



ISSN:1306-3111

e-Journal of New World Sciences Academy
2010, Volume: 5, Number: 2, Article Number: 1B0018

MEDICAL SCIENCES

Received: October 2009

Accepted: March 2010

Series : 1B

ISSN : 1308-7312

© 2010 www.newwsa.com

Mehmet Tuzcu

Hasan Gençoğlu

Kazım Şahin

Firat University

mtuzcu@firat.edu.tr

Elazig-Turkey

KONNEKSİNLERİN HÜCRELER ARASI İLETİŞİMDEKİ ROLÜ (DERLEME)

ÖZET

Epitel, kas ve sinir dokuları ile daha birçok doku ve organda, hücrelerarası haberleşme ve homeostazın sağlanmasında komşu iki hücre arasında yer alan geçit bağlantıları (gap junctions) büyük önem taşır. Bu bağlantı bölgeleri ve bunları oluşturan proteinler "konneksinler" olarak adlandırılır ve tüm memeli hücrelerinde geniş bir yayılım gösterirler. Altı konneksin monomeri bir araya gelerek konneksin adı da verilen bir hemikanalı oluşturur. Farklı konneksin çeşitleri buldukları hücreyi bitişik bir konneksona bağlar ve hücreyi, hücreler arası iletişime (GJIC) hazır hale getirir. Son yıllarda yapılan çalışmalar hücreler arası homeostatik dengeyi, gap bağlantılarının yapısal öncülleri olan konneksinlerin ve ardından oluşan konneksinler veya hemikanalların hücreler arası iletişime (GJIC) bağımsız olarak etkileyebildiğini göstermektedir. Bu derlemede, konneksinlerin ve kanallarının rolü ile konneksin çeşitliliği ve bunların yaşam döngüleri ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: İntegral Membran Proteinleri, Hücreler Arası İletişim, Gap Bağlantıları, Konneksinler, Bağlantı Biyolojisi

THE ROLE OF CONNEXINS IN INTERCELLULAR COMMUNICATION (A REVIEW)

ABSTRACT

Gap junctions (GJ) are the most important cell-to-cell structures; that plays the role of intercellular communication and maintenance of cellular homeostasis in epithelium, muscle and neural tissues and also in more tissues and organs. These communication domains and also their composer proteins are called "connexins" and they show a wide range in all of the mammalian cells. Six connexin monomers join together and form a hemichannel called "connexon". The different types of connexons bind the cell to an adjacent connexon and make the cell ready for gap junctional intercellular communication (GJIC). In last year's, recent data of concerned experiments show that the structural precursors of gap junctions; connexins and in attendance connexons or hemichannels, can affect the cellular homeostatic balance independently of gap junctional intercellular communication (GJIC). In this review, the role of connexins and their channels with connexin diversity mentioned and also the cell cycle of them are discussed.

Keywords: Integral Membrane Proteins, Intercellular Communication, Gap Junctions, Connexins, Connection Biology

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

İnsan genomunun deşifre edilmesiyle birlikte, hücreler arası haberleşmede rol alan konneksin proteinleri gen familyasına ait dizilimler ortaya konmuştur. Çok çeşitlilik gösteren bu proteinler, kendilerine özgü sorumluluklarını elektriksel sinyallerin hücreler arasında yayılmasıyla küçük düzenleyici moleküllerin intraselüler geçişini kolaylaştırmak gibi bazı vital fonksiyonlar olarak yaparlar [1].

Boyanmış izole gap bağlantılarına ait elektron mikrograflarında kafes biçimli olarak bir kanalı saran hegzagonal yapılar şeklinde gözlenirler [2]. Farklı dokularda yer alan konneksin tipleri cDNA'lar kullanılarak tespit edilmiştir [3].

Konneksinler aşırı miktarlarda sentez edilmelerine rağmen yalnızca birkaç saatlik kısa yaşam periyoduna sahiptirler. Konneksin monomerlerinin gap bağlantılarını oluşturmak üzere hücreler arası kanalda bir araya gelmeleri birçok hücre içi faktörün etkisi altında olmaktadır [1].

Çoğu hücre tipinde konneksin ailesine ait moleküllerden birinin mutasyona uğraması veya sentezlenmemesi durumunda doku fonksiyonlarını sürdürebilecek alternatif mekanizmalar bulunmaktadır. Bununla birlikte son yıllarda yapılan sayısız çalışmada, konneksin proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar sonucunda şiddetli ve kronik seyirli hastalıkların oluşabileceği saptanmıştır. Birçok durumda tek nokta mutasyonları konneksinlerin bağlantı bölgelerine yeterli miktarda ve çeşitte internalize olamamaları nedeniyle dramatik sonuçlara neden olmaktadır [1].

2. ÇALIŞMANIN ÖNEMİ (RESEARCH SIGNIFICANCE)

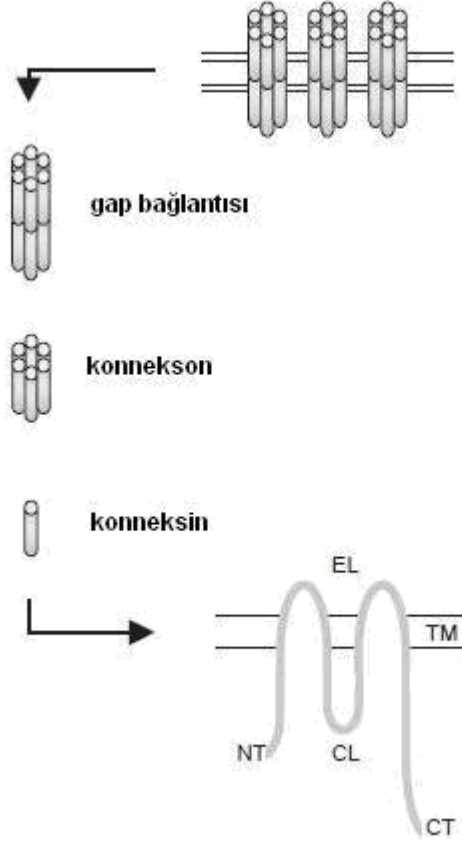
Bu çalışmada konneksinlerin yaşam döngüsü ve gap bağlantılarını oluşturmadaki fonksiyonlarının dışında bazı hastalıklardaki genetik rolleri ile birlikte kompensatif yönleri de ilgili literatürler doğrultusunda incelenerek ele alınmıştır. Çalışma, bu konuda yapılabilecek araştırmalara ve konuyla yakından ilgilenen kesimlere ışık tutması açısından önem arz etmektedir.

3. HÜCRELERARASI BAĞLANTI BÖLGELERİ BİYOLOJİSİ VE KONNEKSİNLER (BIOLOGY OF INTERCELLULAR CONNECTION DOMAINS AND CONNEXINS)

Vertebrallı canlılarda hücreleri birbirine bağlayan geçit (bağlantı) bölgeleri; sayısal, yapısal ve fonksiyonel olarak birbirinden farklılıklar gösterebilir. Bu bağlantı bölgeleri, gerek hücreler arası iletişimi ve korelasyonu, gerekse hücrelerin birbirlerine tutunarak doku oluşumunu ortaya koymalarını sağlamada görev alırlar. Komşu hücreler arası bağlantılar yüksek yapılı insan ve hayvan organizmalarında çeşitlilik gösterirler. Bunlara kısaca değinecek olursak:

- **Sıkı Bağlantı Bölgeleri (Tight Junctions);** görevleri epitelyum dokulardaki hücrelerin birbirlerine sıkıca yapışmalarını sağlayarak dokuları bir arada tutmak olan, sıkı bağlantı bölgeleri, 3 zincirli kollajen liflerden oluşurlar. Bunlar, yapıştırdıkları hücrelerin madde alışverişini etkilemez ve kendi içlerinden ise çok az miktarda çözünmüş materyalin geçebilmesine olanak tanırlar [3].
- **Desmozomlar (Desmosomes);** bir tür hücre-hücre yapışma bölgeleridir. Her bir hücre, kendi iç filamentleriyle de bitişik olan bir protein kitlesi oluşturur ve bu protein kitlesi diğer hücrenin oluşturduğu kitle ile birleşir. Epitelyum hücrelerinin arasında oluşan bu bağlantılara örnek olarak ince bağırsak lümeninin astarlanması gösterilebilir [3].

- **Hemidesmozomlar (Hemidesmosomes)**, epitelyum hücrelerinin bazal laminaya tutunmalarını sağlayan yapılar olup, hücre-hücre bağlantılarının farklı bir biçimini oluştururlar. Bundan dolayı tam olarak desmozom değildirler [3].
- **Gap Bağlantıları (Gap Junctions)**; yapısı konneksinler tarafından oluşturulan hücreler arası geçiş kanallarıdır. Altı adet konneksin monomeri bir araya gelerek ortasında boşluk bulunan kanalcıklardan kurulu bir konneksonu (hemi-kanalı) oluşturur. Bitişik hücrelerdeki konneksonlar birbirleriyle kenetlenerek tamamlanan geçiş kanallarını meydana getirirler (Şekil 1).



Şekil 1. Konneksinlerin yapısı [4]
(Figure 1. The structure of connexins [4])

3.1. Transmembran Proteinleri ve Konneksinler (Transmembrane Proteins and Connexins)

Transmembran proteinleri, yapısal olarak konneksinlerle aynı aileden olsalar da işlevsel olarak konneksinlerin oluşturduğu neksus adı da verilen hemikanallarda olduğu gibi iki farklı membrandan geçmez ve iki ayrı sitosöle ulaşmazlar.

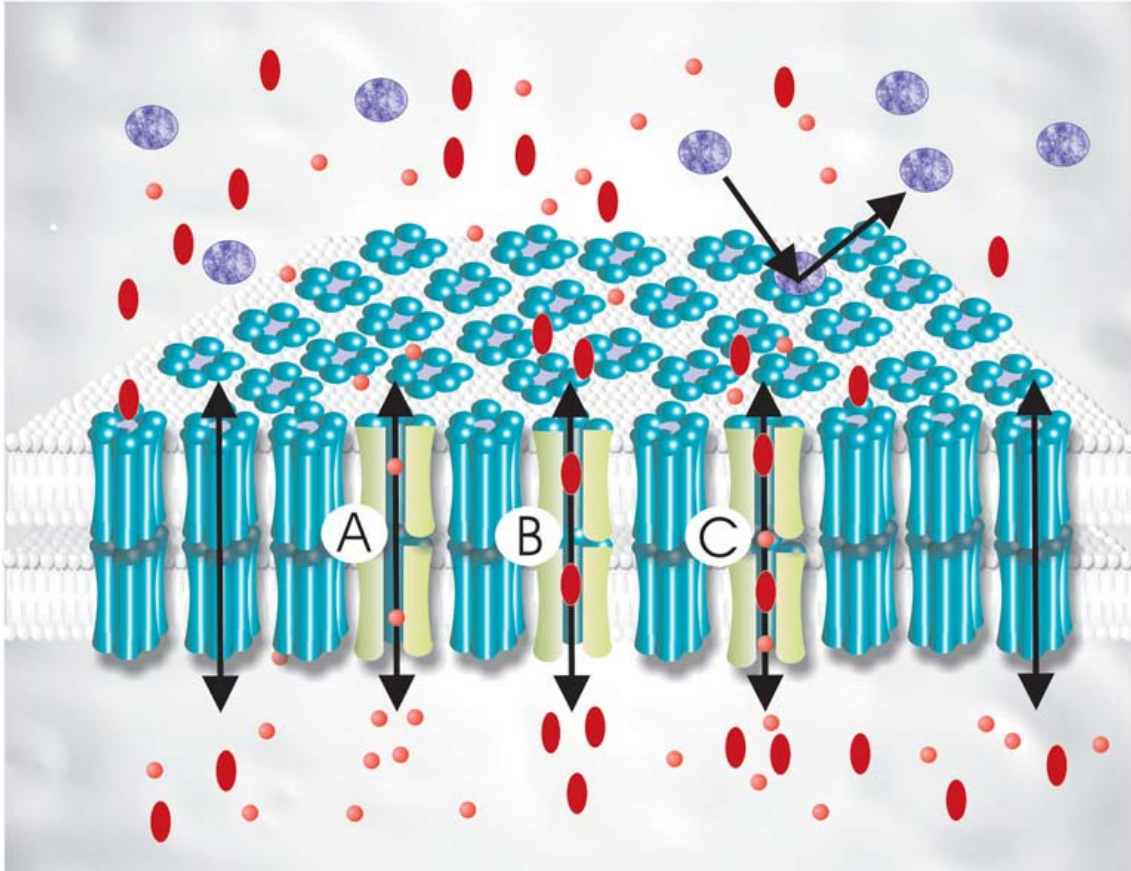
Transmembran proteinlerden olan integrinler; hücreler arasında ve hücreler ile ekstrasellüler ortamdaki proteinler arasında iletişim sağlayan, heterodimerik proteinler olup, plazma membranına her bir tekli alt ünitesinde bulunan transmembran heliks ile tutunan proteinlerdir. Alfa ve beta yapılarından her biri geniş bağlanma bölgelerine sahiptir ve kollajen, fibronektin gibi ekstrasellüler proteinler için bağlanma bölgeleri oluştururlar [5].

Konneksinlerin polipeptid zincirleri, hücre membranını dört defa geçerek iki ekstrasellüler bağ kazandırdıkları gibi (EL-1 ve EL-2) aynı zamanda bunlar sitoplazmada açığa çıkan hem N-terminal hem de C-

terminalin ikisine de sahip olan bir sitoplazmik bağı da (CL) kullanarak kendilerine yol açarlar. Bu yapıları itibariyle politopik integral membran proteinleri olarak görev yaparlar [1]. Bu proteinlerin adlandırılmaları ve dolayısıyla saptanan ağırlıklarına (kilodalton, KDa) denk gelen sayılar yanlarına yazılarak belirtilir. Örneğin doku ve organlarda en fazla rastlanılan konneksin 43 (Cx43) 43 kilodaltona karşılık gelir. Konneksinlerin büyüklüklerinin tespit edilmesi onların sınıflandırılma ölçütüdür. Membran proteinleri, aminoasit dizilimleri nedeniyle membran içerisinde iplik ilmekleri şeklinde yerleşerek ekstrasellüler ve intrasellüler yapılar oluştururlar. Bu yerleşim biçimleri konneksinlerin topolojilerini oluşturur (Şekil 1). Bu oluşum, birçok araştırmacı tarafından Cx43, Cx26 ve Cx32 için doğrulanmıştır [6, 7 ve 8].

3.2. Bağlantı Geçidi Proteinleri Olarak Konneksinler (Connexins As Gap Junctional Proteins)

Hücreler arası bağlantı geçitleri (Gap Junctions), sayıları birkaç taneden yüzlerce kümelere ulaşan konneksinlerin birbirine sıkıca sarılmasıyla oluşan bölgelerdir. Komşu hücreler arasında oluşan bu kanalcıklardan, küçük moleküllerin yer değişimi sağlanır. Bu kanallar, 1 KDa'ı aşmayan küçük ve uzamış şekilli küçük moleküllere veya bunların kombinasyonlarına geçirgen olabilir (Şekil 2-A-B-C). Bununla birlikte trans-konneksiyonel moleküldeki değişimler ayrıca geçirgenlik karakteristiklerini de yönetir. Tüm kanallar aynı olmamakla beraber genelde 1 KDa'ı aşan molekülleri içeriye almama özelliğine sahiptirler (Şekil 2), [1 ve 9].



Şekil 2. Konneksinlerden moleküler geçiş [1]
(Figure 2. Molecular transport from the connexins [1])

Hemen her memeli hücre tipinde görülen bu bağlantı bölgelerinin en önemli özelliği hücreler arası iletişimi (GJIC Gap junctional intercellular communication) sağlamalarıdır. Bu bağlantı geçitlerinin çeşitliliği ve dokulardaki yayılımları, farede 20 ve insanda 21 konneksin üyesinin bulunduğu düşünüldüğünde açık bir şekilde görülür (Tablo 1), [1, 10 ve 11].

Tablo 1. Bazı homolog konneksinler [1]
(Table 1. Some homologous connexins [1])

Fare Konneksinleri	İnsan Konneksinleri
Cx23	Cx23
-	Cx25
Cx26	Cx26
Cx29	Cx30.2
Cx30	Cx30
Cx30.2	Cx31.9
Cx30.3	Cx30.3
Cx31	Cx31
Cx31.1	Cx31.1
Cx32	Cx32
Cx33	-
Cx36	Cx36
Cx37	Cx37
Cx39	Cx40.1
Cx40	Cx40
Cx43	Cx43
Cx45	Cx45
Cx46	Cx46
Cx47	Cx47
Cx50	Cx50
-	Cx59
Cx57	Cx62

Bağlantı kanalları konneksin ailesi üyeleriyle toplandığı zaman, 1 KDa'dan küçük metabolitlerin hücrelerarası yer değişiminde ve ikinci haberciler ile elektrik sinyallerinin iletiminde görev alırlar. Bu işlevin değişimi ise konneksinlerin herhangi bir hücre tipinde bulunan çeşidine bağlıdır [1 ve 12].

Konneksinlerin, bazı kanallarda değişmekle beraber genellikle 1 KDa'u aşan molekülleri içeriye almama özellikleri vardır. Şekil ve yapıca farklı boyutlardaki küçük moleküllerin, belirgin biçimde farklı gap bağlantısı kanal alt tiplerinden geçişleri, geniş bir moleküler seçim çeşitliliğine sahiptir [1]. İkinci haberciler ve küçük metabolitler, bir hücreden diğerine direkt olarak geçebilmektedir. Çoklu geçiş molekülleri ise, siklik adenozin monofosfat (cAMP), inositol-3-fosfat (InsP3), adenozin, ADP ve ATP olarak adlandırılabilir [1, 13 ve 14].

Konneksin alt birimlerinin aynı kanal içinde birbirine karıştığı bilinmektedir. Bu olay konneksin bağlantılı otozomal resesif ve dominant hastalıklarla birleşmiş mekanizmalar göz önüne alındığında, daha da önemli olmaktadır [1].

4. KONNEKSİN EKSPRESYONUNUN ÇEŞİTLİLİĞİ (DIVERSITY OF CONNEXIN EXPRESSION)

Çok sayıda konneksinin varlığı belirlenmesine rağmen, hücre ve doku yayılımlarında bu proteinlerin üst üste yerleşmiş oldukları bilgisi son zamanlarda ortaya konmuştur. Yapılan çalışmaların amacı, tüm hücre ve doku tiplerinde konneksin bilgi değerliliğinin zamanla gelişmesini sağlamaktır. Bu protein ailesinde öne çıkan belli başlı üç prensip vardır [1].

İlk olarak, birçok doku ve hücre tiplerinde iki veya daha fazla konneksin ailesi üyesi açıkça eksprese edilir. Örneğin; keratinositler; Cx26, Cx30, Cx30.3, Cx31, Cx31.1, Cx40, Cx43 ve Cx45'de [1, 15 ve 16] ile kardiyomyositler Cx40, Cx43 ve Cx45'de ve hepatositler ise, Cx26 ve Cx32'de ifade edilirler [1 ve 17], [Tablo 2].

Tablo 2. Fare konneksinlerinin tespit edildiği bazı dokular [1]
(Table 2. Some tissues that mouse connexins determined in [1])

Fare Konneksinleri	Temsil Edilen Doku/Organ	Temsil Edilen Hücre Tipi
Cx26	Karaciğer, deri	Hepatositler, keratinositler
Cx29	Beyin	Oligodendrisitler
Cx30	Deri	Keratinositler
Cx30.2	Testis	Düz kas hücreleri
Cx30.3	Deri	Keratinositler
Cx31	Deri	Keratinositler
Cx31.1	Deri	Keratinositler
Cx32	Karaciğer, sinirler	Hepatositler, Schwann hücreleri
Cx33	Testis	Sertoli hücreleri
Cx36	Retina, sinirler	Nöronlar
Cx37	Kan damarları	Endotelial hücreler
Cx39	Gelişen kas	Miyositler
Cx40	Kalp, deri	Kardiyomyositler, keratinositler
Cx43	Kalp, deri	Kardiyomyositler, keratinositler
Cx45	Kalp, deri	Kardiyomyositler, keratinositler
Cx46	Göz merceği	Mercek fibrilleri
Cx47	Nöronlar	Oligodendrisitler
Cx50	Göz merceği	Mercek fibrilleri
Cx57	Retina	Yatay hücreler

Aynı hücre tipi içerisindeki çoklu konneksin ailesi üyelerinin ko-ekspresyonu, olası telafi edici mekanizmalarda bir konneksin ailesi üyesinin kaybını ya da mutasyonunu önleyebilir. Bu prensip konneksin- gen ayırma çalışmalarında etkili biçimde ortaya konmuştur. Konneksin ailesi üyeleri arasında herhangi bir telafi edici mekanizmanın olmadığına dair yapılan çalışmalar, hastalığın yaygınlığının veya anormal bir gelişimi belirleyen çalışmalardan daha fazladır. Yapılan bir çalışmada, yatay hücrelerle sınırlandırılmış yapıdaki Cx57 proteininin etkisiz hale getirildiği (knock-out) farelerde, herhangi bir davranışsal dengesizliğe yada belirgin bir anatomik defekte neden olmaması, bu durumun bilinmeyen bir konneksin tarafından ortaya konan olası bir telafi edici mekanizmadan kaynaklandığına işaret etmektedir [1].

Başka bir durumda, mutasyon sonucu işlevini yitiren Cx26 defektli insanlarda sağırılık görülürken, hepatositlerden ko-eksprese edilen Cx26 ve Cx32 'ye ilişkin herhangi bir karaciğer hastalığının görülmediği rapor edilmiştir [1, 18, 19 ve 20].

Konneksin davranışının ikinci prensibi; iki veya daha fazla konneksinin aynı hücreden ko-eksprese edilmesi ve kanalları

düzenleyebilmesi mümkün olsa da, her zaman için bir konneksin ailesi üyesinin kaybını veya mutasyonunu telafi edemez [1].

Bu durum insan derisinde şöyle açıklanabilir: Cx26'nın bir alt birimine ait mutasyon veya fonksiyon kaybının insanda sağırılığa yol açmasının yanı sıra epidermin, konneksin ailesi üyelerince zengin ve çoklu üyelere sahip olmasına karşın cilt hastalıklarına da neden olduğu ortaya konmuştur [1 ve 21].

Üçüncü dikkate değer gözlem ise; memelilerdeki konneksin ekspresyonu çalışmalarından ve özellikle de Cx43 ekspresyonundan ileri gelmektedir. Cx43'ün endojen olarak, içerisinde keratinositlerin, astrositlerin, endotelial hücrelerin, düz kas hücrelerinin ve aralarında birçoğunun da bulunduğu yaklaşık olarak 35 farklı hücre tipiyle kuşatılmış biçimde 35 farklı dokuda bulunduğu bilinmektedir (Tablo 3), [1].

Tablo 3. Konneksin 43 bulunan doku ve hücreler
(Table 3. Tissue and cell distribution of connexin 43)

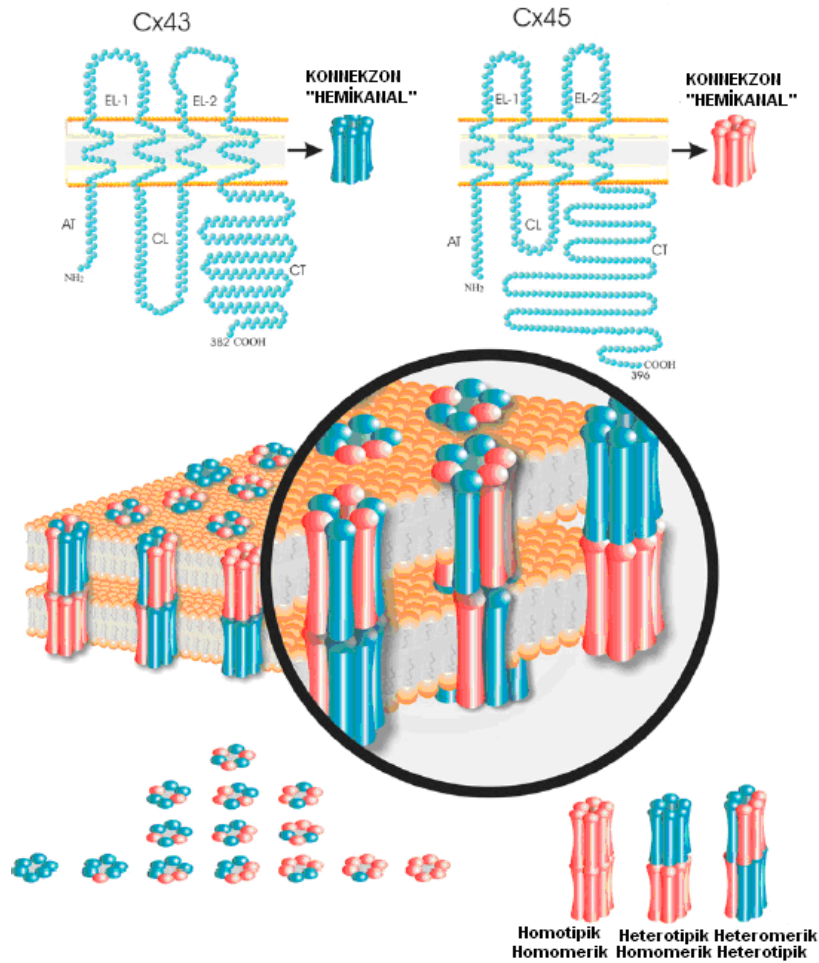
Doku	Temsil Edilen Hücre tipi
Kardiyak	Kardiyomiyositler, düz kas hücreleri
Oral kavite	Keratinositler
Ovaryum	Granüloza hücreleri
Uterus	Miyomertriyal hücreler
Yumurta kanalı	Epitelial hücreler, düz kas hücreleri
Meme bezi	Epitelial hücreler
Akciğer	Alveolar epitelial hücreler
Trake	Düz kas hücreleri
Kemik	Osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler
Kıkırdak	Kondrositler
Böbrek	Vasküler ve glomerüler hücreler
Mesane	Subürotelial intersistiyal hücreler, düz kas hücreleri
Retina	Retinal gliyal hücreler
Timus	Timus epitelial hücreleri
Kemik iliği	Stroma hücreleri
Lenf nodu	Foliküler dendritik hücreler
Dalak	Foliküler dendritik hücreler
Bademcik	Tonsiler epitelial hücreler
Hipofiz bezi	Posteriyör ve anteriyör hipofiz hücreleri
Paratiroid bezi	-
Tiroid bezi	Tiroid epitelyum hücreleri
Adrenal bez	-
Deri	Keratinositler, Dermal fibroblastlar
Kas (Miyogenez)	Miyoblastlar
Beyin	Astrositler, ependim hücreleri, leptomeningeal hücreler
Testis	Sertoli hücreleri, Leydig hücreleri
Dental pulp	Odontoblastlar, pulp hücreleri
Tükürük bezleri	Miyoepitelial hücreler
Özofagus	Epitelial hücreler
Mide	Epitelial hücreler
Gastroduodenal	Kas hücreleri
İnce barsak	Kas hücreleri, Cajal hücreleri
Kolon	Kas hücreleri
Pankreas	β -endokrin hücreleri

5. BAĞLANTI GEÇİTLERİNİN MOLEKÜLER MİMARİSİ (MOLECULAR ARCHITECT OF THE GAP CONNECTIONS)

Zimmer ve arkadaşları (1987), konneksinler için moleküler proteolizi sınırlayan, mevki-yönelimli antikorların ileri sürüldüğü topolojik bir model ve yıllar boyunca değişmeden kalan bir sekans analizi kombinasyonu kullanmışlardır [2].

Konneksinlerin polipeptid omurgası; membran içerisinden dört defa geçerek yapısal olarak iki ekstrasellüler ilmek kazanır (EL-1 ve EL-2). Bu politopik integral membran proteinleri, ilmekleri sayesinde sitoplazmada açığa çıkan hem N-terminal hem de C-terminalin ikisine de sahip olan sitoplazmik bağı (CL) kullanıp kendine yol açar (Şekil 1). Günümüze kadar konneksin ailesi üyelerinin hepsinin topolojisinin ayrıntılı biçimde incelenmemiş olmasına karşın, bu konneksin mimarisine dair istisnalar belirlenmemiştir. Konneksin ailesi üyeleri arasındaki dizi korunumu; iki EL ve AT bölgesini de içeren dört transmembran bölgesinde açıkça bellidir. EL bölgeleri, tüm konneksinlerin her bir EL'de üç sistein artışıyla bağlı olduğu intramoleküler disülfid bağlarıyla birleşmiştir [1 ve 23].

Konneksinler yaygın olarak her biri konnekzon veya hemikanallar olarak anılan hegzamerlerin içine oligomerize olurlar (Şekil 3). Yan yana gelen plazma membranlarından iki bitişik konnekzon bir bağlantı kanalını tamamlamak için birbirine yanaşır (Şekil 3). Konneksin arabirimlerinin bir kanal içerisine paketlenmesi yaklaşık 2 nm çapında sıvı bir kanal elde edilmesini sağlar [1, 8 ve 26]



Şekil 3. Konneksin internalizasyonu ve farklı konnekzonlar [1]
(Figure 3. Connexin internalization and different connexons [1])

İlk bakışta, konneksinlerin yalnızca homomerik bir öncülükle ve yaklaşımla aynı tip konnekzonlara bağlanması durumunda yalnızca 21 bağlantı bölgesi kanal ara tipinin oluşacağı ihtimali ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte, olası kanal ara tipleri her iki uyumlu konneksin, aynı hücreden ko-ekspresye edildiğinde ve hem homomerik hem de heteromerik kanallarda toplanma kapasitesine sahip olduğunda hızlı biçimde artar (Şekil 3), [1].

Heteromerik Cx26/Cx32 konnek-zonlarının karaciğerde var olduğu belirlenmiştir. Cx46/ Cx50 konnekzonları göz merceğinde ve Cx26/Cx30 konnekzonları ise kohleada (kulak salyangozu) yer alır [1, 24 ve 25]. Benzer şekilde, miyokardiyumda var oldukları tahmin edilen heteromerik kanallar, Cx43 ve Cx45 tarafından oluşturduğu belirtilmiştir (Şekil 3), [1, 17, 26 ve 27].

Bu koşullar altında her bir hücre 14 varyasyona kadar, 196 muhtemel kanal ara tiplerine verim sağlayacak biçimde katkıda bulunabilir [Şekil 3]. Ayrıca teorik olarak, olası kanal ara tiplerinin kompleksliği, birçok hücre tipinin üç veya daha fazla konneksini ekspresye ettiği gerçeği dikkate alındığında üst seviyeye ulaşır. Epidermis, keratinosit farklılaşmasıyla düzenlenen ve birbirinden farklı yaklaşık 7 konneksinle ifade edilmektedir [1, 16 ve 28].

Muhtemel kanal seviyesi kompleksliğine ilave olarak, hem heteromerik hem heterotipik bağlantı kanalları, homotipik ve homomerik karşıtlarına ek olarak bulunmaktadır [1]. Ancak kanal farklılaşmasında tüm ko-ekspresye konneksinler heteromerik konnekzonları veya heterotipik kanalları oluşturamazlar. Mesela Cx26'nın Cx32 ile ko-oligomerizasyon kapasitesi kesin olarak hepatositlerde ortaya konmuştur. Fakat aynı konneksin Cx43 ile ko-oligomerize olamamaktadır [1, 29 ve 30].

Konneksin düzenindeki bu önem ve çok yönlü durum, epidermiste büyük ihtimalle farklı katmanlarda spesifik bağlantı kompartımanlarının meydana gelmesine olanak verecektir. Yara iyileşmesinde Cx26 ve Cx30 yara kenarında pozitif yönde yeniden düzenlenirken, Cx31 ve Cx43 karşıt biçimde negatif yönde yeniden düzenlenir. Bu ise kanal ara tiplerinin kendilerine özgü fonksiyonlarına işaret eder. Böylece GJIC'in toplam kompleksliği geniş bir biçimde kanallardaki konneksin bileşenlerince yönetilir [1 ve 31].

6. KONNEKSİN BİYOSENTEZİ (CONNEXIN BIOSYNTHESIS)

Konneksin proteinlerinin yalnızca birkaç saatlik kısa bir yarı ömürleri olması oldukça dikkat çekicidir. Bir konneksinin kısa yaşam süresi tıpkı yerli doku ortamı tarafından sunulan 3 boyutlu çevrede olduğu kadar iyi biçimde hücre kültürlerinde kanıtlanmıştır [1 ve 32]. Elde edilmesi zor kalıtsal sebeplerden dolayı konneksinler düzenli olarak sentez edilip yıkılmak üzere programlanmıştır. Muhtemelen konneksinlerin kısa yarı yaşam sürelerinin nedeni, bağlantı bölgesi çiftleşmelerindeki alanı sağlamaya yönelik olan gereksinimlerin yanıtlanması içindir. Bu yanıt mekanizması, tüm bağlantı bölgelerinde steroid hormon miktarının organizasyon başlamadan önce yükselttilerek 5 kat arttırıldığı ileri sürüldüğü miyometriyumda en iyi şekilde örneklendirilmiştir. Karşıt biçimde bağlantı bölgeleri uterustaki hücreler arası iletişim için sağlayacak dengeli durumu tesis etmek için hızlı biçimde hazır hale gelirler [1]. Diğer fizyolojik değişimlerde bağlantı bölgesi pozisyonlarının oluşumu böylesine çarpıcı değildir. Bununla birlikte hücrelerin toplam GJIC seviyelerini belirlemek için, konneksin çiftlerinin ekspresyon seviyelerini değiştirerek bir araya gelmesi ve yıkılma hallerinin neden olduğu düzenlenme aşamasının, hızlı kanal açılma ve kapanma olaylarının kanal girişiyile ilişkilendirilmesi ile açıklanır [1, 14 ve 33].

Konneksinlerin, klasik integral membran proteinlerini birlikte tutarak, translokon ve kodlanmış start ve stop transfer sekanslarıyla endoplazmik retikuluma (ER), ko-tranlasyonel olarak bağlandığı düşünülür [1].

Olası bir istisnai durum da ise, Cx26'nın ER membranlarına post- ve ko-tranlasyonel hatta direkt olarak plazma membranına dışarıdan bağlanma eğilimi vardır. Bu nedenle Cx26'nın direkt ve post-tranlasyonel olarak herhangi bir membran kompartımanına doğrudan bağlandığına dair herhangi bir in-vivo delile gerek kalmamaktadır [1]. Ayrıca konneksinler glikolize olmadıkları için, son paketlenme ve durağanlıklarına ulaştıkları anda bir veya daha fazla moleküler şaperon tarafından yıkıldıkları düşünülebilir. Sistein artıklarının disülfid bağlarını ekstrasellüler ilmeklerde oluşturduğu gerçeği, (domainler ilkin ER lümenine açılır), konneksinlerin protein disülfid-izomerazların gözetiminde olduklarını ortaya koyar. Bu moleküler şaperonların kendileri geçici olarak ER fertleri oldukları durumda konneksinlerin sabit kümelenmelerine yardım ettikleri belirlenmiştir [1].

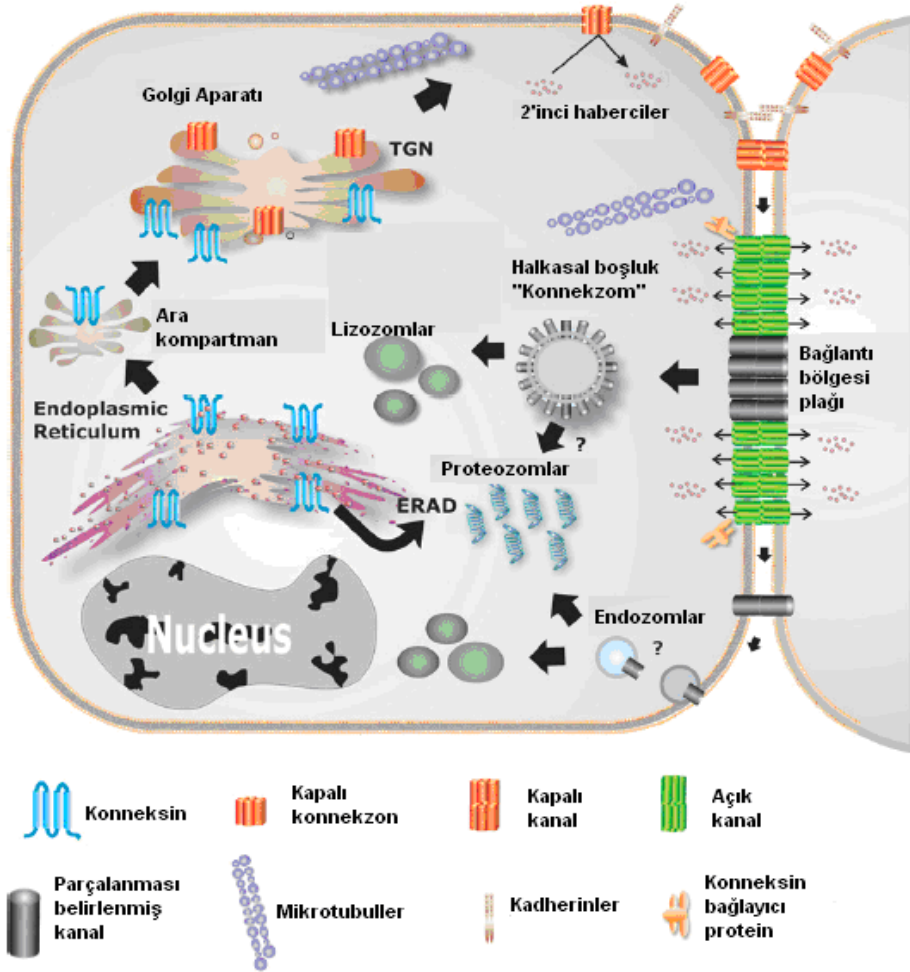
Konneksin oligomerizasyonunun ER içerisinde sabit olmaları sırasında gerçekleştiği rapor edilmiştir [34 ve 35]. Bu bulgu, her ne kadar hesaplanabilir olsa da Cx43 ve Cx46'nın golgi aparatı içerisinde monomerik formlarının bulunduğu ve bunların trans-golgi ağını oligomerize ettiği ortaya konduğundan beri bir önem taşımamaktadır. Son zamanlarda erken konneksin oligomerizasyonunun aşırı ekspresyonun bir ürünü mü, yoksa konneksin ara üniteleri konsantrasyonun yapay olarak ER'den çıktıktan sonra meydana gelen yerli oligomerizasyon ile mi yükseltildiğine dair sorularda artış olmuştur [1]. Cx32 ekspresyon seviyesinin yüksekliği, hücreler arası geçit boşluklarına benzeyen yapılarda (yeni doğan hamster böbreğinde gösterilmiştir), formasyon bozulup değişerek doğru olmayan ve erken gelişen oligomerizasyona neden olup gap geçidi oluşumunu etkileyebileceği düşünülmektedir [1].

Konneksin ara ünitelerinin oligomerizasyonu; bu birimlerin ER'de ve ER-Golgi orta kompartımanında (ERGIC) bir araya geldiği, yani trans-golgi ağını içeren geç-golgi kompartımanlarının sabit oligomerler üreterek birleşmeye başladığı bir olaydır. Yapılacak çalışmalar, belirgin çelişkileri tamamlanmış, konneksin oligomerizasyonuna ulaşılan, kompartman veya kompartmanlarda oligomerizasyonu çözmeye ihtiyaç duyacaktır. Sonuç olarak konnekzon oligomerizasyonunun tamamlandığı yerde hemi-kanallar, kapalı olacak ve bu intersellüler kompartmanlarda lümenlerin bütünlüğünü sağlamayı sürdürecektir [1].

7. HÜCRE YÜZEYİNE KONNEKSİN TRANSPORTU (CONNEXIN TRANSPORT TO THE CELL SURFACE)

ER'un devreden çıkması üzerine, düzgün biçimde paketlenen konneksinlerin cis-Golgi ağına girmeden önce ERGIC aracılığıyla geçiş yapması beklenir (Şekil 4), [1]. Bir çok çalışma konneksinlerin golgi aparatı aracılığıyla geçiş yaptığını ortaya koymuştur [36, 37, 38]. Bununla birlikte diğer bir çalışmada Cx26'nın hücre yüzeyine golgiden-bağımsız bir yol aracılığıyla gidebileceği rapor edilmiştir [1].

KONNEKSİN YAŞAM DÖNGÜSÜ



Şekil 4. Konneksin yaşam döngüsü [1]
(Figure 4. Connexin life cycle [1])

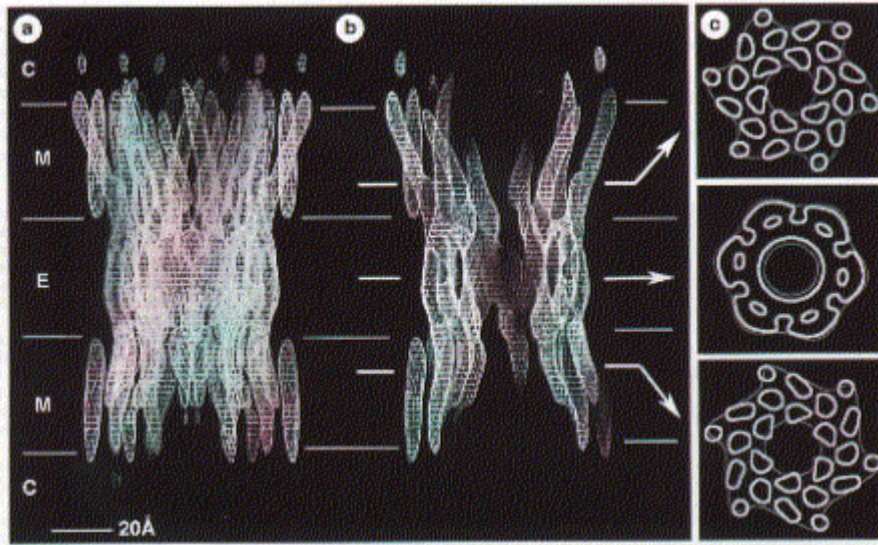
Yakın zamanlı bir çalışmada, hem Cx26 hem de Cx43 tarafından aynı hücrelerde izlenen sekretör yol karşılaştırılmış ve her iki konneksinin de benzer sekretör yolları mikrotubuller üzerinde takip ettikleri tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, hangi proteinlerin hücre yüzeyine transportu esnasında, hangi substratları post-translasyonel modifikasyonlar için sekretör yol içinde kullandığı tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak bazı kanıtlar Cx43'ün sekretör yolun başlarında geçici olarak fosforile olduğunu ortaya koyduğundan, Cx43 fosforilasyonunun geniş sayısal değerinin plazma membranına ulaştığı anda ortaya çıktığı düşünülmektedir [1, 39 ve 40]. Prenilasyon olayının (hidrofobik moleküllerin bir proteine bağlanması) proteinleri lipid bilayerlere tutturduğunun anlaşılmasından sonra, bu modifikasyonun Cx32 bağlanmasında oynadığı rol tam olarak anlaşılamamış ve bu modifikasyon gereksiz bir post-translasyonel modifikasyon olarak görülmüştür. Ancak, konneksinlerin integral membran proteinleri olmalarına karşın, yeni bir raporda Cx32'nin post-translasyonel olarak hidrofobik moleküllere bağlandığı bildirilmiştir [1 ve 41].

Canlı hücrelerde floresan-proteinlerle işaretlenmiş konneksinler kullanılarak yapılan çalışmalarda trans-golgi ağından çıkış esnasında konneksinlerin farklı boyut ve şekillerde konneksin birimlerini hücre

yüzeyine ileten taşıyıcı yapılara girdikleri anlaşılmıştır. Bu tür çalışmalar ile pleimorfik veziküller ve tubuler uzantıların trans-golgi açısından çıktığı görülebilir [1 ve 39].

Bazı çalışmalar konneksin taşınımının, kısmen mikrotubuller aracılığıyla olduğunu ortaya koymaktadır. Mikrotubuller, konneksin taşıyıcılarının, hücre yüzeyine yapışmasını kolaylaştırırsa da asıl fonksiyonu bu işlemlerin verimliliğini arttırmaktır [1 ve 42].

Konnekzonlar, hücre yüzeyine ulaştığında; küçük moleküllerin ekstrasellüler ortama doğru kontrolsüz değişimini engelleyecekleri açıklıklara sıkı biçimde dizilmeye devam ederler. Bununla birlikte hem kanallar ve konnekzonların, sitosöl ve ekstrasellüler çevre arasındaki düzenli geçişi geçici olarak açık tuttıkları bilinmektedir [Şekil 5]. Bu değişimlerle ilgili en çok yapılan çalışmalar sitosölden ATP salınımı ve kalsiyum yükselişini sağlama ile ilgili olup, bu durum retinal pigment epitel hücrelerinde ortaya konmuştur [1 ve 43].



Şekil 5. Kapalı ve açık konneksin 43 kompleksi [2]
(Figure 5. Closed and open connexin43 complex [2])

8. KONNEKSİN YIKIMI (CONNEXIN DEGRADATION)

Daha önceden gap bağlantılarının ve konneksinlerin parçalanırken; integral plazma membran proteinleri için bilinen yolu izleyerek lizozomlarda yaşamlarına son verdikleri düşünülmüştür (Şekil 4). Bu fikre, ilk kez 1990'ların ortalarında, Cx43'ün yıkımının proteozom inhibitörlerinin ortamda hazır olmaları durumundaki gecikmesi ile hücrelerde E-1-ubiquitin-aktifleyici enzim olmadığında meydana gelen gecikmenin ortaya konduğu çalışmalarla karşı çıkmıştır. Proteozomlardaki konneksin yıkımına destek olacak nitelikte, Cx43'ün ubiquitin için iyi bir substrat olduğu gösterilmiştir [1, 44, 45 ve 46].

Yeni kanıtlar; mono-ubiquitin oluşumunda Cx43'ün temel özne olarak muhtemel bir integralizasyon sinyalini oluşturduğuna ve çoklu-ubiquitin oluşumuna karşı koyarak tipik biçimde molekülleri proteozomlara hedeflediğine işaret etmektedir [1 ve 46].

Proteozomlar; proteozomal inhibitörlerin kullanımında öncelikli olarak, aynı zamanda direkt veya dolaylı biçimde konneksin yıkımını düzenlemede rol alırlar. Ayrıca lokalizasyon çalışmalarıyla beraber yürütülen ilaç bazlı çalışmalarda, açık bir şekilde konneksinlerin lizozomlarda parçalandığı düşünülür. Bu durum Cx43 ve Cx32'nin ara popülasyonlarından birinin görünür biçimde ER'den sitosöldeki

proteozomal davranışlı hücrelerin içine, sitosolik stres ile inhibe edilen bir işlemle ters biçimde transloke olduğuna dair yapılan gözlem sayesinde kısmen anlaşılır [1 ve 47].

Sonuç olarak, proteozomların ER ilişkili degradasyon (ERAD)'dan sorumlu oldukları yere dair bir model oluşturmak mümkünse de, lizozomların tek başlarına konneksinleri plazma membranı aracılı döngüde yıktıkları bilinmektedir. Böyle bir modelin desteğiyle; bağlantı sağlayan hücre yüzeyi Cx43 proteinlerinin sitosolik stres koşulları altında lizozomlara hedef olmayıp yeniden yönlendirildiği de rapor edilmiştir [1 ve 48].

Konneksin yıkımı kısaca açıklanacak olursa; poli-ubiquitinlenmiş konneksinler ERAD için hedeflenir ve mono-ubiquitin konneksinleri ise internalizasyon için belirlenir. Sonuçta her ikisi de lizozomlar tarafından yıkılır. Böylesi bir model; daha önce yapılan çalışmaların çoğundaki bulgularla örtüşür. Ancak bu konneksin degradasyon modelinin daha ileri düzeyde kanıtlanıp kanıtlanmayacağı ve tüm konneksinlerin benzer kaderi paylaşıp paylaşmadığının yorumuna açık olduğu unutulmamalıdır [1].

9. SONUÇ VE ÖNERİLER (CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS)

Konneksinlere bağlı insan hastalıklarının keşfinin, son on yılda bağlantı bölgelerine dair biyolojinin profilini güçlendirdiği şüphesizdir. Ayrıca dikkate değer biçimde konneksinlerin geniş ailesi; birçok zorunlu fizyolojik fonksiyonu, mutasyon bazlı fonksiyon kaybında telafi edici mekanizmaları sayesinde, bazı konneksinlerin insan sağlığı tahribatını minimize etmelerini sağlamaları suretiyle hizmet ederler. İnsan hastalıklarıyla ilişkili konneksin mutantlarına ait mekanizmanın anlaşılması, hasta dokulardaki çalışmalarda; bu belirli konneksinlerin aslı rolüne ve ayrıca diğer konneksin ailesi üyeleri üzerine olan mutant etkisine bağlı görünmektedir. Konneksin bağlı insan hastalıklarına dair ilave in-vivo deneysel modeller, dokuyla ilişkili durumların tetkik edilmesini içeren mekanizmalara izin verecektir [1].

Hastalık durumları ya da sağlıklı organizmalarda çokça önemli fonksiyonda rolleri olan ve henüz birçok gizemi çözülmemiş konneksin ailesinin sırları ilerleyen bilimsel çalışmalarla ortaya konmaya devam edecektir.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Laird, D.W., (2006). Life cycle of connexins in health and disease. *Biochem. J.* 394, 527-543.
2. Unger, V.M., Kumar, N.M., Gilula, N.B., and Yeager, M., (1999). Three-dimensional structure of a recombinant gap junction membrane channel. *Science*, Feb 19; 283 (5405): 1176-80.
3. Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D., and Darnell, J.E., (2000). *Molecular Cell Biology*, 5th Ed., New York: W.H. Freeman and Company, 230-1. ISBN 0-7167-4366-3
4. Vinken, M., Vanhaecke, T., Papeleu, P., Snykers, S., Henkens, T. and Rogiers, V., 2006, Connexins and their channels in cell growth and cell death. *Cellular Signaling*, 18, 592-600.
5. Lehninger's *Biochemistry*, 2005, 4'th Edition.
6. Simon, A.M., Goodenough, D.A., Li, E. and Paul, D.L., (1997). Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature*, (London), 385, 525-529.
7. Zhang, J.T. and Nicholson, B.J., (1994). The topological structure of connexin 26 and its distribution compared to connexin 32 in hepatic gap junctions, *J. Membr. Biol.*, 139, 15-29.

8. Goodenough, D.A., Paul, D.L., and Jesaitis, L., (1988). Topological distribution of two connexin32 antigenic sites in intact and split rodent hepatocyte gap junctions., *J. Cell Biol.* 107, 1817-1824.
9. Alexander, D.B. and Goldberg, G.S., (2003). Transfer of biologically important molecules between cells through gap junction channels, *Curr. Med. Chem.* 10, 2045-2058.
10. Saez, J.C., Berthoud, V.M., Branes, M.C., Martinez, A.D., and Beyer, E.C., (2003). Plasma membrane channels formed by connexins: their regulation and functions, *Physiol. Rev.* 83, 1359-1400.
11. Sohl, G. and Willecke, K., (2004). Gap junctions and the connexin protein family., *Cardiovasc. Res.* 62, 228-232.
12. White, T.W., (2003). Nonredundant gap junction functions. *News Physiol. Sci.* 18, 95-99.
13. Goldberg, G.S., Valiunas, V., and Brink, P. R., (2004). Selective permeability of gap junction channels., *Biochim. Biophys. Acta* 1662, 96-101.
14. Bukauskas, F.F. and Verselis, V.K., (2004). Gap junction channel gating., *Biochim. Biophys. Acta* 1662, 42-60.
15. Salomon, D., Masgrau, E., Vischer, S., Ullrich, S., Dupont, E., Sappino, P., Saurat, J. H. and Meda, P., (1994). Topography of mammalian connexins in human skin, *J. Invest. Dermatol.* 103, 240-247.
16. Di, W.L., Rugg, E.L., Leigh, I.M. and Kelsell, D.P., (2001). Multiple epidermal connexins are expressed in different keratinocyte subpopulations including connexin 31., *J. Invest. Dermatol.* 117, 958-964
17. Moreno, A.P., (2004). Biophy. properties of homomeric and heteromultimeric channels formed by cardiac connexins., *Cardiovasc. Res.* 62, 276-286.
18. Houghton, F.D., Thonnissen, E., Kidder, G.M., Naus, C.C., Willecke, K. and Winterhager, E., (1999). Doubly mutant mice, deficient in connexin32 and -43, show normal prenatal development of organs where the two gap junction proteins are expressed in the same cells. *Dev. Genet.* 24, 5-12.
19. Kelsell, D.P., Dunlop, J., Stevens, H.P., Lench, N.J., Liang, J. N., Parry, G., Mueller, R.F. and Leigh, I.M., (1997). Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness, *Nature (London)* 387, 80-83.
20. Gerido, D.A. and White, T.W., (2004). Connexin disorders of the ear, skin, and lens, *Biochim. Biophys. Acta* 1662, 159-170.
21. Richard, G., Brown, N., Ishida-Yamamoto, A., and Krol, A., (2004). Expanding the phenotypic spectrum of Cx26 disorders: Bart-Pumphrey syndrome is caused by a novel missense mutation in GJB2, *J. Invest. Dermatol.* 123, 856-863.
22. Zimmer, D.B., Green, C.R., Evans, W.H., and Gilula, N.B., (1987). Topological analysis of the major protein in isolated intact rat liver gap junctions and gap junction-derived single membrane structures., *J. Biol. Chem.* 262, 7751-7763.
23. Rahman, S. and Evans, W.H., (1991). Topography of connexin32 in rat liver gap junctions. Evidence for an intramolecular disulphide linkage connecting the two extracellular peptide loops, *J. Cell Sci.* 100, 567-578.
24. Hopperstad, M.G., Srinivas, M., and Spray, D.C., (2000). Properties of gap junction channels formed by Cx46 alone and in combination with Cx50. *Biophys. J.*, 79, 1954-1966.
25. Sun, J., Ahmad, S., Chen, S., Tang, W., Zhang, Y., Chen, P. and Lin, X., (2005). Cochlear gap junctions coassembled from Cx26

- and 30 show faster intercellular Ca²⁺ signaling than homomeric counterparts. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 288, C613-C623.
26. Beyer, E.C., Gemel, J., Martinez, A., Berthoud, V.M., Valiunas, V., Moreno, A.P., and Brink, P.R., (2001). Heteromeric mixing of connexins: compatibility of partners and functional consequences. *Cell Commun. Adhes.* 8, 199-204.
 27. Desplantez, T., Halliday, D., Dupont, E. and Weingart, R., (2004). Cardiac connexins Cx43 and Cx45: formation of diverse gap junction channels with diverse electrical properties., *Pflüger's Arch.* 448, 363-375.
 28. Richard, G., (2000). Connexins: a connection with the skin. *Exp. Dermatol.*, 9, 77-96.
 29. Sosinsky, G., (1995). Mixing of connexins in gap junction membrane channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92, 9210-9214.
 30. Gemel, J., Valiunas, V., Brink, P. R. and Beyer, E.C., (2004). Connexin43 and connexin26 form gap junctions, but not heteromeric channels in co-expressing cells. *J. Cell Sci.* 117, 2469-2480.
 31. Kretz, M., Euwens, C., Hombach, S., Eckardt, D., Teubner, B., Traub, O., Willecke, K., and Ott, T., (2003). Altered connexin expression and wound healing in the epidermis of connexin-deficient mice. *J. Cell Sci.* 116, 3443-3452.
 32. Beardslee, M.A., Laing, J.G., Beyer, E.C. and Saffitz, J.E., (1998). Rapid turnover of connexin43 in the adult rat heart. *Circ. Res.* 83, 629-635.
 33. Harris, A.L., (2001). Emerging issues of connexin channels: biophysics fills the gap *Q. Rev. Biophys.* 34, 325-472.
 34. Falk, M.M. and Gilula, N.B., (1998). Connexin membrane protein biosynthesis is influenced by polypeptide positioning within the translocon and signal peptidase access. *J. Biol. Chem.* 273, 7856-7864.
 35. Sarma, J.D., Wang, F., and Koval, M., (2002). Targeted gap junction protein constructs reveal connexin-specific differences in oligomerization. *J. Biol. Chem.* 277, 20911-20918.
 36. Koval, M., Harley, J.E., Hick, E., and Steinberg, T.H., (1997). Connexin46 is retained as monomers in a trans-Golgi compartment of osteoblastic cells. *J. Cell Biol.* 137, 847-857.
 37. Musil, L.S. and Goodenough, D.A., (1993). Multisubunit assembly of an integral plasma membrane channel protein, gap junction connexin43, occurs after exit from the ER. *Cell* 74, 1065-1077.
 38. Laird, D.W., Castillo, M., and Kasprzak, L., (1995). Gap junction turnover, intracellular trafficking, and phosphorylation of connexin43 in brefeldin A-treated rat mammary tumor cells. *J. Cell Biol.* 131, 1193-1203.
 39. Thomas, T., Jordan, K., Simek, J., Shao, Q., Jedeszko, C., Walton, P., and Laird, D.W., (2005). Mechanisms of Cx43 and Cx26 transport to the plasma membrane and gap junction regeneration. *J. Cell Sci.*, 118, 4451-4462.
 40. Lampe, P.D. and Lau, A.F., (2004). The effects of connexin phosphorylation on gap junctional communication. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 36, 1171-1186.
 41. Huang, Y., Sirkowski, E.E., Stickney, J.T., and Scherer, S.S., (2005). Prenylation-defective human connexin32 mutants are normally localized and function equivalently to wild-type connexin32 in myelinating Schwann cells. *J. Neurosci.* 25, 7111-7120.
 42. Lauf, U., Giepmans, B.N., Lopez, P., Braconnot, S., Chen, S.C., and Falk, M.M., (2002). Dynamic trafficking and delivery of

- connexons to the plasma membrane and accretion to gap junctions in living cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 10446-10451.
43. Pearson, R.A., Dale, N., Llaudet, E., and Mobbs, P., (2005). ATP released via gap junction hemichannels from the pigment epithelium regulates neural retinal progenitor proliferation. *Neuron* 46, 731-744.
 44. Laing, J.G. and Beyer, E.C., (1995). The gap junction protein connexin43 is degraded via the ubiquitin proteasome pathway. *J. Biol. Chem.* 270, 26399-26403.
 45. Leithe, E. and Rivedal, E., (2004a). Epidermal growth factor regulates ubiquitination, internalization and proteasome-dependent degradation of connexin43. *J. Cell Sci.* 117, 1211-1220
 46. Leithe, E. and Rivedal, E., (2004b). Ubiquitination and down-regulation of gap junction protein connexin-43 in response to 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate treatment, *J. Biol. Chem.* 279, 50089-50096.
 47. Vanslyke, J.K. and Musil, L.S., (2002). Dislocation and degradation from the ER are regulated by cytosolic stress. *J. Cell Biol.* 157, 381-394.
 48. Vanslyke, J.K. and Musil, L.S., (2005). Cytosolic stress reduces degradation of connexin43. *Mol. Biol. Cell* 16, 5247-5257.