

Phosphodiesterases des nucléotides cycliques : rôle dans le cœur et potentiel thérapeutique

Ibrahim Bedioune, Pierre Bobin, Sarah Karam, Marta Lindner, Delphine Mika, Patrick Lechêne, Jérôme Leroy, Rodolphe Fischmeister et Grégoire Vandecasteele

UMR-S 1180, Inserm, Univ. Paris-Sud, Université Paris-Saclay, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, France

Auteurs correspondants : Grégoire Vandecasteele, gregoire.vandecasteele@u-psud.fr ;
Rodolphe Fischmeister, rodolphe.fischmeister@inserm.fr

Reçu le 19 mai 2016

Résumé – Les phosphodiesterases des nucléotides cycliques (PDE) dégradent les seconds messagers AMPc et GMPc qui constituent des régulateurs majeurs de la fonction cardiaque. Cette classe d'enzymes très diversifiée, codée par vingt et un gènes, englobe onze familles qui sont responsables de la terminaison des signaux transmis par les nucléotides cycliques. Ces PDE sont également impliquées dans la génération de microdomaines dynamiques d'AMPc et de GMPc, contrôlant des fonctions spécifiques des cellules en réponse à divers stimuli neuro-hormonaux. Dans le myocarde, les PDE3 et PDE4 sont prédominantes pour dégrader l'AMPc et régulent le couplage excitation-contraction cardiaque. Les inhibiteurs de PDE3 sont inotropes positifs et vasodilatateurs chez l'homme, mais leur utilisation est limitée au traitement de l'insuffisance cardiaque aiguë et de la claudication intermittente. Les inhibiteurs de PDE5, utilisés avec succès pour traiter la dysfonction érectile et l'hypertension pulmonaire, ne semblent pas efficaces dans l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée. Des travaux expérimentaux suggèrent néanmoins que ces PDE ainsi que d'autres, en particulier les PDE1, PDE2 et PDE9, jouent un rôle important dans l'hypertrophie et l'insuffisance cardiaque. Après un bref aperçu des voies des nucléotides cycliques dans les myocytes cardiaques et des principales caractéristiques des PDE, cette revue fera le point sur les travaux de recherche récents susceptibles de conduire à une meilleure exploitation du potentiel thérapeutique de ces enzymes pour le traitement futur de l'insuffisance cardiaque.

Mots clés : AMPc / GMPc / phosphodiesterases des nucléotides cycliques / insuffisance cardiaque

Abstract – Cyclic nucleotide phosphodiesterases: role in the heart and therapeutic perspectives.

Cyclic nucleotide phosphodiesterases (PDEs) degrade the second messengers cyclic adenosine monophosphate (cAMP) and cyclic guanosine monophosphate (cGMP), thereby regulating multiple aspects of cardiac function. This highly diverse class of enzymes encoded by 21 genes encompasses 11 families that are not only responsible for the termination of cyclic nucleotide signalling, but are also involved in the generation of dynamic microdomains of cAMP and cGMP, controlling specific cell functions in response to various neurohormonal stimuli. In the myocardium, the PDE3 and PDE4 families predominate, degrading cAMP and thereby regulating cardiac excitation-contraction coupling. PDE3 inhibitors are positive inotropes and vasodilators in humans, but their use is limited to acute heart failure and intermittent claudication. PDE5 inhibitors, which are used with success to treat erectile dysfunction and pulmonary hypertension, do not seem efficient in heart failure with preserved ejection fraction. There is experimental evidence however that these PDE, as well as other PDE families including PDE1, PDE2 and PDE9, may play important roles in cardiac diseases, such as hypertrophy and heart failure (HF).

After a brief presentation of the cyclic nucleotide pathways in cardiac myocytes and the major characteristics of the PDE superfamily, this review will focus on the potential use of PDE inhibitors in HF, and the recent research developments that could lead to a better exploitation of the therapeutic potential of these enzymes in the future.

Key words: cAMP / cGMP / cyclic nucleotide phosphodiesterases / heart failure

Abréviations

AKAP	<i>A-kinase anchoring protein</i>
ANP, BNP, CNP	<i>atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, C-type natriuretic peptide</i>
CaM	calmoduline
CaMKII	kinase Ca^{2+} /calmoduline-dépendante de type II
CMLV	cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire
Epac	<i>exchange protein directly activated by cAMP</i>
GAF	<i>c-GMP-stimulated ; phosphodiesterases Anabaena adenyl cyclase ; Fhla transcription factor</i>
GC	guanylate cyclase
IC	insuffisance cardiaque
IR	ischémie-reperfusion
LTCC	<i>L-type Ca^{2+} channel</i>
NC	nucléotides cycliques
NO	monoxyde d'azote
PDE	phosphodiesterase des nucléotides cycliques
PKA	protéine kinase A
PKG	protéine kinase G
PLB	phospholamban
RS	réticulum sarcoplasmique
RyR2	récepteur de la ryanodine
SERCA2	Ca^{2+} -ATPase du réticulum sarcoplasmique et endoplasmique
TnI	troponine I
β -AR	récepteur β -adrénergique

Introduction

Les nucléotides cycliques (NC) AMPc et GMPc constituent des régulateurs majeurs de l'activité du cœur. Ils agissent comme seconds messagers pour les neuromédiateurs des systèmes sympathique et parasympathique, du monoxyde d'azote (NO) et des peptides natriurétiques. Les nucléotides cycliques sont susceptibles d'exercer des effets bénéfiques ou délétères

sur le cœur selon l'intensité et la durée de leur élévation. À court terme, ils régulent l'automatisme et le couplage excitation-contraction cardiaque (CEC). Toutefois, une élévation chronique d'AMPc contribue au développement de l'hypertrophie cardiaque et à la progression de l'insuffisance cardiaque (IC), alors que le GMPc possède des propriétés anti-hypertrophiques. L'amplitude, la durée et la localisation des élévations d'AMPc et de GMPc sont déterminées par un équilibre entre leur synthèse par les adénylate cyclases pour l'AMPc, et les guanylate cyclases pour le GMPc, et leur dégradation par les phosphodiesterases (PDE). Les phosphodiesterases représentent l'unique voie de dégradation de l'AMPc et du GMPc, et leur activité permet de diminuer rapidement les niveaux de ces NC dans les cellules. Les PDE constituent une superfamille d'enzymes hautement diversifiée. Leurs propriétés enzymatiques différentes ainsi que leur localisation subcellulaire spécifique participent à la compartimentation des NC qui est critique pour déterminer la spécificité des réponses hormonales (Steinberg & Brunton, 2001 ; Conti *et al.*, 2014). De plus, l'expression et l'activité de ces PDE est modifiée dans l'hypertrophie et l'insuffisance cardiaque. Ainsi, les propriétés des différentes isozymes constituant la superfamille des PDE en font des cibles thérapeutiques potentiellement intéressantes dans l'IC. Néanmoins, aujourd'hui seuls les inhibiteurs de PDE3 sont utilisés dans l'IC aiguë décompensée. Dans cette revue, nous allons présenter une vue d'ensemble du rôle des PDE dans le cœur et les avancées récentes de la recherche qui sont porteuses d'espoir pour mieux exploiter le potentiel thérapeutique de ces enzymes dans l'ischémie-reperfusion et l'insuffisance cardiaque.

Rôle des voies de signalisation des nucléotides cycliques dans les myocytes cardiaques

La production d'AMPc dans les cellules cardiaques est essentiellement due à des adénylate cyclases transmembranaires, qui constituent la source principale d'AMPc dans ces cellules. Deux types de guanylate cyclases (GC) produisent le GMPc, la guanylate cyclase

soluble, activée par le NO et les guanylate cyclases particulières (GCp) qui constituent les récepteurs pour les peptides natriurétiques (ANP, BNP et CNP). Une fois synthétisés, les NC exercent leurs effets en agissant sur quatre grandes classes d'effecteurs : des protéines kinases (AMPc-dépendante, PKA, et GMPc-dépendante, PKG), des canaux ouverts ou régulés par les NC (respectivement CNG ou HCN), et les facteurs d'échange des petites protéines G, Rap1 et Rap2, activés par l'AMPc (Epac). Les protéines Popeye, fortement exprimées à la membrane plasmique des muscles striés, lient directement l'AMPc et émergent comme la quatrième classe connue de cibles directes de l'AMPc (Schindler & Brand, 2016).

Lors d'un stress aigu, l'activation du système nerveux sympathique provoque une augmentation brutale des catécholamines, adrénaline et noradrénaline. Celles-ci se lient aux récepteurs β -adrénergiques (β -AR) des cardiomyocytes, menant à une élévation d'AMPc et à l'activation de la PKA. La phosphorylation par PKA des canaux calciques de type L du sarcolemme (LTCC), des récepteurs de la ryanodine (RyR2), du phospholamban (PLB), qui contrôle l'activité de la Ca^{2+} -ATPase (SERCA2) du réticulum sarcoplasmique (RS), et de la troponine I (TnI) augmentent l'amplitude et les cinétiques des transitoires calciques dans les cardiomyocytes (Figure 1), sous-tendant les effets inotrope et lusitrope positifs classiques d'une stimulation sympathique aiguë. Toutefois, la stimulation chronique des récepteurs β -AR, qui est observée en particulier dans l'hypertension et les maladies cardiaques chroniques, est délétère pour le cœur car elle favorise le remodelage hypertrophique, l'apoptose et la survenue d'arythmies. En plus de la PKA, les facteurs d'échange Epac sont activés par l'AMPc et semblent jouer un rôle important dans ce contexte. En effet, l'activation d'Epac déclenche une voie de signalisation aboutissant à l'activation de la phosphatase calcineurine et de la kinase Ca^{2+} /calmoduline-dépendante de type II (CaMKII) stimulant ainsi la croissance hypertrophique (Metrich *et al.*, 2008; Lezoualc'h *et al.*, 2016). L'activation de la CaMKII, qui peut aussi dépendre de l'augmentation de Ca^{2+} provoquée par une activation de la PKA, phosphoryle également les RyR2, provoquant une fuite de Ca^{2+} du RS en diastole et augmentant le risque d'arythmies, ce qui favorise *in fine* la progression vers l'IC (Ruiz-Hurtado *et al.*, 2012) (Figure 1).

Dans le cœur, la voie du GMPc est souvent vue comme l'image en miroir de celle de l'AMPc. En effet, une augmentation de GMPc exerce un effet inotrope négatif en activant la PKG qui inhibe le courant calcique de type L (Mery *et al.*, 1991; Yang *et al.*, 2007) et phosphoryle la TnI pour réduire la sensibilité des myofilaments au Ca^{2+} (Layland *et al.*, 2005). De plus, le GMPc peut moduler les niveaux d'AMPc en

régulant des PDE particulières (voir ci-dessous). Un mécanisme par lequel l'axe GMPc-PKG exerce une action anti-hypertrophique est l'inhibition de la voie de la calcineurine (Tsai & Kass, 2009) (Figure 1).

Généralités sur les phosphodiesterases

Chez les mammifères, on distingue onze familles de PDE qui diffèrent par leur structure primaire, leurs propriétés catalytiques, leur capacité à dégrader l'AMPc et/ou le GMPc, ainsi que leurs mécanismes de régulation. La plupart des familles de PDE sont codées par plusieurs gènes, donnant lieu à une centaine d'isoformes de PDE au total, produites par épissage alternatif et par l'utilisation de différents sites d'initiation de la traduction. Les isoformes sont désignées par une nomenclature commune : PDE est suivi par un numéro de famille (1-11), une lettre capitale indique le gène (A, B, C ou D) et un numéro final indique le variant d'épissage. Certaines familles de PDE hydrolysent sélectivement l'AMPc (PDE4, 7, 8), alors que d'autres sont spécifiques du GMPc (PDE5, 6, 9). Une troisième catégorie est capable d'hydrolyser à la fois l'AMPc et le GMPc (PDE1, 2, 3, 10, 11).

Les PDE partagent un domaine catalytique conservé (domaine C) présentant une homologie comprise entre 25 et 52%, mais différent de façon importante au niveau de leur domaine N-terminal. Les domaines N-terminaux contiennent divers éléments impliqués dans la dimérisation, la liaison de petites molécules régulatrices, la phosphorylation et la localisation intracellulaire. Ils sont caractéristiques de chaque famille et de leurs variants. Ainsi, la famille PDE1 est la seule à posséder deux sites de liaison pour la calmoduline (CaM) au niveau de son domaine N-terminal, et ceci confère à cette famille la propriété d'être stimulée par le Ca^{2+} . Les domaines GAF (l'acronyme est basé sur les premières lettres des trois protéines dans lesquelles elles furent identifiées en premier : G, *cGMP-stimulated phosphodiesterases*; A, *Anabaena adenyl cyclases*; F, *Fhla transcription factor*) constituent d'autres domaines importants impliqués dans la dimérisation et la régulation allostérique par les nucléotides cycliques retrouvés dans plusieurs familles (PDE2, PDE5, PDE6, PDE10 et PDE11). En particulier, le GMPc active la PDE2 et la PDE5 en se liant au niveau d'un domaine GAF (Martins *et al.*, 1982; Rybalkin *et al.*, 2003). À l'inverse, l'hydrolyse d'AMPc par la PDE3 est inhibée par le GMPc, par compétition au niveau du site catalytique. Les domaines N-terminaux de plusieurs PDE contiennent des sites de phosphorylation pour plusieurs kinases qui modulent l'activité enzymatique. Par exemple, les formes longues de PDE4 sont phosphorylées par la PKA, entraînant une augmentation

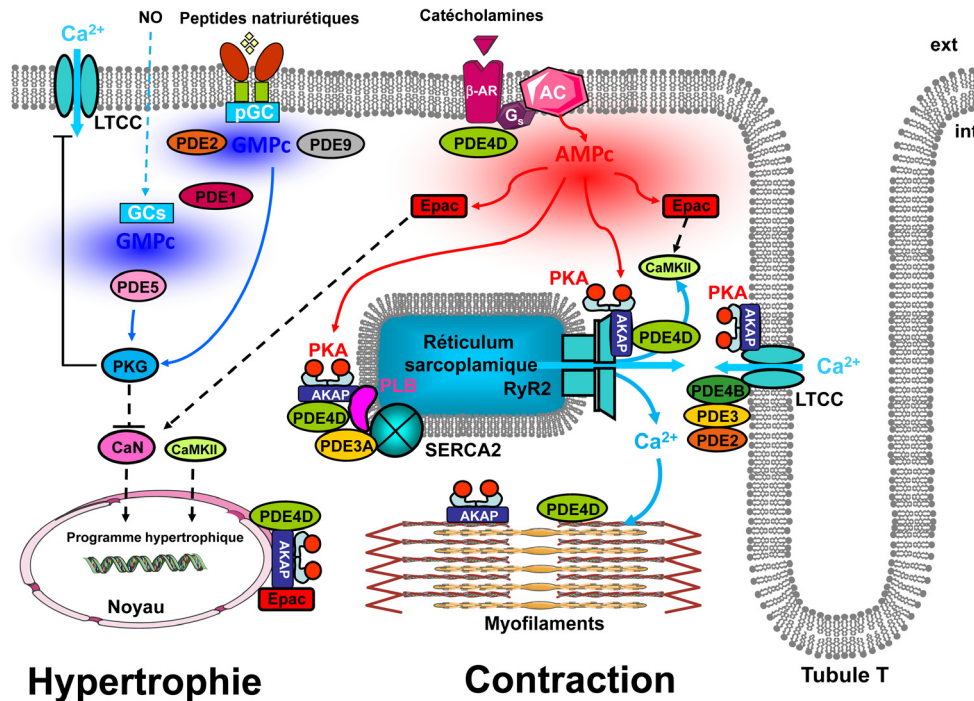


Fig. 1. Métabolisme des nucléotides cycliques dans les myocytes cardiaques.

Les PDE majeures exprimées dans les cardiomyocytes sont indiquées, ainsi que leur localisation subcellulaire en relation avec leur rôle dans la régulation du couplage excitation-contraction et de l'hypertrophie cardiaque. Par simplicité, la famille de PDE et, quand c'est pertinent, le gène, sont indiqués mais pas les isoformes spécifiques issues d'un épissage alternatif. AC, adénylate cyclase; AKAP, *A-kinase anchoring protein*; CaMKII, kinase Ca^{2+} /calmoduline-dépendante de type II; CaN, calcineurine; GPCR, récepteur couplé aux protéines G; GcP, guanylate cyclase particulaire; GCs, guanylate cyclase soluble. Reproduit avec la permission d'Elsevier.

de l'activité d'hydrolyse de l'AMPc (Sette & Conti, 1996), alors que la phosphorylation par PKG de la PDE5 augmente l'hydrolyse du GMPc (Francis *et al.*, 2011). De nombreuses autres kinases sont susceptibles de réguler l'activité des PDE, comme démontré dans le cas de ERK2, ERK5 et CaMKII sur les formes longues de PDE4D (Mika & Conti, 2015; Mika *et al.*, 2015). Les domaines N-terminaux sont également importants pour la localisation intracellulaire, permettant dans certains cas l'association aux membranes ou des interactions protéine-protéine. Ainsi les PDE interagissent physiquement avec de multiples partenaires protéiques, en particulier des protéines d'échafaudage comme les protéines d'ancrage de la PKA (AKAP) ou la β -arrestine. Il a récemment été décrit une interaction directe entre la PDE8 et la sous-unité $R1\alpha$ de la PKA qui facilite l'hydrolyse de l'AMPc et la terminaison du signal (Krishnamurthy *et al.*, 2014, 2015). Des présentations plus détaillées des PDE incluant leur structure, leur régulation, leurs rôles physiologiques et leur pharmacologie peuvent être trouvées dans plusieurs revues récentes (Conti & Beavo, 2007; Francis *et al.*, 2011; Keravis & Lugnier, 2012; Maurice *et al.*, 2014).

Les PDE, des cibles thérapeutiques pour le cœur ?

Insuffisance cardiaque

Dans les années 1970 et 1980, les effets inotropes positifs, bronchodilatateurs et vasodilatateurs des inhibiteurs de PDE3, furent mis en évidence dans plusieurs espèces, et ces molécules furent développées comme cardiotoniques alternatifs ou complémentaires aux glycosides dans le traitement de l'IC (Movsesian *et al.*, 2011). Cependant, malgré une amélioration des paramètres hémodynamiques à court terme, des essais cliniques ont démontré par la suite que l'administration chronique d'inhibiteurs de PDE3 est associée à une augmentation des arythmies cardiaques et de la mortalité (Amsallem *et al.*, 2005). De ce fait, l'utilisation des inhibiteurs de PDE3 est désormais limitée à l'IC aiguë décompensée. Néanmoins, les inhibiteurs de PDE3 agissent sur plusieurs isoformes de PDE3 co-exprimées dans le cœur, suggérant qu'une inhibition sélective d'une isoforme pourrait avoir des effets bénéfiques. La PDE3 est codée par deux gènes, *PDE3A* et *PDE3B*. L'utilisation de souris invalidées

pour chacun de ces gènes montre que la PDE3A est responsable des effets chronotrope et inotrope positifs des inhibiteurs de PDE3 (Sun *et al.*, 2007). Trois isoformes de PDE3A sont exprimées dans les cardiomyocytes, qui diffèrent seulement dans leur partie N-terminale qui dicte des localisations cellulaires différentes (Wechsler *et al.*, 2002). Chez l'Homme et la souris, l'isoforme PDE3A1 contrôle l'activité PLB-SERCA2 et la recapture de Ca^{2+} par le RS (Beca *et al.*, 2013; Ahmad *et al.*, 2015) (Figure 1). En IC, l'activité de la SERCA2 est diminuée et le PLB est déphosphorylé, conduisant à l'idée qu'une inhibition sélective de la PDE3A1 associée au complexe PLB-SERCA2 pourrait améliorer les performances contractiles et constituer une thérapie dans l'IC (Movsesian, 2015). Toutefois, les inhibiteurs actuels de PDE3 sont peu sélectifs des PDE3A et PDE3B, dont les domaines catalytiques sont similaires, et ne distinguent pas les isoformes de PDE3A, dont les domaines catalytiques sont identiques. Il a été montré récemment que la phosphorylation de la PDE3A1 régule son interaction avec SERCA2 (Ahmad *et al.*, 2015). Le ciblage de ce mécanisme pourrait donc constituer une piste pour augmenter sélectivement la contractilité en empêchant l'incorporation de la PDE3A1 au complexe PLB-SERCA2, et ceci pourrait s'avérer moins délétère qu'une inhibition globale de l'activité PDE3.

La seconde famille de PDE impliquée de façon majeure dans la dégradation de l'AMPc dans le cœur est la famille des PDE4. Quatre gènes (*Pde4a-d*) codent pour les PDE4 chez les mammifères et ces enzymes dégradent sélectivement l'AMPc. La plupart des connaissances actuelles pour le cœur concernent les produits du gène *Pde4d*. En particulier, l'invalidation de ce gène provoque une cardiomyopathie dilatée chez la souris âgée, associée à des tachycardies ventriculaires à l'exercice liées à une hyperphosphorylation des RyR2 et une fuite de Ca^{2+} diastolique (Lehnart *et al.*, 2005). Les isoformes de PDE4D sont localisées dans divers compartiments du cardiomyocyte. Par exemple, la PDE4D3 est trouvée à la membrane périnucléaire, au sein d'un complexe multiprotéique organisé par la protéine d'ancrage de PKA, mAKAP, et comprenant le facteur d'échange Epacl et la kinase ERK5 impliqués dans la régulation de l'hypertrophie cardiaque (Dodge-Kafka *et al.*, 2005; Kritzer *et al.*, 2014). Cette isoforme est également présente au niveau du sarcolemme, où elle s'associe *via* une autre AKAP appelée Yotiao avec les canaux potassiques lents à rectification retardée (Terrenoire *et al.*, 2009). Enfin, elle est localisée aux myofilaments, en association avec une autre protéine d'ancrage, la myomégaline (Verde *et al.*, 2001). Par ailleurs, il est également décrit que des isoformes distinctes de PDE4D interagissent avec les récepteurs β_1 -AR ou β_2 -AR, soit directement, soit indirectement *via* la

β -arrestine (Baillie *et al.*, 2003; Richter *et al.*, 2008; De Arcangelis *et al.*, 2009; Berthouze-Duquesnes *et al.*, 2013; Richter *et al.*, 2013). Finalement, comme PDE3A, PDE4D est également trouvée au sein du complexe PLB/SERCA2 et participe à la régulation de l'activité de la pompe calcique dans le cœur de souris (Beca *et al.*, 2011) (Figure 1).

Un rôle pour PDE4B a émergé récemment quand cette isoforme a été identifiée comme une PDE associée à la sous-unité principale α_{1C} des canaux calciques de type L du sarcolemme (LTCC), et comme la PDE majeure régulant le courant calcique de type L ($\text{I}_{\text{Ca,L}}$) lors d'une stimulation β -AR chez la souris (Figure 1). Chez les souris déficientes en PDE4B, on observe, comme chez celles déficientes en PDE4D, une susceptibilité accrue aux arythmies ventriculaires lors d'une stimulation aux catécholamines, qui pourrait être liée à un influx plus important de Ca^{2+} à travers les LTCC (Leroy *et al.*, 2011). Alors que la phosphorylation des RyR2 par PKA ne semblait pas modifiée dans les cœurs de souris adultes déficientes en PDE4B (Leroy *et al.*, 2011), une étude récente indique que cette phosphorylation est augmentée dans des myocytes néonataux dépourvus de PDE4B (Mika *et al.*, 2014), suggérant qu'une altération de la régulation des RyR2 pourrait participer aux troubles du rythme. Dans une autre étude menée sur les myocytes ventriculaires de rat, nous avons montré que sous stimulation β -AR, l'inhibition de la PDE4 (ainsi que celle de la PDE3) exerce des effets inotropes positifs en augmentant l'activité de la PKA, mais conduit à des vagues calciques spontanées *via* PKA et la kinase activée par le complexe Ca^{2+} -calmoduline de type II (CaMKII). Ces vagues calciques spontanées peuvent donner lieu à des dépolarisations de la membrane plasmique susceptibles de déclencher des arythmies. Ces résultats suggèrent que l'utilisation combinée d'inhibiteurs de CaMKII et d'inhibiteurs de PDE pourrait limiter les effets pro-arythmiques des inhibiteurs de PDE tout en préservant leur effet inotrope positif (Bobin *et al.*, 2016).

Comme indiqué plus haut, la phosphorylation de certaines isoformes de PDE3 et PDE4 par PKA active ces enzymes, et ceci constitue une puissante boucle de régulation négative des taux d'AMPc dans les cardiomyocytes (Rochais *et al.*, 2004). Ce type de régulation est facilité par une proximité spatiale de la PKA et des PDE rassemblées par la mAKAP (Dodge-Kafka *et al.*, 2005) ou par la phosphatidylinositol-4 5-bisphosphate 3-kinase γ (PI3K γ). En effet, cette dernière, outre sa fonction kinase, est également une AKAP qui lie PKA et les isoformes PDE3B, PDE4A et PDE4B, facilitant ainsi la phosphorylation de ces dernières par la PKA (Ghigo *et al.*, 2012).

Bien que ces études démontrent clairement le rôle majeur des PDE4 dans la régulation β -AR chez le

rongeur, cette famille contribue moins à la régulation de la contractilité cardiaque chez l'Homme, où la PDE3 prédomine (Molenaar *et al.*, 2013). Toutefois, dans des fibres atriales humaines, l'inhibition de la PDE3, mais aussi de la PDE4, potentialise l'effet pro-arythmique d'une stimulation β -AR, et l'activité PDE4 tend à diminuer dans les oreillettes de patients en fibrillation atriale (Molina *et al.*, 2012). La compréhension du rôle des PDE4 chez l'homme est également importante pour comprendre l'effet pro-arythmique des inhibiteurs de PDE3 puisque ces composés sont susceptibles d'inhiber également la PDE4 dans des préparations cardiaques (Bethke *et al.*, 1992; Shakur *et al.*, 2002).

Dans l'hypertrophie et l'insuffisance cardiaque, il existe des modifications importantes d'expression et d'activité des PDE3 et PDE4. Dans un modèle d'hypertrophie pathologique induit par surcharge de pression chez le rat, nous avons mis en évidence une baisse d'expression et d'activité des PDE3A, PDE4A et PDE4B, associée à une diminution de la régulation de l'AMPc subsarcolemmal par ces enzymes (Abi-Gerges *et al.*, 2009). En revanche, dans un modèle d'installation d'hypertrophie cardiaque induite par l'angiotensine II, on observe une augmentation d'activité PDE4 accompagnée d'une augmentation d'expression de la PDE4A de 69-kDa et d'une diminution d'expression des PDE4D de 52- et 76-kDa (Mokni *et al.*, 2010). Ces résultats suggèrent que les niveaux d'expression des isoformes de PDE3 et PDE4 sont régulés de façon spécifique selon le type de stimulus utilisé pour induire l'hypertrophie cardiaque et le stade de la pathologie. Alors qu'une augmentation des PDE peut participer au phénomène de désensibilisation de la voie β -AR, leur diminution pourrait représenter un mécanisme compensateur visant à restaurer les niveaux d'AMPc et l'inotropisme. Toutefois, une diminution des PDE altère également le degré de confinement de l'AMPc, ce qui pourrait conduire à l'activation illégitime ou excessive de certains « pools » de PKA ou des facteurs d'échanges Epac, et favoriser ainsi le remodelage pathologique et les troubles du rythme cardiaque. Cette hypothèse est étayée par les résultats d'une étude montrant qu'une isoforme particulière de PDE4D, la PDE4D5, régule l'activation d'Epac1 et le programme hypertrophique lors d'une stimulation des récepteurs β_2 -AR (Berthouze-Duquesnes *et al.*, 2013). Dans une étude récente, la régulation locale de l'AMPc à proximité de la SERCA2 a été comparée à celle de l'AMPc cytoplasmique global. Pour cela, les auteurs ont utilisé des modèles de souris transgéniques surexprimant un biosenseur AMPc basé sur le transfert d'énergie de fluorescence par résonance (FRET) dans les myocytes cardiaques. Dans l'un des modèles, le biosenseur n'est pas adressé et se localise dans le cytoplasme, tandis que dans l'autre ce biosenseur est fusionné au

phospholamban (PLB) ce qui permet sa localisation au voisinage de la SERCA2 (Sprenger *et al.*, 2015). En accord avec leur localisation connue au complexe PLB-SERCA2, les résultats montrent que la PDE3 et la PDE4 régulent l'AMPc dans ce microdomaine. De façon intéressante, au cours de l'hypertrophie cardiaque et aux premiers stades de l'IC, on observe des modifications des PDE régulant ce « pool » d'AMPc, avec une diminution de la participation de PDE4 et l'apparition d'une régulation par PDE2 (Sprenger *et al.*, 2015). Ces résultats suggèrent qu'une redistribution des PDE dans des microcompartiments discrets des cardiomyocytes accompagne le remodelage hypertrophique.

Les PDE3 et PDE4 constituent également les PDE majeures dégradant l'AMPc dans les CMLV (Zhai *et al.*, 2012), et leur expression est également modifiée dans les aortes de rat en IC (Hubert *et al.*, 2014). De plus, la dysfonction endothéliale observée dans l'IC provoque une augmentation constitutive de l'activité de la PDE3 dans les CMLV de la média. En effet, la diminution du NO produit par l'endothélium entraîne une diminution du niveau de GMPc dans les CMLV, levant l'inhibition tonique exercée par celui-ci sur la PDE3 en conditions normales. Cette augmentation de l'activité de PDE3 prévient la relaxation induite par stimulation des β -AR ou par inhibition de la PDE4. Ces résultats suggèrent qu'une inhibition de la PDE3 permettrait de restaurer une vasorelaxation normale dans l'IC (Hubert *et al.*, 2014).

La PDE2 dégrade à la fois l'AMPc et le GMPc et représente une part mineure de l'activité d'hydrolyse de l'AMPc dans le cœur normal, mais son activité envers l'AMPc est stimulée d'un facteur 5 à 30 par le GMPc, et ce mécanisme est responsable d'une inhibition de $I_{Ca,L}$ dans différentes espèces animales dont l'Homme (Fischmeister *et al.*, 2005). Par la suite, des mesures utilisant des biosenseurs FRET pour l'AMPc dans les cardiomyocytes de rat néonatal ont montré que l'activation des β_3 -AR active la PDE2 et diminue le niveau d'AMPc, s'opposant ainsi aux effets d'une stimulation β -AR (Mongillo *et al.*, 2005). Alors que l'expression des PDE3 et PDE4 est généralement diminuée dans l'hypertrophie pathologique et l'IC (Ding *et al.*, 2005; Osadchii, 2007; Abi-Gerges *et al.*, 2009), nous avons trouvé récemment que la PDE2 est augmentée dans des modèles animaux d'IC et chez les patients en IC (Mehel *et al.*, 2013). L'inhibition de la PDE2 restaure partiellement la sensibilité aux catécholamines dans les myocytes issus de cœurs exposés chroniquement à l'isoprénaline, suggérant que l'augmentation de la PDE2 constitue un mécanisme protecteur contre une stimulation β -AR excessive. Toutefois, selon une autre étude récente, la PDE2 exercerait un effet pro-hypertrophique en limitant la phosphorylation de NFAT par la PKA (Zoccarato

et al., 2015). D'autres études sont nécessaires afin de mieux comprendre le rôle de la PDE2 en IC.

Comme la PDE2, la PDE1 et la PDE5 sont augmentées en hypertrophie et en IC (Vandeput *et al.*, 2007; Miller *et al.*, 2009; Pokreisz *et al.*, 2009). Étant donné que la PDE1 et la PDE5 dégradent préférentiellement (PDE1A) ou spécifiquement (PDE5) le GMPc, leur augmentation en IC doit être considérée comme inadaptée. En effet, des souris surexprimant la PDE5 au niveau cardiaque développent un remodelage cardiaque plus sévère après un infarctus du myocarde (Pokreisz *et al.*, 2009), alors que l'inhibition pharmacologique de PDE1 (Miller *et al.*, 2009) ou de PDE5 (Takimoto *et al.*, 2005) réduit l'hypertrophie et améliore la réponse cardiaque à une surcharge de pression ou de volume. De nombreuses études chez l'animal ont montré que les inhibiteurs de PDE5 ont des effets bénéfiques dans plusieurs contextes pathologiques : ischémie-reperfusion, cardiotoxicité induite par la doxorubicine, diabète, et myopathie de Duchenne (Das *et al.*, 2015). Néanmoins, l'expression de la PDE5 dans le cœur fait l'objet d'une controverse, suggérant que certains effets bénéfiques des inhibiteurs de PDE5 impliqueraient d'autres mécanismes incluant l'inhibition de la PDE1 (Lukowski *et al.*, 2014; Degen *et al.*, 2015). Chez des patients en IC à fraction d'éjection abaissée, le sildénafil diminue la pression pulmonaire vasculaire et augmente le pic de la consommation d'oxygène ainsi que l'index cardiaque (Lewis *et al.*, 2007). Le sildénafil améliore également la fonction diastolique gauche et le statut clinique des patients avec une IC systolique (Guazzi *et al.*, 2011a) et améliore la cardiomyopathie diabétique (Giannetta *et al.*, 2012). Toutefois, malgré des résultats encourageants dans un essai clinique initial monocentrique (Guazzi *et al.*, 2011b), un traitement chronique au sildénafil n'a pas révélé de bénéfice chez des patients en IC avec fraction d'éjection préservée dans un essai multi-centrique plus large (Redfield *et al.*, 2013). D'autres essais cliniques sont actuellement en cours avec les inhibiteurs de PDE5, notamment afin de comparer l'efficacité du tadalafil dans la cardiomyopathie diabétique chez les hommes et les femmes (NCT01803828).

Il a récemment été proposé que deux autres PDE participent à la dégradation du GMPc dans le cœur. Des expériences menées dans des cardiomyocytes murins exprimant un biosenseur FRET permettant de mesurer les taux intracellulaires de GMPc suggèrent que la PDE3, classiquement considérée comme dégradant préférentiellement l'AMPc, pourrait aussi être importante pour le contrôle des niveaux de GMPc (Gotz *et al.*, 2014). De plus, une étude récente suggère que la PDE9, qui dégrade spécifiquement le GMPc, est exprimée dans le cœur

et que son expression est augmentée dans l'hypertrophie et l'IC (Lee *et al.*, 2015). L'inactivation du gène codant pour PDE9 ou son inhibition pharmacologique protègent le cœur du remodelage pathologique induit par une surcharge de pression. À la différence de la PDE5, qui contrôle un « pool » de GMPc dépendant de la NOS et de la GCs (Castro *et al.*, 2006; Takimoto *et al.*, 2007), la PDE9 dégrade le « pool » de GMPc contrôlé par la GCp en réponse aux peptides natriurétiques (Lee *et al.*, 2015). Étant donné que les peptides natriurétiques sont augmentés dans l'IC, alors que l'activité NOS est diminuée, l'effet d'une inhibition de PDE9 pourrait s'avérer plus efficace qu'une inhibition de PDE5. Nous avons montré auparavant que la PDE2 joue également un rôle critique dans la dégradation de ce « pool » sous-membranaire de GMPc produit par la GCp dans les cardiomyocytes (Castro *et al.*, 2006), soulevant la question du rôle respectif de PDE2 et PDE9 dans la signalisation des peptides natriurétiques dans le cœur.

Ischémie/reperfusion

La manipulation de l'activité PDE peut également s'avérer protectrice dans le contexte de l'ischémie-reperfusion (IR). En effet, les inhibiteurs de PDE5 réduisent la taille de l'infarctus chez le lapin et la souris. Ils réduisent également la mort cellulaire dans des cardiomyocytes isolés, suggérant qu'une part de ces effets est indépendante de la vasodilatation. Plusieurs mécanismes semblent impliqués dans ces effets, comprenant l'activation de la voie NO/GMPc/PKG et l'activation des canaux potassiques K_{ATP} et $K_{Ca^{2+}}$ mitochondriaux (Das *et al.*, 2015). Les inhibiteurs de PDE3 réduisent également la taille de l'infarctus lorsqu'ils sont appliqués avant une ischémie soutenue, mimant ainsi la cardioprotection conférée par un préconditionnement ischémique (Sanada *et al.*, 2001; Tosaka *et al.*, 2007; Fukasawa *et al.*, 2008). Une étude récente utilisant des souris déficientes pour la PDE3A ou la PDE3B suggère fortement que la PDE3B est la cible des inhibiteurs de PDE3 impliquée dans la cardioprotection. En effet, les souris déficientes en PDE3B, mais pas celles déficientes pour PDE3A, sont protégées des dommages induits par l'ischémie-reperfusion. Cette protection semble impliquer entre autres l'ouverture de canaux $K_{Ca^{2+}}$ mitochondriaux par la voie AMPc/PKA (Chung *et al.*, 2015). De façon surprenante par rapport à l'effet cardioprotecteur des inhibiteurs de PDE3 mentionné plus haut, des souris avec une surexpression spécifique cardiaque de la PDE3A1 sont protégées en IR. En plus de réguler la SERCA2, la PDE3A1 agit également comme un régulateur négatif de l'apoptose des cardiomyocytes, en contrôlant l'expression du répresseur transcriptionnel pro-apoptotique, ICER (*inducible-cAMP*

early repressor) (Yan *et al.*, 2007). L'inhibition de ce mécanisme chez les souris surexprimant la PDE3A1 dans le cœur est associé à la cardioprotection en IR (Oikawa *et al.*, 2013). Collectivement, ces études suggèrent que la PDE3A et la PDE3B jouent un rôle opposé lors de l'IR, différence qui pourrait être liée à leur localisation et au contrôle de microdomaines différents d'AMPc dans les cardiomyocytes (Chung *et al.*, 2015).

Conclusions

Les PDE furent découvertes peu de temps après l'AMPc par le groupe de Sutherland, il y a plus de cinquante ans. Depuis, la diversité et la complexité de cette superfamille d'enzymes ont été mises en évidence, et leur rôle critique dans le système cardiovasculaire a été démontré. Les effets secondaires indésirables des inhibiteurs de PDE3 (augmentation de la mortalité dans l'IC en chronique) et de PDE4 (nausées, vomissements) expliquent que leur utilisation actuelle soit limitée au traitement de l'IC aiguë et de la bronchopathie pulmonaire chronique obstructive. Une meilleure compréhension de la biologie des PDE permet d'envisager une manipulation plus ciblée de leur activité. En effet, même si le développement d'inhibiteurs sélectifs d'isoformes de PDE au sein d'une même famille reste difficile compte tenu du fort degré d'homologie de leurs domaines catalytiques, la connaissance des partenaires protéiques des PDE et des mécanismes régulant leur localisation permettent d'envisager l'utilisation de petites molécules ou de peptides capables de déplacer ces enzymes de leur site d'action, avec potentiellement moins d'effets secondaires que l'inhibition globale d'une famille donnée. Par exemple, des peptides ciblant l'interaction de la PDE4 avec la protéine de choc thermique HSP20 augmentent la phosphorylation de cette dernière par la PKA et inhibent l'hypertrophie cardiaque (Sin *et al.*, 2011; Martin *et al.*, 2014). Une autre stratégie intéressante est le développement d'inhibiteurs allostériques des PDE, par exemple ciblant le domaine GAF de la PDE5 pour bloquer l'activation de l'enzyme sans inhiber son activité basale (Schultz *et al.*, 2011) ou encore l'exploitation de différences de séquence situées en dehors du site catalytique afin d'inhiber sélectivement une isoforme dans le cas des PDE4B et PDE4D (Burgin *et al.*, 2010; Fox *et al.*, 2014). Enfin, au lieu d'inhiber ces mécanismes d'activation allostériques, il pourrait s'avérer intéressant dans certaines situations de les augmenter : des petites molécules activatrices de PDE pourraient en effet s'avérer utiles pour corriger les effets délétères d'une activation excessive de catécholamines dans l'IC.

Remerciements. Ce travail a été soutenu par la Fondation de France (GV) et l'Agence Nationale de la Recherche 2010 BLAN 1139-01 (GV). PB et IB ont bénéficié d'une allocation doctorale de la région Ile-de-France (CORDDIM) et de la Fondation pour la Recherche Médicale (PB). ML a bénéficié d'une allocation du LabEx LERMIT. SK est soutenue par une allocation post-doctorale de la fondation Lefoulon-Delalande. LZ est soutenu par une allocation doctorale du gouvernement chinois.

Références

- Abi-Gerges, A., Richter, W., Lefebvre, F., Mateo, P., Varin, A., Heymes, C., Samuel, J.L., Lugnier, C., Conti, M., Fischmeister, R., and Vandecasteele, G. (2009). Decreased expression and activity of cAMP phosphodiesterases in cardiac hypertrophy and its impact on beta-adrenergic cAMP signals. *Circ Res*, 105, 784-792.
- Ahmad, F., Shen, W., Vandeput, F., Szabo-Fresnais, N., Krall, J., Degerman, E., Goetz, F., Klussmann, E., Movsesian, M., and Manganiello, V. (2015). Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase 2 (SERCA2) activity by phosphodiesterase 3A (PDE3A) in human myocardium : phosphorylation-dependent interaction of PDE3A1 with SERCA2. *J Biol Chem*, 290, 6763-6776.
- Amsallem, E., Kasparian, C., Haddour, G., Boissel, J.P., and Nony, P. (2005). Phosphodiesterase III inhibitors for heart failure. *Cochrane Database Syst Rev*, CD002230.
- Baillie, G.S., Sood, A., McPhee, I., Gall, I., Perry, S.J., Lefkowitz, R. J., and Houslay, M.D. (2003). Beta-arrestin-mediated PDE4 cAMP phosphodiesterase recruitment regulates beta-adrenoceptor switching from Gs to Gi. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100, 940-945.
- Beca, S., Ahmad, F., Shen, W., Liu, J., Makary, S., Polidovitch, N., Sun, J., Hockman, S., Chung, Y.W., Murphy, E., Manganiello, V.C., and Backx, P. H. (2013). PDE3A Regulates Basal Myocardial Contractility Through Interacting with SERCA2a-Signaling Complexes in Mouse Heart. *Circ Res*, 112, 289-297.
- Beca, S., Helli, P.B., Simpson, J.A., Zhao, D., Farman, G.P., Jones, P. P., Tian, X., Wilson, L.S., Ahmad, F., Chen, S.R., Movsesian, M.A., Manganiello, V., Maurice, D.H., Conti, M., and Backx, P.H. (2011). Phosphodiesterase 4D regulates baseline sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ release and cardiac contractility, independently of L-type Ca²⁺ current. *Circ Res*, 109, 1024-1030.
- Berthouze-Duquesnes, M., Lucas, A., Saulière, A., Sin, Y.Y., Laurent, A.C., Gales, C., Baillie, G., and Lezoualc'h, F. (2013). Specific interactions between Epac1, beta-arrestin2 and PDE4D5 regulate beta-adrenergic receptor subtype differential effects on cardiac hypertrophic signaling. *Cell Signal*, 25, 970-980.

- Bethke, T., Eschenhagen, T., Klimkiewicz, A., Kohl, C., von der Leyen, H., Mehl, H., Mende, U., Meyer, W., Neumann, J., and Rosswag, S. (1992). Phosphodiesterase inhibition by enoximone in preparations from nonfailing and failing human hearts. *Arzneimittelforschung*, 1992, 42, 437-45.
- Bobin, P., Varin, A., Lefebvre, F., Fischmeister, R., Vandecasteele, G., and Leroy, J. (2016). Calmodulin kinase II inhibition limits the pro-arrhythmic Ca²⁺ waves induced by cAMP-phosphodiesterase inhibitors. *Cardiovasc Res*, 110, 151-161.
- Burgin, A.B., Magnusson, O.T., Singh, J., Witte, P., Staker, B.L., Bjornsson, J.M., Thorsteinsdottir, M., Hrafnisdottir, S., Hagen, T., Kiselyov, A.S., Stewart, L.J., and Gurney, M.E. (2010). Design of phosphodiesterase 4D (PDE4D) allosteric modulators for enhancing cognition with improved safety. *Nat Biotechnol*, 28, 63-70.
- Castro, L.R., Verde, I., Cooper, D.M., and Fischmeister, R. (2006). Cyclic guanosine monophosphate compartmentation in rat cardiac myocytes. *Circulation*, 113, 2221-2228.
- Chung, Y.W., Lagranha, C., Chen, Y., Sun, J., Tong, G., Hockman, S.C., Ahmad, F., Esfahani, S.G., Bae, D.H., Polidovitch, N., Wu, J., Rhee, D. K., Lee, B.S., Gucek, M., Daniels, M.P., Brantner, C.A., Backx, P.H., Murphy, E., and Manganiello, V.C. (2015). Targeted disruption of PDE3B, but not PDE3A, protects murine heart from ischemia/reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112, E2253-2262.
- Conti, M. and Beavo, J. (2007). Biochemistry and Physiology of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterases : Essential Components in Cyclic Nucleotide Signaling. *Annu Rev Biochem*, 76, 481-511.
- Conti, M., Mika, D., and Richter, W. (2014). Perspectives on : Cyclic nucleotide microdomains and signaling specificity : Cyclic AMP compartments and signaling specificity : Role of cyclic nucleotide phosphodiesterases. *J Gen Physiol*, 143, 29-38.
- Das, A., Durrant, D., Salloum, F.N., Xi, L., and Kukreja, R.C. (2015). PDE5 inhibitors as therapeutics for heart disease, diabetes and cancer. *Pharmacol Ther*, 147, 12-21.
- De Arcangelis, V., Liu, R., Soto, D., and Xiang, Y. (2009). Differential association of phosphodiesterase 4D isoforms with beta2-adrenoceptor in cardiac myocytes. *J Biol Chem*, 284, 33824-33832.
- Degen, C.V., Bishu, K., Zakeri, R., Ogut, O., Redfield, M.M., and Brozovich, F.V. (2015). The emperor's new clothes : PDE5 and the heart. *PLoS One*, 10, e0118664.
- Ding, B., Abe, J., Wei, H., Huang, Q., Walsh, R.A., Molina, C.A., Zhao, A., Sadoshima, J., Blaxall, B.C., Berk, B.C., and Yan, C. (2005). Functional role of phosphodiesterase 3 in cardiomyocyte apoptosis : implication in heart failure. *Circulation*, 111, 2469-2476.
- Dodge-Kafka, K.L., Soughayer, J., Pare, G.C., Carlisle Michel, J.J., Langeberg, L.K., Kapiloff, M.S., and Scott, J.D. (2005). The protein kinase A anchoring protein mAKAP coordinates two integrated cAMP effector pathways. *Nature*, 437, 574-578.
- Fischmeister, R., Castro, L., Abi-Gerges, A., Rochais, F., and Vandecasteele, G. (2005). Species- and tissue-dependent effects of NO and cyclic GMP on cardiac ion channels. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 142, 136-143.
- Fox, D., 3rd, Burgin, A.B., and Gurney, M.E., (2014). Structural basis for the design of selective phosphodiesterase 4B inhibitors. *Cell Signal*, 26, 657-663.
- Francis, S.H., Blount, M.A., and Corbin, J.D. (2011). Mammalian cyclic nucleotide phosphodiesterases : molecular mechanisms and physiological functions. *Physiol Rev*, 91, 651-690.
- Fukasawa, M., Nishida, H., Sato, T., Miyazaki, M., and Nakaya, H. (2008). 6-[4-(1-Cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)butoxy]-3,4-dihydro-2-(1H)quinolinone (cilostazol), a phosphodiesterase type 3 inhibitor, reduces infarct size via activation of mitochondrial Ca²⁺-activated K⁺ channels in rabbit hearts. *J Pharmacol Exp Ther*, 326, 100-104.
- Ghigo, A., Perino, A., Mehel, H., Zahradnikova, A.J., Morello, F., Leroy, J., Nikolaev, V.O., Damilano, F., Cimino, J., De Luca, E., Richter, W., Westenbroek, R., Catterall, W.A., Zhang, J., Yan, C., Conti, M., Gomez, A. M., Vandecasteele, G., Hirsch, E., and Fischmeister, R. (2012). PI3Kgamma Protects against Catecholamine-Induced Ventricular Arrhythmia through PKA-mediated Regulation of Distinct Phosphodiesterases. *Circulation*, 126, 2073-2083.
- Giannetta, E., Isidori, A.M., Galea, N., Carbone, I., Mandosi, E., Vizza, C.D., Naro, F., Morano, S., Fedele, F., and Lenzi, A. (2012). Chronic Inhibition of cGMP phosphodiesterase 5A improves diabetic cardiomyopathy : a randomized, controlled clinical trial using magnetic resonance imaging with myocardial tagging. *Circulation*, 125, 2323-2333.
- Gotz, K.R., Sprenger, J.U., Perera, R.K., Steinbrecher, J.H., Lehnart, S.E., Kuhn, M., Gorelik, J., Balligand, J.L., and Nikolaev, V.O. (2014). Transgenic mice for real-time visualization of cGMP in intact adult cardiomyocytes. *Circ Res*, 114, 1235-45.
- Guazzi, M., Vicenzi, M., Arena, R., and Guazzi, M.D. (2011a). PDE5 inhibition with sildenafil improves left ventricular diastolic function, cardiac geometry, and clinical status in patients with stable systolic heart failure : results of a 1-year, prospective, randomized, placebo-controlled study. *Circ Heart Fail*, 4, 8-17.
- Guazzi, M., Vicenzi, M., Arena, R., and Guazzi, M.D. (2011b). Pulmonary hypertension in heart failure with preserved ejection fraction : a target of phosphodiesterase-5 inhibition in a 1-year study. *Circulation*, 124, 164-174.
- Hubert, F., Belacel-Ouari, M., Manoury, B., Zhai, K., Domergue-Dupont, V., Mateo, P., Joubert, F., Fischmeister, R., and Leblais, V. (2014). Alteration of vascular reactivity in heart failure : role of phosphodiesterases 3 and 4. *Br J Pharmacol*, 171, 5361-5375.
- Keravis, T. and Lugnier, C. (2012). Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) isozymes as targets of the intracellular signalling network : benefits of PDE inhibitors

- in various diseases and perspectives for future therapeutic developments. *Br J Pharmacol*, 165, 1288-1305.
- Krishnamurthy, S., Moorthy, B.S., Xin Xiang, L., Xin Shan, L., Bharatham, K., Tulsian, N.K., Mihalek, I., and Anand, G.S. (2014). Active Site Coupling in PDE:PKA Complexes Promotes Resetting of Mammalian cAMP Signaling. *Biophys J*, 107, 1426-1440.
- Krishnamurthy, S., Tulsian, N.K., Chandramohan, A., and Anand, G.S. (2015). Parallel Allosteric Activation and Termination Phases in cAMP Signaling. *Biophys J*, 109, 1251-1263.
- Kritzer, M.D., Li, J., Passariello, C.L., Gayanilo, M., Thakur, H., Dayan, J., Dodge-Kafka, K., and Kapiloff, M.S. (2014). The scaffold protein muscle A-kinase anchoring protein beta orchestrates cardiac myocyte hypertrophic signaling required for the development of heart failure. *Circ Heart Fail*, 7, 663-672.
- Layland, J., Solaro, R.J., and Shah, A.M. (2005). Regulation of cardiac contractile function by troponin I phosphorylation. *Cardiovasc Res*, 66, 12-21.
- Lee, D.I., Zhu, G., Sasaki, T., Cho, G.S., Hamdani, N., Holewinski, R., Jo, S.H., Danner, T., Zhang, M., Rainer, P.P., Bedja, D., Kirk, J.A., Ranek, M.J., Dostmann, W.R., Kwon, C., Margulies, K.B., Van Eyk, J.E., Paulus, W.J., Takimoto, E., and Kass, D.A. (2015). Phosphodiesterase 9A controls nitric-oxide-independent cGMP and hypertrophic heart disease. *Nature*, 519, 472-476.
- Lehnart, S.E., Wehrens, X.H., Reiken, S., Warriar, S., Belevych, A.E., Harvey, R.D., Richter, W., Jin, S.L., Conti, M., and Marks, A.R. (2005). Phosphodiesterase 4D deficiency in the ryanodine-receptor complex promotes heart failure and arrhythmias. *Cell*, 123, 25-35.
- Leroy, J., Richter, W., Mika, D., Castro, L.R., Abi-Gerges, A., Xie, M., Scheitrum, C., Lefebvre, F., Schittl, J., Mateo, P., Westenbroek, R., Catterall, W.A., Charpentier, F., Conti, M., Fischmeister, R., and Vandecasteele, G. (2011). Phosphodiesterase 4B in the cardiac L-type Ca²⁺ channel complex regulates Ca²⁺ current and protects against ventricular arrhythmias in mice. *J Clin Invest*, 121, 2651-2661.
- Lewis, G.D., Lachmann, J., Camuso, J., Lepore, J.J., Shin, J., Martinovic, M.E., Systrom, D.M., Bloch, K.D., and Semigran, M.J. (2007). Sildenafil improves exercise hemodynamics and oxygen uptake in patients with systolic heart failure. *Circulation*, 115, 59-66.
- Lezoualc'h, F., Fazal, L., Laudette, M., and Conte, C. (2016). Cyclic AMP Sensor EPAC Proteins and Their Role in Cardiovascular Function and Disease. *Circ Res*, 118, 881-897.
- Lukowski, R., Krieg, T., Rybalkin, S.D., Beavo, J., and Hofmann, F. (2014). Turning on cGMP-dependent pathways to treat cardiac dysfunctions: boom, bust, and beyond. *Trends Pharmacol Sci*, 35, 404-413.
- Martin, T.P., Hortigon-Vinagre, M.P., Findlay, J.E., Elliott, C., Currie, S., and Baillie, G.S. (2014). Targeted disruption of the heat shock protein 20-phosphodiesterase 4D (PDE4D) interaction protects against pathological cardiac remodeling in a mouse model of hypertrophy. *FEBS Open Bio*, 4, 923-927.
- Martins, T.J., Mumby, M.C., and Beavo, J.A. (1982). Purification and characterization of a cyclic GMP-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase from bovine tissues. *J Biol Chem*, 257, 1973-1979.
- Maurice, D.H., Ke, H., Ahmad, F., Wang, Y., Chung, J., and Manganiello, V. C. (2014). Advances in targeting cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Nat Rev Drug Discov*, 13, 290-314.
- Mehel, H., Emons, J., Vettel, C., Wittkopper, K., Seppelt, D., Dewenter, M., Lutz, S., Sossalla, S., Maier, L.S., Lechêne, P., Leroy, J., Lefebvre, F., Varin, A., Eschenhagen, T., Nattel, S., Dobrev, D., Zimmermann, W.H., Nikolaev, V.O., Vandecasteele, G., Fischmeister, R., and El-Armouche, A. (2013). Phosphodiesterase-2 Is Up-Regulated in Human Failing Hearts and Blunts beta-Adrenergic Responses in Cardiomyocytes. *J Am Coll Cardiol*, 62, 1596-1606.
- Mery, P.F., Lohmann, S.M., Walter, U., and Fischmeister, R. (1991). Ca²⁺ current is regulated by cyclic GMP-dependent protein kinase in mammalian cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88, 1197-1201.
- Metrich, M., Lucas, A., Gastineau, M., Samuel, J.L., Heymes, C., Morel, E., and Lezoualc'h F. (2008). Epac mediates beta-adrenergic receptor-induced cardiomyocyte hypertrophy. *Circ Res*, 102, 959-965.
- Mika, D. and Conti, M. (2016). PDE4D phosphorylation: A coincidence detector integrating multiple signaling pathways. *Cell Signal*, 28, 719-724.
- Mika, D.P., Richter, W.P., Westenbroek, R., E.P., Catterall, W.A.P., and Conti, M.M. (2014). PDE4B mediates local feedback regulation of beta1-adrenergic cAMP signaling in a sarcolemmal compartment of cardiac myocytes. *J Cell Sci*, 127, 1033-42.
- Mika, D., Richter, W., and Conti, M. (2015). A CaMKII/PDE4D negative feedback regulates cAMP signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112, 2023-2028.
- Miller, C.L., Oikawa, M., Cai, Y., Wojtovich, A.P., Nagel, D.J., Xu, X., Xu, H., Florio, V., Rybalkin, S.D., Beavo, J.A., Chen, Y.F., Li, J.D., Blaxall, B.C., Abe, J., and Yan, C. (2009). Role of Ca²⁺/calmodulin-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase 1 in mediating cardiomyocyte hypertrophy. *Circ Res*, 105, 956-964.
- Mokni, W., Keravis, T., Etienne-Selloum, N., Walter, A., Kane, M.O., Schini-Kerth, V.B., and Lugnier, C. (2010). Concerted regulation of cGMP and cAMP phosphodiesterases in early cardiac hypertrophy induced by angiotensin II. *PLoS One*, 5, e14227.
- Molenaar, P., Christ, T., Hussain, R.I., Engel, A., Berk, E., Gillette, K. T., Chen, L., Galindo-Tovar, A., Krobert, K.A., Ravens, U., Levy, F.O., and Kaumann, A.J. (2013). PDE3, but not PDE4, reduces beta(1)- and beta(2)-adrenoceptor-mediated inotropic and lusitropic effects in failing ventricle from metoprolol-treated patients. *Br J Pharmacol*, 169, 528-538.
- Molina, C.E., Leroy, J., Richter, W., Xie, M., Scheitrum, C., Lee, I.O., Maack, C., Rucker-Martin, C., Donzeau-Gouge, P., Verde, I., Llach, A., Hove-Madsen, L.,

- Conti, M., Vandecasteele, G., and Fischmeister, R. (2012). Cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterase type 4 protects against atrial arrhythmias. *J Am Coll Cardiol*, 59, 2182-2190.
- Mongillo, M., Tocchetti, C.G., Terrin, A., Lissandron, V., Cheung, Y.F., Dostmann, W.R., Pozzan, T., Kass, D.A., Paolocci, N., Houslay, M.D., and Zaccolo, M. (2005). Compartmentalized Phosphodiesterase-2 Activity Blunts β -Adrenergic Cardiac Inotropy via an NO/cGMP-Dependent Pathway. *Circ Res*, 98, 226-234.
- Movsesian, M. (2015). New pharmacologic interventions to increase cardiac contractility : challenges and opportunities. *Curr Opin Cardiol*, 30, 285-291.
- Movsesian, M., Wever-Pinzon, O., and Vandeput, F. (2011). PDE3 inhibition in dilated cardiomyopathy. *Curr Opin Pharmacol*, 11, 707-713.
- Oikawa, M., Wu, M., Lim, S., Knight, W.E., Miller, C.L., Cai, Y., Lu, Y., Blaxall, B.C., Takeishi, Y., Abe, J.I., and Yan, C. (2013). Cyclic nucleotide phosphodiesterase 3A1 protects the heart against ischemia-reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol*, 64, 11-19.
- Osadchii, O.E. (2007). Myocardial phosphodiesterases and regulation of cardiac contractility in health and cardiac disease. *Cardiovasc Drugs Ther*, 21, 171-194.
- Pokreisz, P., Vandenwijngaert, S., Bito, V., Van den Bergh, A., Lenaerts, I., Busch, C., Marsboom, G., Gheysens, O., Vermeersch, P., Biesmans, L., Liu, X., Gillijns, H., Pellens, M., Van Lommel, A., Buys, E., Schoonjans, L., Vanhaecke, J., Verbeken, E., Sipido, K., Herijgers, P., Bloch, K.D., and Janssens, S.P. (2009). Ventricular Phosphodiesterase-5 Expression Is Increased in Patients With Advanced Heart Failure and Contributes to Adverse Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction in Mice. *Circulation*, 119, 408-416.
- Redfield, M.M., Chen, H.H., Borlaug, B.A., Semigran, M.J., Lee, K.L., Lewis, G., LeWinter, M.M., Rouleau, J.L., Bull, D.A., Mann, D.L., Deswal, A., Stevenson, L.W., Givertz, M.M., Ofili, E.O., O'Connor, C.M., Felker, G.M., Goldsmith, S.R., Bart, B.A., McNulty, S.E., Ibarra, J.C., Lin, G., Oh, J.K., Patel, M.R., Kim, R.J., Tracy, R.P., Velazquez, E. J., Anstrom, K.J., Hernandez, A.F., Mascette, A.M., Braunwald, E., and Trial, R. (2013). Effect of phosphodiesterase-5 inhibition on exercise capacity and clinical status in heart failure with preserved ejection fraction : a randomized clinical trial. *JAMA*, 309, 1268-1277.
- Richter, W., Day, P., Agrawal, R., Bruss, M.D., Granier, S., Wang, Y.L., Rasmussen, S.G., Horner, K., Wang, P., Lei, T., Patterson, A.J., Kobilka, B., and Conti, M. (2008). Signaling from β 1- and β 2-adrenergic receptors is defined by differential interactions with PDE4. *EMBO J*, 27, 384-393.
- Richter, W., Mika, D., Blanchard, E., Day, P., and Conti, M. (2013). β 1-adrenergic receptor antagonists signal via PDE4 translocation. *EMBO Rep*, 14, 276-283.
- Rochais, F., Vandecasteele, G., Lefebvre, F., Lugnier, C., Lum, H., Mazet, J.L., Cooper, D.M., and Fischmeister, R. (2004). Negative feedback exerted by cAMP-dependent protein kinase and cAMP phosphodiesterase on subsarcolemmal cAMP signals in intact cardiac myocytes : an in vivo study using adenovirus-mediated expression of CNG channels. *J Biol Chem*, 279, 52095-52105.
- Ruiz-Hurtado, G., Morel, E., Dominguez-Rodriguez, A., Llach, A., Lezoualc'h, F., Benitah, J.P., and Gomez, A.M. (2012). Epac in cardiac calcium signaling. *J Mol Cell Cardiol*, 58,162-171.
- Rybalkin, S.D., Rybalkina, I.G., Shimizu-Albergine, M., Tang, X.B., and Beavo, J.A. (2003). PDE5 is converted to an activated state upon cGMP binding to the GAF A domain. *EMBO J*, 22, 469-478.
- Sanada, S., Kitakaze, M., Papst, P.J., Asanuma, H., Node, K., Takashima, S., Asakura, M., Ogita, H., Liao, Y., Sakata, Y., Ogai, A., Fukushima, T., Yamada, J., Shinozaki, Y., Kuzuya, T., Mori, H., Terada, N., and Hori, M. (2001). Cardioprotective effect afforded by transient exposure to phosphodiesterase III inhibitors : the role of protein kinase A and p38 mitogen-activated protein kinase. *Circulation*, 104, 705-710.
- Schindler, R.F. and Brand, T. (2016). The Popeye domain containing protein family - A novel class of cAMP effectors with important functions in multiple tissues. *Prog Biophys Mol Biol*, 120, 28-36.
- Schultz, J.E., Dunkern, T., Gawlitta-Gorka, E., and Sorg, G. (2011). The GAF-tandem domain of phosphodiesterase 5 as a potential drug target. *Handb Exp Pharmacol*, 151-166.
- Sette, C. and Conti, M. (1996). 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*, 271, 16526-16534.
- Shakur, Y., Fong, M., Hensley, J., Cone, J., Movsesian, M.A., Kambayashi, J., Yoshitake, M., and Liu, Y. (2002). Comparison of the effects of cilostazol and milrinone on cAMP-PDE activity, intracellular cAMP and calcium in the heart. *Cardiovasc Drugs Ther*, 16, 417-427.
- Sin, Y.Y., Edwards, H.V., Li, X., Day, J.P., Christian, F., Dunlop, A. J., Adams, D.R., Zaccolo, M., Houslay, M.D., and Baillie, G.S. (2011). Disruption of the cyclic AMP phosphodiesterase-4 (PDE4)-HSP20 complex attenuates the β -agonist induced hypertrophic response in cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol*, 50, 872-883.
- Sprenger, J.U., Perera, R.K., Steinbrecher, J.H., Lehnart, S.E., Maier, L.S., Hasenfuss, G., and Nikolaev, V.O. (2015). In vivo model with targeted cAMP biosensor reveals changes in receptor-microdomain communication in cardiac disease. *Nat Commun*, 6, 6965.
- Steinberg, S.F. and Brunton, L.L. (2001). Compartmentation of G protein-coupled signaling pathways in cardiac myocytes. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 41, 751-773.
- Sun, B., Li, H., Shakur, Y., Hensley, J., Hockman, S., Kambayashi, J., Manganiello, V.C., and Liu, Y. (2007).

- Role of phosphodiesterase type 3A and 3B in regulating platelet and cardiac function using subtype-selective knockout mice. *Cell Signal*, 19, 1765-1771.
- Takimoto, E., Belardi, D., Tocchetti, C.G., Vahebi, S., Cormaci, G., Ketner, E.A., Moens, A.L., Champion, H.C., and Kass, D.A. (2007). Compartmentalization of cardiac beta-adrenergic inotropy modulation by phosphodiesterase type 5. *Circulation*, 115, 2159-2167.
- Takimoto, E., Champion, H.C., Li, M., Belardi, D., Ren, S., Rodriguez, E. R., Bedja, D., Gabrielson, K.L., Wang, Y., and Kass, D.A. (2005). Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy. *Nat Med*, 11, 214-222.
- Terrenoire, C., Houslay, M.D., Baillie, G.S., and Kass, R.S. (2009). The cardiac IKs potassium channel macromolecular complex includes the phosphodiesterase PDE4D3. *J Biol Chem*, 284, 9140-9146.
- Tosaka, S., Makita, T., Tosaka, R., Maekawa, T., Cho, S., Hara, T., Ureshino, H., and Sumikawa, K. (2007). Cardioprotection induced by olprinone, a phosphodiesterase III inhibitor, involves phosphatidylinositol-3-OH kinase-Akt and a mitochondrial permeability transition pore during early reperfusion. *J Anesth*, 21, 176-180.
- Tsai, E.J., and Kass, D.A. (2009). Cyclic GMP signaling in cardiovascular pathophysiology and therapeutics. *Pharmacol Ther*, 122, 216-238.
- Vandeput, F., Wolda, S.L., Krall, J., Hambleton, R., Uher, L., McCaw, K. N., Radwanski, P.B., Florio, V., and Movsesian, M.A. (2007). Cyclic nucleotide phosphodiesterase PDE1C1 in human cardiac myocytes. *J Biol Chem*, 282, 32749-32757.
- Verde, I., Pahlke, G., Salanova, M., Zhang, G., Wang, S., Coletti, D., Onuffer, J., Jin, S.L., and Conti, M. (2001). Myomegalin is a novel protein of the Golgi/centrosome that interacts with a cyclic nucleotide phosphodiesterase. *J Biol Chem*, 276, 11189-11198.
- Wechsler, J., Choi, Y.H., Krall, J., Ahmad, F., Manganiello, V.C., and Movsesian, M.A. (2002). Isoforms of cyclic nucleotide phosphodiesterase PDE3A in cardiac myocytes. *J Biol Chem*, 277, 38072-38078.
- Yan, C., Miller, C.L., and Abe, J. (2007). Regulation of phosphodiesterase 3 and inducible cAMP early repressor in the heart. *Circ Res*, 100, 489-501.
- Yang, L., Liu, G., Zakharov, S.I., Bellinger, A.M., Mongillo, M., and Marx, S.O. (2007). Protein kinase G phosphorylates Cav1.2 alpha1c and beta2 subunits. *Circ Res*, 101, 465-474.
- Zhai, K., Hubert, F., Nicolas, V., Ji, G., Fischmeister, R., and Leblais, V. (2012). Beta-Adrenergic cAMP signals are predominantly regulated by phosphodiesterase type 4 in cultured adult rat aortic smooth muscle cells. *PLoS One*, 7, e47826.
- Zoccarato, A., Surdo, N.C., Aronsen, J.M., Fields, L.A., Mancuso, L., Dodoni, G., Stangherlin, A., Livie, C., Jiang, H., Sin, Y.Y., Gesellchen, F., Terrin, A., Baillie, G.S., Nicklin, S.A., Graham, D., Szabo-Fresnais, N., Krall, J., Vandeput, F., Movsesian, M., Furlan, L., Corsetti, V., Hamilton, G.M., Lefkimmatis, K., Sjaastad, I., and Zaccolo, M. (2015). Cardiac Hypertrophy Is Inhibited by a Local Pool of cAMP Regulated by Phosphodiesterase 2. *Circ Res*, 117, 707-719.