

مروری بر ایزوآنزیم های فسفودی استراز نوکلئوتید حلقوی: یک مقاله مروری



مریم صابری کریمیان^۱، سید محمدرضا پریزاده^۲، سارا صمدی^۳، داریوش حمیدی علمداری^۴، سید داوود موسوی نسب^۵،
نایعلی احمدی^{۶*}، مرضیه هادوی^۶

- (۱) گروه علوم و فنون نوین، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
(۲) گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
(۳) مرکز تحقیقات کاربردی سلامت همگانی و توسعه پایدار، دانشگاه علوم پزشکی فراسان شمالی
(۴) گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران
(۵) مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
(۶) گروه دافلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۱۴

چکیده

آنزیم های PDE، هیدرولازهایی هستند که به طور انتخابی هیدرولیز نوکلئوتیدهای cAMP و cGMP را کاتالیز می کنند و تا کنون ۱۱ خانواده و ۵۳ ایزوآنزیم از آن ها شناسایی شده است. این آنزیم ها دسترسی پیام رسانه های ثانویه به عامل های درون سلولی شان را کنترل می کنند. آنزیم های PDE از لحاظ ساختار، خواص کینتیکی، مکانیسم های تنظیمی، حساسیت به مهارکننده ها و پاسخ به عامل های خاص و نیز میل ترکیبی به سوبسترا (cAMP و cGMP) با یکدیگر متفاوتند. نه تنها هر خانواده PDE سوبسترا و ویژگی تنظیمی خاصی دارد بلکه هر خانواده و حتی اعضای درون آن ها الگوهای بیان ویژه بافتی، ویژه سلولی و زیر سلولی نشان داده و در نتیجه در مسیرهای انتقال سیگنال متمایزی شرکت می کنند.

در دهه ۱۹۵۰، اهمیت اثرات فیزیولوژیکی cAMP و مهارکننده های PDE احساس شد و نوکلئوتید cAMP به عنوان یک پیام رسان ثانویه معرفی شد که واسطه بسیاری از اثرات سلولی ناقل های عصبی و هورمون ها است. سپس دومین پیام رسان ثانویه درون سلولی، یعنی cGMP در ادرار Rat کشف شد. مطالعات نشان داده اند (3-isobutyl-1-methyl-xanthine) IBMX یک مهارکننده غیرانتخابی برای آنزیم های فسفودی استراز است و مقدار cAMP را افزایش می دهد و مقدار IC50 آن برای تمام PDE ها به جز PDE8A، PDE8B و PDE9A، در حد میلی مولار است.

در سال های اخیر اهمیت بالینی مهارکننده های مختلف PDE مورد توجه محققان قرار گرفته است. اندکی از این ترکیبات امید بخش، به دلیل اثرات جانبی نامطلوب در آزمایش های کلینیکی رد می شوند، این اثرات جانبی می تواند به علت همپوشانی فعالیت آنزیمی آنزیم های فسفودی استراز، حساسیت دارویی، و توزیع بافتی آن ها باشد. با درک بهتر بیولوژی آنزیم های PDE، تلاش برای یافتن مهارکننده های PDE جدید صورت می گیرد تا نسبت فواید درمانی آن ها را به اثرات جانبی نامطلوبشان افزایش دهد

واژه های کلیدی: فسفودی استراز نوکلئوتید حلقوی، مهارکننده های فسفودی استراز

* نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

Email: nayebalia@sbmu.ac.ir

مقدمه

نوکلئوتید حلقوی cAMP و سیستم انتقال پیام آن: نوکلئوتید حلقوی cAMP نقش مهمی در تنظیم متابولیسم دارد، به عنوان مثال سرعت هیدرولیز تری گلیسرید، به cAMP درون سلولی وابسته است. مسیرهای انتقال پیام cAMP در تنظیم گلوکوکورتیز، گلیکوکورتیز و ترشح انسولین نیز اهمیت دارند، (۱). آنزیم های فسفودی استراز نوکلئوتیدهای حلقوی (PDEs)، با کاتالیز کردن هیدرولیز cAMP و cGMP، غلظت درون سلولی و در نتیجه اعمال فیزیولوژیکی آن ها را تنظیم می کنند. این آنزیم ها، متعلق به یک خانواده بزرگ و متنوع هستند که حداقل از ۱۱ خانواده تشکیل شده اند (PDE1-PDE11)، (۲-۴). برای افزایش مقدار cAMP در سلول، سه جزء لازم است: رسپتور ترانس ممبران، کمپلکس G- پروتئین هترو تراپمر و آدنیلات سیکلاز، (۵). پروتئین های گیرنده ترانس ممبرانی که از cAMP در انتقال پیام استفاده می کنند (مثل رسپتورهای β - آدرنرژیک، هورمون محرک تیروئید، پروستاگلندین E2 و هورمون پاراتیروئید) از دمین های خارج سلولی، ترانس ممبران و داخل سلولی تشکیل شده اند. این پروتئین ها، توالی های آمینواسیدی هیدروفوبی دارند که غشاء پلاسما را ۷ بار دور می زند. لوپ های خارج سلولی، بخش اتصال دهنده لیگاند رسپتور هستند و بخش درون سلولی، دارای دمین هایی است که با G- پروتئین ها واکنش داده و توالی هایی دارد که می تواند با فسفوریلاسیون توسط پروتئین کیناز ۲، عملکرد رسپتور را تغییر دهد، (۶). در انتقال پیام cAMP، G- پروتئین ها به عنوان یک رابط میان رسپتور و آدنیلات سیکلاز (AC)، آنزیم مسئول تولید cAMP از ATP، عمل می کنند. G- پروتئین ها از سه زنجیر پپتیدی α ، β و γ تشکیل شده اند. اتصال لیگاند به رسپتور، موجب تغییر کنفورماسیونی و اتصال رسپتور به G- پروتئین می شود. زیرواحد α در G- پروتئین، یعنی $Gs\alpha$ ، به هر دو GTP و GMP متصل می شود اما فقط زمانی به GTP متصل می شود که فعال باشد. با جایگزین شدن GMP توسط GTP، G- پروتئین به دو بخش $Gs\alpha$ و $Gs\beta\gamma$ تقسیم می شود، سپس $Gs\alpha$ فعال شده، با اتصال به AC موجب سنتز

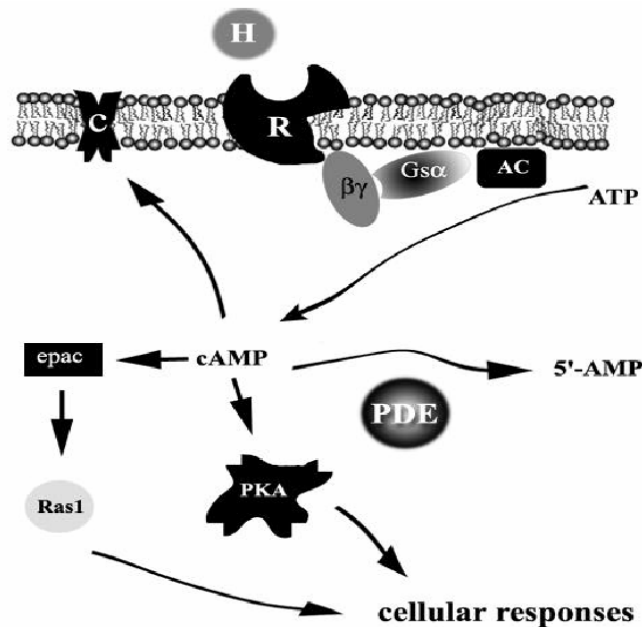
cAMP می گردد. کمپلکس G- پروتئین به شکل مهاری نیز وجود دارد. بخشی از کمپلکس مهاری G- پروتئین، زیرواحد $Gi\alpha$ است که مشابه $Gs\alpha$ فعال می شود، اما به جای فعال نمودن AC، با مهار فعالیت آن، سنتز cAMP را کاهش می دهد، (۵،۶). بنا بر این نه تنها رسپتور بلکه ساختار و عملکرد کمپلکس G- پروتئین نیز در تعیین این که اتصال لیگاند سبب کاهش یا افزایش سیگنال cAMP شود، نقش دارد. (۷)

PKA اولین پروتئین کینازی بود که شناخته شده، (۸)، این آنزیم مسئول انتقال سیگنال cAMP در سلول ها است و پروتئین های زیادی را فسفوریله می کند. عقیده بر این است که بیشتر اعمال cAMP با اتصال آن به PKA انجام می شود. PKA دارای دو زیر واحد تنظیمی و دو زیر واحد کاتالیتیک است که با اتصال cAMP به زیر واحدهای تنظیمی، دو واحد کاتالیتیک آن جدا و PKA فعال می شود. پروتئین های هدف PKA، اجزاء رسپتورها، پروتئین کینازها و آنزیم های دیگرند، (۹،۱۰). زیر واحدهای فعال PKA علاوه بر سوبستراهای سیتوپلاسمی، می توانند با ورود به هسته، پروتئین های مهم در رونویسی از جمله فاکتور CREB را نیز فسفوریله و فعال کنند. اتصال CREB و CBP آن به CRE با تاثیر بر رونویسی ژن، بیان آن را تغییر می دهد، (۱۱،۱۲). بخش اصلی سیگنال cAMP، فسفوریلاسیون وابسته به PKA کانال های کلسیم، آنزیم های PDE نوکلئوتید حلقوی و رسپتورهای غشائی هستند. (۱۳-۱۵)

خانواده بزرگ Ras، GTPase های هستند که دارای چند زیر خانواده از پروتئین های اتصال دهنده GTP بوده و در تکثیر، تمایز، آپوپتوزیس (مرگ برنامه ریزی شده سلول) و تشکیلات اسکلت سلولی نقش دارند. Rap1 یک Ras-like GTPase کوچک است که می تواند توسط سه پیام رسان ثانویه مختلف یعنی دی آسپل گلیسرول، Ca^{2+} و cAMP فعال شود. این پیام رسان های ثانویه، Rap1 را به صورت مستقل از PKA با جدا کردن GDP و اتصال GTP به آن فعال می کنند. پروتئین مسئول فعال سازی Ras1 مستقیماً توسط cAMP فعال می شود و به همین دلیل Epac نامگذاری شده است. Epac، یک پروتئین هدف جدید

با ایجاد تغییر کنفورماسیونی، فعالیت آن را نسبت به Rap1 افزایش داده (شکل شماره ۱) و Rap1 پاسخ های سلولی را وساطت می کند. (۱۶)

برای cAMP است. این پروتئین دارای یک جایگاه اتصالی cAMP و دمینی است که با دمین های فاکتورهای تعویض نوکلئوتید گوانین (GEFs) برای Rap1 و Ras همولوگ است. اتصال cAMP به epac



شکل شماره ۱. فعال سازی تولید cAMP و ملکول های هدف اولیه آن در سلول های پستانداران. AC: آدنیلات سیکلاز؛ ATP: آدنوزین تری فسفات؛ C: کانال دریچه دار نوکلئوتید حلقوی؛ epac: exchange protein directly activated by cAMP؛ G: کمپلکس G- پروتئین؛ H: هورمون؛ PDE: فسفودی استرازهای نوکلئوتید حلقوی؛ PKA: پروتئین کیناز A؛ R: رسپتور ترانس ممبران. (۷)

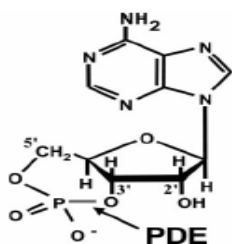
هستند. آنزیم های PDE، فسفوهدرولازهایی هستند که به طور انتخابی هیدرولیز پیوندهای ۳' فسفات cAMP و cGMP را کاتالیز می کنند، تاکنون ۱۱ خانواده و ۵۳ ایزوآنزیم از آن ها شناسایی شده است و فسفودی استرازهای نوکلئوتید حلقوی نوع ۱ (class I cyclic nucleotide PDEs) نامیده می شوند. ساختار cAMP و پیوند هیدرولیز شده در شکل شماره ۲ نشان داده شده است. آنزیم های فسفودی استراز نوع ۲ (class II cyclic nucleotide PDEs) در اکثر گونه های پستانداران موجودند و هیدرولیز پیوند فسفودی استر را کاتالیز می کنند، (۲۰). آنزیم های PDE از لحاظ ساختار، خواص کینتیکی، مکانیسم های تنظیمی، حساسیت به مهارکننده ها و پاسخ به عامل های خاص و نیز میل ترکیبی به سوبسترا (cAMP و cGMP) با یکدیگر متفاوتند، (۲۱). خانواده های PDE1، PDE3،

معرفی آنزیم های فسفودی استراز (PDEs) به عنوان اجزاء انتقال پیام نوکلئوتید حلقوی

آنزیم های PDE تنظیم کننده های منفی آبشارهای انتقال پیام نوکلئوتید حلقوی و اجزاء ضروری شبکه انتقال پیام درون سلول هستند. این آنزیم ها دسترسی پیام رسان های ثانویه به عامل های درون سلولی شان را کنترل می کنند. این مفهوم با فنوتیپ موشی که دارای نقص در آنزیم های PDE است و انتقال پیام در آن رخ نمی دهد سازگار است، (۱۷، ۱۸). این آنزیم ها، عامل های اصلی سیگنال های خارج سلولی هستند و در سلول های مخروطی و استوانه ای شبکیه، در انتقال نور، (۱۹)، و در سلول های دیگر مانند جوانه های چشایی اهمیت دارند. آنزیم های PDE در ویژگی و تقسیم بندی انتقال پیام، هومئوستاز، سازش سلول و cross-talk مسیرهای مختلف نیز ضروری

خانواده PDE سوبسترا و ویژگی تنظیمی خاصی دارد بلکه هر خانواده و حتی اعضای درون آن ها الگوهای بیان ویژه بافتی (tissue-specific)، ویژه سلولی (cell-specific) و زیر سلولی (subcell-specific) نشان داده و در نتیجه در مسیرهای انتقال سیگنال متمایزی شرکت می کنند. (۲۴)

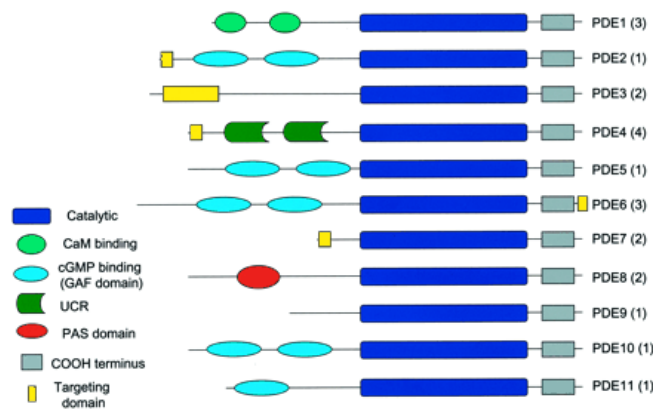
PDE4، PDE7 و PDE8، چند ژنی و بقیه تک ژنی هستند، (۲۲). در عمومی ترین روش نامگذاری، پس از عنوان PDE یک شماره آورده می شود که معرف خانواده است، حرف بزرگ بعد از آن، تعیین کننده ژن درون خانواده و شماره پس از آن گونه پردازش را نشان می دهد. به عنوان مثال PDE1C3: خانواده ۱، ژن C، گونه پردازش ۳ را نشان می دهد، (۲۳). نه تنها هر



شکل شماره ۲. فسفودی استرازها هیدرولیز پیوند ۳' فسفات حلقوی را کاتالیز می کنند. (۲۰)

نقش دارد به طوری که در خانواده های مختلف ژنی، مسئول تفاوت در میل ترکیبی به سوبسترا و حساسیت به مهارکننده ها است. در انتهای آمینو آنزیم های PDE، شاخص هایی وجود دارد که برای هر خانواده اختصاصی بوده و سبب ویژگی های تنظیمی آن ها می شود، مانند دمین های اتصال دهنده کالمودولین (CaM) در PDE1 یا دمین های هیدروفوب اتصال دهنده غشائی در PDE3. (۲۱)

ساختار آنزیم های PDE: فسفودی استرازهای پستانداران از لحاظ ساختاری، خصوصیات مشترکی دارند. همان طور که در شکل شماره ۳ نشان داده شده است، در انتهای کربوکسیلی، دمین کاتالیتیکی وجود دارد که تقریباً دارای ۲۷۰ آمینواسید است و درون یک خانواده PDE، حدود ۸۰ درصد و بین خانواده های مختلف ۲۵-۴۰ درصد شباهت دارد. دمین کاتالیتیکی در هیدرولیز پیوند نوکلئوتید حلقوی



شکل شماره ۳. ساختار آنزیم های فسفودی استراز (PDEs).

برای هر خانواده اختصاصی است، دمین های اتصال دهنده کالمودولین (CaM) در PDE1، دمین های GAF (دمین های اتصال دهنده cGMP) در PDE2، PDE5، PDE6، PDE10 و PDE11؛ دمین تنظیمی UCR در PDE4 و دمین اتصال دهنده لیگاند PAS در PDE8 وجود دارد. (۲۱،۲۳)

اپیتیلوم بویایی نقش مهمی در تنظیم پاسخ های سریع cAMP به مواد معطر دارد، (۲۷)، و PDE1B در برخی از نورون های پورکیتز به مقدار زیاد موجود است، (۲۸). ایزوفرم های مختلف PDE1 در بیضه، اسپرم، (۲۷)، قلب و عروق، ماکروفازها و لنفوسیت های T سیستم ایمنی نیز یافت می شوند، (۲۹)، و مطالعات زیادی نشان داده اند که مقدار PDE1 در تومورها افزایش می یابد، (۳۰). نقش PDE1 در بیماری های عصبی، مثل پارکینسون نیز موضوع اصلی تحقیقات است، (۳۱). مطالعات نشان داده اند خانواده PDE1 یک هدف جدید برای مداخله درمانی در پرفشاری خون ریوی می باشد. (۳۲،۳۳)

PDE2 (phospho-) cGMP-stimulated diesterases): تاکنون یک ژن و ۳ محصول از PDE2 معرفی شده که ایزوفرم های PDE2A1، PDE2A2 و PDE2A3 را کد می کنند. این آنزیم میل ترکیبی نسبتاً کم و V_{max} مشابهی برای cAMP و cGMP دارد و نقش آن در سلول به عنوان cGMP-stimulated phosphodiesterases پذیرفته شده است، (۳۴). PDE2 به هر دو نوکلئوتید اثر تعاونی مثبت نشان می دهد، (۳۵)، این اثر تعاونی به علت اتصال نوکلئوتید حلقوی به دمین GAF-B (دمین های GAF، موتیف های اتصال دهنده ملکولی کوچکند که در بسیاری از آنزیم های تنظیمی وجود دارند) است که به طور آلوستریک سبب تغییر کنفورماسیونی در پروتئین شده و فعالیت آنزیم را افزایش می دهد. میل ترکیبی دمین GAF-B به cAMP، ۱۰۰-۳۰ برابر کمتر از cGMP است و اتصال cGMP هیدرولیز cAMP را تحریک می نماید اما هنوز عکس آن در شرایط درون تنی (in vivo) ثابت نشده است، (۳۶). ایزوفرم های PDE2 در قشر آدرنال،

این تصویر، نظم دمین را در ۱۱ خانواده PDE نشان می دهد. عدد درون پراکنش مجاور هر خانواده، تعداد ژن های شناخته شده است. دمین کاتالیتیکی انتهای کربوکسیل، در هیدرولیز پیوند نوکلئوتید حلقوی نقش دارد و در یک خانواده PDE ۸۰ درصد و بین خانواده های مختلف ۲۵-۴۰ درصد مشابه است. در انتهای آمینو آنزیم های PDE شاخص هایی وجود دارد که

انواع مختلف آنزیم های PDE

همان طور که قبلاً ذکر شد تاکنون ۱۱ خانواده مختلف PDE نوکلئوتید حلقوی شناخته شده است که به طور خلاصه به شرح آن ها می پردازیم.

PDE1 (Calcium/calmodulin-stimulated phosphodiesterases): فعالیت PDE1 به غلظت درون سلولی Ca^{2+} و کالمودولین (CaM) وابسته است. CaM پروتئین کوچکی است که در بسیاری از اعمال Ca^{2+} در سلول های یوکاریوتی نقش دارد. اتصال کمپلکس Ca^{2+}/CaM به دمین های تنظیمی موجب تغییر کنفورماسیونی در آنزیم می شود، به طوری که با جا به جایی یک دمین مهماری از جایگاه کاتالیتیک، آنزیم را فعال می کند، (۲۵). سه ژن مختلف PDE1، PDE1A، PDE1B و PDE1C و ۹ محصول پردازش آن ها شناخته شده است. خانواده های مختلف، میل ترکیبی متفاوتی به Ca^{2+}/CaM دارند. CaM، PDE1A1 را بیش از ده برابر PDE1A2 فعال می کند که نشان می دهد پردازش وسیله ای جهت تنظیم حساسیت به Ca^{2+}/CaM است، (۲۳). همه آنزیم های PDE1 هر دو cAMP و cGMP را هیدرولیز می کنند اگر چه، میل ترکیبی هر ایزوفرم برای هر یک از نوکلئوتیدهای حلقوی متفاوت است. ایزوفرم های PDE1A ویژگی بیشتری به cGMP به عنوان سوستران نشان می دهند به طوری که K_m برای cGMP ($5 \mu M$) نسبت به cAMP ($112 \mu M$) بسیار کمتر است. PDE1B نیز cGMP را به cAMP به عنوان سوستران ترجیح می دهد، در حالی که ایزوفرم های PDE1C هر دو نوکلئوتید حلقوی را به طور یکسان هیدرولیز می کنند، (۲۶). هر ۳ ایزوفرم در مغز و اکثر نورون های محیطی بیان می شوند اما بر حسب ناحیه، نوع آن ها متفاوت است، مثلاً PDE1C2 در

بافت مغز و قلب وجود دارند،(۳۷). PDE2 مکان بالقوه در cross-talk میان مسیرهای انتقال پیام وابسته به cAMP و cGMP است. در سلول های اندوتلیال آئورت گاو، cGMP تحریک شده توسط ANF با فعال نمودن PDE2 و کاهش cAMP درون سلولی، قابلیت انقباض سلول قلب را کاهش می دهد، بنا بر این cross-talk وابسته به PDE2، به عنوان تنظیم کننده انقباض قلب عمل می کند،(۳۸-۴۰). PDE2 در عملکرد کلیه نیز نقش مهمی دارد به طوری که cGMP تحریک شده توسط ANF با کاهش cAMP در سلول های گلوومرولوزای قشر آدرنال توسط PDE2، موجب کاهش تولید آلدوسترون در این سلول ها می شود.(۴۱)

(cGMP-inhibited phosphodiesterases) PDE3: PDE3 هر دو نوکلئوتید حلقوی را با میل ترکیبی نسبتاً زیاد هیدرولیز می کند و V_{max} برای هیدرولیز cAMP ($K_m \text{ cAMP} < 0.4 \mu\text{M}$) تقریباً ۱۰ برابر cGMP ($K_m \text{ cGMP} < 0.3 \mu\text{M}$) است، بنا بر این cGMP به عنوان یک مهارکننده رقابتی برای هیدرولیز cAMP ($K_i = 0.6 \mu\text{M}$) عمل می کند،(۴۲). ایزوفرم های PDE3A و PDE3B در دمین کاتالیتیک بیش از ۸۰ درصد شباهت دارند و خواص کینتیکی آن ها نیز بسیار مشابه است. هر دو ایزوفرم در دمین کاتالیتیک خود، یک الحاق دارند که در سایر آنزیم های PDE وجود ندارد،(۴۳). PDE3A در پلاکت ها، عضله صاف عروق، میوسیت های قلب و اووسیت ها و PDE3B در کبد، پانکراس و آدیپوسیت ها به مقدار زیاد یافت می شوند.(۴۴)

PDE4 (cAMP-specific phosphodiesterases): PDE4 متنوع ترین خانواده PDE است، ۴ ژن و حداقل ۱۵ ایزوفرم مختلف از آن شناخته شده است. PDE4، cGMP را هیدرولیز نمی کند و همه ایزوفرم های آن میل ترکیبی زیادی به cAMP دارند. تنظیم فعالیت بعضی از ایزوفرم های PDE4 با دو مکانیسم متمایز که با واسطه PKA/cAMP انجام می شود صورت می گیرد. PKA با فسفوریلاسیون انتهای آمینوی آنزیم PDE4D3، آن را به صورت گذرا و سریع فعال نموده و حساسیت آنزیم را به Rolipram،

مهارکننده انتخابی PDE4، افزایش می دهد،(۴۵). PDE4D1 و PDE4D2 به روش «طولانی مدت» و افزایش سنتز de novo تنظیم می شوند،(۴۶). ایزوزیم های PDE4 در انواع بافت ها موجودند، اما در عملکرد مغز، انتقال حس بویایی و فرایندهای التهابی بیشترین اهمیت را دارند،(۳۳)، و کاربرد مهارکننده های آن ها به عنوان عوامل ضد التهاب در چند مطالعه تحت بررسی است،(۴۷،۴۸). چند پروموتور PDE4 شناخته شده که تنظیم اکثر آن ها از طریق CRE/CRE-binding protein صورت می گیرد،(۴۹،۵۰). هر ژن PDE4 دارای یک فرم طویل و یک یا چند فرم کوتاه است. همه فرم های طویل، در دمین N-ترمینال خود، دو ناحیه تنظیمی UCR1 و UCR2 دارند،(شکل شماره ۳)(۲۰). در یک مطالعه، به ارتباط ژن PDE4D و تراکم استخوان اشاره شده است،(۵۱)، و تغییر ژنتیکی PDE4D می تواند در پوکی استخوان مهم باشد. درمان جواندگان با مهارکننده های PDE4، با افزایش تراکم استخوان این یافته را تایید می کند.(۵۲،۵۳)

PDE5 (cGMP-binding phosphodiesterases): PDE5 ابتدا در پلاکت ها شناخته شد،(۵۴)، و سپس با مطالعه پروتئین کیناز اتصال دهنده cGMP در ریه، PDE5A به عنوان یکی از پروتئین های مهم اتصالی cGMP در این بافت معرفی شد،(۵۵). فقط یک ژن PDE5 شناخته شده که دارای جایگاه های اتصال دهنده کاتالیتیک و غیر کاتالیتیک برای cGMP است. اتصال cGMP به جایگاه غیر کاتالیتیک اثر مستقیمی بر فعالیت آنزیم نمی گذارد، اما با ایجاد تغییر کنفورماسیونی در آنزیم، آن را به فسفوریلاسیون توسط PKA و PKG حساس تر می نماید، این فسفوریلاسیون منجر به تنظیم بالای فعالیت آنزیم می شود،(۵۶). PDE5A دارای دو دمین GAF-A و GAF-B است که بر خلاف PDE2، دمین GAF-A با میل ترکیبی زیاد به cGMP اتصال می یابد و این اتصال با فسفوریلاسیون اسید آمینه Serine (Ser) مجاور پایدار می شود،(۵۷). مهم ترین عمل PDE5A این است که انقباض عضله صاف عروق را تنظیم می کند و ریه و penis دو بافتی هستند که نقش PDE5A در آن ها بدیهی است. مهار PDE5

عضله صاف penis موجب افزایش استراحت عضله از طریق NO و cGMP می شود، (۵۸). به طوری که سیلدنافیل (sildenafil) با مهار فعالیت PDE5 و افزایش cGMP در سلول عضلانی، جهت درمان penile erectile dysfunction به کار می رود، (۵۹). مطالعه مارکو و همکاران نشان داده است سیلدنافیل (sildenafil) در نارسایی قلبی موجب بهبود ظرفیت عملکردی و وضعیت بالینی می شود و اولین شواهد انسانی را فراهم می کند که عملکرد دیاستولیک بطن چپ و هندسه قلبی، اهداف دیگری از مزایای مربوط به مهار مژمن PDE5 می باشد. (۶۰)

PDE6 (Photoreceptor phosphodiesterases): ژن های مختلفی از خانواده PDE6 معرفی شده است (PDE6A-C). این خانواده در بخش های خارجی سلول های استوانه ای و مخروطی شبکیه چشم مهره داران یافت می شوند. PDE6 ساختار نسبتاً پیچیده ای دارد، این آنزیم تترامر دارای یک زیر واحد α ، یک زیر واحد β و دو زیر واحد γ است، (۶۱). در سلول های مخروطی، cGMP ملکول اصلی بینایی و عامل مهم انتقال اثرات نور است. در تاریکی، cGMP کانال های Na^+ را باز نگه می دارد و غشاء دپلاریزه است. با جذب نور PDE6 فعال شده و در نتیجه با کاهش مقدار cGMP، کانال های Na^+ بسته شده و غشاء پلاسما هیپرپلاریزه می شود. کاهش Ca^{2+} ، گوانیلات سیکلاز را فعال نموده و با افزایش cGMP، سلول ها به حالت مبنای جدیدی باز می گردند، (۶۲). برخی از خصوصیات خانواده PDE6 به خانواده PDE5 شبیه است، به طوری که هر دو خانواده دارای میل ترکیبی زیادی به cGMP هستند و اندازه بسیار مشابهی دارند، اما PDE5 با نور تنظیم نمی شود و V_{max} آن نیز متفاوت است، (۶۳). مطالعه Bazhin AV و همکاران نشان داده است بیان نا به جای PDE6 ممکن است متابولیسم CGMP و هموستاز کلسیم را در سلول های ملانوما کنترل کند. (۶۴)

PDE7 (cAMP-specific PDE): خانواده PDE7 توسط میشل و همکاران (۱۹۹۳) معرفی شد، این آنزیم در بیشتر بافت ها و سلول ها به مقدار کم وجود دارد و به همین دلیل نسبتاً دیر شناخته شد. Km هیدرولیز

cAMP برای PDE7A حدود $0.1 \mu M$ و برای PDE7B کمی کمتر است و V_{max} برای PDE7A (۶۵) و PDE7B، (۶۶)، در مقایسه با سایر آنزیم های PDE بسیار کم است ($< 1 \text{ nmol/min/mg}$)، بنا بر این یا این آنزیم ها در تنظیم مقادیر پایه cAMP نقش دارند و یا دارای فعال کننده هایی هستند که هنوز شناخته نشده اند. نقش این آنزیم نیز به طور کامل مشخص نیست و mRNA و پروتئین آن در انواع گسترده ای از سلول های ایمنی بیان می شود، (۶۷). به نظر می رسد ایزوفریم PDE7A1 در فعال سازی سلول T نقش دارد، (۶۸). PDE7A در سلول های اپیتلیال تنفسی نیز موجود است، (۶۹)، اما به دلیل فقدان مهارکننده های انتخابی PDE7، تعیین نقش آن به زمان زیادی نیاز دارد. PDE7B در پانکراس، مغز، قلب، عضله اسکلتی و کبد وجود دارد و به IBMX (3-isobutyl-1-methyl xanthine) که مهارکننده غیر انتخابی PDE است و دی پیریدامول (dipyridamole)، مهارکننده انتخابی PDE5، نسبتاً حساس است. (۷۰)

PDE8 (cAMP-specific PDE): PDE8 سومین خانواده cAMP-specific PDE بود که شناخته شد، (۷۱-۷۳)، و تاکنون دو ژن PDE8A و PDE8B معرفی شده اند. محصولات هر دو ژن، ۲ دمین تنظیمی مشهور با عمل ناشناخته در N-ترمینال دارند که شامل دمین های REC (۷۴)، و دمین های تنظیمی PAS (خلاصه. Period, Arnt, Sim) است، (۷۵، ۷۶). دمین های PAS محل اتصال لیگاند و واکنش های پروتئینی هستند و در مورد نقش فیزیولوژیکی دمین های REC و PAS در PDE8 بسیار کم می دانیم، (۲۰). PDE8A1 در چندین بافت، PDE8A2 در بیضه و کبد و PDE8B بیشتر در تیروئید وجود دارد، (۷۷). PDE8A و PDE8B به اکثر مهارکننده های PDE از جمله IBMX مقاومند و حضور PDE8 در تیروئید، آن را برای دستکاری فارماکولوژیکی مقدار هورمون تیروئید سودمند می سازد. (۷)

PDE9 (cGMP-specific PDE): PDE9 ساختار اولیه نسبتاً ساده ای دارد زیرا فاقد توالی های تنظیمی و GAF دمین های N-ترمینال است. این

کبد، هیپوفیز، غدد بزاقی و بیضه وجود دارد، (۸۵). PDE11 به مهارکننده غیر انتخابی IBMX و به خصوص دی پیریدامول، حساس است، (۷). مطالعه Kelly MP و همکاران نشان داده است بیان ژن PDE11A در مغز محدود است اما نقش مهمی در تنظیم عملکرد مغز ایفا می کند. (۸۶)

مهار کننده های آنزیم های فسفودی استراز نوکلئوتید حلقوی

مطالعه آنزیم های PDE در سال ۱۸۸۶ توسط Henry Hyde Salter آغاز شد او یک فرد مبتلا به بیماری آسم بود که با نوشیدن یک فنجان قهوه غلیظ، تنفسش تسهیل شد و این اثر به خواص نایژه گشایی (bronchodilator) کافئین نسبت داده شد. در آن زمان مکانیسم عمل ناشناخته بود ولی کافئین یک مهار کننده غیر انتخابی ضعیف PDE، معرفی شد. سپس آنالوگ های کافئین مانند تئوفیلین برای درمان بیماری تنفسی شناخته شدند، (۸۷). از قرن های گذشته، مواد طبیعی که اثرات دارویی شان را از طریق مهار آنزیم های PDE اعمال می کنند به کار می روند. برای مثال، گیاه چینی Yin Yang Huo که به طور سنتی برای افزایش عملکرد جنسی استفاده می شود دارای یک ترکیب مهارکننده PDE5، یعنی ایکارین است، (۸۸). در دهه ۱۹۵۰ از طریق انتشاریه Earl Sutherland و Ted Rall، اهمیت اثرات فیزیولوژیکی cAMP و مهارکننده های PDE احساس شد، (۹۰، ۸۹). Sutherland و Rall در سال ۱۹۵۸ اولین نوکلئوتید مقاوم به حرارت یعنی آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) را از کبد استخراج کردند. این نوکلئوتید به عنوان یک پیام رسان ثانویه معرفی شد که واسطه بسیاری از اثرات سلولی ناقل های عصبی و هورمون ها است. پنج سال بعد، دومین پیام رسان ثانویه درون سلولی، یعنی cGMP در ادرار Rat کشف شد. در این مطالعه، PDE به عنوان آنزیم هیدرولیز کننده cAMP معرفی شد که توسط یون های Mg^{2+} فعال و با کافئین مهار می شود. (۸۷)

در کشت سلولی ثابت شده است که IBMX یک مهارکننده عمومی برای پروتئین Tyr کینازهاست و cAMP را افزایش می دهد، (۹۱). IBMX یک

آنزیم یک cGMP-specific PDE است، چون Km آن برای cAMP هزار برابر cGMP است. در واقع Km آنزیم PDE9A برای cGMP (۷۰-۱۷۰ nM) از هر PDE دیگری کمتر است، (۷۸). PDE9 در مغز، قلب، طحال، پروستات و کولون انسان وجود دارد، (۷۹)، و به اکثر مهارکننده های PDE از جمله IBMX حساس نیست. توالی آمینواسیدی دمین کاتالیتیک PDE9A همولوژی کمی با سایر دمین های کاتالیتیک PDE پستانداران دارد و می تواند عدم حساسیت این آنزیم به مهارکننده ها را توضیح دهد، (۷۷، ۷۸). این خانواده دارای چهار محصول پردازش است (PDE9A1-PDE9A4) که N-ترمینال متفاوتی دارند. ژن PDE9A در کروموزوم ۲۱ واقع است و ظاهراً در بیماری های ژنتیکی که از این کروموزوم ایجاد می شوند مثل تریزومی ۲۱ و ناشنوایی ارثی، نقش دارد. (۷۹)

PDE10 (dual-substrate PDE): خانواده PDE10 در شرایط فیزیولوژیکی هر دو cAMP و cGMP را تنظیم می کند. این خانواده همزمان توسط سه گروه مختلف گزارش شد، (۸۲-۸۰). دو ایزوفرم PDE10A1 و PDE10A2 شناخته شده اند. PDE10 در بیشتر بافت ها بیان می شود اما مقدار آن در قلب، مغز، کلیه و بیضه ها بیشتر است. تاکنون مهارکننده انتخابی برای این آنزیم معرفی نشده است، اما مهارکننده غیر انتخابی IBMX و دی پیریدامول، PDE10 را نسبتاً مهار می کنند، (۷). وجود PDE10A در ناحیه دم مغز پیشنهاد می کند که این آنزیم در تنظیم مسیرهای striatonigral و striatopallidal نقش دارد، (۸۳). بنا بر این PDE10 می تواند برای درمان اختلالات روانی frontostriatal dysfunction مناسب باشد. (۸۴)

PDE11 (dual-substrate PDE): آخرین PDE11 خانواده PDE است و اولین بار در سال ۲۰۰۰ گزارش شد، (۸۵). در مورد خصوصیات بیوشیمیایی و ژنتیکی آن اطلاعات کمی موجود است و تنها محصول یک ژن، یعنی PDE11A، شناخته شده که دارای چهار واریانت (PDE11A1-4) است. PDE11A هر دو cAMP و cGMP را با Km و V_{max} تقریباً یکسان هیدرولیز می کند و در عضله اسکلتی، پروستات، کلیه،

مهارکننده غیرانتخابی PDE است که مقدار IC_{50} آن برای تمام PDE ها به جز PDE8A، PDE8B و PDE9A، در حد میلی مولار است، (۲). اعضای خانواده PDE8 (PDE8A و PDE8B)، تمایل زیادی به cAMP high affinity cAMP specific داشته و به PDE معروفند و در نتیجه به IBMX حساس نیستند، (۷۳).

پیچیدگی و هم پوشانی فعالیت آنزیمی آنزیم های فسفودی استراز از یک طرف و توزیع بافتی آن ها از طرف دیگر می تواند علت اثرات جانبی نامطلوب مهارکننده های غیر انتخابی PDE باشد. (۹۳)

بحث و نتیجه گیری

آنزیم های PDE، آبشارهای انتقال پیام مختلف را یکی می کنند و موجب cross-talk و یکپارچگی میان مسیرهای مختلف می شوند. این پیچیدگی و تداخل آنزیم های فسفو دی استراز در مسیرهای مختلف پیام رسانی در بدن منجر به ایجاد اثرات جانبی مهارکننده های آن ها می گردد. به عنوان مثال، خانواده PDE1 است که با اتصال Ca^{2+}/CaM فعال و در غیاب Ca^{2+} غیر فعال است، (۹۴). بنا بر این افزایش Ca^{2+} درون سلولی بسته به ژن PDE1 ای که بیان می شود موجب کاهش غلظت cAMP یا cGMP می گردد. (شکل شماره ۴) علاوه بر انتقال حسی سلول بویایی، این cross-talk می تواند در مکانیسم پس نورد وابسته به گلوکز که ترشح انسولین را کنترل می کند نقش داشته باشد. به نظر می رسد در سلول های β پانکراس، افزایش غلظت Ca^{2+} آزاد سیتوپلاسم، موجب متابولیسم گلوکز از طریق گلیکولیز اکسیداتیو می شود و در نتیجه با افزایش نسبت

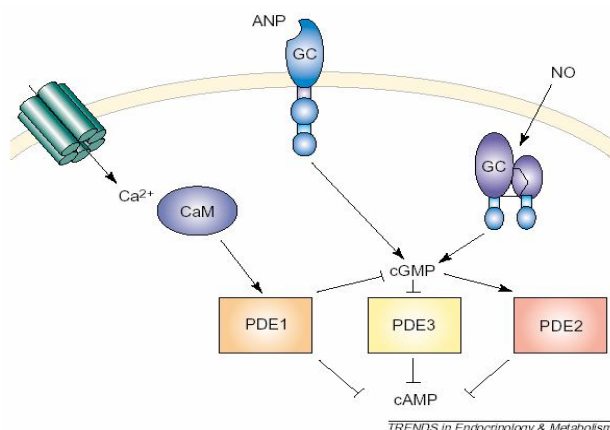
ATP:ADP و فعالیت PDE1، ترشح انسولین کاهش می یابد، (۹۵). با حضور جایگاه های اتصال دهنده آلوستریک برای نوکلئوتیدهای حلقوی، آنزیم های PDE مسیرهای cAMP و cGMP را نیز یکی می کنند. این ویژگی به سلول های اندوکرینی مربوط است که در آن ها تحریک های cAMP و cGMP در هومئوستاز شرکت می کنند. لایه سلولی گلوومرولوزای قشر آدرنال مقدار زیادی PDE2 سنتز می کند، (۹۶). ANP با افزایش مقدار cGMP، PDE2 را فعال می کند (شکل شماره ۴) و فعالیت این آنزیم، cAMP را کاهش داده و تولید مینرالوکورتیکوئید القاء شده با آدرنوکورتیکوتروپین را مهار می کند، (۹۶). در سلول های جنب گلوومرولی کلیه، یعنی محل اصلی ترشح رنین، نیتریک اکساید (NO) یک محرک قوی است به طوری که گوانیلیل سیکلاز محلول را فعال می کند و باعث افزایش غلظت cGMP در این سلول ها می شود. افزایش cGMP موجب مهار PDE3 و در نتیجه افزایش cAMP می شود. افزایش cAMP با فعال سازی PKA موجب تحریک ترشح رنین می گردد. (شکل شماره ۴) وجود این مسیر با این حقیقت که مهارکننده های PKA، نه مهارکننده های PKG، ترشح رنین القاء شده با NO را مهار می کنند و مهارکننده انتخابی PDE3، مهار ترشح رنین را معکوس می کنند، سازگار است، (۹۷). دو جایگاه اتصال دهنده مشهور، یعنی دمین اتصال دهنده cGMP (GAF) غیر کاتالپتیک، کشف شده که در خانواده های PDE2، PDE5، PDE6، PDE9، PDE10 و PDE11 وجود دارد. (۹۸)

مهارکننده غیرانتخابی PDE است که مقدار IC_{50} آن برای تمام PDE ها به جز PDE8A، PDE8B و PDE9A، در حد میلی مولار است، (۲). اعضای خانواده PDE8 (PDE8A و PDE8B)، تمایل زیادی به cAMP high affinity cAMP specific داشته و به PDE معروفند و در نتیجه به IBMX حساس نیستند، (۷۳).

پیچیدگی و هم پوشانی فعالیت آنزیمی آنزیم های فسفودی استراز از یک طرف و توزیع بافتی آن ها از طرف دیگر می تواند علت اثرات جانبی نامطلوب مهارکننده های غیر انتخابی PDE باشد. (۹۳)

بحث و نتیجه گیری

آنزیم های PDE، آبشارهای انتقال پیام مختلف را یکی می کنند و موجب cross-talk و یکپارچگی میان مسیرهای مختلف می شوند. این پیچیدگی و تداخل آنزیم های فسفو دی استراز در مسیرهای مختلف پیام رسانی در بدن منجر به ایجاد اثرات جانبی مهارکننده های آن ها می گردد. به عنوان مثال، خانواده PDE1 است که با اتصال Ca^{2+}/CaM فعال و در غیاب Ca^{2+} غیر فعال است، (۹۴). بنا بر این افزایش Ca^{2+} درون سلولی بسته به ژن PDE1 ای که بیان می شود موجب کاهش غلظت cAMP یا cGMP می گردد. (شکل شماره ۴) علاوه بر انتقال حسی سلول بویایی، این cross-talk می تواند در مکانیسم پس نورد وابسته به گلوکز که ترشح انسولین را کنترل می کند نقش داشته باشد. به نظر می رسد در سلول های β پانکراس، افزایش غلظت Ca^{2+} آزاد سیتوپلاسم، موجب متابولیسم گلوکز از طریق گلیکولیز اکسیداتیو می شود و در نتیجه با افزایش نسبت



شکل شماره ۴. فسفودی استراز ها (PDEs) و cross-talk میان مسیرهای انتقال پیام مختلف؛ به دنبال یک افزایش در غلظت Ca^{2+} سیتوزولی، آنزیم های PDE1 فعال شده و موجب کاهش غلظت cAMP و cGMP می شوند. تحریک گوانیل سیکلاز متصل به غشاء یا محلول (به ترتیب توسط ANP یا NO) با افزایش غلظت cGMP، cAMP را بسته به ایزوفرم PDE موجود، تحت تاثیر قرار می دهد. در بعضی سلول ها، cGMP، آنزیم های PDE2 را فعال می کند و در نتیجه cAMP را کاهش می دهد. در سلول های دیگر، cGMP، با مهار آنزیم های PDE3، غلظت cAMP را افزایش می دهد. اختصارات: ANP، atrial natriuretic peptide؛ CaM، calmodulin؛ GC، گوانیل سیکلاز؛ NO، نیتریک اکساید و PDE، فسفودی استراز. (۹۹)

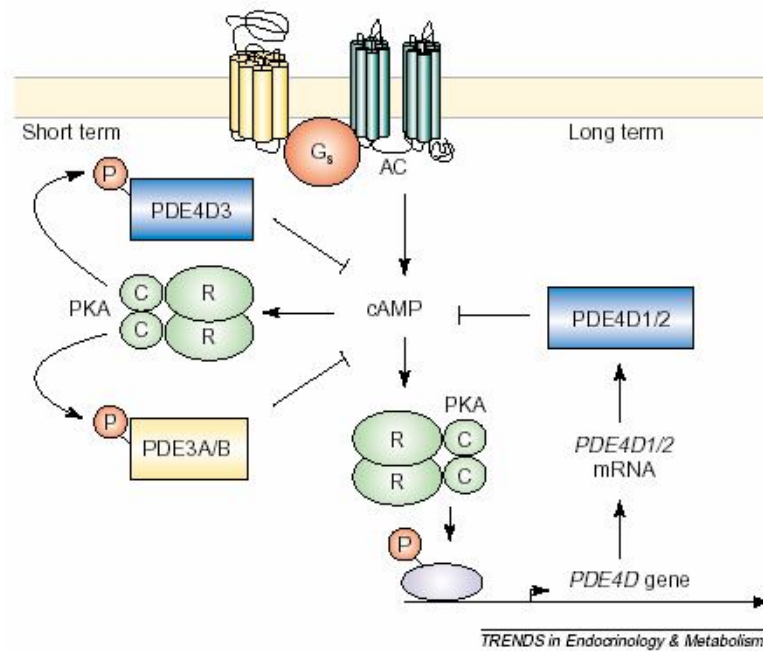
PKA، PKG، پروتئین کیناز B (AKT) و پروتئین کیناز فعال شده با میتوز فسفوریله می شوند. از نظر فیزیولوژیکی بهترین مثال در این زمینه برای cross-talk ای که با واسطه فسفوریلاسیون PDE انجام می شود، تنظیم وابسته به انسولین لیپولیز است. در آدیپوسیت ها فعالیت PDE3 میکروزومی برای عمل آنتی لیپولیتیک انسولین مهم است. این مسیر شامل فعالیت فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز (PI3-K)، فعال سازی AKT و فسفوریلاسیون/فعال سازی PDE3B است، (۲۱،۲۳). کاهش cAMP و غیر فعال شدن PKA، با دفسفوریله کردن لیپاز حساس به هورمون (HSL)، هیدرولیز تری گلیسریدها را کاهش می دهد. لپتین با فعال سازی PDE3B مسیر مشابهی را در هیپاتوسیت ها تحریک نموده و با عمل گلوکاگون مخالفت می کند، (۱۰۷). به علاوه، در سلول های β جزایر پانکراس، فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (IGF-1) و لپتین، ترشح انسولین وابسته به گلوکز را با فعال سازی PDE3B کاهش می دهند، در نتیجه، این cross-talk مستلزم تنظیم ترشح انسولین است. (۱۰۸،۱۰۹)

آنزیم های PDE به عنوان تنظیم کننده های هومئوستاز انتقال پیام نوکلئوتید حلقوی

همان طور که قبلاً ذکر شد، اتصال cGMP به عنوان تنظیم کننده فعالیت PDE عمل می کند، (۱۰۰). دمین GAF باید به مولکول های کوچک دیگری که با نوکلئوتیدهای حلقوی فرق دارند نیز متصل شود، زیرا در گونه هایی که cGMP را به عنوان سیگنال به کار نمی برند نیز وجود دارد، (۱۰۲، ۱۰۱). دمین اتصال دهنده لیگاند کوچک PAS در PDE8، (۹۵)، تیروئید موجود است. این دمین در پروتئین های باکتری ها تا پستانداران یافت شده است، (۹۹)، هر چند هنوز نقشی به آن نسبت نداده اند اما می تواند به عنوان یک حس گر (sensor) محیط خارج سلولی عمل کند. شناسایی آدنیلات سیکلاز به عنوان یک حس گر بیکربنات، منظره تازه ای به رابطه بین انتقال پیام نوکلئوتید حلقوی و محیط خارج سلولی و/یا داخل سلولی گشوده است، (۱۰۴، ۱۰۳). علاوه بر واکنش های پروتئین-پروتئین، تنظیم فعالیت PDE به وسیله فسفوریلاسیون نیز صورت می گیرد. آنزیم های PDE1، به وسیله کیناز وابسته به Ca^{2+}/CaM و PKA فسفوریله می شوند. این عمل با کاهش میل ترکیبی به CaM همراه است، (۱۰۵). اگر چه اهمیت فیزیولوژیکی در بعضی موارد مشخص نیست، اما سایر آنزیم های PDE به وسیله محدوده وسیعی از کینازها، (۱۰۶)؛ از جمله،

افزایش تحریک های هورمونی رخ می دهد. دومین مکانیسم، «تنظیم طولانی مدت» نام دارد که به سنتز پروتئین نیاز دارد و طی ساعت ها یا روزها اتفاق می افتد. گرچه هر دو مکانیسم سرانجام فعالیت PDE را افزایش می دهند، اما می توانند نقش های متمایزی در سلول ایفا کنند

پس از انتقال پیام رسپتور متصل به G- پروتئین ها، تنظیم بالای فعالیت PDE، (۱۱۲ - ۱۱۰)، و مکانیسم های بیوشیمیایی که تحت این تنظیم قرار دارند روشن شده است. دو مکانیسم پس نورد توصیف شده است، (۹۹). اولین مکانیسم، یک «تنظیم کوتاه مدت» است که شامل فسفوریلاسیون یک پروتئین PDE است که از قبل وجود دارد و طی دقایقی با



شکل شماره ۵. تنظیم پس نورد کوتاه مدت و بلند مدت PDE3 و PDE4. به دنبال تحریک رسپتورهای متصل به G- پروتئین ها و فعال سازی AC، افزایش cAMP، آنزیم های PKA را فعال می کند در نتیجه PDE3A/B یا PDE4 بسته به نوع سلول فعال می شود. این فسفوریلاسیون موجب افزایش فعالیت PDE و کاهش مقادیر cAMP می شود. تجمع طولانی مدت cAMP، در نتیجه سنتز de novo واریانت های کوتاه خانواده PDE4، برای مثال PDE4D1/2، فعالیت PDE را افزایش می دهد. اختصارات: AC، آدنیلات سیکلاز؛ PKA، پروتئین کیناز A وابسته به cAMP؛ C، زیر واحد کاتالیتیکی PKA؛ PDE، فسفودی استراز؛ R، زیر واحد تنظیمی PKA (۹۹).

تنظیم پس نورد سریع آنزیم های PDE

پس نورد درگیرند زیرا جایگاه فسفوریلاسیون در همه فرم های طولیل PDE4 حفظ شده است. به علاوه، یک ایزوفرم PDE3 در پاسخ به کاته کولامین ها در آدیپوسیت ها یا کاردیومیوسیت ها فسفوریله و فعال می شود، (۲۱). تنظیم پس نورد PDE3 و PDE4 با فسفوریلاسیون وابسته به cAMP احتمالاً در تنظیم اندازه و شاید مدت سیگنال های cAMP مهم است و اجازه تغییرات سریع در غلظت cAMP را می دهد، (۱۱۳)، این عمل به وسیله موشی که PDE4D

فعالیت کوتاه مدت PDE در دقایقی از اتصال آگونیست به رسپتور متصل به G- پروتئین دنبال می شود و نیاز به فعالیت PKA وابسته به cAMP دارد. این تنظیم، فرم طولیل PDE4D3 را هدف قرار می دهد زیرا این آنزیم به وسیله PKA در سلول زنده و محیط کشت فسفوریله و فعال می شود، (۱۱۵-۱۱۳). اگر چه، سایر آنزیم های PDE4 از جمله PDE4D5، (۱۱۶)، یا PDE4A7 نیز احتمالاً در این

PDE ها در بافت های دیگر نیز ممکن است دلیل اصلی عدم عملکرد سلول باشد. (۹۹)

نقش cAMP در ترشح انسولین و تنظیم ترشح انسولین توسط PDE3B

انسولین از سلول های β جزایر لانگرهانس پانکراس ترشح می شود. ترشح انسولین در پاسخ به تغییرات گلوکز پلاسما تنظیم می شود. در حالت ناشتا، یعنی زمانی که مقدار گلوکز خون کم است، انسولین در یک سطح پایه کم ترشح می شود؛ اما به دنبال یک رژیم غذایی قندی، با افزایش گلوکز خون، ترشح انسولین تحریک می شود. ترشح پایه انسولین، با تغییرات مقادیر cAMP تحت تاثیر قرار نمی گیرد. برعکس، عواملی که cAMP را افزایش می دهند، ترشح انسولین القاء شده با گلوکز را تقویت می کنند، (۱۲۷). وجود آنزیم PDE3B در سلول های β پانکراس ثابت شده است، (۱۰۸). مهارکننده های آنزیم PDE3 با افزایش cAMP در سلول های β ، ترشح انسولین القاء شده به وسیله گلوکز را تقویت می کنند، با افزایش ترشح انسولین، جذب گلوکز در بافت های محیطی (کبد، بافت چربی و عضله اسکلتی) افزایش و گلوکز پلاسما، کاهش می یابد. در هپاتوسیت ها انسولین موجب افزایش سنتز گلیکوژن و مهار تجزیه آن و در نتیجه کاهش تولید گلوکز کبدی می گردد. بنا بر این مهار PDE3 با تحریک ترشح انسولین، جذب گلوکز محیطی را افزایش و از طرف دیگر تولید گلوکز را با تحریک گلیکوژنولیز در کبد می افزایش دهد. (۱۳۳-۱۲۸) در سال های اخیر اهمیت بالینی مهارکننده های مختلف PDE مورد توجه محققان قرار گرفته است. اندکی از این ترکیبات امید بخش، به دلیل اثرات جانبی نامطلوب در آزمایش های کلینیکی رد می شوند. این اثرات جانبی می تواند به علت همپوشانی فعالیت آنزیمی آنزیم های فسفودی استراز، حساسیت دارویی، و توزیع بافتی آن ها باشد. با درک بهتر بیولوژی آنزیم های فسفودی استراز، تلاش برای یافتن مهارکننده های PDE جدید صورت می گیرد تا نسبت فواید درمانی آن ها را به اثرات جانبی نامطلوبشان افزایش دهد.

معیوب دارد پیشنهاد شده است. در این موش ها پاسخ به آگونیست های کولینرژیک موسکارینی عضله صاف تنفسی نقص دارد، که پیشنهاد می کند تنظیم cAMP به وسیله PDE4D برای مسیرهایی که با cAMP مهار می شوند حیاتی است. (۱۹)

تنظیم طولانی مدت آنزیم های PDE

اگر چه سایر خانواده های PDE نیز در تنظیم طولانی مدت نقش دارند، اما بیشتر، آنزیم های PDE4 در این تنظیم به طور مکرر درگیرند، (۱۱۷). ژن PDE4D یک پروموتور اینترونی دارد که سنتز فرم های کوتاه (4D2، 4D1) را کنترل می کند. در سلول های سرتولی، افزایش طولانی مدت cAMP که به وسیله هورمون محرک فولیکولی (FSH) القاء شده، بیان این فرم ها را با فعال سازی رونویسی این پروموتور که دارای عناصر پاسخ به هورمون و cAMP است افزایش می دهد، (۱۱۷، ۱۱۸). پایداری mRNA کد کننده آنزیم های PDE ای که به وسیله cAMP کنترل می شوند نیز می تواند در این تنظیم شرکت کند، (۱۱۹). این لوپ پس نورد، مکانیسمی فراهم می کند که سلول ها توسط آن با فعالیت مزمن سازگار می شوند. (۹)

مکانیسم جبرانی طولانی مدت با بیماری های انسانی مرتبط است. موتاسیون های فعال کننده رسپتورها یا G_{α} ، آدنیلات سیکلاز را به طور مزمن در حالت فعال نگه می دارند. این موتاسیون ها و افزایش cAMP حاصل از آن ها، باعث سندرم McCune-Albright شده و ورم غده های هیپوفیز و تیروئید را القاء می کنند، (۱۲۰). القاء PDE4 ها و در حد کمتری PDE1 ها، اثر این موتاسیون های فعال کننده را خنثی می کند، (۱۲۱، ۱۲۲). با توجه به نقش cAMP در تکثیر و تمایز تیروسیت ها، تنظیم PDE احتمالاً فنوتیپ القاء شده توسط این موتاسیون های فعال کننده را اصلاح می کند، (۱۲۳). نقش PDE ها در عملکرد سلول، با توضیح انحطاط شبکه تکمیل می شود. موتاسیون های زیرواحد های α ، β و γ در آنزیم PDE6، به طور ارثی باعث انحطاط سلول فتورسپتور و التهاب شبکه می شود، (۱۲۴-۱۲۶). این موتاسیون ها با مهار فعالیت PDE و افزایش غیرعادی غلظت cGMP، محتمل ترین دلیل انحطاط شبکه هستند. موتاسیون های سایر

References

- 1-Collins S, Surwit RS. The beta-adrenergic receptors and the control of adipose tissue metabolism and thermogenesis. *Recent Prog Horm Res* 2001;56:309-28.
- 2-Alexander SP, Mathie A, Peters JA. Guide to receptors and channels. *Br J Pharmacol* 2006;147:S1-168.
- 3-Francis SH, Turko IV, Corbin JD. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: relating structure and function. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2001;65:1-52.
- 4-Manganiello VC, Degerman E. Cyclic nucleotide phosphodiesterases. In *Encyclopedia of biological chemistry*. Elsevier Science Academic Press:San Diego, California, USA; 2004.P.501-5.
- 5-Johlfs MG, Fiscus RR. Protein kinase G type-Ialpha phosphorylates the apoptosis-regulating protein Bad at serine 155 and protects against apoptosis in N1E-115 cells. *Neurochem Int* 2010;56:546-53.
- 6-Darnell JE, Lodish H, Baltimore D. *Molecular Cell Biology*. 2th ed. New York, USA: Scientific American Books; 1990.P.802-8.
- 7-Mikael EB Ahlström. Cyclic nucleotide inactivation in osteoblasts and osteosarcoma cell lines. Department of Ecology and Systematics: Division of Instruction in Swedish University of Helsinki; 2001.P.8-10.
- 8-Walsh DA, Perkins JP, Krebs EG. An adenosine 3', 5'-monophosphate-dependant protein kinase from rabbit skeletal muscle. *J Biol Chem* 1968;243:3763-5.
- 9-Kemp, BE, Mitchelhill KI, Stapleton D, Michell BJ, Chen ZP, Witters LA. Dealing with energy demand: The AMP-activated protein kinase. *Trends Biochem Sci* 1991; 24:22-5.
- 10-Hardie DG, Carling D. The AMP-activated protein kinase: Fuel gauge of the mammalian cell? *Eur J Biochem* 1997;246: 259-73.
- 11-Taylor SS, Radzio-Andzelm E. Structural aspects: cAMP-dependent protein kinases. *Protein kinases*. Oxford, UK: Oxford University Press; 1994.P.1-29.
- 12-Richards JS. New signaling pathways for hormones and cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate action in endocrine cells. *Mol Endocrinol* 2001;15:209-18.
- 13-Sculptoreanu A, Figourov A, De Groat WC. Voltage-dependent potentiation of neuronal L-type calcium channels due to state-dependent phosphorylation. *Amer J Phys* 1995;269:C725-32.
- 14-Sette C, Iona S, Conti M. The short-term activation of a rolipram-sensitive, cAMP-specific phosphodiesterase by thyroid-stimulating hormone in thyroid FRTL-5 cells is mediated by a cAMP-dependent phosphorylation. *J Biol Chem* 1994;269: 9245-52.
- 15-Blind E, Bambino T, Nissenson RA. Agonist-stimulated phosphorylation of the G protein-coupled receptor for parathyroid hormone (PTH) and PTH-related rotein. *Endocrinology* 1995;136:4271-4277.
- 16-de Rooij J, Zwartkruis FJ, Verheijen MH, Cool RH, Nijman SM, Wittinghofer A, et al. Epac is a Rap1 guanine-nucleotide-exchange factor directly activated by cyclic AMP. *Nature* 1998;396:474-7.
- 17-Jin SL, Richard FJ, Kuo WP, D'Ercole AJ, Conti M. Impaired growth and fertility of cAMP-specific phosphodiesterase PDE4D-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:11998-2003.
- 18-Hansen G, Jin S, Umetsu DT, Conti M. Absence of muscarinic cholinergic airway responses in mice deficient in the cyclic nucleotide phosphodiesterase PDE4D. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:6751-56.
- 19-Jindrova H. Vertebrate phototransduction: activation, recovery, and adaptation. *Physiol Res* 1998;47:155-68.
- 20-Bender AT, Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use. *Pharmacol Rev* 2006; 58:488-520.
- 21-Degerman E, Belfrage P, VC. Manganiello. Structure, localization, and regulation of cGMP-inhibited phosphodiesterase (PDE3). *J Biol Chem* 1997;272:6823-26.
- 22-Makhlouf A, Kshirsagar A, Niederberger C. Phosphodiesterase 11: a brief review of structure, expression and function. *Int J Impot Res* 2006;18:501-9.
- 23-Conti M. Phosphodiesterases cyclic nucleotide signaling in endocrine cells." *Mol Endocrinol* 2000;14:1317-27.
- 24-Soderling, SH, Bayuga SJ, Beavo JA. Identification and characterization of a

- novel family of cyclic nucleotide phosphodiesterases. *J Biol Chem* 1998;273:15553-58.
- 25-Sonnenburg WK, Rybalkin SD, Bornfeldt KE, Kwak KS, Rybalkina IG, Beavo JA. Identification, quantitation, and cellular localization of PDE1 calmodulin-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Methods* 1998;14:3-19.
- 26-Hansen RS, Charbonneau H, Beavo JA. Purification of calmodulin-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase by monoclonal antibody affinity chromatography. *Methods Enzymol* 1988;159:543-57.
- 27-Yan C, Zhao AZ, Bentley JK, Loughney K, Ferguson K, Beavo JA. Molecular cloning and characterization of a calmodulin-dependent phosphodiesterase enriched in olfactory sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:9677-81.
- 28-Shimizu-Albergine M, Rybalkin SD, Rybalkina IG, Feil R, Wolfsgruber W, Hofmann F, et al. Individual cerebellar Purkinje cells express different cGMP phosphodiesterases (PDEs): in vivo phosphorylation of cGMP-specific PDE(PDE5) as an indicator of cGMP-dependent protein kinase (PKG) activation. *J Neurosci* 2003;23:6452-59.
- 29-Essayan DM. Cyclic nucleotide phosphodiesterases. *J Allergy Clin Immunol* Nov 2001;108:671-80.
- 30-Hickie RA, Graham MJ, Buckmeier JA, Meyskens FL. Comparison of calmodulin gene expression in human neonatal melanocytes and metastatic melanoma cell lines. *J Invest Dermatol* 1992;99:764-73.
- 31-Kakkar R, Raju VS, Sharma RK. Calmodulin-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE1). *Cell Mol Life Sci* 1999;55:1164-86.
- 32-Oleg V, Evgenov, Cornelius J. Inhibition of phosphodiesterase 1 augments the pulmonary vasodilator response to inhaled nitric oxide in awake lambs with acute pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006;290:L723-L9.
- 33-Ralph T. Phosphodiesterase 1 Upregulation in Pulmonary Arterial Hypertension. Target for Reverse-Remodeling Therapy. *Circulation* 2007;115:2331-9.
- 34-Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev* 1995;75:725-748.
- 35-Martins TJ, Mumby MC, Beavo JA. Purification and characterization of a cyclic GMP-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase from bovine tissues. *J Biol Chem* 1982;257:1973-9.
- 36-Wu AY, Tang XB, Martinez SE, Ikeda K, Beavo JA. Molecular determinants for cyclic nucleotide binding to the regulatory domains of phosphodiesterase 2A. *J Biol Chem* 2004;279:37928-38.
- 37-Repaske DR, Corbin JG, Conti M, Goy MF. A cyclic GMP-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase gene is highly expressed in the limbic system of the rat brain. *Neuroscience* 1993;56:673-86.
- 38-Hartzell HC, Fischmeister R. Opposite effects of cyclic GMP and cyclic AMP on Ca²⁺ current in single heart cells. *Nature* 1986;323:273-5.
- 39-Kishi Y, Ashikaga T, Watanabe R, Numano F. Atrial natriuretic peptide reduces cyclic AMP by activating cyclic GMP-stimulated phosphodiesterase in vascular endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;24:351-7.
- 40-Verde I, Vandecasteele G, Lezoualch F, Fischmeister R. Characterization of the cyclic nucleotide phosphodiesterase subtypes involved in the regulation of the L-type Ca²⁺ current in rat ventricular myocytes. *Br J Pharmacol* 1999;127:65-74.
- 41-Mac-Farland RT, Zelus BD, Beavo JA. High concentrations of a cGMP stimulated phosphodiesterase mediate ANP-induced decreases in cAMP and stereogenesis in adrenal glomerulosa cells. *J Biol Chem* 1991;266:136-42.
- 42-Maurice DH, Haslam RJ. Molecular basis of the synergistic inhibition of platelet function by nitrovasodilators and activators of adenylatecyclase: inhibition of cyclic AMP breakdown by cyclic GMP. *Mol Pharmacol* 1990;37:671-81.
- 43-Scapin G, Patel SB, Chung C, Varnerin JP, Edmondson SD, Mastracchio A, et al. Crystal structure of human phosphodiesterase 3B: atomic basis for substrate and inhibitor specificity. *Biochemistry* 2004;43:6091-100.
- 44-Shakur Y, Takeda K, Kenan Y, Yu Zu-Xi, Rena G, Brandt D, et al. Membrane localization of cyclic nucleotide phosphodiesterase 3 (PDE3). Two N-terminal domains are required for the efficient targeting

- to, and association of, PDE3 with endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 2000; 275(49):38749-61.
- 45-Sette C, Iona S, Conti M. The short-term activation of a rolipram-sensitive, cAMP-specific phosphodiesterase by thyroid-stimulating hormone in thyroid FRTL-5 cells is mediated by a cAMP-dependent phosphorylation. *J Biol Chem* 1994;269:9245-52.
- 46-Swinnen JV, Joseph DR, Conti M. The mRNA coding a high-affinity cAMP phosphodiesterase is regulated by hormones and cAMP. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86:8197-201.
- 47-Catherine-Jin SL Shiau-Li D, Shih CL. Phosphodiesterase 4 and Its Inhibitors in Inflammatory Diseases. *Chang Gung Med J* 2012;35:197-210.
- 48-Page CP, Spina D. Phosphodiesterase inhibitors in the treatment of inflammatory diseases. *Handb Exp Pharmacol* 2011; 204:391-414.
- 49-Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Reynisdottir ST, Manolescu A, Jonsdottir S, Jonsdottir T, et al. The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke. *Nat Genet* 2003;35:131-8.
- 50-Saleheen D, Bukhari S, Haider SR, Nazir A, Khanum S, Shafqat S, et al. Association of phosphodiesterase 4D gene with ischemic stroke in a Pakistani population. *Stroke* 2005;36:2275-7.
- 51-Reneland RH, Mah S, Kammerer S, Hoyal CR, Marnellos G, Wilson SG, et al. Association between a variation in the phosphodiesterase 4D gene and bone mineral density. *BMC Med Genet* 2005;6:9-13.
- 52-Miyamoto K, Waki Y, Horita T, Kasugai S, Ohya K. Reduction of bone loss by denbufylline, an inhibitor of phosphodiesterase 4. *Biochem Pharmacol* 1997;54:613-7.
- 53-Kinoshita T, Kobayashi S, Ebara S, Yoshimura Y, Horiuchi H, Tsutsumimoto T, et al. Phosphodiesterase inhibitors, pentoxifylline and rolipram, increase bone mass mainly by promoting bone formation in normal mice. *Bone* 2000;27:811-7.
- 54-Coquil JF, Franks DJ, Wells JN, Dupuis M, Hamet P. Characteristics of a new binding protein distinct from the kinase for guanosine 3':5'-monophosphate in rat platelets. *Biochim Biophys Acta* 1980;631:148-65.
- 55-Francis SH, Lincoln TM, Corbin JD. Characterization of a novel cGMP binding protein from rat lung. *J Biol Chem* 1980; 255:620-6.
- 56-Corbin JD, Turko IV, Beasley A, Francis SH. Phosphorylation of phosphodiesterase-5 by cyclic nucleotide-dependent protein kinase alters its catalytic and allosteric cGMP-binding activities. *Eur J Biochem* 2000;267:2760-7.
- 57-Francis SH, Bessay EP, Kotera J, Grimes KA, Liu L, Thompson WJ, et al. Phosphorylation of isolated human phosphodiesterase-5 regulatory domain induces an apparent conformational change and increases cGMP binding affinity. *J Biol Chem* 2002;277:47581-7.
- 58-Rosen RC, Kostis JB. Overview of phosphodiesterase 5 inhibition in erectile dysfunction. *Am J Cardiol* 2003;92:9M-18M.
- 59-Price DE, Gingell JC, Gepi-Attee S, Wareham K, Yates P, Boolell M. Sildenafil: a study of a novel oral treatment for erectile dysfunction in diabetic men. *Diabetic Med* 1998;15:821-5.
- 60-Marco G, Marco V, Ross A, Maurizio D. PDE5 Inhibition With Sildenafil Improves Left Ventricular Diastolic Function, Cardiac Geometry, and Clinical Status in Patients With Stable Systolic Heart Failure. *Circ Heart Fail* 2011;4:8-17.
- 61-Deterre P. cGMP phosphodiesterase of retinal rods is regulated by two inhibitory subunits. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 85:2424-8.
- 62-Matesic D, Liebman PA. Cyclic GMP dependent cation channel of retinal rod outer segments. *Nature* 1987;326:600-604.
- 63-Mc Allister- Lucas LM, Sonnenburg WK, Kadlecsek A, Seger D, LeTrong H, Colbran JL, et al. The structure of a bovine lung cGMP-binding, cGMP-specific phosphodiesterase deduced from a cDNA clone. *J Biol Chem* 1993;268:22863-73.
- 64-Bazhin AV, Tambor V, Dikov B, Philippov PP, Schadendorf D, Eichmu SB. cGMP-phosphodiesterase 6, transducin and Wnt5a/Frizzled-2-signaling control cGMP and Ca²⁺ homeostasis in melanoma cells. *Cell Mol Life Sci* 2010;67:817-28.
- 65-Han P, Zhu X, Michaeli T. Alternative splicing of the high affinity cAMP-specific phosphodiesterase (PDE7A) mRNA in

- human skeletal muscle and heart. *J Biol Chem* 1997;272:16152-7.
- 66-Smith SJ, Brookes- Fazakerley S, Donnelly LE, Barnes PJ, Barnette MS, Gienbycz MA. Ubiquitous expression of phosphodiesterase 7A in human proinflammatory and immune cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;284:L279-L89.
- 67-Linsong Li, Cassian Y, Joseph A. CD3- and CD28- dependent induction of PDE7 required for T cell activation. *Science* 1999; 283:848-9.
- 68-Fuhrmann M, Jahn H. Identification and function of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes in airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;20: 292-302.
- 69-Hetman JM, Robas N, Baxendale R, Fidock M, Philips SC, Soderling SH, et al. Cloning and characterization of two splice variants of human phosphodiesterase 11A. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:12891-5.
- 70-Gardner C, Robas N, Cawkill D, Fidock M. Cloning and characterization of the human and mouse PDE7B, a novel cAMP-specific cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;272:186-92.
- 71-Fisher DA, Smith JF, Pillar JS, St-Denis SH, Cheng JB. Isolation and characterization of PDE8A, a novel human cAMP-specific phosphodiesterase. *Biochem Biophys Res Commun* 1998a;246:570-7.
- 72-Soderling SH, Bayuga SJ, Beavo JA. Cloning and characterization of a cAMP-specific cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998a;95: 8991-6.
- 73-Soderling SH, Beavo JA. Regulation of cAMP and cGMP signaling: new phosphodiesterases and new functions. *Curr Opin Cell Biol* 2000;12:174-9.
- 74-Galperin MY, Nikolskaya AN, Koonin EV. Novel domains of the prokaryotic two-component signal transduction systems. *Microbiol Lett* 2001;203:11-8.
- 75-Dunlap JC, Loros JJ, Liu Y, Crosthwaite SK. Eukaryotic circadian systems: cycles in common. *Genes Cells* 1999;4:1-6.
- 76-Gilles-Gonzalez MA, Gonzalez G. Signal transduction by heme-containing PAS-domain proteins. *J Appl Physiol* 2004;96:2-8.
- 77-Hayashi M, Matsushima K, Ohashi H, Tsunoda H, Murase S, Kawarada Y et al. Molecular cloning and characterization of human PDE8B, a novel thyroid-specific isozyme of 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;250:751-6.
- 78-Soderling SH, Bayuga SJ, Beavo JA. Identification and characterization of a novel family of cyclic nucleotide phosphodiesterases. *J Biol Chem* 1998b;273:15553-8.
- 79-Guipponi M, Scott HS, Kudoh J, Kawasaki K, Shibuya K, Shintani A, et al. Identification and characterization of a novel cyclic nucleotide phosphodiesterase gene (PDE9A) that maps to 21q22.3: alternative splicing of mRNA transcripts, genomic structure and sequence. *Hum Genet* 1998;103:386-92.
- 80-Loughney K, Snyder PB, Uher L, Rosman GJ, Ferguson K, Florio VA. Isolation and characterization of PDE10A, a novel human 3', 5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Gene* 1999;234:109-17.
- 81-Loughney K, Taylor J, Florio VA. 3',5'-Cyclic nucleotide phosphodiesterase 11A: localization in human tissues. *Int J Impot Res* 2005;17:320-5.
- 82-Fujishige K, Kotera J, Michibata H, Yuasa K, Takebayashi S, Okumura K. Cloning and characterization of a novel human phosphodiesterase that hydrolyzes both cAMP and cGMP (PDE10A). *J Biol Chem* 1999;274:18438-45.
- 83-Seeger TF, Bartlett B, Coskran TM, Culp JS, James LC, Krull DL, Lanfear J, et al. Immunohistochemical localization of PDE10A in the rat brain. *Brain Res* 2003; 985:113-26.
- 84-Rodefer J, Murphy E, Baxter M. PDE10A inhibition reverses subchronic PCP-induced deficits in attentional set-shifting in rats. *Eur J Neurosci* 2005;21:1070-6.
- 85-Fawcett L, Baxendale R, Stacey P, McGrouther C, Harrow I, Soderling S, et al. Molecular cloning and characterization of a distinct human phosphodiesterase gene family: PDE11A. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 28:3702-7.
- 86-Kelly MP, Logue SF, Brennan J, Day JP, Lakkaraju S, Jiang L, et al. Phosphodiesterase 11A in brain is enriched in ventral hippocampus and deletion causes psych-

- hiatric disease-related phenotypes. *Proc Natl Acad Sci* 2010;107:8457-62.
- 87-Boswell-Smith VD, Spina CP. Phosphodiesterase inhibitors. *Br J Pharmacol* 2006; 147:S252-S7.
- 88-Persson CA. On the medical history of xanthines and other remedies for asthma: a tribute to HH salter. *Thorax* 1985;40: 881-6.
- 89-Sutherland EW, Rall TW. The properties of an adenine ribonucleotide produced with cellular particles, ATP, Mg⁺⁺, and epinephrine or glucagon. *J Am Chem Soc* 1957;79:36-8.
- 90-Sutherland EW, Rall TW: Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles. *J Biol Chem* 1958;232:1077-91.
- 91-Olaf B, Bettina B, Richard I. Relaxin signaling links tyrosine phosphorylation to phosphodiesterase and adenylyl cyclase activity. *Mol Human Repro* 2001;7:799-809.
- 92-Ashcroft S. *FEBS Lett* 1973;20:263-6.
- 93-Huang Z, Ducharme Y, MacDonald D, Robichaud A. The next generation of PDE4 inhibitors. *Curr Opin Chem Biol* 2001; 5:432-8.
- 94-Charbonneau H, Kumar S, Novack JP, Blumenthal DK, Griffin PR, Shabanowitz J, et al. Evidence for domain organization within the 61-kDa calmodulin-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase from bovine brain. *Biochemistry* 1991;30.32:7931-40.
- 95-Han P, Werber J, Surana M, Fleischer N, Michaeli T. The calcium/calmodulin-dependent phosphodiesterase PDE1C downregulates glucose-induced insulin secretion. *J Biol Chem* 1999;274:22337-44.
- 96-MacFarland RT. High concentrations of a cGMP-stimulated phosphodiesterase mediate ANP-induced decreases in cAMP and steroidogenesis in adrenal glomerulosa cells. *J Biol Chem* 1991;266:136-42.
- 97-Kurtz A, Karl-heinz C. Stimulation of renin secretion by nitric oxide is mediated by phosphodiesterase 3. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:4743-7.
- 98-Soderling SH, JA. Regulation of cAMP and cGMP signaling: new phosphodiesterases and new functions. *Curr Opin Cell Biol* 2000;12:174-9.
- 99-Mehats C. Cyclic nucleotide phosphodiesterases and their role in endocrine cell signaling. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13:29-35.
- 100-Aravind L, Ponting CP. The GAF domain: an evolutionary link between diverse phototransducing proteins. *Trends Biochem Sci* 1997;22:458-9.
- 101-Ho YS, LM. Burden, JH Hurley. Structure of the GAF domain, a ubiquitous signaling motif and a new class of cyclic GMP receptor. *EMBO J* 2000;19:5288-99.
- 102-Soderling S. Cloning and characterization of a cAMP-specific cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:8991-96.
- 103-Chen Y, Cann MJ, Litvin TN, Iourgenko V, Sinclair ML, Levin LR, et al. Soluble adenylyl cyclase as an evolutionarily conserved bicarbonate sensor. *Science* 2000;289:625-8.
- 104-Jaiswal B, Conti M. Identification and functional analysis of splice variants of the germ cell soluble adenylyl cyclase. *J Biol Chem* 2001;276:31698-708.
- 105-Kakkar R, Sharma RK. Calmodulin-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE1). *Cell Mol.Life Sci* 1999;55: 1164-86.
- 106-Conti M. The molecular biology of cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1999;63:1-38.
- 107-Zhao AZ, Shinohara MM, Huang D, Shimizu M, Eldar-Finkelman H, Krebs EG, et al. Leptin induces insulin-like signaling that antagonizes cAMP elevation by glucagon in hepatocytes. *J Biol Chem* 2000; 275:11348-54.
- 108-Zhao AZ, Zhao H, Teague J, Fujimoto W, Beavo JA. Attenuation of insulin secretion by insulin-like growth factor 1 is mediated through activation of phosphodiesterase 3B. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:3223-28.
- 109-Zhao AZ, Bornfeldt KE , Beavo JA. Leptin inhibits insulin secretion by activation of phosphodiesterase 3B. *J Clin Invest* 1998;102:869-73.
- 110-Corbin JD, Beebe SJ, Blackmore PF. cAMP-dependent protein kinase activation lowers hepatocyte cAMP. *J Biol Chem* 1985;260:8731-35.
- 111-Pawlson LG , Lovell-Smith CJ, Manganiello VC, Vaughan M. Effects of epinephrine, adrenocorticotrophic hormone, and

- theophylline on adenosine 3', 5'-monophosphate phosphodiesterase activity in fat cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974;71:1639-42.
- 112-D'Armiento M, GS Johnson, I Pastan. Regulation of adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate phosphodiesterase activity in fibroblasts by intracellular concentrations of cyclic adenosine monophosphate (3T3-dibutyryl cyclic AMP-SV40-transformed cells-michaelis constants-L cells-prostaglandin E1). *Proc Natl Acad Sci USA* 1972;69:459-62.
- 113-Oki N, Takahashi SI, Hidaka H, Conti M. Short term feedback regulation of cAMP in FRTL-5 thyroid cells. Role of PDE4D3 phosphodiesterase activation. *J Biol Chem* 2000;275:10831-37.
- 114-Liu H, Maurice DH. Phosphorylation-mediated activation and translocation of the cyclic AMP-specific phosphodiesterase PDE4D3 by cyclic AMP-dependent protein kinase and mitogen-activated protein kinases. A potential mechanism allowing for the coordinated regulation of PDE4D activity and targeting. *J Biol Chem* 1999;274:10557-65.
- 115-Sette C, Conti M. Phosphorylation and activation of a cAMP-specific phosphodiesterase by the cAMP-dependent protein kinase. Involvement of serine 54 in the enzyme activation. *J Biol Chem* 1996;271:16526-34.
- 116-Hoffmann R, Baillie GS, MacKenzie SJ, Yarwood SJ, Houslay MD. The MAP kinase ERK2 inhibits the cyclic AMP-specific phosphodiesterase HSPDE4D3 by phosphorylating it at Ser579. *EMBO J* 1999;18:893-903.
- 117-Conti M. Phosphodiesterases and cyclic nucleotide signaling in endocrine cells. *Mol Endocrinol* 2000;14:1317-27.
- 118-Vicini EM. Characterization of an intronic promoter of a cyclic adenosine 3',5'-monophosphate (cAMP)-specific phosphodiesterase gene that confers hormone and cAMP inducibility. *Mol Endocrinol* 1997;11:839-50.
- 119-Swinnen JV, Tsikalas KE, Conti M. Properties and hormonal regulation of two structurally related cAMP phosphodiesterases from the rat Sertoli cell. *J Biol Chem* 1991;266:18370-7.
- 120-Ringel MD, Schwindinger WF, Levine MA. Clinical implications of genetic defects in G proteins. The molecular basis of McCune-Albright syndrome and Albright hereditary osteodystrophy. *Medicine (Baltimore)* 1996;75:171-84.
- 121-Lania A, Persani L, Ballare E, Mantovani S, Losa M, Spada A. Constitutively active Gs alpha is associated with an increased phosphodiesterase activity in human growth hormone-secreting adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1624-8.
- 122-Persani L, Lania A, Alberti L, Romoli R, Mantovani G, Filetti S, et al. Induction of specific phosphodiesterase isoforms by constitutive activation of the cAMP pathway in autonomous thyroid adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2872-8.
- 123-Deleu S, Allory Y, Radulescu A, Pirsion I, Carrasco N, Corvilain B, et al. Characterization of autonomous thyroid adenoma: metabolism, gene expression, and pathology. *Thyroid* 2000;10:131-40.
- 124-Huang SH, Pittler SJ, Huang X, Oliveira L, Berson EL, Dryja TP. Autosomal recessive retinitis pigmentosa caused by mutations in the alpha subunit of rod cGMP phosphodiesterase. *Nat Genet* 1995;11:468-71.
- 125-Gal A, Xu S, Piczenik Y, Eiberg H, Duvigneau C, Schwinger E, Rosenberg T. Gene for autosomal dominant congenital stationary night blindness maps to the same region as the gene for the beta-subunit of the rod photoreceptor cGMP phosphodiesterase (PDEB) in chromosome 4p16.3. *Hum Mol Genet* 1994;3:323-25.
- 126-McLaughlin ME. Recessive mutations in the gene encoding the beta-subunit of rod phosphodiesterase in patients with retinitis pigmentosa. *Nat Genet* 1993;4:130-4.
- 127-Schuit FC. Factors determining the glucose sensitivity and glucose responsiveness of pancreatic beta cells. *Horm Res* 1996;46:99-106.
- 128-Parizadeh SR, Shafiee-Nick R, Sabery KM, Ghayour-Mobarhan M, Gordon AF. Investigating the Metabolic Effects of the Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase Inhibitors on Immature balb/c Mice. *Pakistan J Nutr* 2010;9:776-80.
- 129-Parizadeh S, Shafiee-Nick R, Zahraei M. Comparison between the insulinotropic effects of milrinone and amrinone, selective PDE3 inhibitors in in-vitro and in-vivo conditions. *Iran J Basic Med Sci* 2001;4:7-15.

130-Snyder PB. The adipocyte cGMP-inhibited cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE3B) as a target for lipolytic and thermogenic agents for the treatment of obesity. *Emerg Therap Targets* 1999;3:587-99.

131-Pour N, Shafiee R, Parizadeh SR. [Anti-hyperglycemic effects of cyclic nucleotides phosphodiesterases (PDEs) in rat]. *Med J Tabriz Univ Med Sci* 2007;29:11-15.(Persian)

132-Azar H, Reza SN, Heydar P, Hamid S. Inotropic and chronotropic effects of new cilostamide derivatives on isolated rat atria, *Physiol Pharmacol* 2011;15:341-50.

133-Azar H, Reza SN, Nasser PB, Hamid S. Differential metabolic effects of novel cilostamide analogs, methylcarbostiryl derivatives, in mouse and hyperglycemic rat. 2012. *Iran J Basic Med Sci* 2012;15:916-25.

Overview of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase Isoenzyme: a Review Article

Saberi Karimian M^{1,3}, Parizadeh S.M.R², Samadi S¹, Hamidi Alamdari D², Zali F⁴,
Ahmadi N.A^{5*}, Hadavi M⁶

(Received: 5 May. 2013

Accepted: 5 Aug. 2013)

Abstract

Phosphodiesterase enzymes (PDEs) catalyze selectively the hydrolysis of the cAMP and cGMP cyclic nucleotides. Nowadays, 53 isoenzymes have been identified in 11 families of Phosphodiesterase enzymes. The enzymes control the accessibility of second messengers to their intracellular effectors. PDEs display variation in structure, kinetic characteristics, regulatory mechanisms, inhibitor sensitivity, and response to special factors as well as the affinity to substrate (cAMP and cGMP). Each PDE family not only have their own specific substrates and regulatory characteristics, but also display their own specific tissue, cellular and subcellular expression patterns and consequently participate in different signal transduction pathways.

The importance of physiological effects of cAMP and PDE inhibitors was clarified in 1950s. The cAMP nucleotide was introduced as a second messenger that mediating many cellular impacts of neurological transmitters and hormones. The second messenger,

cGMP, was discovered a few years later in rat urine. Recent studies have demonstrated that phosphodiesterase enzymes can be inhibited nonselectively by IBMX (3-isobutyl-1-methyl-xantine) which increase cAMP level and the IC50 for all PDEs were reported to be in the range of millimolar, with the exception for PDE8A, PDE8B and PDE9A.

Obviously, the clinical usage of different PDE inhibitors has been known in recent years. Among various PDE inhibitors some compounds were not acceptable for the sake of their undesirable side effects. Overlapping enzyme activity, drug sensitivity and tissue distribution of phosphodiesterases comprised their side effects. Further investigation of PDEs in order to identify new PDE inhibitors would lead to improve their therapeutic effects and reduce their undesirable side effects.

Keyword: cyclic nucleotide phosphodiesterase, phosphodiesterase inhibitors

1. Dept of New Techniques and Science, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

2. Dept of Biochemistry, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

3. Iranian Applied Research Center for Public Health and Sustainable Development (IRCPHD), North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

4. Dept of Virology, School of Medical Sciences, Tarbiyat Modares University, Tehran, Iran

5. Proteomics Research Center, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

6. Dept of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

*(corresponding author)