

La signalisation du NO

Introduction

L'oxyde nitrique (NO), une petite molécule à la structure simple, est un radical libre gazeux extrêmement instable. Il est soluble à la fois dans les milieux aqueux et lipidiques, ce qui lui permet de se diffuser rapidement à travers les biofilms. De plus, il a une demi-vie très courte de seulement quelques secondes *in vivo*.

Le NO est répandu dans divers tissus, en particulier dans les tissus nerveux chez les mammifères. Il est l'un des produits de l'oxydation de la L-arginine par la nitric oxide synthase (NOS). C'est une molécule messagère biologique novatrice et joue un rôle important dans la régulation du système cardiovasculaire et cérébrovasculaire, du système nerveux et de l'immunité. Il a été sélectionné comme une "molécule vedette" par la revue Science en 1992.

1. La génération du NO

L'oxyde nitrique NO est un composé radicalaire gazeux, très diffusible, de faible poids moléculaire, de demi-vie limitée à quelques secondes en milieu aqueux, toutes caractéristiques qui ont longtemps fait douter de sa qualité de messager intracellulaire.

Il est produit par les NO synthases (NOS), qui sont au nombre de trois : la neuronale (nNOS), l'endothéliale (eNOS) et l'inductible (iNOS), à partir de l'arginine comme donneur d'azote, de l'oxygène moléculaire et du NADPH comme donneur, d'électrons. Ces enzymes sont des protéines héminiques, partageant une certaine similarité avec les cytochromes, et agissent sous forme de dimères. Elles sont l'objet de modifications post-traductionnelles (acylation, phosphorylation). Elles sont activées par le Ca²⁺ par l'intermédiaire de la calmoduline et par certaines kinases comme AKT. L'iNOS est induite en réponse à divers stimulus transcriptionnels, comme certaines cytokines ou le NFκB ; et au contraire réprimée par d'autres facteurs de transcription comme p53.

Le NO est produit en réponse à diverses stimulations endothéliales ou nerveuses ; il est capable de diffuser rapidement et exerce donc des effets paracrines, sur les cellules immédiatement voisines de celles où il est produit, fréquemment des cellules musculaires lisses. Le NO joue de nombreux rôles physiologiques au niveau vasculaire (flux, perméabilité, angiogenèse, etc.) et dans la transmission neuronale. Il est cytotoxique à forte concentration et exerce des effets pro- et antiprolifératifs selon le contexte. Il est capable de

réagir avec l'ion superoxyde pour donner l'ion peroxynitrite ONOO^- , très réactif et toxique, sur lesquelles il peut entrer en compétition avec un autre ligand des hèmes, le monoxyde de carbone CO. Il est enfin capable de provoquer la nitrosylation de protéines au niveau de résidus cystéine, pour former un adduit $-\text{SNO}$.

2. Réponses cellulaires au NO

La cible principale du NO est la guanylyl cyclase cytoplasmique (GUCY), une enzyme qui, à l'instar de l'adénylyl cyclase (chapitre 6), est capable de convertir le GTP en GMP cyclique (cGMP), lui-même dégradé en GMP par une phosphodiesterase.

Les GUCY sont des hétérodimères $\alpha\beta$, et il en existe sept isoformes, dont une seule cytoplasmique. L'oxyde nitrique se fixe sur le fer ferreux de l'hème et active l'enzyme. Le cGMP est capable de contrôler le fonctionnement de canaux cationiques, de protéines kinases, ainsi que de certaines phosphodiesterases. Il existe une petite la signalisation par l'oxyde nitrique

La signalisation par l'oxyde nitrique fait principalement référence aux processus par lesquels le NO exerce de multiples fonctions biologiques à travers des voies de signalisation autocrine et paracrine.

La fonction de la signalisation par l'oxyde nitrique La signalisation par l'oxyde nitrique médie de multiples processus biologiques par lesquels le NO agit comme un transducteur de signal pour exercer diverses fonctions, y compris les réponses immunitaires, la régulation du tonus vasculaire et de la neurotransmission, anti-tumorale et anti-pathogène.

Voie de signalisation de l'oxyde nitrique En tant que petite molécule inorganique aux propriétés hydrophiles et lipophiles, le NO est un acteur important dans de nombreux processus physiologiques. À l'heure actuelle, la voie de signalisation du NO dans le système cardiovasculaire a été la mieux étudiée.

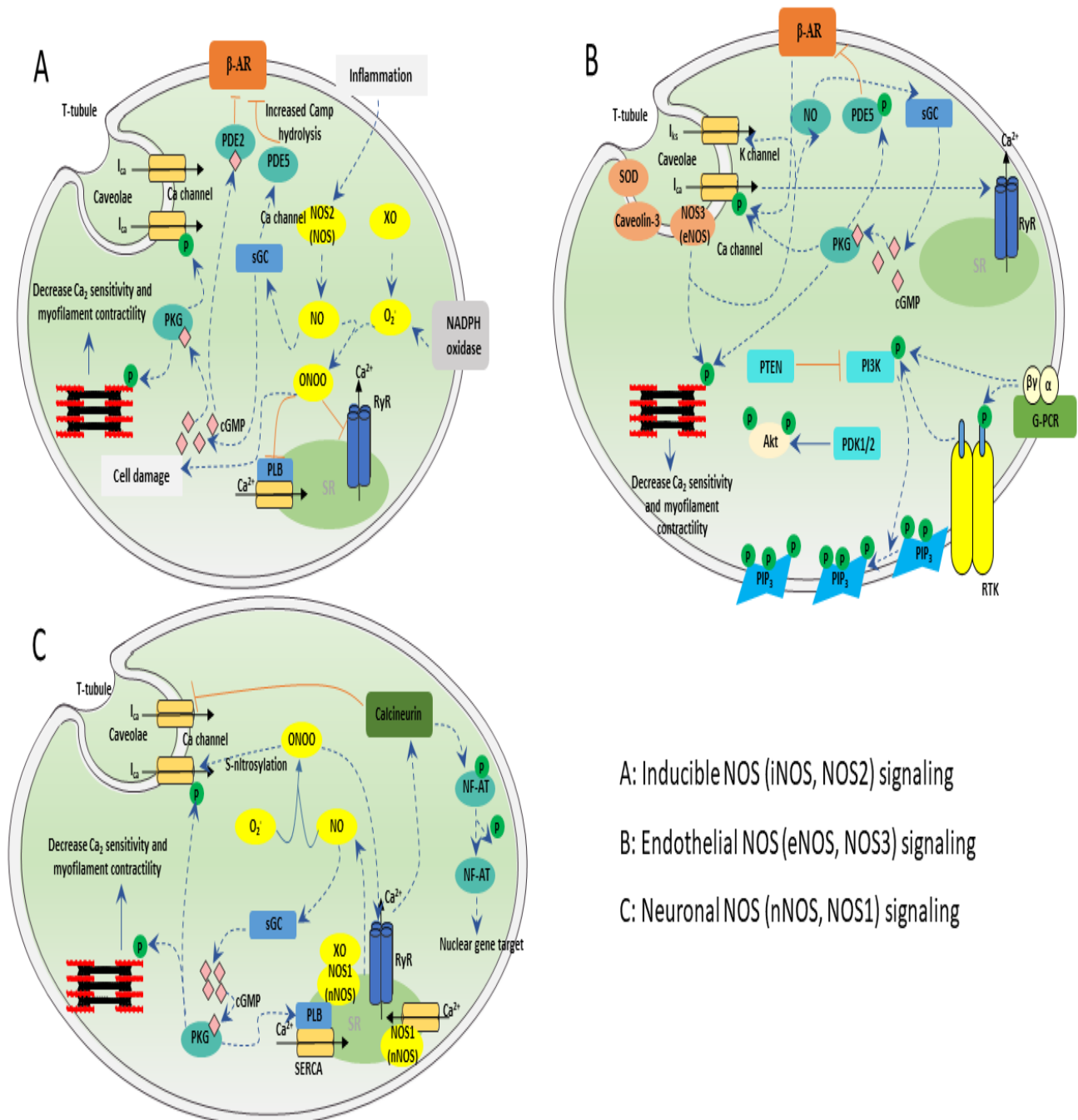
Lorsque l'Ach stimule les cellules endothéliales vasculaires, le récepteur Ach de surface (GPCR) est activé. L'activation du GPCR active la phospholipase C (PLC), qui catalyse la production d'IP3. L'IP3 se diffuse dans le cytoplasme et agit sur le canal Ca^{2+} régulé par l'IP3 dans le réticulum endoplasmique, favorisant la libération de Ca^{2+} dans le réticulum endoplasmique. Le Ca^{2+} libéré se lie à la calmoduline (CaM) pour former le complexe Ca^{2+} -CaM, qui réactive la NO synthase (eNOS) dans les cellules endothéliales. Sous l'action

catalytique de la NOS, une quantité substantielle de NO est produite. Le NO se diffuse dans les cellules musculaires lisses vasculaires adjacentes aux cellules endothéliales où il se lie à et active la guanylate cyclase soluble (sGC). La sGC active catalyse la déphosphorylation du GTP en cGMP. Le cGMP active ensuite la kinase G dépendante du cGMP (PKG). La PKG active phosphoryle la phosphatase de chaîne légère de myosine (MLCP), qui déphosphoryle la chaîne légère de myosine, conduisant à la relaxation du muscle lisse.

La PKG joue un rôle régulateur central dans la voie de signalisation ci-dessus. Outre la stimulation directe pour la production de NO par eNOS, la PKG active également la CaM en inhibant l'entrée de Ca²⁺. La CaM active évoque eNOS. La régulation de retour de la sGC et l'activation de la PDE5 par la PKG augmentent l'hydrolyse du cGMP, réduisant la concentration de cGMP. En plus de son rôle dans le système cardiovasculaire, le NO est impliqué dans la régulation de nombreux processus, notamment dans le système nerveux. Il peut agir comme un transmetteur inverse dans l'amélioration à long terme en termes d'apprentissage et de mémoire. Bien que le processus de participation du NO ait été assez bien compris, de nombreux détails ne sont toujours pas complètement clairs, et son rôle dans de nombreux aspects n'est pas clair, comme l'immunité, le nerf, la vision, etc. Par conséquent, il reste encore beaucoup de travail à faire sur le réseau de signalisation du NO.

Maladies associées aux anomalies de l'oxyde nitrique Lorsque la production de NO est altérée ou que sa biodisponibilité est réduite, certains symptômes tels que le spasme vasculaire coronarien, l'augmentation de la résistance vasculaire systémique, l'hypertension, la thrombose, l'hypertrophie vasculaire et la sténose suivent. Ces symptômes peuvent par la suite se développer en maladies telles que l'hypertension, le diabète, l'insuffisance cardiaque, l'athérosclérose, etc. Des niveaux soutenus de production de NO causent la toxicité tissulaire et l'effondrement vasculaire associé au choc septique.

Sur la base de la connaissance de la voie de signalisation du NO, de nombreux médicaments ont été développés, tels que le Sildénafil pour la dysfonction érectile et l'hypertension artérielle pulmonaire (PAH)



A: Inducible NOS (iNOS, NOS2) signaling
 B: Endothelial NOS (eNOS, NOS3) signaling
 C: Neuronal NOS (nNOS, NOS1) signaling

fig1. La signalisation du NO

Les effets du cGMP sur la relaxation du muscle lisse, la neurotransmission, l'inhibition de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaires sont maintenant bien répertoriés et sont depuis longtemps utilisés en pharmacologie : la trinitroglycérine, capable de générer l'oxyde nitrique, est utilisée depuis plus de cent cinquante ans comme vasodilatateur coronarien et le sildénafil, un inhibiteur de phosphodiesterase, est utilisé depuis quelques années comme vasodilatateur des tissus érectiles.

Un autre mode d'action du NO₂ est à rechercher au niveau de la nitrosylation de protéines, un phénomène encore relativement mal connu. La nitrosylation de la caspase 3 inhibe son activité, alors que la nitrosylation de RAS entraîne une activation de la cascade des kinases. Signalons également que la nitrosylation du facteur HIF α entraîne sa stabilisation, mimant ainsi les effets de l'hypoxie.

3. L'oxyde nitrique dans la cancérogenèse et la thérapeutique anticancéreuse

Du fait de la localisation endothéliale d'une des NOS, le NO₂ est un médiateur important de l'angiogenèse. Par l'intermédiaire du cGMP et des PKG, il est capable d'activer la prolifération des cellules endothéliales via la voie des MAP kinases en activant la protéine RAF. Par l'intermédiaire de la nitrosylation de RAS, il est également capable d'activer les voies de prolifération.

Au niveau des cellules tumorales, l'expression de la NOS inductible peut avoir les mêmes conséquences sur la prolifération et la migration cellulaires que l'expression de eNOS dans les cellules endothéliales. Toutefois, des résultats contradictoires ont été obtenus et il paraît difficile de faire de la voie du NO₂ une voie pro-oncogénique.

Deux types d'approche pharmacologique ont été développés : le premier vise à diminuer la production du NO₂ par des inhibiteurs des NOS ; il existe plusieurs voies possibles, en particulier des peptides mimant la structure de la cavéoline. Le second vise à générer des concentrations intratumorales élevées de NO₂ afin de profiter de son effet cytotoxique.