

Les phosphodiesterases des nucléotides cycliques

Les nucléotides cycliques, AMPc et GMPc, sont des messagers intracellulaires impliqués dans la régulation de toutes les principales fonctions biologiques. Leur effet prend fin lorsqu'ils sont hydrolysés dans la cellule par les phosphodiesterases des nucléotides cycliques. Les phosphodiesterases de mammifères ont été classées en cinq familles sur la base de leurs caractéristiques structurales et cinétiques, et de leur modulation par divers effecteurs physiologiques et pharmacologiques. Les inhibiteurs de phosphodiesterases présentent un intérêt en tant qu'outils pharmacologiques pour augmenter la teneur intracellulaire en AMPc ou en GMPc, et, par ce biais, représentent une nouvelle classe d'agents thérapeutiques potentiels dans le traitement de diverses maladies.

Bernard Muller
Narcisse Komas
Thérèse Keravis
Claire Lugnier

ADRESSE

B. Muller : *attaché temporaire d'enseignement et de recherche*. T. Keravis : *chargée de recherche à l'Inserm*. C. Lugnier : *directeur de recherche au Cnrs*. Faculté de pharmacie de l'université Louis-Pasteur de Strasbourg, laboratoire de pharmacologie cellulaire et moléculaire, Cnrs URA 600, BP 24, 67401 Illkirch Cedex, France. N. Komas : *chercheur post-doctoral*. Laboratory of cellular metabolism, National heart, lung and blood institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, États-Unis.

Les nucléotides cycliques - AMPc (adénosine 3',5' monophosphate cyclique) et GMPc (guanosine 3',5' monophosphate cyclique) - sont des messagers intracellulaires impliqués dans la régulation de toutes les principales fonctions biologiques (fonctions métaboliques, contractiles et sécrétoires). Une élévation de la teneur en AMPc stimule la lipolyse et la glycogénolyse, augmente la force de contraction et la fréquence cardiaques, relâche les muscles lisses et module la libération de divers neurotransmetteurs et hormones. L'importance biologique du GMPc a été bien établie dans la transduction du stimulus visuel et la relaxation du muscle lisse.

Les nucléotides cycliques sont impliqués dans le mécanisme d'action de nombreuses substances endogènes (hormones, neurotransmetteurs, autacoïdes) et exogènes (drogues).

Ces agents sont capables de stimuler l'activité des enzymes responsables de la synthèse de l'AMPc à partir d'ATP ou de celle du GMPc à partir de GTP (adénylate et guanylate-cyclases respectivement) (*figure 1*). La dégradation des nucléotides cycliques est assurée par les phosphodiesterases des nucléotides cycliques, un système enzymatique complexe qui représente la seule voie physiologique d'hydrolyse des nucléotides cycliques en nucléotides 5' correspondants (*figure 1*). Cinq familles de phosphodiesterases ont été distinguées chez les mammifères (*Tableau 1*; pour revue : [1]). Certaines familles de phosphodiesterases peuvent être inhibées plus ou moins sélectivement par divers agents pharmacologiques. L'utilisation de ces inhibiteurs vise à ralentir l'hydrolyse des nucléotides cycliques et donc à augmenter leur teneur intracellulaire, ce qui peut modifier favorable-

RÉFÉRENCES

1. Beavo JA, Reifsnnyder DH. Primary sequence of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes and the design of selective inhibitors. *Trends Pharmacol Sci* 1990 ; 11 : 150-5.
2. Nicholson CD, Challis RA, Shahid M. Differential modulation of tissue function and therapeutic potential of selective inhibitors of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes. *Trends Pharmacol Sci* 1991 ; 12 : 19-27.
3. Hall IP. Isoenzyme selective phosphodiesterase inhibitors: potential clinical uses. *Br J Clin Pharmacol* 1993 ; 35 : 1-7.
4. Wang JH, Sharma RK, Mooibroek MJ. Calmodulin-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterases. In : Beavo JA, Houslay MD, eds. *Molecular pharmacology of cell regulation, vol. 2: Cyclic nucleotide phosphodiesterases: structure, regulation and drug action*. Chichester, UK: John Wiley and Sons, 1990 : 19-60.
5. Bentley JK, Kadlecak A, Sherbert CH, et al. Molecular cloning of cDNA encoding a « 63 »-kDa calmodulin-stimulated phosphodiesterase from bovine brain. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 18676-82.
6. Hidaka H, Tanaka T, Itoh H. Selective inhibitors of three forms of cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Trends Pharmacol Sci* 1984 ; 5 : 237-9.
7. Lugnier C, Follénus A, Gérard D, Stoclet JC. Bepriidil and flunarizine as calmodulin inhibitors. *Eur J Pharmacol* 1984 ; 98 : 157-8.
8. Manganiello VC, Tanaka T, Murashima S. Cyclic GMP-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase. In : Beavo JA, Houslay MD, eds. *Molecular pharmacology of cell regulation, vol. 2: Cyclic nucleotide phosphodiesterases: structure, regulation and drug action*. Chichester, UK: John Wiley and Sons, 1990 : 61-86.
9. Charbonneau H, Prusti RK, LeTrong H, et al. Identification of a non-catalytic cGMP binding domain conserved in both the cGMP-stimulated and photoreceptor cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 288-92.
10. LeTrong H, Beier N, Sonnenburg WK, et al. Amino acid sequence of the cyclic GMP stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase from bovine heart. *Biochemistry* 1990 ; 29 : 10280-8.
11. Komaz N, Le Bec A, Stoclet JC, Lugnier C. Cardiac cGMP-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterases: effects of cGMP analogues and drugs. *Eur J Pharmacol (Mol Pharmacol Section)* 1991 ; 206 : 5-13.
12. Muller B, Stoclet JC, Lugnier C. Cytosolic and membrane-bound cyclic nucleotide phosphodiesterases from guinea-pig cardiac ventricles. *Eur J Pharmacol (Mol Pharmacol Section)* 1992 ; 225 : 263-72.

ment certaines fonctions biologiques (pour revues : [2, 3]). Les premiers inhibiteurs connus de l'hydrolyse des nucléotides cycliques ont été les méthylxanthines (caféine, théophylline, isobutyl-méthylxanthine ou IBMX). Cet article propose une synthèse des principales informations sur la structure, la localisation, la régulation, la fonction des différentes familles de phosphodiesterases et sur les principaux domaines d'application clinique des inhibiteurs de phosphodiesterases.

Les différentes familles de phosphodiesterases

La dénomination des différentes phosphodiesterases a longtemps été basée sur leur ordre d'éluion chromatographique à partir de résines échangeuses d'ions. Cependant, la multiplicité et la diversité tissulaire des enzymes (au moins 25 formes différentes de phosphodiesterases ont été identifiées chez les mammifères) et les caractéristiques différentes des supports chromatographiques utilisés par différentes équipes ont amené une grande confusion dans la dénomination des différentes enzymes. Récemment, grâce notamment à l'apport de la biologie moléculaire, Beavo et Reifsnnyder [1] ont proposé une classification des phosphodiesterases en cinq familles (PDE I à V) en fonction de leur séquence en acides aminés, de leurs proprié-

tés cinétiques et de leur sensibilité à divers médiateurs physiologiques et agents pharmacologiques (Tableau I). Le clonage de plusieurs ADN complémentaires codant pour des phosphodiesterases appartenant aux différentes familles a confirmé l'existence de gènes multiples, apparentés mais distincts, codant pour les cinq familles. La plupart de ces familles comprennent deux ou plusieurs sous-familles correspondant à des gènes fortement homologues mais distincts. Les identités de séquence entre les différents membres d'une même famille sont supérieures à 70 %. Les membres de chaque famille présentent approximativement 30 % à 55 % d'identité de séquence avec les membres des autres familles. Cette identité de séquence entre les différentes familles de phosphodiesterases porte essentiellement sur une région d'environ 270 acides aminés de l'extrémité C-terminale. Le site catalytique recouvre ce domaine conservé (figure 2). Les différents modulateurs de l'activité enzymatique (Ca^{2+} /calmoduline, GMPc) se fixent sur un domaine proche de l'extrémité N-terminale (figure 2).

PDE I, activées par le complexe calcium/calmoduline

Cette famille de phosphodiesterases présente la propriété d'être activée

Tableau I					
CLASSIFICATION DES DIFFÉRENTES FAMILLES DE PDE					
	PDE I	PDE II	PDE III	PDE IV	PDE V
Substrat(s)	AMPc et GMPc	AMPc et GMPc	AMPc et GMPc	AMPc	GMPc
Modulateur	Ca^{2+} / CaM+	GMPc+	GMPc-		
Inhibiteurs	IBMX nimodipine vinpocétine	IBMX	IBMX milrinone indolidan	IBMX rolipram denbutylline	IBMX zaprinast
<i>CaM</i> : calmoduline ; <i>IBMX</i> : isobutylméthylxanthine ; + : activation ; - : inhibition.					

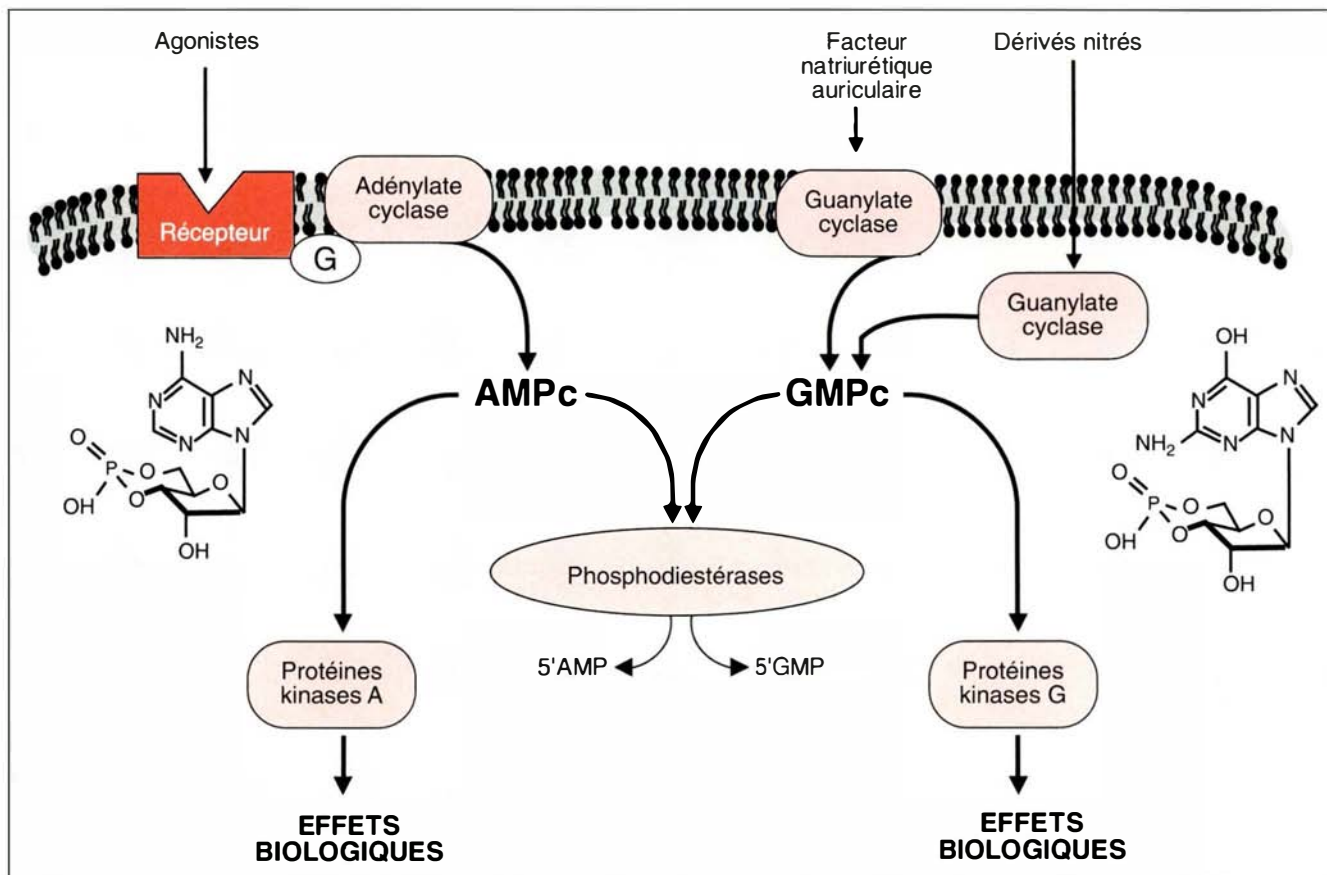


Figure 1. **Représentation schématique des voies métaboliques et des effets biologiques des nucléotides cycliques.** Différents agents sont capables de stimuler l'adénylate-cyclase, enzyme membranaire responsable de la synthèse d'AMPc à partir d'ATP : par exemple, les catécholamines (action sur les récepteurs β -adrénergiques ou D1-dopaminergiques), l'adénosine (action sur les récepteurs de type A2) ou la prostacycline. La synthèse de GMPc à partir de GTP est assurée par des guanylate cyclases (membranaires et cytosoliques). Le facteur natriurétique auriculaire active une guanylate cyclase membranaire, tandis qu'un facteur relaxant dérivé de l'endothélium (monoxyde d'azote) et les vasodilatateurs nitrés (nitroprussiate de sodium) stimulent l'activité d'une enzyme cytosolique. Les nucléotides cycliques exercent leurs effets biologiques par l'intermédiaire de protéines kinases et sont dégradés par les phosphodiéstérases en nucléotides 5' (5'AMP ou 5'GMP).

en présence d'ions Ca^{2+} par une protéine thermostable de faible masse moléculaire, la calmoduline. Une PDE I a été caractérisée pour la première fois dans le cerveau, où elle semble présente en grande quantité. Depuis, différentes sous-familles de phosphodiéstérases ont été identifiées dans divers tissus (pour revue : [4]). Les sous-familles diffèrent essentiellement par leur répartition tissulaire et par leur propriété à utiliser l'AMPc ou le GMPc comme substrat préférentiel [1]. Les homologies de séquence primaire avec d'autres enzymes liant la calmoduline suggèrent un site de liaison

pour cette protéine proche de la région N-terminale [5]. Les antagonistes de la calmoduline (calmidazolium, flunarizine) sont capables d'inhiber l'activation par la calmoduline de nombreuses enzymes, y compris des PDE I [6]. La vinpocétine, en revanche, et certaines dihydropyridines (comme la nimodipine) sont décrites comme inhibant l'activité basale des PDE I [6, 7]. Cependant, les dihydropyridines sont avant tout des inhibiteurs de l'influx calcique dans les cellules, ce qui limite à des systèmes acellulaires leur utilisation en tant qu'inhibiteur de PDE I. Le rôle de cette famille

de phosphodiéstérases reste encore à définir : les agents qui augmentent le Ca^{2+} intracellulaire sont susceptibles, *via* la calmoduline, d'activer les PDE I et ainsi de diminuer, selon la spécificité de substrat de la PDE I dans le tissu concerné, la teneur intracellulaire en GMPc et/ou en AMPc, (pour revue : [4]).

PDE II, stimulées par le GMPc

Initialement identifiée dans le foie, une PDE II a été mise en évidence dans de nombreux autres tissus comme la médullosurrénale, le

RÉFÉRENCES

- Fischmeister R, Hartzell HC. Cyclic AMP phosphodiesterase and Ca^{2+} current regulation in cardiac cells. *Life Sci* 1991; 48: 2365-76.
- Manganiello VC, Smith CJ, Degerman E, Bellfarge P. Cyclic GMP-inhibited cyclic nucleotide phosphodiesterase. In: Beavo JA, Houslay MD, eds. *Molecular pharmacology of cell regulation, vol. 2: Cyclic nucleotide phosphodiesterases: structure, regulation and drug action*. Chichester, UK: John Wiley and Sons, 1990: 87-116.
- Meacci E, Taira M, Moos M Jr, et al. Molecular cloning and expression of human myocardial cGMP-inhibited cAMP phosphodiesterase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 3721-5.
- Wang LH, Komaz N, Taira M, Manganiello VC. Expression of human cardiac cGMP-inhibited (type III) cyclic nucleotide phosphodiesterase (cGI-PDE) in Sf9 insect cells. *FASEB J* 1993; 7: 578.
- Harrison SA, Reifsnnyder DH, Gallis B, Cadd GG, Beavo JA. Isolation and characterization of bovine cardiac muscle cGMP-inhibited phosphodiesterase: a receptor for new cardiotoxic drugs. *Mol Pharmacol* 1986; 29: 506-14.
- Lugnier C, Komaz N. Modulation of vascular cyclic nucleotide phosphodiesterases by cyclic GMP: role in vasodilatation. *Eur Heart J* 1993 (sous presse).
- Conti M, Swinnen JV. Structure and function of the rolipram sensitive, low K_m cyclic AMP phosphodiesterase: a family of highly related enzymes. In: Beavo JA, Houslay MD, eds. *Molecular pharmacology of cell regulation, vol. 2: Cyclic nucleotide phosphodiesterases: structure, regulation and drug action*. Chichester, UK: John Wiley and Sons, 1990: 243-66.
- Livi GP, Kmetz P, McHale MM, et al. Cloning and expression of cDNA for a human low- K_m rolipram sensitive cyclic AMP phosphodiesterase. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 2678-86.
- Muller B, Lugnier C, Stodet JC. Involvement of rolipram-sensitive cyclic AMP phosphodiesterase in the regulation of cardiac contraction. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990 b; 16: 796-803.
- Komaz N, Lugnier C, Stodet JC. Endothelium-dependent and independent relaxation of the rat aorta by cyclic nucleotide phosphodiesterase inhibitors. *Br J Pharmacol* 1991; 104: 495-503.
- Gillepsie PG. Phosphodiesterases in visual transduction by rods and cones. In: Beavo JA, Houslay MD, eds. *Molecular pharmacology of cell regulation, vol. 2: Cyclic nucleotide phosphodiesterases: structure, regulation and drug action*. Chichester, UK: John Wiley and Sons, 1990: 163-84.
- Lolley RN, Lee RH. Cyclic GMP and photoreceptor function. *FASEB J* 1990; 4: 3001-8.
- cœur, l'endothélium vasculaire ou la trachée (pour revue: [8]). Un séquençage partiel d'une PDE II de glandes surrénales a pu être réalisé [9] et la séquence complète en acides aminés d'une PDE II de cœur de bœuf a été rapportée [10]. Deux domaines différents de liaison du GMPc ont ainsi été identifiés: un site catalytique, pouvant fixer et hydrolyser aussi bien l'AMPc que le GMPc (K_m ou constante de Michaelis-Menten supérieure à $10 \mu\text{M}$), et un site de nature allostérique, liant préférentiellement le GMPc. La fixation du GMPc et de certains de ses analogues au site allostérique stimule l'hydrolyse de l'AMPc [11]. A l'heure actuelle, on ne connaît pas d'inhibiteurs spécifiques des PDE II. Dans les glandes surrénales, l'activité phosphodiesterase est assurée en grande partie par une PDE II localisée presque exclusivement dans les cellules glomérulaires du cortex surrénalien. Dans ces cellules, il est bien établi, d'une part, que la teneur en GMPc augmente en réponse au facteur natriurétique auriculaire et, d'autre part, que le facteur natriurétique auriculaire diminue la production d'aldostérone. Ainsi, une PDE II pourrait être impliquée dans le mécanisme d'action des agents, comme le facteur natriurétique auriculaire, connus pour augmenter la teneur intracellulaire de GMPc et diminuer la synthèse de stéroïdes dans les glandes surrénales [1]. Au niveau cardiaque, une PDE II semble être présente en grande quantité au niveau membranaire [12]. Divers arguments expérimentaux laissent supposer que le mécanisme d'action des agents qui augmentent le GMPc au niveau cardiaque impliquerait, au moins en partie, l'activation de l'hydrolyse de l'AMPc via une PDE II (pour revue: [13]).

PDE III, inhibées par le GMPc

Une activité phosphodiesterase inhibée par le GMPc a été identifiée initialement dans les tissus adipeux de rat. Depuis, ce type d'enzyme a été purifié à partir de différents tissus comme le cœur, le muscle lisse vasculaire, la trachée ou encore les pla-

quettes (pour revue: [14]). Du point de vue de leur structure, les PDE III semblent différer des autres familles de phosphodiesterases, principalement par la présence de 44 acides aminés additionnels dans le domaine conservé (figure 2); cette séquence pourrait jouer un rôle important dans la régulation physiologique de ces phosphodiesterases [15]. L'analyse détaillée de la composition en acides aminés de cette famille de phosphodiesterases a permis de mettre en évidence des sites potentiels de phosphorylation et, dans l'extrémité N-terminale, une région hydrophobe susceptible d'être responsable de l'ancrage de ces enzymes dans les membranes [15, 16]. Les PDE III hydrolysent l'AMPc et le GMPc avec des valeurs de K_m comprises entre $0,1 \mu\text{M}$ et $0,2 \mu\text{M}$ [15-17]. Cependant, la vitesse d'hydrolyse de l'AMPc est dix fois plus élevée que celle du GMPc qui se comporterait comme un inhibiteur compétitif de l'hydrolyse de l'AMPc [17]. Au niveau des plaquettes et du muscle lisse vasculaire, l'inhibition de l'hydrolyse de l'AMPc par le GMPc pourrait expliquer l'action synergique des substances augmentant le GMPc et des substances augmentant l'AMPc [18]. Différents agents pharmacologiques sont capables d'inhiber les PDE III (amrinone, milrinone, enoximone, indolidan...); ils présentent des propriétés inotropes positives, vasodilatatrices et antiagrégantes plaquettaires (pour revues: [2, 3, 14]).

PDE IV, hydrolysant spécifiquement l'AMPc

Une PDE IV a été identifiée dans de très nombreux tissus comme le cerveau, le cœur, l'endothélium vasculaire, le muscle lisse vasculaire et la trachée (pour revue: [19]). Au moins cinq enzymes différentes ont été clonées; celle des monocytes humains présente un K_m vis-à-vis de l'AMPc de $3 \mu\text{M}$ [20]. Cette famille de phosphodiesterases est inhibée spécifiquement par le composé Ro 20-1724, le rolipram, et la denbufylline.

Les PDE III et IV sont souvent décrites comme hydrolysant sélectivement l'AMPc; l'analyse du rôle respectif

de ces deux familles d'enzymes dans les tissus où elles coexistent (cœur, muscle lisse vasculaire et bronchique) suggère que la PDE IV serait impliquée dans la régulation de la teneur en AMPc uniquement si celle-ci a été élevée au préalable ; la PDE III, en revanche, serait impliquée dans la régulation de la teneur basale en AMPc [21, 22] ; cette différence pourrait s'expliquer par la différence de K_m de ces deux enzymes vis-à-vis de l'AMPc [12].

PDE V, spécifiques du GMPc

Cette famille de phosphodiesterases est composée de deux sous-familles, à forte sélectivité pour le GMPc comme substrat et présentant, de plus, un site de liaison pour le GMPc. Les séquences primaires des

PDE II et des PDE V comprennent une région à forte homologie qui pourrait contenir leur site de liaison pour le GMPc [9].

Une sous-famille de PDE V est localisée dans les cellules rétinienne des vertébrés (pour revue : [23]). En l'absence de lumière, l'activité de cette phosphodiesterase est faible ; elle peut être très rapidement stimulée par la cascade de réactions résultant de l'absorption de lumière par les photorécepteurs rétiniens (rhodopsine). La chute de la teneur en GMPc permet la fermeture d'un canal ionique et l'hyperpolarisation de la cellule (pour revue : [24]).

Une autre sous-famille de PDE V, aux propriétés enzymatiques différentes, est présente au niveau des plaquettes, du poumon et du muscle lisse vasculaire [25, 26]. Son K_m vis-à-vis du GMPc est de l'ordre de

0,3 μ M. Elle possède également un site de liaison pour le GMPc distinct du site catalytique. L'importance éventuelle de la fixation du GMPc sur ce deuxième site reste encore à définir. Cette sous-famille de PDE V est inhibée spécifiquement par le zaprinast [26]. Elle pourrait jouer un rôle important dans la régulation de la relaxation des muscles lisses.

Régulation des phosphodiesterases

Dans de nombreux types cellulaires, les phosphodiesterases sont susceptibles d'être modulées, soit par phosphorylation (différents types de protéine kinases sont impliqués), soit par effet direct d'un second messager (pour revue : [27]). Ainsi, les agents qui augmentent le Ca^{2+} intracellulaire sont capables d'activer les PDE I (via la calmoduline). Les agents qui élèvent la teneur en GMPc sont, quant à eux, susceptibles à la fois d'activer une PDE II et d'inhiber une PDE III. Récemment, un nouveau mode de régulation a été décrit : le mécanisme d'action du glucagon au niveau cardiaque impliquerait l'inhibition d'une PDE III par l'intermédiaire d'une protéine de couplage liant les nucléotides guanyliques [28].

La modulation peut aussi impliquer des cycles de phosphorylation-déphosphorylation. La phosphorylation *in vitro* d'une PDE I par les protéine kinases activées par l'AMPc ou par des protéine kinases activées par le complexe Ca^{2+} /calmoduline entraîne une diminution de l'affinité des PDE I pour le complexe Ca^{2+} /calmoduline et une diminution de l'activation de la phosphodiesterase [29]. Cependant, il n'y a pas d'études impliquant ce phénomène à la suite de la stimulation cellulaire par un agoniste. L'activité des PDE III peut être modulée par les agents qui augmentent la teneur intracellulaire en AMPc. Ainsi dans le foie, la stimulation par le glucagon induit la phosphorylation et l'activation d'une PDE III par les protéine kinases activées par l'AMPc. Un effet identique a été rapporté au niveau des plaquettes à la suite de l'action de la prostacycline [30]. L'importance physiologique de ces

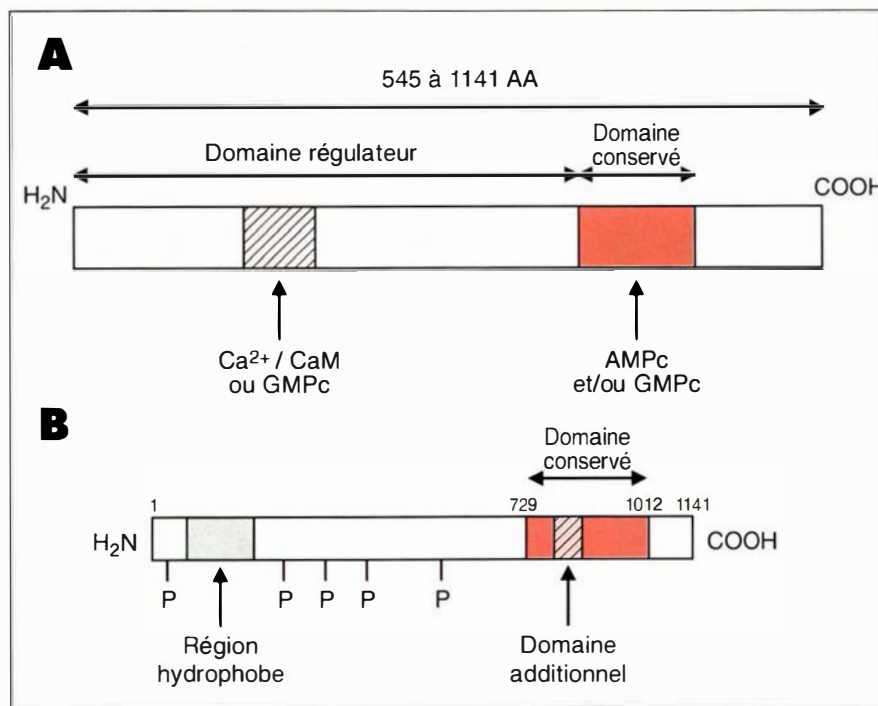


Figure 2. (A) Représentation schématique de la structure générale des phosphodiesterases des nucléotides cycliques. Dans l'extrémité C-terminale, une région de 270 acides aminés, conservée dans les différentes familles, est incluse dans le site catalytique (où le(s) substrat(s) est (sont) hydrolysé(s)). Les différents modulateurs (complexe Ca^{2+} /calmoduline, GMPc) se fixent sur un site régulateur plus proche de l'extrémité N-terminale. (B) Représentation schématique détaillée de la structure de la PDE III clonée à partir de cœur humain [15, 16]. Cette PDE diffère des autres PDE par la présence de 44 acides aminés additionnels dans le domaine conservé. Dans l'extrémité N-terminale, des domaines hydrophobes ont été identifiés. Les sites potentiels de phosphorylation par la protéine-kinase activée par l'AMPc sont indiqués (P).

RÉFÉRENCES

25. Francis SH, Thomas MK, Corbin JD. Cyclic GMP-binding cyclic GMP-specific phosphodiesterase from lung. In: Beavo JA, Houslay MD, eds. *Molecular pharmacology of cell regulation, vol. 2: Cyclic nucleotide phosphodiesterases: structure, regulation and drug action*. Chichester, UK: John Wiley and Sons, 1990: 117-40.
26. Lugnier C, Schoeffter P, Le Bec A, Strouthou E, Stoclet JC. Selective inhibition of cyclic nucleotide phosphodiesterase of human, bovine and rat aorta. *Biochem Pharmacol* 1986; 35: 1743-51.
27. Conti M, Jin SLC, Monaco L, Repaske DR, Swinnen JV. Hormonal regulation of cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Endocr Rev* 1991; 12: 218-54.
28. Brechler V, Pavoine C, Hanf R, Garbarz E, Fischmeister R, Pecker F. Inhibition by glucagon of the cGMP-inhibited low-K^m cAMP phosphodiesterase in heart is mediated by a pertussis toxin-sensitive G-protein. *J Biol Chem* 1992; 267: 15496-501.
29. Sharma RK, Wang JH. Differential regulation of bovine brain calmodulin-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes by cyclic AMP dependent protein kinase and calmodulin-dependent protein phosphatase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 2603-7.
30. Macphée CH, Reifsnnyder DH, Moore TA, Lerea KM, Beavo JA. Phosphorylation results in activation of a cAMP phosphodiesterase in human platelets. *J Biol Chem* 1987; 263: 10353-8.
31. Wachtel H. Potential antidepressant activity of rolipram and other selective cyclic adenosine 3',5'-monophosphate phosphodiesterase inhibitors. *Neuropharmacology* 1983; 22: 267-72.
32. Hebenstreit GF, Fellerer K, Fichte K, et al. Rolipram in major depressive disorder: results of a double blind comparative study with imipramine. *Pharmacopsychiatry* 1989; 22: 156-60.
33. Fischer TA, Erbel R, Treese N. Current status of phosphodiesterase inhibitors in the treatment of congestive heart failure. *Drugs* 1992; 44: 928-45.
34. Muller B, Lugnier C, Stoclet JC. Implication of cyclic AMP in the positive inotropic effects of cyclic GMP-inhibited cyclic AMP phosphodiesterase inhibitors on guinea pig isolated left atria. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 15: 444-51.
35. Komaz N, Lugnier C, Le Bec A, Serradeil-Le Gal C, Barthélémy G, Stoclet JC. Differential sensitivity to cardiotonic drugs of cyclic AMP phosphodiesterases isolated from canine ventricular and sinoatrial-enriched tissues. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 14: 213-20.
36. Wood MA, Hess ML. Review: Long-term oral therapy of congestive heart failure with phosphodiesterase inhibitors. *Am J Med Sci* 1989; 297: 105-13.
37. Torphy TJ, Udem BJ. Phosphodiesterase inhibitors: new opportunities for the treatment of asthma. *Thorax* 1991; 46: 512-23.

mécanismes de régulation reste encore à établir. D'une manière générale, on peut considérer que ce mode de régulation sert de rétrocontrôle négatif au système, permettant de diminuer plus rapidement la teneur intracellulaire en nucléotides cycliques. Dans les adipocytes, la PDE III est sujette à une double régulation: d'une part, la stimulation β -adrénergique induit l'activation de l'enzyme (par phosphorylation *via* les protéine kinases activées par l'AMPc); d'autre part, l'insuline peut également activer cette phosphodiesterase de manière indirecte par un mécanisme faisant intervenir une cascade de réactions de phosphorylation (intervention probable d'une tyrosine kinase puis d'une sérine-kinase) [14]. Les facteurs de croissance, tout comme l'insuline, agissent sur des récepteurs à activité tyrosine-kinase; certains facteurs de croissance sont connus pour stimuler l'hydrolyse de l'AMPc. Cependant, le lien entre l'activation de la PDE III et les effets biologiques de l'insuline et des facteurs de croissance reste encore à établir. Les études du mode de régulation des différentes phosphodiesterases sont en plein développement à l'heure actuelle.

Domaines d'application clinique des inhibiteurs de phosphodiesterases

L'intérêt suscité par les inhibiteurs de phosphodiesterase en tant qu'agents thérapeutiques repose sur l'existence de différentes familles de phosphodiesterases, leur sensibilité différente pour certains inhibiteurs et leur répartition tissulaire différente. Ainsi, il est possible d'augmenter sélectivement la teneur d'un nucléotide cyclique donné dans un type cellulaire donné afin de modifier une fonction précise. Ainsi, les inhibiteurs sélectifs de certaines familles de phosphodiesterases présentent un intérêt comme agents thérapeutiques dans le traitement de diverses maladies (pour revues: [2, 3]).

Dépression

Le rolipram, un inhibiteur de PDE IV, est efficace sur différents

modèles de dépression, y compris chez l'homme chez lequel son efficacité est comparable à celle des antidépresseurs tricycliques [31, 32]. Un des mécanismes d'action du rolipram semble faire intervenir une augmentation de la libération de noradrénaline à partir des terminaisons nerveuses sympathiques [32].

Insuffisance cardiaque

Le domaine principal d'application thérapeutique des inhibiteurs de phosphodiesterases a été pendant longtemps le traitement de l'insuffisance cardiaque congestive (pour revue récente: [33]). Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré en effet que les inhibiteurs de PDE III (amrinone, milrinone, enoximone, piroximone...) ont un effet vasorelaxant et augmentent la force de contraction cardiaque, sans provoquer d'augmentation importante du rythme cardiaque. De nombreux arguments expérimentaux sont en faveur de l'implication de l'inhibition de la PDE III et du rôle de l'AMPc dans les effets cardiotoniques de ces substances [34]. Une différence de sensibilité des inhibiteurs vis-à-vis de la PDE III entre le tissu ventriculaire et le nœud sinusal (siège du « pacemaker ») pourrait expliquer la dissociation entre les propriétés inotropes positives et chronotropes positives de certains de ces agents [35]. A court terme chez l'insuffisant cardiaque, les inhibiteurs de PDE III permettent d'augmenter le débit cardiaque. Cependant, il n'existe que peu d'arguments concernant l'efficacité de la thérapie à long terme, qui ne semble pas apporter de bénéfice comparée aux traitements usuels et qui, par ailleurs, pourrait contribuer à augmenter la mortalité. L'usage des inhibiteurs de PDE III reste pour l'instant limité au traitement à court terme de l'insuffisance cardiaque congestive aiguë (pour revue: [36]).

Asthme

A l'heure actuelle, les inhibiteurs de PDE IV sont étudiés comme agents anti-inflammatoires pour le traitement de l'asthme bronchique. Au niveau pulmonaire, les cellules

impliquées dans la libération de médiateurs inflammatoires (mastocytes, macrophages, neutrophiles, éosinophiles, basophiles) contiennent une proportion importante de PDE IV. Les inhibiteurs de PDE IV peuvent diminuer la libération de ces médiateurs ; ils possèdent également des effets relaxants sur le muscle lisse des bronches et de la trachée [37]. Ces agents pourraient donc être particulièrement intéressants dans cet axe thérapeutique du fait de leur propriété bronchodilatatrice et anti-inflammatoire.

Conclusions et perspectives

Les nucléotides cycliques et leur voie de dégradation par une activité phosphodiesterase ont été découverts il y a maintenant plus de 30 ans. Les dix dernières années ont révélé la complexité des phosphodiesterases. L'évolution des connaissances dans ce domaine résulte de la combinaison de différentes approches biochimiques, pharmacologiques et de biologie moléculaire. La biologie moléculaire devrait permettre d'apporter des informations plus précises sur les distributions tissulaires et cellulaires de chaque phosphodiesterase et sur leur mode de régulation. On peut envisager que le clonage des ADN complémentaires des différentes phosphodiesterases et leur expression dans des lignées cellulaires adéquates puissent permettre, d'une part, d'étudier les relations structure-fonction des différentes enzymes et, d'autre part, de développer des inhibiteurs de plus en plus sélectifs d'une enzyme d'un type cellulaire donné. Ces études permettront non seulement de mieux comprendre le rôle joué par une enzyme précise dans la régulation d'une fonction cellulaire donnée, mais aussi d'envisager de modifier spécifiquement une fonction particulière dans une perspective thérapeutique ■

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier vivement le Pr Jean-Claude Stoclet et Mlle Viviane Martin pour la lecture critique de ce manuscrit.

Summary

Cyclic nucleotide phosphodiesterases

Cyclic nucleotide phosphodiesterases (PDE) are classified into five families (PDE I to V) according to their primary sequence, their substrate specificities and their sensitivities to different modulators. PDE I, PDE II and PDE III can hydrolyze both cAMP and cGMP. Calmodulin stimulates PDE I activity. Cyclic GMP can itself modulate the hydrolysis of cAMP. It stimulates the hydrolysis of cAMP through PDE II, whereas it inhibits it through PDE III. The modulation of cAMP level by cGMP might explain either the synergistic or the opposite effects of cAMP and cGMP on some biological functions. PDE III are inhibited by some cardiotoxic drugs (milrinone...) and are regulated in some tissues by a mechanism of phosphorylation. PDE IV selectively hydrolyze cAMP and are inhibited by rolipram. When both PDE III and PDE IV coexist in a cell type, PDE III might be involved in the regulation of basal level of cAMP whereas PDE IV might regulate higher level of cAMP. This might be due to the difference in the K_m value of PDE III and PDE IV for cAMP. The last family, PDE V, specifically hydrolyzes cGMP and is involved in the regulation of smooth muscle relaxation and visual transduction. Selective PDE inhibitors are useful as pharmacological tools to increase cAMP or cGMP levels in target cells and, by this way, they are potential therapeutic agents for the treatment of clinical disorders such as heart failure, depression or asthma.

TIRÉS A PART

B. Muller.