médecine/sciences 1995 ; 11 : 1743-4

Les multiples facettes des NO synthases

NO : KO

L'invalidation des trois gènes codant pour les isoformes de la NO synthase a permis de progresser dans la distinction de leurs actions spécifiques. Mais on comprend encore mal le rôle de la nNOS dans le muscle : est-il principalement structural, ou surtout métabolique ?

Depuis sa découverte en 1980 comme facteur vasorelaxant (*endothelial relaxing factor,* EDRF), identifié en 1987, le monoxyde d'azote (NO) occupe une place déterminante dans la compréhension des mécanismes de régulation des organismes en physiologie comme en pathologie *(m/s n°10, vol. 7, p. 1094)*. Synthétisé par trois enzymes, constitutives neuronale (NOS1) ou endothéliale (NOS3), et inductible (NOS2 ou NOSi), le NO est impliqué comme neuromédiateur, comme régulateur du système cardiovasculaire par son action sur le tonus vasculaire, la contractilité myocardique et l'agrégation plaquettaire, ainsi que comme effecteur des réponses immunes et inflammatoires par ses propriétés anti-infectieuse ou antitumorale [1]. Ces diverses fonctions biologiques du NO continuent d'être de mieux en mieux approchées par l'utilisation de donneurs ou d'inhibiteurs de synthèse du NO, mais le manque de spécificité de ces derniers pour les différentes isoformes de NO synthases laissait grandement espérer que l'invalidation *(knock-out)* des gènes codant pour les diverses synthases permettrait de mieux connaître leurs actions spécifiques. C'est ainsi que, s'ajoutant à l'invalidation du gène codant pour l'isoforme neuronale décrite en 1993 [2], l'année 1995 aura permis de « boucler la boucle », en décrivant successivement les effets de l'invalidation des gènes codant pour la NOSi [3, 4], puis pour la NOS endothéliale [5] *(Tableau I)*.

La NOS neuronale (nNOS) est synthétisée de manière constitutive dans la plupart des tissus nerveux et les muscles *(m/s n°12, vol. 11, p. 1643)*. L'invalidation de son gène par recombinaison homologue chez la souris n'entraîne cependant aucun déficit majeur : la structure cérébrale est normale, les neurones ne dégénèrent pas. Une importante anomalie est toutefois retrouvée : la dilatation de l'estomac, liée à l'hypertrophie des muscles du sphincter pylorique, confirme que l'absence de NO joue un rôle dans la sténose du pylore des nouveau-nés [2] ; on avait, en effet, remarqué l'effet relaxant des donneurs de NO sur les achalasies du pylore et de l'œsophage. Ces souris résistent aussi beaucoup mieux aux accidents vasculaires cérébraux ; les dommages causés par l'ischémie au tissu nerveux environnant sont considérablement réduits en l'absence de formation de NO ; sa surproduction lors des ischémies transitoires serait par conséquent délétère pour le tissu nerveux [6]. A l'inverse, ces dommages sont minimisés par la production de NO dans le lit vasculaire sous l'effet de la NOS endothéliale. Enfin, ces souris nNOS- ont une conduite anormale : inhabituellement agressifs, à la sexualité exacerbée, les mâles tuent leurs congénères mâles de la même portée si on ne les sépare pas [7].

Impliqué dans les mécanismes de défense contre les processus infectieux ou tumoraux, le NO produit en quantité massive par l'isoforme inductible NOSi lors de réactions immunes et inflammatoires est néanmoins fortement suspect d'induire chez l'hôte des dégâts tissulaires sévères, voire mortels. Les travaux simultanés de deux équipes concurrentes américaine (Cornell, NY, et laboratoires Merck, NJ) et britannique (Glasgow et Laboratoires Wellcome) [3, 4] rapportant l'invalidation du gène codant pour la NOSi confirment effectivement ces hypothèses, laissant apparaître le monoxyde d'azote comme une arme à double tranchant, et soulevant ainsi la question *« NO, how much is enough ? »*, objet d'un *article de synthèse* dans ce numéro (C. Thiermermann, *p. 1643 de ce*

Tableau I LES SYNTHASES DU MONOXYDE D'AZOTE			
Isoforme	**Localisation**	**Localisation cellulaire**	**Phénotype après invalidation du gène**
Neuronale nNOS 12q24.2*	Système nerveux central et périphérique Muscle	Réticulum endoplasmique rugueux Jonctions synaptiques Membrane du sarcolemme associée à la dystrophine	Sténose du pylore Résistance aux accidents vasculaires cérébraux Agressivité
Inductible NOSi 17cen-q12*	Système immunitaire mais aussi la plupart des cellules (hépatocytes, fibroblastes, endothélium...)	Forme soluble cytosolique Forme membranaire myristoylée	Susceptibilité accrue à l'infection *(Listeria, Leishmania)* Proflifération des cellules lymphomateuses Résistance au choc septique (LPS)
Endothéliale eNOS 7q35-36*	Endothélium vasculaire Système nerveux central: cervelet, hippocampe, bulbe olfactif	Forme soluble cytosolique Forme membranaire myristoylée	Défaut de vasodilatation cholinergique Élévation de la pression artérielle Hypotension après L-nitroarginine

* *Localisation chromosomique du gène.*

numéro). Si les souris NOSi- se développent et se multiplient normalement, elles présentent de sévères altérations de leurs réponses immunitaires contre les infections à tropisme intracellulaire ou les cellules transformées. En revanche, la réaction inflammatoire systémique de ces souris NOSi- est moins importante en réponse à un agent non spécifique, la carragénine, ou au lipopolysaccharide (LPS ou endotoxine bactérienne), et semble entraîner une réduction significative de la mortalité engendrée par l'administration de LPS. La modulation de sa production par l'utilisation d'inhibiteurs de synthèse, particulièrement dans les chocs septiques, devra donc être prudente.

Dernier gène invalidé: celui de la NOS endothéliale, eNOS. On pensait depuis longtemps que cette enzyme jouait un rôle dans la régulation physiologique de la pression artérielle car les inhibiteurs des NOS élevaient la pression artérielle. Mais, du fait de l'absence de spécificité de ces inhibiteurs, le rôle exact de eNOS dans la régulation du tonus vasculaire ne pouvait être réellement apprécié. C'est chose faite maintenant: les souris eNOS- ont une pression artérielle au repos supérieure de 35 % à la normale! Un effet aussi important fait même ranger la eNOS au premier rang des régulateurs tensionnels physiologiques. Son rôle dans la pathogénie de l'hypertension artérielle essentielle méritera d'être mieux précisé. Toutes les questions ne sont pas résolues pour autant: pourquoi la L-nitroarginine, un inhibiteur des NOS qui élève la pression artérielle chez la souris normale la fait-il chuter chez les souris eNOS-? Quels sont les autres éléments régulateurs du tonus vasculaire encore actifs en l'absence de NO? Le CO est un bon candidat, l'enzyme lui donnant naissance, l'hème-oxygénase, étant localisée dans l'endothélium vasculaire et son inhibition faisant disparaître la part de relaxation vasculaire sous l'effet de l'acétylcholine qui résiste à la nitroarginine *(m/s n°3, vol. 9, p. 330)*.

A.M.
E.B.

1. Lacaze-Masmonteil T. Les monoxyde d'azote (NO) synthases. *médecine/sciences* 1992; 8: 843-5.
2. Huang PL, Dawson TM, Bredt DS, Snyder SH, Fishman MC. Targeted disruption of the neuronal nitric oxide synthase gene. *Cell* 1993; 75: 1273-86.
3. Macmicking JD, Nathan C, Hom G, Chartrain N, Fletcher DS, Trumbauer M, Stevens K, Xie Q, Sokol K, Hutchinson N, Chen H, Mudgett JS. Altered responses to bacterial infection and endotoxic shock in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Cell* 1995; 81: 641-50.
4. Wei X, Charles IG, Smith A, Ure J, Feng G, Huang F, Xu D, Muller W, Moncada S, Liew FY. Altered immune responses in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Nature* 1995; 375: 408-11.
5. Huang PL, Huang Z, Mashimo H, Bloch KD, Moskowitz MA, Bevan JA, Fishman MC. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature* 1995; 377: 239-42.
6. Huang Z, Huang PL, Panahian N, Daikara T, Fishman MC, Moskowitz MA. Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric oxide synthase. *Science* 1994; 265: 1883-5.
7. Nelson RJ, Demas GE, Huang PL, Fishman MC, Dawson VL, Dawson TM, Snyder SH. Behavioural abnormalities in male mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Nature* 1995; 378: 383-8.