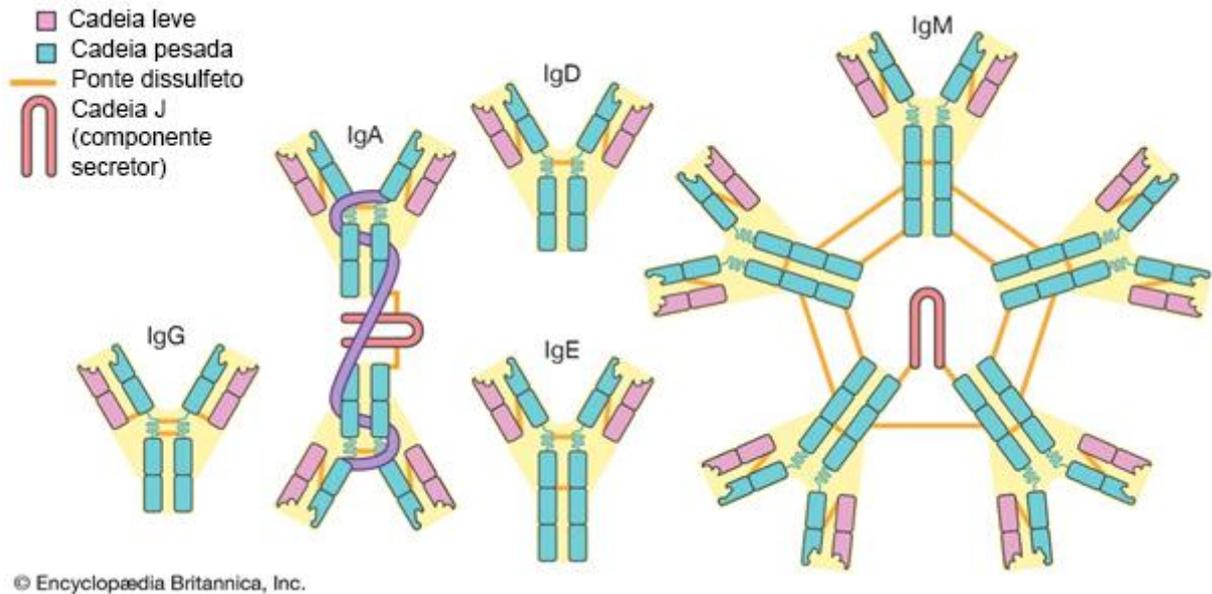


A imagem demonstra maior e mais rápida resposta imune humoral a partir da segunda exposição do organismo ao antígeno devido a mecanismos relacionados à maturação e diferenciação das células B. Adaptado de silverthorn *et al.*(2017)

As imunoglobulinas ou anticorpos mamíferos podem ser classificados em 5 subtipos: IgM, IgG, IgA, IgD e IgE. A molécula do anticorpo tem formato característico de Y nas representações gráficas, possuindo duas cadeias leves (~24kDa na classe IgG) e duas cadeias pesadas (~55kDa na mesma classe). As duas regiões superiores da molécula formam o sítio de ligação ao antígeno, Fab (*fragment antigen-binding region*), que é altamente variável e a região inferior é constante, chamada de região Fc (*fragment crystallizable region*) (Stanfield; Wilson, 2014).

Algumas classes de anticorpos possuem variação em sua estrutura em comparação ao modelo “básico” em formato de Y, como podemos observar na figura 20. Cinco unidades de anticorpo do tipo IgM se unem para formar uma molécula pentamérica com dez sítios de ligação a antígenos. O IgA secretado possui uma molécula chamada “componente secretor” que permite a liberação desse anticorpo nas secreções corporais, como mencionado previamente no texto. Os anticorpos da classe IgE possuem um domínio Fc extra na sua cadeia pesada, o que permite ligação e ativação de mastócitos e basófilos (Schroeder; Cavacini, 2010).

Figura 20 – As cinco classes de anticorpos e sua estrutura



As funções dos anticorpos são: neutralização de antígenos e toxinas bacterianas por aglutinação, marcação de antígenos para reconhecimento de outras células imune como macrófagos e células NK, ativação do sistema complemento e de linfócitos B (SILVERTHORN *et al.*, 2017). Fonte: Encyclopædia Britannica (2021)

3 JUSTIFICATIVA

Os objetivos do atual trabalho foram estabelecidos considerando o baixo volume de trabalhos, especialmente em português, que relacionam a função, formação e atividade das junções comunicantes com as diversas atividades do sistema imunológico, assim como as suas possíveis contribuições no processo saúde-doença e suas possibilidades de tratamento.

Tendo em vista o supracitado e a importância do funcionamento das junções comunicantes nos mais diversos sistemas e tecidos corporais e a relação extremamente íntima entre a atuação do sistema imunológico e o desenvolvimento de patologias infecciosas, autoimunes e tumorais, é de suma relevância o desenvolvimento de uma revisão integrativa que estabeleça uma relação entre esses dois fatores baseada em evidências atuais da literatura científica.

4 OBJETIVO

4.1 Objetivo Geral

Discutir o tema das junções comunicantes à luz de descobertas recentes estabelecendo sua relação com o sistema imunológico.

4.2 Objetivos Específicos

- Apresentar a definição, os mecanismos de formação e as principais funções das junções comunicantes;
- Demonstrar, a partir dos relatos da literatura, o funcionamento do sistema imunológico e de suas células;
- Indicar o papel das junções comunicantes no funcionamento do sistema imunológico;
- Relacionar a função da comunicação intercelular, via junções comunicantes, ao estabelecimento de diferentes processos patológicos associados com o sistema imunológico a partir da literatura científica.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Devido ao contínuo aumento do acervo de pesquisas científicas e da quantidade crescente de achados evidenciados nesses trabalhos, se torna necessária a realização de estudos integrativos, capazes de sintetizar informações de forma ordenada e sistemática, visando melhorar a aplicabilidade e a eficiência do estudo científico (Souza; Silva; Carvalho, 2010). À vista disso, o presente trabalho consiste em uma Revisão Integrativa (RI), modalidade revisional que utiliza um processo sistemático e ordenado para identificar, analisar, avaliar e sintetizar estudos relacionados à um tópico ou fenômeno selecionado, de maneira rígida e abrangente (Toronto; Remington, 2020).

A revisão integrativa se difere de outras modalidades revisionais por ser mais ampla em relação às suas fontes e por não proporcionar análises estatísticas dos resultados. Uma RI pode incluir trabalhos experimentais e não-experimentais, oferecendo análise baseada na pesquisa empírica, metodológica e teórica, cumprindo assim os seguintes objetivos: apresentar um levantamento crítico do atual estado da arte do tópico de estudo; averiguar a qualidade das evidências existentes; apontar possíveis lacunas na literatura e identificar os futuros passos necessários para a pesquisa do tema em questão (Souza; Silva; Carvalho, 2010; Toronto; Remington, 2020).

Uma metodologia bem estabelecida e documentada é essencial para a confiabilidade e qualidade dos dados apresentados em revisão integrativa, pois permite fácil identificação de possíveis tendências e vieses interferentes e proporciona reprodutibilidade. Dito isso, o presente trabalho seguirá o processo de pesquisa descrito em TORONTO E REMINGTON (2020), composto por seis etapas, que serão apresentadas a seguir.

5.1 Descrição das etapas do processo de Revisão Integrativa, de acordo com Toronto e Remington (2020).

5.1.1 Formulação de objetivo e/ou das perguntas da Revisão

O(s) tópico(s) de interesse dentro do tema selecionado deve(m) ser bem definido(s), assim como a relevância do presente trabalho para a comunidade naquele momento. É essencial que o propósito da revisão e os objetivos sejam amplos e bem estabelecidos, já que são eles que irão nortear o processo de seleção de critérios de inclusão e a coleta de dados de uma forma geral.

5.1.2 Pesquisa e seleção sistemática

No presente trabalho, foram consultadas três bases de dados: PubMed®, Informação Científica e Técnica em Saúde da América Latina e Caribe (LILACS), e *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MEDLINE), sendo as duas últimas acessadas através da ferramenta de busca do Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde (BIREME). As palavras-chave escolhidas foram “*gap junctions*” “*connexins*” “*immune system*” (junções comunicantes, conexinas e sistema imune, em português), junto do operador *booleano* “AND”, formando a seguinte sentença de busca “gap junctions AND connexins AND immune system”.

Os critérios de inclusão selecionados para a seleção de artigos foram: a) Artigos revisionais ou experimentais; b) Publicados no idioma inglês; c) Publicados entre os anos de 1992 e 2022; d) Com texto completo disponível para acesso. Foram considerados inelegíveis para o presente estudo: a) Duplicatas; b) Trabalhos que não abordavam o tema de interesse em seu título ou resumo; c) Trabalhos em outros idiomas.

5.1.3 Avaliação da qualidade dos trabalhos selecionados

Em uma revisão integrativa, a qualidade e validade dos estudos selecionados está diretamente relacionada à credibilidade da revisão, característica inclusive que diferencia a IR de outras modalidades.

5.1.4 Análise e Síntese

As RIs requerem uma análise narrativa e a integração de um volume grande de dados científicos para cumprir os objetivos propostos e gerar uma nova perspectiva sobre o tópico de estudo. A metodologia de análise deve ser credível e transparente, e requer que o pesquisador parta de fatos até um conhecimento conceitual que atenda ao que foi proposto.

No presente trabalho, realizou-se uma leitura criteriosa dos títulos e resumos de todas as publicações encontradas durante a busca. A partir das informações obtidas, foi possível excluir os estudos que estão fora da pergunta do presente trabalho, de acordo com os critérios de exclusão apresentados no item 5.1.2.

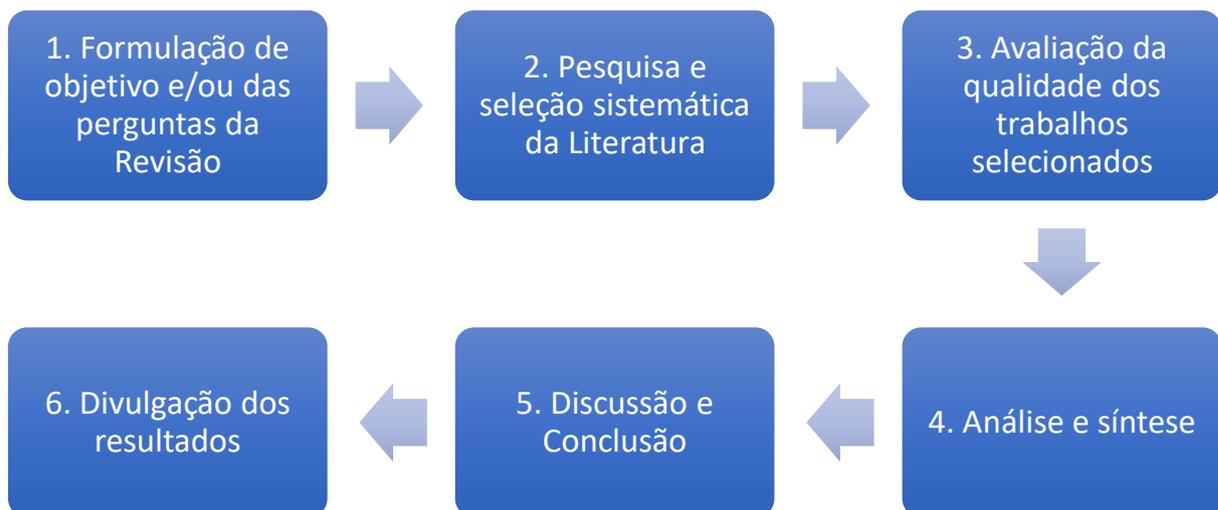
5.1.5 Discussão e Conclusão

A discussão do artigo de revisão integrativa é o momento onde o autor irá discorrer sobre o significado dos seus achados. Comparações com a literatura pré-existente e recomendações para o progresso do campo de estudo em questão podem ser feitos, assim como comentários sobre as limitações do seu trabalho. A conclusão será um sumário conciso das informações descobertas pela revisão e como elas contribuem para a comunidade.

5.1.6 Divulgação dos resultados

Consiste no processo de comunicação da síntese realizada pela RI para a comunidade profissional correspondente. A disseminação pode ser feita através da confecção de posters, apresentações em conferências profissionais, publicação em periódicos revisados por pares, notícias, redes sociais, entre outros meios de comunicação.

Figura 21 – As seis etapas do processo de revisão integrativa



Adaptada de TORONTO; REMINGTON (2020).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

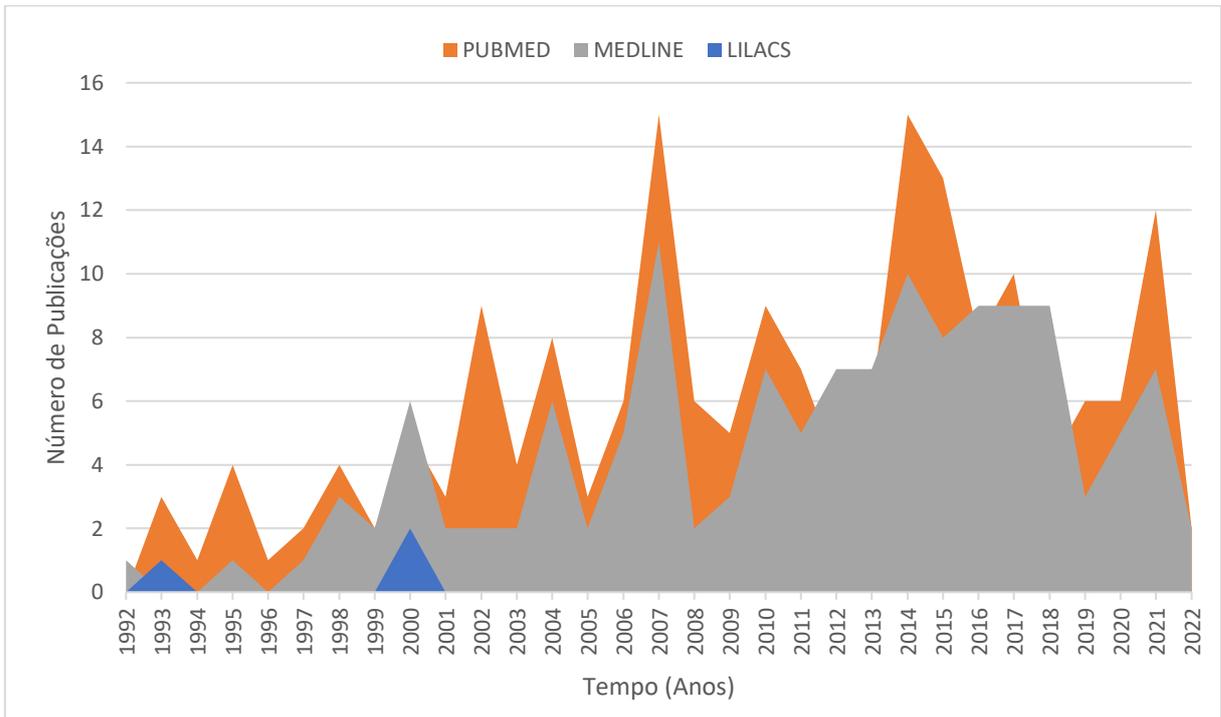
A inserção da sentença de busca “*gap junctions AND connexins AND immune system*” nas bases de dados selecionadas retornou um total de 312 trabalhos. A base LILACS retornou a menor quantidade de publicações (3 trabalhos), enquanto as bases MEDLINE e PUBMED abrangeram a maior parcela dos resultados (172 trabalhos), como mostra a tabela a seguir.

BASES DE DADOS	ARTIGOS ENCONTRADOS	APÓS FILTRAGEM PRELIMINAR (IDIOMA, ANO E DISPONIBILIDADE DE TEXTO COMPLETO)	APÓS LEITURA	APÓS REMOÇÃO DE ARTIGOS REPETIDOS
LILACS	3	2	2	2
MEDLINE	137	135	30	27
PUBMED	172	170	56	34
TOTAL	312	307	88	63

Tabela 2 - Resultado das buscas por artigos nas bases de dados consultadas. Fonte: Autoria própria.

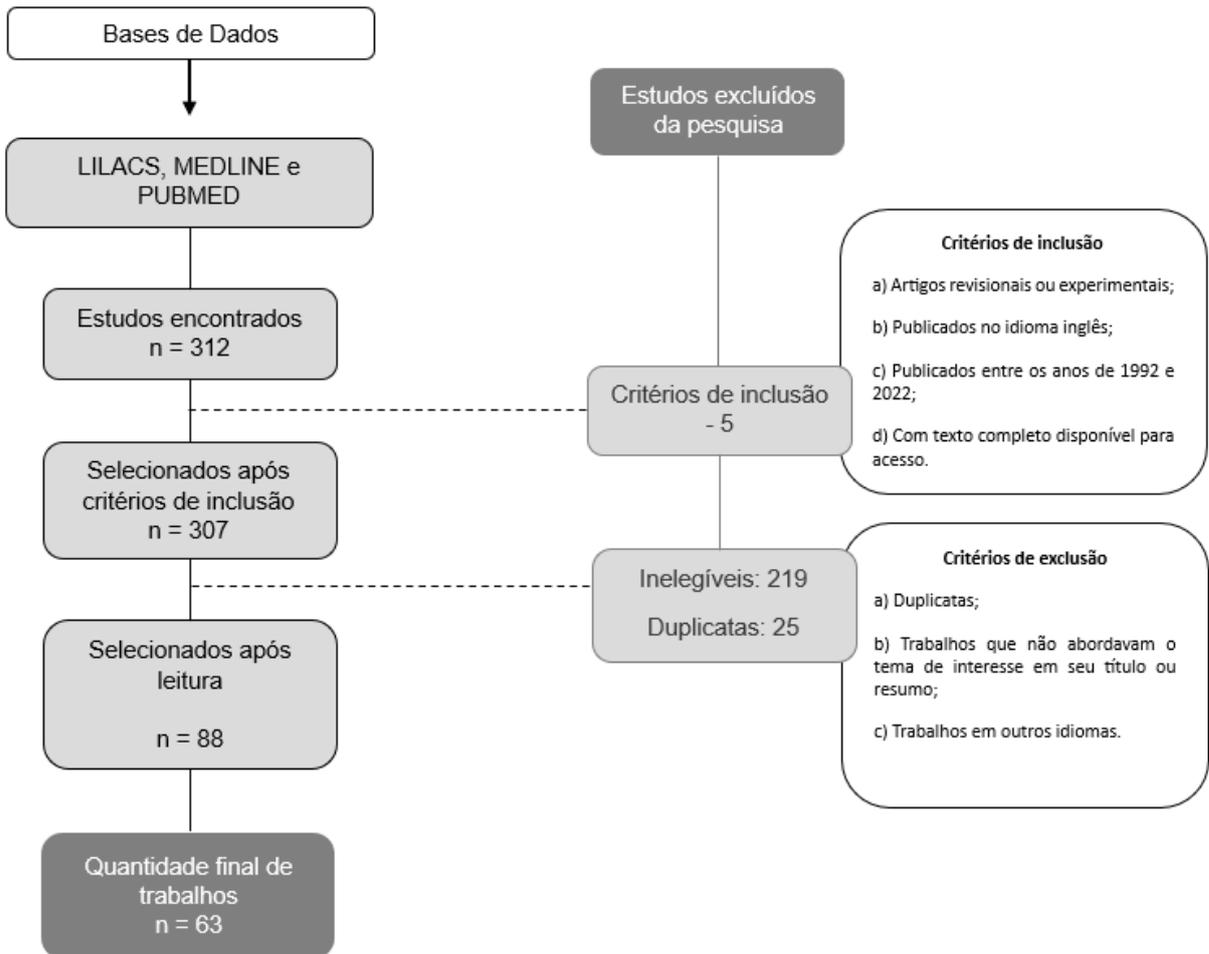
A análise dos dados obtidos revelou um aumento progressivo na quantidade de publicações por ano durante o período abrangido pelo presente trabalho, como demonstra a figura 22. Houve um aumento expressivo na quantidade de publicações referentes ao assunto em 2007 nas bases de dados PUBMED e MEDLINE (n=15 e n=11, respectivamente), evento que se repetiu em 2014 (n=15 e n=10, respectivamente). O processo de seleção pode ser visualizado na figura 23 e o quadro 1 sumariza as principais informações sobre os artigos que foram incluídos na revisão: autores, título do trabalho, ano de publicação, revista ou periódico científico e base de dados de origem.

Figura 22 – Distribuição dos resultados encontrados na busca ao longo dos anos



Fonte: Autoria própria.

Figura 23 – Fluxograma representativo do processo de seleção de trabalhos de acordo com os critérios previamente descritos



Fonte: Autoria própria.

Quadro 1 – Informações básicas dos artigos incluídos na Revisão.

AUTORES	TÍTULO	ANO	REVISTA/PERIÓDICO	BASE DE DADOS
A. Ablasser <i>et al</i>	Cell intrinsic immunity spreads to bystander cells via the intercellular transfer of cGAMP	2013	Nature	MEDLINE
A. Beckmann <i>et al</i>	Intercellular communication between alveolar epithelial cells and macrophages	2019	Annals of Anatomy	PUBMED
A. Handel <i>et al</i>	Gap junction-mediated antigen transport in immune responses	2007	TRENDS in Immunology	PUBMED
A. Handel <i>et al</i>	Sharing the burden: antigen transport and firebreaks in immune responses	2009	Journal of the Royal Society Interface	PUBMED
A. L. Pistorio; H. P. Ehrlich	Modulatory Effects of Connexin-43 Expression on Gap Junction Intercellular Communications With Mast Cells and Fibroblasts	2011	Journal of Cellular Biochemistry	PUBMED
A. M. Glass <i>et al</i>	Connexins and pannexins in the immune system and lymphatic organs	2015	Cellular and Molecular Life Sciences	MEDLINE
A. Mendoza-Naranjo <i>et al</i>	Functional Gap Junctions Accumulate at the Immunological Synapse and Contribute to T Cell Activation	2011	The Journal of Immunology	PUBMED
A. Mendoza-Naranjo <i>et al</i>	Functional Gap Junctions Facilitate Melanoma Antigen Transfer and Cross-Presentation between Human Dendritic Cells	2015	The Journal of Immunology	PUBMED
A. Tittarelli	Connexin channels modulation in pathophysiology and treatment of immune and inflammatory disorders	2021	Molecular Basis of Disease	PUBMED
A. Tittarelli <i>et al</i>	Gap Junction Intercellular Communications Regulate NK Cell Activation and Modulate NK Cytotoxic Capacity	2014	The Journal of Immunology	PUBMED
A. Tittarelli <i>et al</i>	Connexin-Mediated Signaling at the Immunological Synapse	2020	International Journal of Molecular Sciences	MEDLINE
A. Bermudez-Fajardo <i>et al</i>	CD4+ T lymphocyte subsets express connexin 43 and establish gap junction channel communication with macrophages in vitro	2007	Journal of Leukocyte Biology	MEDLINE

C. A. Martin <i>et al</i>	Adhesion and Cytosolic Dye Transfer between Macrophages and Intestinal Epithelial Cells	1998	Cell Adhesion and Communication	PUBMED
C. W. Wong	Connexins in leukocytes: shuttling messages?	2004	Cardiovascular Research	MEDLINE
D. A. de Souza Junior <i>et al</i>	Mast Cells Interact with Endothelial Cells to Accelerate In Vitro Angiogenesis	2017	International Journal of Molecular Sciences	PUBMED
D. Yuan <i>et al</i>	Connexin 43 expressed in endothelial cells modulates monocyte-endothelial adhesion by regulating cell adhesion proteins	2015	Molecular Medicine Reports	PUBMED
E. A. Eugénín <i>et al</i>	TNF- α Plus IFN- γ Induce Connexin43 Expression and Formation of Gap Junctions Between Human Monocytes/Macrophages That Enhance Physiological Responses	2015	The Journal of Immunology	PUBMED
E. Mazzini <i>et al</i>	Oral Tolerance Can Be Established via Gap Junction Transfer of Fed Antigens from CX3CR1+ Macrophages to CD103+ Dendritic Cells	2013	Immunity	PUBMED
E. Montecino-Rodriguez; K. Dorshkind	Regulation of hematopoiesis by gap junction-mediated intercellular communication	2001	Journal of Leukocyte Biology	PUBMED
E. Oviedo-Orta <i>et al</i>	Intercellular communication in the immune system: differential expression of connexin40 and 43, and perturbation of gap junction channel functions in peripheral blood and tonsil human lymphocyte subpopulations	2000	Immunology	MEDLINE
E. Oviedo-Orta <i>et al</i>	Immunoglobulin and cytokine expression in mixed lymphocyte cultures is reduced by disruption of gap junction intercellular communication	2001	FASEB Journal	MEDLINE
E. Oviedo-Orta <i>et al</i>	Gap junction intercellular communication during lymphocyte transendothelial migration	2002	Cell Biology International	PUBMED
E. Oviedo-Orta <i>et al</i>	Control of the proliferation of activated CD4+ T cells by connexins	2010	Journal of Leukocyte Biology	MEDLINE

E. Oviedo-Orta; W. H. Evans	Gap junctions and connexins: potential contributors to the immunological synapse	2002	Journal of Leukocyte Biology	PUBMED
E. Oviedo-Orta; W. H. Evans	Gap junctions and connexin-mediated communication in the immune system	2004	Biochimica et Biophysica Acta	MEDLINE
F. Hofmann <i>et al</i>	Cx43-Gap Junctions Accumulate at the Cytotoxic Immunological Synapse Enabling Cytotoxic T Lymphocyte Melanoma Cell Killing	2019	International Journal of Molecular Sciences	PUBMED
F. J. Martin; A. S. Prince	TLR2 Regulates Gap Junction Intercellular Communication in Airway Cells	2008	The Journal of Immunology	MEDLINE
F. S. A. Fortes <i>et al</i>	Modulation of intercellular communication in macrophages: possible interactions between GAP junctions and P2 receptors	2004	Journal of Cell Science	MEDLINE
F. Yu <i>et al</i>	Connexin43 knockdown in bone marrow-derived dendritic cells by small interfering RNA leads to a diminished T-cell stimulation	2016	Molecular Medicine Reports	PUBMED
H. Benlalam <i>et al</i>	Regulation of gap junctions in melanoma and their impact on Melan-A/MART-1-specific CD8+ T lymphocyte emergence	2013	Journal of Molecular Medicine	MEDLINE
H. Matsue <i>et al</i>	Gap junction-mediated intercellular communication between dendritic cells (DCs) is required for effective activation of DCs	2006	The Journal of Immunology	PUBMED
H. Vliagoftis <i>et al</i>	Mast cells express connexins on their cytoplasmic membrane	1999	Journal of Allergy and Clinical Immunology	PUBMED
I. Scerri <i>et al</i>	Gap Junctional Communication Does not Contribute to the Interaction Between Neutrophils and Airway Epithelial Cells	2006	Cell Communication and Adhesion	PUBMED
J. B. Saab <i>et al</i>	Connexins in respiratory and gastrointestinal mucosal immunity	2014	FEBS Letters	MEDLINE
J. Neijssen <i>et al</i>	Gap junction-mediated intercellular communication in the immune system	2007	Progress in Biophysics and Molecular Biology	MEDLINE
J. Qin <i>et al</i>	TLR-Activated Gap Junction Channels Protect Mice against Bacterial Infection through Extracellular UDP Release	2016	The Journal of Immunology	PUBMED
J.C. Sáez <i>et al</i>	Gap junctions in cells of the immune system: structure, regulation and possible functional roles	2000	Brazilian Journal of Medical and Biological Research	LILACS

K. E. L. Scheckenbach <i>et al</i>	Connexin Channel-Dependent Signaling Pathways in Inflammation	2010	Journal of Vascular Research	MEDLINE
K. Westphalen <i>et al</i>	Sessile alveolar macrophages communicate with alveolar epithelium to modulate immunity	2014	Nature	PUBMED
L. A. Alves <i>et al</i>	Are There Functional Gap Junctions or Junctional Hemichannels in Macrophages?	1996	The American Society of Hematology	PUBMED
L. A. Alves <i>et al</i>	Gap junctions: a novel route for direct cell–cell communication in the immune system?	1998	Immunology Today	PUBMED
L. A. Corvalan <i>et al</i>	Injury of Skeletal Muscle and Specific Cytokines Induce the Expression of Gap Junction Channels in Mouse Dendritic Cells	2006	Journal of Cellular Physiology	MEDLINE
L. Ceelen <i>et al</i>	Modulation of connexin signaling by bacterial pathogens and their toxins	2011	Cellular and Molecular Life Sciences	MEDLINE
L. Chen <i>et al</i>	Monocytic cell junction proteins serve important roles in atherosclerosis via the endoglin pathway	2017	Molecular Medicine Reports	MEDLINE
L. P. Véliz <i>et al</i>	Functional role of gap junctions in cytokine-induced leukocyte adhesion to endothelium in vivo	2008	Heart and Circulatory Physiology	PUBMED
L.A. Alves <i>et al</i>	Gap junction modulation by extracellular signaling molecules: the thymus model	2000	Brazilian Journal of Medical and Biological Research	MEDLINE
M. C. Branes <i>et al</i>	Activation of human polymorphonuclear cells induces formation of functional gap junctions and expression of connexins	2002	Medical Science Monitor	PUBMED
N. Riteau <i>et al</i>	ATP release and purinergic signaling: a common pathway for particle-mediated inflammasome activation	2012	Cell Death and Disease	MEDLINE
P. C. Fonseca <i>et al</i>	Characterization of connexin 30.3 and 43 in thymocytes	2004	Immunology Letters	MEDLINE

P. I. Jara <i>et al</i>	Leukocytes express connexin 43 after activation with lipopolysaccharide and appear to form gap junctions with endothelial cells after ischemia-reperfusion	1995	Proceedings of the National Academy of Sciences	PUBMED
P. J. Sáez <i>et al</i>	Regulation of Hemichannels and Gap Junction Channels by Cytokines in Antigen-Presenting Cells	2014	Mediators of Inflammation	MEDLINE
P. Wong <i>et al</i>	The role of gap junctions in inflammatory and neoplastic disorders	2017	International Journal of Molecular Medicine	MEDLINE
R. Rozental <i>et al</i>	Gap junctions in the cardiovascular and immune systems	2000	Brazilian Journal of Medical and Biological Research	LILACS
S. Al-Ghadban <i>et al</i>	Cross-talk between intestinal epithelial cells and immune cells in inflammatory bowel disease	2016	Scientific Reports	MEDLINE
S. Zahler <i>et al</i>	Gap-junctional coupling between neutrophils and endothelial cells: a novel modulator of transendothelial migration	2003	Journal of Leukocyte Biology	PUBMED
T. Bopp <i>et al</i>	Cyclic adenosine monophosphate is a key component of regulatory T cell-mediated suppression	2007	The Journal of Experimental Medicine	MEDLINE
T. Krenacs <i>et al</i>	Direct cell/cell communication in the lymphoid germinal center: connexin43 gapjunctions functionally couple follicular dendritic cells to each other and to B lymphocytes	1997	European Journal of Immunology	PUBMED
X. Ni <i>et al</i>	Up-regulation of gap junction in peripheral blood T lymphocytes contributes to the inflammatory response in essential hypertension	2017	PLOS ONE	MEDLINE
X. Ni <i>et al</i>	Hydrogen Sulfide Attenuates Hypertensive Inflammation via Regulating Connexin Expression in Spontaneously Hypertensive Rats	2018	Medical Science Monitor	MEDLINE
X. Ni <i>et al</i>	Increased expression and functionality of the gap junction in peripheral blood lymphocytes is associated with hypertension-mediated inflammation in spontaneously hypertensive rats	2018	Cellular & Molecular Biology Letters	PUBMED

X. Ni <i>et al</i>	β -estradiol alleviates hypertension- and concanavalin A-mediated inflammatory responses via modulation of connexins in peripheral blood lymphocytes	2019	Molecular Medicine Reports	PUBMED
Y. Liu <i>et al</i>	Rutaecarpine Reverses the Altered Connexin Expression Pattern Induced by Oxidized Low-density Lipoprotein in Monocytes	2016	Journal of Cardiovascular Pharmacology	PUBMED
Y. Lu <i>et al</i>	Effect of gap junctions on RAW264.7 macrophages infected with H37Rv	2018	Medicine	PUBMED

Fonte: Aatoria Própria.

6.1 OCORRÊNCIA E FUNCIONAMENTO DAS JUNÇÕES COMUNICANTES E HEMICANAIS DE CONEXINA NAS CÉLULAS DO SISTEMA IMUNOLÓGICO

O início da resposta imunológica depende da ativação das células apresentadoras de antígenos, pois elas reconhecerão inicialmente a ameaça e irão coordenar a ativação e as subseqüentes atividades de outras células do sistema imune (Sáez, *et al.*, 2014). A ativação de células dendríticas depende da formação de junções comunicantes funcionais, que por sua vez, dependem de um estímulo simultâneo de dois fatores (LPS + INF- γ ou TNF- α + IFN- γ). As junções, nesse cenário, podem regular a expressão de moléculas coestimuladoras, que em conjunto, culminam na ativação efetiva das células dendríticas (Matsue *et al.*, 2006).

A transferência de antígenos fagocitados por macrófagos para as células dendríticas é um processo que também depende de junções comunicantes formadas por Cx43. A sua deleção em células dendríticas afeta negativamente a apresentação de antígenos *in vivo*, a diferenciação de linfócitos T regulatórios e a tolerância para antígenos alimentares (Mazzini *et al.*, 2014).

Centros germinativos são regiões transitórias formadas em órgãos linfoides durante a formação de linfócitos B de memória (Thorbecke; Amin; Tsiagbe, 1994). Nessas regiões, a exposição repetida à antígenos induz a formação de junções comunicantes entre células dendríticas foliculares e linfócitos B e maior expressão de Cx43, sugerindo que, de alguma forma, a comunicação intercelular mediada por junções comunicantes contribui para o processo de seleção e maturação dos linfócitos B (Krenacs *et al.*, 1997). O *knockdown* de Cx43 por siRNA (pequeno RNA de interferência) em células dendríticas impossibilitou a sua maturação e conseqüentemente a ativação de linfócitos T (Yu *et al.*, 2016).

Corvalán e colaboradores (2007) demonstraram a existência de populações heterogêneas de células dendríticas nos linfonodos de camundongos, em que a maioria das células expressam Cx45, e uma minoria Cx43, sugerindo que as diferentes populações celulares exerçam papéis distintos. A regulação positiva da Cx43 mediante danos teciduais sugere que esta conexina esteja envolvida mais especificamente com a ativação de células do sistema imunológico, enquanto a Cx45 é componente de junções funcionais em momentos de estabilidade.

O microambiente do timo é um fator determinante na diferenciação e maturação dos timócitos em células T *naive*, sendo natural o surgimento de questionamentos sobre a participação das junções comunicantes nesse contexto. Os timócitos expressam conexinas 30.3 e 43, porém, *in vitro*, não apresentaram comunicação intercelular, de forma homo ou heterocelular, com as outras linhagens estudadas, diferentemente de linfócitos T maduros periféricos (Fonseca *et al.*, 2004). Os autores apontaram neste trabalho que a não ocorrência de comunicação *in vitro* não descarta a possibilidade de comunicação dessas células *in vivo*.

Mastócitos atuam em conjunto com fibroblastos no controle do reparo tecidual e fibrose após injúrias teciduais. Junções comunicantes formadas entre essas duas células promovem atividades fibróticas, assim como a secreção de mediadores pelos hemicanais juncionais dos mastócitos, formados por Cx43 (Pistorio; Ehrlich, 2011). Mastócitos expressam Cx43 e Cx32, e o *knockdown* da primeira inviabiliza a formação de junções comunicantes funcionais em mastócitos peritoneais de camundongo (Pistorio; Ehrlich, 2011; Vliagoftis *et al.*, 1999). Assim, Pistorio e Ehrlich (2011) sugerem que deprimir a expressão da Cx43 em mastócitos em cicatrizes hipertróficas pode diminuir a taxa de contratura da mesma e a necessidade de intervenções cirúrgicas adicionais, bem como a aplicação da fisioterapia.

A angiogênese, uma das etapas do reparo tecidual, também envolve a participação dos mastócitos. Em estudos com essa linhagem, foi observado o acoplamento funcional com células endoteliais via junções comunicantes, o que promoveu a secreção de fatores angiogênicos pelas células endoteliais que formam vasos sanguíneos em modelo de estudo *in vitro*, demonstrando o comportamento sinérgico e conexina-dependente desses tipos celulares na formação de novos vasos (De Souza Junior *et al.*, 2017).

Complementando este cenário, a inflamação é um dos principais fatores estimuladores da expressão de conexinas, contribuindo para a sinalização intracelular no processo de translocação desta proteína até a membrana plasmática para a formação de junções comunicantes em neutrófilos (Branes; Contreras; Sáez, 2002; Scerri *et al.*, 2006). Moléculas pró-inflamatórias como o LPS, diretamente administradas ou presentes em meios de cultura pré-condicionados por linhagens que as produzem, foram capazes de ativar essas células e induzir a expressão de Cx43 (Branes; Contreras; Sáez, 2002; Jara; Boric; Sáez, 1995).

A transmigração das células polimorfonucleares através do endotélio também é afetada pelo acoplamento juncional entre neutrófilos e células endoteliais, mas os mecanismos exatos desse fenômeno ainda são controversos. Zahler e colaboradores (2003) afirmaram que neutrófilos pouco acoplados ao endotélio migram mais do que os altamente acoplados. Já os estudos de Véliz e colaboradores (2008) concluíram que o acoplamento heterocelular via *gap junctions* favorece a adesão e extravasamento dos leucócitos para fora do vaso. Os efeitos da comunicação via junções comunicantes na transmigração dos linfócitos também foram analisados e observou-se que ela se estabelece entre os linfócitos e o endotélio, porém, o seu bloqueio não afeta o processo de migração (Oviedo-Orta; Errington; Evans, 2002).

Linfócitos T e B, bem como células NK em diferentes tecidos, expressam conexinas diferentes e em quantidades diferentes. Exemplificando, a Cx43 pode ser encontrada em linfócitos circulantes e nos presentes nas amígdalas, enquanto a Cx40 só é encontrada em linfócitos T e B de amígdala. Os linfócitos periféricos exibem maior expressão de conexinas do que as linhagens derivadas das amígdalas (Oviedo-Orta, E.; Hoy; Evans, 2000).

Os efeitos dessa variada expressão controlam aspectos fundamentais do funcionamento dos linfócitos no sistema imune, como a produção de citocinas e imunoglobulinas. Em culturas mistas de linfócitos T e B, a introdução de bloqueadores de junções comunicantes reduziu significativamente a produção de IgG, IgM e IgA, além de também diminuir a expressão de IFN- γ e IL-2 e bloquear completamente a liberação de IL-10 (Oviedo-Orta, E.; Gasque; Evans, 2001). Outros estudos demonstraram que a Cx43 forma canais funcionais e bidirecionais entre células NK, células dendríticas e células tumorais, indicando que essa conexão se mostrou essencial para a citotoxicidade dessa linhagem linfocitária contra células tumorais (Tittarelli *et al.*, 2014).

Conforme previamente apresentado, as conexinas não atuam apenas sob a forma de canais juncionais, mas também sob a forma de hemicanais, que formam conexão entre o citoplasma e o ambiente extracelular. O bloqueio dos hemicanais de linfócitos T CD4⁺ pode diminuir a sua proliferação, supostamente pela interrupção do transporte de cisteína, crucial para manutenção do ambiente redutor necessário. Porém, estudos apontaram que a secreção de citocinas foi pouco afetada pelo

bloqueio das conexinas dos hemicanais, exceto a liberação de IL-17, que aumentou (OVIEDO-ORTA *et al.*, 2010).

Neste mesmo ambiente imunológico, linfócitos T regulatórios (Treg) compõem um subgrupo de células que modulam a tolerância do sistema imunológico, controlando reações alérgicas, infecciosas, tumorais e autoimunes. As suas atividades supressoras à auto reatividade dependem da transferência de AMPc para as células-alvo, processo dependente de acoplamento via junções comunicantes, conforme demonstrado em linfócitos T CD4⁺ ativados que formaram junções com os linfócitos Treg (Bopp *et al.*, 2007).

Entre os subgrupos de linfócitos T CD4⁺, podemos destacar as células Th0, Th1 e Th2, que expressam Cx43 e formam junções comunicantes funcionais com macrófagos, com destaque para o subgrupo Th1, que apresenta as maiores taxas de expressão e comunicação intercelular. Esse achado fortalece a importância da participação das conexinas nas interações imunológicas (Bermudez-Fajardo *et al.*, 2007).

Apresentando comportamento similar às células dendríticas previamente discutidas, macrófagos em cultura precisam de estímulo simultâneo de duas citocinas inflamatórias para apresentar acoplamento juncional e aumento da expressão de Cx43. A comunicação via *gap junctions* pode facilitar a transmigração dos monócitos pela barreira hematoencefálica e o seu bloqueio reduz a secreção de metaloproteinase-2 (Eugenín *et al.*, 2003).

Por outro lado, Fortes e colaboradores (2004) demonstraram que as junções comunicantes eram presentes e funcionais em macrófagos, mesmo sem a necessidade de qualquer ativação com fatores pró-inflamatórios. Neste mesmo trabalho, o grupo demonstrou a interação entre a estrutura e o funcionamento das junções comunicantes com o receptor de membrana P2X₇, que quando ativado por ATP extracelular, promove a abertura de poros na membrana e a liberação de citocinas. Na linhagem macrófágica J774-G8, culturas dessensibilizadas para o ATP extracelular não eram capazes de se acoplar funcionalmente, diferente das células sensíveis, apesar de ambas expressarem Cx43. As culturas sensibilizadas concentravam a Cx43 na sua membrana, formando os canais juncionais, enquanto as

dessensibilizadas apresentaram a proteína apenas em compartimentos citosólicos (Fortes *et al.*, 2004).

Macrófagos alveolares residentes podem realizar comunicação juncional com células do epitélio alveolar através de Cx43 (Beckmann *et al.*, 2020). Em pulmões, é possível encontrar duas populações distintas de macrófagos alveolares residentes: uma que expressa altas concentrações de Cx43 e outra que pouco expressa essa proteína, estando esse fenômeno diretamente relacionado às taxas de acoplamento ao epitélio alveolar. Este grupo também mostrou que as junções comunicantes heterocelulares têm efeito protetivo, evidenciado pelos maiores níveis de inflamação e dano tecidual observados em macrófagos alveolares advindos de animais *knock-out* para Cx43. Em adição a estes achados, supõe-se que os macrófagos aderentes transmitam sinais imunossupressores (Westphalen *et al.*, 2014).

6.2 JUNÇÕES COMUNICANTES E HEMICANAIS DE CONEXINA NOS PROCESSOS PATOLÓGICOS: PARTICIPAÇÃO E IMPORTÂNCIA

A resposta imunológica contra fenômenos patogênicos requer alto nível de coordenação e comunicação entre os atores envolvidos. Proteínas presentes na membrana plasmática podem se organizar e formar uma estrutura supramolecular chamada Sinapse Imunológica (Dustin; Chakraborty; Shaw, 2010). Uma sinapse imunológica é frequentemente formada entre uma célula apresentadora e um linfócito no momento da apresentação do antígeno ou entre um linfócito (linfócito T ou NK) e a célula alvo tumoral ou infectada no momento da indução da morte celular (Tittarelli *et al.*, 2020). Neste contexto, hemicanaís de conexina também podem fazer parte desse complexo de apresentação e ativação imunológica (MENDOZA-NARANJO *Et Al.*, 2007).

Há aproximadamente 20 anos atrás, Oviedo-Orta e Evans sugeriram pela primeira vez que as junções comunicantes participavam das SIs (Oviedo-Orta; Evans, 2002; Tittarelli *et al.*, 2020). A partir disso, muitos trabalhos se dedicaram a investigar os mecanismos dessa relação e o potencial terapêutico da modulação das *gap junctions* e expressão das conexinas.

Benlalam e colaboradores (2013) e Hofman e colaboradores (2019) trazem importantes análises sobre a participação das junções comunicantes, em particular, da Cx43 na interação de células de melanoma com o sistema imunológico. O primeiro

trabalho demonstrou a formação de junções comunicantes *in vivo* entre células tumorais e endoteliais, entre linfócitos T e células-alvo tumorais e como a comunicação intercelular via junções comunicantes contribuiu para a ativação e expansão clonal de linfócitos T *naïve* mediante exposição antigênica (Benlalam *et al.*, 2013).

A droga dacarbazina, classicamente utilizada no tratamento do melanoma maligno metastásico (Al-Badr; Alodhaib, 2016), foi capaz de aumentar a formação de junções comunicantes *in vitro* enquanto curiosamente diminuiu a expressão de Cx43. Associado a este achado, o fator IFN- γ e o estresse hipoxítico também estimularam a formação de junções comunicantes (Benlalam *et al.*, 2013). Vale ressaltar que a hipóxia é uma característica presente e importante nos tumores sólidos e está relacionada com a progressão e resistência da doença (Vaupel; Mayer, 2007).

Também foi demonstrado que apesar da expressão de Cx43 não ser capaz de interferir diretamente na lise da célula tumoral por linfócitos T, a inibição da formação de junções comunicantes leva a menor ativação de linfócitos T CD8⁺ específicos para antígenos tumorais (Benlalam *et al.*, 2013). Hofman *et al* (2019) demonstrou o papel da formação de junções comunicantes formadas pela Cx43 na lise de células tumorais de melanoma, sugerindo que a redução na expressão da proteína seja um importante mecanismo de evasão imunológica usado por células tumorais, ou até mesmo infectadas.

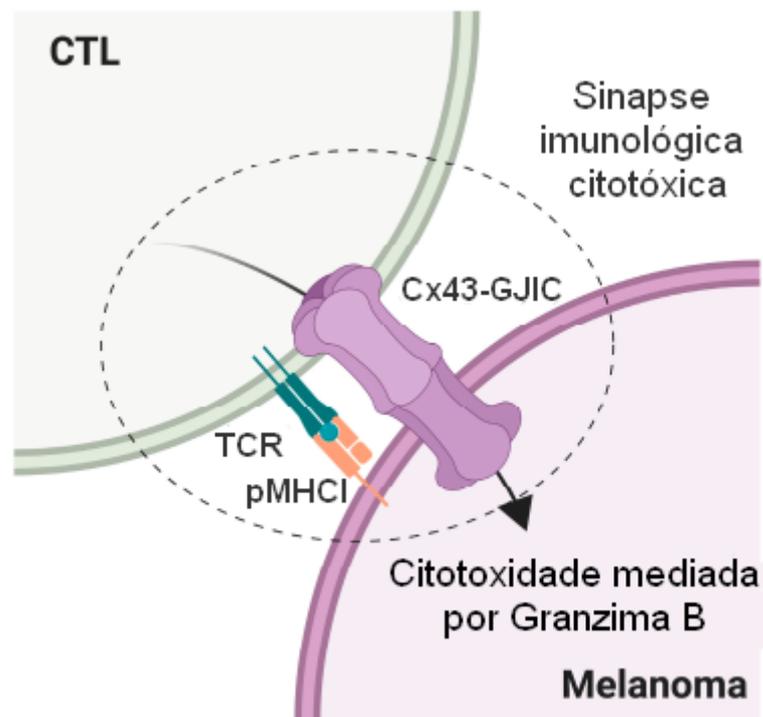
A conexina 43 se acumula na sinapse imunológica entre linfócitos T e células dendríticas, interação responsável pela ativação dos linfócitos. O recrutamento da proteína para as regiões da membrana de contato entre as duas células depende da integridade da rede de actina do citoesqueleto (Mendoza-Naranjo *et al.*, 2007).

Segundo Mendoza-Naranjo e colaboradores (2007), as junções comunicantes são essenciais para a transferência de antígenos tumorais provenientes do melanoma entre células dendríticas, fato comprovado pela interrupção dessa transferência mediante bloqueio específico da Cx43. Esse achado tem grande relevância para a área da imunoterapia, que busca tratar o câncer pelo “treinamento” do sistema imunológico com o uso de vacinas. A ausência de comunicação entre células apresentadoras de antígenos inviabiliza tal terapia, o que torna necessária a

compreensão dos fatores que modulam a expressão das conexinas, bem como a formação de junções funcionais nessas linhagens.

Linfócitos T e NK exercem seu papel protetivo ao induzir morte às células afetadas por introdução de grânulos repletos de substâncias citotóxicas, como perforina e granzima B (Hay; Slansky, 2022). As junções comunicantes formadas na região da sinapse imunológica possibilitam o transporte de sinalizadores moleculares como o íon Ca^{2+} , necessário para a secreção dos grânulos supracitados (figura 24) (Hofmann *et al.*, 2019).

Figura 24 – Esquema da sinapse imunológica formada entre linfócito T citotóxico e célula derivada de melanoma



Fonte: Traduzida de Hofmann *et al.*, 2019.

Patologias que atingem o sistema hemodinâmico e cardiovascular, como a hipertensão arterial, envolvem o sistema imunológico por ativação da inflamação, que contribui significativamente para a patogênese da doença (Boos; Lip, 2006). O distúrbio no equilíbrio entre os diferentes subgrupos efetores e reguladores de linfócitos T e a secreção de citocinas pró-inflamatórias por essas células orquestram o processo inflamatório de baixo grau que se instaura e contribui para a progressão e desenvolvimento da doença (Ni; Li; *et al.*, 2018).

A produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e INF- γ apresenta relação direta com a expressão das Cx43 e Cx40 em linfócitos T obtidos de pacientes e animais hipertensos (Ni; Zhang; *et al.*, 2017; Ni; Li; *et al.*, 2018). Nestes estudos, o sulfeto de hidrogênio (H₂S) foi relatado por apresentar efeitos protetivos para o sistema cardiovascular, dada a sua função anti-inflamatória e anti-hipertensiva. Ni e colaboradores (2018) sugerem que tais efeitos sejam causados pela capacidade da molécula de modular negativamente a expressão de Cx43.

Ainda neste cenário, hormônios esteroides como o estrogênio podem apresentar atividade anti-hipertensiva e anti-inflamatória, oferecendo assim proteção cardiovascular e renal. A suplementação da molécula sob a forma de β -estradiol apresenta mecanismos similares aos observados na utilização de H₂S, previamente mencionado, ao inibir o funcionamento das junções comunicantes, e conseqüentemente, a secreção de citocinas pró-inflamatórias em ratos machos hipertensos (Ni *et al.*, 2019).

O aumento na expressão das conexinas 43 e 46 na membrana plasmática de monócitos foi relacionado positivamente com o desenvolvimento da aterosclerose, doença caracterizada pela degeneração e inflamação crônica das artérias que se inicia mediante adesão macrófago-endotélio, associada à deposição de placas ateromatosas na parede dos vasos (Chen *et al.*, 2017). O aumento na expressão da Cx43 em particular foi capaz de elevar a expressão de proteínas de adesão em cultura de células (Yuan *et al.*, 2015). A partir destes experimentos, o mecanismo de ação proposto pelos autores que explica tal relação seria o de interação da porção carboxil-terminal da molécula de conexina com elementos de sinalização da célula, que no curso de sua cascata, afetam a expressão das mesmas.

Em contraste com a atividade aterogênica da Cx43, a Cx37, também expressa em macrófagos, exerce papel protetor, inibindo a adesão de monócitos ao endotélio. A lipoproteína de baixa densidade oxidada (ox-LDL) é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da doença, pois é capaz de modular positivamente a expressão de Cx43 e negativamente a expressão da Cx37. O alcalóide bioativo rutaercarpina é capaz de reverter esse efeito (Liu, Yong *et al.*, 2016).

Estudos confirmaram que o estabelecimento da síndrome do intestino irritável também depende da comunicação intercelular por meio das *gap junctions* (Martin, *et*

al., 1998). Na síndrome, observa-se uma reorganização das conexinas no plano celular. Indivíduos normais expressam Cx26 e 43 nas face apical e basolateral das células epiteliais intestinais (IECs), enquanto em IECs de indivíduos doentes, estas conexinas estão concentradas na face basolateral, sugerindo o aumento na comunicação entre as células epiteliais e os macrófagos infiltrados no tecido (Al-Ghadban *et al.*, 2016).

O trabalho de Riteau e colaboradores (2012) demonstrou que canais formados por conexinas são essenciais para a ativação de inflamassomas causados por partículas de ácido úrico, sílica e alumínio, como no caso de doenças como Gota e Silicose. Neste mesmo trabalho, foi demonstrado que a resposta pró-inflamatória provocada pelos macrófagos teciduais, mediante fagocitose de partículas exógenas, depende da sinalização purinérgica associada com as junções comunicantes, cujo bloqueio inviabiliza a secreção de ATP e interleucina-1 β .

A defesa contra doenças infecciosas envolve a detecção de PAMPs (padrões moleculares associados à patógenos) e DAMPs (padrões moleculares associados a danos) pelo sistema imune inato e a sua comunicação com outros elementos mais especializados, comunicação esta promovida pelos canais formados por conexinas. A comunicação via junções comunicantes pode ser rapidamente modulada (questão de segundos e minutos) através mudanças de voltagem transmembrana, concentração iônica e por fosforilação das conexinas participantes. O controle transcricional age de maneira mais tardia, controlando as taxas de expressão das proteínas formadoras dos canais, levando a efeitos que podem ser observados após horas de aplicação do estímulo em questão (Ceelen *et al.*, 2011).

O receptor do tipo Toll (TLR) é um dos tipos de receptores mais amplamente caracterizados do sistema imune inato e são capazes de iniciar complexas cascatas de sinalização que orquestram o processo inflamatório e a resposta imunológica (Kawasaki; Kawai, 2014). Um de seus papéis é controlar a expressão e fosforilação de conexinas durante sua ativação por reconhecimento de PAMPs e DAMPs. O estímulo de TLRs do tipo 2 por *Pseudomonas aeruginosa* em células epiteliais do trato respiratório levou ao aumento da comunicação intercelular via conexinas, permitindo o transporte de sinalizadores iônicos para células não estimuladas diretamente pelo patógeno, amplificando o processo inflamatório (Martin; Prince, 2008).

TRLs do tipo 4 também exercem controle sobre a comunicação intercelular quando ativado por DAMPs, como o difosfato de uridina (UDP). A ativação do TLR4 por UDP, entre outros efeitos, ativa a via de sinalização MAPK/ERK, que eleva a expressão de Cx43 em macrófagos, formando assim junções comunicantes funcionais que intensificam a secreção de UDP. A maior concentração desse nucleotídeo extracelular oferece efeito protetor contra infecção por *Escherichia coli* em modelos animais e celulares (Qin *et al.*, 2016).

Similarmente, Lu *et al.* (2018) demonstrou que a defesa inata mediada por macrófagos contra infecção por *Mycobacterium tuberculosis* depende de junções comunicantes. Macrófagos RAW264.7 em cultura apresentaram aumento na expressão de Cx37 e Cx43 e conseqüente aumento na comunicação intercelular, processo capaz de modular a secreção de fatores inflamatórios e controlar a morte celular por apoptose.

Os resultados supracitados evidenciam a importância das junções comunicantes no funcionamento adequado das células do sistema imunológico em situação fisiológica e patológica. Desde de mecanismos necessários para a ativação celular até os mecanismos efetores, as junções formadas por conexinas atuam, realizando a comunicação entre diferentes linhagens imune ou entre diferentes células da mesma linhagem. A participação Cx43 claramente se destaca em comparação às outras isoformas, graças a sua diversidade funcional e significativa expressão, não só no sistema imune mas em vários sistemas do organismo.

7. CONCLUSÃO

A capacidade das junções comunicantes de intermediar processos celulares como proliferação, migração, apoptose e processos patogênicos como a carcinogênese e inflamação evidencia o seu potencial em condições inflamatórias, neoplásicas e infecciosas. Alterações no padrão de expressão e disposição das conexinas nas células do sistema imunológico são estratégias terapêuticas promissoras que devem ser averiguadas.

O presente trabalho explorou o sistema imunológico humano e suas células, apresentou os mecanismos de funcionamento das junções comunicantes e evidenciou como esses dois elementos se interligam durante o estabelecimento e progressão de diversas patologias, resumizando assim o cenário atual da pesquisa científica da área.

O relativo baixo volume de publicações no intervalo estudado e a carência de trabalhos aplicados evidencia a necessidade de maior interesse e fomento para a realização de trabalhos que impulsionam o uso terapêutico das junções comunicantes na prática clínica.

REFERÊNCIAS

ABOU-MRAD, Z.; ALOMARI, S. O.; BSAT, S.; MOUSSALEM, C. K.; ALOK, K.; EL HOUSHIEMY, M. N.; ALOMARI, A. O.; MINASSIAN, G. B.; OMEIS, I. A. Role of connexins in spinal cord injury: An update. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, v. 197, p. 106102, out. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2020.106102>.

ABUL K. ABBAS; ANDREW H. LICHTMAN; SHIV PILLAI. **Imunologia Celular e Molecular**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

ADESSE, D.; GARZONI, L. R.; HUANG, H.; TANOWITZ, H. B.; DE NAZARETH MEIRELLES, M.; SPRAY, D. C. Trypanosoma cruzi induces changes in cardiac connexin43 expression. **Microbes and infection / Institut Pasteur**, v. 10, n. 1, p. 21–28, jan. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2007.09.017>.

ADESSE, D.; GOLDENBERG, R. C.; FORTES, F. S.; JASMIN; IACOBAS, D. A.; IACOBAS, S.; DE CARVALHO, A. C. C.; DE NARARETH MEIRELLES, M.; HUANG, H.; SOARES, M. B.; TANOWITZ, H. B.; GARZONI, L. R.; SPRAY, D. C. Gap Junctions and Chagas Disease. **Advances in parasitology**, v. 76, p. 63–81, 2011. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385895-5.00003-7>.

AL-BADR, A. A.; ALODHAIB, M. M. Dacarbazine. **Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology**, v. 41, p. 323–377, 2016. <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2015.12.002>.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; MORGAN, D.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P.; WILSON, J.; HUNT, T.; ANDRADE, A. E. B.; BIZARRO, C. V.; RENARD, G. **Biologia Molecular da Célula**. 6ª edição. [S. l.]: Artmed, 2017.

AL-GHADBAN, S.; KAISSI, S.; HOMAIDAN, F. R.; NAIM, H. Y.; EL-SABBAN, M. E. Cross-talk between intestinal epithelial cells and immune cells in inflammatory bowel disease. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 29783, 15 jul. 2016. <https://doi.org/10.1038/srep29783>.

ARAÚJO, J. A. P.; MESQUITA JR., D.; CRUVINEL, W. de M.; SALMAZI, K. I.; KALLÁS, E. G.; ANDRADE, L. E. C. Linfócitos Th17 e linfócitos T CD4+ multifuncionais em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 56, p. 28–36, fev. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.rbr.2015.08.008>.

ARORA, S.; HEYZA, J. R.; CHALFIN, E. C.; RUCH, R. J.; PATRICK, S. M. Gap Junction Intercellular Communication Positively Regulates Cisplatin Toxicity by Inducing DNA Damage through Bystander Signaling. **Cancers**, v. 10, n. 10, out. 2018. DOI 10.3390/cancers10100368. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6210410/>. Acesso em: 18 mar. 2024.

ATRI, C.; GUERFALI, F. Z.; LAOUINI, D. Role of Human Macrophage Polarization in Inflammation during Infectious Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 6, p. 1801, 19 jun. 2018. <https://doi.org/10.3390/ijms19061801>.

AXELSEN, L.; CALLOE, K.; HOLSTEIN-RATHLOU, N.-H.; NIELSEN, M. Managing the complexity of communication: regulation of gap junctions by post-translational

modification. **Frontiers in Pharmacology**, v. 4, p. 130, 2013.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00130>.

BARGIELLO, T. A.; OH, S.; TANG, Q.; BARGIELLO, N. K.; DOWD, T. L.; KWON, T. Gating of Connexin Channels by transjunctional-voltage: Conformations and models of open and closed states. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1860, n. 1, p. 22–39, jan. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.04.028>.

BECKMANN, A.; GRISSMER, A.; MEIER, C.; TSCHERNIG, T. Intercellular communication between alveolar epithelial cells and macrophages. **Annals of Anatomy = Anatomischer Anzeiger: Official Organ of the Anatomische Gesellschaft**, v. 227, p. 151417, jan. 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.aanat.2019.151417>.

BENLALAM, H.; CARRÉ, T.; JALIL, A.; NOMAN, Z.; CAILLOU, B.; VIELH, P.; TITTARELLI, A.; ROBERT, C.; CHOUAIB, S. Regulation of gap junctions in melanoma and their impact on Melan-A/MART-1-specific CD8⁺ T lymphocyte emergence. **Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)**, v. 91, n. 10, p. 1207–1220, out. 2013. <https://doi.org/10.1007/s00109-013-1058-5>.

BENNETT, M. V.; ALJURE, E.; NAKAJIMA, Y.; PAPPAS, G. D. Electrotonic junctions between teleost spinal neurons: electrophysiology and ultrastructure. **Science (New York, N.Y.)**, v. 141, n. 3577, p. 262–264, 19 jul. 1963.
<https://doi.org/10.1126/science.141.3577.262>.

BERMUDEZ-FAJARDO, A.; YLIHÄRSILÄ, M.; EVANS, W. H.; NEWBY, A. C.; OVIEDO-ORTA, E. CD4⁺ T lymphocyte subsets express connexin 43 and establish gap junction channel communication with macrophages in vitro. **Journal of leukocyte biology**, v. 82, n. 3, p. 608–612, set. 2007.
<https://doi.org/10.1189/jlb.0307134>.

BEYER, E. C.; BERTHOUD, V. M. Gap junction gene and protein families: Connexins, innexins, and pannexins. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1860, n. 1, p. 5–8, jan. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.05.016>.

BJÖRKSTRÖM, N. K.; STRUNZ, B.; LJUNGGREN, H.-G. Natural killer cells in antiviral immunity. **Nature Reviews Immunology**, , p. 1–12, 11 jun. 2021.
<https://doi.org/10.1038/s41577-021-00558-3>.

BLANTER, M.; GOUWY, M.; STRUYF, S. Studying Neutrophil Function in vitro: Cell Models and Environmental Factors. **Journal of Inflammation Research**, v. 14, p. 141–162, 2021. <https://doi.org/10.2147/JIR.S284941>.

BLOOMFIELD, S. A.; VÖLGYI, B. The diverse functional roles and regulation of neuronal gap junctions in the retina. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 7, p. 495–506, jul. 2009. <https://doi.org/10.1038/nrn2636>.

BOOS, C. J.; LIP, G. Y. H. Is hypertension an inflammatory process? **Current Pharmaceutical Design**, v. 12, n. 13, p. 1623–1635, 2006.
<https://doi.org/10.2174/138161206776843313>.

BOPP, T.; BECKER, C.; KLEIN, M.; KLEIN-HESSLING, S.; PALMETSHOFER, A.; SERFLING, E.; HEIB, V.; BECKER, M.; KUBACH, J.; SCHMITT, S.; STOLL, S.; SCHILD, H.; STAEGE, M. S.; STASSEN, M.; JONULEIT, H.; SCHMITT, E. Cyclic adenosine monophosphate is a key component of regulatory T cell-mediated suppression. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 204, n. 6, p. 1303–1310, 11 jun. 2007. <https://doi.org/10.1084/jem.20062129>.

BRANES, M. C.; CONTRERAS, J. E.; SÁEZ, J. C. Activation of human polymorphonuclear cells induces formation of functional gap junctions and expression of connexins. **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, v. 8, n. 8, p. BR313-323, ago. 2002. .

BUKAUSKAS, F. F.; VERSELIS, V. K. Gap junction channel gating. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1662, n. 1–2, p. 42, 23 mar. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2004.01.008>.

CAMPOS DE CARVALHO, A. C.; ROY, C.; HERTZBERG, E. L.; TANOWITZ, H. B.; KESSLER, J. A.; WEISS, L. M.; WITTNER, M.; DERMIETZEL, R.; GAO, Y.; SPRAY, D. C. Gap junction disappearance in astrocytes and leptomenigeal cells as a consequence of protozoan infection. **Brain Research**, v. 790, n. 1, p. 304–314, 20 abr. 1998. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)01523-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)01523-0).

CARVALHO, G. O. A. M. de; SOUZA, O. M. de J.; SOUZA, D. R.; SOUZA, R. do N. de; MELLO, T. M. de; GOLDENBERG, R. C. dos S.; SEABRA, S. H.; FORTES, F. da S. de A. Junction communication in the immune system: modulation of the GAP junctions by infection with *Toxoplasma gondii* / Comunicação juncional no sistema imunológico: modulação das junções GAP em infecção por *Toxoplasma gondii*. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 4165–4182, 20 jan. 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n1-281>.

CEELEN, L.; HAESEBROUCK, F.; VANHAECKE, T.; ROGIERS, V.; VINKEN, M. Modulation of connexin signaling by bacterial pathogens and their toxins. **Cellular and molecular life sciences: CMLS**, v. 68, n. 18, p. 3047–3064, set. 2011. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0737-z>.

CHAPLIN, D. D. Overview of the Immune Response. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 125, n. 2 Suppl 2, p. S3-23, fev. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.12.980>.

CHEN, L.; CHEN, Z.; GE, M.; TANG, O.; CHENG, Y.; ZHOU, H.; SHEN, Y.; QIN, F. Monocytic cell junction proteins serve important roles in atherosclerosis via the endoglin pathway. **Molecular Medicine Reports**, v. 16, n. 5, p. 6750–6756, nov. 2017. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7444>.

COOK, J. E.; BECKER, D. L. Gap junctions in the vertebrate retina. **Microscopy Research and Technique**, v. 31, n. 5, p. 408–419, 1995. <https://doi.org/10.1002/jemt.1070310510>.

CORVALÁN, L. A.; ARAYA, R.; BRAÑES, M. C.; SÁEZ, P. J.; KALERGIS, A. M.; TOBAR, J. A.; THEIS, M.; WILLECKE, K.; SÁEZ, J. C. Injury of skeletal muscle and specific cytokines induce the expression of gap junction channels in mouse dendritic

- cells. **Journal of Cellular Physiology**, v. 211, n. 3, p. 649–660, jun. 2007. <https://doi.org/10.1002/jcp.20971>.
- CRUVINEL, W. de M.; MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S. de; SILVA, N. P. da; ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, p. 434–447, ago. 2010. <https://doi.org/10.1590/S0482-50042010000400008>.
- DE SOUZA JUNIOR, D. A.; MAZUCATO, V. M.; SANTANA, A. C.; OLIVER, C.; JAMUR, M. C. Mast Cells Interact with Endothelial Cells to Accelerate In Vitro Angiogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, p. 2674, 13 dez. 2017. <https://doi.org/10.3390/ijms18122674>.
- DELMAR, M.; LAIRD, D. W.; NAUS, C. C.; NIELSEN, M. S.; VERSELIS, V. K.; WHITE, T. W. Connexins and Disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 10, n. 9, p. a029348, set. 2018. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029348>.
- DEWEY, M. M.; BARR, L. Intercellular Connection between Smooth Muscle Cells: the Nexus. **Science (New York, N.Y.)**, v. 137, n. 3531, p. 670–672, 31 ago. 1962. <https://doi.org/10.1126/science.137.3531.670-a>.
- DHEIN, S. Gap junction channels in the cardiovascular system: pharmacological and physiological modulation. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 19, n. 6, p. 229–241, jun. 1998. [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(98\)01192-4](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(98)01192-4).
- DONG, A.; LIU, S.; LI, Y. Gap Junctions in the Nervous System: Probing Functional Connections Using New Imaging Approaches. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 12, p. 320, 2018. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00320>.
- DONG, D.; XIE, W.; LIU, M. Alteration of cell junctions during viral infection. **Thoracic Cancer**, v. 11, n. 3, p. 519–525, mar. 2020. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.13344>.
- DUAN, L.; RAO, X.; SIGDEL, K. R. Regulation of Inflammation in Autoimmune Disease. **Journal of Immunology Research**, v. 2019, p. 7403796, 28 fev. 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/7403796>.
- DUSTIN, M. L.; CHAKRABORTY, A. K.; SHAW, A. S. Understanding the Structure and Function of the Immunological Synapse. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. 10, p. a002311, out. 2010. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002311>.
- ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA. Classes of immunoglobulins. [s. d.]. **Encyclopedia Britannica**. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/immune-system>. Acesso em: 20 out. 2021.
- EUGENÍN, E. A.; BRAÑES, M. C.; BERMAN, J. W.; SÁEZ, J. C. TNF-alpha plus IFN-gamma induce connexin43 expression and formation of gap junctions between human monocytes/macrophages that enhance physiological responses. **Journal of**

Immunology (Baltimore, Md.: 1950), v. 170, n. 3, p. 1320–1328, 1 fev. 2003.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.3.1320>.

EVANS, W. H. Cell communication across gap junctions: a historical perspective and current developments. **Biochemical Society Transactions**, v. 43, n. 3, p. 450–459, jun. 2015. <https://doi.org/10.1042/BST20150056>.

FABBRI, M.; SMART, C.; PARDI, R. T lymphocytes. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 35, n. 7, p. 1004–1008, 1 jul. 2003.
[https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(03\)00037-2](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(03)00037-2).

FALK, M. M.; BAKER, S. M.; GUMPERT, A. M.; SEGRETAIN, D.; BUCKHEIT, R. W. Gap Junction Turnover Is Achieved by the Internalization of Small Endocytic Double-Membrane Vesicles. **Molecular Biology of the Cell**, v. 20, n. 14, p. 3342–3352, 15 jul. 2009. <https://doi.org/10.1091/mbc.E09-04-0288>.

FERNANDO, M. M. A.; STEVENS, C. R.; WALSH, E. C.; DE JAGER, P. L.; GOYETTE, P.; PLENGE, R. M.; VYSE, T. J.; RIOUX, J. D. Defining the Role of the MHC in Autoimmunity: A Review and Pooled Analysis. **PLoS Genetics**, v. 4, n. 4, p. e1000024, 25 abr. 2008. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000024>.

FONSECA, P. C.; NIHEI, O. K.; URBAN-MALDONADO, M.; ABREU, S.; DE CARVALHO, A. C. C.; SPRAY, D. C.; SAVINO, W.; ALVES, L. A. Characterization of connexin 30.3 and 43 in thymocytes. **Immunology Letters**, v. 94, n. 1–2, p. 65–75, 15 jun. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2004.03.019>.

FORTES, F. S. A.; PECORA, I. L.; PERSECHINI, P. M.; HURTADO, S.; COSTA, V.; COUTINHO-SILVA, R.; BRAGA, M. B. M.; SILVA-FILHO, F. C.; BISAGGIO, R. C.; DE FARIAS, F. P.; SCEMES, E.; DE CARVALHO, A. C. C.; GOLDENBERG, R. C. S. Modulation of intercellular communication in macrophages: possible interactions between GAP junctions and P2 receptors. **Journal of Cell Science**, v. 117, n. 20, p. 4717–4726, 15 set. 2004. <https://doi.org/10.1242/jcs.01345>.

GALLO, R. L.; NIZET, V. Innate barriers against infection and associated disorders. **Drug discovery today. Disease mechanisms**, v. 5, n. 2, p. 145–152, 1 jun. 2008.
<https://doi.org/10.1016/j.ddmec.2008.04.009>.

GERARD J. TORTORA; BRYAN DERRICKSON. **Corpo Humano: fundamentos de anatomia e fisiologia**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

GOLDBERG, G. S.; VALIUNAS, V.; BRINK, P. R. Selective permeability of gap junction channels. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1662, n. 1–2, p. 96–101, 23 mar. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2003.11.022>.

GOODENOUGH, D. A.; PAUL, D. L. Gap Junctions. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 1, n. 1, p. a002576, jul. 2009.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002576>.

GÜIZA, J.; BARRÍA, I.; SÁEZ, J. C.; VEGA, J. L. Innexins: Expression, Regulation, and Functions. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 1414, 2018.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01414>.

- HAY, Z. L. Z.; SLANSKY, J. E. Granzymes: The Molecular Executors of Immune-Mediated Cytotoxicity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1833, 6 fev. 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms23031833>.
- HOFMANN, F.; NAVARRETE, M.; ÁLVAREZ, J.; GUERRERO, I.; GLEISNER, M. A.; TITTARELLI, A.; SALAZAR-ONFRAY, F. Cx43-Gap Junctions Accumulate at the Cytotoxic Immunological Synapse Enabling Cytotoxic T Lymphocyte Melanoma Cell Killing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4509, 12 set. 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20184509>.
- HUANG, G.; WANG, Y.; CHI, H. Regulation of TH17 cell differentiation by innate immune signals. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 9, n. 4, p. 287–295, jul. 2012. <https://doi.org/10.1038/cmi.2012.10>.
- IMANAGA, I.; HAI, L.; OGAWA, K.; MATSUMURA, K.; MAYAMA, T. Phosphorylation of connexin in functional regulation of the cardiac gap junction. **Experimental & Clinical Cardiology**, v. 9, n. 3, p. 161–164, 2004. .
- JARA, P. I.; BORIC, M. P.; SÁEZ, J. C. Leukocytes express connexin 43 after activation with lipopolysaccharide and appear to form gap junctions with endothelial cells after ischemia-reperfusion. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 92, n. 15, p. 7011–7015, 18 jul. 1995.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica - Texto e Atlas**. 14^a edição. RIO DE JANEIRO, RJ: Guanabara Koogan, 2023.
- KALE, A.; SHARMA, A.; STOLZING, A.; DESPREZ, P.-Y.; CAMPISI, J. Role of immune cells in the removal of deleterious senescent cells. **Immunity & Ageing**, v. 17, n. 1, p. 16, 3 jun. 2020. <https://doi.org/10.1186/s12979-020-00187-9>.
- KARRER, H. E. THE STRIATED MUSCULATURE OF BLOOD VESSELS : II. Cell Interconnections and Cell Surface. **The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**, v. 8, n. 1, p. 135–150, 1 set. 1960. <https://doi.org/10.1083/jcb.8.1.135>.
- KAWAI, T.; AKIRA, S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. **Nature Immunology**, v. 11, n. 5, p. 373–384, maio 2010. <https://doi.org/10.1038/ni.1863>.
- KAWASAKI, T.; KAWAI, T. Toll-Like Receptor Signaling Pathways. **Frontiers in Immunology**, v. 5, p. 461, 25 set. 2014. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00461>.
- KOTSIAS, F.; CEBRIAN, I.; ALLOATTI, A. Antigen processing and presentation. **International Review of Cell and Molecular Biology**. [S. l.]: Elsevier, 2019. v. 348, p. 69–121. DOI 10.1016/bs.ircmb.2019.07.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1937644819300681>. Acesso em: 18 out. 2021.
- KOVAL, M.; MOLINA, S. A.; BURT, J. M. Mix and match: Investigating heteromeric and heterotypic gap junction channels in model systems and native tissues. **FEBS letters**, v. 588, n. 8, p. 1193–1204, 17 abr. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.02.025>.

KRENACS, T.; VAN DARTEL, M.; LINDHOUT, E.; ROSENDAAL, M. Direct cell/cell communication in the lymphoid germinal center: connexin43 gap junctions functionally couple follicular dendritic cells to each other and to B lymphocytes. **European Journal of Immunology**, v. 27, n. 6, p. 1489–1497, jun. 1997. <https://doi.org/10.1002/eji.1830270627>.

KUMAGAI, Y.; AKIRA, S. Identification and functions of pattern-recognition receptors. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 125, n. 5, p. 985–992, maio 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.01.058>.

KUMAR, B. V.; CONNORS, T.; FARBER, D. L. Human T cell development, localization, and function throughout life. **Immunity**, v. 48, n. 2, p. 202–213, 20 fev. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.01.007>.

LAIRD, D. W.; LAMPE, P. D. Therapeutic strategies targeting connexins. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 17, n. 12, p. 905–921, dez. 2018. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.138>.

LAMPE, P. D. Analyzing phorbol ester effects on gap junctional communication: a dramatic inhibition of assembly. **The Journal of Cell Biology**, v. 127, n. 6 Pt 2, p. 1895–1905, dez. 1994. <https://doi.org/10.1083/jcb.127.6.1895>.

LAMPE, Paul D.; TENBROEK, E. M.; BURT, J. M.; KURATA, W. E.; JOHNSON, R. G.; LAU, A. F. Phosphorylation of Connexin43 on Serine368 by Protein Kinase C Regulates Gap Junctional Communication. **The Journal of Cell Biology**, v. 149, n. 7, p. 1503–1512, 26 jun. 2000. .

LANDSCHAFT, D. Gaps and barriers: Gap junctions as a channel of communication between the soma and the germline. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 97, p. 167–171, jan. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.09.002>.

LEONE, P.; SHIN, E.-C.; PEROSA, F.; VACCA, A.; DAMMACCO, F.; RACANELLI, V. MHC Class I Antigen Processing and Presenting Machinery: Organization, Function, and Defects in Tumor Cells. **JNCI Journal of the National Cancer Institute**, v. 105, n. 16, p. 1172–1187, 21 ago. 2013. <https://doi.org/10.1093/jnci/djt184>.

LIU, W.; CUI, Y.; WEI, J.; SUN, J.; ZHENG, L.; XIE, J. Gap junction-mediated cell-to-cell communication in oral development and oral diseases: a concise review of research progress. **International Journal of Oral Science**, v. 12, n. 1, p. 1–9, 12 jun. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0086-6>.

LIU, Y.; FU, Y.-Q.; PENG, W.-J.; YU, Y.-R.; WU, Y.-S.; YAN, H.; HUANG, Q.-R.; HE, M.; LUO, D. Rutaecarpine Reverses the Altered Connexin Expression Pattern Induced by Oxidized Low-density Lipoprotein in Monocytes. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 67, n. 6, p. 519–525, jun. 2016. <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000372>.

LO, C. W. Role of Gap Junctions in Cardiac Conduction and Development. **Circulation Research**, v. 87, n. 5, p. 346–348, 1 set. 2000. <https://doi.org/10.1161/01.RES.87.5.346>.

LU, Y.; WANG, X.-M.; YANG, P.; HAN, L.; WANG, Y.-Z.; ZHENG, Z.-H.; WU, F.; ZHANG, W.-J.; ZHANG, L. Effect of gap junctions on RAW264.7 macrophages infected with H37Rv. **Medicine**, v. 97, n. 35, p. e12125, ago. 2018. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012125>.

LUCACIU, S. A.; LEIGHTON, S. E.; HAUSER, A.; YEE, R.; LAIRD, D. W. Diversity in connexin biology. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 299, n. 11, p. 105263, 20 set. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105263>.

MARSHALL, J. S.; WARRINGTON, R.; WATSON, W.; KIM, H. L. An introduction to immunology and immunopathology. **Allergy, Asthma & Clinical Immunology**, v. 14, n. 2, p. 49, 12 set. 2018. <https://doi.org/10.1186/s13223-018-0278-1>.

MARTIN, C. A.; EL-SABBAN, M. E.; ZHAO, L.; BURAKOFF, R.; HOMAIDAN, F. R. Adhesion and cytosolic dye transfer between macrophages and intestinal epithelial cells. **Cell Adhesion and Communication**, v. 5, n. 2, p. 83–95, mar. 1998. <https://doi.org/10.3109/15419069809040283>.

MARTIN, F. J.; PRINCE, A. S. TLR2 regulates gap junction intercellular communication in airway cells. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 180, n. 7, p. 4986–4993, 1 abr. 2008. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.7.4986>.

MARTIN, P. E. M.; EVANS, W. H. Incorporation of connexins into plasma membranes and gap junctions. **Cardiovascular Research**, v. 62, n. 2, p. 378–387, 1 maio 2004. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2004.01.016>.

MARTINS-MARQUES, T.; HAUSENLOY, D. J.; SLUIJTER, J. P. G.; LEYBAERT, L.; GIRAIO, H. Intercellular Communication in the Heart: Therapeutic Opportunities for Cardiac Ischemia. **Trends in Molecular Medicine**, v. 27, n. 3, p. 248–262, 1 mar. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.10.002>.

MATSUE, H.; YAO, J.; MATSUE, K.; NAGASAKA, A.; SUGIYAMA, H.; AOKI, R.; KITAMURA, M.; SHIMADA, S. Gap junction-mediated intercellular communication between dendritic cells (DCs) is required for effective activation of DCs. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 176, n. 1, p. 181–190, 1 jan. 2006. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.1.181>.

MAZZINI, E.; MASSIMILIANO, L.; PENNA, G.; RESCIGNO, M. Oral tolerance can be established via gap junction transfer of fed antigens from CX3CR1⁺ macrophages to CD103⁺ dendritic cells. **Immunity**, v. 40, n. 2, p. 248–261, 20 fev. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.12.012>.

MENDOZA-NARANJO, A.; SAÉZ, P. J.; JOHANSSON, C. C.; RAMÍREZ, M.; MANDAKOVIC, D.; PEREDA, C.; LÓPEZ, M. N.; KIESSLING, R.; SÁEZ, J. C.; SALAZAR-ONFRAY, F. Functional gap junctions facilitate melanoma antigen transfer and cross-presentation between human dendritic cells. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 178, n. 11, p. 6949–6957, 1 jun. 2007. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.11.6949>.

MENG, J.-H.; CHEN, C.-X.; AHMADIAN, M. R.; ZAN, H.; LUO, K.-J.; JIANG, J. X. Cross-Activation of Hemichannels/Gap Junctions and Immunoglobulin-Like Domains in Innate–Adaptive Immune Responses. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 15 jul.

2022. DOI 10.3389/fimmu.2022.882706. Disponível em:
<https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2022.882706/full>. Acesso em: 5 mar. 2024.

MEŞE, G.; RICHARD, G.; WHITE, T. W. Gap junctions: basic structure and function. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 11, p. 2516–2524, nov. 2007. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700770>.

MIKALSEN, S.-O.; Í KONGSSTOVU, S.; TAUSEN, M. Connexins during 500 Million Years—From Cyclostomes to Mammals. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1584, 4 fev. 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22041584>.

NALIN M. KUMAR; NORTON B. GILULA. The Gap Junction Communication Channel. **Cell**, v. 84, n. 3, p. 381–388, 9 fev. 1996. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81282-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81282-9).

NEIJSSSEN, J.; PANG, B.; NEEFJES, J. Gap junction-mediated intercellular communication in the immune system. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 94, n. 1–2, p. 207–218, jun. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2007.03.008>.

NEWTON, K.; DIXIT, V. M. Signaling in Innate Immunity and Inflammation. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 4, n. 3, p. a006049, mar. 2012. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006049>.

NI, X.; LI, X.-Z.; FAN, Z.-R.; WANG, A.; ZHANG, H.-C.; ZHANG, L.; LI, L.; SI, J.-Q.; MA, K.-T. Increased expression and functionality of the gap junction in peripheral blood lymphocytes is associated with hypertension-mediated inflammation in spontaneously hypertensive rats. **Cellular & Molecular Biology Letters**, v. 23, p. 40, 2018. <https://doi.org/10.1186/s11658-018-0106-0>.

NI, X.; WANG, A.; ZHANG, L.; SHAN, L.-Y.; ZHANG, H.-C.; LI, L.; SI, J.-Q.; LUO, J.; LI, X.-Z.; MA, K.-T. Up-regulation of gap junction in peripheral blood T lymphocytes contributes to the inflammatory response in essential hypertension. **PloS One**, v. 12, n. 9, p. e0184773, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184773>.

NI, X.; ZHANG, L.; MA, X.; SHAN, L.-Y.; LI, L.; SI, J.-Q.; LI, X.-Z.; ZHANG, Y.-Y.; MA, K.-T. β -estradiol alleviates hypertension- and concanavalin A-mediated inflammatory responses via modulation of connexins in peripheral blood lymphocytes. **Molecular Medicine Reports**, v. 19, n. 5, p. 3743–3755, maio 2019. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10037>.

NI, X.; ZHANG, L.; PENG, M.; SHEN, T.-W.; YU, X.-S.; SHAN, L.-Y.; LI, L.; SI, J.-Q.; LI, X.-Z.; MA, K.-T. Hydrogen Sulfide Attenuates Hypertensive Inflammation via Regulating Connexin Expression in Spontaneously Hypertensive Rats. **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, v. 24, p. 1205–1218, 27 fev. 2018. <https://doi.org/10.12659/msm.908761>.

NIELSEN, M. S.; AXELSEN, L. N.; SORGEN, P. L.; VERMA, V.; DELMAR, M.; HOLSTEIN-RATHLOU, N.-H. Gap Junctions. **Comprehensive Physiology**, v. 2, n. 3, p. 10.1002/cphy.c110051, jul. 2012. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110051>.

OLLILA, J.; VIHINEN, M. B cells. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 37, n. 3, p. 518–523, mar. 2005.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2004.09.007>.

ORANGE, J. S.; BALLAS, Z. K. Natural killer cells in human health and disease. **Clinical Immunology**, v. 118, n. 1, p. 1–10, jan. 2006.
<https://doi.org/10.1016/j.clim.2005.10.011>.

ORRENIUS, S.; ZHIVOTOVSKY, B.; NICOTERA, P. Regulation of cell death: the calcium–apoptosis link. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 4, n. 7, p. 552–565, jul. 2003. <https://doi.org/10.1038/nrm1150>.

OVIEDO-ORTA, E.; GASQUE, P.; EVANS, W. H. Immunoglobulin and cytokine expression in mixed lymphocyte cultures is reduced by disruption of gap junction intercellular communication. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 15, n. 3, p. 768–774, mar. 2001. <https://doi.org/10.1096/fj.00-0288com>.

OVIEDO-ORTA, E.; HOY, T.; EVANS, W. H. Intercellular communication in the immune system: differential expression of connexin40 and 43, and perturbation of gap junction channel functions in peripheral blood and tonsil human lymphocyte subpopulations. **Immunology**, v. 99, n. 4, p. 578–590, abr. 2000.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2000.00991.x>.

OVIEDO-ORTA, Ernesto; ERRINGTON, R. J.; EVANS, W. H. Gap junction intercellular communication during lymphocyte transendothelial migration. **Cell Biology International**, v. 26, n. 3, p. 253–263, 2002.
<https://doi.org/10.1006/cbir.2001.0840>.

OVIEDO-ORTA, Ernesto; EVANS, W. H. Gap junctions and connexins: potential contributors to the immunological synapse. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 72, n. 4, p. 636–642, out. 2002. .

OVIEDO-ORTA, Ernesto; PERREAU, M.; EVANS, W. H.; POTOLICCHIO, I. Control of the proliferation of activated CD4+ T cells by connexins. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 88, n. 1, p. 79–86, jul. 2010. <https://doi.org/10.1189/jlb.0909613>.

PARKIN, J.; COHEN, B. An overview of the immune system. **The Lancet**, v. 357, n. 9270, p. 1777–1789, 2 jun. 2001. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04904-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04904-7).

PENG, B.; XU, C.; WANG, S.; ZHANG, Y.; LI, W. The Role of Connexin Hemichannels in Inflammatory Diseases. **Biology**, v. 11, n. 2, fev. 2022. DOI 10.3390/biology11020237. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8869213/>. Acesso em: 5 mar. 2024.

PERACCHIA, C.; WANG, X. G. Connexin domains relevant to the chemical gating of gap junction channels. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 577–590, maio 1997. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X1997000500003>.

PEREDA, A. E. Electrical synapses and their functional interactions with chemical synapses. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 15, n. 4, p. 250–263, abr. 2014.
<https://doi.org/10.1038/nrn3708>.

PIEHL, M.; LEHMANN, C.; GUMPERT, A.; DENIZOT, J.-P.; SEGRETAIN, D.; FALK, M. M. Internalization of Large Double-Membrane Intercellular Vesicles by a Clathrin-dependent Endocytic Process. **Molecular Biology of the Cell**, v. 18, n. 2, p. 337–347, fev. 2007. <https://doi.org/10.1091/mbc.E06-06-0487>.

PISTORIO, A. L.; EHRLICH, H. P. Modulatory effects of connexin-43 expression on gap junction intercellular communications with mast cells and fibroblasts. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 112, n. 5, p. 1441–1449, maio 2011. <https://doi.org/10.1002/jcb.23061>.

QIN, J.; ZHANG, G.; ZHANG, X.; TAN, B.; LV, Z.; LIU, M.; REN, H.; QIAN, M.; DU, B. TLR-Activated Gap Junction Channels Protect Mice against Bacterial Infection through Extracellular UDP Release. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 196, n. 4, p. 1790–1798, 15 fev. 2016. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1501629>.

REVEL, J. P.; KARNOVSKY, M. J. Hexagonal array of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver. **The Journal of Cell Biology**, v. 33, n. 3, p. C7–C12, jun. 1967. <https://doi.org/10.1083/jcb.33.3.c7>.

RITEAU, N.; BARON, L.; VILLERET, B.; GUILLOU, N.; SAVIGNY, F.; RYFFEL, B.; RASSENDREN, F.; LE BERT, M.; GOMBAULT, A.; COUILLIN, I. ATP release and purinergic signaling: a common pathway for particle-mediated inflammasome activation. **Cell Death & Disease**, v. 3, n. 10, p. e403–e403, out. 2012. <https://doi.org/10.1038/cddis.2012.144>.

ROBERTSON, J. D. Ultrastructure of excitable membranes and the crayfish median-giant synapse. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 94, p. 339–389, 6 set. 1961. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1961.tb35552.x>.

ROBERTSON, J. David. THE OCCURRENCE OF A SUBUNIT PATTERN IN THE UNIT MEMBRANES OF CLUB ENDINGS IN MAUTHNER CELL SYNAPSES IN GOLDFISH BRAINS. **The Journal of Cell Biology**, v. 19, n. 1, p. 201–221, 1 out. 1963. .

RODJAKOVIC, D.; SALM, L.; BELDI, G. Function of Connexin-43 in Macrophages. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 3, p. 1412, 30 jan. 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22031412>.

ROSALES, C. Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 113, 20 fev. 2018. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113>.

ROZENTAL, R.; CAMPOS-DE-CARVALHO, A. C.; SPRAY, D. C. Gap junctions in the cardiovascular and immune systems. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 365–368, abr. 2000. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2000000400001>.

SÁEZ, P. J.; SHOJI, K. F.; AGUIRRE, A.; SÁEZ, J. C. Regulation of hemichannels and gap junction channels by cytokines in antigen-presenting cells. **Mediators of Inflammation**, v. 2014, p. 742734, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/742734>.

SCERRI, I.; TABARY, O.; DUDEZ, T.; JACQUOT, J.; FOGLIA, B.; SUTER, S.; CHANSON, M. Gap junctional communication does not contribute to the interaction between neutrophils and airway epithelial cells. **Cell Communication & Adhesion**, v. 13, n. 1–2, p. 1–12, 2006. <https://doi.org/10.1080/15419060600631250>.

SCHROEDER, H. W.; CAVACINI, L. Structure and Function of Immunoglobulins. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 125, n. 2 0 2, p. S41–S52, fev. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.046>.

SEGRETAIN, D.; FALK, M. M. Regulation of connexin biosynthesis, assembly, gap junction formation, and removal. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1662, n. 1–2, p. 3–21, 23 mar. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2004.01.007>.

SILVERTHORN, D. U.; RIBEIRO, M. F. M.; KRAUSE, M. da S.; SCHENKEL, P. C. **Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada**. 7ª edição. [S. l.]: Artmed, 2017.

SINYUK, M.; MULKEARNS-HUBERT, E. E.; REIZES, O.; LATHIA, J. Cancer Connectors: Connexins, Gap Junctions, and Communication. **Frontiers in Oncology**, v. 8, p. 646, 2018. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00646>.

SJOSTRAND, F. S.; ANDERSSON-CEDERGREN, E.; DEWEY, M. M. The ultrastructure of the intercalated discs of frog, mouse and guinea pig cardiac muscle. **Journal of Ultrastructure Research**, v. 1, n. 3, p. 271–287, abr. 1958. [https://doi.org/10.1016/s0022-5320\(58\)80008-8](https://doi.org/10.1016/s0022-5320(58)80008-8).

SÖHL, G.; WILLECKE, K. Gap junctions and the connexin protein family. **Cardiovascular Research**, v. 62, n. 2, p. 228–232, 1 maio 2004. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.11.013>.

SOUZA, M. T. de; SILVA, M. D. da; CARVALHO, R. de. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **einstein (São Paulo)**, v. 8, p. 102–106, mar. 2010. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082010RW1134>.

STANFIELD, R. L.; WILSON, I. A. Antibody Structure. **Microbiology Spectrum**, v. 2, n. 2, abr. 2014. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.AID-0012-2013>.

TAYLOR, K. a; LITTLE, G.; GIBBINS, J. M. Mind the gap: connexins and pannexins in platelet function. **Platelets**, v. 32, n. 7, p. 888–894, 3 out. 2021. <https://doi.org/10.1080/09537104.2021.1902971>.

THORBECKE, G. J.; AMIN, A. R.; TSIAGBE, V. K. Biology of germinal centers in lymphoid tissue. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 8, n. 11, p. 832–840, ago. 1994. <https://doi.org/10.1096/fasebj.8.11.8070632>.

TITTARELLI, A.; MENDOZA-NARANJO, A.; FARÍAS, M.; GUERRERO, I.; IHARA, F.; WENNERBERG, E.; RIQUELME, S.; GLEISNER, A.; KALERGIS, A.; LUNDQVIST, A.; LÓPEZ, M. N.; CHAMBERS, B. J.; SALAZAR-ONFRAY, F. Gap junction intercellular communications regulate NK cell activation and modulate NK cytotoxic capacity. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 192, n. 3, p. 1313–1319, 1 fev. 2014. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301297>.

TITTARELLI, A.; NAVARRETE, M.; GLEISNER, M. A.; GEBICKE-HAERTER, P.; SALAZAR-ONFRAY, F. Connexin-Mediated Signaling at the Immunological Synapse. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 10, p. 3736, 25 maio 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21103736>.

TORONTO, C. E.; REMINGTON, R. (Orgs.). **A Step-By-Step Guide to Conducting an Integrative Review**. 2020^a edição. Cham: Springer, 2020.

VALDEBENITO, S.; BARRETO, A.; EUGENIN, E. A. The role of connexin and pannexin containing channels in the innate and acquired immune response. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1860, n. 1, p. 154–165, jan. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.05.015>.

VAUPEL, P.; MAYER, A. Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome. **Cancer Metastasis Reviews**, v. 26, n. 2, p. 225–239, jun. 2007. <https://doi.org/10.1007/s10555-007-9055-1>.

VEGA, J. L.; SUBIABRE, M.; FIGUEROA, F.; SCHALPER, K. A.; OSORIO, L.; GONZÁLEZ, J.; SÁEZ, J. C. Role of Gap Junctions and Hemichannels in Parasitic Infections. **BioMed Research International**, v. 2013, p. e589130, 23 out. 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/589130>.

VINKEN, M. Introduction: connexins, pannexins and their channels as gatekeepers of organ physiology. **Cellular and molecular life sciences : CMLS**, v. 72, n. 15, p. 2775–2778, ago. 2015. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-1958-3>.

VLIAGOFTIS, H.; HUTSON, A. M.; MAHMUDI-AZER, S.; KIM, H.; RUMSAENG, V.; OH, C. K.; MOQBEL, R.; METCALFE, D. D. Mast cells express connexins on their cytoplasmic membrane. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 103, n. 4, p. 656–662, abr. 1999. [https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(99\)70239-3](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(99)70239-3).

WANG, R.; JAW, J. J.; STUTZMAN, N. C.; ZOU, Z.; SUN, P. D. Natural killer cell-produced IFN- γ and TNF- α induce target cell cytolysis through up-regulation of ICAM-1. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 91, n. 2, p. 299–309, fev. 2012. <https://doi.org/10.1189/jlb.0611308>.

WESTPHALEN, K.; GUSAROVA, G. A.; ISLAM, M. N.; SUBRAMANIAN, M.; COHEN, T. S.; PRINCE, A. S.; BHATTACHARYA, J. Sessile alveolar macrophages communicate with alveolar epithelium to modulate immunity. **Nature**, v. 506, n. 7489, p. 503–506, 27 fev. 2014. <https://doi.org/10.1038/nature12902>.

WILLECKE, K.; EIBERGER, J.; DEGEN, J.; ECKARDT, D.; ROMUALDI, A.; GÜLDENAGEL, M.; DEUTSCH, U.; SÖHL, G. Structural and Functional Diversity of Connexin Genes in the Mouse and Human Genome. v. 383, n. 5, seç. *Biological Chemistry*, p. 725–737, 15 maio 2002. <https://doi.org/10.1515/BC.2002.076>.

WONG, P.; LAXTON, V.; SRIVASTAVA, S.; CHAN, Y. W. F.; TSE, G. The role of gap junctions in inflammatory and neoplastic disorders (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, v. 39, n. 3, p. 498–506, mar. 2017. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.2859>.

WYNN, T. A.; CHAWLA, A.; POLLARD, J. W. Origins and Hallmarks of Macrophages: Development, Homeostasis, and Disease. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 445–455, 25 abr. 2013. <https://doi.org/10.1038/nature12034>.

YEAGER, M.; UNGER, V. M.; FALK, M. M. Synthesis, assembly and structure of gap junction intercellular channels. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 8, n. 4, p. 517–524, ago. 1998. [https://doi.org/10.1016/s0959-440x\(98\)80131-0](https://doi.org/10.1016/s0959-440x(98)80131-0).

YU, F.; YAN, H.; NIE, W.; ZHU, J. Connexin43 knockdown in bone marrow-derived dendritic cells by small interfering RNA leads to a diminished T-cell stimulation.

Molecular Medicine Reports, v. 13, n. 1, p. 895–900, jan. 2016.

<https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4593>.

YUAN, D.; SUN, G.; ZHANG, R.; LUO, C.; GE, M.; LUO, G.; HEI, Z. Connexin 43 expressed in endothelial cells modulates monocyte-endothelial adhesion by regulating cell adhesion proteins. **Molecular Medicine Reports**, v. 12, n. 5, p. 7146–7152, nov. 2015. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4273>.