

Pharmacologie du monoxyde d'azote

I- Introduction

Le monoxyde d'azote, ou oxyde nitrique (NO), est un médiateur paracrine synthétisé par les cellules endothéliales et par de nombreux autres types cellulaires.

II- Domaine du NO

Le NO peut être libéré par de nombreuses cellules :

- en tant que neuromédiateur :

- Par des terminaisons présynaptiques neuronales du système nerveux central, au niveau du cervelet, de l'hippocampe et du bulbe olfactif ;
- Par des terminaisons présynaptiques des fibres centrifuges postganglionnaires du système nerveux autonome non adrénérique-non cholinergique (NANC), au niveau du tube digestif, de la vessie, des organes génitaux, de la rétine, des surrénales.

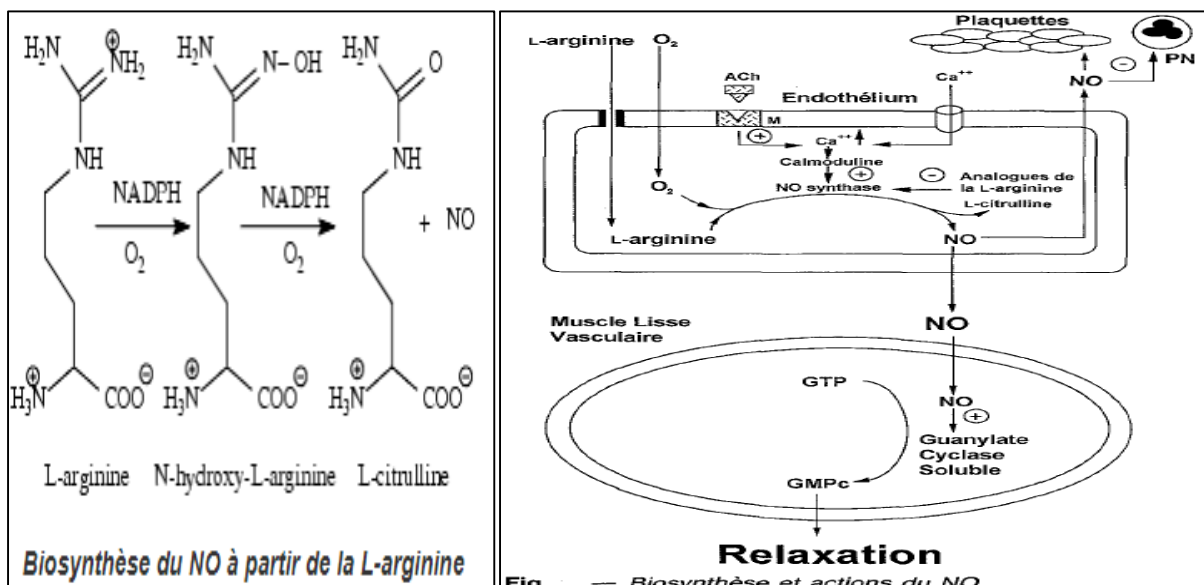
- en tant qu'hormone locale :

- Par les cellules de l'endothélium vasculaire (surtout) ;
- Par les plaquettes, les ostéoblastes et ostéoclastes, les macrophages et neutrophiles, les fibroblastes.

III- Étude du NO :

1- Biosynthèse

Le NO est synthétisé à partir de la L-arginine et de l'oxygène moléculaire (O₂). Cette réaction est catalysée par la NO synthase, enzyme également responsable de la synthèse de la L-citrulline.



La NO-synthétase (NOS) existe sous deux formes:

→ ***NOS constitutive***

Son activité est permanente et elle a un rôle physiologique. Elles sont activées par le complexe Ca^{2+} /calmoduline et entraînent une libération de NO (mesuré en picomoles) immédiate et de courte durée.

Deux sous-types, de fonctionnement semblable, sont distingués sur des bases biochimiques :

- La nNOS ou NOS I est située dans le cytosol des neurones ;
- La eNOS ou NOS III est située dans le cytosol des cellules endothéliales.

Les NOS constitutives sont activées par un mécanisme complexe suite à :

- la stimulation de récepteurs propres, dont les agonistes sont le glutamate, l'acétylcholine, la bradykinine, la substance P, l'ADP ;
- des stimulations mécaniques (pulsations vasculaires) ou chimiques (polylysine).

→ ***NOS inductible***

La NOS inductible ou iNOS ou NOS II est présente dans le cytosol de nombreuses cellules du système immunitaire (macrophages, cellules de KUPFER, polynucléaires neutrophiles), des fibroblastes, etc.

Son activité est intermittente et elle a un rôle physiopathologique. L'induction de cette NO-synthase par effet génomique nécessite un délai de plusieurs heures mais la NO-synthase induite est immédiatement active après sa synthèse, en absence de calcium, et entraîne une libération prolongée et très importante de NO (se mesure en nanomoles).

Elle est induite par des cytokines notamment l'interféron γ , qui peut être potentialisé par l'interleukine 1β et le *tumor necrosis factor* α et par des liposaccharides bactériens. Elle est inhibée par les corticoïdes ainsi que par certaines cytokines (facteur de croissance β).

2- Libération:

Dès sa synthèse, le NO diffuse sous forme gazeuse; synthèse et libération sont simultanées et il n'y a pas de stockage de NO dans les tissus. Il y a une libération basale continue de NO qui, par la vasodilatation qu'il exerce, participerait à la régulation de la pression artérielle.

Le NO diffuse à travers les membranes et pénètre dans toutes les cellules voisines de celles qui le libèrent. Libéré par l'endothélium vasculaire, il pénètre dans les fibres vasculaires lisses. Libéré par les terminaisons présynaptiques neuronales, il diffuse dans les éléments postsynaptiques et, d'une manière rétrograde, dans les terminaisons présynaptiques qui l'ont libéré et augmente la libération de glutamate.

3- Catabolisme

Le NO est une molécule gazeuse instable qui dans l'organisme est transformée spontanément, en raison de la présence d'oxygène, en nitrite NO_2^- puis en nitrate NO_3^- .

$\text{NO} \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$

Le NO, qui est un gaz, peut facilement diffuser dans l'organisme. Il est capté par des transporteurs, notamment de manière réversible par l'hème des globules rouges, ce qui limite sa toxicité.

En cas de libération massive, ce mécanisme peut être débordé ; le NO serait alors capable de se fixer sur des protéines (nitrosylation) et de provoquer des dégâts cellulaires.

4- Récepteurs et couplage

Le NO agit soit dans la même cellule (autocrines), soit dans des cellules voisines (paracrines). Il active la guanidyl-cyclase, ce qui entraîne la formation d'un deuxième messenger, le guanidyl-mono-phosphate cyclique (GMPc). Celui-ci :

- Agit directement sur des canaux ioniques ;
- Phosphorile des protéines-kinases (muscle lisse, plaquettes) ;
- Stimule certaines phosphodiésterases (cœur, hippocampe) ;
- Inhibe certaines phosphodiésterases (cœur, plaquettes).

5- Effets et rôles du NO

→ Effets et rôles physiologiques

- effets centraux : mémoire à long terme, nociception, appétit ;
- effets végétatifs : vidange gastrique, érection ;
- effets vasculaires :
 - vasodilatation et régulation de la circulation locale, notamment cérébrale, pulmonaire et coronaire ; en cas de forte production, hypotension ;
 - diminution de la prolifération cellulaire endothéliale ;
- effets plaquettaires : diminution de l'adhésivité et de l'agrégabilité ;
- effets immunitaires: activation des macrophages et des leucocytes, apoptose.

→ Rôles physiopathologiques

- chocs septiques : par excès de production de NO dû aux toxines bactériennes ; le NO est responsable du collapsus ;
- dégénération et mort neuronale : par production excessive suite à l'hyperstimulation glutaminergique, l'excito-toxicité et la formation de radicaux libres ; mécanisme supposé en cas d'ischémie cérébrale, de maladie de HUNTINGTON, de SIDA ;
- athérogénèse et thrombogénèse : en cas d'hypercholestérolémie, de diabète et d'hypertension artérielle, il est supposé qu'il y ait un déficit dans la formation de NO, ce qui favoriserait la vasoconstriction, la prolifération endothéliale et l'agrégation plaquettaire ;
- hypertrophie congénitale du pylore et achalasie de l'œsophage, en cas de déficit congénital en NOS.

IV- Médicaments du domaine du NO

1/Donneurs de NO : pro-drogue ↑ la quantité de NO au niveau du site d'action : dérivés nitrés et apparentés.

2/Potentialisateurs du NO :

→ Inhibiteurs sélectifs de la phosphodiésterase 5 (PDE5) Responsable hydrolyse du GMPc:
↑ GMPc.

→ Inhibiteurs de la NO synthase : recherche d'inhibiteurs sélectifs des différents isoformes : Contrôle du choc septique (premiers essais cliniques utilisant des inhibiteurs non-sélectifs décevants : mortalité cardiovasculaire!!!).

1- Les dérivés nitrés et les médicaments apparentés

Rappel sur l'angine de poitrine

L'angine de poitrine (angor, ischémie myocardique) se manifeste par une douleur intense au niveau du myocarde, survenant à l'effort, par une insuffisance d'oxygénation causée par un athérome au niveau des artères coronaires.

L'objectif du traitement anti-angineux est de rétablir une meilleure adéquation entre les apports et les besoins en oxygène du myocarde, pour cela il faut :

- Soit diminuer la consommation en oxygène du myocarde : il s'agit de réduire la tension pariétale, réduire la fréquence cardiaque et réduire l'inothropisme.
- Soit augmenter l'apport en oxygène au myocarde: augmenter la taille des vaisseaux coronariens (vasodilatation coronaire).
- Soit redistribuer du sang oxygéné au myocarde : rétablir une perfusion plus physiologique avec un rapport endocarde/épicarde proche de celui que l'on constate chez un sujet sain.

A- Les dérivés nitrés :

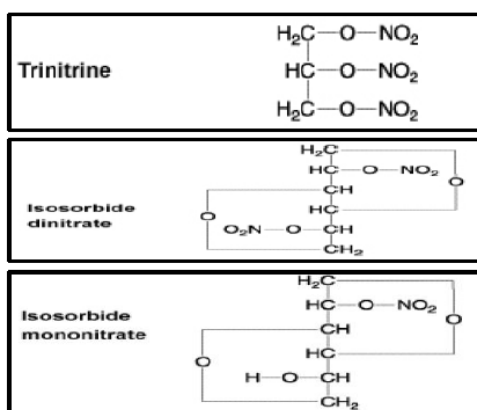
a) Médicaments existants : Il existe :

→ Trois dérivés nitrés utilisés dont la dénomination internationale est la suivante :

- la trinitrine ;
- l'isosorbide dinitrate ;
- l'isosorbide mononitrate ;

→ Deux modalités d'action :

- action rapide (trinitrine, isosorbide dinitrate) par voies sublinguale et injectable
- action prolongée (trinitrine, isosorbide dinitrate, isosorbide mononitrate) par voies orale et transdermique.



Le tableau indique les médicaments existants, ainsi que la forme galénique disponible, et leur utilisation pour le traitement aigu (action immédiate) ou chronique (action prolongée).

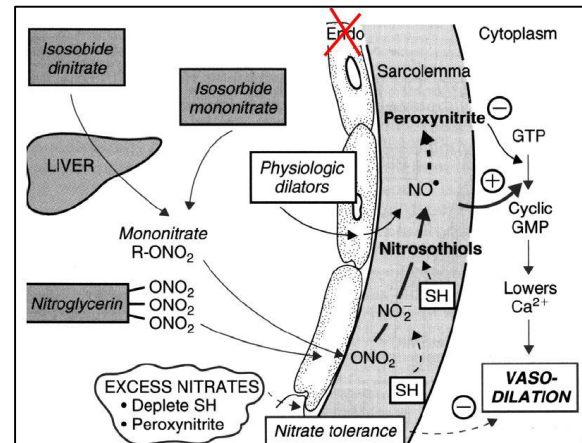
	D'action immédiate	D'action prolongée
Dérivés nitrés		
Trinitrine	- Solution pour pulvérisation buccale de 0,15 ; 0,30 et 0,40 mg/dose - Pilule enrobée de 0,15 mg à croquer - Solution pour perfusion IV à 1 mg/ml	Dispositif transdermique : 5, 10 et 15 mg/24 h
Isosorbide dinitrate	- Solution pour pulvérisation buccale de 1,25 mg/dose - Solution pour perfusion IV et intracoronaire de 10 mg/10ml	Gélules de 20 mg Gélules à libération prolongée de 20, 40 et 80 mg
Isosorbide mononitrate		Gélules à libération prolongée de 20, 40 et 60 mg

b) Mécanisme d'action:

La transformation des dérivés nitrés en NO nécessite la présence des molécules à groupe SH, telles que la cystéine et le glutathion, leur fixation sur les radicaux SH des protéines membranaires des muscles lisses vasculaires va conduire à une oxydation des radicaux en

SH-C-O-NO₂ (grâce à la glutathion-S-réductase) puis augmentation de groupements nitrosothiol [R-SNO] donneurs de NO.

Une fois produit, le NO active la guanylate cyclase soluble, augmentant les concentrations intracellulaires de GMPc. Dans les cellules musculaires lisses, ceci induit la déphosphorylation des chaînes légères de la myosine et diminue la concentration intracellulaire de calcium, entraînant une relaxation musculaire lisse dans de nombreux tissus. Cette action n'est donc pas spécifique au système vasculaire. Cependant, l'action relaxante sur les vaisseaux (vasodilatation) est prédominante aux doses thérapeutiques.



❖ **Phénomène d'échappement aux dérivés nitrés (phénomène de tolérance) :**

Il consiste en une atténuation de leur effet lorsqu'ils sont prescrits de façon continue à dose fixe dû à une déplétion dans la cellule musculaire lisse de groupes sulfhydryles (SH) indispensables à l'activation des radicaux NO₂ des dérivés nitrés en NO.

c) Effets pharmacodynamiques :

- *Dilatation coronaire* : ↑ débit coronaire : ↑ apport en O₂ ;
- *Dilatation veineuse* : ↓ retour veineux et de la pré-charge : ↓ consommation O₂ ;
- *Autres*: myorelaxation (fibres bronchiques, des voies biliaires, de l'urètre, du tractus digestif), vasodilatation des artéioles crâniennes et du cou/face.

d) Effets secondaires :

Nature de l'effet indésirable	Gravité	Estimation de la fréquence	En savoir plus sur l'effet indésirable
Céphalées	Modérée à sévère	Fréquent	Diminue habituellement en cours de traitement, ou en diminuant les doses. Se manifeste par des sensations vertigineuses, des lipothymies ou, exceptionnellement de syncopes. Est souvent associée à une tachycardie réflexe
Hypotension orthostatique	variable	Peu fréquent	
Vasodilatation cutanée avec érythème facial et bouffées de chaleur	modérée	Peu fréquent	

e) Modalités d'utilisation: Patch:

- Risque de tachyphylaxie → Fenêtre thérapeutique de 8 à 12h par 24h pour éviter le phénomène de tolérance : enlever la nuit ;
- Risque d'irritation, nécessité de changer de région cutanée ;

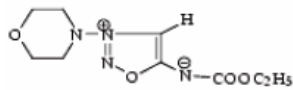
- A coller sur une surface cutanée saine, propre et peu poilue, exercer une pression avec la paume de la main pour une bonne adhésivité.

F) Interactions médicamenteuses :

- Inhibiteurs de phosphodiesterase de type 5 (sildénafil, tadalafil) : ces derniers vont augmenter les concentrations intracellulaires de cGMP, l'association à un dérivé nitré qui active la guanylate cyclase soluble est donc synergique et expose à des risques d'hypotension artérielle sévère ou de syndrome coronarien aigu. Il s'agit d'une contre-indication absolue ;
- L'association avec les anti-HTA, diurétiques, vasodilatateurs et l'alcool expose au risque de majoration d'hypotension artérielle.

B- Les apparentés aux dérivés nitrés:

a) Médicament existant :

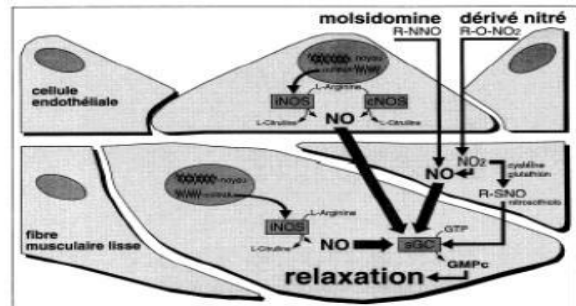


Molsidomine

Molsidomine

b) Mécanisme d'action:

Mécanisme d'action proche de celui des dérivés nitrés, ne nécessitent pas de métabolisme pour libérer du NO dans la cellule musculaire lisse de ce fait ils n'ont pas de phénomène d'échappement car elle ne nécessite pas de groupement SH.



c) Effets pharmacodynamiques :

À ses effets vasodilatateurs, la molsidomine ajoute un effet antiagrégant plaquettaire direct et une réduction de la synthèse du *platelet activating factor* (PAF-acéther) et du thromboxane A2 par une inhibition de la phospholipase membranaire.

d) Effets secondaires : Idem que pour les dérivés nitrés.

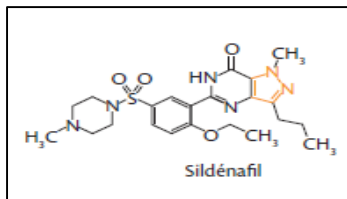
2- Les inhibiteurs de la phosphodiésterase 5 (IPDE5)

PDE5 → enzyme qui hydrolyse le GMPc en GMP

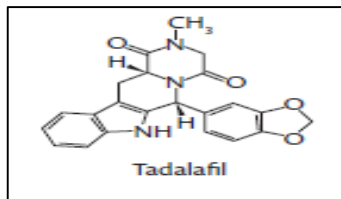
Pas de GMPc → pas de relaxation des muscles lisses vasculaires

a) Médicament existant :

Sildénafil, Tadalafil



Sildénafil



Tadalafil

Le sildénafil (Viagra®) et le tadalafil (Cialis®) sont utilisés dans la prise en charge médicale de la *dysfonction érectile*, qui peut être définie comme l'incapacité permanente ou récidivante à obtenir ou maintenir une érection suffisante pour l'accomplissement de l'acte sexuel.

En 2005, le sildénafil a obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) dans le traitement de *l'hypertension artérielle pulmonaire* (HTAP), sous le nom de Revatio®. Cette maladie se caractérise par l'augmentation progressive de la résistance vasculaire et de la pression artérielle pulmonaire, entraînant ainsi une dyspnée et donc une hypoxémie. L'HTAP est dû à une dysfonction endothéliale avec un déséquilibre entre une production diminuée de molécules vasodilatatrices (le monoxyde d'azote et la prostacycline) et une production augmentée de molécules vasoconstrictrices (l'endothéline ou le thromboxane A2).

b) Mécanisme d'action:

➤ Dans la dysfonction érectile

Physiologiquement, la stimulation sexuelle entraîne la libération de monoxyde d'azote (NO) par les cellules endothéliales des corps caverneux d'une part, et des neurones non adrénergiques et non cholinergiques d'autre part. Le NO diffuse au travers des fibres lisses des corps caverneux pour y activer la guanylate cyclase, formant de la GMPc à partir de la GTP. L'accumulation intracellulaire de GMPc active les protéines kinase G-1 (PKG-1), entraînant les cascades biochimiques suivantes :

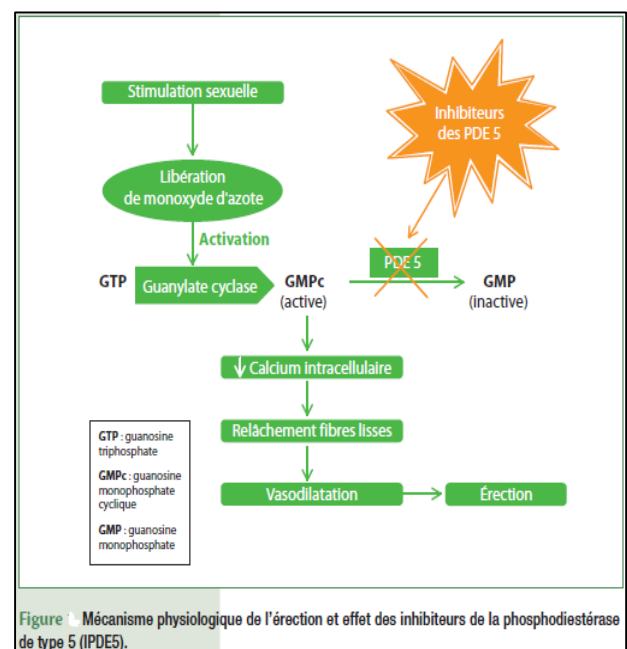
- une phosphorylation de la protéine IRAG associée au récepteur canal de l'IP3, ce qui diminue l'influx du calcium vers le cytosol ;
- une phosphorylation du canal K_{ca}, dont l'ouverture produit une fuite de potassium et donc une hyperpolarisation réduisant l'ouverture des canaux calciques de type L.

Ainsi, cette chute des concentrations en calcium intracellulaire favorise le relâchement des fibres lisses des artères des corps caverneux, générant l'érection.

Afin de limiter les effets précédents, l'enzyme phosphodiesterase de type 5, principalement présente au niveau des muscles lisses des corps caverneux, dégrade le GMPc, ce qui bloque l'érection.

Par analogie structurale avec le GMPc, les IPDE5 tels que le sildénafil sont des inhibiteurs sélectifs et réversibles de la phosphodiesterase de type 5.

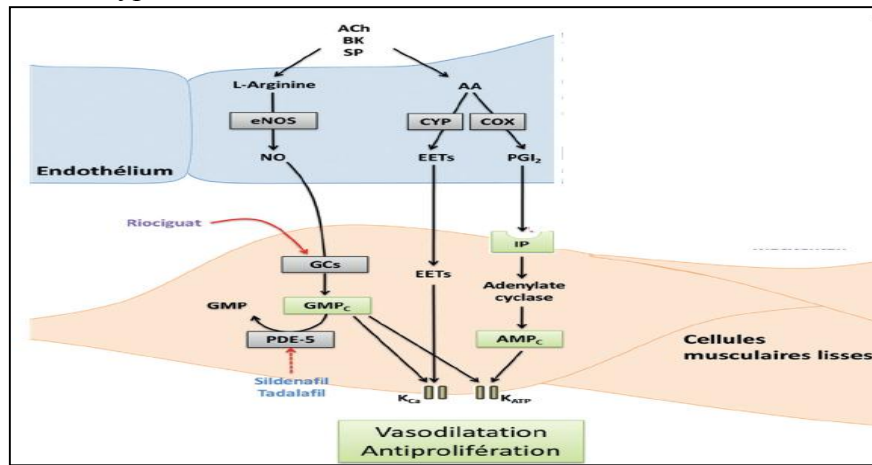
En se fixant sur le GMPc, les IPDE5 empêchent sa dégradation en 5'GMP, maintenant une concentration de GMPc cellulaire élevée, ce qui amplifie et prolonge ses effets (fuite de calcium), permettant ainsi une érection avec un afflux sanguin accru dans les corps caverneux (NB: Les inhibiteurs de la phosphodiesterase 5 sont inefficaces en l'absence d'une stimulation sexuelle, celle-ci étant nécessaire pour initier la libération de monoxyde d'azote).



➤ Dans l'HTAP

Sur les cellules musculaires lisses artérielles pulmonaires l'inhibition de la PDE5 entraîne :

- Vasodilatation artérielle pulmonaire ;
- Amélioration de l'oxygénation ;
- Diminution de l'hypoxie.



c) Effets secondaires :

EII	PRISE
Vision trouble, baisse de l'acuité visuelle occlusion vasculaire rétinienne	Arrêt du trt
Dyspepsie , diarrhée, myalgie , douleurs dorsales	Trt symptomatique
Hypotension , vertige, acouphène	

d) Interactions médicamenteuses

- Les dérivés nitrés et autres donneurs de NO, car l'association avec les IPDE5 risque de majorer gravement les effets hypotenseurs (par la production de GMPc vaso dilatateur) ;
- Les inhibiteurs de l'isoenzyme CYP3A4 du cytochrome P450, qui augmentent la demi-vie des IPDE5 en diminuant leur catabolisme hépatique ;
- Les alpha-bloquants, en raison du risque de majoration de la vasodilatation pouvant provoquer une forte hypotension.