

Received: 2015.06.11
Accepted: 2016.03.21
Published: 2016.12.27

Cykliczny guanozynomonofosforan w regulacji czynności komórki

Cyclic guanosine monophosphate in the regulation of the cell function

Małgorzata Zbrojkiewicz¹, Leszek Śliwiński²

¹Katedra i Zakład Podstawowych Nauk Biomedycznych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

²Katedra i Zakład Farmakologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Streszczenie

Wewnątrzkomórkowe stężenie cGMP zależy od aktywności cyklazy guanylanowej, odpowiedzialnej za jego syntezę oraz aktywności enzymów rozkładających cyklicznie nukleotydy - fosfodiesteraz (PDE). Cyklaza guanylanowa jest enzymem mającym dwie postaci, jedna z nich jest sprzężona z błoną komórkową (mGC), a druga to cytosolowa cyklaza guanylanowa (SGC). Fizjologicznymi aktywatorami błonowej cyklazy guanylanowej są peptydy natriuretyczne (NP), a cytosolowej tlenek azotu (NO) i tlenek węgla (CO).

Związane z cGMP główne wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnałowe wynikają z jego bezpośredniego wpływu na aktywność kinaz białkowych G, fosfodiesteraz oraz zależnych od cyklicznych nukleotydów kanałów kationowych. W ostatnich latach wykazano, że cGMP wpływa także na inne drogi sygnałowe, istotnie modyfikując w komórce aktywność przekaźnictwa z udziałem białek Wnt oraz hormonów płciowych. Zwiększone zainteresowanie badaniami nad rolą cGMP zaowocowało także odkryciem jego roli w regulacji procesów widzenia, neurotransmisji, homeostazy wapnia, agregacji płytek krwi, pracy serca, przebudowy kości, metabolizmu tłuszczów i aktywności kanałów kationowych. Lepsze zrozumienie mechanizmów działania cGMP w regulacji czynności komórki może stworzyć nowe możliwości wykorzystania leków wpływających na poziom cGMP w farmakoterapii.

Słowa kluczowe:

tlenek azotu • syntaza tlenu azotu • cyklaza guanylanowa • cykliczny guanozynomonofosforan (cGMP) • cykliczny adenozyynomonofosforan (cAMP) • fosfodiesterazy (PDE) • peptydy natriuretyczne (NP) • kinazy białkowe G (PKG)

Summary

Intracellular concentration of cGMP depends on the activity of guanylate cyclase, responsible for its synthesis, on the activity of cyclic nucleotide degrading enzymes - phosphodiesterases (PDEs). There are two forms of guanylate cyclase: the membrane-bound cyclase and the soluble form. The physiological activators of the membrane guanylate cyclase are natriuretic peptides (NPs), and of the cytosolic guanylate cyclase - nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO). Intracellular cGMP signaling pathways arise from its direct effect on the activity of G protein kinases, phosphodiesterases and cyclic nucleotide dependent cation channels. It has been shown in recent years that cGMP can also affect other signal pathways in cell signaling activity involving Wnt proteins and sex hormones. The increased interest in the research on the role of cGMP, resulted also in the discovery of its role in the regulation of phototransduction

Key words:	in the eye, neurotransmission, calcium homeostasis, platelet aggregation, heartbeat, bone remodeling, lipid metabolism and the activity of the cation channels. Better understanding of the mechanisms of action of cGMP in the regulation of cell function can create new opportunities for the cGMP affecting drugs use in the pharmacotherapy. nitric oxide • nitric oxide synthase • guanylyl cyclase • cyclic guanosine monophosphate (cGMP) • cyclic adenosine monophosphate (ATP) • phosphodiesterase (PDE) • natriuretic peptides (NP) • cGMP-dependent protein kinase (PKG)
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1227350
Word count:	3902
Tables:	1
Figures:	1
References:	64

Adres autorów: mgr farm. Małgorzata Zbrojkiewicz, Katedra i Zakład Podstawowych Nauk Biomedycznych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny, ul. Kasztanowa 3, 41-200 Sosnowiec; e-mail: mzbrojkiwicz@sum.edu.pl

dr hab. n. med. Leszek Śliwiński, Katedra i Zakład Farmakologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec; e-mail: lsliw@o2.pl, farmak@sum.edu.pl

Wykaz skrótów: **ANP** – przedsionkowy peptyd natriuretyczny, **BNP** – mózgowy peptyd natriuretyczny, **cGMP** – cykliczny guanozynomonofosforan, **eNOS** – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu, **GC** – cyklaza guanylanowa, **iNOS** – indukowana syntaza tlenu azotu, **kinaza MAPK** – kinaza aktywowana mitogenami, **mGC** – membranowa cyklaza guanylanowa, **nNOS** – neuronalna syntaza tlenu azotu, **NP** – peptydy natriuretyczne, **Ostn** – osteocrin, **OUN** – ośrodkowy układ nerowy, **PDE** – fosfodiesterazy, **PKA** – kinazy białkowe A, **PKC** – kinazy białkowe C, **PKG** – kinazy białkowe G, **sGC** – cytosolowa cyklaza guanylanowa.

WSTĘP

Cykliczne nukleotydy należą do podstawowych systemów przekaźników II rzędu odpowiadających za wewnątrzkomórkowe działanie hormonów. Do niedawna rola cGMP w regulacji działania komórek wiązana była wyłącznie z tlenkiem azotu (NO). Dzięki odkryciu, które pozwoliło dowieść, że śródbłonkowy czynnik rozkurczowy (EDRF) jest tożsamy z tlenkiem azotu, który reguluje napięcie mięśni gładkich naczyń krwionośnych, przewodu pokarmowego oraz układu moczowego za pośrednictwem cGMP, poznano mechanizm działania nitratów, a nieco później peptydów natriuretycznych (NP). Było to ważnym krokiem pozwalającym na pełniejsze zrozumienie regulacji krążenia krwi [12,43,45]. Dowiedziono, że stężenie cGMP zależy w równym stopniu od aktywności cyklaz guanylanowych (GC) oraz od dwusubstratowych enzymów odpowiedzialnych za degradację cyklicznych nukleotydów – fosfodiesteraz. Fizjologiczne skutki wzrostu stężenia cGMP w komórce zachodzą przez trzy główne szlaki docelowe: kinazy białkowe G (PKG), cGMP-zależne kanały kationowe oraz fosfodiesterazy [4,14,46,49]. Wiązanie cGMP aktywuje kinazy białkowe, które fosforylują seryny i/lub treoniny wielu białek. Tak zmodyfikowane

przez PKG białka regulują homeostazę wapnia, adhezję, kurczliwość mięśniówki gładkiej, przewodność nerwową oraz częstotliwość akcji serca. W wielu chorobach naczyniowych stwierdza się brak równowagi między poszczególnymi elementami szlaków syntezy cGMP. Niski poziom cGMP spowodowany dysfunkcją śródbłonka lub niedoborem estrogenów jest powszechnym problemem medycznym występującym u pacjentów z nadciśnieniem, hipercholesterolemią, cukrzycą, otyłością oraz u pacjentek w okresie menopauzy [13,17,42,53,54].

Bodźcem do intensyfikacji badań nad transdukcją sygnałów z udziałem cGMP są obserwacje kliniczne, które wykazały różne skutki działania endogennego tlenu azotu i NO pochodzącego z leków (np. nitratów), mimo ich identycznego wewnątrzkomórkowego mechanizmu działania. Ponadto, zaobserwowano występowanie tolerancji na egzogenne donory NO, co jest poważnym problemem terapeutycznym.

CYKLAZA GUANYLANOWA – SYNTEZA cGMP W KOMÓRCIE

Cyklaza guanylanowa jest enzymem należącym do grupy liaz. W komórce odpowiada za syntezę cGMP z GTP. Ist-

Tabela 1. Typy cykazy guanylanowej

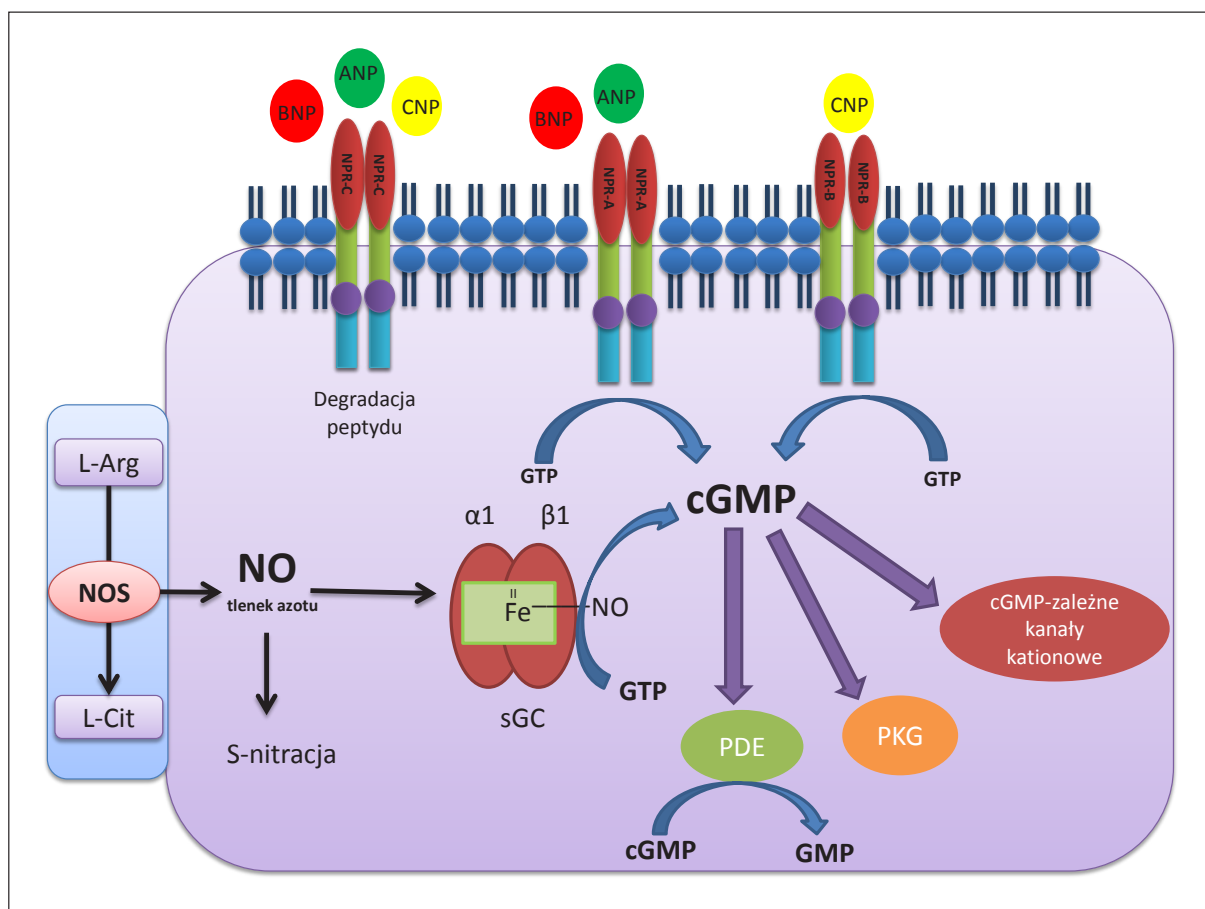
Typ cykazy guanylanowej	Ligand	Rożmieszczenie tkankowe
membranowa (mGC)		
GC- A (NPR-A)	ANP i BNP	śródbłonek oraz mięśnie gładkie naczyń krwionośnych, centralny i obwodowy układ nerwowy, nadnercza, nerki, jelito kręte, śledziona, serce, tkanka tłuszczowa, łożysko, jajniki, grasicca, ślimak
GC- B (NPR-B)	CNP	fibroblasty, nadnercza, przysadka mózgowa, mózdzek, aorta, komory serca, płuca, jelita, jądra, grasicca, łożysko, macica, jajowody, jajniki
GC-C	ANP, BNP, CNP, guanilina, uroguanilina,	nabłonek jelitowy, wątroba
GC-D		nabłonek węchowy
GC-E		siatkówka, szyszynka
GC-F		siatkówka oka
GC-G		mięśnie szkieletowe, płuca, jelita
cytosolowa (sGC)		
sGC	NO, CO	płuca, mózdzek, mózg, serce, nerki, wątroba, mięśnie szkieletowe, siatkówka, mózg, nerki, łożysko

nieją dwa typy tego enzymu, pierwszy zakotwiczony w błonie komórkowej, to cyklaza błonowa (mGC). Natomiast drugi to postać rozpuszczalna, zwana także cytosolową (sGC). Enzymy te różnią się między sobą nie tylko umiejscowieniem w komórce, ale również budową. Obecnie scharakteryzowano i opisano 7 typów błonowych cykazy guanylowych (GC-A, GC-B, GC-C, GC-D, GC-E, GC-F, GC-G). Dotychczas poznano jedynie ligandy dla białek receptorowych, trzech błonowych cykazy guanylowych (GC-A, GC-B, GC-C), ligandy dla pozostałych cykazy guanylowych nie zostały dotychczas zidentyfikowane, a ich receptory określano mianem sierocych (tabela 1). Znane błonowe cykazy guanylowe to białka sprzężone z receptorami dla peptydów natriuretycznych, takich jak ANP, BNP czy CNP, zawierające domenę transbłonową oraz wewnątrzkomórkową domenę, która ma aktywność katalityczną.

Natomiast sGC jest receptorem tlenu azotu. Zawiera w swojej budowie cząsteczkę hemu, która jest odpowiedzialna za wiązanie się z NO, co wywołuje silny wzrost aktywności enzymu [5,7,12,26,27,30,34]. Oprócz tlenu azotu, również tlenek węgla (CO) może się wiązać z sGC, powodując jej aktywację. Tlenek węgla jest jednak słabszym aktywatorem rozpuszczalnej cykazy guanylanowej. Związanie się enzymu z CO powoduje powstanie związku kompleksowego Fe(II)-CO, o liczbie koordyna-

cyjnej 6, wywołując jedynie 2-4-krotny wzrost szybkości syntezy cGMP, a więc znacznie niższy w porównaniu z 100-400-krotnym zwiększeniem szybkości syntezy cGMP występującej po jego aktywacji przez NO [12,34].

Cytosolowa cyklaza guanylanowa jest heterodimerskim białkiem składającym się z podjednostek alfa i beta, występujących w izoformach: $\alpha 1/\beta 1$ i $\alpha 2/\beta 2$ [5,42,46]. Izoforma $\alpha 1/\beta 1$ jest enzymem obecnym w większości tkanek, natomiast izoforma $\alpha 2/\beta 2$ wykazuje swoistą dystrybucję tkankową, a jej zwiększoną ekspresję wykazano w mózgu, płucach, sercu, okrężnicy, macicy, łożysku i tkance tłuszczowej. Podjednostki sGC są u organizmów eukariotycznych częścią dużej rodziny wysoce konserwatywnych białek. Największa zmienność gatunkowa występuje w sekwencji N-końca podjednostek alfa, a największa konserwatywność w obrębie C-końca obu podjednostek [5,46]. Prostetyczna grupa hemowa jest związana z podjednostką β wiązaniem niekowalencyjnym, a jej aktywność zależy od potencjału redox. Cząsteczka tlenu azotu może się związać tylko wtedy, gdy grupa hemowa cykazy guanylanowej występuje w postaci zredukowanej. Reaktywne formy tlenu towarzyszące stanom patologicznym, takim jak choroby sercowo-naczyniowe, stany zapalne czy nadwaga, przyczyniają się do utlenienia centralnego atomu żelaza w grupie hemo-



Ryc. 1. Podstawowe szlaki sygnałowe cGMP-zależne

wej enzymu. Powoduje to dysocjację hemu, a utleniona, pozbawiona hemu cząsteczka sGC, zostaje pozbawiona możliwości wiązania NO i ulega teasomalnej degradacji [46].

AKTYWACJA CYKLAZY GUANYLANOWEJ PRZEZ TLENEK AZOTU

Tlenek azotu wytwarzany przez komórki śródbłonna został nazwany przez Roberta Furchgotta czynnikiem rozkurczowym pochodzenia śródbłonkowego (EDRF - endothelium-derived relaxing factor). Czynnikiem ten był dokładnie badany, co z czasem pozwoliło na stwierdzenie, że EDRF to właśnie tlenek azotu [14,17,27]. Tlenek azotu jest gazową cząsteczką sygnałową syntetyzowaną przez syntazę NO (NOS), która przekształca L-argininę w tlenek azotu i L-citrulinę (ryc. 1). W skład rodziny syntaz tlenku azotu wchodzi trzy typy enzymów. Indukowana syntaza NO (iNOS), której największa ekspresja następuje w odpowiedzi na bodźce zapalne (lipopolisacharydy i prozapalne cytokiny), odpowiada za powstanie tlenku azotu jako przekaźnika w reakcjach obronnych przed patogenami [17,46]. Neuronalna syntaza tlenku azotu (nNOS) jest enzymem konstytutywnym, ulegającym ekspresji w neuronach, sercu i mięśniach szkieletowych. Wytwarzany przez nią tlenek azotu, pełni rolę neuroprzekaźnika, zwłaszcza w nerwach nieadrener-

gicznych i niecholinergicznego układu wegetatywnego. Natomiast trzecia izoforma, to syntaza endotelialna (eNOS), występująca głównie w komórkach śródbłonna, a jej aktywność koreluje ze wzrostem stężenia jonów wapnia w komórce i/lub z aktywnością serynowo-treoninowych kinaz białkowych. Tlenek azotu wytworzony przez syntazę działa jako parakryny sygnał w licznych tkankach, zwłaszcza w układzie naczyniowym. Uważa się, że zarówno nNOS jak i eNOS są enzymami konstytutywnymi, a ich ekspresja nie wymaga obecności aktywatorów stymulujących ich biosyntezę. Teza ta jest dyskusyjna, a temat ciągle badany. Kontrowersje wynikają z małej aktywności nNOS i eNOS, która *in vivo* pobudzana jest przez napływ do komórek jonów wapnia i ich interakcję z kalmoduliną. Ponadto, aktywność obu enzymów jest regulowana za pośrednictwem fosforylacji, nitrozytacji, a także dostępnością kofaktorów i substratów [15,17,39,46].

Synteza i uwalnianie tlenku azotu w komórkach śródbłonna wzrasta m.in. w odpowiedzi na obecność acetylocholin, natomiast w zakończeniach komórek nerwowych w odpowiedzi na bodźce wywołujące depolaryzację błony komórkowej [4,25]. Wewnątrzkomórkowe działanie tlenku azotu wynika głównie z aktywacji sGC i następnie cGMP. Jednak tlenek azotu wykazuje również działanie bezpo-

średnie polegające na zmianach w funkcjonowaniu licznych białek w wyniku tworzenia wiązań kowalencyjnych z cysteinami lub przez tworzenie kompleksów z ich grupami hemowymi [17].

AKTYWACJA CYKLAZY GUANYLANOWEJ PRZEZ PEPTYDY NATRIURETYCZNE

Peptydy natriuretyczne (NP) to ciągle powiększająca się rodzina oligopeptydów o charakterze hormonalnym, uczestnicząca głównie w regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej i utrzymaniu homeostazy układu sercowo-naczyniowego. Do grupy peptydów natriuretycznych zaliczyć można: przedsiolkowy peptyd natriuretyczny (ANP), mózgowy peptyd natriuretyczny (BNP), peptyd natriuretyczny typu C (CNP), typu D (DNP) oraz osteocrin/musclin [38,49,58]. Mechanizm działania tej grupy cząsteczek sygnałowych jest związany z błonowymi receptorami peptydów natriuretycznych (NPR-A i NPR-B), których pobudzenie aktywuje domenę katalityczną błonowej izoformy cyklazy guanylanowej, powodując zwiększenie stężenia cGMP w komórce (ryc. 1). Peptydy natriuretyczne biorą udział w wielu ważnych reakcjach fizjologicznych. Zwiększają filtrację kłębuszkową, zmniejszają resorpcję zwrotną sodu oraz hamują wydzielanie reniny i aldosteronu. Ponadto, hamują aktywność współczulnego układu nerwowego, rozszerzają naczynia krwionośne, uczestniczą w neurotransmisji, wpływają na metabolizm tłuszczów (nasilają proces lipolizy w tkance tłuszczowej) oraz regulują wzrost kości długich i trzonów kręgow [13,23,38,49,53,54].

Działanie BNP jako neuroprzekaznika jest słabo poznane, wiadomo, że jest syntetyzowany w OUN, ale wydzielany jest również przez kardiomiocyty w odpowiedzi na wzrost obciążenia wstępnego i następczego serca. Naczyniowe działanie BNP jest prawie 10 razy słabsze niż ANP, jednak wzrost stężenia BNP stymuluje syntezę i wydzielanie ANP. Zwiększenie stężeń obu peptydów we krwi świadczy o aktywacji mechanizmu kompensacyjnego hamującego rozwój objawów niewydolności serca [44].

Peptydy natriuretyczne oddziałują za pomocą receptorów umiejscowionych w błonie komórkowej. Wyróżnia się trzy podtypy receptorów związanych z tymi peptydami: NPR-A, NPR-B i NPR-C [36,44,50]. Receptory NPR-A i NPR-B są białkami o aktywności błonowej cyklazami guanylanowej. Domena wiążąca peptyd natriuretyczny znajduje się na zewnątrz komórki, a wewnątrzkomorowa część białka zawiera dystalnie centrum aktywne cyklazy oraz proksymalną domenę wykazującą aktywność kinazy białkowej [36,50]. Kinaza ta spełnia rolę czynnika sprzęgającego zewnątrzkomórkową domenę receptorową z wewnątrzkomórkową domeną katalityczną.

Receptory NPR-A, wykazują duże powinowactwo do ANP i BNP, ale nie w stosunku do CNP [27,34,36]. Receptorami peptydu natriuretycznego typu C są receptory NPR-B. Natomiast receptor NPR-C jest receptorem odpowie-

dzialnym za degradację peptydów natriuretycznych (ryc. 1). Budową przypomina receptory NPR-A i NPR-B, z wyjątkiem wewnątrzkomórkowej domeny, która nie wykazuje aktywności cyklazy guanylanowej. Kompleks powstający po przyłączeniu do receptora typu C peptydu natriuretycznego, przemieszcza się do lizosomów, gdzie peptyd ulega degradacji, a uwolniony receptor powraca na powierzchnię błony komórki. Peptydy natriuretyczne są inaktywowane nie tylko za pomocą receptora NPR-C, ale również przez obojętną endopeptydazę, która występuje w układzie naczyniowym, w nerkach i płucach [34,36].

Typ C peptydu natriuretycznego jest wydzielany przede wszystkim przez komórki śródbłonna naczyń krwionośnych i podobnie jak ANP i BNP wiąże i aktywuje błonową cyklazę guanylanową. Interesujące jest, że u myszy niedobór CNP może się objawiać nie tylko w układzie sercowo-naczyniowym, ale również w układzie szkieletowym. Przeprowadzone badania wykazały, że CNP stymuluje wzrost kości długich nasilając proliferację chondrocytów i zwiększa wytwarzanie macierzy chrzęstnej [38,58]. Stwierdzono, że u zwierząt z niedoborem peptydu natriuretycznego typu C oraz deficytem błonowej cyklazy guanylanowej występuje karłowatość [8]. Ustalono, także, że niedobór cGMP zależnej kinazy typu II u myszy (Prkg2-/-mice), także powoduje wystąpienie karłowatości, z powodu upośledzonego procesu endochondralnej ossyfikacji [38,40].

Niedawno odkrytym białkiem wytwarzanym przez osteoblasty wykazującym podobieństwo z peptydami natriuretycznymi jest osteocrin (Ostn). Białko zostało wykryte w kościach, a także niezależnie w mięśniach jako musclin. Osteocrin wykazuje powinowactwo tylko do receptora NPR-C, ale nie do receptorów NPR-A i NPR-B, działając w obrębie receptora NPR-C jest konkurencyjny do ANP. Osteocrin działając w obrębie tego receptora jest konkurencyjny do ANP i BNP [38,49]. Transgeniczna ekspresja Ostn w obecności kolagenu typu I powoduje u myszy wzrost kości na długość oraz wystąpienie kifozy, a działanie to koreluje z podwyższeniem stężenia cGMP w komórce [41,49]. Podobny skutek obserwowano również u transgenicznych myszy z nadekspresją BNP lub CNP oraz u zwierząt pozbawionych receptora NPR-C. Badania te dowodzą, że osteocrin jest nowym, regulowanym dodatkowo przez witaminę D białkiem, wykazującym wpływ na osteoblasty za pośrednictwem szlaków sygnałowych zależnych od cGMP [58].

METABOLIZM cGMP W KOMÓRCIE - FOSFODIESTERAZY

Ważnym elementem odpowiedzialnym za regulację stężenia cGMP w komórkach jest ekspresja i aktywność fosfodiesteraz, enzymów hydrolizujących wiązania fosfodiesterowe. Fosfodiesterazy różnią się między sobą swoją trójwymiarową strukturą, właściwościami kinetycznymi, sposobem regulacji, ekspresją, umiejscowieniem w komórce oraz wrażliwością na inhibitory [16,37]. Ze względu na te cechy oraz specyfikę działania nadro-

dzinę enzymów PDE podzielono na 11 klas (PDE1-PDE11) [3]. Najczęściej fosfodiesterazy są uważane za dwusubstratowe (cAMP i cGMP) enzymy odpowiedzialne za degradację cyklicznych nukleotydów. Stanowią więc podstawowy element przekazu sygnałów za ich pośrednictwem. Fosfodiesterazy PDE5, PDE6 i PDE9 należą do grupy najbardziej swoistej w stosunku do cGMP, PDE1, PDE2, PDE3, PDE10 i PDE11, mają zdolność do hydrolizy zarówno cGMP jak i cAMP, natomiast fosfodiesterazy PDE3, PDE7 i PDE8 są swoiste w stosunku do cAMP [5,16]. Większość PDE ma większe powinowactwo do cAMP, wyjątek stanowią fosfodiesterazy PDE5 i PDE9, które wykazują szczególną swoistość w stosunku do cGMP. PDE5 charakteryzuje się największą zdolnością wiązania cGMP powodując jego hydrolizę nawet w bardzo niskich stężeniach [3].

Cykliczny GMP wpływa na aktywność PDE. Proces ten zachodzi za pośrednictwem trzech różnych mechanizmów. Pierwszy polega na wzroście aktywności enzymatycznej PDE zgodnie z prawem działania mas, gdzie szybkość reakcji chemicznej jest proporcjonalna do iloczynu stężeń składników wszystkich uczestniczących w niej reagentów (PDE5, PDE6, PDE9). W drugim szybkość hydrolizy cAMP zachodzi w wyniku inhibicji kompetycyjnej (PDE1, PDE2, PDE3). Trzeci mechanizm to inhibicja niekompetencyjna, polegająca na zmianie aktywności PDE przez bezpośrednie wiązanie cGMP z miejscem allosterycznym (PDE2, PDE5, PDE6, PDE10) [11,34]. Swoistość fosfodiesteraz do określonych substratów powoduje ich różny wpływ na szlaki regulacyjne w komórce, co wykorzystuje się w określonych stanach chorobowych [3]. Badania właściwości PDE pozwoliły na wprowadzeniu do terapii inhibitorów PDE3 (amrinon, milrinon, cilostazol), PDE4 (rolipram) oraz PDE5 (sildenafil, wardenafil). Inhibitory PDE szczególnie typu 5 oprócz działania naczyniowego wykazują także działanie przeciwpalne i kardioprotekcyjne, które jest związane z obecnością PDE w płytkach krwi, w których wzrost cGMP działa antyagregacyjnie [3,10]. Dzięki odkryciu udziału fosfodiesteraz w mechanizmie rozkurczu mięśni gładkich stały się celem działania leków wykorzystywanych w terapii zaburzeń erekcji oraz w leczeniu nadciśnienia płucnego.

Wysoka ekspresja PDE5 została wykazana również w tkance tłuszczowej, jednak rola jaką w niej odgrywa pozostaje ciągle niewyjaśniona. Przez zdolność do wpływania na stężenie cGMP i aktywność PKG, PDE5 wydaje się ważnym modulatorem funkcjonowania komórek tłuszczowych. Hamowanie aktywności enzymatycznej PDE5 w tkance tłuszczowej nasila różnicowanie się adipocytów oraz funkcjonowanie aromatazy. Ponadto, w komórkach tkanki tłuszczowej inhibicja PDE5 zmniejsza także wydzielanie adipokin, w tym czynników prozapalnych, nasila termogenezę w białej tkance tłuszczowej oraz przekształcenie androgenów do estrogenów. Fosfodiesteraza 5 może więc potencjalnie stanowić cel w farmakologicznym kontrolowaniu przyrostu tkanki tłuszczowej i zapobieganiu powstawania zespołu metabolicznego [2,9].

SZLAKI SYGNAŁOWE AKTYWOWANE PRZECZ cGMP

Szlaki sygnałowe związane z kinazami białkowymi typu G

Transdukcja sygnałów za pomocą cGMP jest procesem złożonym. Metaboliczne szlaki, w których bierze udział są regulowane przez zmiany aktywności enzymów w nich uczestniczących. Zmiany te są inicjowane zwiększeniem stężenia jonów wapnia w komórce lub stymulacją receptorów peptydów natriuretycznych. Wzrost stężenia jonów wapnia w cytosolu powoduje wzrost aktywności syntazy tlenu azotu. Wytworzony przez nią tlenek azotu aktywuje sGC i zwiększa syntezę cyklicznego GMP. Jednak obecność wapnia może również hamować syntezę cyklicznego GMP przez inhibicję rozpuszczalnej cyklazy guanylowej i wzrost degradacji cGMP przez aktywację zależnej od wapnia fosfodiesterazy typu 1. Drugim źródłem cGMP jest wzrost aktywności mGC, będącej częścią receptorów peptydów natriuretycznych NPR-A i NPR-B.

Kinazy są grupą enzymów odpowiedzialnych za reakcję fosforylacji i istotnym ogniwem systemu przekazywania informacji w komórce. Kinazy fosforylując białka regulują ich aktywność wpływając w ten sposób na funkcje życiowe komórki. Kryterium ich podziału na klasy zależy od aminokwasu będącego akceptorem reszty fosforanowej przenoszonej podczas reakcji fosforylacji. Z tego względu kinazy białkowe można podzielić na: serynowo-treoninowe i tyrozynowe oraz występujące głównie u organizmów prokariotycznych kinazy histydynowej [20,61].

Kinazy białkowe G (PKG) zwane również cGMP zależnymi kinazami proteinowymi są serynowo/treoninowymi kinazami aktywowanymi przez cykliczny GMP. Uczestniczą w reakcjach fosforylacji regulując m.in. takie procesy jak relaksacja mięśni gładkich, spermatogeneza, podział komórki, syntezę kwasów nukleinowych oraz procesy agregacji płytek krwi [20,21,43,48,57]. PKG występują powszechnie zarówno u organizmów eukariotycznych jak i prokariotycznych. U ssaków zidentyfikowano dwa geny *prkg1* i *prkg2*, odpowiedzialne za kodowanie dwóch różnych typów cGMP zależnych kinaz: PKG-I i PKG-II [20,43,57]. Obie kinazy białkowe są homodimerami mającymi wspólne cechy strukturalne i są efektorami szlaków sygnałowych NO/cGMP i NP/cGMP. Każda z podjednostek enzymu składa się z trzech domen funkcyjnych. N-końcowa domena uczestniczy w procesie homodimeryzacji oraz działa hamująco na aktywność kinazy przy niedoborze cGMP. Odpowiedzialna jest również za interakcję z innymi białkami. Druga domena zwana jest częścią regulatorową i składa się z dwóch różnych miejsc wiążących cGMP. Trzecia domena katalityczna, odpowiada za reakcję przenoszenia grupy fosforanowej z ATP na grupę hydroksylową łańcucha bocznego białka docelowego. Związanie cGMP z domeną regulatorową enzymu powoduje zmiany konformacyjne, które znoszą inhibicję N-końcowego fragmentu enzymu, pozwalając tym samym na fosforylację białka substratowego. Mimo podobnej budowy PKG róż-

nią się między sobą umiejscowieniem w komórce. Kinaza białkowa PKG-I występuje głównie w cytoplazmie, podczas gdy PKG II jest zakotwiczona w błonie komórkowej. Kinazy PKG-I i PKG-II różnią się również umiejscowieniem w poszczególnych tkankach. Stwierdzono wysoki poziom kinazy białkowej PKG-I we wszystkich typach komórek mięśni gładkich i w płytkach krwi, natomiast jej niska ekspresja występuje w komórkach śródbłonna i w kardiomiocytach. Obecność PKG-I stwierdzono również w fibroblastach, leukocytach oraz w niektórych strukturach układu nerwowego, takich jak: hipokamp, komórki Purkiniego w mózdzku, ciało migdałowate boczne oraz zwoje korzeni grzbietowych. N-końcowy fragment PKG-I może być zakodowany w dwojaki sposób tworząc dwie izoformy: PKG-I α i PKG-I β [43]. PKG-I β do aktywacji wymaga 10-krotnie większego stężenia cGMP w porównaniu do PKG-I α . W neuronach i płytkach krwi wykazano wysoką ekspresję izoformy kinazy PKG-I α , natomiast w mięśniach gładkich są obecne obie izoformy enzymu [21]. Kinaza PKG-II występuje w komórkach wydzielniczych nabłonka jelita cienkiego, w komórkach warstwy kłębkowatej kory nadnerczy w komórkach Clara w odcinku dystalnym dróg oddechowych, w przewodzie trzustkowym, śliniankach, gruczołach podżuchwowych i w chondrocytach, natomiast nie występuje w kardiomiocytach i naczyniach krwionośnych.

W mięśniach gładkich PKG bierze udział w otwieraniu się kanałów potasowych aktywowanych wapniem, doprowadzając do hiperpolaryzacji błon komórek mięśniowych oraz blokowania aktywności fosfolipazy C. Hamowanie aktywności fosfolipazy C i hiperpolaryzacja błon zmniejsza uwalnianie z siateczki sarkoplazmatycznej jonów Ca²⁺ przez trójfosforan inozytolu, inaktywując mechanizm skurczu mięśniówki.

KANAŁY JONOWE AKTYWOWANE PRZEZ cGMP

Oprócz opisanych wcześniej kanałów potasowych aktywowanych z udziałem PKG w komórce występują również kanały aktywowane bezpośrednio przez cykliczne nukleotydy. Kanały bramkowane cyklicznymi nukleotydami (CNG) są kanałami jonowymi, które ulegają aktywacji po związaniu się z cząsteczką cGMP lub cAMP. Kanały te są ważnymi elementami komórki, biorącymi udział w transdukcji sygnałów, prowadzącymi do zmian potencjału błony komórkowej i/lub stężenia jonów wapnia Ca²⁺ w cytoplazmie [25]. Kanały CNG są nieselektywnymi kanałami kationowymi, które znajdują się w błonie komórek serca, płuc, nerek, trzustki, wątroby, śledziony, jąder oraz w korze mózgowej, mózdzku, hipokampie, wzgórz i podwzgórz [4,25,47].

Kanały bramkowane przez cykliczne nukleotydy są zbudowane z heterotetramerycznych kompleksów składających się z dwu lub trzech różnych typów podjednostek, kodowanych przez sześć różnych genów i są aktywowane wyłącznie przez te nukleotydy [25]. Ich aktywacja może zachodzić z udziałem jednego z nukleotydów lub rzadziej przez ich połączenie. Do aktywacji jednego

kanału jest potrzebne w przybliżeniu około 4 cząsteczek cyklicznych nukleotydów. Kanały CNG wykazują znaczną nieselektywność, pozwalając na przepływ kationów do lub z komórki, co może skutkować depolaryzacją lub hiperpolaryzacją błony komórkowej [25].

INTERAKCJE cGMP Z INNYMI SZLAKAMI METABOLICZNYMI

Cykliczne nukleotydy (AMP i GMP) będąc endogennymi mediatorami wielu fizjologicznych procesów, takich jak: aktywacja swoistych kinaz białkowych, procesy widzenia, węchu, zmiany w przepuszczalności błon komórkowych czy kurczliwość mięśni gładkich, mogą często wchodzić we wzajemne interakcje [6,37,52].

W procesie regulacji napięcia mięśni gładkich zwiększenie stężenia cAMP lub cGMP zapoczątkowuje kaskady następujących po sobie reakcji, obejmujących aktywację kinaz białkowych zależnych od cyklicznych nukleotydów, odpowiednio PKA i PKG. Dochodzi do defosforylacji miozyny i kanałów wapniowych oraz aktywacji pomp wapniowych prowadząc do zmniejszenia cytosolowego stężenia jonów wapnia i rozkurczu mięśniówki gładkiej [6].

Istotnym elementem interakcji między cAMP i cGMP jest wpływ cGMP na metabolizm cAMP. Wykazano, że cGMP może być wewnątrzkomórkowym regulatorem aktywności fosfodiesteraz. Cykliczny GMP może stymulować aktywność cGMP-zależnej fosfodiesterazy 2 (PDE2) lub hamować fosfodiesterazę 3. Oznacza to, że cGMP w różny sposób wpływa na stężenie cyklicznych nukleotydów sprzęgając ze sobą szlaki sygnałowe zależne od kinaz białkowych cGMP związanych z metabolizmem i przekazywaniem za pośrednictwem cAMP i kinazy białkowej A [6,35]. Szczególną klasą wśród fosfodiesteraz są PDE3, gdyż mają zdolność do hydrolizy zarówno cAMP jak i cGMP. Swoisty mechanizm łączenia się cAMP z ich centrum aktywnym sprawia, że wykazują dużo większe powinowactwo do cGMP niż do cAMP. Mechanizm łączenia cGMP z enzymem nie jest do końca wyjaśniony. Uważa się jednak, że wysoki stopień powinowactwa cGMP do miejsca aktywnego oraz jego wolna hydroliza zapobiega przyłączeniu się cząsteczki cAMP. Na podstawie tych obserwacji uważa się, że cGMP jest kompetycyjnym inhibitorem hydrolizy cAMP [3,35]. Fosfodiesterazy klasy 3 wyróżniają się na tle innych również zdolnością do hydrolizy cAMP lub cGMP po aktywacji przez kinazy białkowe i dlatego mogą być łącznikiem między szlakami cAMP i cGMP zależnymi [35]. Aktywność katalityczna PDE3 może być indukowana w wyniku modyfikacji jej struktury z udziałem kinaz białkowych PKA, PKB, PKC, PKG, które fosforylują określone reszty serynowe w domenie regulatorowej enzymu [18,22,35,45]. Różne mechanizmy działania PDE3 w komórce sprawiają, że pełni ona szczególną rolę w transdukcji sygnałów wielu szlaków przebiegających z udziałem cAMP i cGMP.

Dobrym przykładem interakcji między cAMP a cGMP jest przekazywanie związane z działaniem peptydów natriuretycznych, hormonów czy czynników wzrostu [35]. Rola PDE3 w szlakach sygnałowych peptydów natriuretycznych

jest bowiem również związana z regulacją poziomu cAMP, w odpowiedzi na zmiany stężenia cGMP. Peptydy natriuretyczne przez aktywację receptorów NPR-A i NPR-B, powodują wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia cGMP. Dochodzi do kompetycyjnego hamowania aktywności PDE3 i wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia cAMP, co skutkuje aktywacją kinazy białkowej A. W kardiomiocytach PKA fosforyluje podjednostki β kanałów wapniowych typu L, zwiększając napływ jonów Ca^{2+} do komórki, a także częstość i siłę skurczu mięśnia sercowego, natomiast w mięśniówce naczyń hamuje kinazę lekkich łańcuchów miozyny prowadząc do rozkurczu [32,35,51,56].

Przeżywalność z udziałem białek Wnt reguluje w okresie zarodkowym proliferację, różnicowanie się oraz migrację komórek, natomiast u dorosłych organizmów odpowiada głównie za homeostazę tkankową indukując procesy proliferacji i różnicowania komórek macierzystych. Wszystkie biologiczne funkcje białek Wnt mogą zachodzić w sposób kanoniczny (klasyczny) Wnt/Beta-kateina oraz niekanoniczny (nieklasyczny) Wnt/ Ca^{2+} z udziałem kinazy białkowej A lub w wyniku polaryzacji komórkowej (Wnt-PCP) [24,29]. Zasada aktywacji wszystkich ścieżek sygnałowych Wnt jest podobna. Związanie białek Wnt z receptorem błonowym pozwala na przyłączenie koreceptora z rodziny LRP (low density lipoprotein receptor related protein) i aktywację wewnątrzkomórkowej kaskady sygnałowej [29]. Rodzaj przekazanego sygnału zależy od rodzaju receptora oraz warunków metabolicznych panujących w komórce. Receptorem biorącym udział w wewnątrzkomórkowej sygnalizacji z udziałem beta-kateiny jest receptor Frizzled 1. Ścieżka ta wpływa na takie procesy komórkowe jak embriogeneza, różnicowanie, przeżywalność oraz proliferacja komórek [29,33].

Ścieżka niekanoniczna zależna od jonów wapniowych ma charakter antagonistyczny w stosunku do ścieżki kanonicznej i jest niezależna od beta-kateniny [28,29]. Niekanoniczna ścieżka polaryzacji komórkowej (Wnt-PCP) jest odpowiedzialna za tworzenie się i modelowanie cytoszkieletu przez co istotnie wpływa na kształt komórek. Drugi niekanoniczny szlak sygnalizacji Wnt, tj. ścieżka Wnt/ Ca^{2+} odpowiada za regulację stężenia wapnia wewnątrz komórki i jest również określana jako niekanoniczny szlak Wnt/ Ca^{2+} /cGMP, w którym pośredniczy odkryty stosunkowo niedawno receptor Frizzled-2. Aktywacja tego receptora powoduje wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia i obniża wewnątrzkomórkowe stężenia cGMP [29,55,59]. Natomiast zmiany w wewnątrzkomórkowej koncentracji jonów wapniowych, wpływają na aktywność kalmoduliny, kalcyneuryny czy jądrowego czynnika transkrypcyjnego NFAT. Ten rodzaj przekazu Wnt wpływa m.in. na procesy różnicowania osteoblastów i przebudowę kości zachodzące zarówno w fazie rozwoju jak i odnowy tkanki kostnej [60].

WPŁYW HORMONÓW PŁCIOWYCH NA POZIOM cGMP

Regulacja funkcjonowania komórek przez hormony steroidowe może być związana z ich wpływem na

transkrypcję genów (genomowy szlak regulatorowy) lub wynikać z innych niegenomowych mechanizmów ich działania. Te ostatnie polegają na modyfikowaniu aktywności komórek przez bezpośrednią interakcję z białkami regulatorowymi, kinazami aktywowanymi mitogenami, kinazami 3-fosfatydyloinozytolu czy kinazami tyrozynowymi [64]. U zwierząt stwierdzono także, że hormony steroidowe mogą modulować wytwarzanie tlenu azotu i cGMP [62]. Dowiedzono, że progesteron podwyższa ekspresję syntazy tlenu azotu NOS II w macicy ciężarnej samicy szczura, natomiast 17β -estradiol ją hamuje i pobudza ekspresję genu NOS-III, co wskazuje na złożony, istotny udział cGMP w regulacji kurczliwości macicy [63]. Wyniki badań sugerują również, że niedobór estradiolu w okresie postmenopauzalnym może być związany z wystąpieniem zaburzeń nastroju o charakterze depresyjnym oraz że tlenek azotu może być ważnym czynnikiem pośredniczącym w patomechanizmie powstawania depresji [19,31]. Stwierdzono, że zahamowanie szlaku NOS/NO/cGMP w warunkach niedoboru estrogenów może mieć związek z antydepresyjnym działaniem estradiolu [19]. Wykazano także, że podawanie L-argininy (prekursor NO) lub inhibitora PDE-5 (sildenafil) działa przeciwdepresyjnie podobnie do obserwowanego po zastosowaniu wysokiej dawki estradiolu [19].

Testosteron jest wytwarzany przez komórki Leydiga w jądrach pod wpływem hormonu luteinizującego, a także w niewielkich ilościach przez korę nadnerczy, jajniki oraz łożysko. Testosteron może również modyfikować aktywność szlaków sygnałowych NO/cGMP. Jego rola w tym procesie jest słabo poznana i prawdopodobnie polega na zwiększeniu syntezy NO przez nasilenie ekspresji syntazy NOS II, przyczyniając się w ten sposób do wzrostu stężenia cGMP w komórkach Leydiga. Wskazuje to na możliwość wpływania testosteronu na szlak sygnałowy NO/cGMP i regulację spermatogenezy oraz syntezy hormonów steroidowych w jądrach [1].

PODSUMOWANIE

Cykliczny GMP jest cząsteczką sprzęgającą wewnątrzkomórkową transdukcję sygnałów szlaków dla peptydów natriuretycznych, tlenu azotu i tlenu węgla. Obecnie wiadomo, że cGMP działając na aktywność kanałów jonowych, fosfodiesteraz lub kinaz białkowych G bierze udział w regulacji procesów widzenia, neurotransmisji, homeostazy wapnia, krzepnięcia, pracy serca, krążenia krwi, ekspresji genowej, a także modyfikuje przeżywalność szlaków związanych z cAMP, białkami Wnt i hormonami steroidowymi. Mniej znany jest udział szlaków zależnych od cGMP w regulacji procesów przebudowy kości, adipogenezy, wytwarzania hormonów oraz cytokin w tkance tłuszczowej. Wpływ cGMP na tkankę kostną i układ hormonalny daje nadzieję na opracowanie nowych, wysoce selektywnych terapii modyfikujących objawy towarzyszące menopauzie i zespołowi metabolicznemu.

PIŚMIENICTWO

- [1] Andric S.A., Janjic M.M., Stojkov N.J., Kostic T.S.: Testosterone-induced modulation of nitric oxide-cGMP signaling pathway and androgenesis in the rat Leydig cells. *Biol. Reprod.*, 2010; 83: 434-442
- [2] Armani A., Marzolla V., Rosano G.M., Fabbri A., Caprio M.: Phosphodiesterase type 5 (PDE5) in the adipocyte: a novel player in fat metabolism?. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2011; 22: 404-411
- [3] Bender A.T., Beavo J.A.: Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use. *Pharmacol. Rev.*, 2006; 58: 488-520
- [4] Broillet M.C., Firestein S.: Cyclic nucleotide-gated channels. Molecular mechanisms of activation. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1999; 868: 730-740
- [5] Budworth J., Meillerais S., Charles I., Powell K.: Tissue distribution of the human soluble guanylate cyclases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999; 263: 696-701
- [6] Cai Y.L., Sun Q., Huang X., Jiang J.Z., Zhang M.H., Piao L.H., Jin Z., Xu W.X.: cGMP-PDE3-cAMP signal pathway involved in the inhibitory effect of CNP on gastric motility in rat. *Regul. Pept.*, 2013; 180: 43-49
- [7] Chrisman T.D., Garbers D.L., Parks M.A., Hardman J.G.: Characterization of particulate and soluble guanylate cyclases from rat lung. *J. Biol. Chem.*, 1975; 250: 374-381
- [8] Chusho H., Tamura N., Ogawa Y., Yasoda A., Suda M., Miyazawa T., Nakamura K., Nakao K., Kurihara T., Komatsu Y., Itoh H., Tanaka K., Saito Y., Katsuki M., Nakao K.: Dwarfism and early death in mice lacking C-type natriuretic peptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 4016-4021
- [9] Colombo G., Colombo M.D., Schiavon Lde L., d'Acampora A.J.: Phosphodiesterase 5 as target for adipose tissue disorders. *Nitric Oxide*, 2013; 35: 186-192
- [10] Coquil J.F., Franks D.J., Wells J.N., 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: 148-165
- [11] Corbin J.D., Francis S.H.: Cyclic GMP phosphodiesterase-5: target of sildenafil. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 13729-13732
- [12] Derbyshire E.R., Marletta M.A.: Biochemistry of soluble guanylate cyclase. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2009; 191: 17-31
- [13] Dessì-Fulgheri P., Sarzani R., Rappelli A.: Role of the natriuretic peptide system in lipogenesis/lipolysis. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 2003; 13: 244-249
- [14] Fleming I., Busse R.: NO: the primary EDRF. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1999; 31: 5-14
- [15] Förstermann U., Boissel J.P., Kleinert H.: Expressional control of the 'constitutive' isoforms of nitric oxide synthase (NOS I and NOS III). *FASEB J.*, 1998; 12: 773-790
- [16] Francis S.H., Blount M.A., Corbin J.D.: Mammalian cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular mechanisms and physiological functions. *Physiol. Rev.*, 2011; 91: 651-690
- [17] Francis S.H., Busch J.L., Corbin J.F., Sibley D.: cGMP-dependent protein kinases and cGMP phosphodiesterases in nitric oxide and cGMP action. *Pharmacol. Rev.*, 2010; 62: 525-563
- [18] Han S.J., Vaccari S., Nedachi T., Andersen C.B., Kovacina K.S., Roth R.A., Conti M.: Protein kinase B/Akt phosphorylation of PDE3A and its role in mammalian oocyte maturation. *EMBO J.*, 2006; 25: 5716-5725
- [19] Heydarpour P., Salehi-Sadaghiani M., Javadi-Paydar M., Rahimian R., Fakhouri G., Khosravi M., Khoshkish S., Gharedaghi M.H., Ghasemi M., Dehpour A.R.: Estradiol reduces depressive-like behavior through inhibiting nitric oxide/cyclic GMP pathway in ovariec-tomized mice. *Horm. Behav.*, 2013; 63: 361-369
- [20] Hofmann F., Bernhard D., Lukowski R., Weinmeister P.: cGMP regulated protein kinases (cGK). *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2009; 191: 137-162
- [21] Hofmann F., Wegener J.W.: cGMP-dependent protein kinases (cGK). *Methods Mol. Biol.*, 2013; 1020: 17-50
- [22] Hunter R.W., Mackintosh C., Hers I.: Protein kinase C-mediated phosphorylation and activation of PDE3A regulate cAMP levels in human platelets. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 12339-12348
- [23] Jerczyńska H., Pawłowska Z.: Peptydy natriuretyczne – ich receptory i rola w układzie krążenia. *Postępy Biochem.*, 2008; 54: 35-42
- [24] Johnson M.L., Rajamannan N.: Diseases of Wnt signaling. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 2006; 7: 41-49
- [25] Kaupp U.B., Seifert R.: Cyclic nucleotide-gated ion channels. *Physiol. Rev.*, 2002; 82: 769-824
- [26] Kimura H., Murad F.: Evidence for two different forms of guanylate cyclase in rat heart. *J. Biol. Chem.*, 1974; 249: 6910-6916
- [27] Koesling D., Böhme E., Schultz G.: Guanylyl cyclases, a growing family of signal-transducing enzymes. *FASEB J.*, 1991; 5: 2785-2791
- [28] Komiya Y., Habas R.: Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis*, 2008; 4: 68-75
- [29] Koziński K., Dobrzyń A.: Szlak sygnałowy Wnt i jego rola w regulacji metabolizmu komórki. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 1098-1108
- [30] Kuhn M.: Structure, regulation, and function of mammalian membrane guanylyl cyclase receptors, with a focus on guanylyl cyclase-A. *Circ. Res.*, 2003; 93: 700-709
- [31] Kulkarni S.K., Dhir A.: Possible involvement of L-arginine-nitric oxide (NO)-cyclic guanosine monophosphate (cGMP) signaling pathway in the antidepressant activity of berberine chloride. *Eur. J. Pharmacol.*, 2007; 569: 77-83
- [32] Levy F.O.: Cardiac PDEs and crosstalk between cAMP and cGMP signalling pathways in the regulation of contractility. *Naunyn Schmiedeberg Arch. Pharmacol.*, 2013; 386: 665-670
- [33] Logan C.Y., Nusse R.: The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2004; 20: 781-810
- [34] Lucas K.A., Pitari G.M., Kazerounian S., Ruiz-Stewart I., Park J., Schulz S., Chepenik K.P., Waldman S.A.: Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol. Rev.*, 2000; 52: 375-414
- [35] Makuch E., Matuszyk J.: Fosfodiesterazy rodziny 3 sprzęgają szlaki sygnałowe zależne od kinaz białkowych i cyklicznego GMP z metabolizmem cyklicznego AMP. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 492-500
- [36] Malinowski M., Biernat J., Roleder T., Dalecka A.M., Reszka B., Deja M.A., Woś S., Gołba K.S.: Peptydy natriuretyczne: coś nowego w kardiologii? *Kardiolog. Pol.*, 2006; 64 (Suppl. 6): 578-585
- [37] Maurice D.H., Palmer D., Tilley D.G., Dunkerley H.A., Nether-ton S.J., Raymond D.R., Elbatany H.S., Jimmo S.L.: Cyclic nucleotide phosphodiesterase activity, expression, and targeting in cells of the cardiovascular system. *Mol. Pharmacol.*, 2003; 64: 533-546
- [38] Mericq V., Uyeda J.A., Barnes K.M., De Luca F., Baron J.: Regulation of fetal rat bone growth by C-type natriuretic peptide and cGMP. *Pediatr. Res.*, 2000; 47: 189-193
- [39] Michel T., Feron O.: Nitric oxide synthases: which, where, how, and why? *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 2146-2152
- [40] Miyazawa T., Ogawa Y., Chusho H., Yasoda A., Tamura N., Komatsu Y., Pfeifer A., Hofmann F., Nakao K.: Cyclic GMP-dependent protein

- kinase II plays a critical role in C-type natriuretic peptide-mediated endochondral ossification. *Endocrinology*, 2002; 143: 3604-3610
- [41] Moffatt P., Thomas G., Sellin K., Bessette M.C., Lafreniere F., Akhouayri O., St-Arnaud R., Lanctot C.: Osteocrin is a specific ligand of the natriuretic peptide clearance receptor that modulates bone growth. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 36454-36462
- [42] Nossaman B., Pankey E., Kadowitz P.: Stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: review and potential therapeutic indications. *Crit. Care Res. Pract.*, 2012; 2012: 290805
- [43] Ørstavik S., Natarajan V., Taskén K., Jahnsen T., Sandberg M.: Characterization of the human gene encoding the type I α and type I β cGMP-dependent protein kinase (PRKG1). *Genomics*, 1997; 42: 311-318
- [44] Pakuła D., Marek B., Kajdaniuk D., Kos-Kudła B., Borgiel-Marek H., Krysiak R., Gatnar A., Pakuła P.: Peptydy natriuretyczne: ich znaczenie w diagnostyce i terapii. *Endokrynol. Pol.*, 2007; 58: 364-374
- [45] Palmer D., Jimmo S.L., Raymond D.R., Wilson L.S., Carter R.L., Maurice D.H.: Protein kinase A phosphorylation of human phosphodiesterase 3B promotes 14-3-3 protein binding and inhibits phosphatase-catalyzed inactivation. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 9411-9419
- [46] Pfeifer A., Kilić A., Hoffmann L.S.: Regulation of metabolism by cGMP. *Pharmacol. Ther.*, 2013; 140: 81-91
- [47] Pifferi S., Boccaccio A., Menini A.: Cyclic nucleotide-gated ion channels in sensory transduction. *FEBS Lett.*, 2006; 580: 2853-2859
- [48] Pimentel E.: *Handbook of Growth Factors*, vol. 1, CRC Press, 1994, 106-107
- [49] Potter L.R., Abbey-Hosch S., Dickey D.M.: Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr. Rev.*, 2006; 27: 47-72
- [50] Potthast R., Potter L.R.: Phosphorylation-dependent regulation of the guanylyl cyclase-linked natriuretic peptide receptors. *Peptides*, 2005; 26: 1001-1008
- [51] Qvigstad E., Moltzau L.R., Aronsen J.M., Nguyen C.H., Hougen K., Sjaastad I., Levy F.O., Skomedal T., Osnes J.B.: Natriuretic peptides increase β_1 -adrenoceptor signalling in failing hearts through phosphodiesterase 3 inhibition. *Cardiovasc. Res.*, 2010; 85: 763-772
- [52] Rybalkin S.D., Yan C., Bornfeld K.E., Beavo J.A.: Cyclic GMP phosphodiesterases and regulation of smooth muscle function. *Circ. Res.*, 2003; 93: 280-291
- [53] Sengenès C., Berlan M., De Glisezinski I., Lafontan M., Galitzky J.: Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes. *FASEB J.*, 2000; 14: 1345-1351
- [54] Sengenès C., Stich V., Berlan M., Hejnova J., Lafontan M., Pariskova Z., Galitzky J.: Increased lipolysis in adipose tissue and lipid mobilization to natriuretic peptides during low-calorie diet in obese women. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2002; 26: 24-32
- [55] Shimizu N., Kawakami K., Ishitani T.: Visualization and exploration of Tcf/Lef function using a highly responsive Wnt/ β -catenin signaling-reporter transgenic zebrafish. *Dev. Biol.*, 2012; 370: 71-85
- [56] Springer J., Azer J., Hua R., Robbins C., Adamczyk A., McBoyle S., Bissell M.B., Rose R.A.: The natriuretic peptides BNP and CNP increase heart rate and electrical conduction by stimulating ionic currents in the sinoatrial node and atrial myocardium following activation of guanylyl cyclase-linked natriuretic peptide receptors. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2012; 52: 1122-1134
- [57] Surks H.K.: cGMP-dependent protein kinase I and smooth muscle relaxation: a tale of two isoforms. *Circ. Res.*, 2007; 101: 1078-1080
- [58] Thomas G., Moffatt P., Salois P., Gaumont M.H., Gingras R., Godin E., Miao D., Goltzman D., Lanctot C.: Osteocrin, a novel bone-specific secreted protein that modulates the osteoblast phenotype. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 50563-50571
- [59] Wang H., Lee Y., Malbon C.C.: PDE6 is an effector for the Wnt/ Ca^{2+} /cGMP-signalling pathway in development. *Biochem. Soc. Trans.*, 2004; 32: 792-796
- [60] Wang Y., Li Y.P., Paulson C., Shao J.Z., Zhang X., Wu M., Chen W.: Wnt and the Wnt signaling pathway in bone development and disease. *Front Biosci.*, 2014; 19: 379-407
- [61] Wolanin P.M., Thomason P.A., Stock J.B.: Histidine protein kinases: key signal transducers outside the animal kingdom. *Genome Biol.*, 2002; 3: reviews3013.1
- [62] Yallampalli C., Byam-Smith M., Nelson S.O., Garfield R.E.: Steroid hormones modulate the production of nitric oxide and cGMP in the rat uterus. *Endocrinology*, 1994; 134: 1971-1974
- [63] Yallampalli C., Dong Y.L.: Estradiol-17 β inhibits nitric oxide synthase (NOS)-II and stimulates NOS-III gene expression in the rat uterus. *Biol. Reprod.*, 2000; 63: 34-41
- [64] Zielniok K., Gajewska M., Motyl T.: Molekularne aspekty działania 17 β -estradolu i progesteronu w komórkowych szlakach sygnałowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 777-792

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.