

文章编号: 1004-0374(2010)03-0272-06

Connexin 43在细胞死亡中的作用

宋东莉, 刘晓宇, 刘雯, 左 伋*

(复旦大学上海医学院细胞与遗传医学系, 上海200032)

摘要: 缝隙连接蛋白在细胞膜表面聚合形成半通道, 部分两两结合构成缝隙连接通道, 两者与胚胎发育、肿瘤发生及某些心脑血管疾病有关。Connexin 43 (Cx43) 在心肌细胞和神经细胞高表达, 在多种缺血性心脑血管疾病及缺血再灌注损伤的病理过程中具有重要作用。近来有研究发现, Cx43 也存在于线粒体和细胞核, 分别参与心肌保护和细胞分化。该文以心肌细胞和神经细胞为主讨论近年来 Cx 43 在细胞死亡中的作用的研究进展。

关键词: Connexin 43; 缝隙连接; 半通道; 细胞死亡; 凋亡

中图分类号: Q25; R329.25 **文献标识码:** A

Effects of Connexin 43 on cell death

SONG Dong-li, LIU Xiao-yu, LIU Wen, ZUO Ji*

(Department of Cellular and Genetic Medicine, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: Gap junction protein, connexins, which oligomerize to form hemichannels or gap junction channels that dock to different membrane surfaces, plays an essential role in embryonic development, tumorigenesis, and progression of kinds of myocardial and mental disease. Connexin 43 (Cx43) is highly expressed in cardiomyocytes and neurocytes and involved in pathologic processes of ischemic conditions and ischemia-refusion. Recent studies show that Cx43 is located in mitochondria and nucleus.

Key words: Connexin 43; gap junction; hemichannel; cell death; apoptosis

细胞死亡是一个复杂的病理过程, 涉及多种信号通路和小分子物质, 并受基因表达调控。细胞死亡由缺血等因素刺激引起, 并出现在许多心脏疾病的病理过程中, 如急性心肌梗、缺血再灌注损伤等^[1-2]。

缝隙连接(gap junction, GJ)蛋白家族是由多种缝隙连接蛋白组成的膜蛋白家族。人体内有21种不同的缝隙连接蛋白^[3], 其中Cx43是心脏中主要的缝隙连接蛋白, 在心肌细胞表面, 六个同型或异型缝隙连接蛋白分子构成同型连接子或异型连接子^[4], 相邻细胞上的一对连接子(半通道)拼接形成缝隙连接通道, 由不同的缝隙连接蛋白构成的连接子使通道具有不同的功能^[5]。

缝隙连接是直接连接相邻细胞胞质的跨膜通道, 允许相对分子质量小于1 000的物质通过, 从而传导化学信号和电信号, 形成直接的细胞间通讯^[6]。

定位在细胞膜上的半通道参与细胞内多种代谢产物(ATP、NAD⁺和谷氨酸盐等)的释放, 在旁分泌信号转导中可能具有重要作用。在心脏中, 缝隙连接介导心肌细胞电偶联, 形成细胞间电冲动传导通路, 从而实现心房或心室的同步收缩^[7], 保证正常的心脏节律性。在大多数细胞中, 缝隙连接和半通道在维持组织动态平衡、生长调节、发育和分化中具有重要作用, 并与多种急慢性心脏疾病有关, 如急性心肌梗死、缺血再灌注损伤等。Cx43缝隙连接在小鼠冠状动脉发育过程中具有重要作用^[8,9]。缺血情况下, 星形胶质细胞缝隙连接维持开放状态, 细胞内信号因子在即将死亡的细胞及其周围本可能存活

收稿日期: 2009-07-01; 修回日期: 2009-08-27

*通讯作者: E-mail: jzuo@shmu.edu.cn

的细胞之间自由扩散, 可能导致缺血区域进一步扩大^[10]。心肌缺血缺氧诱导的细胞内外离子迅速重分布, 导致细胞内钠钙增多及钾丢失, 并进一步导致细胞损伤和死亡, 这一过程中离子平衡的打破与代谢抑制引起的Cx43半通道开放有关^[11]。

Cx43不仅存在于心肌细胞膜上, 还存在于线粒体和细胞核等细胞器。对于Cx43的功能的研究也不再局限于其在细胞膜形成的缝隙连接相关的细胞间信号传导。有研究证明, 存在于线粒体的Cx43可能与某些细胞内信号转导和旁分泌调节有关, 参与调节程序性细胞死亡或凋亡, 还可能在缺血再灌注损伤的心脏保护中具有重要作用。另外, 存在于细胞核内的Cx43可能不依赖于GJ, 而通过其C-末端调控基因表达促进肿瘤细胞凋亡。

1 细胞膜Cx43与细胞死亡

1.1 Cx43通道在细胞死亡中的作用

1.1.1 Cx43缝隙连接在细胞死亡中的作用

多种病理情况下, Cx43缝隙连接发生改变, 同时, 缝隙连接细胞间通讯在组织损伤和细胞死亡过程中又具有双重作用。损伤组织或濒死细胞释放的多种离子和小分子物质(如第二信使)可以引起细胞损伤或死亡, 这些物质通过缝隙连接通道扩散到邻近细胞, 一方面可以使损伤组织内有害物质稀释, 可能保护损伤组织; 另一方面, 这些物质可以引起周边细胞损伤, 甚至死亡。

细胞死亡出现在多种急性和慢性病理过程中。心肌缺血时, Cx43经历了去磷酸化过程和内在化过程, 细胞膜表面Cx43缝隙连接明显减少, 细胞间通讯显著降低, 导致心肌细胞电机械脱耦联, 进而引起心律失常^[12]。

缺血再灌注过程中, 细胞死亡相关因子通过缝隙连接转运到相邻细胞。例如再灌注过程中, 随着Ca²⁺浓度升高, 缝隙连接理论上应当关闭, 但一些实验表明, 至少梗死区域缝隙连接通道是打开的^[13]。同时, 坏死区域产生大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)可以通过Cx43缝隙连接扩散到梗死区周围细胞, 造成梗死面积扩大。

肾上腺糖皮质激素(glucocorticoids, GC)提高钙黏连蛋白和Cx43表达, 从而稳定细胞连接和细胞间通讯。GC抗凋亡作用与细胞间连接增强有关。地塞米松(dexamethasone, DEX)和cAMP可增强卵巢颗粒细胞Cx43表达, 同时DEX促进其形成完整的缝隙连接, 但伴随部分缝隙连接内在化^[15]。所以,

阻断凋亡的关键是缝隙连接的完整性, 而不是数量。DEX增强大鼠胰岛细胞Cx36表达, 对Cx43表达不产生影响^[16], 因此, DEX对Cx43表达的调节可能具有组织细胞特异性。

无血清培养、cAMP、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和p53可以诱导卵巢颗粒细胞凋亡, GC如氢化可的松和DEX则具有保护作用。DEX可以诱导Cx43表达升高, 缝隙连接数量增加及总的钙黏连蛋白增多, 这提示细胞连接和细胞间通讯可能参与凋亡保护^[17]。

氧化应激与多种病理情况有关, 包括缺血、动脉硬化症和神经退行性疾病。Ramachandran等^[18]证明, 在小鼠神经细胞, ROS可以诱导产生氧化应激。氧化应激诱导细胞膜电位改变, Cx43半通道开放, 后者可以导致细胞内离子动态平衡的破坏, 重要的代谢产物, Ca²⁺大量摄取引起细胞内钙超载, 诱导钙依赖性的激酶、磷酸酶、蛋白酶、ATP酶、核酸内切酶激活, 导致线粒体膜电位丧失, 所有这些均为细胞死亡的先兆。

1.1.2 Cx43半通道在细胞死亡中的作用

有研究表明, 预适应可以阻止Cx43去磷酸化, 在缺血再灌注过程中对细胞具有保护作用^[19]。同时, 在单个的细胞(不产生缝隙连接)也会出现保护作用, 因此预适应诱导的保护作用可能是通过半通道实现的^[20]。

缺血预适应(ischemic precondition, IP)可以降低缺血对缝隙连接的影响^[21]。在缺血、IP和缺血再灌注损伤过程中, 缝隙连接和Cx43的作用不再局限于其在细胞间电偶联的功能。缺血过程中, 细胞膜表面Cx43半通道的暂时开启与细胞肿胀、ATP释放和膜电位降低有关^[22]。缝隙连接导致的离子或分子信号的传导对缺血再灌注损伤在细胞间扩散有关, 并导致明显的细胞死亡^[23]。在缺血前减少缝隙连接偶联可以明显缩小梗死区域。敲除Cx43的杂合子小鼠, 其Cx43的水平仅为野生型的一半, 在预适应过程中对梗死面积的控制的确有明显优势, 这些小鼠冠状动脉闭塞后梗死区域比野生型小鼠小^[24]。

预适应可以阻止Cx43去磷酸化, 在缺血再灌注过程中对细胞具有保护作用; 但对于敲除Cx43的小鼠, 则不会出现保护作用^[25]。有研究发现, 经过预适应处理后再暴露到缺氧环境, Cx43缺失小鼠不会产生明显保护作用, 野生型小鼠脑梗死面积却明显减小; Cx43缺陷小鼠在转入外源基因后, 预适应才能诱导其在缺氧环境的保护作用。说明预适应可

以减少Cx43降解,导致膜Cx43缝隙连接和半通道增加,最终经半通道流出的ATP增多,导致代谢产物腺苷(神经保护剂)增多从而产生保护作用^[14]。

1.2 Cx43与旁观者效应(bystander effect)

将编码单纯疱疹病毒胸苷激酶片断(HSV-tk)转染肿瘤细胞,在抗癌药物更昔洛维的存在下,表达HSV-tk的肿瘤细胞会发生凋亡;但更昔洛维作用于周围不表达HSV-tk的细胞,这些细胞也会发生凋亡^[26],这就是旁观者效应。在该效应中,缝隙连接具有重要作用。毒性代谢产物可以通过缝隙连接通道扩散到周围细胞,直接与旁观者效应有关。

心肌梗死的过程涉及心肌细胞肌节损伤和细胞死亡,有研究观察到心肌梗死过程中出现成纤维细胞渗入和缝隙连接重组。两种成纤维细胞型在梗死时均出现,同时检测到Cx43表达。此过程中成纤维细胞增生可能与缝隙连接介导的旁观者效应有关,从而促进梗死进程^[27]。

受射线照射的细胞发生基因突变,其邻近细胞的遗传物质也受到一定影响,这种旁观者效应也与Cx43形成的缝隙连接有关。一系列研究表明,受射线照射部位的临近细胞氧化性代谢产物增多,并几乎全部发生点突变,这与氧化性损伤一致,而正常情况下细胞基本只发生点突变^[28]。

旁观者效应进程中,细胞间通讯起到重要作用。旁观者信号可能通过细胞间连接或通过可溶性物质释放到细胞外液影响临近细胞。受射线照射的细胞释放其胞浆内的染色体致断因子,并转运到邻近未受照射的细胞内引起染色体损伤^[29]。

缝隙连接细胞间通讯参与射线照射后遗传物质损伤信号的传导^[30]。在不同密度条件下将射线照射细胞和未照射细胞进行共培养,发现只有产生细胞间接触后,未照射细胞才出现增殖旺盛^[31]。

细胞经射线照射后,缝隙连接细胞间通讯加强。微阵列显示Cx43明显增加。Cx43启动子在照射后6h活性最高^[32]。Cx43表达增高与细胞间通讯增强有关。下调Cx43表达后进行射线处理发现,照射后的细胞与旁观者细胞之间通过缝隙连接发生的细胞间通讯减弱^[33]。

1.3 影响Cx43通道功能的因素

Cx43在细胞膜表面形成半通道或缝隙连接通道。多种影响Cx43缝隙连接的生理病理情况和药物因素一般作用于缝隙连接蛋白Cx43,通过调节其表达、磷酸化和去磷酸化及降解过程调节缝隙连接的功能。而一系列细胞内和细胞外信号调节缝隙连

接电导性,例如pH、Ca²⁺浓度、cAMP、cGMP、蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)和p38丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)的磷酸化作用^[34]。

GJAI (gap junction protein, α 1)是Cx43编码基因,有研究表明microRNA-1在缺血性心脏疾病中可以沉默这一基因。在病变心室内,microRNA-1表达增高,与目的mRNA相互作用抑制*GJAI*转录产生Cx43^[35]。

病变过程中,多种信号分子可能通过细胞外信号通路导致缝隙连接改变,这些信号分子包括cAMP、血管紧张素II、生长因子(如VEGF)、蛋白激酶,如黏着斑激酶和C-Jun氨基端激酶(JNK)等。例如,在转入JNK的小鼠模型中Cx43表达下调,心室传导减慢,导致收缩功能异常或充血性心衰^[36]。但也有实验证明,苯丙醇处理大鼠心室肌细胞可以通过JNK活性增高激活Cx43表达,导致心律失常^[37]。可能因为苯丙醇处理后还会产生其他影响。

通过调节半通道和缝隙连接斑的降解过程可以调节缝隙连接的功能,在心脏中Cx43通过溶酶体或蛋白酶体两条通路降解。用Cx43缺失小鼠、Cx43缺陷小鼠和野生型小鼠研究预适应对神经细胞的保护作用,发现预适应可以抑制神经细胞内Cx43经蛋白酶体的降解,导致细胞膜Cx43半通道增加,经半通道流出的ATP增多,导致细胞外代谢产物腺苷(神经保护剂)增多,从而减轻神经细胞缺氧损伤^[25]。

Cx43磷酸化改变也可以调节缝隙连接和半通道的功能。Src激酶家族原癌基因*c-src*蛋白产物Src是一种酪氨酸蛋白激酶,参与细胞内重要的级联反应,一些生理或病理情况下,或药物诱导Src磷酸化,形成有活性的p-Src,使Cx43磷酸化程度改变,可以调节缝隙连接和半通道的功能。18 β -GA可以激活新生大鼠心肌细胞内Src,并促进p-Src与Cx43结合,使Cx43酪氨酸(Tyr265、Tyr247)去磷酸化,导致细胞膜缝隙连接通道关闭^[38]。

Cx43碳末端区域包含一系列重要的功能性位点,包括通道闸门开闭和磷酸化相关位点,这些位点与缝隙连接蛋白聚合的降解有关。近年来发现的一系列缝隙连接伴侣蛋白可以与Cx43碳末端区域相互作用。这些伴侣蛋白包括微管蛋白、小窝蛋白、紧密连接蛋白、胞质紧密联结蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)和黏连蛋白等。C-末端微管蛋白结合位点与缝隙连接蛋白在细胞表面的正确定位有

关, ZO-1 的结合可以调节缝隙连接斑面积。阻断 ZO-1 与 Cx43 的结合可以导致形成巨大缝隙连接。在人类心肌闰盘处 ZO-1 可与 Cx43 缝隙连接相互作用^[39]。心衰时, 虽然 ZO-1 和 Cx43 相互作用减少^[40, 41], 但是 ZO-1 持续表达上调, 与 ZO-1 相互作用的 Cx43 比例相对增高^[39]。同时, ZO-1 抑制病变心肌细胞膜表面的连接子形成缝隙连接, 从而影响缝隙连接形态和功能^[39]。

2 线粒体 Cx43 与细胞死亡

2.1 Cx43 在线粒体的定位

在大鼠、小鼠和人的线粒体中都检测出 Cx43。Goubaeva 等^[42]在成年大鼠心肌细胞线粒体外膜分离出 Cx43, 研究表明主要是磷酸化形式的 Cx43, 抑制线粒体 Cx43 的功能将导致细胞色素 c (Cyto-C) 释放和凋亡诱导, 从而证明线粒体 Cx43 是一种新型的线粒体功能调节因素。

Rodriguez-Sinovas 等^[43]从线粒体内膜蛋白腺苷酸转移酶 (adenine nucleotide translocator, ANT)、线粒体外膜转运受体蛋白-20 (translocase of outer membrane 20, Tom20) 和热休克蛋白-90 (heat shock protein 90, Hsp90) 几种大分子混合物的免疫共沉淀结果总结出 Cx43 存在于线粒体内膜。Cx43 向线粒体内膜的转运需要内膜转运受体蛋白 (translocases of the inner mitochondrial membrane, TIM) 的参与, Cx43 通过 TOM-TIM 复合体转运到线粒体内膜, 这一过程依赖分子伴侣 Hsp70 或 Hsp90。另有研究证明, 洋地黄皂苷处理的线粒体电压依赖性阴离子通道缺乏 Cx43, 但存在 Cyto-C 和腺苷酸转位酶。亚显微结构分馏和 Western Blotting 分析证明 Cx43 几乎只存在于线粒体内膜^[42]。但其他研究用碘克沙醇密度梯度离心收集线粒体碎片, 发现 Cx43 主要存在于线粒体外膜^[43]。出现这种现象的原因尚不清楚, 可能与线粒体纯化和亚显微结构分馏方式有关。

2.2 线粒体 Cx43 在细胞凋亡中的作用

线粒体 Cx43 可以调节线粒体 Cyto-C 释放从而调节细胞凋亡^[42]。IP (inositol phosphates) 可以使线粒体 Cx43 含量增加^[44]。预适应作用于 Cx43 缺失的小鼠不会产生保护作用, 这一过程与缝隙连接细胞间通讯无关^[20]。人为减少小鼠心肌细胞总 Cx43 和线粒体 Cx43 含量后, 再用二氮嗪处理则不会产生预适应保护作用^[45]。

年长小鼠心室肌纤维膜缝隙连接处和线粒体的 Cx43 含量都减少, IP 作用于此类小鼠几乎不产生保

护作用。Cx43 对于 IP 引起的心肌保护作用很重要, 因而线粒体 Cx43 显著减少, 可能会使细胞丧失 IP 引起的心肌保护作用^[46]。

表达 Cx43 和 Cx43-eGFP (增强型绿色荧光蛋白) 的 HeLa 细胞从早期凋亡细胞 (viable apoptotic cell, VA) 向晚期凋亡细胞 (non-viable apoptotic cell, NVA) 转变的速度比空载细胞快, 而 Cx43 促进细胞从 VA 向 NVA 或坏死的转化依赖其形成缝隙连接通道或半通道的作用^[47]。

Giardina 等^[48]将 C6 细胞暴露于 H₂O₂ 或星胞菌素, 发现细胞发生了与凋亡一致的形态和生化改变。同时 Cx43 的表达可抑制 H₂O₂ 的促凋亡作用, 却不会抑制星胞菌素的作用。Cx43 与上游凋亡信号调节激酶-1 的相互作用可能与 H₂O₂ 诱导的凋亡有关。Cx43 对有丝分裂原激活蛋白激酶通路和凋亡的调节作用说明 Cx43 还参与细胞内信号通路, 在凋亡过程中起一定作用。

小鼠急性心肌梗死后, 抑制线粒体渗透转运可以促进功能恢复, 降低死亡率^[49]。通过环胞菌素 A 或 IP 抑制线粒体渗透转换孔的开放减弱了再灌注的致命性损伤。在兔缺血心肌, IP 及其涉及的线粒体 ATP 敏感性 K⁺ 通道激活剂可以显著降低缝隙连接对化学示踪剂的渗透性^[50]。

心肌缝隙连接参与缺血再灌注损伤的病理改变。最近的研究发现, Cx43 参与缺血保护和药物引起的预适应, 并且这一作用不依赖缝隙连接细胞间交通。心肌细胞线粒体含有 Cx43, 至少定位在部分内膜, 由线粒体膜蛋白转运系统运输。干扰这种转运系统或敲除 Cx43 可以抵消二氮嗪诱导的保护作用, 说明线粒体 Cx43 参与预适应级联反应。线粒体 Cx43 在预适应中的作用与活性氧信号有关, 但是详细的分子机制不清^[51]。

因为线粒体 ROS 的产生在预适应中起到关键作用, 因而假设线粒体 Cx43 调节线粒体 ROS 的产生与预适应发生有关。如果这一假设成立, 那么在 Cx43 部分缺失的小鼠, IP 刺激后 ROS 产生应减少。二氮嗪处理 Cx43 部分缺失的小鼠, 分离其心脏, 发现 ROS 产生明显减少, 并且预适应不会引起缺血再灌注保护作用。相反, 维生素 K3 和钾离子载体刺激产生非特异性 ROS 引起的保护作用在 Cx43 部分缺失的心肌中不发生变化。格尔德霉素选择性减少线粒体 Cx43 含量, 但不改变细胞总 Cx43 的含量, 而这一过程中线粒体 Cx43 的减少与二氮嗪引起的心脏保护作用降低有关^[45]。

3 细胞核Cx43与肿瘤细胞死亡及增殖抑制

免疫荧光和亚细胞碎片免疫印迹检测表明, Cx43存在于心肌细胞核和HeLa细胞核, Cx43碳末端稳定表达可以明显抑制HeLa细胞增殖^[52]。

缝隙连接通讯可以影响肿瘤细胞的生长和死亡。分别将Cx26、Cx40和Cx43转染HeLa细胞, 均可以建立缝隙连接通讯, 但是只有转染Cx26的细胞对细胞生长具有明显抑制作用, 这说明, 除了形成缝隙连接产生细胞间通讯之外, 连接子可能直接影响细胞周期和细胞分化。将人Cx43转染体外培养和无胸腺裸鼠的胶质母细胞瘤细胞, 可以抑制肿瘤细胞的增殖, 但不会影响荧光黄(lucifer yellow)的扩散^[53]。

喜树碱诱导的凋亡在Cx43敲除的小鼠中比野生型小鼠严重得多。敲除Cx43的小鼠RNA谱发生明显改变, 包括细胞生长和死亡信号因子在内的多种蛋白表达减少^[49]。

4 小结与展望

Cx43作为一种重要的缝隙连接蛋白广泛存在于哺乳动物体内的多种组织器官, 以心脏和神经系统为主。目前已发现细胞内的Cx43定位在细胞膜、线粒体膜和细胞核。这些部位的Cx43共同参与多种病理过程。

以急性心肌梗塞为例, 缺血区域细胞产生大量的代谢产物, 促进缝隙连接和半通道开放, 通过通道扩散后可以使有害物质稀释, 从而对心肌细胞产生保护作用。随着缺血缺氧的加重, 梗死中心区域坏死, 细胞破碎, 代谢产物释放增加, 反造成梗死区域扩大。缺血导致的代谢抑制促进半通道开放, 导致细胞内外离子动态平衡被破坏, 后者诱导细胞内多种激酶激活和细胞内钙超载, 最终引起细胞死亡。缺血再灌注过程产生的大量活性氧自由基等物质也可以通过膜通道扩散, 使梗死面积进一步扩大。

线粒体诱导的凋亡可以作为膜通道功能改变导致离子失衡和有害代谢产物增多的结果, 同时缺血过程中线粒体Cx43的改变也可以调节凋亡。

抑制Cx43表达或缝隙连接的功能对缺血和再灌注造成的心肌损伤具有保护作用。预适应也通过改变Cx43磷酸化进而影响线粒体和膜通道功能, 从而实现心肌保护作用。因此, Cx43在急性缺血性疾病的治疗和恢复过程中可能具有重要的临床意义。

[参考文献]

- [1] Foo RS, Mani K, Kitsis RN. Death begets failure in the heart. *J Clin Invest*, 2005, 115(3): 565-71
- [2] González A, Fortuño MA, Querejeta R. Cardiomyocyte apoptosis in hypertensive cardiomyopathy. *Cardiovasc Res*, 2003, 59(3): 549-62
- [3] Ayad WA, Locke D, Koreen IV, et al. Heteromeric, but not homomeric, connexin channels are selectively permeable to inositol phosphates. *J Biol Chem*, 2006, 281(24): 16727-39
- [4] Harris AL. Emerging issues of connexin channels: biophysics fills the gap. *Q Rev Biophys*, 2001, 34(3): 325-472
- [5] Krüger O, Maxeiner S, Kim JS, et al. Cardiac morphogenetic defects and conduction abnormalities in mice homozygously deficient for connexin40 and heterozygously deficient for connexin45. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 41(5): 774-7
- [6] Sohl G, Willecke K. Gap junctions and the connexin protein family. *Cardiovasc Res*, 2004, 62(2): 228-32
- [7] Severs NJ, Dupont E, Thomas N, et al. Alterations in cardiac connexin expression in cardiomyopathies. *Adv Cardiol*, 2006, 42: 228-42
- [8] Li WE, Waldo K, Linask KL, et al. An essential role for connexin43 gap junctions in mouse coronary artery development. *Development*, 2002, 129(8): 2031-42
- [9] Walker DL, Vacha SJ, Kirby ML, et al. Connexin43 deficiency causes dysregulation of coronary vasculogenesis. *Dev Biol*, 2005, 284(2): 479-98
- [10] Cotrina ML, Kang J, Lin JH, et al. Astrocytic gap junctions remain open during ischemic conditions. *J Neurosci*, 1998, 18(7): 2520-37
- [11] John SA, Kondo R, Wang SY, et al. Connexin-43 hemichannels opened by metabolic inhibition. *J Biol Chem*, 1999, 274(1): 236-40
- [12] Schulz R, Heusch G. Connexin 43 and ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res*, 2004, 62: 335-44
- [13] García-Dorado D, Rodríguez-Sinovas A, Ruiz-Meana M. Gap junction-mediated spread of cell injury and death during myocardial ischemia-reperfusion. *Cardiovasc Res*, 2004, 61(3): 386-401
- [14] Schwanke U, Li X, Schulz R, et al. No ischemic preconditioning in heterozygous connexin43-deficient mice. *Basic Res Cardiol*, 2003, 98(3): 181-2
- [15] Sasson R, Amsterdam A. Stimulation of apoptosis in human granulosa cells from *in vitro* fertilization patients and its prevention by dexamethasone: involvement of cell contact and bcl-2 expression. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(7): 3441-51
- [16] Rafacho A, Roma LP, Taboga SR, et al. Dexamethasone-induced insulin resistance is associated with increased connexin 36 mRNA and protein expression in pancreatic rat islets. *Can J Physiol Pharmacol*, 2007, 85(5): 536-45
- [17] Sasson R, Amsterdam A. Pleiotropic anti-apoptotic activity of glucocorticoids in ovarian follicular cells. *Biochem Pharmacol*, 2003, 15; 66(8): 1393-40
- [18] Ramachandran S, Xie LH, John SA, et al. A novel role for connexin hemichannel in oxidative stress and smoking-induced cell injury. *PLoS One*, 2007, 2(1): e712

- [19] Garcia-Dorado D, Ruiz-Meana M, Padilla F, et al. Gap junction-mediated intercellular communication in ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res*, 2002, 55(3): 456-65
- [20] Li X, Heinzel FR, Boengler K, et al. Role of connexin 43 in ischemic preconditioning does not involve intercellular communication through gap junctions. *J Mol Cell Cardiol*, 2004, 36(1): 161-3
- [21] Schulz R, Heusch G. Connexin43 and ischemic preconditioning. *Adv Cardiol*, 2006, 42: 213-27
- [22] Evans WH, De Vuyst E, Leybaert L. The gap junction cellular internet: connexin hemichannels enter the signalling limelight. *Biochem J*, 2006, 397(1): 1-14
- [23] García-Dorado D, Rodríguez-Sinovas A, Ruiz-Meana M. Gap junction mediated spread of cell injury and death during myocardial ischemia-reperfusion. *Cardiovasc Res*, 2004, 61(3): 386-401
- [24] Ruiz-Meana M, Rodríguez-Sinovas A, Cabestrero A, et al. Mitochondrial connexin43 as a new player in the pathophysiology of myocardial ischaemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, 2008, 77(2): 325-33
- [25] Lin JH, Lou N, Kang N, et al. A central role of connexin 43 in hypoxic preconditioning. *J Neurosci*, 2008, 28(3): 681-95
- [26] Crumpacker CS. Ganciclovir. *N Engl J Med*, 1996, 335(10): 721-9
- [27] Camelliti P, Devlin GP, Matthews K, et al. Spatially and temporally distinct expression of fibroblast connexins after sheep ventricular infarction. *Cardiovasc Res*, 2004, 62(2): 415-25
- [28] Little JB. Cellular radiation effects and the bystander response. *Mutat Res*, 2006, 597(1-2): 113-8
- [29] Morgan WF. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation II. Radiation-induced genomic instability and bystander effects *in vivo*: clastogenic factors and transgenerational effects. *Radiat Res*, 2003, 159(5): 581-96
- [30] Edwards GO, Botchway SW, Hirst G, et al. Gap junction communication dynamics and bystander effects from ultrasoft X-rays. *Br J Cancer*, 2004, 90(7): 1450-6
- [31] Gerashchenko BI, Howell RW. Proliferative response of bystander cells adjacent to cells with incorporated radioactivity. *Cytometry A*, 2004, 60(2): 155-64
- [32] Glover D, Little JB, Lavin MF, et al. Low dose ionizing radiation-induced activation of connexin43 expression. *Int J Radiat Biol*, 2003, 79(12): 955-64
- [33] Azzam EI, de Toledo SM, Little JB. Expression of CONNEXIN43 is highly sensitive to ionizing radiation and other environmental stresses. *Cancer Res*, 2003, 63(21): 7128-35
- [34] Saez JC, Berthoud VM, Branes MC, et al. Plasma membrane channels formed by connexins: their regulation and functions. *Physiol Rev*, 2003, 83(4): 1360-400
- [35] Yang B, Lin H, Xiao J, et al. The muscle-specific microRNA *miR-1* regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting *GJA1* and *KCNJ2*. *Nat Med*, 2007, 13(4): 486-91
- [36] Petrich BG, Eloff BC, Lerner DL, et al. Targeted activation of c-Jun N-terminal kinase *in vivo* induces restrictive cardiomyopathy and conduction defects. *J Biol Chem*, 2004, 279(15): 15330-8
- [37] Shyu KG, Wang BW, Yang YH, et al. Amphetamine activates connexin43 gene expression in cultured neonatal rat cardiomyocytes through JNK and AP-1 pathway. *Cardiovasc Res*, 2004, 63(1): 98-108
- [38] Chung TH, Wang SM, Chang YC, et al. 18 β -glycyrrhetic acid promotes src interaction with connexin43 in rat cardiomyocytes. *J Cell Biochem*, 2007, 100(3): 653-64
- [39] Bruce AF, Rothery S, Dupont E, et al. Gap junction remodeling in human heart failure is associated with increased interaction of connexin43 with ZO-1. *Cardiovasc Res*, 2008, 77(4): 757-65
- [40] Kostin S. Zonula occludens-1 and connexin 43 expression in the failing human heart. *J Cell Mol Med*, 2007, 11(4): 892-5
- [41] Laing JG, Saffitz JE, Steinberg TH, et al. Diminished zonula occludens-1 expression in the failing human heart. *Cardiovasc Pathol*, 2007, 16(3): 159-64
- [42] Goubaeva F, Mikami M, Giardina S, et al. Cardiac mitochondrial connexin 43 regulates apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 352(1): 97-103
- [43] Rodríguez-Sinovas A, Boengler K, Cabestrero A, et al. Translocation of connexin 43 to the inner mitochondrial membrane of cardiomyocytes through the heat shock protein 90-dependent TOM pathway and its importance for cardioprotection. *Circ Res*, 2006, 99(1): 93-101
- [44] Boengler K, Dodoni G, Rodríguez-Sinovas A, et al. Connexin 43 in cardiomyocyte mitochondria and its increase by ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res*, 2005, 67(2): 234-44
- [45] Heinzel FR, Luo Y, Li X, et al. Impairment of diazoxide-induced formation of reactive oxygen species and loss of cardioprotection in connexin 43 deficient mice. *Circ Res*, 2005, 97(6): 583-6
- [46] Boengler K, Konietzka I, Buechert A, et al. Loss of ischemic preconditioning's cardioprotection in aged mouse hearts is associated with reduced gap junctional and mitochondrial levels of connexin 43. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(4): H1764-9
- [47] Kalvelyte A, Imbrasaitė A, Bukauskiene A, et al. Connexins and apoptotic transformation. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(8): 1661-72
- [48] Giardina SF, Mikami M, Goubaeva F, et al. Connexin 43 confers resistance to hydrogen peroxide-mediated apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 362(3): 747-52
- [49] Iacobas DA, Urban-Maldonado M, Iacobas S, et al. Array analysis of gene expression in connexin-43 null astrocytes. *Physiol Genomics*, 2003, 15(3): 177-90
- [50] Gomez L, Thibault H, Gharib A, et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition improves functional recovery and reduces mortality following acute myocardial infarction in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(3): H1654-61
- [51] Ruiz-Meana M, Rodríguez-Sinovas A, Cabestrero A, et al. Mitochondrial connexin43 as a new player in the pathophysiology of myocardial ischaemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, 2008; 77(2): 325-33
- [52] Dang X, Doble BW, Kardami E. The carboxy-tail of connexin-43 localizes to the nucleus and inhibits cell growth. *Mol Cell Biochem*, 2003, 242(1-2): 35-8
- [53] Rodríguez-Sinovas A, Cabestrero A, Lopez D, et al. The modulatory effects of connexin 43 on cell death/survival beyond cell coupling. *Prog Biophys Mol Biol*, 2007, 94(1-2): 219-32