

COMPARAISON DU MECANISME DE L'ACTION CARDIOTONIQUE DE LA FRACTION 3 DE MAI-BAO ET DE LA DIGOXINE SUR LE CŒUR ISOLE DE RAT.

Comparison of the mechanism of cardiotonic action of the fraction 3 of MAI-BAO and digoxin on rat isolated heart.

YAPO Adou Francis¹, YAPI Houphouet Felix¹, BIDIE Alain dit Phillipe¹, ABO Kouakou Jean-Claud², OTOKORE Dama Albert¹, DATTE Yao Jacques³, DJAMAN Allico Joseph¹

¹Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique, UFR Biosciences, Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22 (Cote d'Ivoire) ²Laboratoire de Physiologie Animale, UFR Biosciences, Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22 (Cote d'Ivoire) ³Laboratoire de Nutrition et Pharmacologie UFR Biosciences, Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22 (Côte d'Ivoire)

Auteur correspondant : YAPO ADOU FRANCIS 22 bp 1291 abidjan 22 ; fyapo@yahoo.fr

RESUME

MAI-BAO est une boisson issue de la fermentation du thé *Camela sinensis* sucré par le Champignon Thé-trésor. La fraction chromatographique n°3 de MAI-BAO (MB-F₃ ou F₃) exerce un effet cardiotonique.

But : comparaison du mécanisme d'activité cardiotonique de MB-F₃ et de la Digoxine (Dx) chez le rat.

Matériels et Méthodes : MB-F₃ obtenue par chromatographie sur gel sephadex G-50 et la digoxine sont utilisées pour perfuser le cœur isolé de rat dont les contractions sont enregistrées avec le dispositif de Langendorff. Le mécanisme biochimique de l'action cardiaque de MB-F₃ et Dx est déterminé par dosage du phosphore selon la méthode de Sumner.

Résultats : MB-F₃ exerce un effet cardiotonique inférieur à celui de Dx (P<0,05) avec des Doses efficaces 50% respectives de 1mg/ml et 10⁻⁶mg/ml. Par ailleurs, MB-F₃ exerce une inhibition compétitive inférieure à celle de Dx (P<0,05) sur l'ATPase-Na⁺/K⁺.

Conclusion : MB-F₃ exerce une action digitalique-like inférieure à celle de Dx sur le cœur de rat.

Mots clés : MAI-BAO-F₃; Digoxine; cardiotonique; antiATPase-Na⁺/K⁺

ABSTRACT

MAI-BAO (MB) is a beverage obtained by fermentation of sweet *Camellia sinensis* tea by the Tea-Mushroom treasure. The action of the chromatographic fraction 3 of MAI-BAO (MB-F₃) is cardiotonic.

Aims: To compare the mechanism of cardiotonic activity of MB-F₃ and digoxin (Dx) in rats.

Materials and Methods: MB-F₃ obtained by gel chromatography on sephadex G-50 and digoxin are used to infuse the isolated rat heart with the device Langendorff for the record of cardiac contractions. The biochemical mechanism of cardiac effect of MB-F₃ and Dx was determined by measuring phosphorus by the method of Sumner.

Results: MB-F₃ has a significant positive inotropic effect (P<0.05) as Dx (P <0.01) with respective effective Doses 50% 1mg/ml and 10⁻⁶mg/ml. Furthermore, MB-F₃ exerts a competitive inhibition on the ATPase-Na⁺/K⁺ less than Dx (P<0.05).

Conclusion: MB-F₃ exerted digitalis-like effect less than digoxin on the rat heart.

Key words : MAI-BAO-F₃ ; Digoxin; cardiotonic ; antiATPase-Na⁺/K⁺

INTRODUCTION

MAI-BAO (MB) ou Kombucha, est une boisson issue de la fermentation du thé sucré de *Camela sinensis* ((L) Kuntze, 1887) par le Champignon Thé-trésor. Plusieurs auteurs accordaient au Kombucha plusieurs vertus thérapeutiques dont la guérison des maux de cœur, des troubles coronaires et de l'hypertension artérielle, des troubles respiratoires, des maux chroniques d'estomac et la régulation sanguine [1,2]. D'autre lui accordaient une vertu antibiotique [3,4] et des propriétés antioxydante et immunomodulatrice [5] hépatoprotective et curative [6]. Des études faites par Yapo et al [7] sur le cœur isolé de rat ont montré que la fraction 3 de MAI-BAO OU Kombucha (MB-F₃) exerçait une action cardiotonique chez le rat. Quant à la

fractions 1 et 4 n'exerçaient aucun effet sur l'activité cardiaque de rat. En effet, si cet effet cardiotonique de MB-F₃ était digitalique-like, il pourrait intervenir dans le traitement de l'insuffisance cardiaque. L'insuffisance cardiaque (IC) est une affection pandémique cardiovasculaire très fréquente dans le monde. Elle est une complication de l'hypertension artérielle [9] et touche 15 millions d'individus avec la survenue de 500 mille nouveaux cas [10]. En Afrique, l'IC constitue 17 à 48% des causes d'hospitalisation [11] et entraîne des complications graves telle que l'insuffisance rénale. Malheureusement, malgré la découverte de nombreux médicaments par la médecine moderne tel que la digoxine (Dx) pour le traitement de l'IC [12-14], de nombreuses personnes en Afrique continuent de consulter la médecine traditionnelle. En effet, 80% des populations rurales vivant dans les pays en voie de développement sont tributaires de la médecine traditionnelle pour

fraction 2 (MB-F₂), elle a des propriétés cardiodépressive et cholinergique [8]. Les

leur besoin de santé [15]. A cet effet, plusieurs plantes médicinales sont utilisées pour soigner l'insuffisance cardiaque telles que *Crataegus oxyantha*, *Inula racemosa*, *Terminalia arjuna*, *Commiphora mukul* [16,17] et *Hydrastis canadensis* [18].

Dans le but d'apporter une contribution au traitement de l'insuffisance cardiaque, et eu égard aux vertus cardiovasculaires accordées à kombucha par certains auteurs cités plus haut, il convenait de mieux apprécier son effet digitalique-like. Pour ce faire, notre étude consistait à comparer l'action de MB-F3 avec celle d'un digitalique de référence qu'est la Digoxine sur le cœur isolé de rat et sur l'activité catalytique de l'ATPase $\text{Na}^+\text{-K}^+$.

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel : Le Champignon Thé-trésor utilisé se présente sous la forme d'une masse gélatineuse abritant levures et bactéries acétiques [19]. Le matériel animal est essentiellement composé de rats de souches Wistar pesant $250 \pm 50\text{g}$, élevés et acclimatés à l'animalerie de l'Unité de Formation et de Recherches (UFR) Biosciences de l'Université d'Abidjan-Cocody à la température ambiante de 27°C . Les animaux avaient accès à l'eau de robinet et à la nourriture à base de granulés provenant d'Ivovrain®. Lors des expérimentations, la souffrance des animaux a été minimisée par anesthésie générale et selon les termes du Guide for care and use of laboratory animals [20].

Pour voir l'effet de chaque dose de produits (Kombucha et Digoxine), dix (10) rats ont été utilisés $n=50$. La Digoxine Native® utilisée a été obtenue en pharmacie (France)

2. Méthodes

2.1 Préparation du Kombucha : La préparation de MAI-BAO ou Kombucha a été faite par introduction du Champignon Thé-trésor dans un bocal en verre ou en plastique contenant le thé sucré à 90g/l . L'ensemble est incubé à 28°C pendant 12 jours au bout desquels, le champignon a fermenté le thé sucré qui devient aromatisé, acidulé, rafraîchissant avec un goût de citronnelle. La boisson ainsi obtenue est ensuite centrifugée et lyophilisée avec un Lyophilisateur Virtis™ pour donner une poudre jaunâtre très hydrophile. Le lyophilisat est ensuite pesé et conservé sous forme de solution en y ajoutant un volume connu d'eau distillée.

2.2 Obtention de la fraction 3 de MAI-BAO (MB-F₃) : On dépose 800mg/ml du lyophilisat sur une colonne de chromatographie ($30 \times 3,3\text{ cm}$) sur gel séphadex G-50. L'élution est faite avec de l'eau distillée à raison d'un débit de $0,05\text{ml}$ toutes les trois secondes (3s). Quatre fractions ont été recueillies et lyophilisées. Les poudres des fractions obtenues vont servir pour les tests de prospection cardiovasculaire.

2.3- Enregistrement des contractions du cœur isolé de rat

Les rats ($n=5$) anesthésiés avec de l'éthyle uréthane 20% à raison de 1g/kg de poids corporel (PC), sont placés sous respirateur artificiel. Leurs cœurs sont ensuite isolés rapidement (20 à 30s) par thoracotomie médiane et sont intubés au niveau de la cross aortique avec une seringue contenant la solution de Mac Ewen héparinée. Les cœurs sont ensuite accrochés rapidement par leur apex au dispositif de Langendorff dont le stylet inscripteur transmet les mouvements cardiaques au cylindre enregistreur [21]. Les mouvements du cœur sont tributaires des solutions pharmacologiques maintenues à 37°C par le bain Marie du dispositif de Langendorff. Ces solutions sont continuellement bullées pendant 8 min sous un mélange de O_2 (95%) et CO_2 (5%).

Toutes les substances pharmacologiques (MB-F₃ et Dx) testées sont dissoutes dans la solution physiologique de type Mac Ewen de composition chimique: $\text{NaCl} = 130,5\text{mM}$; $\text{KCl} = 5,63\text{mM}$; $\text{CaCl}_2 = 2,16\text{mM}$; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 = 0,04\text{mM}$; $\text{NaHCO}_3 = 11,90\text{mM}$; $\text{MgCl}_2 = 0,02\text{mM}$;

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 = 11,10\text{mM}$. Le pH de cette solution physiologique est maintenu à 7,4.

Chaque cœur isolé est perfusé avec une dose de substances pharmacologiques (Kombucha et Digoxine) bien donnée pendant 3 min avant tout lavage au Mac Ewen pendant 5 min afin de voir la réversibilité ou non des contractions.

2.4- Extraction de l'ATPase $\text{Na}^+\text{-K}^+$ et techniques d'études biochimiques

2.4.1- Extraction de l'ATPase- Na^+/K^+ : L'extraction de l'ATPase- Na^+/K^+ du cœur rat a été faite selon la méthode de Franck [22]. Il a été broyé 6g de tissu cardiaque de rat dans 9 volumes de solution tampon sucrose $0,32\text{M}$ à pH 7,4 avec un homogénéiseur (ultra-turan T25 basic) à $686,59\text{g}$ pendant 15s. Le broyat obtenu a subi une centrifugation différentielle à 4°C dans une centrifugeuse réfrigérée (MEDIFRIGER-BL de marque SELECTA et de rotor 7001081). Les vitesses ont été réglées entre $600,29$ et à $19117,80\text{g}$ à des temps différents. Le culot obtenu après la dernière centrifugation ($19117,80\text{g}$ pendant 60 min) contenait l'ATPase- Na^+/K^+ microsomale. La présence des protéines (ATPase- Na^+/K^+) a été confirmée par la méthode de dosage de Lowry. Le culot a été mis en suspension dans de l'eau bidistillée à raison de 5mg de microsome par ml. Ces suspensions ont été conservées à -18°C pour que l'enzyme puisse garder son intégrité [23].

2.4.2- Préparation du substrat : Le substrat est obtenu par le mélange de l'ATP-tris avec des sels. Ainsi, pour avoir 100ml de substrat standard (ATP) de concentration 3mM , il a fallu un mélange de Tris-HCl $0,4\text{M}$ pH 7,8

(V=25ml); NaCl 1M (V=10ml); KCl 0,3M (V=10ml); MgCl₂ 0,3M (V=1ml); ATP-tris 15mM (V=20ml) avec de l'eau distillée (V=34ml).

2.4.3- Détermination de l'activité catalytique et de l'activité catalytique résiduelle de l'ATPase-Na⁺/K⁺ : La détermination l'activité catalytique de l'ATPase-Na⁺/K⁺ passe par le dosage du phosphore. La méthode utilisée a été celle qui permet de doser le phosphore inorganique par la coloration bleue du complexe phosphomolybdique en présence du sulfate ferreux (FeSO₄) [24]. La lecture de la densité optique a été faite à 540nm. Le réactif utilisé est le sulfate ferreux (FeSO₄) qui a été préparé extemporanément avec 5g de FeSO₄; 50ml d'eau distillée ; 1ml de H₂SO₄, 7,5N.

L'activité catalytique résiduelle de l'ATPase-Na⁺/K⁺ a été déterminée par la différence entre l'activité catalytique de l'enzyme dans sa forme native et l'activité catalytique de l'enzyme en présence d'un effecteur (100% - activité catalytique en présence d'un effecteur).

2.5 Analyse statistique des résultats :

L'analyse de résultats a été réalisée avec le logiciel *grapPhad.Prism.V5.01.Retail-Keygen*. Le test non paramétrique de Kruskal Wallis a été retenu pour la comparaison des valeurs moyennes des amplitudes, des fréquences, des Km et des Vm. Nous avons utilisé Lenear regression pour le calcul des valeurs moyennes de la pente des amplitudes des contractions cardiaques. Quant à l'analyse des valeurs moyennes des pentes des courbes, le t test non paramétrique de Mann-Whitney a été utilisé. La différence entre deux moyennes était significative si P < 0,05.

RESULTATS

1- Étude comparative des effets de MB-F₃ et Dx sur l'amplitude des contractions cardiaques. : Les courbes des effets doses-réponses de Dx et de MB-F₃ sur le cœur isolé de rat, indiquent que les deux produits ont augmenté de façon croissante l'amplitude des contractions cardiaques (figure 1). Par conséquent, les effets inotropes positifs induits par ces deux produits ont été dose-dépendante. On constate que la dose efficace 50% (DE₅₀) de la Digoxine (10⁻⁶ ± 0,3.10⁻⁷mg/ml) a été très faible par rapport à celle de MB-F₃ qui est égale à 1±0,04mg/ml (P<0,001). Par ailleurs, la valeur moyenne de la pente de la courbe de Dx (3,82 ± 0,5) a été significativement faible par rapport à celle de la courbe de MB-F₃ (7,12±2,07). Il ressort de cette analyse que Dx a induit un effet inotrope positif significativement plus fort que celui induit par MB-F₃ (P<0,05).

2- Étude comparative de MB-F₃ et Dx sur la fréquence des contractions cardiaques. La Figure 2 montre que Dx et MB-F₃ ont exercé une inhibition peu significative sur la fréquence cardiaque respectivement de 10,2 ± 0,3% et de 12,5±1,77%.

3. Influence de MB-F₃ (1mg/ml) sur l'activité catalytique de l'ATPase-Na⁺/K⁺

3.1 Action de MB-F₃ (1mg/ml) sur l'activité catalytique de l'ATPase-Na⁺/K⁺ : La représentation de Lineweaver et Burk montre que MB-F₃ a exercé une inhibition non compétitive mixte sur la vitesse catalytique de l'enzyme par rapport à la courbe de sans effecteur (SE) (figure 3). A la concentration de 1mg/ml, MB-F₃ a fait passer la vitesse maximale (Vm) de l'enzyme de 0,321 ± 0,014 à 0,248 ± 0,019μmoles.min⁻¹ et la constante de Mikaelis (Km) de 3,54 ± 0,028 à 3,24 ± 0,057mM (tableau I).

3.2 Comparaison de l'influence de MB-F₃ (1mg/ml) et Dx (1mg/ml) sur l'activité de l'ATPase-Na⁺/K⁺. : Selon le tableau I, MB-F₃ (1mg/ml) et Dx (1mg/ml) ont diminué l'activité catalytique de l'ATPase-Na⁺/K⁺ respectivement de 22,741% et 44,859%. L'inhibition induite par Dx a été d'environ deux fois donc plus forte que celle induite par MB-F₃ à la même concentration (P<0,05).

3. Comparaison de l'activité catalytique résiduelle de l'ATPase-Na⁺/K⁺ induite par les des inhibiteurs (MB-F₃ et Dx) : Les deux effecteurs (MB-F₃ et Dx) ont diminué l'activité catalytique de l'ATPase-Na⁺/K⁺ de 100% à 67,33% pour MB-F₃ et de 100% à 21,77% pour Dx (figure 4). Par conséquent, l'activité catalytique résiduelle de l'ATPase-Na⁺/K⁺ en présence de Dx a été plus faible qu'en présence de MB-F₃ (P<0,01).

DISCUSSION

Dans cette étude, nous avons constaté que la fraction 3 de MAI-BAO et la Digoxine ont induit un effet inotrope positif dose-dépendante sur le cœur isolé de rat avec des doses efficaces 50% (DE₅₀) respectives de 1±0,04mg/ml et 10⁻⁶ ± 0,3.10⁻⁷mg/ml. La Dose Efficace de la digoxine que nous avons déterminée expérimentalement (1ng/ml) est corroborée par les travaux de Allain [25] qui donnent 1ng/ml, et qui se trouverait aussi dans l'intervalle déterminé par Miura et al [26] (0,5 à 2,0 ng/mL). Malgré la différence de leur DE₅₀, MB-F₃ agirait comme la Digoxine sur l'amplitude des contractions cardiaques de rat. L'effet inotrope positif induit par la Digoxine [27] a été confirmé par nos études. Il ressort de ces études que MB-F₃ a induit des effets qui évolueraient dans le même sens que les digitaliques dont la propriété pharmacologique essentielle est l'effet inotrope positif et chronotrope négatif [28]. A cet effet, les glycosides cardiaques sont utilisés pour leur effet bénéfique sur l'insuffisance cardiaque [12]. Alors MB-F₃ pourrait donc agir sur le cœur selon le mécanisme d'action des glycosides cardiaques, qui se fonde sur l'inhibition de l'ATPase-Na⁺/K⁺ [25] qui est le récepteur des digitaliques [29].

MB-F₃ exerce un effet inotrope positif et chronotrope négatif analogues à celui des glycosides cardiaques. Cet effet inotrope positif serait la conséquence de l'augmenterait du flux entrant calcique lent. Car des expériences de voltage-clamp ont montré qu'en présence des digitaliques, le courant entrant calcique est augmenté [30] à l'instar du mécanisme d'action de la Digitaline [14].

Les expériences que nous avons menées sur le système cardiovasculaire avec MB-F₃, nous ont amené à étudier son effet sur l'ATPase-Na⁺/K⁺ du cœur isolé de rat en comparaison avec celui de la digoxine. L'activité de l'ATPase-Na⁺/K⁺ du cœur de rat diminue sous l'influence des deux effecteurs que sont MB-F₃ et la digoxine. Les deux produits constituent donc des inhibiteurs pour l'ATPase-Na⁺/K⁺. Lors de nos études, il a été constaté que Dx inhibait plus l'activité catalytique de l'enzyme que MB-F₃. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la digoxine est un produit purifié comme la ouabaine dont la CI₅₀ (3nM) reste faible [31]. Par ailleurs, comme l'a décrit Endoh [30] sur les digitaliques au niveau du muscle cardiaque, MB-F₃ augmenterait le flux calcique entrant suite à une réduction de l'activité de la pompe ionique par inhibition de l'ATPase-Na⁺/K⁺ dépendante. Il convient de noter que le bon fonctionnement de la pompe Na⁺/K⁺ dépend de l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP. Or, comme les glycosides cardiaques, MB-F₃ en inhibant partiellement l'ATPase-Na⁺/K⁺, diminuerait l'hydrolyse de l'ATP et partant, diminue l'énergie nécessaire au fonctionnement de l'enzyme. Cela conduit à la réduction de la vitesse d'hydrolyse de l'ATPase-Na⁺/K⁺ de 22,74% pour MB-F₃ (1mg/ml); 44,85% pour Dx (1mg/ml). Ces résultats obtenus seraient dus au fait que la Dx est un produit purifié et que MB-F₃ provient du fractionnement de MAI-BAO.

CONCLUSION

La fraction MB-F₃ induit une cardiotonicité à l'instar de la digoxine qui est un digitalique de référence. L'effet cardiotonique et l'inhibition de l'ATPase-Na⁺/K⁺ induits par la digoxine sont plus forts que ceux induits par MB-F₃. Car, la digoxine est un produit purifié. A l'instar du mécanisme des effets digitaliques de la digoxine, MB-F₃ aurait un effet digitalique-like sur le cœur de rat. Il serait donc susceptible de traiter l'insuffisance cardiaque.

REFERENCES

1. Feinso YI, Wong N. Parlons de MAI-MAO. Quotidien le Pekin daily, 1980; 16 Juil: 1-3.
2. Kraft MM. Le champignon du thé. Nova Hewigia, 1959; 1: 297-304.
3. Biljana B-P, Lidija P-T. Mineral and water soluble vitamin content in the Kombucha

drink. J of food Sci and technol, 2000; 35: 201-205.

4. Greenwalt CJ, Steinkraus KH, Ledford RA. Kombucha, the fermented tea: Microbiology composition and claimed health effects. Assoc for Food Prot, 2000; 63: 976-98.

5. Dipti P, Yogesh B, Kain AK, et al. Lead induced oxidative stress: beneficial effects of Kombucha tea. Biomed Environ Sci, 2003; 16(3): 276-82.

6. Murugesan GS, Sathishkuma M, Jayabalan R, et al. Hepatoprotective and curative properties of kombucha tea against carbon tetrachloride-induced toxicity. J Microbiol Biotechnol, 2009; 19(4): 397-402.

7. Yapo A, Otokore DA, Abo K J -C, et al. Mécanisme de l'action digitalique de la fraction 3 de kombucha (*Camellia sinensis* (thé), *Candida mycoderma*, *Acetobacter xylinum*) sur le cœur isolé de rat. Ethnopharmacologia, 2006; 38: 71-76.

8. Yapo A, Otokoré DA, Abo KJ-C, et al. Effet cholinergique de la fraction 2 de MAI-BAO (MB-F₂) sur le système cardiovasculaire de mammifères. Rev Méd Pharm Afr, 2007; 20: 33-43.

9. Walinjorn FT, Muna MD, Facc PHD. L'hypertension: un fléau pour le 21ème siècle en Afrique sub-saharienne : quelles sont les actions nécessaires? Med Afr Noire, 1999; 46(12): 593-597.

10. Diallo B, Sanogo K, Diakité S, et al. L'insuffisance cardiaque à l'hôpital du point G. Mali Medical, 2004; XIX(2): 15-17.

11. Aubry P. Cardiopathies sous les tropiques: Actualités 2007. Med Trop, 2008; 1-3.

12. Morris SA, Hatcher HF, Reddy DK. Digoxin therapy for heart failure: an update. Am Fam Physician, 2006; 74(4): 613-618.

13. Thery C. Quelle est la place de la digoxine dans le traitement de l'insuffisance cardiaque? Bull Informations pharmacol, 2009; 16(Suppl. 1-6): 5-6.

14. Digitalis IG, Ahmed A, Waagstein F, et al. Effectiveness of digoxin in reducing one-year mortality in chronic heart- failure in the digitalis investigation group trial. Am J Cardiol, 2009; 103 (1): 82-87.

15. OMS. Promouvoir le rôle de la médecine traditionnelle dans les systèmes de santé: stratégie de la région africaine. Comité régional de l'Afrique 2000.

16. Mahmood ZA, Sualeh M, Mahmood SB, et al. Herbal treatment for cardiovascular disease the evidence based therapy. Pak J Pharm Sci, 2010; 23 (1):119-24.

17. Miller AL. Botanical influences on cardiovascular disease. Altern Med Rev, 1998; 3(6):422-31.

18. Lau CW, Yao XQ, Chen ZY, et al. Cardiovascular actions of berberine. Cardiovasc Drug Rev, 2001; 19(3): 234-44.

19. Balentine DA. Special issue: tea and health. Crit Rev in food Sci and Nut, 1997; 8: 691-692

20. National Academy Sciences. Guide for care and use of laboratory animals: Institut of Laboratory Animals Resources commission of life Sciences, National Academy press, Washington, D.C: National Research council, 1996.

21. Resa B, Ali N, Azhdar H, et al. Effects of low-level lead exposure on blood pressure and function of the rat isolated heart. Indian J Pharmacol, 2008; 40: 69-72.

22. Franck G. Echanges cationiques au niveau des neurones et des cellules gliales du cerveau-part 2. Arch Physiol Biochem, 1970; 78(4): 745-66.

23. Sinclair BJ, Klok CJ, Chown SL. Métabolism of sub-antarctic caterpillar *Pingleophaga marioni* during cooling, freezing and thawing. J Exp Biol, 2004; 207(Pt8): 1287-1294.

24. Sumner JB. Crystallization of enzymes. Sci (Washington), 1944; 100: 413-414.

25. Allain P. Inhibiteur de la Na⁺/K⁺-ATPase: Glucosides cardiaques (Digoxine)-structure chimique et pharmacocinétique. in: les médicaments. CdM Editions, 3^e édition, Bouchemaie (France), 2000: 301-305.

26. Miura T, Kojima R, Sugiura Y et al. Effect of aging on the incidence of digoxin toxicity. Annal pharmacother, 2000; 34 (4): 427-432.

27. Greco S, Antonini L, Aurti A, et al. The digitalis: should we forget it? G Ital cardiol (Rome), 2008; 9(7): 482-490.

28. Ahmed A, Rich MW, Fleg JL, et al. Effect of digoxin on morbidity and mortality in the diastolic heart failure: the ancillary digitalis investigation group trial. Circ, 2006; 114(5): 397-403.

29. Watts A. Direct studies of ligand-receptor interactions and ion channel blocking (Review). Mol Membr Biol, 2002; 19(4): 267-275.

30. Endoh M. Cardiac Ca²⁺ signalling and Ca²⁺ sensitizers. Circ J, 2008; 72(12): 1915-1925.

31. Maixent JM, Fenard S, Kawamoto RM. Tissue localization of active Na,K-ATPase isoenzymes by determination of their profile of inhibition with ouabain, digoxin, digitoxigenin and LND 796, a new aminosteroid cardiotonic. J Recept Res, 1991; 11(1-4): 687-698.

Tableau II: récapitulation des Vm et des Km de l'ATPase Na⁺-K⁺ en présence de la digoxine et de MB-F₃

Produits Paramètres	Sans Effecteur (SE)	MB-F ₃ (1 mg/ml)	Digoxine (1 mg/ml)
Vm (µmole.min ⁻¹)	0,321 ± 0,014	0,248 ± 0,019	0,177 ± 0,025
Km. (mM)	3,540 ± 0,028	3,240 ± 0,057	3,540 ± 0,036
% de variation de Vm	0	-22,741	-44,859
% de variation de Km	0	-08,474	0

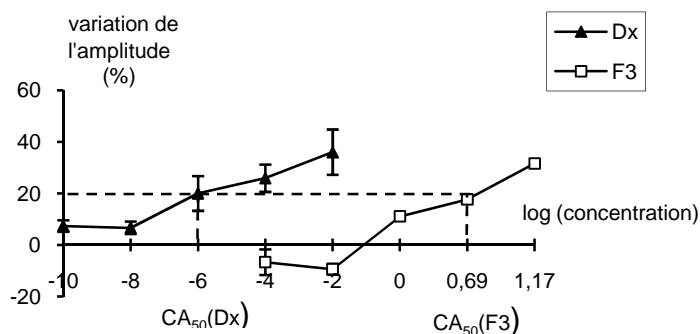


Figure 1: Comparaison des effets de Dx et de MB-F3 sur l'amplitude des contractions du cœur isolé de rat.

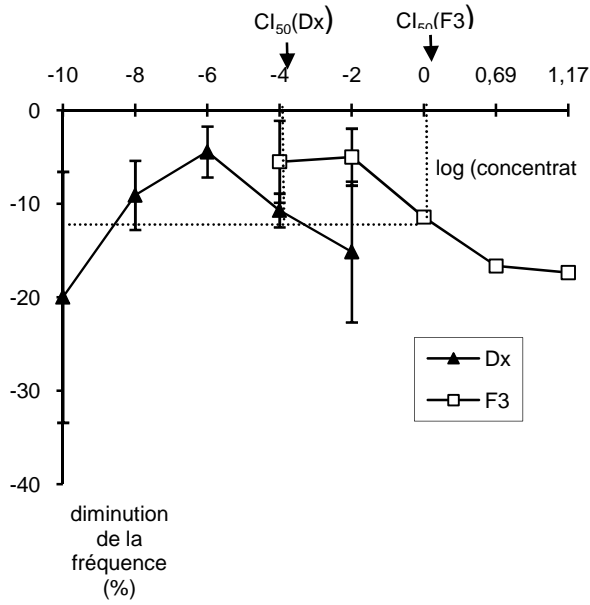


Figure 2: Comparaison de l'action de Dx et de MB sur la fréquence des contractions du coeur isolé de r

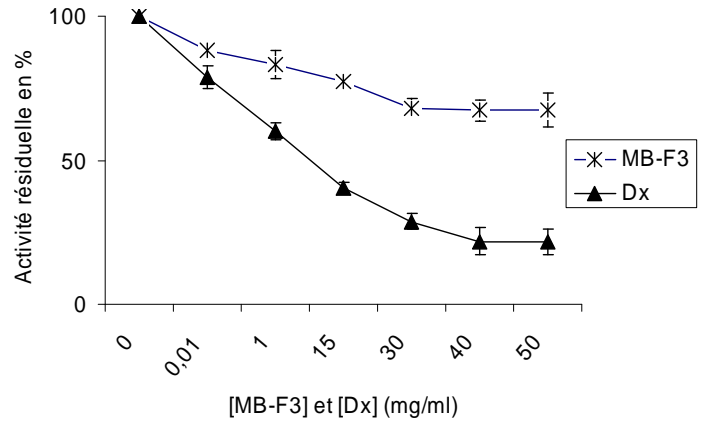


Fig 4: Activité résiduelle de l'inhibition de l'ATPase Na+-K+ par Dx et MB-F3

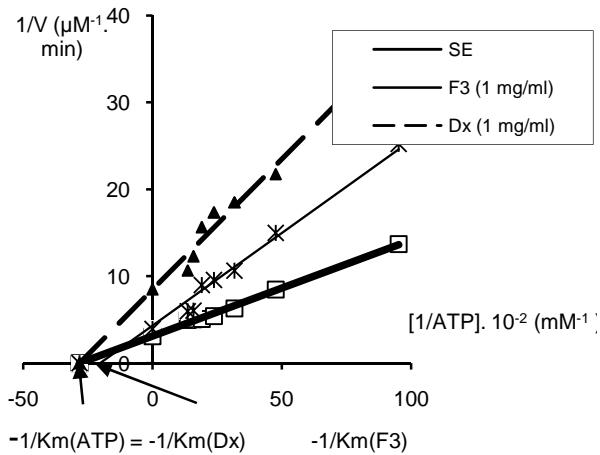


Figure 3: Comparaison de Vm et Km de l'ATPase Na+-K+ en présence de F3 et Dx à 1 mg/ml