

nNOS

INTRODUCTION

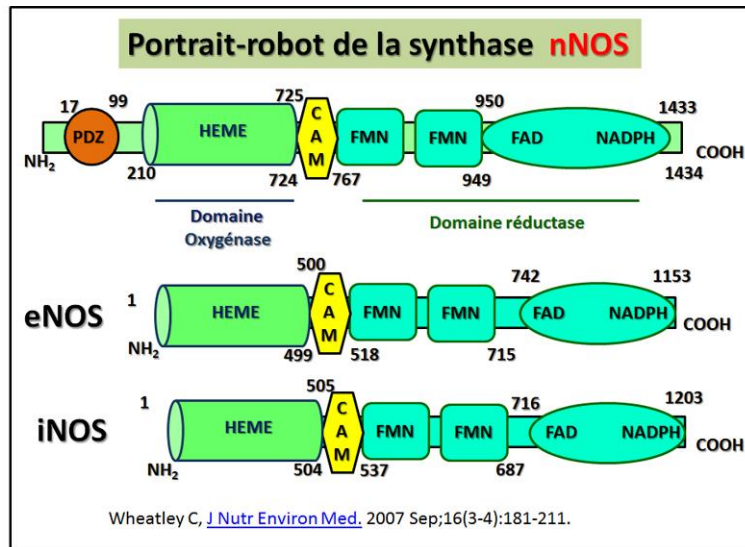
Le monoxyde d'Azote (NO) est parmi les oxydes d'azote, l'un des [principaux polluants atmosphériques et se compose chimiquement](#) avec un atome d'oxygène (O) et un atome d'azote (N). Dès le début des années [1980 les études sur le factor dit EDRF](#) (=Endothelium-derived relaxing factor) conduisent progressivement à l'étude de de la vasodilatation qui apparait comme provoquée par ce facteur mais aussi dès cette époque comme très probablement provoqué par [le relargage dans l'organisme d'oxyde nitrique](#). On parle alors de la libération de l'oxyde nitrique comme un composé chimique ayant [des propriétés biologiques de relaxant](#). Ainsi en 1990, on **considère définitivement l'oxyde nitrique** comme [un nouveau messenger neuronal](#) à part entière

Le NO est susceptible d'être libre et trouvé dans de [multiples types cellulaires comme les cellules endothéliales](#), les cardiomyocytes, les cellules musculaires, les macrophages, les plaquettes, mais aussi dans des tissus comme le foie, le cerveau et le système nerveux périphérique. Le NO dérive dans une réaction d'oxydation de la conversion de l'acide aminé, la **L-Arginine**, acide aminé source de la réaction qui se trouve ainsi converti en **NO** et **Citrulline**. Ce processus sera étudié en détail par la suite et met en jeu un long processus qui s'effectue en cinq étapes et est catalysée par l'enzyme la NO synthase (NOS) dont la découverte est relativement récente.

La NO synthase

Tableau récapitulatif des séquences de la nNOS			
Protéine	Taille	Gène	Site d'expression
nNOS	160 kDa	12q24	Muscle squelettique Cerveau
iNOS	131 kDa	17q11.2-q12	Non-musculaire
eNOS	133 kDa	7q36	Cellule endothéliale

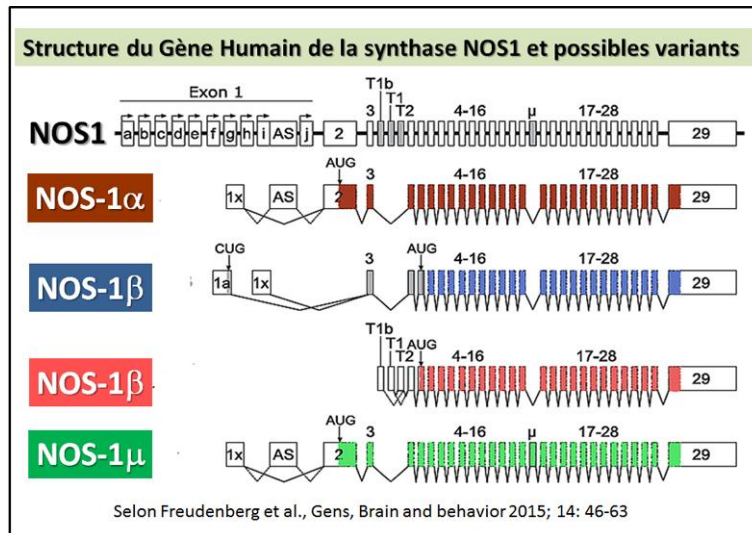
L'enzyme identifié comme la NO synthase (NOS) existe sous 3 isoformes et la forme prédominante dans le muscle est le n-NOS. Selon les auteurs différentes systématique furent adoptées pour les identifier systématiquement et on va parler des isoforme 1, 2 et 3 et ou ajouter une lettre pour marquer l'origine comme n (pour neurotransmetteur/neuronal), i (pour inducible), e (pour endothéliale). On résume dans un tableau récapitulatif ces diverses protéines avec un lien SwissProt pour plus de détails : [P29475](#); [P35228](#) ; [P29474](#) .



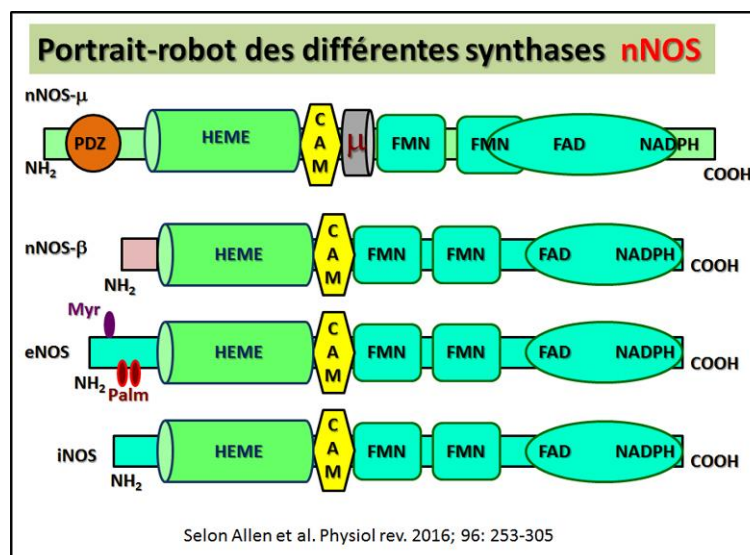
La première isolation de la nitrique oxyde synthase fut réalisée [dans les années 1990](#). Si dès 1992 un [rôle biologique](#) important était dévolu à l'oxyde nitrique ce n'est qu'un peu plus tard que la structure et [le début des analyses sur les mécanismes d'action de la NO synthase](#) furent enfin mieux compris. Puis on fut capable de proposer l'arrangement spécifique [de chaque isoformes de NO synthase](#). Ainsi avec ces diverses données il a pu être établi un portrait-robot qui c'est affiné au fur et à mesure des découvertes et en particulier il a été défini plusieurs types de domaines au sein de la structure de la protéine NOS1 (=nNOS).

La séquence de l'enzyme nNOS et la présence de chacun des sites spécifiques de reconnaissances sont alors répertoriés avec en partie N-terminale un motif dit **PDZ** puis une large région souvent répertoriée comme la partie **HEME** de la protéine. Ensuite se trouve une hélice particulière pour une interaction avec la Calmoduline (**CAM** en jaune sur ce schéma) suivie par une zone pour la liaison avec les **FMN** (=Flavin Mono Nucleotide). Enfin en C-terminal une possibilité de liaison avec la **FAD** (=Flavin adenine dinucleotide) et une zone dédiée à l'interaction avec la **NADPH** (= Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate).

Le schéma présenté au-dessus donne un **portrait-robot de la n-NOS** qui permet de mieux localiser les différents sites d'association précédemment cités. Les **versions de iNOS et eNOS** sont également sous forme de portraits-robot, et si on y retrouve le même agencement il n'y a pas présence du motif PDZ en début de séquences dans ces deux version isoforme de NO synthase. Pour une meilleure identification de ces régions on a défini au sein de cette structure 2 domaines séparés par le site d'ancrage avec la Calmoduline (**CAM**) un **domaine dit d'Oxygénase** et un **domaine dit de Réductase**.

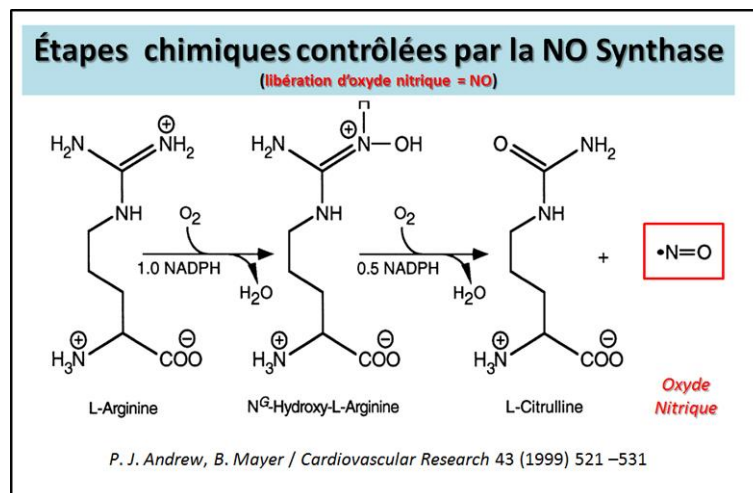


Une récente organisation génomique du gène humain permet [en 2015 d'afficher tous les exons de la Synthase NOS1](#) y compris les autres premiers exons (1a-1J, AS) et seulement les exons exprimées dans le testicule et/ou le muscle squelettique (T1b, T1, T2, μ; sont en grisé et/ou coloré). Les premiers exons alternatifs (1a-1j) sont utilisés par des promoteurs individuels (indiqué par la flèche). Le variant spécifique du muscle squelettique μNOS-I contient tous les exons de la forme de Synthase NOS-Iα avec en plus l'exon μ situé entre l'exon 16 et 17. Par ailleurs le gène codant NOS-I (NOS1) qui affiche une régulation transcriptionnelle complexe, avec neuf autres premiers exons. Exon 1c et 1f qui sont les formes les plus abondantes dans le cerveau. Un polymorphisme fonctionnel de nucléotide unique (SNP) dans l'exon 1c et un polymorphisme dans l'exon 1f, correspondant à un nombre variable de répétitions en tandem (VNTR) ce qui va conduire à un allèle dit soit court (S=short) soit long (L=long). Ainsi cette très polymorphe répétition est [souvent nommée « ex1f-VNTR »](#) et se trouve en fait varier entre 180 et 210 pb de longueur.

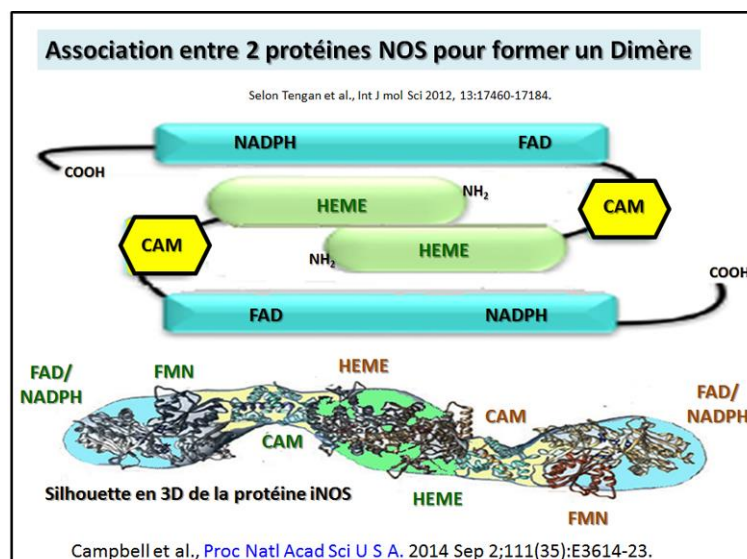


Ainsi les connaissances actuelle (2015) permettent de dresser un [portrait comparatif de ces diverses protéines que sont les synthases NOS](#) et une illustration récapitulative donne l'identification précise de l'organisation de chacune d'entre elle reflétant l'origine du tissu dans lesquels on les trouve. De plus amples détails figurent dans l'article original. Les 3 gènes donnent naissances à des protéines similaires qui gardent en commun les 3 domaines

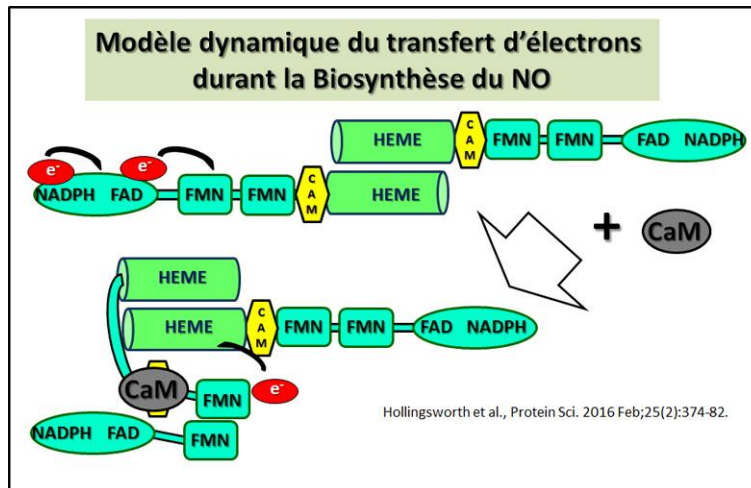
Oxydase, réductase et liaison à la Calmoduline. Notez que seule la forme nNOS_m possède le motif PDF, et la zone dite «m» , tandis que la forme eNOS (Golgi) se trouve Myristoylée (Myr) et Palmitoylée (Palm).



Les étapes chimiques conduisant à la libération de l'Oxyde Nitrique sont indiquées dans le schéma ci-contre. Cette réaction complexe exige la présence des co-substrats O₂ et NAD(P)H avec conversion de ce dernier en NADP. De plus il faudra la présence de nombreux cofacteurs, tels que la FAD et la FMN mais aussi de la BH₄ (tetrahydrobiopterine) Une fois synthétisé, le NO diffuse alors librement à travers les membranes cellulaires. L'ensemble de ce processus est [détaillé dans l'article en référence](#).



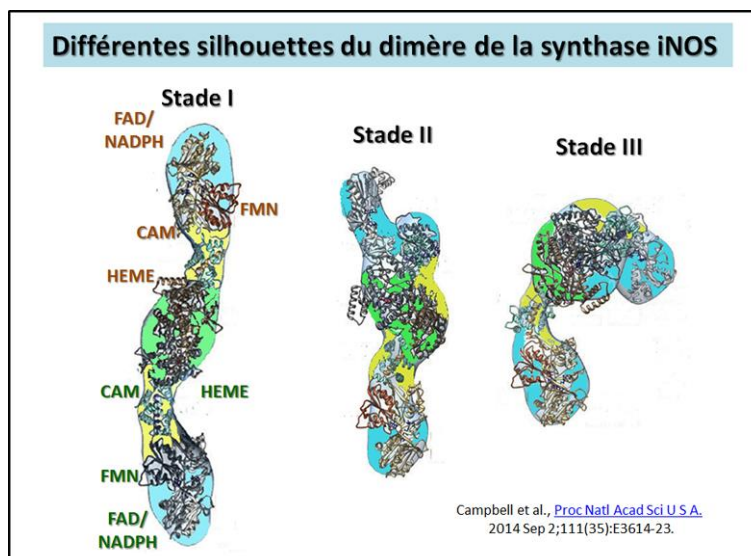
Par ailleurs, déjà en 1999 et comme cela sera confirmé plus tard par exemple en 2012 et dans de nombreuses études le processus va nécessiter une organisation spécifique de la NO synthase qui va lors s'associer de manière à former une structure homodimérique et une [illustration directement issue de l'article en référence](#) montre l'organisation architecturale que prend alors ce type de synthase.



En complément de cette étude en 2014 la silhouette de la [synthase iNOS est représentée et son arrangement spatial](#) montre la forte association entre les zones « **HEME** » correspondantes à chaque qui vont ainsi permettre de former un dimère tête-bêche de 2 monomères.

[Diverses revues](#) font le point sur cette enzyme à partir des années 2000. Cette enzyme est présente au niveau du sarcolemme et son ancrage à la membrane de la cellule musculaire fait intervenir le complexe macromoléculaire autour de la Dystrophine et plus particulièrement la Dystrobrevine. (Voir chapitres correspondants).

L'étude de la NO synthase a alors été en s'intensifiant et des **résidus particuliers furent mis en avant pour un rôle important** plus spécifique comme le Tryptophane 188 ([W188](#)) et par ailleurs la Valine 567 ([V567](#)) pour sa participation à l'intégrité du site actif de cette synthase et par conséquent pour la production de NO. Par ailleurs suite à des expériences de mutagenèse dirigée, le résidu glutamique 361 ([E361](#)) est décrit comme critique pour une interaction avec l'arginine en tant que substrat, tout comme le résidu aspartique 369 ([D369](#)) au cours de l'activité enzymatique de la synthase vis-à-vis de cette même interaction.



Actuellement en 2015, après [de nombreuses études](#) sur le processus par lequel le dimère de synthase NOS va finalement libérer dans la cellule de l'oxyde nitrique, on va observer au sein du dimère des changements de conformations et on peut [identifier 3 stades différents](#) avec des

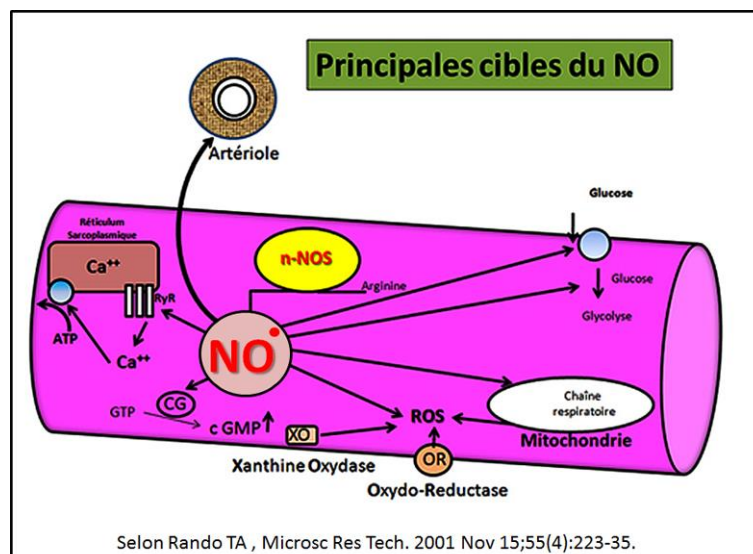
orientations bien établies, indiquant que les parties « HEME de chacun des monomère glissent l'une sur l'autre comme cela est présenté ci-contre

Comme cela est rapporté en détail très récemment dans l'article en référence une schématisation est maintenant établie pour mieux comprendre les étapes de transfert d'électrons et finalement établir un [modèle dynamique de la synthèse NO](#) pour arriver à une biosynthèse de NO.

Propriétés et rôle de la synthèse n-NOS

La n-NOS fut d'abord décrite dans [le cerveau](#) avec une distribution [abondante dans le muscle](#). Après la découverte de cette enzyme [le clonage du gène](#) fut rapidement exécuté. En fait c'est en [l'absence de Dystrophine](#) que l'on observe une délocalisation de la n-NOS et un déficit de son action dans la relaxation du muscle chez les DMD.

Puis naturellement il fut proposé de [supplémenter en L-arginine un muscle déficient en Dystrophine](#), ce qui devait avoir pour conséquence d'augmenter le taux de NO dans le muscle. Une telle stratégie permettait-t-elle d'augmenter l'expression de l'Utrophine qui déjà chez la souris mdx présentait une sur-expression telle était [la question posée dans un premier temps](#). (Un bilan des résultats sur le traitement de la L-arginine est déjà décrit et ne sera pas abordé ici, voir dans le chapitre sur Utrophine).



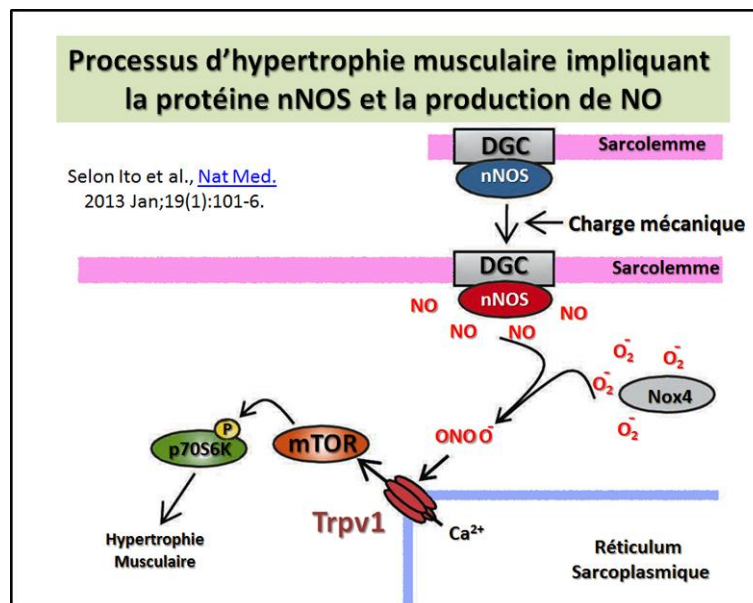
Autant il est évident que le NO est au centre de nombreuses propriétés dans la cellule musculaire et [participe à l'activation des cellules satellites](#) (permettant la réparation musculaire par ses propres cellules souches), mais également que la présence d'[un transgène par la n-NOS améliore](#) le muscle déficient en Dystrophine. Un schéma récapitulatif des nombreuses **cibles du NO** est issu d'une revue récente sur les [messages du NO dans le muscle](#) et l'illustration ci-dessous résume ces informations.

Par le fait, il est important de noter que la n-NOS fait [partie du complexe des protéines autour de la Dystrophine](#). De plus pour une certaine part le NO participe à la [fatigabilité musculaire](#) et que des défauts dans la glycolyse avec perte des interactions avec la [phosphofructokinase](#) contribue à cette dernière.

De plus un mécanisme sous-jacent important permettant d'expliquer la perte de force dans la DMD, est due à la présence dans le muscle d'une [source non négligeable d'oxyde nitrique musculaire](#). Celle-ci est directement reliée au stress nitrosatif provoquée par la délocalisation membranaire de la nNOS (= oxyde nitrique synthase neuronale), du fait de l'absence de Dystrophine.

Chez le rat et dans des conditions extrêmes de contractions musculaires [un bilan sur le rôle de la protéine nNOS dans le muscle](#) est disponible sur le lien indiqué. La liaison de la nNOS avec la Dystrophine nécessite seulement les hélices dites alpha 2 et 3 **des zones répétitives R16 et R17** comme cela est maintenant établi en détails [dans l'article en référence](#). Puis une [nouvelle étude a été entreprise pour mieux disséquer au sein de la structure de la Dystrophine](#) la zone nécessaire à réaliser un site d'accueil pour la **protéine nNOS**. Le site de fixation pour cette protéine nNOS se situe d'après cette étude dans la zone centrale répétitive de la Dystrophine et concerne plus précisément les **répétitions codées R16 et R17**.

Une autre [étude chez la souris déficiente en Dystrophine](#), démontre soigneusement que les voies de signalisation impliquant l'oxyde nitrique sont responsables d'une activation de la régulation des transporteurs de la L-arginine. Un bilan fait alors état des bases structurales impliquées sélectivement dans l'inhibition de la synthèse pour l'oxyde Nitrique [en fonction de chaque isoforme](#).

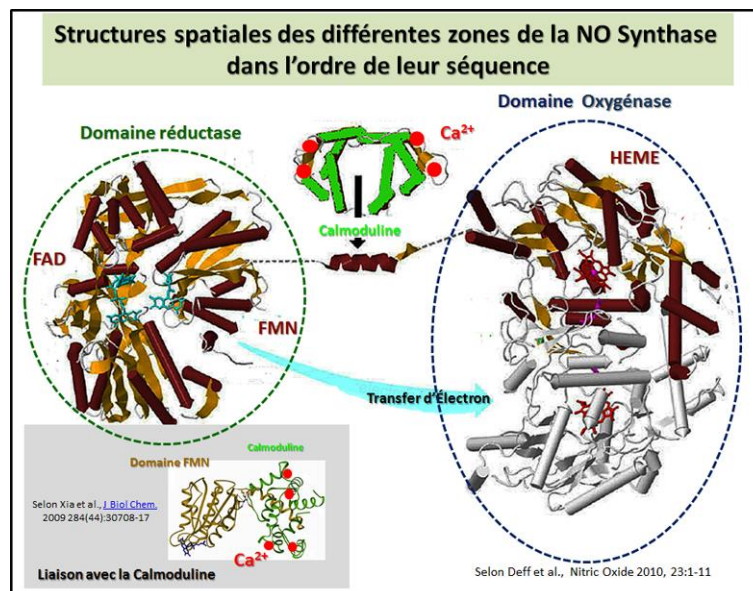


La [régulation de la forme l endothéliale](#) de l'oxyde nitrique synthase S-glutathionylation par la NOS neuronale est rapportée dans le détail dans l'article en référence. Cela apporte la preuve d'une interaction fonctionnelle entre les isoformes de NOS que l'on rencontre au sein du myocarde. Il [existe par ailleurs une activation de la signalisation calcique](#) au travers de la protéine canal du calcium [Trpv1](#) qui avec l'action indirecte de la synthase nNOS et la libération de NO va favoriser ainsi la synthèse du peroxynitrite (ONOO⁻) ce qui va agir sur la protéine mTOR en synergie avec le calcium et jouer le rôle de déclencheur clé de l'hypertrophie du muscle squelettique. Un schéma récapitulatif de cette cascade d'évènements consécutif à une charge mécanique musculaire illustre ce processus d'hypertrophie musculaire.

Une [récente revue fait le bilan](#) des **divers inhibiteurs potentiel** qui peuvent être utilisé pour affecter l'activité de la nNOS (=Neuronal Nitric Oxide Synthase). En particulier ce travail indique comment il est possible d'améliorer la biodisponibilité de plusieurs dérivés chimiques de la 2-aminopyridine. La description des progrès récents obtenu avec le thiophène-2-carboximidamide montre que des inhibiteurs sélectifs basés sur la nNOS existent et présentent des profils pharmacologiques prometteurs. Un [autre travail rapporte](#) le processus d'inhibition de la synthèse neuronale de l'oxyde nitrique (nNOS) et indique la relation régionale avec le nerf sympathique. Ces données sont discutées dans l'article en référence

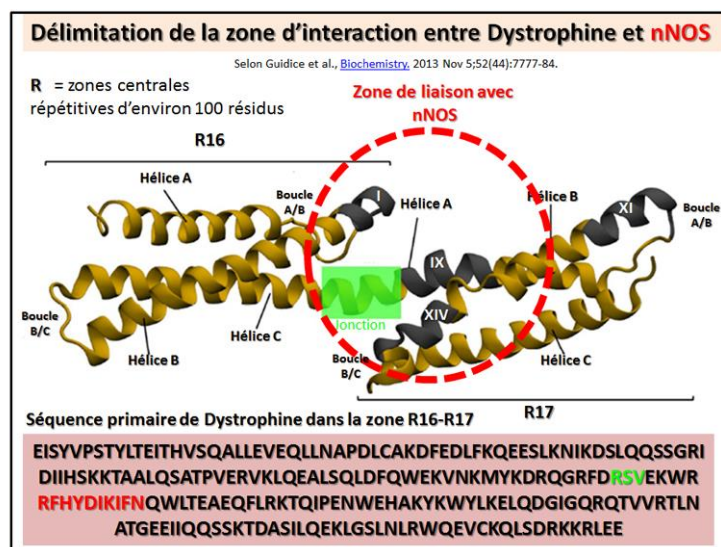
Il [existe bien par ailleurs une cascade de signalisation](#) impliquant nNOS/NO/sGC/cGMP au cours de la sensibilisation à la cocaïne et dans les altérations associées de l'hippocampe. L'[effet de la supplémentation alimentaire](#) en donneur d'oxyde nitrique et le processus d'inhibition sur l'expression de la nNOS sont décrits en détail au niveau de la motilité de l'intestin grêle chez le poulet. Une évaluation de la dépendance du type de fibres musculaires de type en fonction de la forme neuronale de l'oxyde synthase contrôlée par [l'oxyde nitrique vasculaire chez le rat est rapportée en détail](#) au cours du fonctionnement à haute vitesse d'un tapis roulant sur lequel sont entraînés les animaux. Le facteur de nécrose tumorale (TNF) favorise la faiblesse des muscles squelettiques, en partie, en [inhibant la force spécifique des fibres musculaires](#). Ainsi les **signaux du TNF** émis par les neurones de type Nitric Oxyde Synthase et les espèces moléculaires dites « **ROS** » (=Espèces oxygénée réactives), favorisent la perte spécifique de la force développée par le muscle squelettique.

L'[expression de la forme neuronale](#) de la synthèse de l'oxyde nitrique (nNOS) est faible dans les zones du noyau dit « TRACTUS SOLITARIUS » chez des rats hypertendus dont le muscle squelettique est excité par réflexes. Une [analyse précise rapporte chez la souris déficiente en synthase nNOS](#) (de type Neuronale ; souris (nNOS)-knockout), le phénotype résultant sur les capillaires dans le muscle squelettique de l'animal.

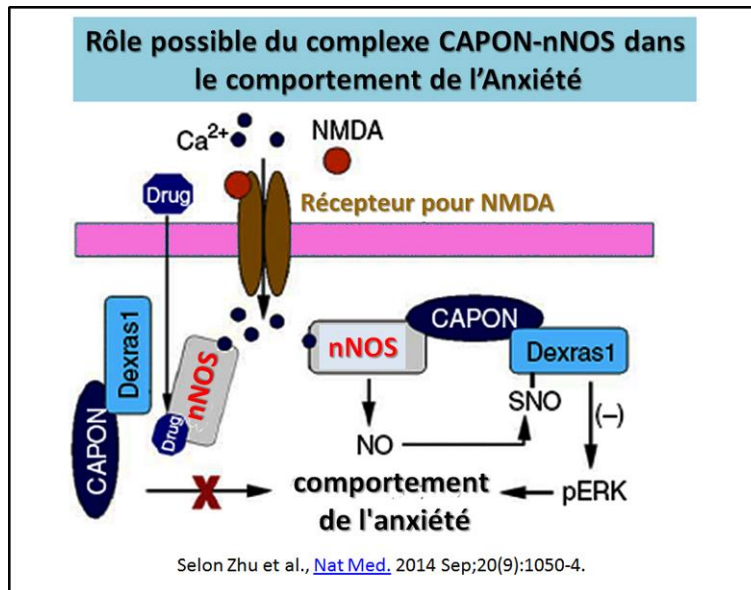


Un travail met l'accent sur le rôle des espèces réactives comme l'oxygène et **l'oxyde nitrique** dans [la réponse inotrope positive à l'étirement mécanique](#) dans le myocarde de mammifère. Ainsi les effets de la NOS neuronale et la production de l'oxyde nitrique ont été enregistrés sur le [diamètre de l'artère coronaire humaine](#) et sur la circulation sanguine in vivo. La calmoduline est susceptible de [réguler la NO synthase](#). En 2010 une revue présente selon

[l'organisation séquentielle de la NO synthase](#) un résumé des connaissances acquises sur l'activité de cette protéine et en particulier son organisation spatiale avec un schéma récapitulatif pour bien identifier le site de liaison à la calmoduline ainsi que de manière bien individualisée les 2 régions « réductase » et « Oxygénase » de la protéine ainsi que le potentiel mécanisme de fonctionnement. Un schéma résume cet agencement et se trouve présenté dans le schéma ci-contre. Présenté en insert figure également une illustration qui permet de visualiser sur la portion de la NO synthase dédiée à **l'interaction avec la Calmoduline** et ses atomes de calcium associés (indiqué par des Sphères colorées en rouge) et la partie juste voisine constituée par la zone dite « FMN » colorée en doré. Ce travail montre l'impact de la liaison de la calmoduline sur le dimère de NO synthase et les changements de conformations induits. (Voir détails dans la référence indiquée. Le schéma total présenté ci-contre résume l'association centrée sur la partie de la NO synthase en contact avec la Calmoduline



Par ailleurs en 2013, un [nouveau regard sur les changements du rapport des protéines du cytosquelette](#) comme NOS-1 et le β -Dystroglycane au cours du développement et du contrôle des muscles et du cerveau chez la souris dystrophique MDX. Ainsi les approches [théoriques de la relation Dystrophine et nNOS](#) s'affinent. Une illustration **de la liaison de nNOS** sur la Dystrophine au niveau de la jonction des zones répétitives R16 et R17 voir détails **dans l'article en référence** donne des informations sur l'organisation de cette zone en triples hélices au sein de la Dystrophine ainsi que sur les résidus en interaction avec la synthase nNOS.



Le complexe CAPON-nNOS semble pouvoir être une nouvelle cible à développer pour lutter [contre l'anxiété et la nervosité](#). Une illustration permet de mieux appréhender la cascade de signalisation produite par une activation de la NO synthase avec une forte production de dérivé NO ce qui conjointement avec une présence de calcium va aboutir à un contrôle à distance sur l'anxiété.

En 2015, les [conséquences de la perte de la protéine nNOS](#) sont revisitées. Analyse de l'inhibition de la compensation hypertrophique musculaire avec exacerbation de l'inflammation et de l'altération musculaire accrue suite à une contraction dite « excentrique » chez la souris mdx.

En 2017 une étude confirme **que la nNOS** est susceptible de [réguler la fatigue des muscles squelettiques](#). Cela implique une analyse détaillée sur le type de fibre, l'organisation des microtubules et l'efficacité de la synthèse de l'ATP mitochondriale par le biais de mécanismes cGMP-dépendants. Puis une **nouvelle stratégie pour palier au déficit en NO est engagée**. Car selon ce travail le fait de tenter de compenser l'activité réduite de la synthèse de l'oxyde nitrique de type neuronal avec une supplémentation en nitrate qui [ne peut pas surmonter la dysfonction métabolique](#), mais aurait plutôt des effets nuisibles sur un muscle mdx déficient en dystrophine.

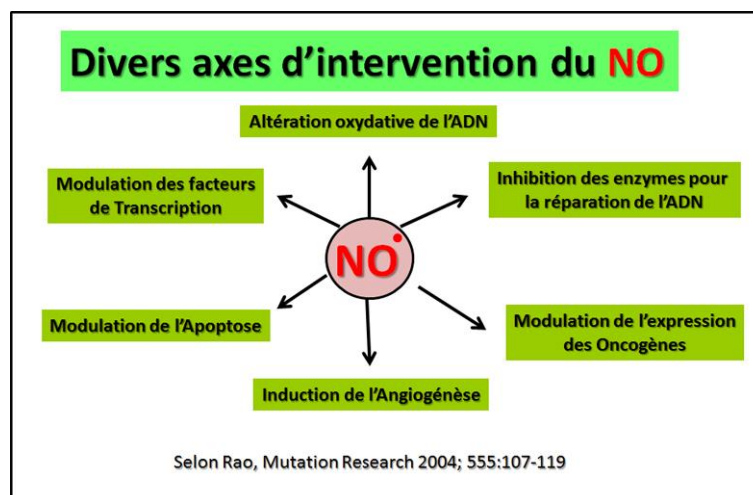
Par ailleurs il sera mis en évidence que [via l'activation de la voie nNOS / AMPK / mTOR](#) on peut favoriser l'autophagie **contre la lésion de reperfusion ischémique** en cas de postconditionnement ischémique myocardique. De plus il semble que [l'activation de la voie de signalisation impliquant le récepteur adrénergique beta3-\(AR\)-nNOS-NO](#) permet au cours **d'exercices musculaire aérobie** de protéger contre une hypertrophie et un dysfonctionnement cardiaque induit par une pression accrue. Puis la même année une étude confirme que [l'oxyde nitrique synthase de type neuronal intervient dans l'absorption du glucose](#) qui est induit par le stress oxydatif et l'insuline dans les myotubes des muscles squelettiques.

La synthèse n-NOS et les pathologies

Le stress oxydant est associé à la production du NO et cela implique une possible participation de la n-NOS dans des pathologies [tels la maladie d'Alzheimer](#). L'oxyde nitrique (NO) joue un rôle ubiquitaire dans le corps humain au niveau du contrôle et de la fonction de tous les organes, et cela évolue avec [l'âge des individus](#) de façon plus marquée dans le système nerveux central (CNS). Il existe en effet une corrélation entre le mal de tête et la [production de NO dans les cas de migraine](#). Ainsi, il a été observé chez des souris génétiquement déficiente en iNOS [une susceptibilité à une « encéphalomyélites expérimentale auto-immune »](#), (EAE), avec cependant absence de l'implication du NO dans ce processus.

Dans ce travail les effets de la [mutation concernant les résidus Asp-369 et Arg-372](#) sur l'environnement de l'hème et sur la fonction de la synthase endothéliale de l'oxyde nitrique humaine ont été analysés par mutagenèse dirigée. Ces résidus semblent donc important pour la stabilisation de la partie « HEME de la synthase mais aussi pour la formation du dimère.

La protéine [NO synthase neuronale \(NOS1\)](#) est en 1999 proposée comme un **gène candidat majeur** pour l'**asthme**. La caractérisation chez les souris de la [synthase de type nNOS2](#), un **variant naturel de synthase neuronale** qui va produire de l'oxyde nitrique dans le système nerveux central va se trouver être le résultat d'un épissage alternatif sélectif. La **production d'oxyde nitrique** protège [contre l'inflammation intestinale](#). Un contrôle de l'[expression des isoformes de l'oxyde nitrique synthase](#) (les formes **NOS1** et **NOS3**) a été analysé en détail dans l'article en référence.



Il existe alors en 2003, un travail qui rapporte une corrélation entre [la maladie de Parkinson](#) et des polymorphismes dans les **gènes des synthases nNOS** et **iNOS**. Un autre cas est l'analyse des bases moléculaire de l'[hyperactivité de la NO synthase neuronale](#) en étudiant la mutation du tryptophane 409 (W409) pour des résidus tels la phénylalanine (F) et/ou la tyrosine (Y). L'oxyde nitrique synthase (de type NOS2) mutée (**S714P**) chez les rats Dahl / Rapp s'accompagne d'une [diminution de la stabilité](#) de l'enzyme. La signalisation de l'oxyde nitrique est [impliquée comme un processus important](#) durant dans la chimioprévention au cours du traitement d'un cancer du côlon. En détail dans ce travail le rôle du NO a été étudié dans le processus d'initiation d'une tumeur et dans sa progression. On implique le NO directement dans son action sur la dégradation de l'ADN et dans son intervention au niveau de l'étape de réparation de l'ADN. Cela va de plus bloquer l'apoptose et contribuer à une angiogenèse. L'ensemble de ces divers axes où intervient le NO sont résumés dans une illustration présentée ci-contre.

Le flux sanguin rénal chez des souris de de type sauvage avec des [animaux déficients pour nNOS, et eNOS](#) présentent des réponses corticales et médullaires spécifiques à la protéine L-NAME et à l'entité ANG II. Une [délétion du gène eNOS induit](#) un plus grand impact sur la circulation pulmonaire **chez les souris mâles** que chez les souris femelles. De nouvelles analyses portent sur l'[étude du polymorphismes](#) des diverses versions de la **synthase NOS et l'asthme** au sein de la population chinoise, (cas pour NOS1 du résidu C5266T et pour NOS3 du résidu G894T). Une autre étude porte sur l'Influence du gène codant pour la [forme endothéliale de l'oxyde nitrique synthase](#) et son influence sur la pression artérielle conventionnelle et ambulatoire.

En 2006, c'est la déficience en NO synthase de type 2 (NOS2) favorise [de multiples pathologies](#) dans un modèle de souris pour la maladie d'Alzheimer. Cette année-là on va proposer **un nouveau rôle** émergeant pour la [NO synthase de type neuronal dans la régulation de la fonction cardiaque](#). Une étude rapporte le cas d'un [haplotype pour la synthase NOS-III](#) avec polymorphismes fonctionnels qui est associée à un trouble bipolaire. Par ailleurs une autre forme d' haplotype pour la forme [neuronale de la NO synthase \(NOS-I\)](#) est décrite comme associée à la schizophrénie avec modification de la fonction du cortex préfrontal.

En 2008, l'oxyde nitrique synthase neuronale est également proposé comme [un régulateur basal](#) pour la tonicité du système micro vasculaire chez l'homme in vivo. Par ailleurs la synthase NOS1 se trouve [corrélée avec la maladie d'Alzheimer](#) en rapport avec le type de promoteur pour l'expression de cette protéine (détail dans la référence indiqué).

En 2009, Une étude originale démontre une influence du variant fonctionnel de la synthase neuronale de l'oxyde nitrique sur [les comportements impulsifs](#) chez les humains. Une année plus tard dans les cas de péritonite aigue l'implication des [différentes isoformes de NO synthase](#) est démontrée comme **jouant des rôles bien distincts**

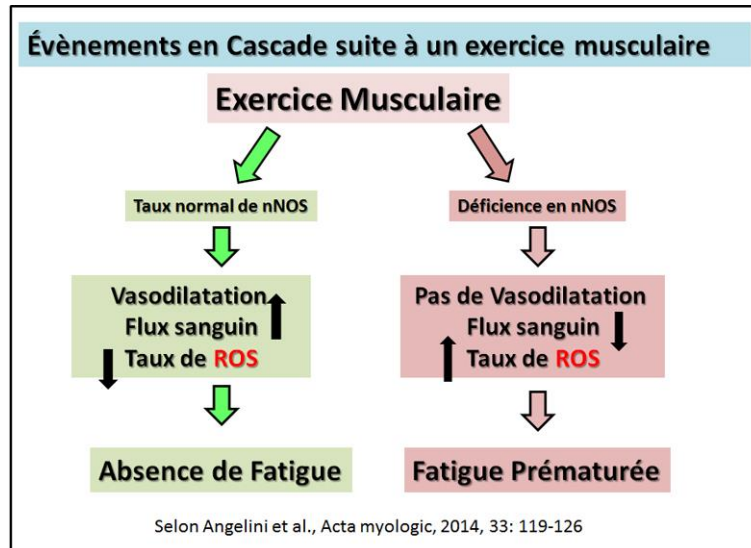
Une nouvelle analyse génétique de l'association des polymorphismes fonctionnels dans le contexte [des différentes isoforme de NO synthase](#) (NOS1) avec troubles de l'humeur et la réponse de la [Fluvoxamine](#) dans le trouble dépressif majeur **fait l'objet chez la population japonaise** d'un travail dont le référence est indiquée ici. Un **bilan** du rôle et de la fonction de [la NO synthase](#) est réalisé dans le cas normal, défectueux et/ou hypertrophique d'un cœur.

En 2011, une nouvelle analyse sur une [cohorte de patients \(574 sujets\) ayant une maladie d'Alzheimer](#) permet de mieux cerner la relation entre la maladie et la fonction de la NO synthase. **Par ailleurs, de plus amples données** sont nécessaires pour permettre de cibler une pathologie avec la déficience en n-NOS. Cependant on peut trouver depuis Juin 2011 une revue qui fait le point sur la signalisation autour de la nNOS et qui démontre que l'inhibition via la [PDE 5A](#) (Phosphodiesterase 5A) semble une [approche bénéfique pour traiter les déficiences cardiovasculaire du DMD](#). (Voir également dans ce même livre revue sur le large éventail d'utilisation de ce produit comme une drogue).

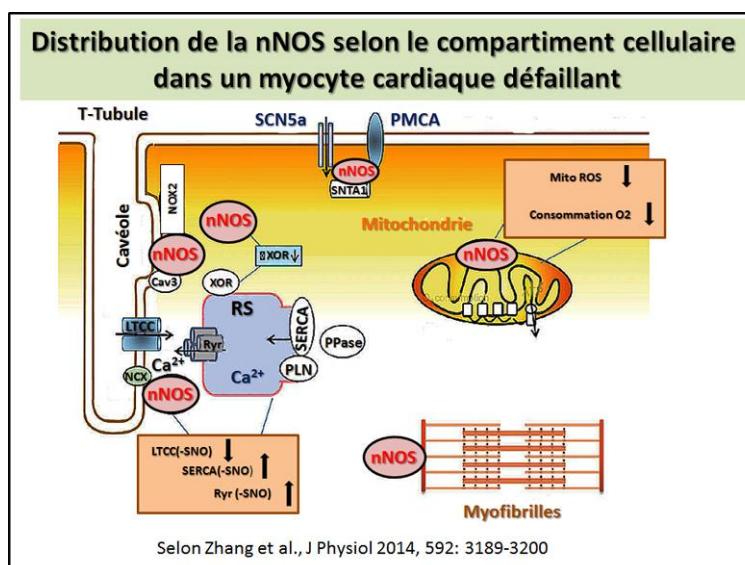
En 2012, un bilan est disponible dans ce travail sérieux et original sur le [ciblage subcellulaire de la NOS](#) en regard avec la santé et la maladie. Un nouveau travail indique les [différentes associations d'une variante fonctionnelle](#) du gène codant pour l'oxyde nitrique synthase 1 avec la personnalité, l'anxiété et la dépression.

En 2013, une étude récente propose une [Analyse de la souris déficiente en n-NOS](#) et détermine les altérations que cela va entraîner. L'[activation sympathique de la synthase eNOS](#)

augmente la **libération de NO** mais ni les synthèses eNOS et/ou nNOS ne jouent de rôle essentiel dans l'exercice en hyperémie (augmentation du flux sanguin musculaire qui se produit pendant l'activité musculaire), au niveau de l'avant-bras chez l'homme. Par ailleurs, la [régulation du flux sanguin coronaire](#) augmente au cours de stimulation induite par la charge de travail cardiaque et cela est rapporté à la présence respective des NO synthase de type eNOS et nNOS.



En 2014, l'absence de la version mNos2 et le remplacement de [la NO synthase de type NOS2 chez l'homme](#) est étudiée dans différents modèles de la **maladie d'Alzheimer**. Une étude porte sur la [libération de l'oxyde nitrique](#) et sa possible implication dans la **néphropathie diabétique**. La fatigue musculaire, l'atrophie musculaire, et [la NO synthase nNOS](#) sont étudiés conjointement dans les fibres musculaires atteintes de **dystrophie musculaire des ceintures (LGMD)**. Un schéma simplifié donne la cascade d'évènements consécutif à la bonne présence de la nNOS versus le cas d'une déficience comme dans celui d'une pathologie LGMD.

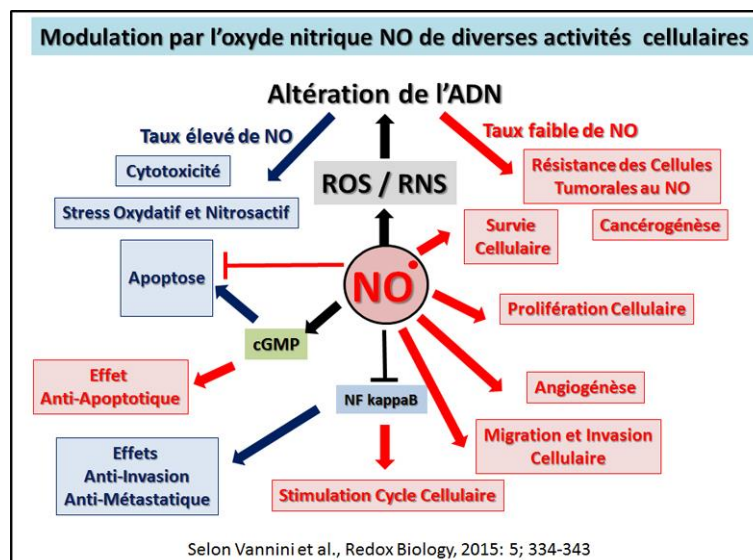


Un autre travail relate l'importance de la [signalisation due à l'oxyde nitrique](#) lui-même dans le **développement** et **l'évolution du langage** et des **circuits cognitifs**. Les [mécanismes](#)

[moléculaires de la synthase neuronale de l'oxyde nitrique](#) au niveau de la **fonction cardiaque** et de sa physiopathologie sont abordés avec de nombreuses nouvelles perspectives dans l'article en référence. L'expression de la synthase nNOS et son activité augmente dans un myocarde défaillant, la nNOS se Trans localise de la membrane plasmique et interagit avec la Cavéoline-3 mais se dissocie du récepteur Ryr. Le NO produit par la synthase nNOS change les activités des protéines dépendante du calcium via une S-nitrosylation. L'expression spécifique de la synthase nNOS est associée avec une localisation croissante de la nNOS dans les mitochondries ce qui module l'activité mitochondriale; L'ensemble de ces étapes est schématisée sur une seule illustration ou figure la localisation de la NNOS en rapport avec les principaux compartiments cellulaires du myocyte cardiaque défaillant.

Ainsi le [Ciblage le la NO synthase](#) comme une nouvelle approche thérapeutique **pour l'insuffisance cardiaque** sont abordée dans ce travail original. Une [forte densité en lipoprotéines](#) chez les patients ayant une maladie cardiaque valvulaire va se trouver associée avec un découplage de **l'oxyde nitrique synthase de type endothéliale eNOS**. Il est de plus à noter que les 27-30 paires de bases (pb) que représentent le nombre variable de répétitions en tandem (VNTR) au niveau de l'intron 4 du gène de la synthase NOS3 sont connus pour altérer l'expression de synthase eNOS et un tel polymorphisme est en rapport avec [la progression de la maladie rénale](#) chez patients atteints par la maladie polykystose rénale autosomique dominante

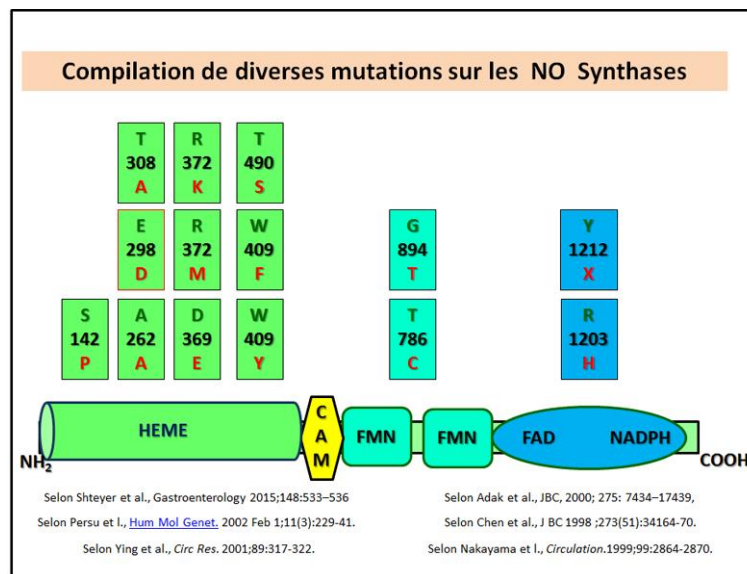
En 2015, [la mutation Y1202X](#) donne une **NO synthase tronquée** en association avec une pathologie désignée comme une **achalasie infantile**. Une étude sur la NO synthase de type NOS1 montre que [l'activité transcriptionnelle de NF-kB est favorisée](#) suite à une inhibition de supresseur de la signalisation de la cytokine. Cette voie de signalisation impliquant NF-kB est essentielle à la régulation de l'inflammation. Dans ce travail il est fait la démonstration que la faible production d'oxyde nitrique (NO) produit par les NO synthases (NOS1 ou nNOS) joue un rôle crucial dans la réponse inflammatoire en favorisant l'activité du NF-kB



Il existerait un [double rôle pour la forme iNOS](#) dans le processus **conduisant à un cancer**. De cette étude selon le taux de NO libéré on peut constater diverses activités cellulaires qui seront alors modifiées selon de multiples voies de signalisations. Un schéma récapitulatif dresse un

tel bilan et les détails peuvent en être consultés dans l'article en référence avec des informations supplémentaires.

Une récente mise à jour est faite dans ce [travail sur les Synthèses de l'oxyde nitrique](#) en rapport avec **l'immunité innée et/ou adaptative**. La forme (NOS1) et son adaptateur, NOS1AP, sont analysés soigneusement dans ce [travail en tant que facteurs de risque génétiques](#) pour les **troubles psychiatriques**. Une nouvelle analyse permet de définir des profils d'[expression non canoniques pour l'entité NOS](#) que constituent les **différentes synthèses du NO**. Avec ces nouvelles données les [résultats présentés permettent de valider un rôle de la NOS-I](#) dans phénotypes hyperactifs / impulsifs et appellent à de nouvelles études sur les fondements neurobiologiques de cette association entre **NOS1** et la présence de la forme dite **ex1f-VNTR**.



Mais comme indiqué plus haut il existe bien plusieurs mutations sur les NO synthases et une compilation des résultats permet de fournir à titre indicatif l'ensemble de ces mutations sur un schéma représentant le portrait-robot de la nNOS (Voir les nombreuses références incluses). On réalise facilement sur ce schéma que la plus fréquente distribution de mutations concernent la partie Heme essentielles à l'association des homodimère de cette protéine nNOS.

Avancées récentes

Dans cette nouvelle étude est présenté un suivi sur la fonction contractile du muscle chez la souris mdx d'une **tentative de rétablissement de la nNOS μ sarcolemmique**. Pour atteindre cet objectif, il est décrit une forme modifiée de nNOS μ (NOS-M) qui est ciblée sur le sarcolemme par une palmitoylation, qui est fonctionnelle même en l'absence du complexe des protéines associées à la **Dystrophine**. Pour cela comme indiqué dans l'article en référence le transgène produit pour cette étude **possède une séquence de signaux de palmitoylation C-terminale obtenue à partir de l'oncogène K-ras** pour cibler cette version de nNOS μ au sarcolemme. Ainsi exprimé dans le muscle squelettique de la souris la forme (NOS-M) est capable d'atténuer considérablement **la perte de force due aux effets délétères des contractions excentriques et des contractions isométriques répétitives** (fatigue), tout en améliorant la récupération de vigueur après la fatigue. Par contre l'expression de nNOS μ non modifié à des niveaux similaires ne conduit pas à l'association sarcolemmique et ne parvient

pas à améliorer la fonction musculaire. Mis à part les avantages de la localisation sarcolemmique de la production de NO, la forme (NOS-M) permet également d'augmenter les niveaux à la surface de la membrane de l'**Utrophine** et des autres protéines complexes des protéines associées, à savoir le **Bêta-Dystroglycane**, l'**Alpha-Syntrophine** et la **Dystrobrevine**. Ces résultats suggèrent ainsi que [l'expression de la forme NOS-M dans le muscle squelettique peut être thérapeutiquement bénéfique](#) dans la pathologie DMD et d'autres maladies musculaires caractérisées par la perte de nNOS μ au niveau du sarcolemme.

En 2020, de nouvelles données sur les [implications neurophysiologiques de l'oxyde nitrique synthase neuronal](#). Dans cette revue, il a été résumé des études récentes qui ont caractérisé les propriétés structurales, la localisation subcellulaire et les facteurs qui régulent la fonction nNOS. Enfin, cette revue discute du rôle de nNOS dans le cerveau en développement dans un large éventail de conditions physiologiques, en particulier la potentialisation à long terme et la dépression.

En 2021, il est indiqué [ici que MiRNA-1202 favorise la prolifération, la différenciation et la production de collagène des fibroblastes cardiaques induites par le TGF- \$\beta\$ 1 en ciblant la nNOS](#). L'expression de MiR-1202 a augmenté de manière évidente dans les HCF et était à la fois indépendante du temps et de la dose. MiR-1202 peut augmenter la prolifération et les niveaux de collagène I, collagène III et α -SMA avec ou sans TGF- β 1. MiR-1202 pourrait également augmenter les niveaux de protéines TGF- β 1 et p-Smad2/3 par rapport au groupe témoin. Cependant, ces niveaux ont été manifestement réduits après la transfection de l'inhibiteur. MiR-1202 cible nNOS pour la régulation négative de la fibrose des HCFs en diminuant la différenciation cellulaire, le dépôt de collagène et l'activité de la voie TGF- β 1/Smad2/3. La co-transfection de l'inhibiteur du miR-1202 et du siRNA de la nNOS a inhibé l'expression de la protéine nNOS, augmentant ainsi la prolifération des HCFs. **En outre, la co-transfection de l'inhibiteur du miR-1202 et du siRNA de la nNOS a favorisé de manière significative l'expression des protéines de collagène I, collagène III, TGF- β 1, Smad2/3 et α -SMA, ainsi que la phosphorylation de la protéine Smad2/3.** Ces résultats suggèrent que le miR-1202 favorise la transformation des HCF en un phénotype profibrotique en ciblant la nNOS par l'activation de la voie TGF- β 1/Smad2/3.

En 2022, ce travail concerne [la cavéoline 3 qui supprime l'activation dépendante de la phosphorylation de la nNOS sarcolemmale](#). Des mutations du gène de la cavéoline 3 sont à l'origine de la dystrophie musculaire des ceintures autosomique dominante (LGMD)1C. Chez la souris, la surexpression de la cavéoline 3 mutante entraîne la perte de la cavéoline 3 et provoque une hypotrophie des myofibres en association avec l'activation de l'oxyde nitrique synthase neuronale (nNOS) au niveau du sarcolemme. Il est montré ici que la cavéoline 3 se lie directement à la nNOS et supprime son activation dépendante de la phosphorylation à un résidu spécifique, Ser1412 dans le module nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH)-flavine adénine dinucléotide (FAD) près de l'extrémité C-terminale du domaine de réduction, in vitro. La nNOS active de façon constitutive favorise la fusion des myoblastes, mais pas la myogenèse, in vitro. L'activation de la nNOS dépendante de la phosphorylation s'est produite dans les muscles de souris mutantes pour la cavéoline 3 et de patients atteints de LGMD1C. L'accouplement avec des souris mutantes nNOS a exacerbé l'hypotrophie des myofibres chez les souris mutantes cavéoline 3. Chez les souris mutantes nNOS, les myofibres régénérées après une blessure à la cardiotoxine sont devenues hypotrophiques avec une fusion réduite des myoblastes. L'administration d'un donneur de NO a augmenté la taille des myofibres et le nombre de myonoyaux chez les souris mutantes pour la cavéoline 3. L'exercice physique a également augmenté la taille des myofibres, accompagné d'une

activation dépendante de la phosphorylation de la nNOS chez les souris de type sauvage et les souris mutantes pour la cavéoline 3. Ces données indiquent que la cavéoline 3 inhibe l'activation dépendante de la phosphorylation de la nNOS, ce qui conduit à l'hypertrophie des myofibres en augmentant la fusion des myoblastes. La signalisation hypertrophique par la phosphorylation de la nNOS pourrait agir de manière compensatoire dans les muscles déficients en cavéoline 3.

En 2023, ce travail porte sur [les nerfs nitrergiques et purinergiques dans le plexus myentérique de l'intestin grêle et le muscle circulaire de la souris et du cochon d'Inde](#). L'ATP est un neurotransmetteur excitateur et inhibiteur, tandis que l'oxyde nitrique (NO) est un neurotransmetteur inhibiteur dans le système nerveux entérique (ENS). Il est utilisé un anticorps de transporteur vésiculaire de nucléotides (SLC17A9, VNUT) et un anticorps de synthase d'oxyde nitrique (NOS) pour identifier les nerfs purinergiques et nitrergiques dans l'iléon de la souris et de la guinée. Souris : L'immunoréactivité (ir) VNUT a été détectée dans les fibres nerveuses des ganglions myentériques et du muscle circulaire. Les fibres VNUT-ir entourent les neurones à choline acétyltransférase (ChAT), à oxyde nitrique synthase (nNOS) et à calrétinine-ir. Les corps cellulaires nerveux VNUT-ir n'ont pas été détectés. Des nerfs à tyrosine hydroxylase (TH) ir ont été détectés dans les ganglions myentériques et le plexus tertiaire. Cochon d'Inde : VNUT-ir a été détecté dans les neurones et les fibres nerveuses et n'a pas chevauché les fibres nerveuses NOS-ir. VNUT-ir a été détecté dans les fibres nerveuses des ganglions mais pas dans les corps cellulaires des nerfs. Les fibres nerveuses VNUT-ir entourent les neurones NOS-ir et NOS-. Les fibres nerveuses NOS-ir et VNUT-ir ne se chevauchent pas dans les ganglions myentériques ou le muscle circulaire. Les nerfs VNUT-ir entourent certains neurones ChAT-ir. Les fibres nerveuses VNUT-ir et ChAT-ir ont été détectées dans des nerfs distincts dans la CM. Les fibres nerveuses VNUT-ir entourent les neurones calrétinine-ir : **Les neurones VNUT-ir médient probablement la signalisation purinergique dans les ganglions myentériques de l'intestin grêle et le muscle circulaire.** L'ATP et le NO sont probablement libérés par différents motoneurones inhibiteurs. Les interneurones VNUT-ir et ChAT-ir assurent la médiation de la transmission synaptique cholinergique et purinergique dans le plexus myentérique.

En 2024, avec cette étude il apparaît que [le peptide-2 de type glucagon déprime la contractilité iléale dans des préparations de souris par des effets modulateurs opposés sur la neurotransmission nitrergique \(via nNOS\) et cholinergique](#). Il a été rapporté que le peptide-2 de type glucagon (GLP-2) influence les réponses motrices gastro-intestinales, en exerçant un rôle modulateur sur la neurotransmission entérique. A notre connaissance, il n'existe pas de données sur les effets du GLP-2 sur la motilité de l'iléon isolé. Il a donc été recherché à savoir si le GLP-2 affectait l'activité contractile des préparations iléales de souris et les neurotransmetteurs impliqués. Les préparations iléales ont montré une activité contractile spontanée insensible à la tétradoxine (TTX) et à l'atropine, qui n'a pas été affectée par l'inhibiteur de la synthèse de l'oxyde nitrique, le L-NNA. Le GLP-2 a déprimé la contractilité spontanée, un effet qui a été aboli par la TTX ou le L-NNA et qui n'a pas été influencé par l'atropine. La stimulation du champ électrique a induit des réponses contractiles sensibles au TTX et à l'atropine, dont l'amplitude a été réduite par le GLP-2, même en présence de L-NNA. **Les résultats immunohistochimiques ont montré une augmentation significative des fibres positives pour la nNOS dans la paroi musculaire iléale et une diminution significative des neurones myentériques positifs pour la ChAT dans les préparations exposées au GLP-2.** Les présents résultats offrent la première preuve que le GLP-2 agit sur les préparations iléales. L'hormone semble déprimer la contractilité iléale par un double effet modulateur opposé sur la neurotransmission nitrergique inhibitrice et cholinergique excitatrice. D'un point de vue physiologique, on peut émettre l'hypothèse que les actions inhibitrices du GLP-2 sur la contractilité iléale peuvent augmenter le temps de transit, facilitant ainsi l'absorption des nutriments.

En 2025 cet article concerne ici [la dialectique entre nNOS/NO et COX-2 renforce la progression du mélanome stimulée par l'interféron gamma](#). Ces analyses omiques ont révélé que l'induction de COX-2 était significativement prédictive du traitement IFN- γ dans les cellules de mélanome. En présence d'IFN- γ , la PGE2 a renforcé l'expression de PD-L1 et amplifié l'induction de la nNOS, ce qui a augmenté les niveaux intracellulaires de NO. **Le couplage avec le célécoxib a efficacement diminué ces changements induits par la PGE2.** En outre, le blocage de la nNOS à l'aide d'un inhibiteur sélectif de petite molécule (HH044) a permis d'inhiber efficacement les niveaux d'expression de PGE2 et de COX-2 induits par l'IFN- γ dans les cellules de mélanome. La napabucasine, un inhibiteur de STAT3, a également inhibé l'expression de COX-2 en présence et en l'absence d'IFN- γ . En outre, il a été démontré que le célécoxib renforce la cytotoxicité de HH044 in vitro et inhibe efficacement la croissance des tumeurs de mélanome humain in vivo. Le traitement du HH044 a également réduit de manière significative les niveaux de PGE2 dans les tumeurs in vivo. Conclusions : cette étude démontre la boucle de rétroaction positive reliant la signalisation du NO médiée par la nNOS à l'axe de signalisation COX-2/PGE2 dans le mélanome, ce qui potentialise davantage l'activité pro-tumorigène de l'IFN- γ .

En conclusion

Pour suivre l'évolution des connaissances sur **l'enzyme n-NOS et ses diverses isoformes** il existe des banques de données récentes qui sont automatiquement mises à jour qui répertorient :

1. A) **l'enzyme n-NOS dans ses diverses versions** avec son lot de références historiques.
2. B) Les principales maladies actuellement connues qui résultent d'une mutation ou d'un défaut dans la protéine considérée (avec des références associées).

Protéine : NITRIC OXIDE SYNTHASE 1; [NOS1](#)

Pathologies associées: Pas décrite à ce jour (2015).

Protéine : NITRIC OXIDE SYNTHASE 2A; [NOS2A](#)

Susceptibilité à une Hypertension, résistance à la Malaria,

Protéine : NITRIC OXIDE SYNTHASE 2B; [NOS2B](#)

Protéine : NITRIC OXIDE SYNTHASE 2C; [NOS2C](#)

Pathologies associées: Pas décrite à ce jour (2015).

Protéine : NITRIC OXIDE SYNTHASE 3; [NOS3](#)

Pathologies associées: [ALZHEIMER DISEASE](#), FAMILIAL, 1, INCLUDED; AD1, INCLUDED; HYPERTENSION, [PREGNANCY-INDUCED](#), INCLUDED; [HYPERTENSION](#), ESSENTIAL; [STROKE](#), ISCHEMIC.