

ESTUDO ORIGINAL

Alterações na expressão das proteínas de junção comunicante Connexin30.2 e Connexin40 no nó sinoatrial de ratos com bradicardia sinusal induzida por dexmedetomidina

Yong-Qiang Yin^a, Yi Zhong^{b,*}, Yu Zhu^a, Lei Tian^a

^a Guizhou Medical University, Guiyang, China

^b Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Department of Anesthesiology, Guiyang, China

Recebido em 17 de setembro de 2019; aceito em 14 de maio de 2022.

Disponível online em 23 de maio de 2022

PALAVRAS-CHAVE:

Sistema nervoso
autônomo;
Conexinas;
Dexmedetomidina;
Bradicardia sinusal

RESUMO:

Justificativa: A dexmedetomidina (Dex) é amplamente utilizada e seu efeito colateral mais comum é a bradicardia. O mecanismo completo pelo qual Dex induz bradicardia não foi elucidado. Esta pesquisa investiga a expressão das proteínas de junção comunicante Connexin30.2 (Cx30.2) e Connexin40 (Cx40) no nodo sinoatrial de ratos com bradicardia sinusal induzida por Dex.

Métodos: Oitenta ratos foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos. A solução salina foi administrada aos ratos do Grupo C. Nos outros quatro grupos, os ratos receberam Dex para induzir bradicardia. Nos grupos D1 e D2, os ratos receberam Dex em uma dose de ataque de 30 µg/kg-1 e 100 µg/kg-1 por 10 min, depois a 15 µg/kg-1/he 50 µg/kg-1/h-1 por 120 min separadamente. Os ratos do grupo D1A e D2A receberam Dex da mesma forma que no grupo D1 e D2; entretanto, imediatamente após a administração da dose de ataque, foi administrado 0,5 mg de atropina por via intravenosa e, em seguida, 0,5 mg/kg-1/h-1 por 120 min. O nó sinoatrial foi adquirido após o término da infusão intravenosa. A reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real e análises de Western blot foram realizadas para medir a expressão de mRNA e proteína de Cx30.2 e Cx40, respectivamente.

Resultados: A expressão de Cx30.2 aumentou, enquanto a expressão de Cx40 diminuiu dentro do nó sinoatrial de ratos com bradicardia sinusal induzida por Dex. A atropina reverteu os efeitos de Dex na expressão de proteínas de junções comunicantes.

Conclusão: Dex possivelmente alterou a expressão de proteínas de junções comunicantes para diminuir a velocidade de condução cardíaca no nó sinoatrial.

Autor correspondente:

E-mail: 490173559@qq.com (Y. Zhong).

<https://doi.org/10.1016/j.bjane.2022.05.004>

© 2021 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND licence (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Introdução

A dexmedetomidina (Dex) é amplamente utilizada para sedação em unidades de terapia intensiva e ambientes de anestesia. Dex pode diminuir o nível de transmissores de catecolaminas e aumentar a acetilcolina no coração. Tem um efeito inibitório significativo sobre as funções dos nódulos sinoatrial (SA) e atrioventricular (AV),¹ que pode reduzir a frequência cardíaca, causar bradicardia e tem o potencial de induzir parada cardíaca.^{2,3} A atropina pode reverter esses efeitos cardíacos.

A principal função das conexinas cardíacas é o acoplamento metabólico e elétrico entre os miócitos, que é a base estrutural para a manutenção dos impulsos elétricos e intimamente relacionada às propriedades eletrofisiológicas do sistema de condução cardíaco único.^{4,5} Conexina 30.2 (Cx30.2) e conexina 40 (Cx40) são expressos principalmente nos nódulos SA e AV, que são essenciais para manter o funcionamento normal do sistema de condução cardíaco.^{6,7} A Cx40 possui alta condutividade elétrica, o que facilita a condução rápida de impulsos elétricos através dos cardiomiócitos, para aumentar a frequência cardíaca. No entanto, Cx30.2 tem o efeito oposto.

Nós hipotetizamos que a bradicardia induzida por dexmedetomidina é causada pela alteração em Cx30.2 e Cx40 no nó SA de ratos. Este estudo determinou a expressão de Cx30.2 e Cx40 no nó SA de ratos com bradicardia sinusal induzida por Dex, investigou se a atropina pode reverter as alterações na expressão e elucidou o possível mecanismo de ação associado.

Métodos

Animais e protocolos

Todos os protocolos foram aprovados pelo Comitê de Bem-Estar Animal Care da Guizhou Medical University (NO.1800454). Nosso estudo foi realizado no laboratório da Guizhou Medical University, e os animais foram fornecidos pela Guizhou Medical University. Os ratos foram alimentados por uma semana em laboratório para se adaptarem ao novo ambiente, luz e escuridão alternadas por 12 horas por dia. Ratos Sprague-Dawley adultos saudáveis (n = 80) pesando 240-300 g foram divididos aleatoriamente em cinco grupos de acordo com uma tabela de números aleatórios. Ratos com função eletrocardíaca anormal foram excluídos. De acordo com outros estudos,^{8,9} combinados com nosso pré-experimento, escolhemos diferentes doses de Dex em nosso experimento. Os ratos do grupo C (grupo controle) receberam solução salina normal na dose de ataque de 60 ml/kg⁻¹/h⁻¹ por 10 min e depois a 10 ml/kg⁻¹/h⁻¹ por 120 min. No grupo D1, os ratos receberam Dex em uma dose de ataque de 30 µg/kg⁻¹ por 10 min e depois a 15 µg/kg⁻¹/h⁻¹ por 120 min. Os ratos do grupo D1A receberam Dex da mesma forma que no grupo D1; no entanto, imediatamente após a administração da dose de ataque

de Dex, 0,5 mg de atropina (Suicheng Pharmaceutical Co., Ltd., Henan, China) foi administrado por via intravenosa e depois a 0,5 mg/kg⁻¹/h⁻¹ por 120 min. No grupo D2, os ratos receberam Dex em uma dose de ataque de 100 µg/kg⁻¹ por 10 min e depois a 50 µg/kg⁻¹/h⁻¹ por 120 min. Os ratos do grupo D₂A receberam Dex da mesma forma que o grupo D2, mas imediatamente após a administração da dose de ataque de Dex, 0,5 mg de atropina foi administrado por via intravenosa e depois a 0,5 mg/kg⁻¹/h⁻¹ por 120 min.

Experimentos

Os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg⁻¹, injeção intraperitoneal). Após a perda dos reflexos de endireitamento, os animais foram colocados de costas em uma tábua de madeira com as pernas presas por fita adesiva. Anestesia local (lidocaína a 0,5%) foi administrada antes do cateterismo da artéria e veia femorais. Pequenos eletrodos de agulha foram inseridos na pele dos membros e conectados ao sistema de aquisição e processamento de dados de informações BL-420F (Chengdu Thaimeng software Co. Ltd., Chengdu, China) por cliques de crocodilo para adquirir dados de eletrocardiograma (ECG) de derivação II padrão. A artéria femoral foi conectada ao BL-420F por um tubo de extensão de infusão de cloreto de polivinila para monitorar continuamente a pressão arterial invasiva. A veia femoral foi conectada a uma bomba de infusão por um tubo de extensão de infusão para administrar diferentes drogas conforme procedimentos descritos anteriormente. Os ratos receberam oxigênio contínuo com fluxos de oxigênio de 2 L/min⁻¹ durante todo o experimento, e SpO₂ foi monitorado simultaneamente usando um monitor PM-9000 (Mindraymedical international Co., Ltd., Shenzhen, China). Durante o experimento, foram excluídos os ratos com pressão arterial média (PAM) < 70 mmHg, frequência cardíaca (FC) < 250 bpm após anestesia ou ECG indicativo de arritmia. Os ratos foram divididos em grupos de acordo com seus números aleatórios originais.

Isolamento do nó SA

A toracotomia foi realizada nos ratos após anestesiá-los a área do tórax com lidocaína a 0,5%, e o coração foi rapidamente excisado e imerso em solução de Tyrode gelada para parar os batimentos cardíacos. O tecido do nó sinusal foi isolado conforme descrito anteriormente 5 após nova poda da crista terminal bem exposta. A veia cava superior, veia cava inferior, crista auricular direita e sulco terminal foram usados como marcadores de localização do nó SA. O sulco terminal foi considerado o centro, e foi retirado do dorso ao longo do longo eixo do seio venoso. A posição localizada no ponto inferior esquerdo paralelo ao sulco terminal a uma distância de 5 mm foi então removida com tesoura ocular. A borda superior do nó sinusal foi determinada pela transecção de cima da crista auricular direita até a parte posterior da crista auricular direita, e a borda inferior foi deter-

minada pela transecção do óstio da veia cava inferior. Finalmente, a longa faixa de tecido do nó sinusal foi exposta. Todas as biópsias tinham um volume aproximado de $1 \times 2 \text{ mm}^3$, e havia 16 amostras em cada grupo. Oito amostras de tecido foram armazenadas em tubos de trava de segurança Eppendorf individuais pré-preenchidos com 0,5 mL de RNA a 4°C durante a noite, seguido de armazenamento a -80°C até análise quantitativa de reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR). As outras oito amostras foram preservadas a -80°C para ensaios de Western blot.

Monitoramento de ponto de tempo

O BL-420F foi usado para monitorar a FC e PAM dos ratos ao longo do experimento. A FC e a PAM foram registradas em T₀ (logo antes da infusão de Dex/salina), T₁ (10 min após o início da infusão de Dex/salina), T₂ (70 min após o início da infusão de Dex/salina) e T₃ (130 min após início da infusão de Dex/solução salina).

Extração de RNA e qRT-PCR

Empregamos separação de esferas magnéticas para obter mRNA do nó SA de acordo com as instruções do fabricante (Invitrogen, EUA), que foi então transcrita reversa em cDNA usando um kit de síntese de cDNA de primeira fita (Roche, Suíça). Um kit quantitativo fluorescente (Light cycler 480 sybr green 1 master, Roche, Suíça) foi usado para completar a reação de amplificação. qRT-PCR foi realizado usando o Real-Time PCR Detection System (CFX96, Bio-Rad Laboratories, Inc. EUA). Todos os experimentos foram realizados em triplicata, e os níveis de mRNA foram padronizados para os de gliceraldeído-fosfato desidrogenase (GAPDH). Examinamos as curvas de fusão para cada reação para garantir a amplificação de um único produto de PCR. A expressão gênica relativa foi determinada pelo método CT comparativo. Os primers usados na análise estão listados na Tabela 1.

Western blotting

As proteínas foram separadas por eletroforese em gel de dodecil sulfato de sódio-poliacrilamida em géis de tris-acetato a 8% antes de serem transferidas para membranas de difluoreto de polivinilideno. Após o bloqueio com albumina de soro bovino (5%), as membranas foram in-

cubadas durante a noite a 4°C com anticorpos policlonais de coelho contra proteínas de camundongo Cx30.2 (1:1000; Abcam Trading Co., Ltd., Xangai, China), Cx40 (1:2000; GeneTex Technologies Inc., EUA) e GAPDH (1:8000; Abcam Trading Co., Ltd., Xangai, China) como controle de carregamento. Isto foi seguido por incubação com anticorpo secundário de cabra anti-coelho IgG (1:12000; Abcam Trading Co., Ltd., Xangai, China) por 1 h a $22 \pm 2^\circ \text{C}$ e lavagem das membranas com solução salina tamponada com tris contendo tween 20. As bandas de proteína reativa foram detectadas usando quimioluminescência aprimorada e visualizadas usando o sistema Bio-Rad. As bandas das imagens resultantes foram então quantificadas usando o software ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA).

Análise estatística

Os dados foram analisados no software SPSS 20.0 e expressos em média \pm desvio padrão. As diferenças estatísticas foram avaliadas usando análise de variância unidirecional (ANOVA) e análise de variância de medidas repetidas. Um valor de $p < 0,05$ indicou significância estatística.

Resultados

Efeitos de Dex e Dex combinados com atropina na FC de ratos com bradicardia sinusal

Não houve diferenças significativas na FC (batimentos/min) em T₁ (352 ± 40), T₂ (343 ± 42) e T₃ (335 ± 39) em relação à FC em T₀ (350 ± 44) no grupo C ($p > 0,05$). A FC foi significativamente menor em T₁ (244 ± 25), T₂ (287 ± 29) e T₃ (262 ± 27) do que em T₀ (355 ± 36) nos grupos D₁ ($p < 0,05$), enquanto a FC em T₂ foi maior que em T₁ e T₃ ($p < 0,05$). No grupo D₂, a FC foi menor em T₁ (212 ± 23), T₂ (215 ± 23) e T₃ (208 ± 23) do que em T₀ (352 ± 38) ($p < 0,05$), e não houve diferença na FC em T₁, T₂ e T₃ ($p > 0,05$). No grupo D₁A, a FC foi significativamente menor em T₁ (241 ± 25) e em T₃ (315 ± 32) do que em T₀ (350 ± 36) ($p < 0,05$), mas não foi observada diferença significativa na FC em T₂ (340 ± 35) ($p > 0,05$). A FC foi maior em T₂ e T₃ do que em T₁ ($p < 0,05$). Nos grupos D₂A, a FC foi significativamente menor em T₁ (216 ± 22), T₂ (307 ± 31) e T₃ (286 ± 23) do que em T₀ (361 ± 36) ($p < 0,05$), e a FC foi maior em

Tabela 1 Primers para os genes alvo.

Gene alvo	Sequência de primers	Comprimento Amplificado (bp)
GAPDH	Primer a montante- F: 5'TCTCTGCTCCTCCCTGTTCT3' Primer a justante- R: 5'ACACCGACCTTCACCATCT3'	87
Cx30.2	Primer a montante- F: 5'AGCAGGAGGAGTTCGTGT3' Primer a justante- R: 5'ACAGCCAGAAGCGGTAGT 3'	96
Cx40	Primer a montante- F: 5'ACGTCTGCAGCATTGTCATC-3' Primer a justante- R: 5'CCCAGTGGTAGAGTTCAGC-3'	147

Tabela 2 Alterações na frequência cardíaca (FC) de ratos com bradicardia sinusal induzida por dexmedetomidina.

Parâmetro de Monitoramento	Grupo	T0	T1	T2	T3
HR (beats/min)	C	350 ± 44	352 ± 40	343 ± 42	335 ± 39
	D1	355 ± 36	244 ± 25a,b	287 ± 29a,b,c	262 ± 27a,c
	D1A	350 ± 36	241 ± 25a,c	340 ± 35b	315 ± 32a,b
	D2	352 ± 38	212 ± 23a,c	215 ± 23a,c	208 ± 23a,c
	D2A	361 ± 36	216 ± 22a,c	307 ± 31a,b,c	286 ± 23a,b,c

No grupo C (grupo controle), os ratos receberam solução salina normal. Nos grupos D₁ e D₁A, administrou-se dexmedetomidina na dose de ataque de 30 mg.kg⁻¹ por 10 min e depois a 15 mg.kg⁻¹.h⁻¹ por 120 min. Nos grupos D₂ e D₂A, os ratos receberam dexmedetomidina na dose de ataque de 100 mg.kg⁻¹ por 10 min e depois a 50 mg.kg⁻¹.h⁻¹ por 120 min. Além disso, nos grupos D₁A e D₂A, os ratos receberam atropina na dose de ataque de 0,5 mg e depois a 0,5 mg.kg⁻¹.h⁻¹ por 120 min. Em comparação com T₀.

^ap < 0,05; comparado a T₁.

^bp < 0,05; comparado ao grupo C.

^cp < 0,05. (Os dados são apresentados como média ± desvio padrão, n= 16 por grupo).

T₂ e T₃ do que em T₁ ($p > 0,05$). A FC foi significativamente diminuída em T₁₋₃ nos grupos D₁, D₂ e D₂A em relação ao grupo C ($p < 0,05$). Apenas a FC em T₁ no grupo D₁A estava diminuída em relação ao grupo C ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Alterações no nível de expressão de Cx30.2 e Cx40 no nodo SA de ratos com bradicardia sinusal

As análises de qRT-PCR e western blot revelaram que a expressão de Cx30.2 foi significativamente aumentada nos grupos D₁ (mRNA, 2,75 ± 0,51; proteína, 1,43 ± 0,18), D₂ (mRNA, 4,84 ± 0,83; proteína, 2,40 ± 0,06) e D₂A (mRNA, 2,43 ± 0,23; proteína, 1,43 ± 0,11) em comparação com o grupo C (mRNA, 1,04 ± 0,03; proteína, 1,00 ± 0,02) ($p < 0,05$), e foi significativamente maior no grupo D₂ do que no grupo D₁ ($p < 0,05$). Além disso, os

níveis de mRNA e proteína de Cx30.2 nos grupos D₁A (mRNA, 1,29 ± 0,30; proteína, 1,09 ± 0,04) e D₂A foram significativamente diminuídos em comparação com aqueles nos grupos correspondentes (grupos D₁ e D₂, respectivamente) ($p < 0,05$), e foi significativamente maior no grupo D₂A do que no grupo D₁A ($p < 0,05$). Os resultados de qRT-PCR e western blotting indicam que os níveis de expressão de mRNA e proteína de Cx40 nos grupos D₁ (mRNA 0,63 ± 0,14; proteína 0,73 ± 0,14) e D₂ (mRNA 0,34 ± 0,18; proteína 0,56 ± 0,11) diminuíram em comparação com aqueles em grupo C (mRNA, 1,11

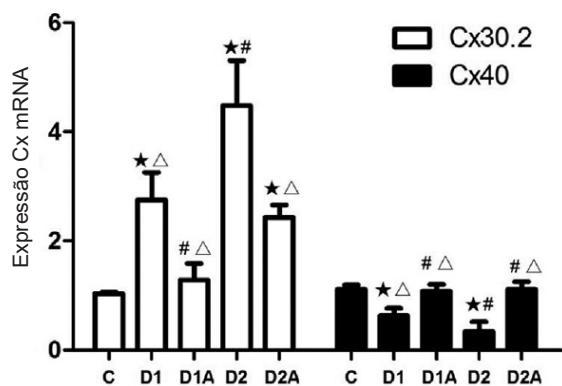


Figura 1 Expressão de mRNA de Cx30.2 e Cx40 em ratos com bradicardia sinusal induzida por dexmedetomidina. C (grupo controle), os ratos receberam solução salina normal. Nos grupos D₁ e D₁A, os ratos receberam Dex na dose de ataque de 30 mg.kg⁻¹ por 10 min e depois a 15 mg.kg⁻¹.h⁻¹ por 120 min. Ratos dos grupos D₂ e D₂A receberam Dex em uma dose de carga de 100 mg.kg⁻¹ por 10 min e depois a 50 mg.kg⁻¹.h⁻¹ por 120 min. Além disso, os ratos dos grupos D₁A e D₂A receberam atropina na dose de ataque de 0,5 mg e depois a 0,5 mg.kg⁻¹.h⁻¹ por 120 min. *p < 0,05 vs. Grupo C, #p < 0,05 vs. Grupo D₁; Δp < 0,05 vs. Grupo D₂. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão, n = 8 por grupo).

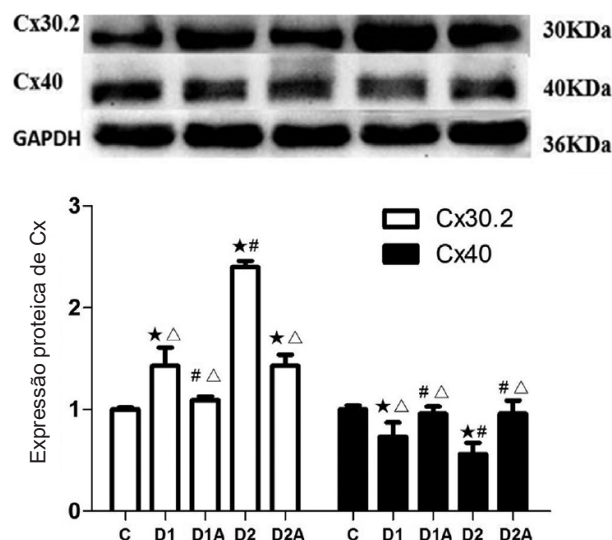


Figura 2 Expressão proteica de Cx30.2 e Cx40 em ratos com bradicardia sinusal induzida por dexmedetomidina. No Grupo C, os ratos receberam solução salina normal. Os ratos dos grupos D₁ e D₁A receberam Dex na dose de ataque de 30 mg.kg⁻¹ por 10 min e depois a 15 mg.kg⁻¹.h⁻¹ por 120 min. Nos grupos D₂ e D₂A, os ratos receberam Dex na dose de ataque de 100 mg.kg⁻¹ por 10 min e depois a 50 mg.kg⁻¹.h⁻¹ por 120 min. Além disso, nos grupos D₁A e D₂A, os ratos receberam atropina na dose de ataque de 0,5 mg e depois 0,5 mg.kg⁻¹.h⁻¹ por 120 min. *p < 0,05 vs. Grupo C, #p < 0,05 vs. Grupo D₁; Δp < 0,05 vs. Grupo D₂. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão, n = 8 por grupo).

$\pm 0,08$; proteína, $1,00 \pm 0,04$) ($p < 0,05$). Os níveis de expressão de Cx40 no Grupo D2 foram inferiores aos do grupo D₁ ($p < 0,05$). Além disso, os níveis de expressão de Cx40 nos grupos D₁A (mRNA, $1,08 \pm 0,12$; proteína, $0,96 \pm 0,07$) e D₂A (mRNA, $0,96 \pm 0,13$, proteína, $0,96 \pm 0,13$) foram significativamente aumentados em comparação com os dos grupos correspondentes (grupos D₁ e D₂, respectivamente) ($p < 0,05$) (Tabela 3 e Figura 1 e 2).

Discussão

O coração é inervado pelos nervos simpáticos e vagais. Entre os fatores que influenciam as funções dos nodos SA e AV, o sistema nervoso autônomo desempenha o papel mais importante.¹⁰ Um estudo anterior relatou que Dex, um agonista de receptores $\alpha 2$ altamente seletivo, causou alterações na frequência cardíaca por meio da supressão das atividades de os nervos simpáticos periféricos e centrais, induzindo assim condições vagais dominantes.¹¹ Com a estimulação da ligação do receptor $\alpha 2$ no *locus coeruleus*, Dex inibe a liberação de norepinefrina neuronal e bloqueia a transmissão descendente da atividade do nervo simpático, reduzindo assim a liberação de adrenalina da medula adrenal. Além disso, a Dex diminui o tônus simpático ao inibir a liberação de norepinefrina dos terminais simpáticos na periferia, resultando na redução da pressão arterial e da FC.^{12,13} Nos últimos anos, experimentos com animais mostraram que a Dex pode ativar diretamente o nervo vago cardíaco. Estudos histocitológicos também demonstraram a presença de receptores $\alpha 2$ -adrenérgicos no núcleo ambíguo, núcleo dorsal e núcleo do trato solitário da medula oblonga.^{8,9} Sharp et al. e neurônios vagais cardíacos, sem efeito significativo na entrada excitatória. A diminuição da neurotransmissão inibitória para os neurônios vagais cardíacos resulta em um aumento na excitabilidade dos neurônios parassimpáticos que se projetam para o coração. Shimizu et al.^{8,15} demonstraram que $100 \mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$ de medetomidina (uma mistura racêmica de dois estereoisômeros, Dex e levomedetomidina, com Dex como enantiômero ativo) ativa o nervo vago cardíaco por meio da modulação do controle barorreflexo do sistema nervoso central.

Um modelo de bradicardia em ratos é considerado estabelecido com sucesso se a FC diminui $> 30\%$ e é estável por 30 min.¹⁶ Shimizu et al.^{8,9} demonstraram que 10 e $100 \mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$ de medetomidina diminuíram significativamente os níveis de norepinefrina em diálise cardíaca. A medetomidina intravenosa ($100 \mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$) aumentou significativamente as concentrações de acetilcolina no dialisado cardíaco em coelhos e ratos e teve um efeito equivalente à estimulação elétrica vagal a 10 Hz (a estimulação elétrica vagal a 20 Hz pode causar bloqueio AV ou parada sinusal). Escolhemos uma dose de ataque de Dex ($30 \mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$) como o grupo de baixa dose, o que pode levar apenas à diminuição da FC $> 30\%$ em ratos. É a dose limiar para que o modelo de bradicardia sinusal seja construído com

sucesso. Escolhemos uma dose de ataque de Dex ($100 \mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$) como o grupo de alta dose. É a dose limite para fazer a FC diminuir para um valor limiar em ratos, a frequência cardíaca não diminuiu mesmo com o aumento da dose do fármaco.

Vários estudos revelaram que diferentes tipos de canais de junção comunicante têm condutâncias diferentes e que sua seletividade iônica e propriedades de permeação permanecem diferentes.⁷ No sistema de condução cardíaco, Cx40 e Cx43 têm alta condutância unitária, enquanto Cx30.2 e Cx45 têm baixa condutância unitária. Sabe-se agora que os nodos SA e AV são tecidos especializados com propagação lenta de impulsos que expressam apenas Cx30.2 (9 pS) e Cx45 (32 pS).¹⁷ A co-expressão de Cx30.2 e Cx40 dentro do nodo AV tem sido detectado em camundongos. Além disso, os canais de junções comunicantes homotípicas formados por Cx40 têm alta condutância unitária (180 pS), enquanto as junções comunicantes heterotípicas Cx43/Cx45 formadas por Cx30.2/Cx40 têm condutância unitária relativamente baixa (18 pS).¹⁸ Mudanças significativas no ECG e os indicadores da função de condução do nó AV foram relatados em camundongos deficientes nos genes Cx30.2 e Cx40.^{17,19} Cx30.2, como um importante marcador de condução lenta, e Cx40, como um importante marcador de condução rápida, contribuem para a modulação da propagação do impulso elétrico em diferentes áreas do nó AV,^{4,20} mantendo assim a condução AV normal.

Em comparação com a FC basal, houve redução na FC dos ratos nos grupos D₁ e D₂ em 31% e 40% , respectivamente, mas não foi observado bloqueio AV nem parada sinusal. A PAM dos dois grupos experimentais foi significativamente menor que a do grupo controle, e os níveis de expressão de Cx30.2 nos grupos D₁ e D₂ foram significativamente maiores que no grupo C. Além disso, os níveis de expressão de Cx40 nos grupos D₁ e D₂ foram significativamente menores do que no grupo C. As junções comunicantes são canais de membrana que medeiam o movimento célula a célula de íons e pequenos metabólitos. No coração, as junções comunicantes desempenham um papel importante na condução do impulso, e os distúrbios de acoplamento intercelular são uma importante causa de arritmia. O mecanismo pelo qual a Dex influencia a expressão de Cx30.2 e o envolvimento do aumento da atividade vagal permanecem desconhecidos.

A indução de condições vagais dominantes pela supressão da atividade do nervo simpático e aumento direto da atividade do nervo vago cardíaco são amplamente reconhecidos como os mecanismos pelos quais a Dex induz a mudança no equilíbrio autonômico. Usamos atropina, um antagonista competitivo e reversível dos receptores muscarínicos de acetilcolina, para bloquear os receptores M_2 no nodo SA. Segundo Jammes,²¹ $0,5 \text{ mg}$ de atropina podem bloquear completamente a neurotransmissão colinérgica no coração de ratos, aliviando essencialmente a inibição do nervo vago no co-

ração. Os resultados indicam que a expressão de Cx30.2 foi significativamente reduzida nos grupos D₁A e D₂A em relação aos grupos D₁ e D₂, e a expressão de Cx40 foi significativamente aumentada nos grupos D₁A e D₂A em relação aos grupos D₁ e D₂. Pode-se inferir que o aumento da atividade vagal pode ser um dos fatores responsáveis pelas alterações nos níveis de expressão de Cx30.2 e Cx40 no nodo SA em ratos com bradicardia sinusal induzida por Dex. No entanto, a FC no grupo D₂A ainda foi significativamente menor do que no grupo C, e a expressão de Cx30.2 no grupo D₂A foi significativamente maior do que no grupo C. Com base em nossos resultados experimentais, hipotetizamos que outros mecanismos podem estar associados com o efeito de altas doses de Dex na expressão de Cx30.2,²² e um estudo mais aprofundado é necessário para identificar os fatores que estão associados às alterações na expressão de Cx30.2.

Nosso estudo mostrou que a bradicardia causada pelo tratamento prolongado (cerca de 2 h) com Dex pode levar a alterações na expressão de conexinas no nó SA. Nos últimos anos, alguns estudos relataram que Dex pode causar parada cardíaca.^{2,3} Há um estudo mostrando que alterações na expressão de conexinas no coração podem levar a condução anormal de impulsos elétricos, levando a arritmias e até morte súbita.²³ O nó sinoatrial é o principal marca-passo do coração, e sua disfunção pode ter maior probabilidade de causar arritmias. Considerando os presentes achados, sugerimos cautela na administração de Dex em pacientes com comprometimento do sistema de condução cardíaca, especialmente naqueles com disfunção do nó SA. Se ocorrer bradicardia relacionada à Dex, atropina pode ser usada para reduzir a incidência de eventos adversos cardíacos.

Houve algumas limitações em nosso estudo. Em primeiro lugar, a causa da alteração da proteína em ratos não estava clara. Mudança de neurotransmissores no nó sinoatrial, ou os efeitos diretos de Dex no nó sinoatrial foram todos os motivos possíveis. Em segundo lugar, na anestesia clínica, embora a administração de Dex tenha sido em baixa dosagem, a incidência de bradicardia foi alta. O objetivo do nosso estudo foi observar a alteração nas conexinas da proteína da junção comunicante no nó sinoatrial da bradicardia em ratos. Para garantir que os ratos apresentassem bradicardia, escolhemos doses relativamente grandes de Dex. É possível que os efeitos de Dex em humanos possam ser um pouco diferentes em relação à expressão das mesmas proteínas.

Conclusões

Em resumo, a expressão da proteína de junção comunicante de baixa condutividade, Cx30.2, dentro do nodo SA foi aumentada em ratos com bradicardia sinusal induzida por Dex, e a expressão da proteína de junção comunicante de alta condutividade, Cx40, foi diminuída. A alteração na expressão das proteínas das junções comunicantes, Cx30.2 e

Cx40, é uma das causas da bradicardia do seio cardíaco, e a atividade nervosa autônoma está envolvida na regulação dessas proteínas.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

Este estudo foi apoiado pela Guizhou Provincial Natural Science Foundation ZK [2021]-433.

Referências

1. Ergul Y, Unsal S, Ozyilmaz I, et al. Electrocardiographic and electrophysiologic effects of dexmedetomidine on children. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2015;38:682-7.
2. Takata K, Adachi YU, Suzuki K, et al. Dexmedetomidine-induced atrioventricular block followed by cardiac arrest during atrial pacing: A case report and review of the literature. *J Anesth.* 2014;28:116-20.
3. Zhang X, Schmidt U, Wain JC, et al. Bradycardia leading to asystole during dexmedetomidine infusion in an 18 year-old double-lung transplant recipient. *J Clin Anesth.* 2010;22:45-9.
4. Lo CW. Role of gap junctions in cardiac conduction and development: Insights from the connexin knockout mice. *Circ Res.* 2000;87:346-8.
5. Jansen JA, van Veen TA, de Bakker JM, et al. Cardiac connexins and impulse propagation. *J Mol Cell Cardiol.* 2010;48:76-82.
6. Munshi NV, McAnally J, Bezprozvannaya S, et al. Cx30.2 enhancer analysis identifies gata4 as a novel regulator of atrioventricular delay. *Development.* 2009;136:2665-74.
7. Kreuzberg MM, Sohl G, Kim JS, et al. Functional properties of mouse connexin30.2 expressed in the conduction system of the heart. *Circ Res.* 2005;96:1169-77.
8. Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, et al. Medetomidine, an alpha(2)-adrenergic agonist, activates cardiac vagal nerve through modulation of baroreflex control. *Circ J.* 2012;76:152-9.
9. Kawada T, Akiyama T, Shimizu S, et al. Sympathetic afferent stimulation inhibits central vagal activation induced by intravenous medetomidine in rats. *Acta Physiol.* 2013;209:55-61.
10. Kapa S, Venkatachalam KL, Asirvatham SJ. The autonomic nervous system in cardiac electrophysiology: An elegant interaction and emerging concepts. *Cardiol Rev.* 2010;18:275-84.
11. Ebert TJ, Hall JE, Barney JA, et al. The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology.* 2000;93:382-94.
12. Snapir A, Posti J, Kentala E, et al. Effects of low and high plasma concentrations of dexmedetomidine on myocardial perfusion and cardiac function in healthy male subjects. *Anesthesiology.* 2006;105:902-10.
13. Tan JA, Ho KM. Use of dexmedetomidine as a sedative and analgesic agent in critically ill adult patients: A meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2010;36:926-39.
14. Sharp DB, Wang X, Mendelowitz D. Dexmedetomidine decreases inhibitory but not excitatory neurotransmission to cardiac vagal neurons in the nucleus ambiguus. *Brain Res.* 2014;1574:1-5.

15. Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, et al. Medetomidine suppresses cardiac and gastric sympathetic nerve activities but selectively activates cardiac vagus nerve. *Circ J*. 2014;78:1405-13.
16. Li Y, Fu X, Zhang Z, et al. Knockdown of cardiac kir3.1 gene with sirna can improve bradycardia in an experimental sinus bradycardia rat model. *Mol Cell Biochem*. 2017;429:103-11.
17. Kreuzberg MM, Schrickel JW, Ghanem A, et al. Connexin30.2 containing gap junction channels decelerate impulse propagation through the atrioventricular node. *Proc Natl Acad*. 2006;103:5959-64.
18. Stein M, van Veen TA, Remme CA, et al. Combined reduction of intercellular coupling and membrane excitability differentially affects transverse and longitudinal cardiac conduction. *Cardiovasc Res*. 2009;83:52-60.
19. Kirchhoff S, Nelles E, Hagedorff A, et al. Reduced cardiac conduction velocity and predisposition to arrhythmias in connexin40-deficient mice. *Curr Biol*. 1998;8:299-302.
20. Schrickel JW, Kreuzberg MM, Ghanem A, et al. Normal impulse propagation in the atrioventricular conduction system of cx30.2/cx40 double deficient mice. *J Mol Cell Cardiol*. 2009;46:644-52.
21. Jammes Y, Joulia F, Steinberg JG, et al. Endogenous adenosine release is involved in the control of heart rate in rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015;93:667-75.
22. Monzen K, Nagai R, Komuro I. A role for bone morphogenetic protein signaling in cardiomyocyte differentiation. *Trends Cardiovasc Med*. 2002;12:263-9.
23. Severs NJ, Bruce AF, Dupont E, et al. Remodeling of gap junctions and connexin expression in diseased myocardium. *Cardiovasc Res*. 2008;80:9-19.