Faculté de Médecine et de Pharmacie

ANNEE 2023-2024

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(arrêté du 8 avril 2013)

présentée et soutenue publiquement
le 13 février 2024 à POITIERS
par Monsieur LAFFORGUE Erwin

Les digitaliques : de leur utilisation en cardiologie à leur intérêt potentiel comme anticancéreux.

Composition du jury :

Président : Monsieur le Docteur Bernard FAUCONNEAU, Professeur des Universités en toxicologie (HDR)

Membres : Madame le Docteur Stéphanie PAIN, Professeure des Universités en toxicologie (HDR)
Madame le Docteur Nadine BODIN-PERRONO, Pharmacien d'Officine

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Vincent THOREAU, Maître de Conférences en biologie cellulaire et moléculaire

LISTE DES ENSEIGNANTS

Année universitaire 2023 – 2024

SECTION MEDECINE

Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

- ALBOUY Marion, santé publique – **Référente égalité-diversité**
- BINET Aurélien, chirurgie infantile
- BOISSON Matthieu, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- BOULETI Claire, cardiologie
- BOURMEYSTER Nicolas, biochimie et biologie moléculaire
- BRIDOUX Frank, néphrologie
- BURUCOA Christophe, bactériologie-virologie
- CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
- CHRISTIAENS Luc, cardiologie
- CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- COUDROY Rémi, médecine intensive-réanimation – **Assesseur 2nd cycle**
- DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- DONATINI Gianluca, chirurgie viscérale et digestive
- DROUOT Xavier, physiologie – **Assesseur recherche**
- DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie – **Assesseur 2nd cycle, stages hospitaliers**
- FAURE Jean-Pierre, anatomie
- FRASCA Denis, anesthésiologie-réanimation
- FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
- GARCIA Rodrigue, cardiologie
- GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
- GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
- GOMBERT Jean-Marc, immunologie
- GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
- GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
- HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire
- ISAMBERT Nicolas, cancérologie
- JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
- JABER Mohamed, cytologie et histologie
- JAYLE Christophe, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie
- KEMOUN Gilles, médecine physique et de réadaptation *(en disponibilité)*
- LECLERE Franck, chirurgie plastique, reconstructrice
- LELEU Xavier, hématologie
- LEVEQUE Nicolas, bactériologie-virologie – **Assesseur 1er cycle**
- LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
- MACCHI Laurent, hématologie
- MCHEIK Jiad, chirurgie infantile
- MEURICE Jean-Claude, pneumologie
- MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique
- MIMOZ Olivier, médecine d'urgence
- NASR Nathalie, neurologie
- NEAU Jean-Philippe, neurologie – **Assesseur pédagogique médecine**
- ORIOT Denis, pédiatrie
- PACCALIN Marc, gériatrie – **Doyen, Directeur de la section médecine**
- PELLERIN Luc, biologie cellulaire
- PERAULT-POCHAT Marie-Christine, pharmacologie clinique
- PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire – **Assesseur L.AS et 1er cycle**
- PERRAUD CATEAU Estelle, parasitologie et mycologie
- PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
- PUYADE Mathieu, médecine interne
- RAMMAERT-PALTRIE Blandine, maladies infectieuses
- RICHER Jean-Pierre, anatomie
- RIGOARD Philippe, neurochirurgie
- ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
- ROBLOT Pascal, médecine interne
- SAULNIER Pierre-Jean, thérapeutique
- SCHNEIDER Fabrice, chirurgie vasculaire
- SILVAIN Christine, gastro- entérologie, hépatologie – **Assesseur 3e cycle**
- TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
- THIERRY Antoine, néphrologie – **Assesseur 1e cycle**
- THILLE Arnaud, médecine intensive-réanimation
- TOUGERON David, gastro-entérologie
- WAGER Michel, neurochirurgie
- XAVIER Jean, pédopsychiatrie

Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers

- ALLAIN Géraldine, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire *(en mission 1 an à/c 01/11/2022)*
- BEN-BRIK Eric, médecine du travail **(en détachement)**
- BILAN Frédéric, génétique
- BRUNET Kévin, parasitologie et mycologie
- CAYSSIALS Emilie, hématologie
- CREMNITER Julie, bactériologie-virologie
- DIAZ Véronique, physiologie – **Référente relations internationales**
- EGLOFF Matthieu, histologie, embryologie et cytogénétique
- EVRARD Camille, cancérologie
- GACHON Bertrand, gynécologie-obstétrique *(en dispo 2 ans à/c du 31/07/2022)*
- GARCIA Magali, bactériologie-virologie *(absente jusqu'au 29/12/2023)*
- GUENEZAN Jérémy, médecine d'urgence
- HARIKA-GERMANEAU Ghina, psychiatrie d'adultes
- JAVAUGUE Vincent, néphrologie
- JUTANT Etienne-Marie, pneumologie
- KERFORNE Thomas, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire *(en mission 1 an à/c 01/11/2022)*
- LAFAY-CHEBASSIER Claire, pharmacologie clinique
- LIUU Evelyne, gériatrie
- MARTIN Mickaël, médecine interne – **Assesseur 2nd cycle**
- MASSON REGNAULT Marie, dermato-vénéréologie
- PALAZZO Paola, neurologie (*en dispo 5 ans à/c du 01/07/2020)*
- PICHON Maxime, bactériologie-virologie
- PIZZOFERRATO Anne-Cécile, gynécologie-obstétrique
- RANDRIAN Violaine, gastro-entérologie, hépatologie
- SAPANET Michel, médecine légale

- THUILLIER Raphaël, biochimie et biologie moléculaire
- VALLEE Maxime, urologie

Maître de Conférences des universités de médecine générale

- MIGNOT Stéphanie

Professeur associé des universités des disciplines médicales

- FRAT Jean-Pierre, médecine intensive-réanimation

Professeur associé des universités des disciplines odontologiques

- FLORENTIN Franck, réhabilitation orale

Professeurs associés de médecine générale

- ARCHAMBAULT Pierrick
- AUDIER Pascal
- BIRAULT François
- BRABANT Yann
- FRECHE Bernard

Maîtres de Conférences associés de médecine générale

- AUDIER Régis
- BONNET Christophe
- DU BREUILLAC Jean
- FORGEOT Raphaèle
- JEDAT Vincent

Professeurs émérites

- BINDER Philippe, médecine générale (08/2028)
- DEBIAIS Françoise, rhumatologie (08/2028)
- GIL Roger, neurologie (08/2026)
- GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion (08/2023) – renouvellement 3 ans demandé – en cours
- INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale (08/2025)
- LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire (08/2028)
- MARECHAUD Richard, médecine interne (24/11/2023)
- RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire (08/2024)
- ROBERT René, médecine intensive-réanimation (30/11/2024)
- SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes (08/2026)

Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires

- AGIUS Gérard, bactériologie-virologie
- ALCALAY Michel, rhumatologie
- ALLAL Joseph, thérapeutique (ex-émérite)
- ARIES Jacques, anesthésiologie-réanimation
- BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
- BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
- BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex-émérite)
- BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
- BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales (ex-émérite)
- BEGON François, biophysique, médecine nucléaire
- BOINOTCatherine, hématologie – transfusion
- BONTOUX Daniel, rhumatologie (ex-émérite)
- BURIN Pierre, histologie
- CARRETIER Michel, chirurgie viscérale et digestive (ex-émérite)
- CASTEL Olivier, bactériologie-virologie ; hygiène
- CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
- CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
- CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
- DABAN Alain, cancérologie radiothérapie (ex-émérite)
- DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice
- DEBAENE Bertrand, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
- DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
- DORE Bertrand, urologie (ex-émérite)
- EUGENE Michel, physiologie (ex-émérite)
- FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie-virologie (ex-émérite)
- FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex-émérite)
- GILBERT-DUSSARDIER Brigitte, génétique
- GOMES DA CUNHA José, médecine générale (ex-émérite)
- GRIGNON Bernadette, bactériologie
- GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire
- GUILLET Gérard, dermatologie
- HERPIN Daniel, cardiologie (ex-émérite)
- JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
- KAMINA Pierre, anatomie (ex-émérite)
- KITZIS Alain, biologie cellulaire (ex-émérite)
- KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino-Laryngologie
- KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie viscérale et digestive
- LAPIERRE Françoise, neurochirurgie (ex-émérite)
- LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
- LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
- LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques
- MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
- MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (ex-émérite)
- MARILLAUD Albert, physiologie
- MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire (ex-émérite)
- MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire (ex-émérite)
- MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-entérologie
- MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
- PAQUEREAU Joël, physiologie
- POINTREAU Philippe, biochimie
- POURRAT Olivier, médecine interne (ex-émérite)
- REISS Daniel, biochimie
- RIDEAU Yves, anatomie
- RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie
- SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
- TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
- TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex-émérite)
- TOUCHARD Guy, néphrologie (ex-émérite)
- TOURANI Jean-Marc, cancérologie
- VANDERMARCQ Guy, radiologie et imagerie médicale

SECTION PHARMACIE

Professeurs des universités-praticiens hospitaliers

- DUPUIS Antoine, pharmacie clinique – **Assesseur pédagogique pharmacie**
- FOUCHER Yohann, biostatistiques
- GREGOIRE Nicolas, pharmacologie et pharmacométrie
- MARCHAND Sandrine, pharmacologie, pharmacocinétique
- RAGOT Stéphanie, santé publique

Professeurs des universités

- BODET Charles, microbiologie
- CARATO Pascal, chimie thérapeutique
- FAUCONNEAU Bernard, toxicologie
- FAVOT-LAFORGE Laure, biologie cellulaire et moléculaire
- GUILLARD Jérôme, pharmacochimie
- IMBERT Christine, parasitologie et mycologie médicale
- OLIVIER Jean-Christophe, pharmacie galénique, biopharmacie et pharmacie industrielle – **référent relations internationales**
- PAGE Guylène, biologie cellulaire, biothérapeutiques
- RABOUAN Sylvie, chimie physique, chimie analytique (**retraite au 01/12/2023**)
- SARROUILHE Denis, physiologie humaine – **Directeur de la section pharmacie**

Maîtres de conférences des universités-praticiens hospitaliers

- BARRA Anne, immuno-hématologie
- BINSON Guillaume, pharmacie clinique
- THEVENOT Sarah, hygiène, hydrologie et environnement

Maîtres de conférences

- BARRIER Laurence, biochimie générale et clinique
- BON Delphine, biophysique
- BRILLAULT Julien, pharmacocinétique, biopharmacie
- BUYCK Julien, microbiologie (HDR)
- CHAUZY Alexia, pharmacologie fondamentale et thérapeutique
- DEBORDE-DELAGE Marie, chimie analytique
- DELAGE jacques, biomathématiques, biophysique
- GIRARDOT Marion, biologie végétale et pharmacognosie
- INGRAND Sabrina, toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile, pharmacochimie (HDR)
- PAIN Stéphanie, toxicologie (HDR)
- PINET Caroline, physiologie, anatomie humaine
- RIOUX-BILAN Agnès, biochimie – **Référente CNAES – Responsable du dispositif COME'in – référente égalité-diversité**
- TEWES Frédéric, chimie et pharmacotechnie (HDR)
- THOREAU Vincent, biologie cellulaire et moléculaire
- WAHL Anne, phytothérapie, herborisation, aromathérapie

Maîtres de conférences associés - officine

- DELOFFRE Clément, pharmacien
- ELIOT Guillaume, pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwin, pharmacien

A.T.E.R. (attaché temporaire d'enseignement et de recherche)

- ARANZANA-CLIMENT Vincent, pharmacologie
- KAOUAH Zahyra, bactériologie
- MOLINA PENA Rodolfo, pharmacie galénique

Professeur émérite

- COUET William, pharmacie clinique (08/2028)

CENTRE DE FORMATION UNIVERSITAIRE EN ORTHOPHONIE (C.F.U.O.)

- GICQUEL Ludovic, PU-PH, **directeur du C.F.U.O.**
- VERON-DELOR Lauriane, maître de conférences en psychologie

ENSEIGNEMENT DE L'ANGLAIS

- DEBAIL Didier, professeur certifié

CORRESPONDANTS HANDICAP

- Pr PERDRISOT Rémy, section médecine
- Dr RIOUX-BILAN Agnès, section pharmacie

Remerciements

Je tiens à remercier ma Maman Valérie Lafforgue, de m'avoir donné la vie, et de m'avoir aimé de tout son cœur. Chaque journée en ta présence est une bénédiction. Le bonheur que tu m'apportes est incommensurable. Si j'écris ces mots aujourd'hui, c'est grâce à toi, car tu as toujours été là pour moi, dès ma naissance en m'entourant de ton amour. Je considère que cette réussite est la nôtre. Je t'aime de tout mon cœur, et j'ai hâte que l'on continue ensemble cette aventure dans laquelle nous nous sommes lancés.

Je remercie également mon Papa Jean-Marc Lafforgue pour ses sacrifices et d'avoir toujours tout fait pour nous permettre d'avoir une belle vie, ma maman, mes sœurs et moi.
Je veux dire merci à mes parents pour tout ce qu'ils ont fait, que ce soit pour l'éducation qu'ils m'ont donné, la musique qu'ils m'ont fait faire avec le piano et le violoncelle, le soutien émotionnel, les nombreux trajets et tout simplement leur amour. Grâce à eux, je peux vivre mon rêve : devenir pharmacien et avoir ma propre officine.

Je remercie mes deux sœurs Camille et Louise, je n'aurai pas pu rêver avoir de meilleures sœurs que vous. Louise, je sais que tu seras une super préparatrice, et que tout se passera bien dans notre pharmacie. Camille, je sais que tes projets vont aboutir.

Je pense à mes Grands-Parents, Hubert Piercy et Jeanne Baranowski, qui auraient été heureux de me voir réussir. Leur présence me manque, mais je sais que de là-haut, ils savent que je ne les oublie pas.

Je remercie Monsieur Thoreau d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse, et pour sa grande implication dans la relecture et la correction de ma thèse. Vos cours de génétique en PACES m'ont beaucoup plu par leur clarté et la passion avec laquelle vous les dispensiez.

Je remercie également Monsieur Fauconneau d'avoir accepté d'être le président du jury de ma thèse. Votre cours sur la toxicité des digitaliques m'a beaucoup intéressé, et si j'ai choisi ce sujet, c'est en partie grâce à votre cours qui m'a fait découvrir cette classe thérapeutique.

Je remercie Madame Pain, pour sa grande gentillesse tout au long de mes études. Madame, merci pour tout ce que vous avez fait pour moi et tout ce que vous m'avez transmis pendant vos cours, notamment en mycologie et addictologie et durant le stage de 5^{ième} année en addictovigilance en votre compagnie.

Je remercie Madame Bodin, de m'avoir accueilli ma sœur et moi dans son officine. C'est un réel plaisir de travailler avec vous et d'apprendre tous les jours mon futur métier. Merci pour votre implication, vous êtes lumineuse.

Merci à M. Mazza, mon professeur de SVT en terminale aux Émirats-Arabes-Unis. Votre rigueur et votre passion pour les sciences m'ont inspiré. J'aurais aimé vous faire lire ma thèse.
Je remercie mon chien Laïka, qui a toujours été gentille avec moi, et mes chats : Minette, si mignonne et câline, Khéops mon chat parti beaucoup trop tôt mais que j'ai tant aimé, et Yéti ma Kitete adorable. Je pense aussi à nos deux chevaux frisons, Popke et Jielt R.M, merci pour votre amour et vos bisous !
Merci à Alix Grilleau, d'avoir été présente tout au long de ces 6 années d'études. Merci à Maxime Berger, mon ami, merci pour ta gentillesse et ton soutien.
Merci à Abel Tesfaye « The Weeknd », mon chanteur préféré, pour m'avoir accompagné toutes ces années avec ses musiques toujours plus géniales les unes que les autres et pour le concert !

Table des matières

Remerciements 5
Table des matières 6
Liste des abréviations 10
Liste des figures 11
Introduction 13

I. LES DIGITALIQUES ET HETEROSIDES CARDIOTONIQUES 14

A. BOTANIQUE 14

1. Digitalis purpurea L. 14

a) Description de l'appareil végétatif(1) 14
b) Description de l'appareil reproducteur(1) 15
c) La pollinisation 17
d) Habitat et mode de vie 20

2. Digitalis lanata Ehrhart 21

a) Description de l'appareil végétatif(1) 21
b) Description de l'appareil reproducteur(1) 22
c) La pollinisation 23
d) Habitat et mode de vie 23

3. Digitalis grandiflora Miller 24

a) Description de l'appareil végétatif(1) 24
b) Description de l'appareil reproducteur(1) 25
c) Pollinisation 25
d) Habitat et mode de vie 25

4. Digitalis lutea L 26

a) Description de l'appareil végétatif(1) 26
b) Description de l'appareil reproducteur(1) 26
c) Pollinisation 27
d) Habitat et mode de vie 27

5. Digitalis x purpurascens Roth (9) 28

6. Digitalis x fulva Lindl (9) 29

7. Digitalis x media Roth (9),(10) 30

8. Mutation génétique chez le genre Digitalis : la pélorie. 31

9. Nerium oleander L. 32

a) Description de l'appareil végétatif 32
b) Description de l'appareil reproducteur 33
c) La pollinisation 34
d) Habitat et mode de vie 35

10. Convallaria majalis L.(1) 35

a) Description de l'appareil végétatif 35
b) Description de l'appareil reproducteur 36
c) Reproduction 36
d) Habitat et mode de vie 37

11. Strophantus spp[19] *38*
a) Description de l'appareil végétatif 38
b) Description de l'appareil reproducteur 38
c) Pollinisation 39
d) Habitat et mode de vie 39
12. Drimia maritima, Stearn[1] *39*
a) Description de l'appareil végétatif 39
b) Description de l'appareil reproducteur 40
c) Pollinisation 40
d) Habitat et mode de vie 40
13. Cascabela thevetia Lippold *41*
a) Description de l'appareil végétatif 41
b) Description de l'appareil reproducteur 41
c) Pollinisation[23] 42
d) Habitat et mode de vie 43
14. Helleborus foetidus L[1] *43*
a) Description de l'appareil végétatif 43
b) Description de l'appareil reproducteur[5] 43
c) Reproduction 44
d) Habitat et mode de vie 45
15. Adonis aestivalis L.[1] *45*
a) Description de l'appareil végétatif 45
b) Description de l'appareil reproducteur[5] 45
c) Reproduction 46
d) Habitat et mode de vie 46
B. HETEROSIDES CARDIOTONIQUES RETROUVES DANS LE REGNE ANIMAL 47
1. Crapauds du genre Bufo *47*
2. Danaus plexippus L *47*
C. HISTORIQUE DES DIGITALIQUES 49
1. En thérapeutique *49*
2. Autres utilisations *51*
D. CHIMIE 51
1. Structure chimique *51*
2. Biogénèse *53*
3. Principaux hétérosides cardiotoniques *54*
E. EXTRACTION 56
1. Méthode de Nativelle *56*
2. Méthode actuelle *57*
3. Réactions de caractérisation *57*

II. UTILISATION DES DIGITALIQUES EN CARDIOLOGIE 58

A. MECANISME D'ACTION 58

1. Rappel de la physiologie cardiaque[60,61] 58

a) Le muscle cardiaque 58

b) L'influx nerveux 59

c) Le sarcomère, unité de contraction 59

d) L'ATPase Na^+/K^+ 60

2. Action de la digoxine sur l'ATPase Na^+/K^+[64] 61

3. Action de la digoxine sur l'influx nerveux[46] 62

4. Action de la digoxine sur les barorécepteurs carotidiens[51] 62

5. Action de la digoxine au niveau rénal 63

B. INDICATIONS ACTUELLES DE LA DIGOXINE 63

1. La fibrillation atriale 63

a) Définition[66] 63

b) Prise en charge de la fibrillation atriale et rôle de la digoxine 65

2. L'insuffisance cardiaque 67

a) Définition[73] 67

b) Prise en charge de l'insuffisance cardiaque et rôle de la digoxine 68

C. PHARMACOCINETIQUE DE LA DIGOXINE[75] 72

1. Absorption et distribution 72

2. Métabolisation 72

3. Élimination 73

D. FORMES DISPONIBLES 73

E. ROLE DU PHARMACIEN DANS LA PRISE EN CHARGE DES PATIENTS TRAITES PAR LA DIGOXINE 74

1. Effets indésirables 74

2. Contre-indications 75

3. Interactions médicamenteuses[80] 76

4. Populations particulières 79

5. Suivi biologique 81

6. Cas d'une intervention pharmaceutique au CHU de Poitiers en janvier 2023 82

III. TOXICOLOGIE 83

A. CIRCONSTANCES D'INTOXICATIONS 83

1. Volontaires 83

2. Involontaires 83

B. PHYSIOPATHOLOGIE 85

1. Signes physiques[97] 85

2. Signes biologiques[97] 85

C. PRISE EN CHARGE[97,99] 86
1. Traitements évacuateurs et chélateurs *86*
2. Correction des anomalies biologiques *87*
3. Traitement des troubles cardiaques *87*
4. L'antidote des digitaliques : le DIGIFAB® *87*
D. PRESENTATION D'UN CAS D'INTOXICATION VOLONTAIRE A *NERIUM OLEANDER* SURVENUE AU CHU DE POITIERS EN FEVRIER 2023 90
1. Circonstances *90*
2. Prise en charge de l'intoxication *90*
3. Évolution *91*
4. Discussion *92*
IV. LES POTENTIELS EFFETS ANTICANCEREUX DES DIGITALIQUES 93
A. MECANISMES D'ACTION ANTICANCEREUX DES DIGITALIQUES 93
1. Action sur l'ATPase Na^+/K^+ *93*
2. Inhibition des topoisomérases *98*
B. L'OLEANDRINE, ISSUE DE *NERIUM OLEANDER* 100
C. LA DIGITALINE ET LA DIGOXINE, DES CARDENOLIDES D'INTERET 102
D. DISCUSSION 105
Conclusion 106
Bibliographie 107
Serment de Galien 117
Résumé / Abstract 118

Liste des abréviations

AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens. Classe de médicaments anti-inflammatoires.
ANSES : Agence Nationale de la Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du travail.
ANSM : Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des produits de santé.
ASMR : Amélioration du Service Médical Rendu.
AUC : *Area Under the Curve*. Paramètre pharmacocinétique permettant d'évaluer l'exposition à un médicament.
AVC : Arrêt Vasculaire Cérébral. Circulation interrompue au niveau cérébral, par un thrombus ou par une hémorragie, évènement considéré comme une urgence vitale.
AVK : Anti-vitamine K, désigne des médicaments anticoagulants comme la Fluindione, la Warfarine et l'Acénocoumarol.
BPCO : Bronchopneumopathie Chronique Obstructive. Maladie de l'appareil respiratoire similaire à l'asthme.
CICR : Calcium-Induced Calcium Release.
Cmax : Concentration maximale. Paramètre pharmacocinétique.
DRESS : Direction de la Recherche, des Études, de l'Évaluation et des Statistiques.
ECG : Électrocardiogramme
EHRH : Ehrhart, botaniste et pharmacien allemand.
ESC : European Society of Cardiology, Société Européenne de Cardiologie.
FEVG : Fraction d'Ejection Ventriculaire Gauche. Rapport entre le volume d'éjection systolique et le volume d'éjection télédiastolique. Permet d'évaluer le degré d'insuffisance cardiaque.
HAS : Haute Autorité de Santé.
IEC : Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion. Classe de médicament antihypertenseur.
INR : *International Normalized Ratio,* examen biologique de suivi des anti-vitamine K.
INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale.
IPP : Inhibiteur de la Pompe à Proton. Classe de médicament contre l'acidité gastrique.
L. : Carl von Linné, médecin et naturaliste suédois à l'origine de la classification binomiale.
LINDL. : John Lindley, botaniste anglais.
MTE : Marge Thérapeutique Étroite.
NIH : *National Institutes of Health*. Institut national de la santé aux États-Unis.
PUI : Pharmacie à Usage Intérieur.
RCP : Résumé Caractéristique du Produit
ROTH. : Albrecht Wilhelm Roth, médecin et botaniste allemand.
RT-PCR : *Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction* . Technique d'amplification de l'ARN en ADN.
SMR : Service Médical Rendu.

Liste des figures

Figure 1 : Reseau de nervures saillantes sur la face inferieure du limbe, par E. Lafforgue 14
Figure 2 : Rosette de feuilles a la base, par E. Lafforgue 14
Figure 3 : Floraison basifuge de Digitalis purpurea, par E. Lafforgue 15
Figure 4 : Details de la floraison avec les taches pourpres entourees de blanc, par E. Lafforgue 15
Figure 5 : Pieces florales de Digitalis purpurea, levre superieure retiree, par E. Lafforgue 16
Figure 6 : Appareil reproducteur de Digitalis purpurea, par E. Lafforgue 16
Figure 7 : Placentation parietale (a) et axile (b), d'apres Gustav Hegi, 1906. 17
Figure 8 : Capsule ouverte de Digitalis purpurea, permettant d'observer de nombreuses graines de petite taille, qui seront disseminees par le vent, par F. Vincentz 18
Figure 9 : Styles et stigmates secs visibles, indiquant l'ouverture prochaine de la capsule, par E. Lafforgue 18
Figure 10 : Feuilles lanceolees de Digitalis lanata, par S. Lefnaer 21
Figure 11 : Inflorescence de Digitalis lanata, corolle veinee de brun, par E. Lafforgue 21
Figure 12 : Floraison de Digitalis lanata, avec les antheres proeminentes visibles, par H. Zell 22
Figure 13 : Digitalis grandiflora, et ses nombreuses feuilles lanceolees, par H. Brisse 24
Figure 14 : Floraison de Digitalis grandiflora avec le reseau veine de brun ainsi que les decoupures triangulaires, par E. Lafforgue 25
Figure 15 : Rosette de feuilles lanceolees de Digitalis lutea, par H. Brisse 26
Figure 16 : Corolle pubescentes de Digitalis lutea, par T. Spaans 27
Figure 17 : Digitalis x purpurascens var purpurascens par H. Parmentelat 28
Figure 18 : Digitalis x fulva, corolle veinee de jaune, photographie libre de droit 29
Figure 19 : Differentes corolles de gauche a droite : D. grandiflora, D. media et D. lutea, par C. Ruminy et E. Mosnier 30
Figure 20 : Hampe florale de Digitalis x media, par C. Ruminy et E. Mosnier 30
Figure 21 : Fleur terminale actinomorphe chez Digitalis purpurea, qui illustre la notion de pelorie, photographie libre de droit 31
Figure 22 : Feuilles lanceolees de Nerium oleander, par E. Lafforgue 33
Figure 23 : Fleurs pentameres avec appendice corollin, de Nerium oleander, par E. Lafforgue 34
Figure 24 : Arbustes en fleur de Nerium oleander, par E. Lafforgue 34
Figure 25 : Follicules de Nerium oleander, contenus dans des gousses. Notons la presence de graines a aigrettes, permettant l'anemochorie, par E. Lafforgue 34
Figure 26 : Feuilles lanceolees du muguet, par V. Galievsky 35
Figure 27 : Hampe florale du muguet, avec les sepales petaloïdes blanc immacule et de forme campanulee, photo libre de droit. 36
Figure 28 Baies rouges de Convallaria majalis par A. Kwiecien 36
Figure 29 : Fleurs et feuilles de Strophantus petersanius. Les lanieres effilees sont visibles. Photographie libre de droit 38
Figure 30 : Feuilles ondulees de Drimia maritima sortant du bulbe ecailleux, par Z. Cebeci 40
Figure 31 : Hampe florale de Drimia maritima, avec nervure rosee visible sur les tepales blancs, par Z. Cebeci 40
Figure 32 : Fleurs et feuilles de Thevetia peruviana, par F. et K. Starr 41
Figure 33 : Vue interne d'une fleur de Cascabela thevetia, ou les ouvertures laterales menant a l'androcee et le gynecee sont obstruees par des poils drus mais orientes vers l'interieur, permettant ainsi l'entree mais par la sortie. Photo libre de droits. 42
Figure 34 : Coupe longitudinale d'une fleur de Cascabela thevetia, ou l'on remarque les antheres appliquees sur la seule sortie possible qui est centrale et non obstruees de poils drus orientes vers l'interieur. Photo libre de droits 42
Figure 35 : Inflorescence d'Helleborus foetidus, avec l'androcee polystemone, les sepales verts avec le lisere rouge et les petales nectariferes, par O. Titus. 44
Figure 36 : Helleborus foetidus, avec ses feuilles composees et sa cyme helicoïde visible, par H. Zell 44
Figure 37 : Adonis aestivalis, avec la coloration noire a la base des tepales, l'androcee polystemone ainsi que les feuilles multifides bien visibles, par S. Lefnaer 46
Figure 38 : Bufo bufo, crapaud commun, par E. Lafforgue 47
Figure 39 : Danaus plexippus male sur une une fleur de Nerium oleander, par J. Albre. 48
Figure 40 : Structure chimique des heterosides cardiotoniques, d'apres El-Seedi et al, 2019. 52
Figure 41 : De gauche a droite : le D-glucose, le D-digitoxose, le D-digitalose, et le D-cymarose. Les 3 sucres des heterosides ne possedent pas de groupe OH terminaux. Figures libres de droits. 52
Figure 42 : Voie de synthese potentielle des cardenolides a partir du cholesterol, d'apres Kreis et al, 2012. 53

Figure 43 : La digitaline, heteroside secondaire retrouve dans les digitales pourpres et laineuses. On remarque l'hydrolyse du glucose terminal. 54
Figure 44 : Molecule de Digoxine, avec les 3 digitoxoses et la digoxigenine. 55
Figure 45 : Genines de la digoxine (digoxigenine) et de la digitaline (digitoxigenine) comparee, par Blandine Ressault. Les digitoxoses sont ici absents. La seule difference est la presence d'un groupement hydroxyle sur le carbone 12, pour la digoxigenine. 55
Figure 46 : Trajet du sang dans le muscle cardiaque, par le centre de transplantation cardiaque de Lausanne 58
Figure 47 : Tissu nodal et tissu de conduction, illustration par la clinique Hirslanden, Zurich 59
Figure 48 : Sarcomere cardiaque avec les filaments de myosine et d'actine ainsi que les troponines et la tropomyosine d'apres Asatryan et al, 2018. 60
Figure 49 : Mecanisme d'action de la digoxine, Basic & Clinical Pharmacology d'apres Katzung et al, 2014 62
Figure 50 : Recommandations de l'ESC 2020 pour la prise en charge de la FA 66
Figure 51 : Recommandation pour la prise en charge de l'insuffisance cardiaque a FEVG alteree, par l'ESC 68
Figure 52 : Évolution de la mortalite en fonction du temps, par aggravation de l'insuffisance cardiaque chez le groupe sous placebo et sous digoxine. D'apres l'etude DIG, 1997 69
Figure 53 : Nombre et causes des hospitalisations dans le groupe de patients traites par digoxine et dans le groupe placebo 70
Figure 54 : Resultats du questionnaire sur la qualite de vie lors de l'etude RADIANCE 71
Figure 55: Reduction de la digoxine par le complexe CGR1 et CGR2, d'apres Haiser et al, 2014. 72
Figure 56 : Les deux dosages de digoxine en comprimes disponibles en France, commercialises par le laboratoire TEOFARMA, par E. Lafforgue 73
Figure 57 : De gauche a droite : Feuilles comestibles de consoude, de bourrache et de bouillon blanc, photos libres de droits 84
Figure 58 : Feuilles de digitale pourpre mortelles, par E. Lafforgue 85
Figure 59 : ECG montrant une impregnation aux digitaliques a dose therapeutique a gauche, et intoxication aux digitaliques a droite. 86
Figure 60 : DIGIFAB detenu a la PUI du CHU de Poitiers, par E. Lafforgue 89
Figure 61 : ECG du patient montrant une cupule digitalique au niveau du segment ST 90
Figure 62 : Les deux mecanismes faisant intervenir le Src, d'apres Prassas et al[108], 2008. 94
Figure 63 : Plusieurs mecanismes d'action anti-cancereux attribues aux digitaliques, d'apres Cerella et al[114], 2013 96
Figure 64 : Action des digitaliques sur le cystosquelette, aboutissant a deux voies induisant la mort cellulaire, d'apres Cerella et al[114], 2013 97
Figure 65 : Formation de l'apoptosome d'apres Corvaro et al. 97
Figure 66 : Survie en fonction du temps d'exposition (en heures) a l'oleandrine des cellules cancereuses, d'apres Newman et al [117], 2002. 98
Figure 67 : Electrophorese montrant l'inhibition de la topoisomerase II par les heterosides cardiotoniques. D'apres Bielawski et al, 2018. 99
Figure 68 : Courbe de Kaplan-Meier, evaluant la survie des patients apres administration de PB-05204, d'apres Roth et al [122], 2020. 101
Figure 69 : Cytotoxicite de la digoxine et de la digitaline sur les cellules SKOV-3 apres 24h d'exposition, d'apres Chou et al[123], 2021. 102
Figure 70 : Capacite d'inhibition de formation de colonies apres 10 jours d'exposition a la digoxine et la digitaline, d'apres Chou et al[123], 2021. 103
Figure 71 : Inhibition de la formation de colonies de cellules cancereuses pulmonaires par la digoxine, d'apres Wang et al[124], 2021. 104

Introduction

Depuis leur découverte, les digitaliques constituent une famille thérapeutique à part entière en cardiologie où ils sont utilisés pour renforcer, ralentir et régulariser le cœur. Les digitaliques font partie des hétérosides cardiotoniques, qui sont retrouvés dans des espèces végétales comme la digitale pourpre, le laurier rose, le muguet, la scille, le thévétia, l'hellébore, et l'adonis mais également chez certains animaux comme les crapauds du genre *Bufo*, ainsi que chez certaines espèces d'insectes comme les lépidoptères du genre *Danaus*. Nous étudierons dans cette thèse les différentes sources d'hétérosides cardiotoniques, en développant une partie sur la botanique, l'extraction, l'identification et la pharmacognosie.

L'usage des hétérosides cardiotoniques n'est pas récent : plusieurs civilisations les ont utilisés, notamment dans la chasse en recouvrant leurs flèches de *Strophantus* dans un but d'empoisonnement. Il faudra attendre 1868 pour voir l'extraction de la digitaline par Nativelle, un pharmacien français, ce qui ouvrira la voie à l'utilisation thérapeutique de cette molécule découverte en 1775 par William Withering. Nous retracerons dans cette thèse l'historique et la découverte des digitaliques. La digitaline sera progressivement abandonnée au profit de la digoxine, cette dernière possédant une demi-vie plus courte, réduisant ainsi le risque d'intoxication par surdosage. Actuellement, la digoxine est le seul composé de la famille des hétérosides cardiotoniques utilisé en thérapeutique. Cette dernière, disponible en seulement 2 dosages : 0,125 mg pour la spécialité HEMIGOXINE Nativelle et 0,250 mg pour la spécialité DIGOXINE Nativelle. Concernant la galénique, c'est la voie orale qui est utilisée avec la forme comprimé et la forme sirop ; la forme injectable est bien sûr réservée à un usage hospitalier, lorsque le patient est en incapacité d'avaler, notamment en réanimation, ou lorsqu'il est urgent d'administrer la digoxine pour régulariser le cœur rapidement.

La digoxine obtiendra l'autorisation de mise sur le marché en 1998, avec deux indications enregistrées : les troubles du rythme supraventriculaire comme la fibrillation atriale et l'insuffisance cardiaque à bas débit, notamment associée à la fibrillation atriale. De nombreux patients seront donc traités en France : en 2011 l'HAS rapporte 653 000 prescriptions d'HEMIGOXINE 0,125 mg et 81 000 prescriptions de DIGOXINE 0,250 mg. Dans ces deux indications, plusieurs études permettent de confirmer le service médical rendu important. Cependant le nombre de prescription est en baisse, notamment par la difficulté d'utilisation de la digoxine, qui possède une marge thérapeutique étroite, avec un fort risque de toxicité. De plus le suivi biologique est indispensable, que cela soit dès l'introduction ou en entretien. Cette molécule présente de nombreuses interactions médicamenteuses et des contre-indications, appelant ainsi à la plus grande vigilance des prescripteurs et des pharmaciens. Nous nous attarderons sur l'iatrogénie et le suivi biologique à la suite de l'utilisation de la digoxine.

De nombreux cas d'intoxications sont rapportés chaque année en France, soit par source médicamenteuse, soit par iatrogénie, soit par confusions d'espèces végétales, ou encore par intoxication volontaire.
Un antidote a été mis au point pour traiter les cas d'intoxications, à partir d'anticorps monoclonaux ovins. Leur efficacité remarquable permet de sauver de nombreux patients, malgré un coût très élevé. Nous aurons l'occasion dans cette thèse d'étudier un cas d'intoxication pris en charge au CHU de Poitiers.

Depuis quelques années, de nouvelles perspectives se présentent pour les digitaliques, en effet de récentes études suggèrent une nouvelle indication pour les digitaliques : le traitement des cancers via leur cytotoxicité, démontrée *in vitro*. La dernière partie de cette thèse permettra de résumer et d'approfondir certaines études récentes, et de faire le point sur la place des digitaliques dans les thérapies anticancéreuses.

I. Les digitaliques et hétérosides cardiotoniques

A. Botanique

1. *Digitalis purpurea* L.

a) Description de l'appareil végétatif[1]

Digitalis purpurea L. est une plante herbacée appartenant à la famille des Plantaginacées, anciennement à la famille des Scrofulariacées. Le nom du genre fait référence à la forme de la corolle qui épouse la forme des doigts. On retrouvera donc des noms vernaculaires comme « gants-de-Notre-Dame » en Français, « *foxglove* » en Anglais pour gant de renard, et « *fingerhut* » en Allemand pour dé à coudre.

Cette plante à fleur possède un appareil végétatif composé de feuilles en rosette à la base. Les feuilles gaufrées sont de forme ovalaire, présentant des crénelures, ainsi que de petites dents sur les bords (Fig. 1). Elles sont faiblement pubescentes sur la face supérieure (Fig. 2), en étant recouvertes de quelques poils courts et fins, mais sont surtout recouvertes de poils ayant l'apparence de coton, et qui sont entrecroisés, permettant de les qualifier de tomenteuses, sur la face inférieure. Sur la face inférieure du limbe, la digitale pourpre présente tout un réseau de nervures très saillantes. Les feuilles inférieures et moyennes possèdent un long pétiole tandis que les feuilles supérieures sont dites subsessiles, c'est-à-dire avec un pétiole très court.

Figure 1 : Réseau de nervures saillantes sur la face inférieure du limbe, *par E. Lafforgue*

Figure 2 : Rosette de feuilles à la base, *par E. Lafforgue*

Concernant la tige, elle est coriace et creuse et présente une surface lisse et tomenteuse, ainsi qu'une section anguleuse.

b) Description de l'appareil reproducteur[(1)]

L'inflorescence est à fleurs tubulaires zygomorphes, car les fleurs présentent une symétrie axiale avec un seul axe de symétrie. La fleur est donc irrégulière. Les fleurs sont pendantes en grappe tout le long de la tige, de coloration violette avec des tâches pourpres entourées de blanc (Fig. 3 et 4).

La corolle est bilabiée, avec la lèvre supérieure qui se compose de deux pétales, et la lèvre inférieure qui est composée de trois pétales soudés entre eux. La corolle est donc gamopétale car les pétales sont soudés. De plus, il y a cinq pièces florales insérées dans un verticille, la fleur est donc pentamère.

La floraison intervient seulement au bout de la deuxième année car la digitale pourpre est une plante bisannuelle. La première année il y aura uniquement un développement des limbes en rosette à la base. Il faudra ensuite attendre la deuxième année pour voir une floraison dite basifuge, c'est-à-dire un épanouissement du bas vers le haut de la hampe florale pouvant mesurer jusqu'à deux mètres cinquante de hauteur. Les fleurs sont toutes situées d'un seul et même côté de la hampe.

Figure 3 : Floraison basifuge de *Digitalis purpurea, par E. Lafforgue*

Figure 4 : Détails de la floraison avec les tâches pourpres entourées de blanc, par *E. Lafforgue*

Le calice est gamosépale, car les 5 sépales sont soudés entre eux. La digitale pourpre possède la formule florale suivante : 5S + 5P + 4E + 2C. Elle présente bien 5 sépales, 5 pétales, 4 étamines et 2 carpelles.

L'androcée, constituant l'appareil reproducteur mâle, est l'ensemble des étamines qui sont constituées des filets surmontés des anthères contenant les sacs polliniques.
Digitalis purpurea possède un androcée à quatre étamines qui sont soudées à la corolle, deux anthères sont à filets courts et deux anthères sont à filets longs, on parle de didynamie. On qualifie les anthères des étamines de *Digitalis purpurea* d'introrses, car la déhiscence, c'est-à-dire l'ouverture des anthères, est orientée vers l'intérieur de la fleur par opposition à une anthère extrorse, quand la déhiscence des anthères est dirigée vers l'extérieur de la fleur.

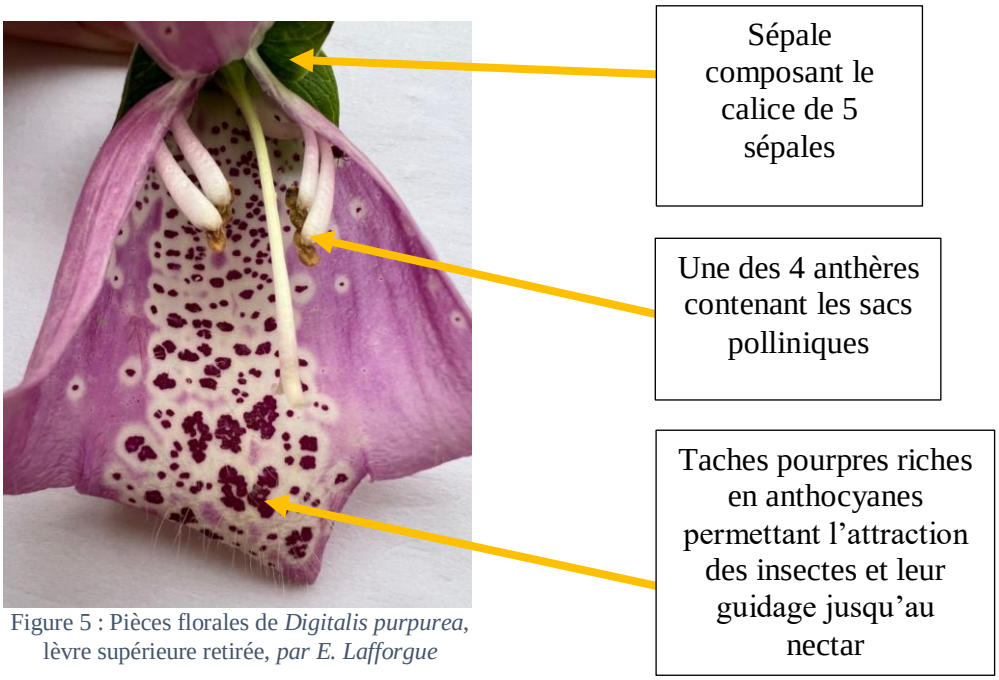

Figure 5 : Pièces florales de *Digitalis purpurea*, lèvre supérieure retirée, *par E. Lafforgue*

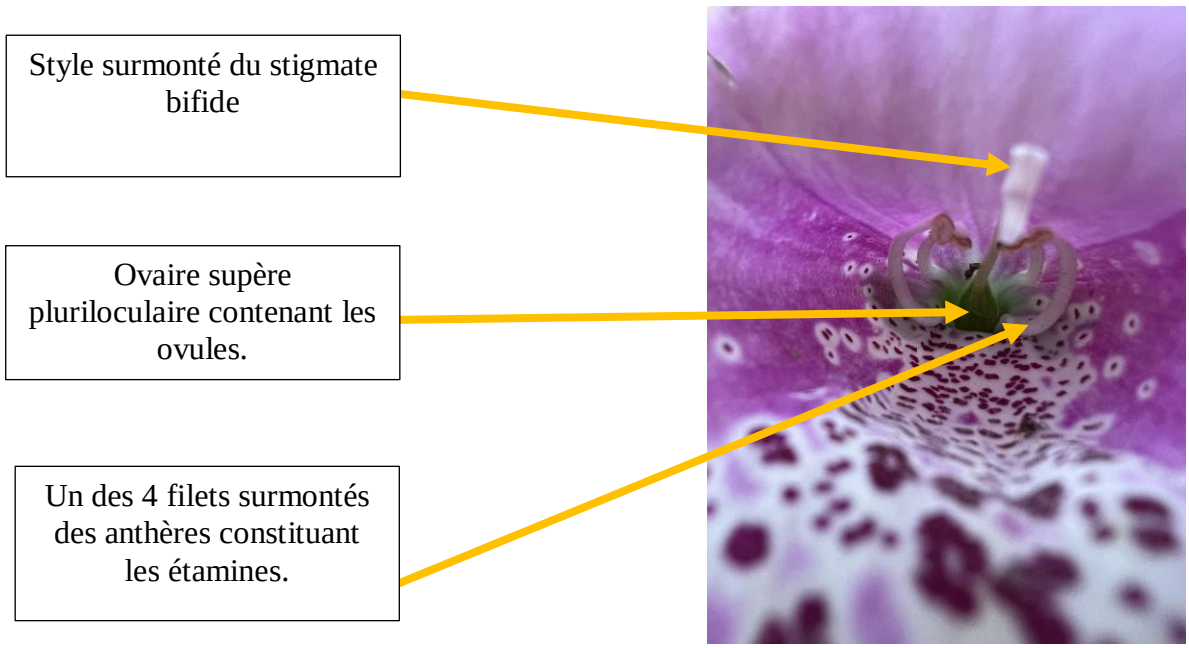

Figure 6 : Appareil reproducteur de *Digitalis purpurea*, *par E. Lafforgue*

La fleur de la digitale pourpre est hermaphrodite, elle présente des organes reproducteurs mâles et femelles (Fig. 5 et 6).
Le gynécée, aussi appelé pistil est l'organe de reproduction femelle. Il est formé de deux carpelles qui sont soudés, cette soudure s'effectuant lorsque que les carpelles sont déjà refermés sur eux-mêmes par leur côté, formant alors un ovaire pluriloculaire à placentation axile : les ovules occupent le centre de cet ovaire clos, permettant leur protection vis-à-vis de l'environnement extérieur. La placentation est le mode d'insertion des ovules au niveau de l'ovaire, dans une localisation appelé placenta, qui est une structure permettant de nourrir les ovules. Cette placentation axile (Fig. 7) s'oppose à la placentation pariétale qui est une placentation plus évoluée, où les carpelles ouverts se soudent bord à bord permettant d'obtenir un ovaire uniloculaire qui contiendra tous les ovules dans une même loge, avec un placenta placé en périphérie.

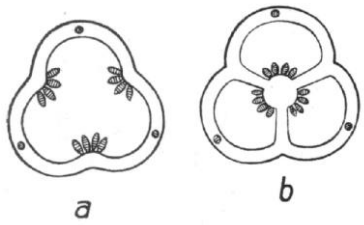

Figure 7 : Placentation pariétale (a) et axile (b), *d'après Gustav Hegi, 1906.*

L'ovaire est positionné de manière supère, le réceptacle floral est convexe, car l'ovaire est placé au-dessus du plan où les pièces florales vont venir s'insérer. Le style est surmonté par un stigmate qui est bifide, ce dernier étant recouvert de papilles muqueuses qui serviront à recueillir le pollen, devant atteindre les ovules qui sont protégés par les ovaires fermés. Le pollen pourra ainsi germer et former un tube pollinique.
Pour attirer les insectes pollinisateurs et ainsi faciliter la pollinisation entomophile, la digitale pourpre sécrète un nectar riche en sucres, grâce à la présence d'un anneau nectarifère placé à la base de l'ovaire. *Digitalis purpurea* présente un hermaphrodisme successif, on parle de protandrie ici car la fleur va d'abord avoir des fleurs mâles, qui deviendront par la suite des fleurs femelles. Peu de temps après la floraison, les anthères vont subir une déhiscence et ainsi permettre la libération de leur pollen, le style quant à lui est encore immature. Ensuite viendra la croissance du style portant le stigmate femelle qui va devenir bifide, qui portera à sa surface des papilles muqueuses qui pourront ensuite retenir le pollen. La floraison est acropète, les fleurs s'ouvrant de la base de la hampe à son sommet. Cette protandrie s'oppose à la protogynie**,** où ce sont d'abord les fleurs femelles qui apparaissent et qui laissent ensuite la place à des fleurs mâles.

c) La pollinisation

Nous allons voir que cette protandrie apporte un intérêt non négligeable lors de la pollinisation qui est entomophile, on parle d'entomogamie. Elle est réalisée par les insectes, notamment les *Bombus hortorum,* bourdons des jardins. En effets, ces derniers vont être attirés par plusieurs caractéristiques de la digitale pourpre. D'abord, l'anneau nectarifère, situé à la base de l'ovaire et de la zone d'insertion des filets portant les anthères, va sécréter du nectar tout au long de la période de floraison qui s'étend sur plusieurs semaines. Cette libération du nectar va augmenter au fil de la protandrie, étant faible lors du stade mâle et étant maximale lors du stade femelle. Cette libération différée donne pour conséquence des fleurs avec un stade sexuel différent sur une même hampe florale. En effet les fleurs se trouvant au niveau de la partie basse de la hampe, qui sont donc les plus anciennes seront au stade femelle, et ce sont elles qui diffuseront la plus forte concentration de nectar.

Les fleurs moyennes et supérieures, se trouvant plus haut sur la hampe florale seront encore au stade mâle. Le *Bombus hortorum* sera fortement attiré par le nectar composé en grande partie de saccharose, et en moindre quantité de fructose, qu'il ira butiner afin de nourrir sa colonie. Le bourdon des jardins entrera dans chaque fleur qui compose la hampe florale, en commençant par les fleurs inférieures, au stade femelle, libérant de grande quantité de nectar, puis poursuivra sa récolte en remontant par les fleurs mâles, libérant moins de nectar. Il pourra ensuite changer de hampe florale.
La sécrétion de nectar n'est pas la seule caractéristique permettant l'attraction des insectes pollinisateurs : les tâches pourprées entourées de blanc présentent une forte concentration en anthocyanes qui vont permettre de guider les insectes jusqu'au nectar. De plus les tâches pourprées prennent l'apparence d'anthères ouverts, permettant d'augmenter l'attraction de la fleur vis-à-vis des insectes. Lorsque le bourdon entrera dans les fleurs mâles, les anthères ayant effectué leur déhiscence rendront disponible le pollen. Le bourdon par contact mécanique lors de sa progression vers le nectar, récoltera les grains de pollen sur les poils qui recouvrent son corps. Ce pollen pourra être déposé à proximité du stigmate mature d'une fleur femelle visitée ensuite par le bourdon, permettant ainsi la fécondation, et la création d'un fruit de type capsule. La disposition de l'androcée et du gynécée facilite le dépôt du pollen et sur les bourdons, qui iront le déposer près des stigmates, situés à proximité du nectar.
En permettant le transport du pollen d'une fleur à l'autre, la fécondation sera possible sur des individus différents, le bourdon participera alors activement au brassage génétique. On parle de pollinisation croisée. L'allogamie est donc facilitée, conduisant alors à une plus grande diversité et une meilleure adaptabilité des digitales pourpres.

La capsule (Fig. 8) est de forme ovale et elle est tomenteuse, et contient un grand nombre de graines, jusqu'à plusieurs milliers, de petite taille, mesurant au maximum 0,2 mm. Le style et le stigmate sècheront dès la formation de la capsule (Fig. 9). La déhiscence de la capsule est septicide balistique et passive[(2)], elle s'accompagne d'une délamination des septums, et elle est réalisée au niveau de la suture des carpelles. Les graines sont libérées quelques semaines après la fécondation. Très légères (90 µg), ces dernières peuvent être transportées par le vent, on parlera alors d'anémochorie. Cette dissémination anémochore est majoritaire, contrairement à l'épizoochorie et plus spécifiquement l'exozoochorie, plus rare mais néanmoins existante chez *Digitalis purpurea*, où les diaspores, les graines se détachant de l'individu originel peuvent s'accrocher aux poils des animaux passant à proximité de la plante, et permettant ainsi de répandre les graines plus loin que si elles étaient uniquement transportées par le vent.

Figure 8 : Capsule ouverte de *Digitalis purpurea*, permettant d'observer de nombreuses graines de petite taille, qui seront disséminées par le vent, *par F. Vincentz*

Figure 9 : Styles et stigmates secs visibles, indiquant l'ouverture prochaine de la capsule, *par E. Lafforgue*

L'autogamie, qui consiste à une fécondation des fleurs par leur propre pollen est possible chez *Digitalis purpurea,* bien qu'elle soit rendue difficile par la protandrie et par la disposition spatiale des étamines qui sont bien plus courtes que le pistil comme l'expliquent L. Best et P. Bierzychudek[3]. De ce fait, le pollen ne peut pas tomber sous l'action de la gravité après maturation sur le stigmate porté par le style.
Cependant, si l'autogamie est réalisée, elle le sera par le biais des bourdons, ces derniers visitant plusieurs fleurs d'une même hampe florale. Ce sont les fleurs au stade femelle donc à la base de la hampe qui offrent le plus de nectar. Les travaux menés expliquent que le nectar est vu comme une récompense par le bourdon, et ce dernier évalue la récompense potentielle avant de s'engager dans une fleur, afin d'éviter une consommation énergétique défavorable par rapport à la récompense possible. Les deux chercheurs ont effectué des estimations de consommation énergétique et ont enregistré le temps passé à butiner une fleur, ainsi que le temps mis par les bourdons pour changer de fleur. Leur étude réalisée sur 958 fleurs provenant de 116 hampes florales, conclue que les bourdons entrent pour la première fois dans la fleur d'une hampe qui se trouve dans 75,4% des cas sur le tiers inférieur de la hampe. Dans 43,9% des cas, la première fleur visitée est la fleur la plus basse. 76,1% des mouvements effectués étaient en direction de fleurs plus hautes. Dans seulement 1,3% des cas, les bourdons revisitaient une fleur déjà butinée. Les bourdons quittent la hampe florale après avoir visité en moyenne 4 fleurs. Ce comportement n'est pas prédéfini mais est la réponse à un système de récompense. Cela s'illustre par le comportement différent des bourdons face à une fleur non épanouie, qui quittent la hampe dans 63% des cas dès la visite d'une fleur fermée. Enfin les bourdons ne manquent que rarement de visiter une fleur adjacente, dans 39,6% des cas le changement de fleurs se fait dans une fleur adjacente à la fleur visitée. Cependant, dans 43,3% des cas les bourdons visitent une fleur située 1 à 2 fleurs plus loin que la première, et dans 17,2% des cas à plus de 2 fleurs de distance, dans un mouvement en spirale. Enfin, les bourdons quittent rapidement la hampe, en moyenne après quatre fleurs visitées. Cette étude permet de définir le comportement des bourdons lorsqu'ils butinent les fleurs de la digitale pourpre. Dans un but de maximisation de la quantité de nectar collectée et de minimalisation de l'énergie dépensée, les bourdons appliquent alors une stratégie similaire à chaque visite de fleurs de digitale pourpre.
Ces données permettent d'expliquer que l'autogamie, par géitonogamie précisément, qui consiste en la fécondation d'une fleur par une autre se trouvant sur un même individu, est très rare chez *Digitalis purpurea,* car le comportement des insectes pollinisateurs principaux que sont les bourdons fait que la fécondation est majoritairement xénogame. La xénogamie consiste en la fécondation d'une fleur par le pollen provenant d'une autre fleur, d'un individu différent de celui qui porte la fleur fécondée. Cela signifie que la fécondation est la plupart du temps croisée, du fait du changement très précoce d'hampe florale par les bourdons. Cette xénogamie permet donc d'éviter l'autogamie qui aurait pour conséquence d'empêcher le brassage des gènes, et ainsi de préserver l'intégrité de l'espèce qui pourrait être mise à mal. En effet, la diversité génétique est un atout essentiel dans la perpétuation de l'espèce, car elle permet l'adaptation aux possibles changements du milieu de vie et ainsi de survivre à la sélection naturelle.
Le bourdon est l'insecte principal venant visiter les fleurs de *Digitalis purpurea,* cette dernière étant particulièrement adaptée de par sa zygomorphie, offrant une « piste d'atterrissage » pour les bourdons qui sont des insectes assez lourds. Notons que le bourdon est un des rares insectes à pouvoir butiner la fleur de la digitale pourpre car cette dernière possède des poils drus à l'entrée de la corolle, que les bourdons franchissent avec facilité, car assez puissants. Cette puissance est aussi utilisée pour se frayer un chemin entre le style et les étamines jusqu'à l'anneau nectarifère. C'est lors de ce chemin que la pollinisation pourra s'effectuer. De plus, notons la distance importante entre le nectar et le goulet d'étranglement formé par la forme tubulaire de la fleur de *Digitalis purpurea* (plusieurs mm).

Seul un insecte possédant des pièces buccales d'une longueur suffisante, comme le bourdon des jardins, peut venir aspirer le nectar sécrété. La pollinisation croisée réalisée par *Bombus hortorum*, témoigne d'une relation de mutualisme entre la digitale pourpre et le bourdon. La digitale pourpre permet d'apporter des ressources énergétiques aux bourdons via son nectar et ces derniers assurent en échange la dissémination du pollen, et participe ainsi au brassage génétique et la reproduction de *Digitalis purpurea.*

d) Habitat et mode de vie

La digitale pourpre affectionne un sol plutôt acide. Les forêts, les clairières et les bords des chemins offrent une terre de bruyère composée d'humus, ce qui en fera un milieu de vie idéal pour la digitale pourpre, qui a besoin d'un terreau acide pour se développer. Les coupes forestières ou les tempêtes amenant à une brutale chute des arbres, vont souvent s'accompagner, si les conditions le permettent, d'une levée des graines de digitales et d'une colonisation de l'espace offert, sous l'effet des rayonnements directs.
Concernant la luminosité, la digitale pourpre apprécie un emplacement mi-ombragé, voir ensoleillé, comme on peut le remarquer avec la prolifération d'individus à la suite de coupes forestières. C'est pourquoi elle trouvera parfaitement sa place en milieu forestier, les arbres permettant de filtrer la lumière du soleil et ainsi de laisser passer quelques rayons. Les sols doivent être humides pour permettre le développement de *Digitalis purpurea*. Comme dit précédemment, le sol doit être acide, et assez riche en azote pour être favorable à la digitale pourpre. Concernant la salinité du sol, les digitales pourpres ne tolèrent pas les sols salés, raison de leur complète absence au niveau du pourtour méditerranéen. Le limon est un sol de choix, qui se situe entre les sols sablonneux et argileux. Il permet une meilleure fertilité des sols.
Côté températures, la digitale pourpre présente une excellente résistance au gel, jusqu'à -20 C°. Au niveau de l'altitude, cette plante est fréquemment rencontrée dans les reliefs, notamment dans les Alpes et les Pyrénées, avec des stations jusqu'à 1800 m d'altitude. Avec des conditions de vie peu exigeantes, la digitale pourpre est retrouvée dans toute la France à l'état naturel, en faisant une plante plutôt commune, sauf sur le pourtour méditerranéen et dans les Landes, où elle en est complétement absente. Les premières hampes florales peuvent être observées au début du mois de mai, et la floraison est possible jusqu'à la fin septembre, la floraison est donc particulièrement longue. Le très grand nombre de graines et leur légèreté permet une dissémination efficace, et donc un grand nombre de nouveaux individus les années suivantes. Les individus isolés sont donc plutôt rares. Par sa particulière beauté, la digitale pourpre est aujourd'hui cultivée comme plante d'ornementation, et est retrouvée dans les jardins. Elle s'en échappera facilement, et pourra être retrouvée à proximité, grâce à ses nombreuses graines. Toutes les parties de la plante sont toxiques. Nous verrons sa composition en hétérosides cardiotoniques dans une prochaine partie.
Digitalis purpurea, avec ses hampes dressées vers le ciel, une floraison très abondante et qui tient dans le temps, sa couleur si singulière associée à des tâches pourpres entourées de blanc, ainsi que son importante toxicité, en font l'espèce la plus connue du genre *Digitalis.* Notons qu'il existe une variété blanche, *Digitalis purpurea* var *alba*, avec une corolle totalement blanche, bien que toujours parsemée de tâches magenta ou pourpre. L'allèle dominant *W* empêche l'expression d'autres allèles déterminant la couleur de la corolle, en magenta ou en pourpre, mais ne modifie pas les allèles qui eux déterminent la couleur des tâches.

Nous allons maintenant étudier *Digitalis lanata*, ou digitale laineuse, d'intérêt thérapeutique, puisque contrairement à *Digitalis purpurea* elle est utilisée aujourd'hui pour l'extraction des hétérosides cardiotoniques utilisés en thérapeutique.

2. *Digitalis lanata* Ehrhart

a) Description de l'appareil végétatif[1]

Digitalis lanata Ehrh., ou digitale laineuse, est une plante herbacée appartenant à la famille des Plantaginacées, tout comme la digitale pourpre. La qualification « laineuse » vient de la ressemblance de la corolle avec de la laine.
Contrairement à la digitale pourpre, la digitale laineuse possède des feuilles sessiles alternes tout le long de la hampe florale, c'est-à-dire qu'elles ne possèdent pas de pétiole. Les feuilles se présentent en rosette à la base, comme la digitale pourpre, la première année. Il faudra attendre la deuxième année pour voir apparaître la hampe florale accompagnée des feuilles, qui seront présentes en hauteur à proximité des fleurs, alors que pour la digitale pourpre, ses feuilles bien que quelque peu présentes sur la hampe florale, restaient cantonnées à une faible hauteur, et on pouvait observer une nette délimitation entre feuilles et fleurs. La principale différence entre les deux digitales, réside dans la forme du limbe. Les feuilles de la digitale laineuse sont très nettement lancéolées, ovales, très fines, et acuminées, le limbe terminant en pointe, s'opposant de fait au limbe gaufré et large de la digitale pourpre (Fig. 10). Il faut aussi noter l'absence totale de poils sur le limbe, que ce soit sur la face supérieure, ou inférieure, la feuille est donc qualifiée de glabre. Il n'y pas non plus de découpures ou de dents sur la marge de la feuille, la marge est entière, par opposition à la feuille de *Digitalis purpurea*.
Enfin, aucun réseau de nervures saillant sur la face inférieure du limbe n'est visible, contrairement à la digitale pourpre.

Figure 10 : Feuilles lancéolées de *Digitalis lanata, par S. Lefnaer*

Figure 11 : Inflorescence de *Digitalis lanata*, corolle veinée de brun, *par E. Lafforgue*

La tige est cylindrique et coriace, légèrement tomenteuse. Cette dernière s'élève moins en hauteur que la digitale pourpre, mais certains spécimens peuvent avoisiner les 2 mètres de hauteur. Notons la forme hivernale de tubercule, qui se transformera plus tard en rosette de feuilles, dès la fin de l'hiver.

b) Description de l'appareil reproducteur[1]

Les fleurs sont disposées tout autour de la hampe florale, et non d'un seul côté comme la digitale pourpre. La corolle est fortement bilabiée, et elle est gamopétale, avec une similarité à la digitale pourpre dans l'organisation : deux pétales pour la lèvre supérieure et trois pétales pour la lèvre inférieure, la fleur est alors zygomorphe. La corolle est blanc crème veinée de brun. La lèvre inférieure se recourbe à son extrémité, et se différencie de la lèvre supérieure par sa couleur blanche sans aucunes tâches. Cette lèvre inférieure dépasse fortement par rapport à la lèvre supérieure. L'intérieur de la corolle est effectivement bien marqué par une couleur brune et un réseau marron foncé (Fig. 11). Concernant le calice, celui-ci est constitué de sépales très velus, donnant le nom et le qualificatif de « laineuse » à cette plante. La formule florale est la même que la digitale pourpre, à savoir : 5S + 5P+ 4E + 2C. Ces étamines peuvent être proéminentes et dépasser de la corolle[4], elles sont introrses (Fig. 12). Concernant le gynécée, de la même manière que pour *Digitalis purpurea*, l'ovaire est pluriloculaire à placentation axile. L'ovaire est placé de manière supère, au-dessus du plan où s'insèrent les pièces florales. Le style est long et porte le stigmate bifide, lui aussi recouvert de papilles muqueuses permettant le recueil du pollen. L'anneau nectarifère est aussi présent à la base de l'ovaire.

Exactement comme *Digitalis purpurea,* la digitale laineuse est une plante hermaphrodite et suivra un épanouissement selon la protandrie, avec d'abord des fleurs mâles pour ce qui est des fleurs venant de s'ouvrir, avec une déhiscence des étamines pour libérer le pollen et le rendre accessible aux insectes pollinisateurs. Puis viendra le stade femelle, où c'est le style et le stigmate qui entreront à maturité. Cet hermaphrodisme successif se déroule de manière basifuge Tout comme la digitale pourpre, la sécrétion de nectar sera plus importante lors du passage au stade femelle, lorsque les anthères viennent de subir la déhiscence, et donc libèrent leur pollen, permettant une attraction plus forte lorsque la fleur est prête à être fécondée, son style et stigmate bifide étant arrivés à maturité.

Figure 12 : Floraison de *Digitalis lanata*, avec les anthères proéminentes visibles, *par H. Zell*

c) La pollinisation

La pollinisation est uniquement entomophile, elle repose donc seulement sur les insectes.
Le réseau veineux brun foncé, la lèvre inférieure allongée et blanche, la sécrétion de nectar par l'anneau nectarifère sont les éléments permettant d'attirer les insectes pollinisateurs et ainsi déposer le pollen sur les téguments des insectes, pollen qui sera plus tard déposé au niveau d'autres fleurs au stade femelle et permettant ainsi la pollinisation. L'autogamie est impossible chez *Digitalis lanata*. Des études[4] montrent en effet une absence de fécondation et la génération de graine complètement stériles lorsqu'il n'y pas de pollinisation entomophile.
Il y a une auto-incompatibilité, qui résulte de la génétique[5]. En effet il existe un complexe génétique pluriallélique appelé S permettant d'empêcher l'autogamie, ce dernier est similaire au complexe qui code les anticorps des mammifères. Les protéines codées par ce complexe sont des récepteurs à activité kinase SRK (S locus Receptor Kinase) au niveau du stigmate et un ligand SCR (S locus Cystein Rich) au niveau de la paroi du pollen. En cas de rencontre du pollen porteur du ligand riche en cystéine et du récepteur à activité kinase, alors il y aura une transduction du signal et une destruction du pollen[6] car le récepteur reconnait avoir fixé un ligand issu du soi. L'incompatibilité se manifeste par une action due au S-locus ribonucléases, S-RNases. Ces S-RNases ont une structure en région constantes et en région hypervariables, rappelant ainsi la structure des anticorps. Ces régions hypervariables seront chargées de reconnaitre et détruire le pollen provenant d'une même fleur, au niveau du style et empêcher l'autogamie[7]. D'autres mécanismes d'incompatibilité peuvent aboutir à la formation de glycoprotéines, pouvant produire des bouchons de callose empêchant la croissance des tubes polliniques. Les différents mécanismes afférents à l'auto-incompatibilité sont encore aujourd'hui peu compris. Grâce à cette auto-incompatibilité, le brassage génétique est alors assuré, permettant une diversité certaine et ainsi une adaptabilité des futurs individus. Cependant, cette pollinisation exclusivement entomophile, peut présenter un risque aujourd'hui face à la baisse notoire du nombre d'insectes pollinisateurs due à l'utilisation massive des pesticides et à la pollution liée aux activités humaines[8].
Les insectes les plus fréquemment retrouvés chez la digitale laineuse sont en majorité les bourdons, mais il n'est pas rare d'observer des abeilles butiner cette digitale, car sa corolle ouverte en forme de cloche est plus accessible, et ne présente pas de poils drus à l'entrée au niveau de la lèvre inférieure blanche. Une fois le pollen au contact du stigmate bifide, la fécondation peut être réalisée, via les tubes polliniques. Il en résultera de nombreuses graines, contenues dans des capsules ovales surmontées comme chez la digitale pourpre par le style, et s'ouvrant par une déhiscence septicide. Encore une fois les graines seront disséminées par le vent, la dissémination est dite anémochore.

d) Habitat et mode de vie

La digitale laineuse apprécie les sols neutres à calcaires, contrairement à la digitale pourpre préférant les sols acides. Elle sera retrouvée dans les sous-bois, dans les forêts, les lisières des bois, car c'est une plante de mi-ombre, mais qui supporte très bien l'ensoleillement. Pour l'humidité, un sol régulièrement soumis aux précipitations est nécessaire, et le sol ne nécessite pas une composition particulière. Au niveau des températures, la digitale laineuse est un peu moins résistante au froid que la digitale pourpre, puisqu'elle résiste à -15 C°. La digitale laineuse se trouve à plus basse altitude que la digitale pourpre, puisqu'on ne la retrouvera pas au-dessus des 1000 mètres d'altitude. Contrairement à la digitale pourpre, elle est très peu présente en France, voire absente, bien que ses conditions de vie soient particulièrement adaptées au climat français. Les spécimens rapportés doivent être échappés des jardins. Cette digitale est retrouvée dans les Balkans, sa région d'origine, et en Amérique du Nord.

Moins fréquente dans la nature que la digitale pourpre, elle est aussi retrouvée dans les jardins, mais est surtout utilisée aujourd'hui comme principale source d'extraction de la digoxine, hétéroside cardiotonique utilisé en thérapeutique. La floraison intervient au bout de la deuxième année, avec des hampes florales pouvant atteindre jusqu'à 1,80 m. La floraison s'étend de début mai à fin août, où les capsules prédomineront alors. Les nombreuses graines légères seront dispersées par le vent.
Toutes les parties de la plante sont toxiques. Nous verrons sa composition en hétérosides cardiotoniques dans une prochaine partie.
Le genre *Digitalis* est composé de plus de 20 espèces. Nous avons décrit en profondeur les deux espèces les plus importantes de ce genre, car *Digitalis purpurea* a été historiquement la digitale la plus connue et la plus étudiée, puisque c'est à partir de cette dernière qu'a été extraite la digitaline par Nativelle. La digitale laineuse est la digitale d'intérêt thérapeutique aujourd'hui, permettant l'extraction des hétérosides utilisés en clinique.

Nous allons maintenant brièvement citer et décrire différentes espèces du genre *Digitalis*, non utilisées en thérapeutique. Elles sont ressemblantes dans leurs caractéristiques générales, mais présentent certaines particularités, notamment au niveau de leur lieu de vie, de la couleur et de la forme de la corolle.

3. *Digitalis grandiflora* Miller

a) Description de l'appareil végétatif[1]

Cette plante herbacée vivace appartient au genre *Digitalis* et à la famille des Plantaginacée et est encore appelée digitale à grandes fleurs.
Les nombreuses feuilles disposées en rosette sont glabres sur la face supérieure, mais sont recouvertes de poils sur la face inférieure et sur les bordures, qui se présentent en dents de scie. La face inférieure présente un réseau de nervures saillantes. Les feuilles les plus basses sont pétiolées, tandis que les plus hautes sont sessiles et acuminées. Les feuilles sont de forme lancéolée (Fig. 13). Concernant la tige, celle-ci est pleine, mais s'élève seulement à 1 mètre maximum. Cette digitale est donc de petite taille.

Figure 13 : *Digitalis grandiflora*, et ses nombreuses feuilles lancéolées, *par H. Brisse*

b) Description de l'appareil reproducteur[(1)]

Cette digitale présente des fleurs gamopétales zygomorphes, avec une lèvre inférieure et supérieure de couleur jaune, tubulaires, contenant un réseau brun, observable sur la lèvre inférieure. De nombreux poils sont visibles sur la corolle. La corolle est de grande taille. Comme toutes les digitales, la floraison s'effectue en grappes unilatérales, ici elles sont lâches. La particularité de cette digitale est l'ouverture de sa corolle, qui présente plusieurs découpures triangulaires (Fig. 14). Concernant le calice, il présente de nombreux poils et se présente à la base de la corolle. Il se compose de 5 sépales découpés et soudés. La formule florale est 5S + 5P + 4E + 2C. L'androcée et le gynécée sont similaires à la digitale pourpre et digitale laineuse : quatre étamines didynames, portant les sacs polliniques, un style surmonté du stigmate, avec un ovaire supère à placentation axile contenant des ovules et un anneau nectarifère.

Figure 14 : Floraison de *Digitalis grandiflora* avec le réseau veiné de brun ainsi que les découpures triangulaires, *par E. Lafforgue*

c) Pollinisation

La pollinisation est entomophile, et est complètement similaire aux autres digitales : les insectes pollinisateurs sont guidés vers l'androcée et le gynécée par le réseau veiné de brun sur la lèvre inférieure, et par le nectar produit. On retrouve également un hermaphrodisme protérandrique ainsi qu'une floraison basifuge prenant place de juin à septembre. La pollinisation amènera à la formation d'un fruit de type capsule, ovalaire et pubescente avec une déhiscence septicide. De même, la dissémination sera anémochore.

d) Habitat et mode de vie

La digitale à grandes fleurs appréciera les lieux mi-ombragés ou légèrement ensoleillés. La température devra être plutôt douce, la digitale à grandes fleurs supportant peu les fortes chaleurs. Une certaine humidité doit être maintenue car cette digitale supportera mal la sécheresse. Cette plante est plutôt calcicole, cela signifie qu'elle apprécie les terrains basiques. Les terrains argileux lui sont favorables. Enfin *Digitalis grandiflora* se montre intolérante à la salinité, c'est pourquoi elle sera absente de la côte méditerranéenne.

Elle sera donc visible dans les clairières, les lisières, les sous-bois, à proximité des chênes et érables, et parfois dans des éboulis. Les conditions climatiques font qu'on la retrouvera donc en France surtout dans le Centre, notamment en Auvergne, mais aussi dans le Grand-Est, comme dans le Jura, les Vosges, et dans les Alpes, et dans le Nord-Est avec les Ardennes.

Toutes les parties de la plante sont toxiques. Nous verrons sa composition en hétérosides cardiotoniques dans une prochaine partie.

4. *Digitalis lutea* L

a) Description de l'appareil végétatif(1)

La digitale jaune, est une plante herbacée vivace de la famille des Plantaginacées. Les feuilles sont glabres, que ce soit sur la face inférieure ou supérieure. La face supérieure est luisante. La marge foliaire est dite « ciliée » car des petits cils sont visibles. Des petites dents sont également visibles sur cette marge, rendant la feuille découpée. La forme du limbe est lancéolée en longueur (Fig. 15). Sur la face inférieure des nervures de même couleur sont clairement visibles. Les feuilles inférieures présentent un pétiole court, tandis que les feuilles supérieures sont sessiles.

Figure 15 : Rosette de feuilles lancéolées de *Digitalis lutea, par H. Brisse*

Les feuilles sont alternes, nombreuses et se présentent en rosette. Les nervures secondaires sont profondes. La tige est pleine est plutôt glabre. Tout comme la digitale à grandes fleurs, elle est de petite taille et ne dépassera pas 1 mètre de hauteur.

b) Description de l'appareil reproducteur(1)

L'inflorescence est en grappe de fleur, orientée d'un même côté de la tige. La corolle est gamopétale et zygomorphe, elle possède donc 5 pétales soudés en 2 lèvres, une inférieure composée de 3 pétales, et 2 pétales pour la lèvre supérieure. Comme pour la digitale à grandes fleurs, les lobes sont aigus, en forme de petits triangles. Elles sont blanches et jaunes et ne présente pas de réseau veineux ou de tâches pour guides les insectes. Elles sont assez longues mais de petite taille. Elles se présentent en grappe et sont glabres à l'extérieur, mais très pubescentes sur les deux lèvres (Fig. 16), notamment au niveau de la lèvre inférieure.
Le calice peut présenter des cils ou alors être totalement glabre. Les sépales sont de forme lancéolée, très découpés.

L’androcée se compose de 4 étamines didynames. Les étamines dépassent largement de la corolle. Le gynécée se compose d’un style surmonté d’un stigmate beaucoup plus internalisé. L’ovaire à la base du style est à placentation axile. Il est entouré de l’anneau nectarifère.

Figure 16 : Corolle pubescentes de *Digitalis lutea, par T. Spaans*

c) Pollinisation

La pollinisation, comme pour les autres digitales, est entomophile. Les fleurs sont également hermaphrodites de manière protérandriques. La floraison s’étend de juin à août et est de plus courte durée comparée aux autres digitales. À la suite de la fécondation, les fruits sont des capsules de forme ovale à conique, soit glabres, soit couvertes de poils, dans ce cas il s’agira d’une *Digitalis lutea* var *Pubescens* Breb. Les capsules s’ouvriront par déhiscence septicide libérant de nombreuses graines disséminées par anémochorie.

d) Habitat et mode de vie

Cette digitale appréciera des conditions climatiques intermédiaires, notamment au niveau de l’ensoleillement, qui peut être intense. Elle peut donc se développer en plein soleil, avec des températures plutôt élevées, en présence d’une atmosphère particulièrement sèche. Cette espèce est encore plus calcicole que la digitale à grandes fleurs. Un sol basique est donc nécessaire. Le sol n’a pas besoin d’être riche. On la retrouve aussi dans les bois et les coteaux. Toutes ces conditions de vie font que la digitale jaune est très répandue dans toute la France, même dans le sud et en Corse, au bord de la méditerranée, lieu défavorable pour les autres digitales. La seule région de France où la digitale jaune est absente est la Bretagne, de par sa pluviométrie trop élevée, et ses températures souvent basses.

Toutes les parties de la plante sont toxiques. Nous verrons sa composition en hétérosides cardiotoniques dans une prochaine partie.

Nous allons maintenant étudier des hybrides de digitales à savoir :
- *Digitalis* x *purpurascens* Roth (1806)
- *Digitalis* x *fulva* Lindl (1821)
- *Digitalis* x *media* Roth (1806)

Pour l'étude des différents hybrides, nous nous servirons des travaux réalisés par Patrick Chène,[9] ainsi que des travaux de Jérôme Arsac, Eric Mosnier et Catherine Ruminy[10] sur *Digitalis x media.*

5. *Digitalis* x *purpurascens* Roth [9]

Cette hybridation et le fruit de la rencontre de *Digitalis purpurea* L. et *Digitalis lutea* L.
Cette digitale hybride n'est pas la plus fréquemment rencontrée dans la nature, bien que la digitale jaune soit retrouvée dans toute la France, même au sud, tandis que la digitale pourpre est retrouvée dans une grande partie du territoire français. Ces 2 espèces vivent donc dans les mêmes biotopes.

Il existe 2 types d'hybrides de *D. purpurascens.* La première est *D. purpurascens* var *purpurescens.* Elle présente des grandes fleurs fortement pourprées avec des poils présents en quantité variable. Elle est encore appelée *purpureo-lutea.* La deuxième est *D. purpurascens* var *lutescens,* et présente des fleurs de taille plus petite, colorées de jaune et ne présentant que très peu de pourpre, et étant en majeure partie glabres. Elle est aussi dénommée *luteo-purpurea.*

D. purpurascens var *purpurascens* présente une tige faisant 1 mètre, très pubescente et épaisse avec de nombreuses feuilles. Les feuilles sont ovales et lancéolées, les supérieures sessiles et les inférieures courtement pétiolées. Le calice présente des sépales très lancéolés et découpés, recouverts de poils. La corolle est de grande taille, gamopétale, en majeure partie pourprée et recouverte de nombreux poils. Cette corolle (Fig. 17) est cependant plus petite et plus fine que celle de la digitale pourpre, et arbore une forme plutôt tubuleuse mais ventrue également. La lèvre supérieure se pare d'une couleur rosée à rouge, alors que la lèvre inférieure présente une couleur jaune. Des tâches plus petites que celles de la digitale pourpre sont visibles. La couleur générale de la fleur semble atténuée par rapport à celle de *D. purpurea.*

Figure 17 : *Digitalis* x *purpurascens* var *purpurascens* par *H. Parmentelat*

D. purpurascens var *lutescens* présente une tige de seulement 80 cm de hauteur. Cette dernière possède peu de feuilles et moins de poils que la première variété. Les feuilles sont lancéolées, majoritairement glabres, les feuilles inférieures étant presque sessiles. Concernant les sépales, ils sont complètement glabres et présentent des cils sur leur marge.
La corolle est tubuleuse et bien plus petite que celle de la première variété. Une différence majeure est l'absence de tâches et de poils sur la corolle. La couleur est décrite comme jaune-rougeâtre. Les fruits produits sont des capsules avec une déhiscence septicide. La présence de tâche sur les anthères est incertaine.[9]

On remarque que cet hybride, qu'il s'agisse de la variété *purpurascens* ou *lutescens*, emprunte des caractéristiques à ses parents : une corolle pourpre tachetée et ventrue recouverte de poils pour *purpurascens*, et une corolle glabre, tubuleuse et sans tâches et à dominante jaune pour *lutescens*. Les hybrides sont stériles à cause d'un problème dans la genèse du pollen.[11]

6. *Digitalis* x *fulva* Lindl [9]

Cet hybride persistant est le résultat du croisement de *Digitalis grandiflora* et *Digitalis purpurea*. Cet hybride est rarement retrouvé dans la nature, bien que les habitats des deux parents coïncident.
La *Digitalis* x *fulva* partage bon nombre de caractéristiques avec ses parents : la corolle gamopétale est ventrue, de grande taille, bien ouverte et pubescente sur la lèvre inférieure et supérieure. Elle se lie par une forme tubuleuse au calice composé de sépales acuminés de large taille, bien espacés. Un fin réseau des veines jaunes (Fig. 18) est visible sur la corolle rouge mélangé au violet foncé. Une légère teinte jaune est observable à la base de la corolle.
Notons la tige et les feuilles tomenteuses de cet hybride, et le réseau de nervures saillantes sur la face inférieure comme chez le parent *Digitalis purpurea*. Cette tige peut atteindre 90 cm de hauteur. Notons également l'absence de tâches à l'intérieur de la corolle. Les caractères phénotypiques hérités de la digitale à grandes fleurs sont la coloration légèrement jaune, la grande ouverture de la corolle, et le réseau veiné de jaune ainsi que la petite taille de la hampe florale. Les hybrides artificiels sont fertiles.

Figure 18 : *Digitalis* x *fulva*, corolle veinée de jaune, photographie libre de droit

7. *Digitalis* x *media* Roth [9],[10]

Digitalis x *media Roth* résulte du croisement entre *D. grandiflora et D. lutea.*
La tige est glabre sauf au niveau de la base du pétiole. Celle de *D. lutea* est totalement glabre, et celle de *D. grandiflora* est totalement recouverte de poils.
Les feuilles de *Digitalis* x *media* sont très ciliées sur la base de la tranche, mais sont totalement glabres sur les deux faces. Les limbes sont dentés. Les feuilles de *D. grandiflora* sont pubescentes sur les nervures et les bordures, et formées en dents de scie. *D. lutea* possède des feuilles glabres sur les deux faces, et sont ciliées uniquement à la base. Le calice est glabre, mais présente des poils glanduleux à la base. *D. grandiflora* a un calice fortement pubescent et glanduleux. La corolle est de taille intermédiaire entre celle de la digitale à grandes fleurs qui est de grande taille et celle de la digitale jaune qui est de petite taille. La corolle est de couleur jaune-pâle et présente un fin réseau à l'intérieur de couleur brune avec des poils glanduleux à l'intérieur. Celle de la digitale à grandes fleurs est aussi jaune pâle et poilue, avec aussi le réseau brun, tandis qu'il est complètement absent de la corolle de la digitale jaune, qui est pubescente aussi. Les étamines sont presque aussi grandes que la corolle pour *Digitalis* x *media*, comme chez *Digitalis grandiflora*, alors que chez *Digitalis lutea*, les étamines arrivent à environ la moitié de la corolle. On remarque nettement la différence de taille de corolle qui est intermédiaire (Fig. 19) entre les deux espèces parentes. De même on note les caractères hérités des parents : la forme de la corolle de *D. lutea*, mais l'ouverture de *D. grandiflora*, le léger réseau veiné de brun de *D. grandiflora* avec quelques poils provenant des deux parents. *Digitalis* x *media* se trouve vraiment à mi-chemin entre *D. grandiflora* et *D. lutea*, du point de vue phénotypique. Les hybrides *Digitalis* x *media* sont stériles[9].

Figure 19 *:* Différentes corolles de gauche à droite : *D. grandiflora, D. media* et *D. lutea, par C. Ruminy et E. Mosnier*

Figure 20 : Hampe florale de *Digitalis* x *media, par C. Ruminy et E. Mosnier*

Cet hybride est plutôt rare dans la nature. Peu d'observations ont été réalisées, la dernière en date en 2021 étant celle de E. Mosnier et C. Ruminy en Haute-Loire. C'est dans une station où se trouvaient des digitales à grandes fleurs et des digitales jaunes qu'a été observé cet individu (Fig. 20), qui poussait en lisière de forêt, sur un terrain basaltique. Les deux digitales, partagent un environnement similaire et sont souvent trouvées dans les mêmes stations, leurs conditions de vie étant compatibles, et des hybridations sont donc possibles.

8. Mutation génétique chez le genre *Digitalis* : la pélorie.

Chez le genre *Digitalis*, la pélorie, qui est un passage d'une symétrie florale zygomorphe, à une symétrie florale actinomorphe, est parfois rencontrée. Habituellement, toutes les fleurs chez les digitales sont zygomorphes. Au niveau de l'évolution, la zygomorphie est une caractéristique des fleurs dites évoluées, ces dernières s'adaptant pleinement à la pollinisation entomophile, en adoptant une symétrie irrégulière permettant l'attraction des insectes pour effectuer la pollinisation. Ces derniers peuvent par exemple profiter de plus d'espace pour se poser sur les fleurs, souvent abondamment colorées comme c'est le cas avec le genre *Digitalis*, la corolle étant souvent tachetée pour guider les insectes à l'intérieur de la fleur. Cette corolle actinomorphe résulte ici de la fusion d'une dizaine de fleurs zygomorphes, voire plus.

Cette zygomorphie s'appliquant à toutes les fleurs de la grappe est parfois rompue dans le cas de la pélorie chez les digitales. La fleur terminale en haut de la grappe présente une actinomorphie (Fig. 21).

Figure 21 *:* Fleur terminale actinomorphe chez *Digitalis purpurea*, qui illustre la notion de pélorie, photographie libre de droit

La mutation des fleurs terminales résulte de changements au niveau génétique, plus précisément au niveau du méristème, composé de cellules non différenciées, qui se diviseront lors des mitoses. Concernant la fleur terminale, celle-ci est donc actinomorphe. Elle présente une grande ouverture, contrairement aux fleurs habituelles qui sont tubulaires et plutôt étroites. Il y a de nombreuses anthères portées par des filets prenant tous leur origine au centre de la fleur, au niveau des styles et stigmates soudés entre eux. Parfois, la hampe peut traverser la fleur terminale et se poursuivre par des ébauches de fleurs, dans ce cas, il n'y pas de pistil. Les ébauches de fleurs peuvent rester à l'état fermé, et de couleur verte, ou s'ouvrir, en de minces pétales étroits de même couleur que les fleurs. La corolle est très largement découpée la plupart du temps, elle se termine par une marge aigue. Sinon, l'extrémité de la corolle est semblable au niveau de la forme, aux lèvres inférieures des fleurs zygomorphes habituelles. De nombreux poils sont retrouvés à l'intérieur de toute la corolle, comme sur les lèvres inférieures des fleurs

normales. Les anthères présentent aussi des tâches pourpres, mais cela n'est pas une obligation, certains sujets possèdent des anthères sans tâches. Contrairement à l'organisation didyname des étamines pour les fleurs normales, les étamines des fleurs péloriques arrivent toutes au même niveau. L'ovaire est supère et de grande taille. De nombreux insectes pollinisateurs sont attirés par la sécrétion supérieure de nectar par rapport à une fleur de plus petite taille, selon Charles Darwin[12]. La floraison n'est pas basifuge comme habituellement, mais commence justement par la fleur terminale. Dans le cas des digitales péloriques, la floraison inférieure basifuge interviendra plus tard mais sera grandement limitée, par rapport à une fleur non mutée.
Les différents croisements réalisés par Blaringhem[13] avec des digitales pourpres révèlent un caractère récessif dans la transmission de cette mutation. Il montrera également le lien entre l'état de condensation des fleurs en grappes, leur nombre par tranche de 10 centimètres, et la fréquence des fleurs péloriques. Par exemple, il expliquera que les hampes florales très compactes, mais non péloriques montrent des ascendants qui eux sont péloriques. De même les torsions de la hampe présentées par certaines digitales témoignent de leur proximité génétique avec les individus péloriques.
Les études menées par F. Keeble, C. Pellew et W. N. Jones[14] démontrent également que le phénotype pélorique est la conséquence de le transmission d'un allèle récessif. De plus, ces derniers ont montré que la fleur terminale d'une digitale pélorique est complètement fertile. Enfin en 1907, ils ont effectué une autopollinisation avec les fleurs régulières latérales non péloriques, qui ont donné des graines aboutissant deux ans après (car *Digitalis purpurea* est une plante bisanuelle) à des individus tous péloriques.
Les trois auteurs ont donc prouvé que les fleurs latérales dites régulières d'un individu doté d'une fleur terminale pélorique, portent également le caractère récessif *p*, alors qu'elles ne sont pas péloriques.
Charles Darwin croisa des plantes péloriques et non péloriques ensembles. Les résultats obtenus par Darwin sont proches des résultats attendus selon la théorie Mendélienne, objectivant une une récessivité de l'allèle. Les résultats obtenus par Darwin et par Keeble, Pellew et Jones permettent de conclure que l'allèle responsable de fleurs péloriques est récessif, noté *p*, par rapport à l'allèle dominant provoquant l'absence de fleur pélorique noté *P*.
Des études[15] démontrent que chez *Antirrhinum majus*, les mufliers, qui appartiennent à la même famille que les digitales, à savoir la famille des Plantaginacées, que la pélorie est le résultat de la non expression du gène *CEN*, appelé aussi *Centroradialis* qui détermine la structure de l'inflorescence. Au laboratoire, quand ce gène est inactivé, on observe des fleurs péloriées chez les mufliers.

Ces différents travaux permettent de mieux comprendre l'origine de la fleur terminale chez les individus péloriques, ainsi que les allèles régissant la couleur des fleurs et des tâches.

9. *Nerium oleander* L.

a) Description de l'appareil végétatif

Nerium oleander, le laurier rose, est un arbuste appartenant à la famille des Apocynacées, famille contenant notamment la grande pervenche *Vinca major*, et la petite pervenche, *Vinca minor*, d'où sont extrait les alcaloïdes poisons du fuseau utilisés comme anticancéreux, à savoir la vincristine et la vinblastine. Cette famille botanique contient notamment les divers *Plumerias* ou frangipaniers, des plantes d'ornementation portant de nombreuses fleurs parfumées et colorées. *Nerium* provient du grec « *nērón* » traduisible par « eau » ou « humide », car le laurier rose se développe souvent à proximité des cours d'eau. *Oleander* viendrait lui du latin, possédant la même racine étymologique qu'« *olea* » voulant dire « olivier » car les feuilles rappelent celles de l'olivier.

Cet arbuste peut mesurer jusqu'à quatre mètres de hauteur. Ses feuilles sont de forme lancéolée (Fig. 22), glabres, très longues, fines et acuminées au sommet. Elles ne tombent pas l'hiver, elles sont donc persistantes. Il n'y pas de découpes au niveau du limbe, les feuilles sont entières. Elles sont presque sessiles car le pétiole est court.

Figure 22 : Feuilles lancéolées de *Nerium oleander*, *par E. Lafforgue*

On observe de nombreuses nervures parallèles, jusque 70, disposées le long de la nervure primaire. Les feuilles sont disposées de manière verticillée, elles forment un cercle d'un même niveau, composé au minimum de trois feuilles.
Les tiges sont coriaces, glabres et dressées vers le ciel. Lors de la rupture des tiges, un suc blanc et laiteux s'échappe. Les feuilles sont d'un vert clair et lumineux sur la face supérieure, tandis qu'elles sont d'un vert plus sombre sur la face inférieure.

b) Description de l'appareil reproducteur

Les fleurs hermaphrodites sont disposées en corymbe. Cette inflorescence se compose de fleurs insérées à des niveaux différents de la tige via leurs pédoncules, qui auront donc une longueur différente en fonction de la fleur, mais les fleurs arriveront finalement toutes au même niveau.
La corolle se compose de 5 pétales très irréguliers et découpés.
Ils sont soudés entre eux à la base, en forme de tube ; la fleur est donc gamopétale. Parfois, les pétales sont insérés sur plusieurs verticilles corollins. Il est possible de voir des fleurs doubles ou triples, c'est-à-dire que les pétales sont disposés sur deux ou trois niveaux différents, et sont toujours au nombre de cinq par niveau. Cette disposition particulière en plusieurs verticilles donne une forme hélicoïdale. Les pétales peuvent présenter différentes couleurs : roses, rouges, oranges, ou rarement blanches. On remarquera une couronne frangée au centre de l'inflorescence[16]. Cette couronne est nommée paracorolle et elle est constituée de pièces supplémentaires provenant de la corolle, donc de la même couleur que les pétales, mais qui sont de taille réduite et de forme irrégulière (Fig. 23 et 24).
Le calice se compose de 5 lobes lancéolés courts, ne portant aucun nectar, bien que la fleur soit parfumée. Les anthères sont soudées entre eux, les étamines sont ainsi synanthérées. Les étamines ne dépassent pas de la corolle.

Concernant le gynécée, le stigmate est obtus, et ne dépasse pas de la corolle. Il présente 2 lobes, il est ainsi bifide et contient à la base du style de nombreux ovules.

Figure 23 : Fleurs pentamères avec appendice corollin, de *Nerium oleander*, *par E. Lafforgue*

Figure 24 : Arbustes en fleur de *Nerium oleander*, *par E. Lafforgue*

c) La pollinisation

La pollinisation est entomophile. Cependant, comme dit précédemment, aucun nectar n'est sécrété par le laurier rose, aucun anneau nectarifère n'est présent, comme chez une grande partie des espèces appartenant à la famille des Apocynacées. Les *Plumerias* ne possèdent pas non plus d'anneau nectarifère. Le laurier rose doit compter sur la paracorolle afin de guider les insectes pollinisateurs vers le centre de sa fleur pour ainsi venir récolter le pollen et le répandre dans une autre fleur et ainsi venir fertiliser celle-ci.
La fécondation donnera naissance à des fruits secs de type follicule, qui est une capsule particulière car la déhiscence aura lieu de manière longitudinale sur un seul côté, mais possédant 2 valves d'ouverture. Les follicules (Fig. 25) sont d'abord verts, puis prennent une coloration brune en séchant. Ces follicules sont soudés en une gousse, qui est une enveloppe portant les follicules en son sein. Les nombreuses graines présentent des aigrettes de poils, leur permettant ainsi d'être parfaitement adaptées à une dissémination anémochore, par le vent. Les graines sont disséminées à une grande distance de la plante-mère.

Figure 25 : Follicules de *Nerium oleander*, contenus dans des gousses. Notons la présence de graines à aigrettes, permettant l'anémochorie, *par E. Lafforgue*

Les lauriers roses sont fréquemment parasités par une espèce de puceron, *Aphis nerii*, qui se nourrit de sa sève. La résistance présentée par les pucerons est semblable à celle des papillons monarques, que nous décrirons plus loin. Notons que les chenilles de *Daphnis nerii*, le sphynx du laurier rose, se nourrissent des feuilles.

d) Habitat et mode de vie

Le laurier rose apprécie les emplacements très lumineux. L'ensoleillement doit être assez élevé pour assurer une floraison abondante. Le climat doit être chaud, et il ne résiste pas aux gelées inférieures à -3 C°. Les lauriers roses seront donc facilement retrouvés sur le pourtour méditerranéen car le climat dans cette région est parfaitement compatible avec les caractéristiques requises par les lauriers roses : la température est élevée, les hivers sont très doux et la température descend rarement en dessous de 0 C°. De plus, le vent n'est pas un problème pour les lauriers roses, de même que la sécheresse. La pollution ne le dérangera pas non plus, on pourra le retrouver au bord des routes, d'autant plus que *Nerium oleander* est peu exigeant quant à la composition des sols. La floraison s'étend de fin mai-début juin à septembre, suivie de la production des gousses contenant les follicules avec les graines à aigrettes.

Toutes les parties de la plante sont toxiques. Nous verrons sa composition en hétérosides cardiotoniques dans une prochaine partie.

10. *Convallaria majalis* L.[(1)]

a) Description de l'appareil végétatif

Le muguet est une plante vivace herbacée, classé anciennement dans la famille des Liliacées, et il fait partie désormais à la famille des Asparagacées, selon la nouvelle classification. Cette plante possède un système racinaire particulier appelé rhizome rameux. Le muguet possède deux feuilles à la base, rarement trois. Ces deux feuilles sont opposées et enveloppées entre elles. Les deux feuilles sont pétiolées, même si elles apparaissent tous les deux comme sessiles. Elles sont de forme ovale, et sont lancéolées (Fig. 26). Aucuns poils ne sont visibles, que ce soit sur la tige ou sur les feuilles, des deux côtés. Elles sont donc glabres. De nombreuses nervures parallèles convergeant vers la pointe sont retrouvées.
Les feuilles sont de couleur verte, plutôt foncé et d'un aspect luisant. Les feuilles sont la plupart du temps acuminées, se terminant par une pointe.

Figure 26 : Feuilles lancéolées du muguet, par *V. Galievsky*

La tige est simple et dressée en diagonale à cause du poids des fleurs, et une enveloppe est présente à la base, qui entoure les pétioles et la tige.

b) Description de l'appareil reproducteur

La hampe florale peut mesurer 20 cm de haut maximum. Elle porte une grappe unilatérale de 4 à 9 fleurs blanches en clochettes. Des fleurs supplémentaires peuvent être observées, mais cela est plutôt rare. De la même manière que les feuilles sont pétiolées, les fleurs sont pédicellées. Le pédoncule est de taille décroissante du bas vers le haut. Des petites bractées sont visibles à la base de chaque fleur. Les bractées arrivent à la moitié des pédicelles. Le périanthe composé du calice et de la corolle est de forme campanulée.
Le périanthe est composé de 6 sépales pétaloïdes (Fig. 27) soudées entre eux. Il est impossible de différencier les sépales des pétales, et donc par extension le calice de la corolle. C'est la raison pour laquelle on parle de sépales pétaloïdes. Le périanthe est découpé en 6 dents, qui sont recourbées.

Figure 27 : Hampe florale du muguet, avec les sépales pétaloïdes blanc immaculé et de forme campanulée, photo libre de droit.

Figure 28 Baies rouges de *Convallaria majalis par A. Kwiecien*

Les fleurs hermaphrodites sont composées d'un androcée de 6 étamines soudées à la corolle et placées sur 2 verticilles, et d'un gynécée constitué d'un pistil avec un style de courte taille et d'un stigmate trilobé au sommet arrondi. L'ovaire est placé de manière supère, résultant de la soudure de 3 carpelles, sur un réceptacle floral convexe et dépasse largement les anthères portées par les filets. La placentation est axile, les ovules sont accrochés au placenta dans leurs loges initiales.

c) Reproduction

Le muguet possède une particularité reproductive, de par son appareil racinaire constitué de rhizomes rameux. Cet atout lui permet de se passer de la reproduction sexuée, en utilisant à la place la multiplication végétative. On parlera alors de multiplication clonale. En effet un seul et même individu sera comme répliqué ou cloné, à partir de la même racine initiale. Le rhizome se prolonge en stolons, à l'instar des fraisiers. Les stolons sont recouverts de nombreuses racines adventives, permettant une meilleure expansion. Sur le rhizome, de nombreuses griffes, c'est-à-dire un fragment de rhizome avec des racines, seront retrouvées.

On nommera bourgeon l'ébauche issue du rhizome permettant l'obtention de futurs brins. De nombreux clones sont interconnectés entre eux via leur rhizome. Les clones sont générés à partir de la partie souterraine de chaque bourgeon. Les centaines d'individus possèdent en fait un seul et même patrimoine génétique. Parfois, la colonie initiale peut se séparer en plusieurs colonies filles, indépendantes mais toujours de même génome.
Cependant, la reproduction peut aussi être sexuée, via la pollinisation entomophile, mais celle-ci est bien plus complexe par le fait qu'il existe une incompatibilité selon certaines études[17] au niveau pollinique chez un même clone. Il n'y aurait donc pas ou peu d'autogamie possible chez le muguet. Cela pose un problème important chez le muguet. L'autogamie est en fait une géitonogamie, les insectes visitant des fleurs portées certes par un bourgeon différent mais appartenant au même clone. L'ensemble des clones de la colonie présentant le même génome, le muguet se retrouve ainsi en échec reproductif, lorsque le pollen déposé sur le gynécée provient d'un autre clone de la même colonie. En conséquence, la fécondation est rarement possible car cela implique pour les insectes pollinisateurs présents, d'aller butiner des fleurs de muguet d'un autre clone, souvent situé à plusieurs centaines de mètres du clone initialement visité !
Comme chez la digitale laineuse, il existe donc une auto-incompatibilité. Cette dernière est normalement obtenue pour permettre le développement d'individus de patrimoine génétique différent. Dans le cas du muguet, l'effet inverse est ici observé, puisque c'est la reproduction clonale qui s'en trouve finalement favorisée, par un seul et même clone. Ici, la priorité est donnée à la surface occupée par un même clone. De plus, peu d'insectes pollinisateurs sont attirés, ce qui s'explique notamment par l'absence de nectar des fleurs du muguet (malgré leur agréable parfum), et par leur petite taille et leur forme, rendant compliquée l'entrée des insectes. Seuls des insectes de très petites tailles peuvent ainsi entrer dans l'inflorescence.
Néanmoins, lorsque cela est le cas, la fécondation peut aboutir, et amènera à la production d'une baie (Fig. 28) charnue d'abord orangée puis rouge globuleuse, contenant plusieurs graines, jusqu'à 6, de couleur blanche voire jaune. Les graines sont dispersées par pourrissement des baies lisses et charnues après leur chute sur le sol. Certaines études[18] évoquent une possible endozoochorie, notamment par les rongeurs comme les campagnols roussâtres. Ces derniers propageraient les baies et donc les graines du muguet, en faisant des réserves, et en ne consommant pas ces fruits. Cette endozoochorie permettrait de propager les graines plus loin. Selon cette même étude, les oiseaux disperseraient plus rarement les graines ou fruits du muguet que les rongeurs.

Peu importe l'animal mis en jeu dans cette dissémination, le résultat est la formation d'une nouvelle colonie, avec un nouveau patrimoine génétique. Elle pourra ainsi former de nouveaux bourgeons, par multiplication clonale, ou de nouvelles colonies par reproduction sexuée.

d) Habitat et mode de vie

Le muguet est une plante d'ombre, voire de mi-ombre. Elle sera retrouvée dans les bois de feuillus, notamment de chênes, de charmes, de hêtres, dans les sous-bois et à la lisière des forêts. Ses exigences au niveau des températures et de l'humidité ne sont pas particulières. Des conditions climatiques tempérées seront donc suffisantes. Une seule faiblesse sera retrouvée cependant, en sa non-tolérance à la salinité. Cette plante sera donc retrouvée dans toute la France, sauf sur la côte méditerranéenne. Un des avantages du muguet réside dans sa forme rhizomateuse, lui permettant de survivre l'hiver. La floraison commencera à la mi-avril, pour s'étendre durant tout le mois de mai jusqu'en juin. Viendra ensuite la génération des baies qui seront présentent de juillet jusqu'à octobre.
Toutes les parties de la plante sont toxiques. Nous verrons sa composition en hétérosides cardiotoniques dans une prochaine partie.

11. *Strophantus spp*[19]

a) Description de l'appareil végétatif

Le genre *Strophantus* comporte plusieurs espèces d'arbres, arbustes ou lianes originaires d'Afrique. Ce genre appartient à la famille des Apocynacées, tout comme le laurier rose. Nous allons décrire des caractéristiques générales du genre *Strophantus,* car de nombreuses espèces existent. Les feuilles sont lancéolées, assez larges. Le limbe n'est pas découpé, la marge est entière. Les feuilles sont de couleur vert sombre sur la face supérieure et vert clair sur la face inférieure. Néanmoins de légères tâches vert clair sont visibles au centre de la face supérieure du limbe. Les feuilles sont acuminées, se terminant en pointe. Elles disposent d'un pétiole. Elles sont nombreuses et opposées et possèdent des nervures secondaires parallèles entre elles mais qui sont largement espacées. Les feuilles sont caduques et peuvent être soit totalement glabres ou bien poilues. En fonction de l'habitat et du climat, les strophantes peuvent prendre plusieurs formes : soit une forme d'arbuste dans les climats chauds, soit une forme de lianes dans les climats humides. Parfois ces lianes sont retrouvées au sommet d'autres arbres. Les strophantes peuvent mesurer fréquemment plus d'une dizaine de mètres de haut. Comme chez toutes les Apocynacées, du latex est présent lors de la coupe de l'écorce.

b) Description de l'appareil reproducteur

Les fleurs sont regroupées en cymes bipares, disposées en ombelles. Comme pour le laurier rose et certaines espèces d'Apocynacées, il est retrouvé des appendices corollins découpés au centre la corolle qui est ici plus foncée au centre. Une coloration rose clair ou blanche est fréquente. Certaines espèces sont parées d'une couleur jaune à orangée. L'intérieur de la corolle est souvent tacheté de rose ou de rouge. La corolle est gamopétale. La fleur est pentamère et elle est infundibuliforme. On remarque, chez certains strophantes comme *Strophantus petersianus*, que l'extrémité des pétales s'effilent en de longs prolongements bicolores (Fig. 29) de plusieurs centimètres et, en pendant, leur donne une apparence remarquable. Concernant l'androcée, les cinq étamines sont soudées entre elles, et contiennent quatre sacs polliniques. Les stigmates se trouvent au-dessus du gynécée. La déhiscence des sacs polliniques est introrse. Au niveau du sommet des étamines, il se trouve un apex stérile formant une cloche au-dessus des stigmates. De leur côté les styles forment un bourrelet. Le gynécée et l'androcée sont soudés entre eux. Les étamines se posent sur les stigmates et forment ainsi un toit. On parle alors de gynostège. Le gynécée quant à lui a la particularité d'être composé de carpelles libres, qui sont soudés uniquement au niveau des styles et stigmates.

Figure 29 : Fleurs et feuilles de *Strophantus petersanius*. Les lanières effilées sont visibles. Photographie libre de droit

c) Pollinisation

Lorsque dans une première phase les anthères sont situées au-dessus des styles et stigmates, la pollinisation autogame est encore possible. Après un certain temps chez les strophantes la pollinisation est forcément croisée, à cause de la disposition de l'androcée et du gynécée, avec cette soudure, et donc la présence de gynostège. L'autogamie ou la pollinisation anémophile est impossible, seule la pollinisation entomophile est réalisable[5]. En effet, à cause des bourrelets formés par les styles et du dôme formé par les anthères recourbées, la présence d'un insecte pollinisateur est nécessaire. L'insecte permettra, lors de sa recherche de nectaire au centre de l'inflorescence, de récolter le pollen se trouvant plus bas que le gynécée, plus en profondeur de la corolle tubuleuse en franchissant les divers obstacles et de le déposer au niveau du gynécée se trouvant plus haut que l'androcée supérieur d'une autre fleur. Cette disposition des appareils reproducteurs permet d'assurer une diversité génétique chez les strophantes. De façon similaire à la fructification chez *Nerium oleander*, une fois la fleur fécondée, les styles et les stigmates fanent et laissent place à un fruit de type gousse, avec un grand follicule acuminé impressionnant de plusieurs centimètres (parfois plus de 45 cm), contenant de nombreuses graines glabres ou non, tout dépend de l'espèce, qui sont de couleur brun-jaune clair. La dispersion sera donc facilitée par le vent, elle est anémochore.

d) Habitat et mode de vie

Les strophantes sont originaires d'Afrique, notamment du Gabon, du Congo, de Guinée, de Tanzanie et du Soudan où ils sont retrouvés dans la brousse, dans la savane, dans les forêts et au bord des ruisseaux. Comme expliqué précédemment, il n'est pas rare d'observer des lianes de *Strophantus* en hauteur sur d'autres arbres. Ils s'enroulent autour de ces derniers pour leur servir de support, afin d'accéder à la lumière du soleil. La floraison commence en mars, et la fructification en dehors de la saison des pluies, donc lors de la saison sèche.
Toutes les parties de la plante sont toxiques. Nous verrons sa composition en hétérosides cardiotoniques dans une prochaine partie. Cette plante est notamment la source d'un poison, la strophantine, utilisé par les pygmées pour enduire leurs flèches pour chasser, tandis que l'ouabaïne a notamment été utilisée en thérapeutique.

12. *Drimia maritima*, Stearn[1]

a) Description de l'appareil végétatif

La scille maritime est une plante vivace et bulbeuse appartenant comme le muguet à la famille des Asparagacées. Cette plante produit une tige d'environ 1,50 m, totalement glabre. Les très longues feuilles coriaces sont de forme lancéolée, ne présentant pas découpures au niveau de la marge du limbe. Les feuilles (Fig. 30) sont fortement ondulées et se terminent en pointes, elles sont donc acuminées. Elles proviennent toutes du bulbe imposant et composé d'écailles enchâssées qui dépasse du sol, et se dressent vers le ciel. La nervure principale est fortement marquée et forme une dépression qui s'étend de la base jusqu'à la pointe, et les nervures secondaires sont aussi longues que la nervure principale, et sont parallèles à celle-ci. Les limbes sont longuement pétiolés. Les feuilles peuvent prendre différentes colorations, la plupart du temps elles sont vert clair à la base du pétiole et sont plus foncées à la pointe. Les feuilles apparaissent avant les fleurs, et ne sont plus présentes lors de la floraison.

b) Description de l'appareil reproducteur

Les fleurs hermaphrodites se présentent sur une grappe dressée. Le périanthe est blanchâtre, et est constitué de 6 sépales pétaloïdes étoilés. Ces tépales présentent une nervure unique qui part de la pointe et qui est rosée ou verte (Fig. 31). Les fleurs sont portées par un long pédicelle, bien plus long que la fleur et que la bractée lancéolée. Le pédicelle comme la tige de la hampe sont de couleur rouge clair. L'androcée est obhaplostémone car il est constitué de 6 étamines libres, disposées en un seul verticille, et les étamines sont disposées de manière oppositipétale : chaque étamine se trouve en face d'un tépale pétaloïde. Les anthères sont vertes et plus courtes que le périanthe. Le gynécée est constitué d'un unique style portant le stigmate, plus court que l'androcée, et qui est constitué d'un ovaire supère, inséré au-dessus des pièces florales.
Les fleurs sont nyctinastes, c'est-à-dire qu'elles se ferment pendant la nuit, en l'occurrence à partir de 19 heures.

Figure 30 : Feuilles ondulées de *Drimia maritima* sortant du bulbe écailleux, par *Z. Cebeci*

Figure 31 : Hampe florale de *Drimia maritima*, avec nervure rosée visible sur les tépales blancs, *par Z. Cebeci*

c) Pollinisation

Selon A. Dafni et R. Dukas[20], la pollinisation chez *Drimia maritima* est constituée de plusieurs modes : l'autogamie, la pollinisation anémophile et la pollinisation entomophile. Les insectes sont attirés par le nectar qui n'est pas reconstitué après évaporation. Sa concentration en sucres augmente après la mi-journée. La différence de concentration en sucres qui varie tout au long de la journée permet d'attirer différents types d'insectes. Sa haute viscosité lui permet d'être retenu auprès de l'ovaire et ainsi favoriser le dépôt de pollen à proximité de l'ovaire. La pollinisation entomophile quant à elle est favorisée par la structure lisse et non collante du pollen, qui est facilement dispersé lorsque la hampe est balayée par le vent. D'autre part, les scilles maritimes vivent souvent sous forme de colonies à cause de la reproduction végétative[21]. Cela permet donc une certaine proximité entre les individus. Ces deux caractéristiques favorisent la pollinisation anémophile. La reproduction végétative existe chez cette espèce d'Asparagacées, de la même manière que chez le muguet, appartenant à la même famille. Après la fécondation, il apparait des grandes capsules ovales et triangulaires avec à l'intérieur des graines portant des ailes. La dissémination est donc anémochore.

d) Habitat et mode de vie

Drimia maritima nécessite un environnement parfaitement ensoleillé, accompagné d'une température élevée. Un sol basique est particulièrement apprécié, et le sol ne nécessite pas

d'être riche en nutriments. Elle sera retrouvée en France sur la côte méditerranéenne, notamment dans les Alpes-Maritimes et en Corse. Elle sera retrouvée au Proche-Orient, notamment en Jordanie et en Israël, où elle formera souvent des cercles dans les milieux arides[22]. Concernant son cycle de vie, la plante produit des feuilles en fin d'automne, qui resteront jusqu'en fin de printemps. Vers fin mai ou début juin, les feuilles sècheront, et il faudra attendre le mois d'août pour voir apparaitre une unique hampe florale qui restera fleurie jusqu'à octobre. Les capsules seront produites à la fin de la floraison, en novembre. Le bulbe imposant permet de survivre à des températures élevées et à l'absence de pluie.

Toutes les parties de la plante sont toxiques. Elle contient notamment de la scillaride, utilisée comme rodenticide. Nous verrons sa composition en hétérosides cardiotoniques dans une prochaine partie.

13. *Cascabela thevetia* Lippold

a) Description de l'appareil végétatif

Cascabela thevetia, aussi appelé laurier jaune, est une plante arbustive appartenant à la famille des Apocynacées. Le nom d'espèces *thevetia* rend hommage au missionnaire français André Thevet, qui a étudié plusieurs plantes du même genre au Brésil. Les feuilles sont très courtement pétiolées, et sont de forme lancéolée et acuminée, de la même manière que les limbes des lauriers roses. Une nervure primaire plus claire formant une dépression tout le long du limbe est visible, ainsi que des nervures secondaires qui sont parallèles entre elles, mais peu profondes. Les limbes sont très fins, entiers, et sont totalement glabres. Les feuilles sont vert clair et luisantes sur le dessus, plus ternes sur le dessous. Ces feuilles alternes ressemblent à celles des lauriers roses, mais sont beaucoup plus fines. L'arbuste peut atteindre plusieurs mètres de haut. Comme tous les Apocynacées, le laurier jaune contient un latex dans ses organes aériens.

b) Description de l'appareil reproducteur

Les fleurs sont disposées en cyme terminale, une cime contenant jusqu'à 8 fleurs. La corolle est constituée de 5 pétales tubulaires jaunes soudés (Fig. 32), la corolle est gamopétale. Les pétales se recouvrent en partie, prenant ainsi un aspect infundibuliforme. La partie supérieure la plus externe des pétales termine par une pointe aigue, formant ainsi des angles droits lors de la superposition des pétales. Le calice est composé de 5 sépales soudés ovales étoilés, le calice est donc gamosépale. La préfloraison comme chez beaucoup d'espèces du genre Apocynacées est dite contortée car les pétales se recouvrent mutuellement, comme chez le Convolvulacées. L'androcée est typique des Apocynacées, car il est constitué de 5 étamines soudées entre elles, placées en-dessous du gynécée. Le gynécée est constitué d'un pistil à deux carpelles.

Figure 32 *:* Fleurs et feuilles de *Thevetia peruviana, par F. et K. Starr*

L’androcée et le gynécée sont soudés, comme chez beaucoup d’Apocynacées. La conformation en gynostège décrite précédemment est retrouvée ici.

c) Pollinisation[23]

La pollinisation est entomophile. La forme de l’intérieur de la corolle et la présence de poils drus permettent de guider les insectes. En effet, à l’intérieur de la corolle, 5 ouvertures sont obstruées par des poils blanchâtres, mais permettant l’entrée des insectes. Une sixième présente des poils enchevêtrés interdisant ainsi l’accès par cette ouverture. Les insectes sont attirés par une sécrétion odorante, malgré l’absence de nectar, fréquente chez de nombreuses Apocynacées. Les insectes peuvent franchir les ostiums partiellement obturés (Fig. 33), car les poils sont dirigés vers l’intérieur de la corolle. De cette manière, ils entrent par la base des poils et en se frayant un chemin à travers ces poils, où ils rencontrent immédiatement le stigmate porté par le style. Le dépôt de pollen provenant d’une autre fleur est donc effectué, rien qu’en entrant dans la corolle. Suite à ce franchissement et ce dépôt de pollen, les insectes peuvent ainsi rejoindre le centre de l’inflorescence, lieu le plus odorant. À la base se trouve l’ovaire supère. Lorsque les insectes désirent quitter l’inflorescence, ces derniers se retrouvent comme pris au piège, car ils ne peuvent pas emprunter le même chemin initial. Les poils sont orientés et sont resserrés vers l’intérieur de la corolle, obstruant alors totalement la sortie. La seule solution est d’emprunter le chemin central, puisque celui-ci est dénué de poils orientés vers l’intérieur. Cependant, l’ouverture centrale dispose de poils qui sont eux orientés vers l’extérieur. L’organisation de la fleur oblige donc les insectes à d’abord polliniser la fleur visitée en entrant et en sortant par des ostiums bien définis.

Cette disposition particulière permet de s’assurer de la récolte et du dépôt du pollen aux bons endroits, avec des passages obligés au niveau des anthères et du stigmate (Fig. 34).
Il est intéressant de noter que des insectes avec de longues pièces buccales, comme certains papillons, peuvent butiner l’inflorescence sans franchir les barrières de poils.

Figure 33 : Vue interne d'une fleur de *Cascabela thevetia*, où les ouvertures latérales menant à l'androcée et le gynécée sont obstruées par des poils drus mais orientés vers l'intérieur, permettant ainsi l’entrée mais par la sortie. Photo libre de droits.

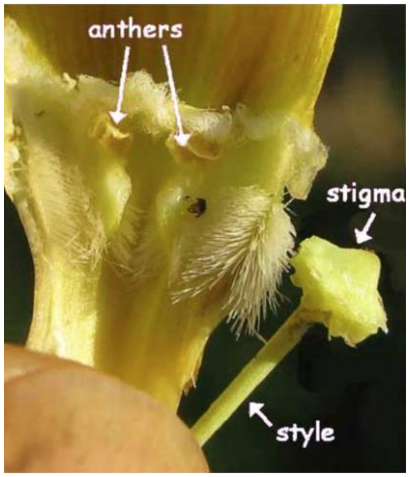

Figure 34 : Coupe longitudinale d'une fleur de *Cascabela thevetia*, où l'on remarque les anthères appliquées sur la seule sortie possible qui est centrale et non obstruées de poils drus orientés vers l'intérieur. Photo libre de droits

d) Habitat et mode de vie

Après la fécondation, des drupes biloculaires qui sont de couleur verte quand immatures et marron quand matures, sont obtenues. Les deux carpelles sont séparés par une cloison ligneuse. Les carpelles sont ailés et portent chacun 2 graines ovalaires. La dissémination est donc anémochore. La floraison intervient chaque année au moment de l'été. Les lauriers jaunes sont originaires d'Amérique latine, depuis le Mexique jusqu'en Amérique du Sud. Aujourd'hui, on peut le retrouver en Asie, en Inde, en Afrique et mêmes dans les Antilles Françaises. Le laurier jaune apprécie un sol plutôt sablonneux, et demande un fort ensoleillement, placé à l'abri du vent.

Toutes les parties de la plante sont toxiques. Nous verrons sa composition en hétérosides cardiotoniques dans une prochaine partie.

14. *Helleborus foetidus* L[(1)]

a) Description de l'appareil végétatif

Helleborus foetidus, l'hellébore fétide, encore appelée « pied de griffon » est une plante herbacée appartenant à la famille des Renonculacées. Une mauvaise odeur se dégage des feuilles froissées, donnant l'adjectif « fétide » à cette herbacée. Elle peut mesurer jusque 80 cm. Elle est persistante, et possède de nombreuses feuilles qui portent des petites bractées appelées bractéoles. Les feuilles sont composées et palmatinervées, plus précisément pédalées : plusieurs lobes, entre 7 à 11, sont présents et les lobes latéraux sont soudés à la base. Les lobes sont de couleur vert foncé, avec la nervure primaire vert clair. Les nervures secondaires sont peu marquées, et sont disposées de part et d'autre de la nervure principale. Les lobes sont reliés au pétiole par des pétiolules (c'est-à-dire des pétioles de foliole) rougeâtres. Les lobes sont acuminés. De très grandes et larges bractées ovalaires vert pale sont visibles à la base des lobes.

b) Description de l'appareil reproducteur[(5)]

Les fleurs sont vertes, avec un fin liseré rouge sur la marge des sépales (Fig. 35). Les fleurs sont disposées en cymes unipares hélicoïdes, et sont tournées vers le sol.
On observe une différenciation des sépales, que l'on nomme pétalisation des nectaires chez les hellébores. Ce sont des pétales modifiés produisant du nectar attirant les insectes et prenant la forme de petits pétales verts verticilliés à la base des étamines, et creusés en forme de cornet. Les pétales dans la formule florale sont en fait des nectaires. La fleur est composée de 5 sépales pétaloïdes. La fleur de l'hellébore fétide suit la structure générale des fleurs des Renonculacées. Le réceptacle floral est bombé et l'insertion des différentes pièces florales se fait de manière hélicoïdale (Fig. 36), avec des tépales ainsi qu'un nombre indéfini d'étamines. On parle d'androcée polystémone. De nombreux carpelles s'assemblent également. Une certaine cyclisation se met en place : la disposition hélicoïdale est rompue en différents verticilles. On observe une pentamérisation des pièces florales, ce qui donne la formule florale suivante :

$$5S + 10 \text{ à } 15P + nE + \underline{nC}$$

Le gynécée quant à lui est polycarpique, car il est constitué de nombreux carpelles indépendants les uns des autres. Le pistil cornu dépasse de l'androcée.
Les fleurs sont hermaphrodites et suivent une floraison protogyne, ce sont d'abord les organes femelles qui sont visibles, puis les organes mâles.

Figure 35 : Inflorescence *d'Helleborus foetidus*, avec l'androcée polystémone, les sépales verts avec le liseré rouge et les pétales nectarifères, par *O. Titus.*

Figure 36 : *Helleborus foetidus*, avec ses feuilles composées et sa cyme hélicoïde visible, par *H. Zell*

c) Reproduction

La floraison de l'hellébore fétide a lieu en hiver. Au début de la floraison, les fleurs sont au stade femelle, seul le gynécée mature est rendu disponible, on peut voir les styles et stigmates dépasser de l'inflorescence. La fleur peut donc uniquement être fécondée par du pollen d'une autre fleur. Ensuite viendra la maturation des nombreuses étamines, dans la phase mâle. C'est lors de cette phase que le pollen pourra être récolté par les insectes pollinisateurs. Notons que des études[24] montrent que l'auto-pollinisation est possible chez l'hellébore fétide. Les deux stades peuvent être présents en même temps, rendant possible l'autogamie. Toujours selon ces mêmes études, il n'existe pas de moyens permettant, comme chez la digitale laineuse ou le muguet, de rendre impossible l'auto-pollinisation, par auto-incompatibilité pollinique, l'action d'ARNase, ou la synthèse de bouchon de callose. L'auto-fécondation est donc possible chez l'hellébore fétide, même si elle réduit fortement la diversité génétique, cette dernière permettant de garantir une fructification, avec une expansion des individus, même dans le cas où la pollinisation entomophile n'est pas réalisée à la suite d'évènement climatiques diminuant les visites des insectes. Chez l'hellébore, la pollinisation entomophile reste le meilleur moyen d'obtenir la fécondation et ainsi la génération d'individus génétiquement différents. L'hellébore a mis en place plusieurs stratégies[25] afin de favoriser cela. Tout d'abord, on peut noter la présence du liseré rouge sur les sépales pétaloïdes permettant d'attirer visuellement les insectes pour visiter la fleur. Ensuite, la sécrétion d'un nectar, par les nectaires en forme de cornet, permet l'attraction des abeilles et bourdons. De plus, cette sécrétion de nectar produit de la chaleur, via des levures vivant dans les cornets nectarifères. Cette chaleur est perçue par les insectes, d'autant plus en hiver où les températures sont basses, permettant ainsi une forte attraction. Cette sécrétion de nectar par les pétales transformés en cornets nectarifères et la principale raison de la visite des insectes pollinisateurs. Enfin la présence d'un androcée polystémone augmente l'attraction par cette fleur. L'autopollinisation et la pollinisation entomophile concourent à la génération de plusieurs follicules par fleur, qui s'ouvriront par déhiscence suturale, au niveau ventral, libérant ainsi plusieurs graines, avec un appendice recourbé à leur extrémité. Les sépales pétaloïdes verts après la floraison vont rester et grâce à la photosynthèse, vont soutenir la formation des graines et des follicules[26].

Ces graines sont recouvertes d'un élaïsome, une excroissance gélatineuse riche en lipides et protéines, qui permet d'attirer les fourmis et ainsi accomplir la myrmécochorie, à savoir une dissémination des graines par les fourmis. Ces dernières vont ramener les graines dans leur fourmilière pour nourrir la colonie de l'élaïsome. Une fois l'élaïsome consommé, les graines seront laissées dans la fourmilière, et pourront germer.

d) Habitat et mode de vie

Le mode de vie des espèces du genre *Helleborus* est bien particulier, raison pour laquelle on nomme par exemple l'hellébore noire « rose de Noël ». En effet l'hellébore fétide est une des rares plantes s'épanouissant en plein hiver, de décembre à avril. Cela s'explique notamment par une stratégie de monopolisation des insectes pollinisateurs : en proposant des fleurs en dehors de la période de floraison habituelle, l'hellébore s'assure d'avoir de plus nombreuses visites, et donc un meilleur succès reproductif, en attirant la majorité des insectes présents. De plus, la production de chaleur par le catabolisme des sucres réalisé par les levures présentes dans les cornets nectarifères, permet à l'hellébore de mieux supporter les températures hivernales : puisque les fleurs sont tournées vers le sol, la température peut donc être constante à l'intérieur des fleurs. Les insectes seront aussi attirés par cette chaleur.
Enfin, des études[27] démontrent que la myrmécochorie est favorisée par cette période de floraison inhabituelle : en fleurissant pendant l'hiver, les graines et donc l'élaïsome seront disponibles à l'exact moment où la population de *Formica rufibarbis*, une espèce de fourmis européennes, est la plus élevée, à savoir en juillet. L'hellébore s'est donc adaptée au mode de vie des fourmis, dans un but de dissémination des graines. L'héllébore fétide est retrouvée dans toute la France et en Europe, dans les plaines et les bois. On la retrouve notamment dans les bois de chênes pubescents, dans des sols très calcaires. Elle ne demande pas un ensoleillement élevé. L'hellébore fétide supportera une certaine sécheresse et les températures négatives.
Helleborus foetidus et *Helleborus niger*, l'hellébore fétide et l'hellébore noire, sont des plantes contenant des bufadiénolides, à savoir des hétérosides cardiotoniques, comme le montre de récentes études[28],[29].

Toutes les parties de ces plantes sont toxiques, et nous verrons leur composition dans une prochaine partie.

15. *Adonis aestivalis* L.[1]

a) Description de l'appareil végétatif

L'adonis d'été est une plante herbacée qui appartient tout comme l'hellébore à la famille des Renonculacées. La tige mesure environ 40 cm et est pratiquement glabre, sauf à la base où elle est recouverte de poils. La tige est creuse et la racine est fibreuse et pivotante. Les feuilles sont très fines : le limbe est très découpé, en de nombreuses lanières, on le qualifie de multifide. Les feuilles présentent un pétiole au niveau des feuilles inférieures, mais n'en présentent plus au niveau des feuilles élevées.

b) Description de l'appareil reproducteur[5]

Comme chez l'hellébore, l'organisation du système reproducteur est bien particulière. Notons la présence d'une coloration profonde noire à la base des sépales pétaloïdes, formant comme un cercle au centre de la fleur (Fig. 37). Il y un mécanisme de sépalisation des bractées. Les bractées présentes sous la fleur vont se joindre et créer le calice. Il y aura donc la formation de 5 sépales. Concernant les pétales, on parlera plus précisément de sépales pétaloïdes, qui sont entre 3 et 8. Les sépales pétaloïdes sont rouges ou jaunes, très souvent orange. Contrairement à l'hellébore, il n'y a pas de cornets nectarifères. Par similarité avec l'hellébore on observera une pentamérisation des pièces florales. On constatera la présence d'un androcée polystémone, avec un nombre indéterminé d'étamines.

Les anthères sont très foncées. Concernant le gynécée, il est polycarpique, car il contient de nombreux carpelles, et possède un ovaire supère. La formule florale est donc la suivante :

$$5S + 3\text{-}8P + nE + nC$$

Les fleurs sont donc actinomorphes et hermaphrodites.

Figure 37 : *Adonis aestivalis*, avec la coloration noire à la base des tépales, l'androcée polystémone ainsi que les feuilles multifides bien visibles, par *S. Lefnaer*

c) Reproduction

La pollinisation est principalement entomophile, du fait de caractères attirant les insectes. D'abord, les nombreuses étamines, qui constituent l'androcée polystémone, augmentent l'attraction de l'inflorescence. De plus, le cercle noir visible au centre de la corolle qui est constitué par le chevauchement des tépales, avec leurs tâches noires à la base, est un bon moyen d'attirer les insectes. L'adonis, de la même manière que l'hellébore est capable de réaliser l'autopollinisation[30]. Cependant, les graines résultant de l'autopollinisation seront moins nombreuses et de plus petite taille que les graines issues de la fécondation croisée.
Les fruits résultant de la fécondation ou de l'autopollinisation sont des akènes, car le réceptacle floral des Renonculacées est assez étroit. Contrairement à l'hellébore, chez qui le nombre de carpelles au centre de la fleur a diminué, l'adonis fait avorter les ovules dans chaque carpelle, sauf un seul, menant ainsi à la formation d'akènes de petite taille permettant une optimisation de la place disponible. Les akènes de l'adonis sont pyramidaux, bruns, plus foncés à leur sommet et présentent des crochets pointus. La dissémination n'est pas réalisée par les fourmis, car il n'y pas d'élaïsome. Elle serait donc épizoochore, via les poils des animaux.

d) Habitat et mode de vie

L'adonis d'été apprécie un ensoleillement important, ainsi que des températures plutôt élevées. Cette plante est calcicole, elle se développera ainsi sur les sols calcaires. Les sols sur lesquels elle est habituellement retrouvée sont généralement pauvres en nutriment. L'adonis d'été est retrouvé en Europe méridionale. Cette plante sauvage est en déclin, à cause de l'utilisation massive des pesticides. Habituellement, cette plante était fréquemment retrouvée aux abords des champs de culture. De nos jours, elle s'en est éloignée, et se retrouve dans les lieux incultes ensoleillés. La floraison s'étend de mai jusqu'à début août. Toutes les parties de cette plante sont toxiques, et nous verrons sa composition dans une prochaine partie.

B. Hétérosides cardiotoniques retrouvés dans le règne animal

1. Crapauds du genre *Bufo*

Les crapauds du genre *Bufo*, comme le crapaud commun, *Bufo bufo* (Fig. 38), retrouvé dans toute l'Europe, sécrètent à la surface de leur peau plus de 118 bufadiénolides. Ce sont des hétérosides cardiotoniques qui sont produits grâce leurs glandes à venin[31], les glandes paratoïdes, se trouvant juste à l'arrière des yeux au niveau des épaules et du cou. Ces hétérosides cardiotoniques permettent aux crapauds de se défendre face à leurs prédateurs, en empêchant par exemple que les têtards soient ingérés, puisque ces derniers en contiennent également. De plus, ces molécules étant sécrétées directement à la surface de la peau, le crapaud peut être protégé des infections fongiques et bactériennes[32].

Figure 38 : *Bufo bufo*, crapaud commun, par *E. Lafforgue*

Des études démontrent la plus grande concentration en bufadiénolides chez les crapauds exposés au pesticides comme le glyphosate[33]. Cette constatation rappelle l'augmentation de concentration en bufadiénolides chez les crapauds lorsqu'ils sont face à un prédateur. Les modifications biochimiques induites par les pesticides, aboutiraient alors à un mécanisme de défense. Les crapauds sécrètent également de la bufoténine, une molécule dérivée de la sérotonine, qui provoque des hallucinations. Certains toxicomanes recherchent alors les crapauds pour accéder à cette bufoténine : plusieurs intoxications ont été décrites, dues à la présence de bufadiénolides. Nous reverrons cela dans la partie dédiée aux intoxications par les hétérosides cardiotoniques.

2. *Danaus plexippus* L

Danaus plexippus (Fig. 39), encore appelé monarque, est un lépidoptère nord-américain de la famille des Nymphalidés. Sa particularité, outre sa remarquable beauté et ses impressionnantes migrations, réside dans sa composition en hétérosides cardiotoniques, récupérés directement sur les Asclépiadacées, une sous-famille de plantes appartenant à la large famille des Apocynacées, qui comprend de nombreuses plantes synthétisant des hétérosides

cardiotoniques. Nous avons décrit précédemment le laurier rose ainsi que laurier jaune, deux espèces appartenant à cette famille et synthétisant des cardénolides.
Contrairement aux crapauds du genre *Bufo*, qui sont capables de synthétiser *de novo* des bufadiénolides, les papillons monarques sont capables de s'imprégner de cardénolides présents notamment sur deux espèces de la sous-familles des Asclépiadacées, à savoir *Asclepias syriaca*, l'asclépiade commune, et *Asclepias tuberosa*, l'asclépiade tubéreuse[34]. Ces deux Asclépiadacées font partie des plantes privilégiées pour la ponte des œufs des monarques.
Selon une récente étude[35] publiée dans la revue *Nature*, la résistance aux cardénolides acquise par les papillons monarques est la conséquence d'une substitution d'un acide aminé sur la sous-unité α de la pompe Na^+/K^+ ATPase. Cette substitution s'opère sur trois sites de la sous-unité α de l'ATPase, en position 111, 119 et 122. Selon Holzinger[36], une des substitutions concerne l'asparagine en position 122, qui est substituée par l'histidine. Il en résulte une très faible affinité pour les hétérosides cardiotoniques, rendant alors la pompe Na^+/K^+ ATPase insensible à ces derniers. De plus, la résistance aux cardénolides présentée par les monarques serait favorisée par l'absence de la pompe Na^+/K^+ ATPase des tissus autres que neuronaux, selon une étude menée par Vaughan et Jungreis[37]. Toujours selon les auteurs, ces lépidoptères possèdent une grande concentration en potassium et une faible concentration en sodium dans leur hémolymphe, contrairement à la plupart des espèces d'insectes. Cette forte concentration potassique dans l'hémolymphe bloquerait grandement voire complètement l'effet des hétérosides cardiotoniques sur les peu nombreuses pompes Na^+/K^+ ATPases présentes uniquement dans le système nerveux des papillons monarques. Cependant il resterait une faible action des cardénolides, puisque les monarques possédant la plus grande concentration en cardénolides sont les individus les plus petits. La résistance serait donc presque totale, mais pas complètement.

Figure 39 : *Danaus plexippus* mâle sur une une fleur de *Nerium oleander*, par *J. Albre.*

Les chenilles du monarque se nourrissent de feuilles d'asclépiades, et commencent par stocker les cardénolides à l'intérieur de leur intestin moyen, puis dans l'hémolymphe, et enfin dans les autres tissus. Il n'y pas de dégradation de ces hétérosides cardiotoniques. Les femelles monarques contiennent plus d'hétérosides que les mâles, afin de les transmettre à leurs larves et ainsi les protéger[38] de leurs principaux prédateurs, le geai bleu et les autres passereaux.

Cependant, de récentes études[39] montrent des substitutions au niveau de site Q111E de la sous-unité α de la pompe Na^+/K^+ ATPase, conférant ainsi une certaine résistance aux glycosides cardiotoniques. Cette mutation a notamment été retrouvée chez *Pheucticus melanocephalus*, le cardinal à tête noire, un passereau capable de se nourrir des monarques. Cette étude suggère ainsi une évolution convergente de la résistance aux hétérosides cardiotoniques.

Nous verrons dans une prochaine partie quels sont les hétérosides cardiotoniques emmagasinés par les papillons monarques.

C. Historique des digitaliques

1. En thérapeutique

La digitale pourpre fait partie des plus anciennes plantes utilisées en cardiologie. Cependant, les digitales n'apparaissent pas dans la *Materia medica*, écrite en 70 après Jésus-Christ, de Dioscoride selon Kreis[40]. De plus, toujours selon le même auteur, les digitales pourpres n'ont pas été utilisées par les Grecs ou les Égyptiens, car elles ne sont pas originaires de ces régions. Cependant, John Gerard, dans ses travaux publiés en 1633, explique que Claude Galien, ayant exercé son art à Rome, employait les digitales pour « nettoyer le souffle ». Au Moyen-Âge, une utilisation est retrouvée, pour traiter l'insuffisance cardiaque et les œdèmes, plus précisément dans l'anasarque, qui est un œdème généralisé des parois séreuses. Des utilisations par les médecins de Myddfai, des médecins Gallois préparant des plantes médicinales, sont rapportées aux alentours de 1250 après Jésus-Christ[40]. Il faudra attendre le XVI^{ième} siècle pour obtenir la première description publiée dans *De Historia Stirpium* par Fuchs, de plantes du genre *Digitalis.* Léonard Fuchs, médecin et botaniste Suisse, utilisera la digitale pourpre dans le traitement de la tuberculose, car elle aurait comme propriété selon lui de drainer le pus à travers les poumons et la poitrine[41]. Des cataplasmes de digitales ont même été utilisés pour soulager les douleurs survenant à la suite de la fièvre. John Wall au XVIII^{ième} siècle utilisera par la voie cutanée des feuilles de digitales, en tant que purgatif. Cela montre donc un certain passage transcutané des hétérosides cardiotoniques. Parkinson suggèrera une efficacité dans les crises d'épilepsie des extraits de digitales.

Finalement, les travaux réalisés en 1785 par William Withering, un médecin et botaniste anglais, nommés "*An account of the foxglove, and some of its medical uses"*[42] constitueront une grande avancée dans la connaissance et l'utilisation des digitaliques. Withering explique dans ses travaux qu'il a entendu parler en 1775 d'une recette artisanale pour guérir les œdèmes. Il lui aurait été expliqué que cette recette a longtemps été gardée secrète par une vieille femme dans le Shropshire, près de Birmingham en Angleterre. Cette femme aurait guéri plusieurs patients atteints d'œdèmes, là où aurait échoué plusieurs médecins. Selon une légende créée de toute pièce par le laboratoire pharmaceutique américain Parke-Davis pour la réalisation d'une publicité dans les années 1920, Withering aurait lui-même été guéri par cette femme et son mélange, car il aurait souffert d'une maladie pulmonaire et se serait rendu à sa rencontre. Une illustration reconstituant cette rencontre a même été publiée sur les affiches de cette campagne publicitaire. Selon la légende, c'est à la suite de sa guérison qu'il se serait penché sur l'étude de la digitale. Cependant, il s'agit d'un mythe qui a été déconstruit par Krikler[43]. Il suffit de lire le manuscrit publié par Whithering lui-même pour apprendre la vérité, qui est que Withering n'a jamais rencontré cette femme, mais qu'effectivement on lui a rapporté l'utilisation d'un mélange de plantes pour lutter contre les œdèmes. Cette recette aurait contenu une vingtaine de plantes, et Whithering grâce à ses connaissances en botanique a identifié la plante responsable d'effets secondaires que les malades rencontraient après la prise de ce mélange, à savoir des violents vomissements : selon lui il s'agirait de la digitale. Seule la digitale serait responsable des effets secondaires mais aussi thérapeutiques du mélange. Peu de temps après, Withering apprenait qu'un de ses collègues et amis médecin, le Dr Crawley, aurait été guéri par des racines de digitales d'un œdème pleural. C'est à la suite de ces différents évènements qu'il décida de prescrire à ses malades de la digitale sous différentes formes, notamment sous forme de décoction des feuilles. Il utilisa ensuite les feuilles qu'il réduira en poudre, cependant il utilisera aussi des infusions de feuilles séchées. Il utilisera ces différentes formes pour soigner des patients atteints d'ascite, d'anasarque et d'œdèmes pleuraux. Au début de ses recherches, Withering utilisait les propriétés diurétiques de la digitale, qui est aujourd'hui utilisée pour

traiter l'insuffisance cardiaque qui, si non traitée, mène effectivement à des œdèmes, notamment des membres inférieurs. L'effet diurétique est en fait indirect, contrairement à ce que Withering pensait, car il est obtenu en augmentant le débit sanguin du cœur insuffisant, entrainant alors une amélioration du débit de filtration glomérulaire, aboutissant à une plus grande diurèse. Dans la suite de son ouvrage, le médecin anglais décrira plusieurs cas de patient auxquels il prescrivait des infusions ou décoctions de digitale. À chaque fois, Withering décrit les symptômes de ses patients qui sont en fait les symptômes de l'insuffisance cardiaque, à savoir : des battements de cœur irréguliers, un essoufflement, de la fatigue, une oligurie et par-dessus tout, des nombreux œdèmes, qui dans la grande majorité des cas décrits étaient la raison pour laquelle il prescrivait de la digitale en infusion aux malades. Withering affirmera même avoir soigné des enfants atteints de la scarlatine, car à l'époque, les traitements donnés face aux rougeurs et parfois œdèmes provoqués par la maladie était des diurétiques. D'autres cas décrits par le médecin anglais sont des cas de guérison de patients asthmatiques par des infusions de digitale. Mais encore une fois, ce qu'il prenait pour un symptôme isolé d'une maladie comme l'asthme, avec des difficultés respiratoires comme des essoufflements, était un des symptômes caractéristiques de l'insuffisance cardiaque. La suite de son écrit est composée de cas de patient qu'il a soigné à l'hôpital avec la digitale, et de lettres de ses confrères ayant eux aussi soigné leurs patients après avoir suivi les conseils de Withering. Il est intéressant de noter que dans de nombreux cas, Withering décrit des vomissements ou des arythmies ainsi que des troubles de la vision, après la prise d'infusion de digitale. Ces symptômes sont en fait des signes de surdosages aux hétérosides cardiotoniques.

Une des dernières parties de son ouvrage s'intéresse à la préparation des doses de digitale employées. Il explique que toutes les parties de la plante ont un goût très amer, cependant plus ou moins intense selon les parties, l'âge de la plante et les saisons. Il explique que les racines sont moins amères que la tige, elle-même moins amère que les fleurs puis les feuilles. Les feuilles sont les parties les plus amères de la plante selon lui, ce qui est normal car c'est dans les feuilles que la plus grande quantité d'hétéroside cardiotonique est retrouvée. La seule partie de la plante qu'il n'a pas utilisé sont les graines. Il explique utiliser les feuilles après la floraison de la hampe florale, en retirant le pétiole et la nervure centrale, et en les faisant sécher au soleil. Après dessiccation, il réduira en poudre les feuilles et obtiendra une poudre verte, pesant environ 1/5^{ième} du poids de la feuille fraiche. Concernant la dose, il explique donner aux adultes des comprimés de cette poudre fabriqués à partie de gomme ammoniaque, une gomme résineuse utilisée autrefois en pharmacie pour réaliser des comprimés. La dose administrée est de 3 *grains* (unité du système impérial britannique correspondant à 64 mg le *grain*, soit environ 192 mg) de comprimés. Il explique surtout utiliser 1 *dram* (correspondant à 1,77 g) de feuilles séchées qu'il fait infuser dans la moitié d'une pinte d'eau bouillante, à laquelle il ajoutait de la liqueur ou des eaux de vie. Il prescrivait la prise d'une *ounce* (correspondant à 28,41 mL) d'infusion deux fois par jour à ses patients, ce qu'il considérait comme une dose standard. Si le patient était de corpulence plus forte, ou présentait des symptômes plus marqués, alors cette dose standard devait être prise en totalité dans un intervalle de temps de 8 heures. À l'inverse, la moitié d'une *ounce* était suffisante dans la plupart des cas. Les doses utilisées se rapprochent des doses actuellement disponibles en thérapeutique, puisqu'en France, deux dosages existent pour la forme comprimée : 0,125 mg et 0,250 mg. Précisons que ces deux dosages correspondent à la molécule de digoxine, isolée des autres hétérosides cardiotoniques que nous verrons plus tard, qui sont retrouvés dans les digitales. À la fin de cette partie, Withering explique que si les doses employées respectent ses recommandations, les traitements par la digitale seraient sans dangers. Cependant, Withering était bien conscient de la toxicité de la digitale à une certaine dose, car il énonce que des fortes doses, ou des doses répétées conduisent à des nausées, vomissements, diarrhées, troubles visuels à type de dyschromatopsie jaune-vert, un ralentissement cardiaque, des pertes de consciences, et enfin le décès. Pour conclure son manuscrit, William Withering évoque l'utilité certaine d'un antidote en cas de prescription inappropriée de digitale, et souhaite la découverte de celui-ci. Enfin, il laissera des questions et

des observations utiles à l'intention de futurs scientifiques qui liront ses recherches. Il soulignera notamment le pouvoir de régulation du rythme cardiaque de la digitale, effet qui à son époque n'a jamais été observé en utilisant d'autres drogues végétales. Withering, bien qu'ayant utilisé majoritairement la digitale pour soigner les œdèmes, permettra son usage, plus de 200 ans après grâce à ses rigoureuses observations qui serviront de socle aux chercheurs, dans les maladies cardiaques telles que l'insuffisance cardiaques et la fibrillation atriale.

2. Autres utilisations

Les hétérosides cardiotoniques ont aussi été utilisés pour la chasse, notamment la strophantine et la ouabaïne, issues des strophantes, que les chasseurs africains utilisaient pour enduire leurs flèches. Ces mêmes flèches servaient également pour se défendre des agressions. La proscillaridine A, issue de la scille maritime fut utilisée pour éliminer les rongeurs. Les digitaliques ont également été utilisés dans le cadre d'empoisonnements volontaires pour commettre des homicides, et dans les autolyses[44], plusieurs cas ayant été décrit dans la littérature. Des utilisations réalisées dans le cadre de fraude à l'assurance en simulant des maladies cardiaques par la prise d'hétérosides cardiotoniques sont également rapportées.

D. Chimie

1. Structure chimique

Les hétérosides cardiotoniques présentent une structure chimique particulière[45], ils sont composés de deux fractions : une fraction osidique, qui consiste en plusieurs monomères de glucides assemblés, et une fraction génine, qui est la partie reliée à la fraction osidique, et qui n'est pas un sucre, on l'appelle encore aglycone, constituée d'un cycle lactonique. La génine est dite stéroïdique, celle-ci possédant un squelette cyclopentanoperhydrophénantrènique. Le phénantrène est composé de 3 cycles *A*, *B* et *C* saturés à 6 carbones, et le cyclopentane consiste en un cycle *D* à 5 carbones.
Les 4 cycles s'enchainent par une conformation particulière : l'enchainement des cycles *A* et *B* est placé en avant du plan, tout comme l'enchainement des cycles *C* et *D* ; cet enchainement est donc de conformation *cis*, tandis que l'enchainement du cycle *B* et *C* est de type *trans*, car l'enchainement des cycles est placé à l'arrière du plan. Cette conformation spécifique *cis* des cycles *A/B* est importante pour avoir une activité pharmacologique élevée, les molécules avec des cycles *A/B trans* sont très peu actives[46].
Sur ces génines, on remarque la présence de deux groupements hydroxyles, positionnés au niveau du 3^{ième} et 14^{ième} carbone, à l'avant du plan, et deux groupements méthyles, positionnés au niveau du 10^{ième} et 13^{ième} carbone, également à l'avant du plan.
En fonction de la composition de la fraction génine, on obtiendra deux types d'hétérosides cardiotoniques[47] (Fig. 40) :

- Les cardénolides, composés d'un cycle lactonique pentagonal, donc à 5 atomes de carbone et une double liaison,
- Les bufadiénolides composés d'un cycle lactonique hexagonal, donc à 6 atomes de carbone et deux doubles liaisons.

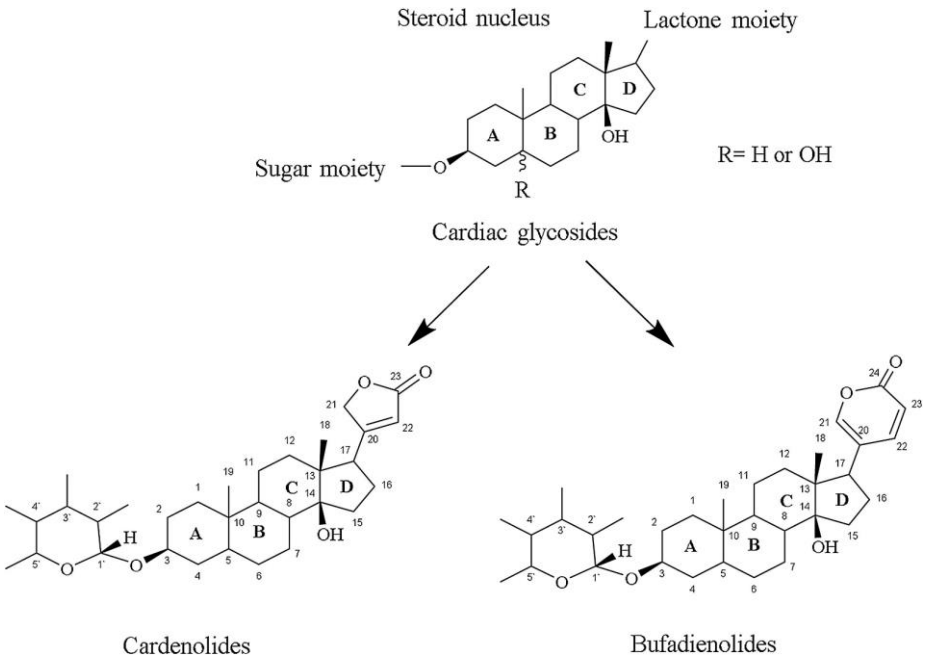

Figure 40 : Structure chimique des hétérosides cardiotoniques, *d'après El-Seedi et al, 2019.*

Dans les deux cas, le cycle lactonique s'attache sur le 17ième carbone en orientation β, donc en avant du plan. Cette orientation est la caractéristique indispensable à l'activité pharmacologique des hétérosides cardiotoniques, si le cycle lactonique est positionné en α, la molécule est inactive(46). Les cardénolides sont donc constitués de 23 atomes de carbones et les bufadiénolides, de 24 atomes de carbone. L'activité cardiotonique des cardénolides et bufadiénolides est liée à la génine stéroïdique, avec sa conformation particulière et ses groupements en avant du plan.

La plupart des hétérosides cardiotoniques possèdent 1 à 4 oses attachés au 3ième carbone, en avant du plan. Ces sucres sont responsables de la solubilité dans l'eau des hétérosides, ainsi que leur affinité pour le muscle cardiaque. Les sucres sont soit des sucres courants, comme le D-glucose (Fig. 41) qui possède un groupement hydroxyle en position 6, ou des sucres uniquement retrouvés dans les hétérosides cardiotoniques comme le 2,6-didésoxyhexose, encore appelé digitoxose. Ces sucres particuliers aux hétérosides cardiotoniques diffèrent des sucres classiques, par l'absence de groupement hydroxyle sur le 6ième carbone d'une part, et la présence de groupes éthers-méthyles sur le 3ième carbone d'autre part. Différentes structures existent, comme le D-digitalose, et le D-digitoxose, et le D-cymarose (Fig. 41), retrouvés dans les digitales, mais aussi le L-thévétose, présent dans les plantes du genre *Thévétia*, ou encore le L-oléandrose retrouvé dans les lauriers roses. La partie osidique peut être constituée d'un glucose et de sucres spécifiques aux hétérosides cardiotoniques, mais dans ce cas, le glucose sera obligatoirement terminal. La structure la plus fréquente s'enchaine de la manière suivante : Glucose-3 Oses-O-Génine.

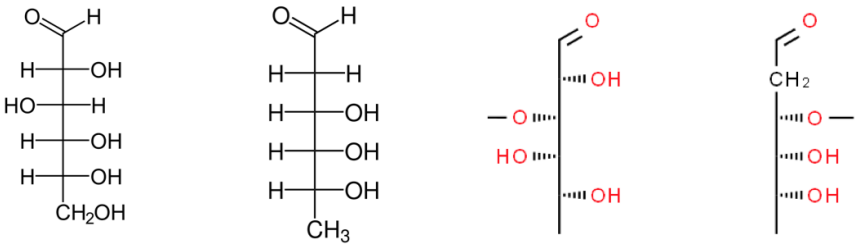

Figure 41 : De gauche à droite : le D-glucose, le D-digitoxose, le D-digitalose, et le D-cymarose. Les 3 sucres des hétérosides ne possèdent pas de groupe OH terminaux. Figures libres de droits.

Des nombreuses variations sont retrouvées, et il existe plus d'une centaine d'hétérosides cardiotoniques, qui diffèrent par des groupes hydroxyles supplémentaires, les rendant plus ou moins hydrophiles, et par des groupes méthyles remplacés par des aldéhydes ou des alcools. Dans la plante fraiche, on retrouve des hétérosides primaires. Ces derniers perdront leur glucose lors de la dessiccation de la plante, où il y aura une hydrolyse aboutissant à des hétérosides secondaires, qui contiendront toujours les oses, mais sans le glucose. Les cardénolides sont retrouvés dans la majorité des plantes à hétérosides cardiotoniques, tandis que ce sont les bufadiénolides qui sont retrouvés chez les crapauds et les papillons. Cependant, les hellébores et les scilles contiennent des bufadiénolides.
Pour conclure, c'est la partie génine qui porte l'activité pharmacologique, avec notamment le cycle lactone positionné sur le 17^{ième} carbone qui est responsable de l'activité inotrope[48], tandis que ce sont les oses qui détermineront la pharmacocinétique et la pharmacodynamique : en fonction de leur nombre et de leur structures, les oses permettront aux hétérosides cardiotoniques d'agir plus ou moins rapidement, et d'avoir une plus ou moins longue demi-vie[49]. Le degré d'hydroxylation en modifiant la polarité de la molécule, influe directement sur l'absorption.

2. Biogénèse

Les voies de biogénèse[40] qui mènent à la synthèse des hétérosides cardiotoniques sont complexes. Certains auteurs[46] considèrent la voie du mévalonate, qui aboutirait à la formation de squalène via l'assemblages de pyrophosphates. Le squalène par cyclisation formerait le squelette cyclopentanoperhydrophénantrènique. Cependant, pour d'autres auteurs[50] elles feraient intervenir lors de leur initiation le cholestérol comme précurseur direct des cardénolides. Ce dernier serait converti en prégnénolone par une enzyme clivant les chaines latérales stéroïdiques. La prégnénolone serait ensuite transformée en progestérone successivement par une NAD-hydroxystéroide déshydrogénase, puis par une isomérase. Plusieurs réarrangements mèneraient à l'obtention d'une structure pregnane à 21 carbones.
La dernière étape consistera en l'addition de carbones par deux enzymes, soit la malonyl-CoA, ou l'oxaloacétyl-CoA. La malonyl-CoA ajoutera 2 carbones sur la structure pregnane par une attaque nucléophile inter ou intramoléculaire au niveau du carbone 20. Il en résultera la formation des cardénolides avec 23 atomes de carbone. L'oxaloacétyl-CoA ajoutera 3 carbones, et aboutira à la formation des bufadiénolides, avec 24 atomes de carbone. Le cycle lactonique est le résultat de lactonisation, par cyclisation d'acide hydroxycarboxylique.

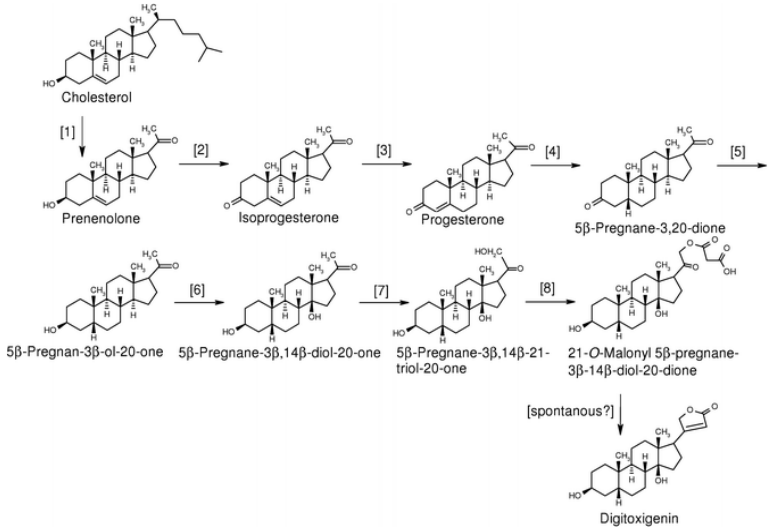

Figure 42 : Voie de synthèse potentielle des cardénolides à partir du cholestérol, *d'après Kreis et al, 2012.*

Concernant la partie osidique, celle-ci est obtenue via la photosynthèse, à travers le cycle de Calvin-Benson-Bassham. La liaison entre la partie génine et la partie osidique est obtenue par la voie des acétates. Les voies de biosynthèses des cardénolides (Fig. 42) et des bufadiénolides sont similaires, l'unique différence est l'enzyme ajoutant les carbones à la fin de celle-ci.

3. Principaux hétérosides cardiotoniques

La biosynthèse aboutit à la formation d'hétérosides cardiotoniques. Des variations structurales existent en fonction des espèces : les digitales possèderont par exemple des hydroxyles plus nombreux sur le douzième carbone, l'adonis sur le seizième carbone, et le muguet et le strophantus possèderont des hydroxyles ajoutés sur le cinquième carbone.
On retrouve dans la plante fraiche des hétérosides primaires, comprenant le plus souvent une molécule de glucose, associée à 3 oses, constituant la partie osidique reliée via un oxygène à la partie génine, elle-même contenant un cycle lactonique. Dans la plante sèche, on observera l'hydrolyse enzymatique du glucose, ce qui mènera à l'obtention des hétérosides secondaires.

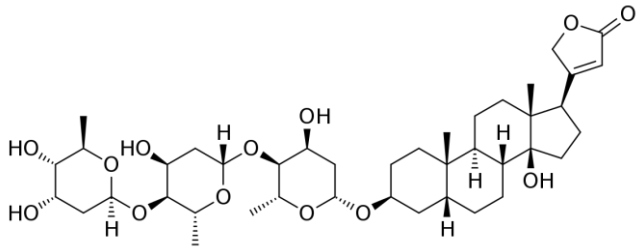

Figure 43 : La digitaline, hétéroside secondaire retrouvé dans les digitales pourpres et laineuses. On remarque l'hydrolyse du glucose terminal.

Chez *Digitalis purpurea*, on retrouve plusieurs hétérosides[51], classés en deux groupes :

- Le groupe A où la génine est la digitoxigénine, et celle-ci est associée à un glucose, lié à 3 digitoxoses. L'hétéroside secondaire obtenu après séchage est la digitoxine, plus connu sous le nom de digitaline (Fig. 43), anciennement utilisée en thérapeutique. Le terme purpureaglucoside A désigne l'hétéroside primaire avant hydrolyse.

- Le groupe B, qui comprend deux génines, d'abord la gitoxigénine, l'hétéroside secondaire étant la gitoxine. L'hétéroside primaire est nommé purpureaglucoside B. La seconde génine est la gitaloxigénine, avec comme hétéroside secondaire la gitaloxine. L'hétéroside primaire est appelé glucogitaloxoside.

Chez *Digitalis lanata*, 4 groupes de génines sont retrouvés : le groupe A et une partie du groupe B sont proches de ceux retrouvés chez la digitale pourpre, le groupe A étant composé de digitoxigénine avec comme hétéroside secondaire l'acétyldigitoxine, puisque qu'il y a une acétylation du troisième digitoxose. L'hétéroside primaire étant appelé lanatoside A. Le groupe B est composé de 2 génines, avec la gitoxigénine qui a l'acétylgitoxine comme hétéroside secondaire, l'hétéroside primaire étant appelé latanoside B. La deuxième génine du groupe B est la 16-formylgitoxigénine avec l'hétéroside secondaire qui est l'acétylgitaloxoside, avec comme hétéroside primaire le lanatoside E. Le groupe C se compose d'une génine appelée digoxigénine, et l'hétéroside secondaire est la digoxine (Fig. 44), utilisée aujourd'hui en thérapeutique. La digoxine possède 3 digitoxoses, après hydrolyse du glucose terminal. L'hétéroside primaire est le lanatoside C.
Enfin la génine du groupe D est la diginatigénine, et l'hétéroside secondaire est le diginatoside, l'hétéroside primaire étant le lanatoside D.

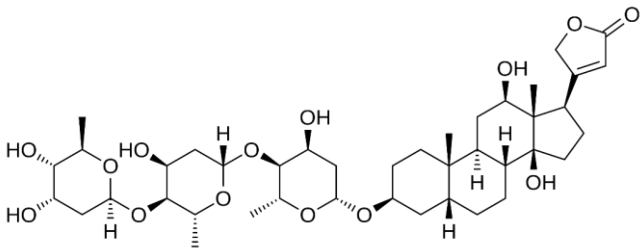

Figure 44 : Molécule de Digoxine, avec les 3 digitoxoses et la digoxigénine.

La digitaline et la digoxine sont similaires au niveau de leur composition en sucres, les deux molécules contenant après hydrolyse du D-glucose 3 molécules de digitoxose. Il est important de préciser que contrairement à la digitaline, la digoxine présente un groupement hydroxyle sur le 3ième digitoxose[46]. La principale différence provient de la partie génine : la digoxigénine pour la digoxine, et la digitoxigénine pour la digitaline (Fig. 45).

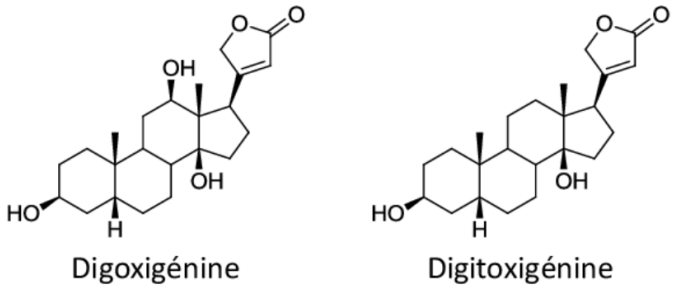

Figure 45 : Génines de la digoxine (digoxigénine) et de la digitaline (digitoxigénine) comparée, par Blandine Ressault. Les digitoxoses sont ici absents. La seule différence est la présence d'un groupement hydroxyle sur le carbone 12, pour la digoxigénine.

Comparativement, l'unique différence au niveau de la génine se situe au niveau du douzième carbone : un groupement hydroxyle est présent au niveau du cycle C, chez la digoxigénine, alors qu'il est absent chez la digitoxigénine. Cette distinction expliquera directement les propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques différentes entre la digoxine et la digitaline. La digoxine, en ayant un groupement hydroxyle supplémentaire, sera plus polaire que la digitaline. Cette polarité différente aura pour conséquence une modification de l'absorption et de l'élimination des deux molécules, et donc de la demi-vie. L'absence du groupement hydroxyle aboutira également à une plus importante fixation protéique pour la digitaline. La présence d'un groupement acétyle sur le dernier digitoxose de la digoxine influe également sur la polarité de la molécule.
En conséquences, la demi-vie de la digoxine est de seulement 36h, contre 6 jours pour la digitaline[46]. Cette grande différence au niveau de l'élimination rendra l'utilisation de la digitaline plus difficile, car il y aura une accumulation de celle-ci et donc un risque de toxicité plus important. C'est pour cette raison que la digoxine a remplacé la digitaline en thérapeutique.

Les différentes espèces appartenant au genre *Digitalis* contiennent toutes des hétérosides cardiotoniques. Cependant, ils diffèrent en fonction des génines ou des parties osidiques, qui sont plus ou moins hydroxylées, méthylées ou encore acétylées. La composition de la partie osidique peut différer en nombre ou en nature. C'est dans la digitale laineuse que l'on retrouve la plus grande quantité d'hétérosides cardiotoniques, environ 1% de la composition en matière sèche, contre 0,1 à 0,4% dans la digitale pourpre. Dans les autres espèces de genres différents mais qui contiennent des cardénolides ou bufadiénolides, ces molécules représentent moins de 0,5% de la composition.

Chez *Nerium oleander*, on retrouve de l'oléandrine, utilisée aujourd'hui dans les chimiothérapies aux États-Unis comme cytotoxique, commercialisée sous le nom d'Anvirzel®[52]. Dans les thévétia, on retrouve comme cardénolides les thévétines. Chez la scille, on retrouve des bufadiénolides : du scillarène A, de la proscillaridine A et de la scilliroside (utilisé contre les rongeurs). Chez le muguet, l'hétéroside le plus étudié est la convallatoxine. Dans les strophantes, on retrouve de l'ouabaïne autrefois utilisée en thérapeutique et de la strophantine. Chez l'hellébore, ce sont des bufadiénolides qui sont retrouvés, avec l'hellébrine[53]. Chez l'adonis, de la cymarine est retrouvée, comme de la convallatoxine, mais également de la strophantine[54]
Les papillons monarques contiennent des cardénolides issus des asclépiades, avec notamment la galitoxine[55]. Enfin des bufadiénolides appelés bufoténines sont retrouvés dans les crapauds du genre *Bufo*.

E. Extraction

1. Méthode de Nativelle

En 1868, Claude-Adolphe Nativelle, un pharmacien français, devient le premier à extraire la digitoxine, plus connue sous le nom de digitaline. Cette avancée est le fruit de plusieurs années de recherches et d'essais, débutés en 1844. En 1867, il parvient à obtenir sous forme cristallisée de la digitaline et de la digitine, des cardénolides. C'est en 1868 qu'il remporta le concours Orfila de l'académie de médecine pour avoir isolé le principe actif de *Digitalis purpurea*, la digitaline. Avant Nativelle, les chercheurs essayaient en vain d'isoler la digitaline à partir d'une macération aqueuse (qui consiste en une extraction à température ambiante) de feuilles de digitales[56], comme le relate Nativelle lui-même dans un manuscrit publié en 1872. Cette opération d'extraction par l'eau ne conduisait qu'à l'obtention d'un extrait amer, de couleur verte quand passé à l'acide chlorhydrique. Des dissolvants furent également utilisés, à l'image du benzol rectifié suivi de chloroforme qui étaient censés supprimer les molécules non actives pharmacologiquement.
Les sociétés savantes ne considéraient pas le résultat de cette méthode d'extraction par l'eau et les dissolvants comme satisfaisant, en concluant que le principe actif obtenu n'était pas pur et identique à chaque extraction. Nativelle se démarqua des autres chimistes par l'utilisation de l'alcool. Pour Nativelle, la digitaline est insoluble dans l'eau, donc il est cohérent de ne pas réussir à l'extraire lors d'une macération dans de l'eau. Jusqu'à ses travaux, les chimistes gardaient la plus grande partie du résultat principal de la macération par l'eau, constituée de molécules solubles dans l'eau, et jetaient l'excédent obtenu insoluble à l'eau. Nativelle s'intéressa justement aux résidus habituellement jetés qu'il traita par l'alcool, lui permettant d'obtenir une substance cristallisable. D'abord, il effectua une teinture alcoolique à partir de feuilles de digitale mélangées à l'acétate de plomb, qu'il distilla ensuite par l'eau. La digitaline étant peu soluble dans l'eau mais très soluble dans l'alcool de par ses nombreux groupements hydroxyles, une séparation en deux phases s'effectuera en présence d'eau. Il faudra ensuite, par ajout de chloroforme, séparer les deux phases, l'une contenant la digitine, insoluble dans le chloroforme, et la digitaline qui elle est très soluble grâce à sa grande polarité. Il suffira ensuite d'évaporer le mélange digitaline-chloroforme pour obtenir les cristaux de digitaline. L'utilisation de l'alcool par Nativelle est peut-être due à l'observation selon laquelle les teintures alcooliques de digitale étaient plus efficaces que les teintures aqueuses, mais c'est la persévérance qui mènera à l'utilisation de l'alcool après de multiples tentatives.
Aujourd'hui, pour rendre hommage à Nativelle, les princeps de digoxine commercialisés par le laboratoire TEOFARMA, sont dénommés « Hémigoxine et Digoxine NATIVELLE ». Le nom de Nativelle est donc visible sur chaque boite délivrée en France.

2. Méthode actuelle

La méthode utilisée aujourd'hui pour extraire les hétérosides cardiotoniques à partir de digitale ne diffère que peu de celle employée jadis par Nativelle. La principale différence résulte d'abord de la source principale employée. Nativelle utilisait des feuilles de *Digitalis purpurea*, alors que de nos jours on utilise les feuilles séchées de *Digitalis lanata*, qui contiennent plus d'hétérosides cardiotoniques. Ce sont les Pays-Bas qui sont les principaux producteurs de digitale laineuse destinée à être utilisée pour l'extraction. Par sélection, et avec des conditions de croissances bien contrôlées, notamment en ce qui concerne l'éclairage, l'arrosage, et les températures, ainsi que les périodes de semis, il est possible d'augmenter le nombre de feuilles, mais cela n'est pas forcément en lien avec une forte teneur en hétérosides cardiotoniques[57].
L'extraction[45,58] est réalisée à partie de poudre de feuilles de digitale laineuse pulvérisées. On met en contact cette poudre avec de l'éthanol pour solubiliser les hétérosides, puis on filtre. On effectuera ensuite une défécation plombique grâce à l'acétate de plomb à ébullition, qui va faire précipiter les impuretés comme les tanins. Par centrifugation, le précipité sera séparé du surnageant. Ensuite, on utilisera le chloroforme de la même manière que Nativelle pour isoler les hétérosides cardiotoniques. Grâce à une purification sur une colonne de chromatographie, on obtiendra le lanatoside C, l'hétéroside primaire composé de digoxigénine et de 3 digitoxoses liés à un glucose. Il suffira d'hydrolyser, à la manière des glycosidases lors de la dessiccation des feuilles, le glucose terminal en coupant les liaisons entres les oses, pour obtenir la molécule de digoxine solubilisée qui constitue l'hétéroside secondaire. Enfin l'évaporation permettra de faire apparaitre les cristaux solides de digoxine.

3. Réactions de caractérisation

Plusieurs réactions colorées[45],[46] sont disponibles pour s'assurer de la présence d'hétérosides cardiotoniques. Citons la réaction de Keller-Killiani, spécifique au 2,6-didésoxyhexose, encore appelé digitoxose, qui est l'ose retrouvé 3 fois dans la molécule de digoxine. Cette réaction colorée consiste dans le mélange d'acide sulfurique concentré ajouté aux hétérosides cardiotoniques dans un milieu composé d'acide acétique, avec des sels ferriques.
Elle donnera une coloration bleue au niveau du mélange acide acétique-hétérosides cardiotoniques ainsi qu'un anneau brun au niveau des sels ferriques. La réaction de Libermann quant à elle est spécifique de la partie stéroïdique. Elle consiste à mélanger les hétérosides cardiotoniques avec de l'anhydride acétique en présence d'acide sulfurique concentré, ce qui aboutira à l'obtention d'une coloration verte. C'est d'ailleurs une méthode ressemblante qui a été utilisée à l'époque de Nativelle pour prouver après son extraction la présence d'hétérosides cardiotoniques[56]. Des réactions spécifiques au noyau lactonique qui caractérise les cardénolides sont possibles. Citons la réaction de Kedde, qui fait intervenir de l'acide 3,5-dinitrobenzoïque en milieu basique, qui donnera une couleur rouge. La réaction de Baljet à base d'acide picrique en milieu basique donnera une couleur orange. Enfin les réactions de fluorescence avec de l'acide permettent de visualiser le squelette stéroïdique des cardénolides.
La chromatographie liquide haute performance s'avère également utile dans l'identification des hétérosides cardiotoniques extraits[59].

Comme nous l'avons vu dans cette première partie, plusieurs espèces végétales et animales contiennent des hétérosides cardiotoniques. Nous allons maintenant nous intéresser à l'utilisation actuelle des digitaliques en thérapeutique.

II. Utilisation des digitaliques en cardiologie

A. Mécanisme d'action

1. Rappel de la physiologie cardiaque[60,61]

a) Le muscle cardiaque

Le muscle cardiaque a pour fonction d'acheminer le sang dans l'ensemble du corps. Il est constitué de 4 cavités (Fig. 46) : l'oreillette droite, le ventricule droit, l'oreillette gauche et le ventricule gauche. Le sang désoxygéné arrive par l'intermédiaire des veines caves supérieures et inférieures, menant à l'oreillette droite. Le sang circulera à travers la valve atrio-ventriculaire aussi appelée valve tricuspide, jusqu'au ventricule droit, qui enverra le sang vers le tronc pulmonaire via la valve sigmoïde pulmonaire au niveau des poumons pour que l'échange gazeux soit réalisé et donc que le sang soit oxygéné. C'est la petite circulation. Le sang oxygéné passera par les 4 veines pulmonaires pour rejoindre l'oreillette gauche et ainsi passer par la valve mitrale, encore appelée valve auriculo-ventriculaire gauche pour rejoindre le ventricule gauche, d'où il sera envoyé en direction de l'aorte grâce à la valve aortique. Depuis l'aorte, le sang oxygéné pourra atteindre l'ensemble du système vasculaire artériel et ainsi rejoindre les différents organes et tissus. La partie gauche du cœur s'occupe donc de la grande circulation. Le cœur est lui-même vascularisé par un réseau d'artères coronaires et de veines cardiaques.

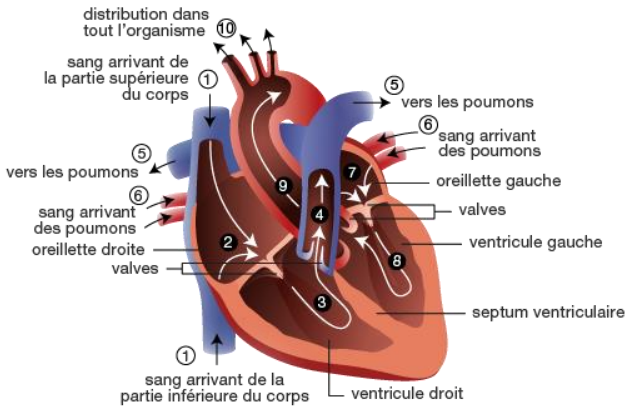

Figure 46 : Trajet du sang dans le muscle cardiaque, par le centre de transplantation cardiaque de Lausanne

Le cycle cardiaque se compose de plusieurs phases : D'abord il y a la mésodiastole, où les ventricules se remplissent passivement, depuis les oreillettes qui sont relâchées. Les valves atrio-ventriculaires droites et gauches seront donc ouvertes, contrairement aux valves sigmoïdes aortiques et pulmonaires qui seront closes. La deuxième étape est la télédiastole, où le remplissage des ventricules se poursuit lors de la contraction des oreillettes. Suite au remplissage des ventricules, aura lieu la phase de systole séparée en 2 parties : la première où les ventricules se contractent mais la pression produite n'est pas suffisante pour ouvrir les deux sigmoïdes qui sont closes comme les valves atrio-ventriculaires, et la deuxième partie où la pression est suffisante pour provoquer l'ouverture des valves sigmoïdes et l'éjection du sang ventriculaire vers le tronc pulmonaire et l'aorte. La dernière phase du cycle cardiaque est la protodiastole, où les ventricules se relâchent après leur contraction. Les valves atrio-ventriculaires sont toujours fermées, et le sang commence à remplir de nouveau les oreillettes en vue du prochain cycle cardiaque.

b) L'influx nerveux

Au niveau de l'influx nerveux, ce dernier est généré au niveau des cellules cardionectrices. Ces dernières sont peu nombreuses et créent le potentiel d'action via le tissu nodal, et diffusent l'automatisme via le tissu de conduction. Le tissu nodal (Fig. 47) est composé du nœud sinusal, encore appelé nœud de Keith et Flack, et du nœud atrio-ventriculaire, également appelé noeud d'Aschoff et Tawara. Le nœud sinusal se situe dans l'oreillette droite, à proximité de la veine cave supérieure. C'est le nœud qui détermine la fréquence cardiaque, c'est à cet endroit qu'est généré l'influx nerveux. Le nœud atrio-ventriculaire est situé à la base de la cloison séparant les deux oreillettes. Son rôle est de synchroniser les oreillettes et les ventricules en ralentissant l'influx généré au niveau du nœud sinusal. Le tissu de conduction est constitué de plusieurs tractus, un inter-atrial, qui relie le nœud sinusal avec l'oreillette gauche, et plusieurs tractus inter-nodaux. Un premier tractus relie les deux nœuds. Un deuxième tractus appelé faisceau de His, est situé entre les ventricules et se sépare en deux au niveau de l'apex du cœur, où il remonte pour former le réseau de Purkinje. Rappelons que l'influx nerveux est rapidement transmis entre les cellules à travers les jonction communicantes ou jonctions gap.

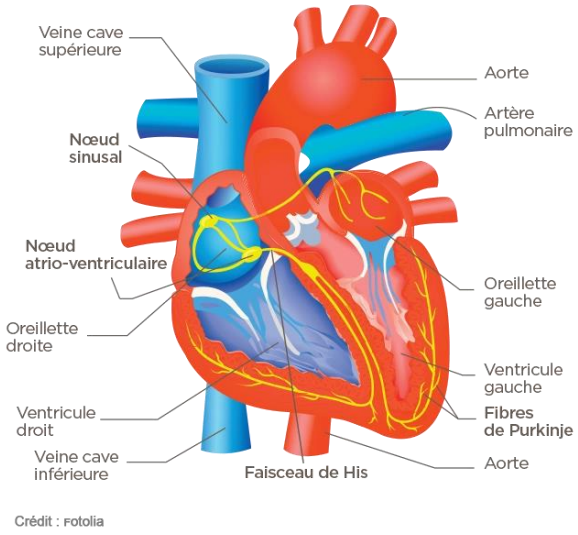

Figure 47 : Tissu nodal et tissu de conduction, illustration par la clinique Hirslanden, Zurich

c) Le sarcomère, unité de contraction

Les cellules qui se contractent et procurent les mouvements de contraction au cœur sont les cardiomyocytes. Ces cellules ont une organisation bien particulière, et sont localisées dans le myocarde, une des trois couches constituant la paroi du cœur avec l'endocarde et le péricarde. Les cardiomyocytes résultent de la fusion de plusieurs cellules musculaires, c'est pourquoi on retrouve plusieurs noyaux allongés. Les cellules cardiaques possèdent des ramifications, et sont plus courtes que les cellules musculaires striées squelettiques. Les jonctions gap entre chaque cardiomyocyte permettent de propager l'influx, et leur alignement permet de les nommer également stries scalariformes. Comme les muscles striés squelettiques, les cardiomyocytes présentent une organisation en sarcomères[62] avec des protéines responsables de la contraction : l'actine et la myosine. Ces deux protéines coulissent et se rétractent lors de la contraction, avec notamment la titine, une protéine élastique qui accroche les filaments de myosine le long du disque Z du sarcomère. Le sarcomère est véritablement l'unité de la contraction. La myosine[61] est une protéine constituée d'une queue et de têtes. Les molécules de myosine sont reliées entre elles au niveau de la ligne M et sont fixées par une autre protéine, la myomésine, toujours sur

la ligne ou disque M. Le sarcomère est organisé du disque Z jusqu'au disque M, avec la bande I, où se trouvent les filaments fins d'actine avec l'alpha actinine permettant de lier la titine à l'actine. Dans le sarcomère, on peut également observer la bande A, proche de la bande I, qui contient les filaments d'actine et de myosine, elle apparait donc noire lorsque le sarcomère est visualisé au microscope. Lorsque les cardiomyocytes se contractent, la longueur des filaments ne change pas, c'est seulement la titine qui change de taille, rapprochant alors le disque Z du disque M. La bande I voit sa largeur diminuée, tandis que la bande A ne change pas de taille. Les filaments d'actine sont disposés à proximité de la myosine et sont enroulés les uns sur les autres en hélice, sur un même axe constitué de molécules de tropomyosine. Sur cet axe de tropomyosine se trouve des protéines importantes dans la contraction, à savoir des troponines : la troponine C, qui est capable de fixer du calcium, la troponine I, qui est protéine inhibitrice de la contraction en rendant impossible la fixation actine-myosine, ainsi que la troponine T qui elle permet la liaison des troponines avec la tropomyosine (Fig. 48). En dehors de la contraction, la troponine I et les tropomyosines empêchent la fixation des têtes de myosine sur les filaments d'actine. C'est lors de la fixation du calcium libéré par le réticulum sarcoplasmique, qui en se fixant sur la troponine C va permettre le déplacement de la troponine I et de la tropomyosine par la troponine C qui aura changé de conformation et ainsi rendre de nouveau accessible l'actine aux têtes de myosine. En hydrolysant de l'ATP, les têtes de myosines vont changer de conformation pour venir s'accoler aux filaments d'actine.

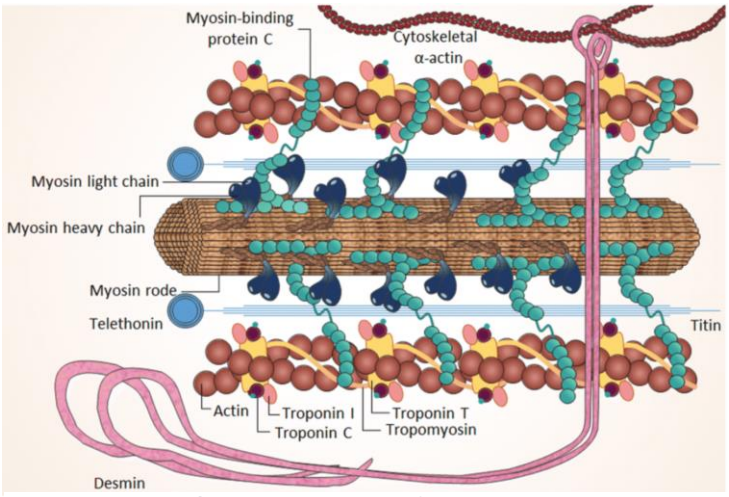

Figure 48 : Sarcomère cardiaque avec les filaments de myosine et d'actine ainsi que les troponines et la tropomyosine *d'après Asatryan et al, 2018.*

C'est en libérant l'ADP obtenu ainsi que le phosphate inorganique, que les têtes de myosine vont véritablement faire raccourcir le sarcomère. Lors de la nouvelle fixation d'ATP sur les têtes de myosine, ces dernières vont se détacher et pouvoir se raccrocher une nouvelle fois à des filaments fins d'actine. C'est en répétant ces cycles que la contraction musculaire est rendue possible.

d) L'ATPase Na^+/K^+

Les cardiomyocytes possèdent une structure particulière : la dyade, comprenant le réticulum sarcoplasmique, qui est un lieu de stockage pour le calcium intracellulaire, ce dernier pouvant être libéré lors de la dépolarisation membranaire. Les tubules T constituent la seconde partie de la dyade, et forment à partir de la membrane plasmique des invaginations qui viendront se terminer à proximité du réticulum sarcoplasmique. En effet, la contraction des cardiomyocytes est initiée lors de la dépolarisation de la membrane, lorsque des ions sodium rentrent à l'intérieur de la cellule. Lors de la repolarisation, du calcium et du potassium entreront par les canaux Ca^{2+}/Na^+, et c'est à la suite de la repolarisation qu'on aura une sortie de potassium, via l'ATPase Na^+/K^+. Cette ATPase (Fig. 49) est constituée de 3 sous-unités : alpha, beta et gamma.

Au niveau intracellulaire, la pompe fixe 3 ions sodium et 1 molécule d'ATP. En hydrolysant une molécule d'ATP, cette dernière peut échanger contre le gradient de concentration des ions : 3 ions Na^+ sortent et 2 ions K^+ rentrent.
Grâce à l'hydrolyse de l'ATP, la pompe va subir un changement de conformation via une phosphorylation qui va lui faire perdre son affinité pour le sodium intracellulaire, ce dernier va alors passer en extracellulaire. Lors de ce passage, le potassium extracellulaire va se fixer sur la pompe, et lors de cette fixation il va y avoir une déphosphorylation de la pompe qui va changer de conformation, et le potassium pourra alors entrer dans la cellule. Les cellules cardiaques possèdent également un échangeur NCX Na^+/Ca^{2+}, plus précisément un antiport qui peut fonctionner grâce au gradient généré par la pompe ATPase Na^+/K^+. Il y aura une entrée de 3 ions sodium et une sortie d'un ion calcium. Pendant la systole, donc en phase de dépolarisation, le sens de cet antiport est inversé, et c'est du calcium qui est importé en intracellulaire. Cette entrée de calcium va provoquer une réaction[63] de libération de calcium induite par le calcium (Calcium-Induced Calcium-Release, abrégée en CICR). Lors de l'augmentation de la concentration calcique intracellulaire par fonctionnement de l'échangeur NCX Na^+/Ca^{2+} suite à la dépolarisation en systole, les tubules T vont, via leurs récepteurs DHPR ou récepteurs à la dihydropyridine, activer la sortie du calcium intracellulaire contenu dans le réticulum sarcoplasmique, en passant par le RyR2, le récepteur à la ryanodine se trouvant à la surface du réticulum sarcoplasmique. Le calcium libéré va ainsi permettre la contraction musculaire comme nous l'avons vu précédemment avec les têtes de myosine sur les filaments d'actine, en se fixant directement sur la troponine C. Une fois la contraction terminée, donc lors de la diastole, le calcium excédant disponible dans le cytoplasme est ré-internalisé par une pompe Ca^{2+} ATPase appelée SERCA2a. La pompe consomme de l'ATP pour faire entrer le calcium au niveau du réticulum sarcoplasmique, où il sera stocké, grâce à plusieurs protéines, notamment la calréticuline, la calséquestrine ou encore la junctine. Citons d'autres acteurs de la baisse du calcium intracellulaire avec l'échangeur NCX Na^+/Ca^{2+} qui rejette du calcium en extracellulaire en l'échangeant contre du sodium, et citons enfin l'activité encore méconnue de la pompe calcique au niveau des mitochondries qui internalise du calcium sarcoplasmique. La contraction du muscle cardiaque fait donc intervenir des échanges d'ions via des pompes et des transporteurs dans les cardiomyocytes. Nous allons maintenant expliquer comment la digoxine agit sur ces mécanismes.

2. Action de la digoxine sur l'ATPase Na^+/K^+[64]

La digoxine agit en inhibant sélectivement la pompe ATPase Na^+/K^+. Cette pompe va se retrouver bloquée (Fig. 49), ainsi les 3 ions sodium ne sortiront pas en extracellulaire, et les 2 ions potassium ne rentreront pas dans le milieu intracellulaire. La concentration intracellulaire en ions sodium va donc augmenter considérablement. Cette augmentation de la concentration va donc impacter l'échangeur Na^+/Ca^{2+}, qui au lieu de faire rentrer 3 ions sodium et entrer 1 ion calcium, va s'inverser et ainsi faire entrer des ions calcium au lieu des ions sodium. Moins d'ions sodium vont rentrer, donc il y aura moins d'ions calcium externalisés. C'est l'augmentation de la concentration calcique qui va être responsable de l'augmentation de la CICR, donc les récepteurs à la ryanodine RyR2 à la surface du réticulum endoplasmique vont libérer plus de calcium. Comme expliqué précédemment, la contraction des cardiomyocytes sera donc possible par fixation de ce calcium sur la troponine C. De par la concentration en calcium augmentée, on observera là le premier effet des digitaliques, qui est inotrope positif : la force de contraction du muscle cardiaque est augmentée, donc le débit cardiaque également. D'autre part, l'augmentation de calcium en intracellulaire a pour conséquence, une recapture plus grande de calcium dans le réticulum sarcoplasmique à la fin de la contraction. De ce fait, lors des prochaines contractions, la libération de calcium par le réticulum sarcoplasmique sera bien plus importante, et la force de contraction sera augmentée. On peut donc dire que la digoxine renforce le cœur.

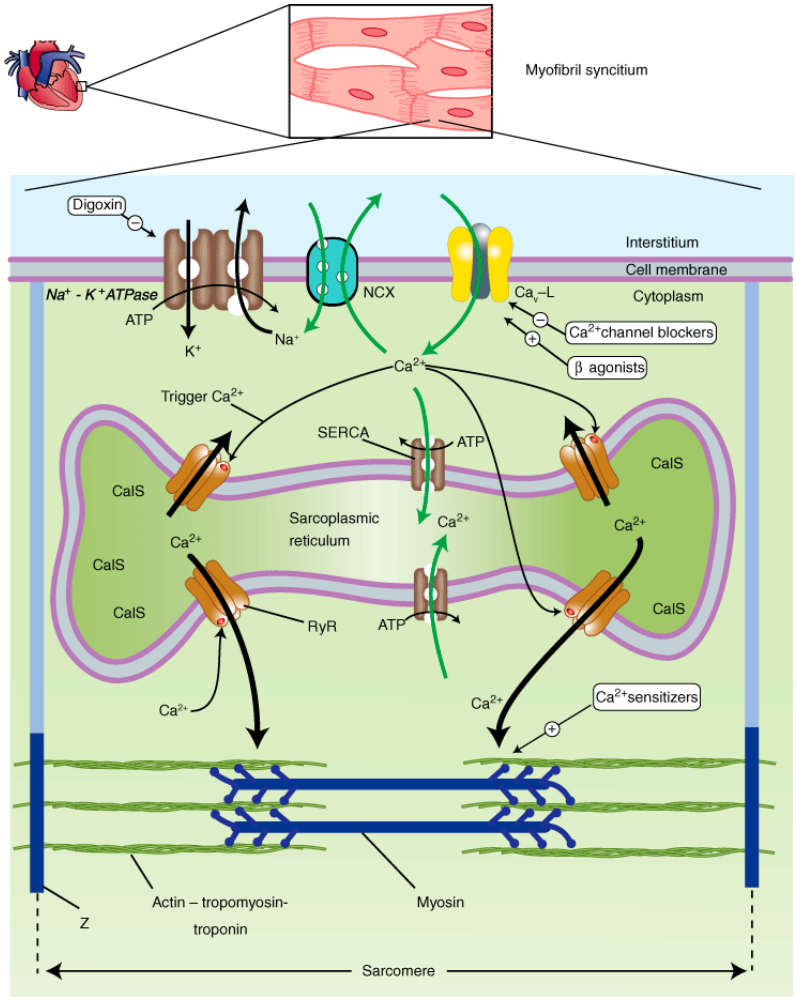

Figure 49 : Mécanisme d'action de la digoxine, *Basic & Clinical Pharmacology d'après Katzung et al, 2014.*

3. Action de la digoxine sur l'influx nerveux[46]

La digoxine agit également sur l'automaticité, via une action chronotrope négative : elle diminue la fréquence cardiaque sinusale. La digoxine ralentit donc le cœur. Mais cette dernière a aussi une action dromotrope négative, en diminuant la conductibilité cardiaque. Elle régularise le cœur. Ces deux actions sont dues au tonus vagal qui est augmenté par la digoxine, via une stimulation du système parasympathomimétique, et une inhibition du système sympathique. L'effet dromotrope négatif est obtenu également par la vitesse de conduction de l'influx au niveau du nœud atrio-ventriculaire qui se retrouve diminuée. Enfin la digoxine possède un effet bathmotrope négatif, en diminuant l'excitabilité ventriculaire.

4. Action de la digoxine sur les barorécepteurs carotidiens[51]

La digoxine agit sur les barorécepteurs situés au niveau de la carotide et de la crosse de l'aorte. La digoxine va venir inhiber les pompes ATPase Na^+/K^+ se trouvant sur les barorécepteurs. Cette inhibition va permettre d'augmenter la sensibilité à la pression artérielle, et ainsi déclencher le baroréflexe à des pressions moindres, mais surtout à des pressions habituellement considérées comme provoquant le baroréflexe, mais qui à cause de l'insuffisance cardiaque, ne

sont pas considérées comme telles. Le baroréflexe consiste en une inhibition du centre cardio-accélérateur, en inhibant le tonus sympathique, au profit du tonus vagal. En réponse à l'augmentation de la pression, il y a une vasodilatation des vaisseaux pour réduire cette pression. Par l'inhibition du tonus sympathique et l'augmentation du tonus vagal, il y a un effet chronotrope négatif, avec une baisse de la fréquence cardiaque, ainsi qu'une baisse de la conduction auriculo-ventriculaire, via donc une effet dromotrope négatif.

5. Action de la digoxine au niveau rénal

La digoxine possède une action indirecte au niveau rénal, avec un débit de filtration glomérulaire qui est augmenté, ce qui signifie une meilleure filtration rénale. Cette amélioration de la fonction rénale est la conséquence de l'effet inotrope positif, car la force de contraction est alors augmentée, de ce fait, le débit de sang au niveau cardiaque sera lui aussi augmenté, notamment par la baisse de la résistance vasculaire, puisqu'il y a une vasodilatation des artères. Il est alors normal que les reins se retrouvent avec une plus grande quantité de sang à filtrer. C'est pour cette raison, que les hétérosides cardiotoniques étaient utilisés au départ pour traiter les œdèmes par leur effet diurétique. Cela aura pour conséquence de diminuer la volémie, et de réduire également la consommation en oxygène du muscle cardiaque. Enfin, il est à noter la présence de pompes ATPase Na^+/K^+ au niveau rénal[65] : la digoxine agira donc sur celles-ci, en les bloquant et en empêchant alors la sortie d'ions sodium dans le milieu extracellulaire. Il y aura alors une diminution de la natrémie, par la diminution de la réabsorption tubulaire du sodium. Cette baisse de la natrémie aura une influence sur la pression artérielle qui sera alors diminuée en réponse à l'hyponatrémie par vasodilatation. L'effet sur les reins est surtout la conséquence de l'activité de la digoxine sur le cœur, l'action rénale directe étant encore peu étudiée. En améliorant la fonction cardiaque, les reins se trouveront mieux perfusés et leur efficacité accrue.

En résumé, la digoxine suit la règle des « 3 R », formulée par Pierre Potain, un cardiologue français du XIX^{ième} siècle : Elle renforce, ralentit et régularise le cœur du malade.

- La digoxine renforce le cœur, par son action inotrope positive, en augmentant la force de contraction du myocarde.
- Elle ralentit le cœur, par son action chronotrope négative, en diminuant la fréquence cardiaque.
- Elle régularise le cœur, par son action dromotrope négative, en diminuant la conductibilité cardiaque au niveau du nœud atrio-ventriculaire, et par son action bathmotrope négative, en diminuant l'excitabilité des ventricules.

B. Indications actuelles de la digoxine

1. La fibrillation atriale

a) Définition[66]

La fibrillation atriale, abrégée FA, est un trouble du rythme cardiaque touchant les oreillettes. Celles-ci se contractent physiologiquement à un rythme régulier et peu élevé. Lors de la fibrillation atriale, il y a un défaut de l'activité électrique du cœur qui fera augmenter le rythme de contraction des oreillettes, qui s'élèvera alors à plus de 300 battements par minute, et ce rythme peut augmenter jusque 500 battements par minute.

La physiopathologie de la FA est assez complexe : l'origine électrique se trouverait au niveau des cardiomyocytes situés au niveau des veines pulmonaires dans des foyers ectopiques[67], dont l'étiologie de apparition est méconnue. Cette localisation différente pour des cardiomyocytes altèrerait le signal électrique et les différents courants ioniques. Les fibres musculaires de ces cardiomyocytes seraient orientées différemment, amenant à des perturbations de la conduction électrique. Au niveau des ventricules, ils ne reçoivent pas la totalité des contractions, qui seront transmises de manière irrégulière, mais à un rythme néanmoins élevé, qui fait qu'ils se contracteront jusque 200 fois par minutes. On parlera alors de tachyarythmie. Dans la FA, les oreillettes et les ventricules battront de manière désordonnée. Il existe plusieurs complications dont la stagnation du sang dans les oreillettes, du fait du rythme très rapide de contraction de celles-ci. Cette stagnation du sang augmente fortement le risque de thrombose, qui pourra mener jusqu'à l'accident vasculaire cérébral (AVC). Une autre complication fréquente de la FA, est l'augmentation du rythme de contraction des ventricules, ce qui amène alors à l'insuffisance cardiaque, par l'inefficacité des ventricules pour envoyer le sang à oxygéner aux poumons et le sang oxygéné aux différents organes. Enfin la fibrillation ventriculaire est une complication grave de la FA, puisqu'elle est considérée comme une urgence vitale : les ventricules se contractent de manière totalement anarchique à un rythme très élevé, réduisant alors de manière importante le volume de sang éjecté. Un collapsus survient alors, avec un arrêt de la circulation sanguine qui, si cette complication n'est pas rapidement prise en charge par une défibrillation par exemple, peut aboutir au décès.

En France, on estime la prévalence de la FA entre 600 000 à 1 million de patients atteints, ce qui représenterait environ 1% de la population française. L'incidence quant à elle est située entre 100 000 et 250 000 nouveaux cas par an. Ce sont surtout les patients âgés de plus de 80 ans qui sont touchés par cette maladie, car l'âge est le principal facteur de risque de la FA.

D'autres étiologies que le vieillissement ont été identifiées : l'obésité, le diabète, l'hypertension artérielle, une hyperthyroïdie, des pathologies héréditaires ayant comme conséquence la mutation des canaux potassiques, des pathologies de la valve mitrale, l'apnée du sommeil, la sédentarité, une origine virale, le tabagisme. Il existe un sex-ratio avec les hommes généralement les plus touchés. Notons également que les athlètes pratiquant des sports d'endurance peuvent présenter des fibrillations atriales du fait de la pratique intensive de leur sport. Le flutter auriculaire est similaire à la FA, mais la différence réside dans le rythme de contraction des oreillettes qui est un peu moins élevé, rendant leur fonctionnement moins anarchique. Le flutter est donc une forme atténuée de la FA, et l'asynchronisme de contraction oreillettes-ventricules est cependant conservé.

La fibrillation atriale peut souvent ne pas provoquer de symptômes, elle est alors découverte fortuitement, lors d'examen cardiaque, que ce soit lors d'un électrocardiogramme (ECG), ou d'un écho-doppler.

Elle pourra également être détectée simplement lors d'une auscultation cardiaque pour un autre motif, comme une consultation de routine ou de suivi, où on détectera des battements rapides et irréguliers. Dans les situations les plus graves, elle sera découverte à la suite de complications comme un AVC, ou une insuffisance cardiaque. Le diagnostic est donc réalisé lors de la constatation d'un rythme rapide et irrégulier, lequel amènera à la réalisation d'un ECG qui confirmera la FA. Notons que le dépistage systématique de la FA chez les plus de 65 ans est encouragé par les sociétés savantes, comme la Société Française de Cardiologie.

Sinon, les symptômes les plus fréquemment rapportés, sont des palpitations qui sont désagréables pour le patient, car irrégulières et rapides, un essoufflement au repos ou lors des activités de la vie quotidienne, des douleurs dans la poitrine, une asthénie, ainsi que des malaises.

b) Prise en charge de la fibrillation atriale et rôle de la digoxine

En France, ce sont les recommandations[68] publiées en 2020 par l'European Society of Cardiology (ESC), la société européenne de cardiologie (Fig. 50), qui servent de référence aux médecins prescripteurs et aux pharmaciens pour la prise en charge de la fibrillation atriale. Les dernières recommandations demandent d'abord d'évaluer le risque de thrombose chez les patients présentant une fibrillation atriale, car ce risque est augmenté chez ces derniers, avec les pathologies associées comme l'AVC, les thromboses veineuses profondes et les embolies pulmonaires. Cette évaluation se base sur le score CHA_2DS_2-VASc. Celui-ci permet d'attribuer des points à chaque facteur de risque susceptible d'augmenter la survenue de thrombose. Ce score prend en compte la dysfonction du ventricule gauche, ou la présence d'une insuffisance cardiaque, l'hypertension artérielle, l'âge compris entre 65 et 74 ans, le diabète, les maladies vasculaires, et le sexe féminin. Tous ces critères valent 1 point chacun. Les antécédents d'AVC, d'accidents ischémiques transitoires (AIT) et d'embolies et l'âge supérieur à 75 ans valent 2 points. L'addition des points permet d'obtenir un score qui représente ainsi le risque d'évènements thrombotiques. Le score minimal étant 0, et le score maximal étant 9. Les hommes obtenant un score de 0 et les femmes obtenant un score de 1 ne nécessitent pas d'anticoagulation curative. Les hommes ayant un score de 1 ou plus, et les femmes avec score de 2 ou plus sont considérés à risque de thrombose. Un deuxième score, le HAS-BLED est utilisé pour calculer le risque hémorragique. Il consiste en l'addition de points pour chaque facteur de risque hémorragiques. Il prend en compte la présence d'hypertension artérielle, la dysfonction rénale ou hépatique, les antécédents d'AVC et de saignements, un INR (*International Normalized Ratio*, examen biologique de suivi des anti-vitamine K) labile, un âge supérieur à 65 ans, et la prise d'alcool et de médicaments. De même, ce score est gradué jusque 9 et permet d'adapter l'anticoagulation. Dans la fibrillation atriale, ce sont les anticoagulants oraux directs qui sont indiqués dans la majorité des cas, sauf en cas de sténose mitrale ou si le patient est porteur de prothèse valvulaire mécanique. Dans ces 2 cas, ce seront les anti-vitamines K qui seront préférés. De manière générale, la posologie des anticoagulants doit être adaptés en fonction de l'âge, de l'état rénal et du poids du patient.
Les recommandations après la mise en place d'une anticoagulation, concernent le contrôle de la fréquence cardiaque. L'objectif est d'atteindre une fréquence cardiaque inférieure à 110 battements par minute. En première intention, une monothérapie doit être introduite. Elle consiste en la prise d'un bétabloquant, ou d'un inhibiteur calcique (si le patient est asthmatique ou atteint de BPCO), si la FEVG (la Fraction d'Éjection du Ventricule Gauche), est préservée. Celle-ci évalue la puissance d'éjection du cœur. La FEVG est dite altérée si elle est inférieure à 40%, elle est préservée si elle est supérieure à 50%. Dans le cas d'une FEVG altérée, la monothérapie recommandée est la prise de bétabloquant, ou de digoxine. En seconde intention, lorsque que les symptômes sont aggravés et donc que la qualité de vie est diminuée, ou lorsque que le rythme cardiaque reste supérieur à 110 battements par minute malgré la monothérapie, il est recommandé de débuter une bithérapie. On associera un bétabloquant avec la digoxine, ou un inhibiteur calcique. Pour les patients atteints d'asthme ou de BPCO, on associera un inhibiteur calcique avec la digoxine. Enfin, en 3^{ième} ligne de traitement, on procèdera à une cardioversion du cœur, d'abord par voie chimique, en utilisant le flécaïnide ou le propafénone des anti-arythmiques de classe 1. On réservera l'amiodarone pour les patients atteints d'insuffisance cardiaque. La cardioversion chimique est indiquée pour traiter les fibrillations atriales datant de moins de 48 heures. La cardioversion électrique sera effectuée pour les fibrillations atriales apparues depuis plus de 48 heures. Elle consiste en l'application d'un choc électrique afin de rétablir un rythme sinusal. Enfin, en dernier recours, une ablation de la FA sera possible, par radiofréquence. Cette dernière consistera à supprimer les cellules responsables de la FA.

Il est à noter que la prise en charge des facteurs de risques cardiovasculaires comme l'hypercholestérolémie, le manque d'activité sportive et une alimentation déséquilibrée avec un apport trop élevé en sel, fait partie intégrante des recommandations.
La Haute Autorité de Santé (HAS) a évalué le Service Médical Rendu (SMR) de la digoxine indiquée dans la fibrillation atriale. Le SMR est évalué comme important, au vu des complications possibles et de la mortalité de la FA. Une étude[69] publiée en 2021 s'est intéressée à l'efficacité de la digoxine et la mortalité chez des patients atteints de fibrillation atriale. Le but des travaux était de conduire une méta-analyse sur des études comparant la mortalité des patients atteints de FA qui étaient traités par la digoxine, avec celle des patients atteints de FA et ne prenant pas de digoxine, sur une durée de 6 mois minimum. Au total, cette méta-analyse représente 29 études incluant plus de 600 000 patients.
Selon les auteurs, la prescription de digoxine augmente de manière significative la mortalité toutes causes chez les patients, spécifiquement chez ceux présentant une FA, sans insuffisance cardiaque associée. Plus précisément, les auteurs concluent à une augmentation de la mortalité par mort subite d'origine cardiaque. De plus, chez les patients uniquement atteints par la FA, la digoxine ne diminuerait pas de manière significative les hospitalisations. Cependant, dans les différentes études, les digoxinémies n'étaient pas disponibles, il est donc difficile de généraliser ces conclusions.

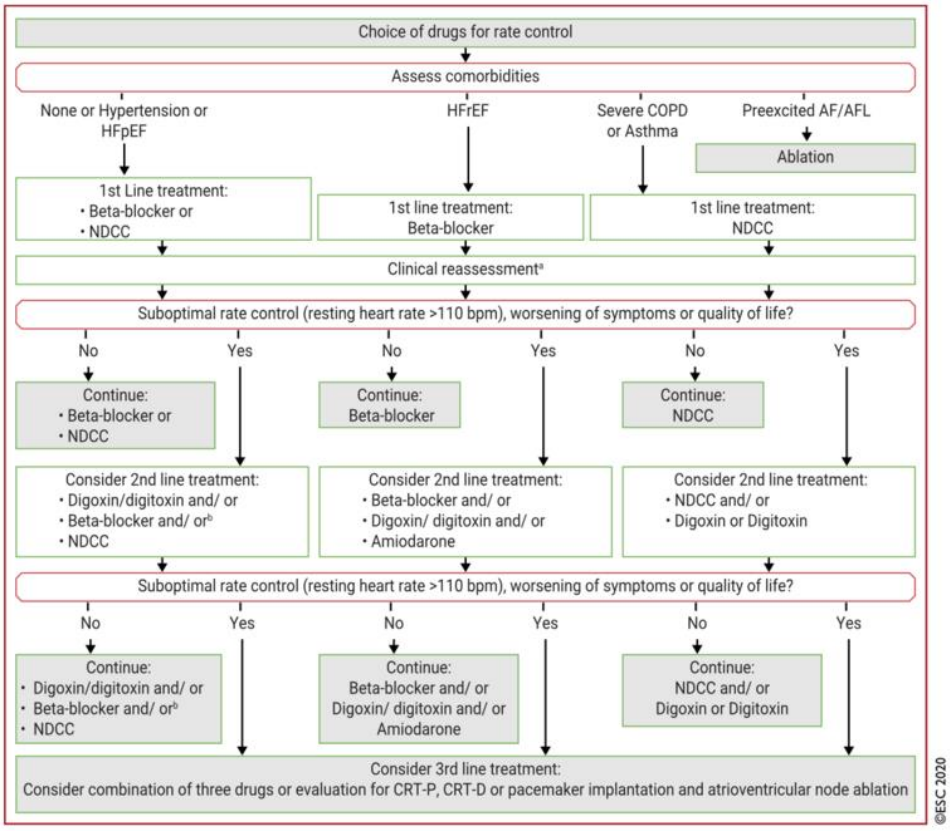

Figure 50 : Recommandations de l'ESC 2020 pour la prise en charge de la FA

D'autres études ont été analysées et détaillées dans un récent article[70], les conclusions sont similaires : chez des patients atteints uniquement de FA, la prescription de digoxine serait délétère, en augmentant la mortalité, peu importe les comorbidités (traitées ou non), et le genre. La mortalité sous digoxine augmenterait de 19% à chaque palier de 0,5 ng/mL de digoxinémie. Cette dernière donnée ne nous renseigne pas si ces paliers sont situés dans la zone thérapeutique très étroite de la digoxine, ou en dehors. Néanmoins, la zone thérapeutique recommandée, se situerait entre 0,5 et 0,9 ng/mL, car la mortalité y est la moins augmentée. Enfin, un article publié par Sethi et al. en 2018[71] démontre des biais de prescription et de sélection ainsi que des différences de suivi dans le temps (certains patients ont été suivis sur de trop courtes périodes) dans les différentes études rétrospectives réalisées, et que de ce fait, il est compliqué

de confirmer ou rejeter les hypothèses d'augmentation de la mortalité sous digoxine énoncées par les récentes méta-analyses. Des essais cliniques de grande échelle sur la mortalité sous digoxine dans le traitement de la FA sont nécessaires.
Malgré cela, la balance bénéfice/risque est positive et la digoxine garde une place importante dans la prise en charge de la fibrillation atriale, et reste recommandée par la société européenne de cardiologie en 2ième intention, grâce à sa capacité à réduire la tachycardie résistante à d'autres traitements comme les bétabloquants. En 30 ans, la prescription de digoxine pour traiter la FA seule a diminué, mais 30% des patients présentant une FA seule sont traités par la digoxine[72].
Comme nous le verrons dans la prochaine partie, les études réalisées sur la digoxine dans la prise en charge de l'insuffisance cardiaque associée à la FA concluent à de nombreux bénéfices lors de l'utilisation des hétérosides cardiotoniques.

2. L'insuffisance cardiaque

a) Définition[73]

L'insuffisance cardiaque se définit par l'inefficacité du cœur à transmettre le sang des ventricules vers le reste de l'organisme. Le débit sanguin est diminué, les différents organes se retrouvent alors moins perfusés, et vont souffrir d'un manque d'oxygène et de nutriments. C'est une maladie chronique évolutive qui a pour cause principale une cardiopathie ischémique, qui résulte d'un rétrécissement des artères coronaires notamment par un thrombus ou plaque d'athérome. Le patient présentera alors un infarctus du myocarde ou une crise d'angor. En étant moins perfusé, car les artères coronaires se retrouvent obstruées, le cœur se nécrose de manière irréversible. Une partie du muscle cardiaque va donc devenir inefficace, et le cœur pour compenser cette perte de débit va voir ses parois s'épaissir, et son rythme augmenter. Cette insuffisance cardiaque est dite systolique, le sang stagne à l'intérieur des cavités cardiaques. La deuxième cause la plus fréquente est l'hypertension artérielle. L'augmentation de la pression sanguine va fatiguer le cœur en lui demandant une force supérieure pour envoyer le sang vers les différents organes. Cette deuxième cause va contribuer à augmenter l'épaisseur des parois cardiaques et mène à l'insuffisance cardiaque diastolique, l'hypertension empêchant le complet remplissage des cavités cardiaques. Comme dit précédemment, les troubles du rythme cardiaque comme la FA peuvent mener à l'insuffisance cardiaque.
Le vieillissement des valves cardiaques, comme la calcification de la valve aortique, ou le rétrécissement de la valve mitrale peuvent également provoquer une insuffisance cardiaque. L'étiologie génétique avec les cardiomyopathies ainsi que l'étiologie infectieuse sont retrouvées dans l'apparition de l'insuffisance cardiaque.
Enfin, la consommation de drogues, de tabac ou d'alcool, et les maladies pulmonaires comme l'hypertension artérielle pulmonaire ou la BPCO peuvent provoquer une insuffisance cardiaque. La circulation sanguine va être ralentie, et le sang va stagner et s'accumuler dans les vaisseaux, provoquant alors une augmentation de la pression contre ces vaisseaux. Il y aura alors l'apparition d'œdèmes via le déplacement liquidien vers les tissus interstitiels. Une autre conséquence de l'insuffisance cardiaque est l'altération de la fonction rénale, par sa moindre perfusion, retenant alors plus de sel et d'eau, aggravant les œdèmes. Différents symptômes sont ressentis par les patients, à savoir : l'asthénie, un essoufflement au moindre effort, des dyspnées, de la toux, des palpitations, une polyurie et une augmentation du poids par des œdèmes des membres inférieurs. Une tachycardie est aussi retrouvée. Tous ces symptômes résultent de l'adaptation du cœur, ce qui va auto-entretenir la maladie. Nous avons par exemple une stimulation du système rénine-angiotensine qui va provoquer une vasoconstriction, et une augmentation de l'activité sympathique qui va provoquer une tachycardie. Enfin l'aldostérone va augmenter la volémie en retenant plus de sodium et d'eau, tout en excrétant plus de

potassium. L'hypervolémie, la tachycardie et la vasoconstriction sont les résultats de l'adaptation cardiaque.
Selon l'assurance maladie, l'insuffisance cardiaque touche environ 1,5 million de personnes en France, et représente 200 000 hospitalisations par an. C'est donc un problème de santé publique majeur. La complication principale de l'insuffisance cardiaque est principalement la décompensation cardiaque, qui consiste en une aggravation des symptômes classiques de l'insuffisance cardiaque, à savoir des dyspnées majorées, et un essoufflement constant même au repos, avec une augmentation des œdèmes. Des malaises peuvent également être présent. On parle aussi de poussée d'insuffisance cardiaque. L'œdème aigu du poumon peut survenir, tout comme l'hypertension artérielle pulmonaire.
Le diagnostic de l'insuffisance cardiaque repose sur l'analyse de sang via le dosage du NT-Pro BNP, un fragment de peptide produit par le ventricule gauche. Sa production se retrouve augmentée en cas d'hypertrophie ventriculaire gauche. L'électrocardiogramme, qui mettra en avant les étiologies de l'insuffisance cardiaque comme l'infarctus du myocarde, est également employé en diagnostic. L'écho-doppler permettra de mesurer la FEVG, qui est essentielle pour évaluer le degré d'insuffisance cardiaque et instaurer les traitements adaptés. La FEVG est calculée en divisant le volume d'éjection systolique par le volume d'éjection télédiastolique. Au-dessus de 55% elle est normale, en dessous de 40%, elle est altérée. D'autres examens comme l'IRM, le scanner ou encore le cathétérisme cardiaque seront proposés. L'échographie cardiaque garde une place centrale dans le diagnostic.

b) Prise en charge de l'insuffisance cardiaque et rôle de la digoxine

Pour l'insuffisance cardiaque à FEVG altérée, les recommandations (Fig. 51) de la société européenne de cardiologie publiées en 2021 expliquent qu'il faut initier une trithérapie Bétabloquant + Inhibiteur de l'enzyme de conversion (IEC) + Antagoniste des récepteurs à l'aldostérone.

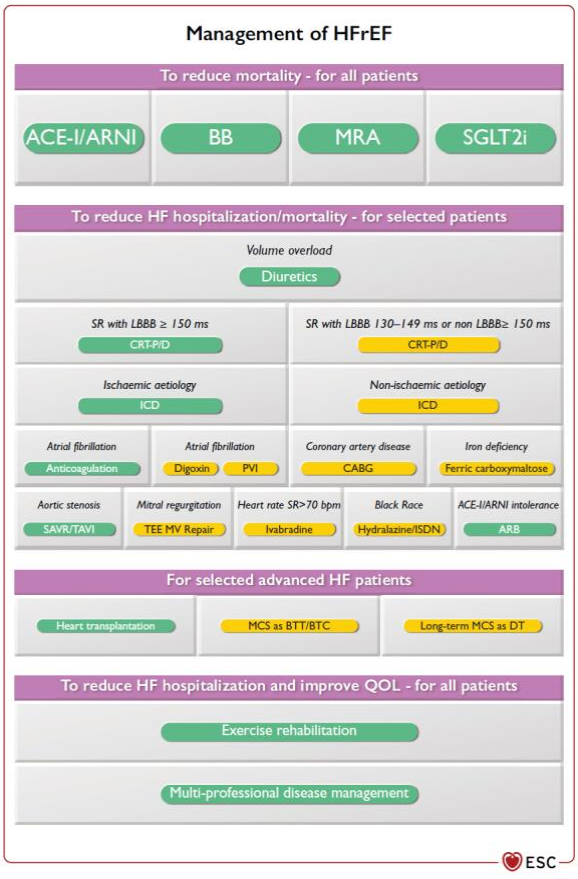

Figure 51 : Recommandation pour la prise en charge de l'insuffisance cardiaque à FEVG altérée, par l'ESC

Les seuls IEC devant être utilisés sont le Captopril, le Lisinopril, l'Enalapril, le Ramipril et le Trandolapril, et les seuls bétabloquants à utiliser sont le Bisoprolol, le Carvédilol, le Métoprolol et le Nébivolol. En cas de symptômes persistants, même sous cette trithérapie, il est recommandé de remplacer l'IEC par l'association Sacubitril/Valsartan, qui consiste en inhibiteur de la néprilysine et d'un antagoniste des récepteurs à l'angiotensine 2, ce 36h après l'arrêt de l'IEC pour éviter tout risque d'angio-œdème à bradykinine.
Les inhibiteurs de la SGLT2 constitués des glifozines avec la dapaglifozine pour la FEVG altérée, initialement réservée aux patients diabétiques sont maintenant recommandés en plus de la trithérapie. Les glifozines inhibent la réabsorption du glucose et du sodium, permettant ainsi leur excrétion, et jouant alors le rôle de diurétique, ce qui permet de réduire la volémie et donc le travail cardiaque, avec une réduction de la pré et post-charge. Ils sont donc recommandés, que le patient soit diabétique ou non. Ensuite, on adaptera le traitement au cas par cas, avec l'introduction de diurétiques. La figure 52 présente également des techniques chirurgicales et électriques, si le patient présente une sténose aortique, une régurgitation mitrale ou encore une insuffisance cardiaque avancée. Nous allons nous intéresser à la place de la digoxine. La digoxine sera associée aux anticoagulants si le patient présente une fibrillation atriale en plus de son insuffisance cardiaque, comme cela est fréquemment le cas. Elle aura pour but de renforcer le cœur qui se retrouve affaibli dans l'insuffisance cardiaque via l'effet inotrope positif. Elle ralentira le cœur qui est tachycarde dans l'insuffisance cardiaque par son action chronotrope négative, et elle le régularisera par son action dromotrope négative et bathmotrope négative. Selon l'ESC, la digoxine est à réserver aux patients insuffisants cardiaques et présentant une fibrillation atriale, si le rythme cardiaque est irrégulier et trop rapide malgré la prise de bétabloquants. Les sociétés savantes se réfèrent à la dernière étude de grande ampleur menée en 1997 par le *Digitalis Investigation Group* : « *The Effect of Digoxin on Mortality and Morbidity in Patients with Heart Failure* ». Cette étude consiste en un double essai clinique randomisé mené en double aveugle, portant sur la mortalité et l'hospitalisation des patients traités pour insuffisance cardiaque avec la digoxine. Les patients inclus dans l'étude avaient une FEVG réduite, inférieure à 45%. Sur les 6800 patients inclus dans l'étude, 3397 ont été assignés au groupe qui prendra de la digoxine, en plus de diurétiques et d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion, pour une dose médiane de 0,250 mg de digoxine par jour, tandis que 3403 patients ont été assignés au groupe qui prendra un placebo en plus de diurétiques et d'IEC. Le temps de suivi moyen a été de 37 mois.

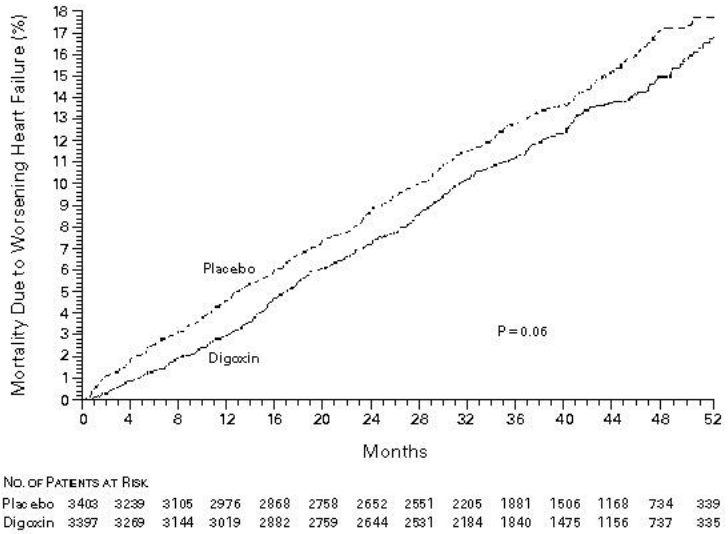

Figure 52 : Évolution de la mortalité en fonction du temps, par aggravation de l'insuffisance cardiaque chez le groupe sous placebo et sous digoxine. *D'après l'étude DIG, 1997*

Les auteurs se sont déjà intéressés à la réduction de la mortalité sous digoxine. La mortalité toutes causes confondues est restée inchangée sous digoxine, avec 34,8% de mortalité dans le groupe traité par digoxine, contre 35,1% pour le groupe sous placebo, pour un intervalle de confiance de 0,95% et un Risque Relatif (RR) de 0,99. Cependant, il y a une diminution de la mortalité par aggravation de l'insuffisance cardiaque pour les patients sous digoxine (394 décès), comparé au groupe placebo (449 décès) (Fig. 52). Le RR est de 0,88, pour un intervalle de confiance de 95%, avec la valeur P qui est inférieure à 0,06 ce qui est très proche de la valeur seuil de 0,05. On peut donc considérer le rejet de l'hypothèse nulle. On note une diminution d'environ 2% de la mortalité par aggravation de l'insuffisance cardiaque.

TABLE 3. PATIENTS HOSPITALIZED DURING THE STUDY, ACCORDING TO STUDY GROUP AND REASON FOR HOSPITALIZATION.

REASON FOR HOSPITALIZATION*	DIGOXIN (N=3397)	PLACEBO (N=3403)	ABSOLUTE DIFFERENCE†	RISK RATIO (95% CI)‡	P VALUE
	no. of patients (%)		%		
Cardiovascular	1694 (49.9)	1850 (54.4)	−4.5	0.87 (0.81–0.93)	<0.001
Worsening heart failure	910 (26.8)	1180 (34.7)	−7.9	0.72 (0.66–0.79)	<0.001
Ventricular arrhythmia, cardiac arrest	142 (4.2)	145 (4.3)	−0.1	0.98 (0.78–1.24)	
Supraventricular arrhythmia§	133 (3.9)	152 (4.5)	−0.6	0.87 (0.69–1.10)	
Atrioventricular block, bradyarrhythmia	14 (0.4)	9 (0.3)	0.1	1.56 (0.68–3.61)	
Suspected digoxin toxicity	67 (2.0)	31 (0.9)	1.1	2.17 (1.42–3.32)	<0.001
Myocardial infarction	195 (5.7)	201 (5.9)	−0.2	0.97 (0.79–1.18)	
Unstable angina	399 (11.7)	398 (11.7)	0.1	1.01 (0.87–1.16)	
Stroke	157 (4.6)	164 (4.8)	−0.2	0.95 (0.77–1.19)	
Coronary revascularization¶	83 (2.4)	71 (2.1)	0.4	1.17 (0.85–1.61)	
Cardiac transplantation	25 (0.7)	16 (0.5)	0.3	1.57 (0.84–2.94)	
Other cardiovascular‖	452 (13.3)	381 (11.2)	2.1	1.20 (1.05–1.38)	
Respiratory infection	238 (7.0)	252 (7.4)	−0.4	0.94 (0.79–1.12)	
Other noncardiac and nonvascular	1126 (33.1)	1079 (31.7)	1.4	1.06 (0.98–1.15)	
Unspecified	20 (0.6)	18 (0.5)	0.1	1.11 (0.59–2.10)	
No. of patients hospitalized	2184 (64.3)	2282 (67.1)	−2.8	0.92 (0.87–0.98)	0.006
No. of hospitalizations	6356	6777			

*Data shown include the first hospitalization of each patient for each reason.

†Absolute differences were calculated by subtracting the percentage of patients hospitalized in the placebo group from the percentage of patients hospitalized in the digoxin group (before values were rounded).

‡Risk ratios and confidence intervals (CI) were estimated from a Cox proportional-hazards model that used the first hospitalization of each patient for each reason.

§This category includes atrioventricular block and bradyarrhythmia.

¶This category includes coronary-artery bypass grafting and percutaneous transluminal coronary angioplasty.

‖This category includes embolism, venous thrombosis, peripheral vascular disease, hypertension, other vascular surgery, cardiac catheterization, other types of catheterization, pacemaker implantation, installation of automatic implantable cardiac defibrillator, electrophysiologic testing, transplant-related evaluation, nonspecific chest pain, atherosclerotic heart disease, hypotension, orthostatic hypotension, and valve operation.

Figure 53 : Nombre et causes des hospitalisations dans le groupe de patients traités par digoxine et dans le groupe placebo

Les auteurs ont synthétisé sous forme de tableau (Fig. 53) les résultats concernant les hospitalisations. Premièrement, les patients du groupe prenant de la digoxine ont été moins hospitalisés pour une aggravation de leur insuffisance cardiaque (910 patients, soit 26,8% du groupe) que les patients du groupe témoin (1180 patients hospitalisés, soit 34,7% du groupe). Cela représente une diminution de 7,9% d'hospitalisation, avec un RR de 0,72, pour un intervalle de confiance de 95%. Cela est significatif car la valeur de P est inférieure à 0,05, ici même inférieure à 0,001. Concernant l'ensemble des causes cardiovasculaires d'hospitalisation, le groupe de patients prenant de la digoxine a été responsable de 1694 hospitalisations, contre 1850 pour le groupe placebo, soit une différence de 4,5% avec une valeur de P inférieure à 0,001. Enfin, il y avait 6% d'hospitalisations en moins toutes causes confondues chez les patients du groupe prenant de la digoxine (6356 hospitalisations toutes causes confondues) par rapport au groupe placebo (6777 hospitalisations toutes causes confondues). On notera finalement une faible différence pour le risque d'hospitalisation pour suspicion de toxicité digitaliques, qui est augmenté de 1,1% chez le groupe traité par digoxine avec P inférieur à 0,001. La digoxinémie moyenne était de 0,86 ng/mL après 1 mois de prise de digoxine, et était de 0,80 ng/mL après un an de prise, ce qui était à chaque fois dans la marge thérapeutique. Les auteurs précisent avoir réalisé une étude plus petite en même temps que l'étude principale, avec

des patients avec une FEVG préservée ou modérément réduite, supérieure à 0,45%. Les résultats sont similaires à l'étude principale, avec une diminution de la mortalité ou hospitalisation pour une aggravation d'insuffisance cardiaque. Citons l'étude *RADIANCE : " Randomized Assesment of the effect of Digoxin on Inhibitors of the Angiotensin-Converting Enzyme "*[74], qui s'est intéressée à l'évolution des patients atteints d'insuffisance cardiaque à FEVG inférieure à 35% déjà traités par digoxine, qu'ils ont séparés en deux groupes : l'un recevant toujours de la digoxine ; le second recevant un placebo à la place. Le suivi s'est déroulé sur 12 semaines et, précision importante, les patients étaient tous sous inhibiteurs de l'enzyme de conversion. Le but de l'étude était d'évaluer l'impact et donc les bénéfices de l'utilisation de la digoxine chez des patients déjà traités par une classe pharmacologique ayant fait ses preuves dans l'insuffisance cardiaque.
L'essai était randomisé et en double aveugle, et 178 patients ont été inclus ; 85 reçurent de la digoxine, et 93 reçurent un placebo. Lors de l'essai, 23 patients qui recevaient un placebo contre 4 patients recevant de la digoxine, ont nécessité une intervention thérapeutique par l'aggravation de leur insuffisance cardiaque. Le RR pour l'aggravation de l'insuffisance cardiaque dans le groupe placebo a été évalué à 5,9 avec un intervalle de confiance de 95% (2,1 à 17,2), avec P inférieur à 0,001. Le test de marche à 6 minutes, où le patient doit parcourir la plus grande distance en marchant en 6 minutes, est évocateur dans cette étude. Les patients du groupe placebo, ont parcouru 41 mètres de moins lors du test des 6 minutes après 10 semaines d'arrêt de digoxine, comparativement au premier test réalisé au début de l'essai, avec P inférieur à 0,01. Enfin, un questionnaire (Fig. 54) réalisé par les patients sur l'amélioration, le maintien ou la diminution de leur qualité de vie depuis la poursuite ou l'arrêt de la digoxine, montre que 31% des patients recevant un placebo ont jugé que leur qualité de vie générale avait légèrement ou significativement diminué, avec P inférieur à 0,007.

Rate of Progress	Placebo (N = 91)	Digoxin (N = 83)
	no. (%) of patients	
Much better	13 (14)	16 (19)
Moderately better	8 (9)	12 (14)
Slightly better	11 (12)	18 (22)
Unchanged	29 (32)	24 (29)
Slightly worse	1 (1)	5 (6)
Moderately worse	12 (13)	3 (4)
Much worse	17 (19)	5 (6)
	P = 0.007†	

*Four patients withdrew before the first assessment.

†The distribution of clinical responses in the two treatment groups was compared by a nonparametric analysis of covariance (the Cochran–Mantel–Haenszel test), with adjustment for study center.

Figure 54 : Résultats du questionnaire sur la qualité de vie lors de l'étude RADIANCE

Ce sont donc à ces données, à chaque fois significatives, que se réfèrent l'European Society of Cardiology ainsi que la Haute Autorité de la Santé, qui attribuera un Service Médical Rendu important dans l'indication de l'insuffisance cardiaque. Les prises en charge de l'insuffisance cardiaque à FEVG modérément réduite et préservée sont semblables à celle de la FEVG altérée, avec cependant une place plus importante des diurétiques qui sont recommandés en première intention. Les autres traitements dépendront des symptômes et des comorbidités.
Pour conclure, la digoxine joue donc un rôle très important dans la prise en charge de l'insuffisance cardiaque, associée ou non à la fibrillation atriale, pour diminuer l'épuisement du cœur et réduire son rythme, en augmentant le débit sanguin. De ce fait il n'y aura pas de vasoconstriction car il n'y aura pas de résistances lors de l'éjection du sang. En conséquence, les reins verront leur fonction se rétablir, avec une natriurèse augmentée. Cette augmentation de l'excrétion rénale de manière générale permettra la diminution du volume, ainsi les œdèmes

seront diminués. Par l'amélioration du débit cardiaque, la fréquence cardiaque sera également diminuée, puisque le cœur n'aura pas à compenser pour obtenir le même débit. La fréquence cardiaque est donc diminuée par deux mécanismes : par l'amélioration du débit, et par l'inhibition de la pompe ATPase Na^+/K^+. Cela contribue ainsi à une meilleure qualité de vie tout en réduisant la mortalité et les hospitalisations pour évènements cardiaques, et plus spécifiquement la décompensation d'insuffisance cardiaque.
Dans tous les cas, signalons l'importance accordée à la prise en charge multidisciplinaire, associée à l'éducation thérapeutique et la prévention des facteurs de risque cardiovasculaires via notamment l'arrêt du tabac et la diminution de l'alcool et des apports en sel, tout en pratiquant une activité physique régulière et adaptée aux patients.

C. Pharmacocinétique de la digoxine[75]

1. Absorption et distribution

Plus les hétérosides cardiotoniques sont liposolubles, plus l'absorption sera rapide et efficace. Avec ses deux groupements hydroxyles, la molécule de digoxine possède une bonne absorption qui est évaluée à 70-80% de la dose initiale. C'est la P-GP (glycoprotéine P, une ATPase) qui est l'enzyme s'opposant à l'absorption de la digoxine au niveau intestinal. Nous verrons que cela est source d'interactions. La digoxine est retrouvée en grande partie sous forme libre, donc avec une faible fixation protéique, de l'ordre de 20% de fixation. Encore une fois, c'est la liposolubilité de la digoxine qui détermine cette faible fixation, et donc son efficacité plus rapide.

2. Métabolisation

Le métabolisme est faiblement hépatique, environ 10%. Le volume de distribution est 5 L/kg. Ce sont les bactéries *Eggerthella lenta* qui sont anaérobies et Gram +, et faisant partie de la flore commensale intestinale, qui sont responsables de la majorité du métabolisme de la digoxine. Ces bactéries sont capables de réduire le cycle lactonique de la digoxine, pour produire un métabolite inactif, appelé dihydrodigoxine[76]. Cette réduction est réalisée par la saturation de la double liaison du cycle lactonique, diminuant ainsi l'affinité de la digoxine pour la pompe ATPase Na^+/K^+. L'étude menée par Haiser et al[76] a permis de mettre en évidence un opéron, nommé *cardiac glycoside reductase (CGR)*. Cet opéron code une protéine de la famille des cytochromes c réductases, appelée CGR1, ainsi qu'une protéine similaire à la fumarate réductase, appelée CGR2. Ces deux protéines interagissent ensemble : la CGR1 forme un dimère (Élément A de la Fig. 55) se plaçant sur la membrane plasmique et transporte des électrons dérivés de la quinone, vers une nitrite réductase.

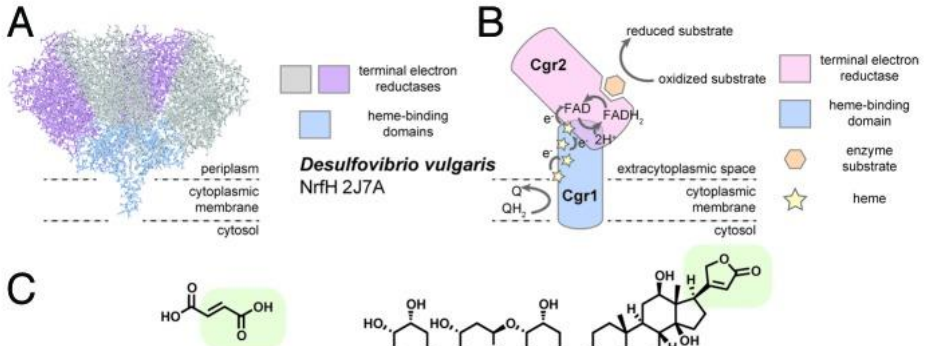

Figure 55: Réduction de la digoxine par le complexe CGR1 et CGR2, *d'après Haiser et al, 2014.*

CGR2 montre une homologie de structure à la FAD fumarate réductase, et servirait de réductase terminale pour les électrons transportés par CGR1, en formant un complexe (Élément B de la Fig. 55) avec CGR1 au niveau du site de liaison FAD, qui joue le rôle de coenzyme d'oxydo-réduction, permettant la réaction de réduction lactonique. Les auteurs proposent un mécanisme similaire à celui de la réduction de fumarate, car le cycle lactonique de la digoxine et l'acide carboxylique insaturé du fumarate présentent une grande homologie (Élément C de la Fig. 55). Les auteurs signalent qu'il n'y pas d'augmentation de la croissance bactérienne d'*E. lanta* lors de la réduction de la digoxine. Cela ne résulte donc pas d'un avantage sélectif pour les bactéries. Cette réduction serait simplement le résultat d'une activité enzymatique locale. Les auteurs précisent également que l'opéron CGR répondrait aux composés contenant des cycles butyrolactone insaturés. Ces composés sont retrouvés dans le lait et le beurre. Ce serait donc la similarité de structure entre les digitaliques et les produits laitiers qui aurait conduit par la présence de digitaliques endogènes chez les mammifères[77] comme l'ouabaïne, à la sélection de l'opéron CGR. Notons que dans l'étude, les auteurs expliquent que la présence de l'opéron CGR diffèrent entre différentes souches d'*E. lenta*, et ce chez un même individu et chez des individus différents. Le métabolisme de la digoxine est donc variable en fonction des individus. Enfin, il a été prouvé[78] que la croissance d'*E. lenta* nécessite la présence d'un acide aminé particulier, l'arginine, qui est la source principale de carbone et d'azote pour ces bactéries. Cependant, l'arginine diminue également la métabolisation de la digoxine par les bactéries. Haiser et al ont prouvé qu'un apport en arginine chez des souris colonisées par *E. lenta*, et qui prenaient de la digoxine, augmentait les concentrations sériques et urinaires en digoxine. Par RT-PCR, l'expression de CGR est montrée élevée en absence d'arginine, tandis qu'elle est fortement diminuée en présence d'arginine. Il est difficile d'expliquer comment et pourquoi l'arginine réprime l'opéron CGR. Le mécanisme d'action est encore inconnu. Nous verrons plus tard que les antibiotiques actifs contre *E. lenta* sont une source d'interaction médicamenteuse, car ils détruiront les bactéries responsables du métabolisme de la digoxine.

3. Élimination

L'élimination de la digoxine est à 90% rénale et à 10% hépatique. Nous l'avons vu plus tôt, le métabolisme est assez faible pour la digoxine, qui sera donc éliminée en grande partie sous forme inchangée dans les urines. De ce fait, l'état de la fonction rénale aura une influence directe sur l'élimination. Toute altération de la fonction rénale augmentera le risque de toxicité, d'autant plus que la demi-vie de la digoxine est plutôt longue, car elle est de 36h.

D. Formes disponibles

Plusieurs formes sont disponibles. En France, sont commercialisés le dosage 0,125 mg pour la spécialité HÉMIGOXINE NATIVELLE® et le dosage 0,250 mg pour la spécialité DIGOXINE NATIVELLE® (Fig 56).

Figure 56 : Les deux dosages de digoxine en comprimés disponibles en France, commercialisés par le laboratoire TEOFARMA, *par E. Lafforgue*

Ces dosages sont sous la forme de comprimés, produits par le laboratoire TEOFARMA. Les deux présentations coutent 1,97 € hors honoraires de dispensation, et 2,99 € avec les honoraires de dispensation. Il est essentiel de préciser que les comprimés de 0,250 mg sont sécables, contrairement aux comprimés de 0,125 mg qui ne le sont pas. Selon une réponse du laboratoire TEOFARMA le 8 mars 2023, les comprimés ne sont pas écrasables, car aucunes études de stabilité n'ont été menées, d'autant plus que les hétérosides cardiotoniques sont très amers, donc à risque de provoquer des vomissements. Selon les chiffres OPEN MEDIC consultables sur le site de l'assurance maladie[79], il y a eu en 2022 :

- 669 176 boites d'HÉMIGOXINE NATIVELLE® 0,125 mg délivrées,
- 249 185 boites de DIGOXINE NATIVELLE® 0,25 mg délivrées,
- 1450 boites de 6 ampoules de DIGOXINE NATIVELLE® 0,50 mg/2mL délivrées,
- 88 flacons de DIGOXINE 5 µg/0,1 mL délivrés.

Ces données permettent d'affirmer que la digoxine est encore une molécule régulièrement prescrite en France. La forme ampoule est réservée aux patients n'étant plus en capacité d'avaler les comprimés. Les ampoules sont donc utilisées pour les patients hospitalisés. Enfin la dernière forme galénique disponible est la forme buvable en gouttes. Celle-ci est réservée à un usage pédiatrique, et la posologie dépend du poids de l'enfant. L'administration débutera par une dose de charge, en une seule prise, et sera suivie de doses d'entretien, qui seront administrées 2 ou 3 fois par jour, et correspondant à 1/3 de la dose de charge. La pipette possède des graduations de 0,05 mL, ce qui équivaut à 2,5 µg par graduation. 1 mL, composé de 20 graduations, représente donc 50 µg de digoxine. De manière générale, la posologie de ces différentes présentations sera adaptée en fonction de l'état rénal, et de la digoxinémie des patients. La dose d'entretien est généralement de 0,250 mg par jour, tandis que la dose de charge chez l'adulte peut atteindre 0,5 mg voir 1 mg par jour en plusieurs prises.

E. Rôle du pharmacien dans la prise en charge des patients traités par la digoxine

1. Effets indésirables

Le pharmacien doit être vigilant aux effets indésirables rapportés par les patients lors de la prise de digoxine. La plupart des effets indésirables décrits dans le résumé des caractéristiques du produit[80] sont évocateurs d'un surdosage, et donc d'une intoxication. D'autres effets ne témoignent pas d'une toxicité.
Les effets indésirables spécifiquement liés à un surdosage sont les suivants :

- Des troubles digestifs comme des nausées, des vomissements et des diarrhées,
- Des troubles visuels de type dyschromatopsies jaune-vert, avec diplopie et photophobie,
- Des atteintes cérébrales, avec des hallucinations et des convulsions, des vertiges et des céphalées,
- Une hyperexcitabilité des ventricules,
- Une thrombopénie et une hyperkaliémie.

Les effets indésirables suivants ne sont pas liés à un surdosage en digoxine :

- Une gynécomastie,
- Des réactions allergiques cutanées,
- Une modification de l'ECG avec le segment ST « creusé » sous forme de cupule.

Le pharmacien, par sa connaissance des effets indésirables, a donc un rôle important à jouer en détectant précocement un éventuel surdosage par la digoxine. Nous allons nous intéresser à deux effets indésirables qui sont rencontrés sans intoxications associées.
Notons la spécificité de la dyschromatopsie jaune-vert comme signe d'intoxication aux digitaliques, associée à la diplopie et la photophobie. Ces troubles s'expliquent par une excitation corticale, et ces signes sont simples à identifier chez les patients. Plus précisément, cet effet indésirable s'explique par la présence d'isoformes de la pompe ATPase Na^+/K^+ à l'intérieur des cellules gliales de Müller(81) au niveau ophtalmique. Lors de surdosage, l'inhibition de la pompe altèrerait les gradients électrochimiques transitant par les cellules de Müller, provoquant alors des dyschromatopsies. Ces troubles de la vision seraient majorés lors de la prise de diurétiques hypokaliémiants, ces derniers diminuant le taux de potassium intracellulaire neuronal par effet de membrane. Rappelons que le peintre néerlandais Vincent van Gogh était traité par des extraits de digitale pour ses crises d'épilepsies, ce qui pourrait expliquer ses nombreux tableaux où la couleur jaune est prédominante. D'autant plus que Van Gogh a peint un tableau où de la digitale est visible : *Le Docteur Paul Gachet* en 1890. Mais selon un récent article(82) publié sur le site de la revue *Nature* en 2019, Van Gogh aurait été traité seulement 2 mois par la digitale, prescrite par son médecin le docteur Gachet, qui a écrit plusieurs articles scientifiques sur les posologies et la toxicité de la digitale. On peut donc considérer que ce dernier prescrivait avec précaution la digitale. Enfin, les œuvres de Vincent van Gogh sont fortement teintées de jaunes, et ce depuis ses premiers tableaux. Enfin, n'oublions pas que le peintre consommait régulièrement de l'absinthe, un alcool contenant de la thuyone(83), une molécule provoquant des dyschromatopsies jaune-vert. Selon toutes ces données, il serait alors peu probable que la teinte jaune des tableaux de Vincent van Gogh ait pour origine la prise de digitale. Cependant, cela reste un bon moyen mnémotechnique pour se rappeler des effets indésirables retrouvés lors de la prise de digoxine.
Concernant les gynécomasties, elles s'expliqueraient par une homologie de structure entre la digoxine et les œstrogènes. En effet, la digoxine a un squelette chimique très proche de la pregnenolone, une molécule précurseur de l'œstradiol, l'œstrogène retrouvé chez la femme. Plusieurs études(84) ont prouvé que la digoxine se fixait sur les récepteurs aux oestrogènes, mais avec moins d'affinité que les œstrogènes endogènes. Cette fixation entraine la prolifération des tissus mammaires, notamment les acinis. L'augmentation du volume mammaire est reportée chez les deux sexes, mais est visible surtout chez les hommes, où cet effet indésirable a d'abord été détecté.

2. Contre-indications

Nous allons maintenant citer les différentes contre-indications formelles :

- Les blocs auriculo-ventriculaires du 2^{ième} ou 3^{ième} degré non appareillés : les impulsions électriques ne sont plus du tout transmises des oreillettes aux ventricules. Le rythme cardiaque est donc drastiquement ralenti, de l'ordre de 30 battements par minutes. La digoxine ralentirait trop fortement le cœur, pouvant conduire alors à l'arrêt cardiaque.

- Une fibrillation atriale associée au syndrome de Wolff-Parkinson-White, un syndrome où un chemin de conduction de l'influx nerveux supplémentaire est présent, appelé faisceau de Kent. Ce syndrome amène des tachycardies notamment des tachycardies paroxystiques supraventriculaires. Chez les enfants présentant ce syndrome, la digoxine est utilisée pour réduire les tachycardies provoquées par ce syndrome. C'est chez les adultes atteints de ce syndrome qu'elle est contre-indiquée, bien que la digoxine, par son action dromotrope négative, diminue la contractibilité cardiaque, et par son action bathmotrope négative, diminue l'excitabilité des ventricules. En effet, cette dernière favorisera alors la conduction par le faisceau de Kent, la conductibilité de manière

générale étant réduite, le faisceau de Kent devenant alors le faisceau conducteur principal[85]. Cela expose le patient à une fibrillation atriale augmentée, qui peut provoquer une grave fibrillation ventriculaire.

- Les hypokaliémies, qui pourront produire une toxicité plus importante, en augmentant l'effet de la digoxine, puisque celle-ci diminue la concentration en potassium, en l'empêchant de rentrer en milieu intracellulaire.

- Les rétrécissements aortiques calcifiés, qui vont être aggravés par l'action inotrope positive de la digoxine.

- Enfin la prise de calcium par voie intraveineuse est contre-indiquée par l'augmentation du mécanisme d'action de la digoxine qui augmente la libération de calcium induite par le calcium, augmentant ainsi la force de contraction du cœur.

Ces contre-indications sont importantes, et doivent être prises en compte à chaque initiation de traitement par la digoxine, mais également lors de réévaluations médicamenteuses et lors de la dispensation par le pharmacien.

3. Interactions médicamenteuses[80]

Plusieurs interactions médicamenteuses sont possibles avec la digoxine. C'est le rôle du pharmacien, par sa connaissance des médicaments, de veiller à ce que les prescripteurs évitent la prescription de digoxine avec d'autres médicaments, qui peuvent soit augmenter l'efficacité de la digoxine et donc sa toxicité, soit diminuer son efficacité, via à chaque fois une inhibition de la P-GP, ou une induction de la P-GP. Les hôpitaux universitaires de Genève ont réalisé un tableau réunissant les différents inhibiteurs et inducteurs enzymatiques de la glycoprotéine P, enzyme majeure s'opposant à l'absorption intestinale de la digoxine. D'autres médicaments ne sont ni inhibiteurs, ni inducteurs enzymatiques, mais interagissent autrement. Nous allons d'abord nous intéresser aux médicaments qui inhibe l'ATPase P-GP. Cette inhibition entrainera un arrêt du rejet de la digoxine au niveau intestinal, et donc une biodisponibilité bien supérieure de la digoxine. Cela se traduira par une digoxinémie plus importante et donc une toxicité possible, puisque la digoxine est une molécule à marge thérapeutique étroite.
Les médicaments suivants sont des inhibiteurs de la P-GP :

- Des immunosuppresseurs avec la ciclosporine et l'éverolimus,

- Des anti-arythmiques avec l'amiodarone, le vérapamil, la quinidine et le diltiazem,

- Des antibiotiques macrolides avec la clarithromycine et l'érythromycine,

- Un progestatif, le désogestrel,

- Des antipsychotiques avec la quétiapine et l'halopéridol,

- Des antidépresseurs avec la duloxétine, la fluoxétine et la paroxétine,

- Des hypocholestérolémiant avec l'irbesartan,

- Des antifongiques avec l'itraconazole, le kétoconazole et le posaconazole,

- Un inhibiteur de la pompe à proton, le lansoprazole,

- Un agoniste des récepteurs aux opioïdes, utilisé dans le traitement des addictions aux morphiniques, la méthadone.

Ces médicaments sont fréquemment prescrits, que ce soit à l'hôpital, ou en médecine de ville. Par exemple, le lansoprazole utilisé pour réduire l'acidité gastrique est le seul médicament de la classe des inhibiteurs de la pompe à proton (IPP), disponible au Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Poitiers en 2022-2023. Et c'est le seul de cette sa classe à être un inhibiteur de la PG-P. De plus, la prescription des IPP est souvent retrouvée chez les personnes âgées, car ces dernières connaissent avec l'âge plus de désordres gastriques. Cette interaction doit donc être surveillée de près, d'autant plus que la toxicité de la digoxine est plus facilement atteignable chez les personnes âgées du fait de leur état rénal altéré. Comme il existe d'autres médicaments de la classe des IPP, et qui ne sont pas inhibiteurs de la P-GP, il est assez aisé pour le pharmacien de proposer au prescripteur une alternative au losanprazole chez un patient prenant de la digoxine. Il en est de même pour un inhibiteur de l'HMG-CoA réductase, l'irbesartan, qui est le plus souvent prescrit aux personnes âgées, et qui est le seul de sa classe à être inhibiteur de la PG-P, alors que des alternatives sont possibles. De plus ces deux médicaments ne relèvent pas d'affections urgentes ou graves ou importantes, contrairement aux autres médicaments de cette liste. Notons les dérivés azolés antifongiques qui sont souvent utilisés chez les patients en aplasie suite à des traitements de chimiothérapies cytotoxiques. Citons également les immunosuppresseurs utilisés après des greffes d'organes ou de cellules souches hématopoïétiques, ou dans les pathologies auto-immunes. Ces deux familles de médicaments sont essentielles, et leur suspension est plus délicate, sachant que peu d'alternatives existent. Discutons enfin des médicaments utilisés pour traiter les maladies psychiatriques comme les antidépresseurs avec la duloxétine, la fluoxétine et le paroxétine, les psychoses avec l'halopéridol et la quétiapine et l'addiction aux morphiniques avec la méthadone. Ces traitements des maladies psychiatriques ne doivent pas être arrêtés sans avis médical, et de manière abrupte, sinon le patient s'expose à un syndrome de sevrage qui peut être associé à des décompensations psychiatriques.
Dans le cas des familles de médicaments précédemment citées, il convient pour le pharmacien de se rapprocher du médecin prescripteur après avoir détecté une interaction avec la digoxine, pour prendre les mesures nécessaires pour réduire le risque d'iatrogénie.
Pour ce qui est des antibiotiques macrolides, d'autres classes d'antibiotiques sont envisageables, ainsi que d'autres progestatifs que le désogestrel utilisé en contraceptif. Enfin d'autres anti-arythmiques sont utilisables que le vérapamil et le diltiazem, avec les béta-bloquants par exemple. D'une manière générale, la détection de ces différents inhibiteurs enzymatiques de la P-GP est éminemment importante, afin d'éviter tout surdosage, ce dernier de par la faible marge thérapeutique pouvant survenir bien plus rapidement, surtout chez une population à risque et polymédiquée. On remarquera enfin l'absence de cette liste du pamplemousse, qui est un inhibiteur puissant et bien connu du cytochrome P450 CYP3A4, mais qui inhibe de manière légère la P-GP avec ses fortes teneurs en furanocoumarines. Une étude de Becquemont et al[(86)], sur l'impact de la prise de jus de pamplemousse sur la pharmacocinétique de la digoxine a été conduite. L'étude randomisée a été menée sur 12 volontaires, un groupe prenant du jus de pamplemousse, et l'autre de l'eau, les 12 volontaires prenant également 0,5 mg de digoxine en une prise par voie orale. La concentration maximale plasmatique de la digoxine (Cmax) ainsi que l'aire sous la courbe (Area Under the Curve, AUC), qui représente l'exposition des patients à la digoxine en fonction du temps, ont été mesurées entre T0 et T48h. Les résultats montrent qu'il n'y a pas eu d'augmentation significative de la Cmax ou de l'AUC entre T0 et T48h. Cependant, une augmentation de l'AUC de 9% est remarquée entre T0 et T4h, et entre T0 et T24h.

Les auteurs concluent donc à un faible rôle du pamplemousse sur la P-GP lors de la prise de digoxine, et indiquent que la consommation de pamplemousse est possible en étant traité par la digoxine.

Les médicaments suivants sont des inducteurs de la P-GP :

- Des antiépileptiques avec la carbamazépine, le phénobarbital et le phénitoïne,
- Un corticoïde, la déxaméthasone,
- Des antibiotiques, la rifabutine et la rifampicine,
- Un médicament de phytothérapie, le millepertuis.

Ces médicaments augmentent l'activité de la P-GP, qui va donc s'opposer plus fortement à l'absorption de la digoxine. La digoxinémie va donc se retrouver diminuée, donc l'efficacité de la digoxine également. On s'expose donc à une rechute de la tachycardie ainsi qu'à une décompensation cardiaque. Mais le plus grand risque réside dans l'augmentation de la posologie de la digoxine, pour atteindre une digoxinémie dans les valeurs cibles. À l'arrêt de l'inducteur, on aura alors de grandes chances de se retrouver dans la zone toxique, à cause de l'augmentation de la posologie pour compenser la baisse de la digoxinémie mesurée lors de la prise d'inducteurs de la P-GP. Le pharmacien a là aussi un rôle important, en questionnant son patient lors d'une demande de millepertuis, ou lorsqu'il conseille du millepertuis à un patient souhaitant utiliser un traitement phytothérapeutique contre les symptômes dépressifs légers. Dans ce cas, il faudra éviter la délivrance de millepertuis chez les patients traités par la digoxine. Pour les patients atteints de tuberculose, il est complexe de ne pas utiliser la rifampicine, même si c'est néanmoins possible, puisque d'autres médicaments existent à l'instar de l'éthambutol, l'isoniazide, et le pyrazinamide. Enfin, pour les patients épileptiques, il conviendra de prendre contact avec le prescripteur, comme pour les patients prenant de la rifampicine, pour décider de la conduite à tenir. Il est par exemple envisageable d'augmenter les posologies de la digoxine, lors du traitement par des inducteurs de la P-GP. Cependant, si la digoxine est maintenue, bien qu'en présence d'inducteurs, l'augmentation de la posologie devra être prudente, et la digoxinémie devra être surveillée étroitement. Le pharmacien rappellera au patient les premiers signes de toxicité de la digoxine, comme les nausées et vomissements, avec les troubles visuels typiques de dyschromatopsies jaune-vert, et les hallucinations. À l'arrêt des inducteurs, la posologie devra être diminuée, en contrôlant la digoxinémie.
D'autres médicaments interagissent avec la digoxine, mais ne sont ni des inducteurs, ni des inhibiteurs de la glycoprotéine P. Précédemment, nous avons précisé l'impact de la flore commensale sur la digoxinémie, avec les bactéries *Eggerthella lenta*. Les macrolides utilisés lors des infections ORL et génitales ainsi que d'autres anti-infectieux comme le métronidazole, l'amoxicilline-acide clavulanique, la pipéracilline-tazobactam et le carbapénème[87], sont des médicaments qui détruisent les colonies d'*E. lenta*. Rappelons que ces bactéries métabolisent la digoxine en dihydrodigoxine, son métabolite inactif. En utilisant des médicaments ciblant ces bactéries, la digoxine ne sera plus métabolisée, et sa concentration augmentera, ce qui pourrait rapidement conduire à une intoxication. D'où l'importance de surveiller la digoxinémie pendant la prise de ces antibiotiques.
Le cholécalciférol ou vitamine D3, est un médicament utilisé pour la carence en vitamine D et pour la prévention de l'ostéoporose. Son mécanisme d'action modifie le métabolisme phospho-calcique et peut faire augmenter la calcémie. Une calcémie augmentée provoque une efficacité supérieure de la digoxine, par libération de calcium supérieure. Des troubles cardiaques peuvent donc apparaître. Une surveillance accrue s'impose lors de la prescription de cholécalciférol et de digoxine.

Les médicaments qui sont néphrotoxiques altèrent la fonction rénale. En cas de prise concomitante de digoxine, le patient s'expose à une toxicité, puisque la digoxine est éliminée majoritairement par les reins.
Les médicaments suivants sont néphrotoxiques[88] :

- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme l'aspirine et l'ibuprofène,
- Un immunosuppresseur : la ciclosporine,
- Des antibiotiques : les aminosides,
- Les produits de contraste iodés,
- Des antiviraux comme le foscarnet, le ténofovir et l'aciclovir,
- Les anticholestérolémiants comme les statines,
- Les anticorps monoclonaux, et les inhibiteurs des tyrosines kinases.

Ils doivent appeler à la plus grande vigilance lorsqu'ils sont prescrits en même temps que la digoxine, mais ne sont pas contre-indiqués. Il suffit de monitorer au plus près l'évolution de la digoxinémie, et d'agir en conséquence en réduisant la posologie si besoin.
Les médicaments hypokaliémiants sont un facteur de risque de toxicité, puisque l'hypokaliémie majore la toxicité des digitaliques. Il s'agit des corticoïdes, de l'amphotéricine B, des laxatifs stimulants et des diurétiques hypokaliémiants comme l'hydrochlorothiazide et le furosémide. Concernant les laxatifs stimulants, ils sont disponibles sans ordonnance en officine, il s'agit du bisacodyl, ainsi que l'aloès et le séné. Le pharmacien doit donc veiller à questionner le patient avant la délivrance de ces traitements. Il en est de même pour les AINS. Les nombreux médicaments torsadogènes, sont à éviter car provoquent des tachycardies ventriculaires, qui sont graves si la digoxine est présente. Les médicaments à surveiller sont : les neuroleptiques, comme la cyamémazine et l'halopéridol, les antiémétiques comme le métoclopramide, la métopimazine et l'ondansétron, les antidépresseurs comme l'escitalopram et le citalopram, les anxyolitiques comme l'hydroxyzine, et les macrolides avec l'érythromycine et les fluoroquinolones comme la ciprofloxacine. Il est nécessaire de les éviter.
Enfin, il faut penser à respecter un délai de 2 heures entre la prise de pansements gastriques et la prise de digoxine, car ils peuvent ralentir l'absorption de la digoxine.

4. Populations particulières

Les personnes âgées présentent une altération de leur fonction rénale. Cette diminution du débit de filtration glomérulaire, a un grand impact sur l'élimination de la digoxine, puisque cette dernière est presque exclusivement éliminée par le rein. La fonction rénale doit absolument être évaluée et suivie par le prescripteur et par le pharmacien pour éviter tout risque de toxicité. De la même manière, une hydratation suffisante des personnes âgées doit être surveillée car les sujets déshydratés se retrouvent avec un volume sanguin abaissé, et donc avec une augmentation de la concentration en digoxine, et donc une toxicité éventuelle. L'insuffisance rénale n'est pas l'apanage de la population âgée. Les patients présentant de l'hypertension artérielle, un diabète ou une tumeur rénale, sont également concernés par l'insuffisance rénale et, au même titre que les personnes âgées, doivent voir leur fonction rénale suivie lors de la

prescription de digoxine. Un patient de faible poids et de petite taille, aura un DFG diminué, il faut prendre en compte ces deux paramètres.

Concernant la femme enceinte, la prise de digoxine est possible pendant la grossesse, pour traiter notamment les tachyarythmies fœtales[89] telles que les tachycardies supraventriculaires et le flutter atrial, qui concernent environ 1% des grossesses, mais également les troubles du rythmes chez la femme enceinte. Selon une étude sur la pharmacocinétique de la digoxine chez la femme enceinte[90], la clairance rénale de la digoxine est augmentée, ce qui correspond avec l'augmentation physiologique de clairance de la créatinine lors de la grossesse. Les auteurs de l'étude s'attendaient logiquement à voir une diminution de la digoxinémie, mais c'est le contraire qui a été constaté. Ce paradoxe est expliqué par les auteurs par une possible augmentation de la biodisponibilité de la digoxine pendant la grossesse. En effet, le cycle de la digestion est ralenti chez la femme enceinte, dû à une augmentation de la progestérone. Le temps de transit se retrouve allongé, augmentant ainsi le temps de contact de la digoxine avec les intestins, améliorant ainsi son absorption et sa biodisponibilité. De plus, avec la grossesse est retrouvée une meilleure perfusion au niveau de la circulation sanguine intestinale, ce qui complète les résultats montrant une augmentation de la digoxinémie pendant la grossesse. Malgré cela, c'est la digoxine qui reste la molécule de première ligne recommandée pour traiter les troubles du rythme du fœtus, selon un essai multicentrique mené publié dans le *Journal of the American College of Cardiology* en 2019[91]. La digoxine peut être utilisée seule, ou si cela n'est pas suffisant, peut être associée au flécaïnide ou au sotalol. Les digoxinémies montrant une plus grande sécurité d'utilisation de la digoxine, se trouvaient entre 1 et 2 ng/mL de sang maternel, et ne dépassaient pas les 1,5 ng/mL dans le sang du cordon ombilical. La digoxine a donc une place de choix dans le traitement des tachycardies fœtales. D'autre part, la digoxine doit être poursuivie par les femmes lors de la découverte d'une grossesse, quand elles sont déjà traitées pour une insuffisance cardiaque ou une fibrillation atriale. Il n'y pas de risque pour le fœtus, qui au contraire serait exposé à des évènements graves dans le cas où la digoxine serait suspendue. Dans ce cas, la mère présenterait une décompensation d'une des pathologies cardiaques pour laquelle elle était traitée par la digoxine.

Enfin, selon un état de l'art réalisé par des cardiologues américains publié en 2019 dans le *Journal of the American College of Cardiology*[92], sur l'utilisation de médicaments cardiovasculaires pendant la grossesse et l'allaitement, la digoxine est utilisable sans risques pendant la grossesse et il n'y pas d'effets tératogènes connus et reportés chez l'espèce humaine. Le seul effet reporté est un faible poids à la naissance. L'exposition à la digoxine par le lait maternel est faible selon des mesures réalisées dans le lait de femmes prenant de la digoxine et dans le sang des nourrissons qui en consomment, selon la base de donnée LactMed de l'Institut National de la Santé américain (*National Institutes of Health*, NIH)[93]. La digoxine passe faiblement dans le lait, à tel point que certaines mesures montrent des niveaux de digoxine indétectables dans le lait, ou très faibles, de l'ordre de 1 ng/mL. Dans le sérum des enfants qui sont nourris au lait maternel de leur mère prenant 0,250 mg de digoxine par jour pendant 10 jours, la digoxine était présente à des concentrations inférieures à 0,1 ng/mL, considérées comme indétectables. Aucun des enfants de l'étude n'ont été victimes d'effets indésirables. La digoxine est donc utilisable pendant la grossesse et l'allaitement, avec une surveillance stricte et régulière de la digoxinémie. Le pharmacien doit donc rassurer les patientes sur l'absence de risques tératogènes, lors de la prise de digoxine, que ce soit avant ou pendant la grossesse, et l'absence de toxicité aux doses thérapeutiques habituelles, sous couvert d'une surveillance régulière et d'une absence d'interactions médicamenteuses.

5. Suivi biologique

Le dosage de la digoxinémie doit être réalisé à l'équilibre, soit au bout de 6 jours après l'initiation du traitement par la digoxine, car sa demi-vie est longue, 36 heures, et l'état d'équilibre est généralement atteint au bout de 3,3 demi-vies, ce qui correspond à environ 6 jours. Il est nécessaire d'atteindre l'état d'équilibre avant de mesurer la digoxinémie, car si on s'appuie sur une mesure qui ne reflète pas la concentration stable de la digoxine dans le sang, il y a un risque de toxicité, car on va augmenter la posologie de la digoxine pour atteindre la zone thérapeutique souhaitée, qui se situe entre 0,50 ng/mL et 1,2 à ng/mL de sang, selon le Résumé Caractéristique du Produit. La digoxinémie réalisée à l'initiation du traitement permet d'ajuster les posologies jusqu'à atteindre la zone thérapeutique, en utilisant les différentes présentations disponibles : 0,250 mg, et 0,125 mg qui peuvent être divisés en 2 fois 0,0625mg. La digoxinémie de contrôle doit être réalisée une fois par an, s'il n'y pas de changements de posologie, ou d'ajout de médicaments susceptibles de modifier cette digoxinémie, que ce soit par interaction ou par modification de la kaliémie, de la calcémie ou de l'état rénal. La digoxinémie est un outil essentiel pour s'assurer d'éviter la zone toxique et de rester dans la marge thérapeutique qui demeure étroite, et ainsi obtenir une efficacité optimale. Il s'avère nécessaire de la mesurer au moindre doute sur une possible modification de la digoxinémie.
Afin d'apprécier l'état rénal, il est utile d'effectuer la mesure du débit de filtration glomérulaire, ainsi que la clairance de la créatinine. Ces deux paramètres guideront l'adaptation de la posologie de la digoxine afin d'éviter toute intoxication. Selon Bauman et al[(94)], qui ont déterminé par plusieurs méthodes de calcul, notamment algorithmiques en prenant en compte la biodisponibilité, les intervalles de doses, ainsi que les poids et la fonction rénale, il a été établi des posologies à suivre selon la clairance de la créatinine selon la formule de Cockcroft et Gault :

- Pour une clairance supérieure à 120 mL/min : 0,250 mg par jour,
- Pour une clairance comprise entre 80 et 120 mL/min : Commencer par 0,250 mg par jour et poursuivre chaque jour avec 0,125 mg,
- Pour une clairance comprise entre 30 et 80 mL/min : 0,125 mg par jour,
- Pour une clairance inférieure à 30 mL/min : 0,125 mg un jour sur deux.

La kaliémie doit également être suivie, car comme nous l'avons signalé précédemment, toute hypokaliémie majore la toxicité des hétérosides cardiotoniques. La kaliémie est un dosage réalisé dans les ionogrammes en routine : il est donc simple de le suivre quotidiennement à l'hôpital et de détecter toute hypokaliémie, mais aussi les hyperkaliémies qui peuvent être le signe premier d'un surdosage en digoxine.
Le suivi biologique peut facilement être réalisé par les pharmaciens hospitaliers, qui peuvent consulter les résultats des analyses directement dans les dossiers des patients hospitalisés. De même, ils peuvent facilement demander aux médecins hospitaliers la prescription de digoxinémie Concernant l'officine, le pharmacien peut demander aux patients s'ils sont en possession de leurs dernières analyses biologiques, afin de pouvoir évaluer les posologies. Cela va bientôt être plus simple de consulter les dernières analyses biologiques des patients à l'officine avec le déploiement prochain de l'application « Mon Espace Santé » par l'Assurance Maladie, qui permettra de prendre connaissance de toutes les analyses biologiques des patients, et donc d'alerter le prescripteur en cas de facteurs de risques de surdosage comme une altération de la fonction rénale, une hyperkaliémie ou une hymermagnésémie[(95)].

6. Cas d'une intervention pharmaceutique au CHU de Poitiers en janvier 2023

Lors de mon stage d'externat au CHU de Poitiers dans le service de gériatrie, j'ai eu l'occasion d'effectuer une intervention pharmaceutique, en demandant un dosage de la digoxinémie chez une patiente, en soupçonnant un début d'intoxication.

Mme C.J, pesant 44 kg et mesurant 1m52, âgée de 83 ans, avec l'ordonnance suivante :

Apixaban 2.5 mg : 1 comprimé matin et soir
Hémigoxine 0,125 mg : 1 comprimé par jour
Bisoprolol 2.5 mg : 1 comprimé le matin
Paracétamol 500 mg gélule : 1 gélule matin, midi et soir si besoin
Morphine 5 mg : 1 à 6 gélules par jour, toutes les 4h si besoin
Métoclopramide 10 mg : 1 à 3 comprimés toutes les 4 h si besoin
Macrogol 3350 : 1 sachet matin + 1 sachet dans la journée si besoin

La patiente est hospitalisée en gériatrie au CHU de Poitiers le 12 janvier 2023 pour une chute à domicile avec une fracture du col du fémur. Une intervention avec pose de clou gamma est prévue le 15/01/2023. La patiente a comme antécédents une fibrillation atriale découverte en 2020 sur un épisode de décompensation cardiaque. Une anticoagulation par Apixaban 2.5 mg à raison d'un comprimé le matin et le soir pour la prévention des AVC et embolie systémique chez patients adultes avec fibrillation atriale non valvulaire. Ici la posologie a bien été adaptée à 2.5 mg en 2 prises au lieu de 5 mg 2 fois par jour, car la patiente présentait 2 facteurs de risques : un âge supérieur à 80 ans ainsi qu'un poids inférieur à 60 kg.
Suite à son opération, un relai de l'Apixaban par la Tinzaparine a été décidé, à la posologie de 12 000 UI par jour.
Concernant le traitement de la fibrillation atriale, la patiente suit un traitement à visée bradycardisante par un bétabloquant, le Bisoprolol à la posologie de 2,5 mg le matin. Elle est également traitée par l'Hémigoxine NATIVELLE 0,125 mg, à la posologie de 1 comprimé par jour. En traitement antalgique, il lui a été prescrit du Paracétamol à la posologie de 1 gélule de 500 mg par prise toutes les 6 h. Ici on remarque que la posologie a bien été adaptée au poids de la patiente. On lui a également prescrit un morphinique, l'ACTISKENAN, à la posologie de 5 mg, 1 à 6 gélules à prendre toutes les 4 h en fonction de la douleur liée à sa fracture et à son opération. Pour contrecarrer les effets émétiques et la constipation induits par les morphiniques, du Métoclopramide a été prescrit à la posologie de 1 comprimé de 10 mg par prise toutes les 4 h si besoin, en ne dépassant pas 30 mg par jour. Un laxatif a donc été prescrit, le Macrogol 3350. Lors de mon stage, j'analysais tous les jours les traitements des patients et les analyses biologiques. Chez cette patiente, j'ai remarqué son faible poids, et je suis allé vérifier sa créatinine qui était de 138 µmol/L le 17/01. Grâce à son poids et sa taille, j'ai pu calculer son Débit de Filtration Glomérulaire qui était de seulement 24,17 mL/min. La patiente était donc en insuffisance rénale sévère. J'ai vérifié la kaliémie de la patiente, et elle était de 5,6 mmol/L le 17/01, et elle était élevée depuis quelques jours. La patiente était donc en hyperkaliémie, signe d'un probable surdosage. J'ai exposé toutes ces informations au pharmacien responsable de la gériatrie lors de son passage, en lui proposant de demander un dosage de la digoxinémie, car depuis le début de son hospitalisation, aucun dosage n'a été réalisé. Le pharmacien a donc réalisé une intervention pharmaceutique en demandant ce dosage. Le lendemain, la digoxinémie a été mesurée à 1,52 ng/mL. Il y avait donc un surdosage en digoxine, car on rappelle que la marge thérapeutique de la digoxine est située entre 0,50 ng/mL et 1,20 ng/mL. La digoxine a donc été suspendue le jour même, et la patiente a été étroitement surveillée au niveau de son rythme cardiaque.

Aucune anomalie n'a été détectée, et devant l'absence d'aggravation et un dosage néanmoins inférieur à 2 ng/mL, l'utilisation de l'antidote de la digoxine, le DIGIFAB®, contenant des anticorps monoclonaux n'a pas été jugée nécessaire. Le reste du traitement a été poursuivi.

La digoxine est donc un traitement encore utilisé et efficace, mais requérant la plus grande attention des prescripteurs ainsi que du pharmacien, qui dispose de connaissances solides comme celles des interactions, des contre-indications, et de la nécessité de suivre les dosages de la digoxinémie, de la kaliémie et du débit de filtration glomérulaire régulièrement pour prévenir toute toxicité.

III. Toxicologie

Dans cette thèse nous ne nous attarderons pas outre mesure sur les intoxications aux hétérosides cardiotoniques, qui ont été développées à de nombreuses reprises dans différents travaux. Nous rappellerons brièvement les circonstances d'intoxications, la physiopathologie, la prise en charge et nous présenterons un cas d'intoxication survenu récemment et pris en charge au CHU de Poitiers.

A. Circonstances d'intoxications

1. Volontaires

Les intoxications volontaires par ingestion d'hétérosides cardiotoniques restent rares. Peu d'informations sont accessibles sur internet. Selon la Direction de la Recherche, des Études, de l'Évaluation et des Statistiques (DRESS) et l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), sur les 8986 suicides survenus en 2020 en France, 11% ont été réalisés par intoxications médicamenteuses volontaires, et sur ces environ 1000 suicides par les médicaments, 2,6% concernent des médicaments cardiotropes, sans précisions sur la part des digitaliques dans ces données. On peut donc affirmer que les hétérosides cardiotoniques médicamenteux sont très peu utilisés comme moyen de suicide. Concernant les intoxications volontaires par des drogues végétales à hétérosides cardiotoniques, les statistiques sont indisponibles, mais la majorité des cas[96] reportés sur le moteur de recherche *PubMed*, concernent l'utilisation de *Nerium oleander*, ou laurier rose. Cela doit s'expliquer par la relative facilité à se procurer du laurier rose, car cette plante ornementale est retrouvée dans de nombreux jardins, qu'ils soient privés ou dans l'espace publique, car ses conditions de vie sont peu exigeantes. D'autres plantes à hétérosides cardiotoniques, comme la digitale, sont peu répandues dans les jardins et le commerce, car elles présentent des conditions de vie plus difficiles. Dans la nature, elle est peu accessible car elle se rencontre dans les sous-bois et les forêts. Nous étudierons dans cette troisième partie un cas d'intoxication volontaire par des feuilles de laurier rose.

2. Involontaires

Les données pour le nombre d'hospitalisation pour surdosage involontaire en digoxine sont indisponibles. Cependant, l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail (ANSES), a publié via son bulletin de toxicovigilance « Vigil'Anses » numéro 8 des statistiques sur les intoxications involontaires à partir de plantes. Sur 814 intoxications graves reportées aux centres antipoison en France entre 2012 et 2018, 17

concernent la prise de digitale, 10 la prise de muguet, et 36 la prise de laurier rose, ce qui représente 63 cas d'intoxications graves par des plantes à hétérosides cardiotoniques. Cela signifie que 7,7% des intoxications involontaires graves par les plantes sont dues à la prise de plantes contenant des hétérosides cardiotoniques. Ces intoxications involontaires sont dues à des confusions entre des plantes comestibles et des plantes toxiques. On peut citer la recherche de feuilles de *Symphytum officinale* L, la grande consoude pour en faire des tisanes anti-inflammatoires, ainsi que la recherche des feuilles de *Borago officinalis* L, pour une utilisation en tisanes diurétiques, anti-inflammatoires ou encore expectorantes. Enfin, *Versbascum thapsus* L, le molène bouillon-blanc est une plante également recherchée pour ses feuilles utilisées en tisanes expectorantes, et pour soulager la toux sèche. Ces trois plantes peuvent être confondues avec la digitale, notamment avec ses feuilles.
En effet, lorsque ces plantes sont fleuries, le risque de confusion est presque nul : les fleurs de digitales sont particulières par leurs motifs tachetés et leur forme digitée. Seule la couleur pourpre des fleurs de digitale et des fleurs de la grande consoude se rapprochent, mais leurs tailles et leurs dispositions diffèrent. En ce qui concerne les fleurs de la bourrache, elles sont bleues, petites et étoilées, tandis que celles du molène bouillon-blanc sont jaunes. Les confusions sont donc possibles lorsque ces plantes sont dépourvues de leurs fleurs. Les feuilles sont très ressemblantes (Fig. 57), car elles possèdent toutes des nervures sur la face inférieure, sont toutes gaufrées et tomenteuses. De plus les teintes sont similaires ainsi que les formes, lancéolées. Notons de faibles différences avec la digitale, avec des feuilles légèrement plus étroites pour la consoude, et avec un grand pétiole. Par contre, les feuilles de consoude sont dures et désagréables au toucher, alors que les feuilles de digitales (Fig. 59) sont douces.

Figure 57 : De gauche à droite : Feuilles comestibles de consoude, de bourrache et de bouillon blanc, photos libres de droits.

Concernant la bourrache, les feuilles sont plus aériennes que pour la digitale et elles sont découpées de manière plus franche. Enfin pour le bouillon blanc, les feuilles sont beaucoup plus grosses que celles de la digitale, et accompagnent l'ensemble de la hampe florale. Les confusions proviennent du cycle végétatif particulier de la digitale qui la rend bisannuelle avec une absence de fleurs lors de la première année, avec uniquement une rosette de feuilles. Ces 4 plantes sont rencontrées aux mêmes périodes de l'année, au printemps. Notons enfin que le bouillon blanc est une plante bisannuelle également, ce qui n'aide pas à l'identification. Le fait de rencontrer ces 4 plantes sans fleurs, les rendent donc plus difficiles à distinguer. Une autre confusion est possible avec *Allium ursinum* L, l'ail des ours, qui peut être confondu avec le muguet. L'ail des ours est recherché pour être utilisé comme condiment, dans des salades par exemple. Encore une fois, les confusions sont possibles uniquement quand les deux plantes sont dépourvues de leur appareil reproducteur, car les fleurs de l'ail des ours sont bien différentes de celles du muguet en clochettes ; elles sont ici étoilées et en ombelles. Leurs grandes feuilles vertes, ainsi que leur propension à former des colonies dans les sous-bois, associé à un mode de vie similaire rend les intoxications fréquentes.

En cas de doute, il vaut mieux demander l'avis de son pharmacien, qui a été formé à la reconnaissance de plantes, notamment toxiques. Enfin, il vaut mieux éviter de faire confiance aux applications de reconnaissance de plantes car ces dernières sont parfois imprécises et commettent des erreurs.

B. Physiopathologie

1. Signes physiques[97]

Les intoxications aux hétérosides cardiotoniques provoquent une amplification du mécanisme d'action aux doses thérapeutiques. Par inhibition complète de la pompe ATPase Na^+/K^+, l'effet inotrope positif est augmenté, ce qui augmente la force de contraction, tout comme l'effet bathmotrope positif, qui augmente l'excitabilité. De plus la fréquence cardiaque est fortement ralentie, par effet chronotrope négatif, ainsi que la conduction, par effet dromotrope négatif.

Figure 58 : Feuilles de digitale pourpre mortelles, *par E. Lafforgue*

On peut donc se retrouver à avoir un blocage complet de la conduction, avec un bloc auriculo-ventriculaire pouvant conduire à un arrêt cardiaque. Pour compenser, une tachycardie dite « réflexe » des ventricules peut survenir, aboutissant à une fibrillation ventriculaire responsable de deux tiers des décès. Les décès sont également dus à des asystolies, où le cœur ne présente plus aucunes contractions, ni activité électrique, par arrêt total de la conduction. L'effet toxique principal des digitaliques est donc l'arythmie cardiaque, d'abord par la bradycardie atriale, puis par la tachycardie ventriculaire, qui surviennent environ 3 à 6 heures après la prise de digoxine à dose toxique. Des effets extracardiaques sont également présents, comme cités précédemment dans les effets indésirables, avec des troubles digestifs comme premiers effets retrouvés lors des intoxications avec des nausées, vomissement et diarrhées, des troubles visuels à type dyschromatopsie jaune-vert, diplopie et photophobie et des troubles neurologiques comme des hallucinations, des céphalées et des malaises.

2. Signes biologiques[97]

Plusieurs signes biologiques sont retrouvés lors d'intoxication aux digitaliques. D'abord à l'ECG, où l'imprégnation digitalique reflétée par une « cupule » caractéristique d'une prise de

digoxine à dose thérapeutique, représentant le segment ST, laisse place à une dépression franche et sur une plus grande durée du segment ST avec une onde T isoélectrique lors d'intoxications.

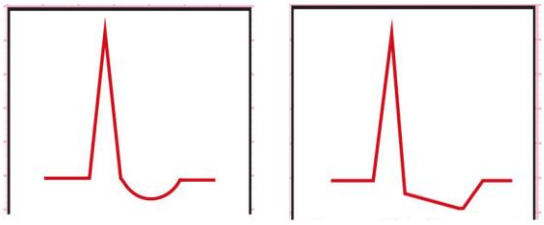

Figure 59 : ECG montrant une imprégnation aux digitaliques à dose thérapeutique à gauche, et intoxication aux digitaliques à droite.

Les tracés ECG (Fig. 59) permettent de comparer le segment ST à doses thérapeutiques et toxiques. Il est évident que les manifestations toxiques comme les asystolies ou les fibrillations ventriculaires donnent des tracés spécifiques à l'ECG et sont témoins d'une toxicité.
Une autre anomalie biologique remarquée est l'hyperkaliémie (kaliémie au-dessus de 5 mmol/L) provoquée par la sortie excessive du potassium du milieu intracellulaire vers le milieu extracellulaire par l'inhibition totale de la pompe ATPase. L'hyperkaliémie est donc systématiquement associée dans un contexte de prise d'hétérosides cardiotoniques à une intoxication par ces derniers. Enfin, la mesure de la digoxinémie est essentielle et permettra d'évaluer la gravité de l'intoxication, et guidera l'usage de l'antidote. Pour rappel, une digoxinémie supérieure à 1,50 ng/mL commence à refléter un léger surdosage, et c'est à partir de 2 ng/mL qu'on parle réellement d'intoxication, selon les travaux menés par Smith et al[98].

C. Prise en charge[97,99]

1. Traitements évacuateurs et chélateurs

Les traitements évacuateurs comme le lavage gastrique sont peu utilisés aujourd'hui, car c'est un traitement très traumatisant pour les patients et peu efficace, voire délétère. En effet, le lavage gastrique augmente le tonus vagal, ce qui peut aggraver les arythmies déjà présentes lors de l'intoxication. De même, la prise de sirop contenant de l'Ipeca, qui est une plante contenant des actifs émétiques, n'est pas recommandée non plus pour la même raison. La diurèse forcée n'est pas recommandée, car il n'a pas été montré une augmentation de la clairance rénale de la digoxine, et cela peut même augmenter les troubles électrolytiques, à savoir l'hyperkaliémie. Enfin, la dialyse ne montre qu'une légère amélioration de la clairance de la digoxine, car celle-ci est fortement liée aux tissus, via son grand volume de distribution. L'apparition des anticorps anti-digitaliques ont rendu inutiles les traitements évacuateurs par leur grande efficacité.
Des traitements chélateurs à base de charbon actif et de cholestyramine, une résine échangeuse d'ions, ont longtemps été recommandés afin de lier la digoxine dans le système digestif et ainsi empêcher son absorption. De cette manière, l'élimination gastro-intestinale de la digoxine est augmentée, grâce à la diffusion passive et au recyclage de la digoxine par cycle entéro-hépatique, les intestins agissant alors comme une membrane de dialyse capturant la digoxine. Le charbon semble plus efficace que la cholestyramine, surtout pour les intoxications massives. Ces thérapies chélatrices sont surtout employées pour les intoxications ne menaçant pas le pronostic vital, et doivent être administrées rapidement. Encore une fois, les anticorps monoclonaux ont pris le dessus sur ces thérapies.

2. Correction des anomalies biologiques

L'hyperkaliémie est toujours rencontrée lors d'intoxications, donc celle-ci doit être corrigée au plus vite, en utilisant du bicarbonate de sodium. En effet, par le blocage complet de la pompe ATPase, le potassium est éjecté dans le milieu extracellulaire au niveau des cardiomyocytes. Or, le potassium étant cardiotoxique, une augmentation de sa valeur est donc un facteur aggravant l'intoxication. Il est également possible de faire rentrer le potassium extracellulaire en intracellulaire en administrant de l'insuline et du glucose. Il est cependant nécessaire de mesurer la kaliémie tout au long de la prise en charge car les traitements hypokaliémiants peuvent faire diminuer trop fortement la kaliémie. La magnésémie doit également être évaluée et corrigée car une hypomagnésémie diminue l'activité de l'ATPase, qui est déjà inhibée par la digoxine[95].

3. Traitement des troubles cardiaques

Plusieurs traitements sont envisageables pour résoudre les troubles cardiaques. Notons par exemple l'utilisation d'anti-arythmiques comme la lidocaïne et la phénytoïne pour traiter les fibrillations ventriculaires réflexes induites par un ralentissement extrême de la conduction provoquée par un surdosage en digoxine. En cas de bloc auriculo-ventriculaire, ou la conduction est interrompue, c'est l'atropine qui est utilisée pour accélérer et rétablir la conduction dans le nœud atrio-ventriculaire. Enfin une dernière méthode visant à corriger les troubles du rythmes est la pose d'une sonde de type pacemaker à travers la veine jugulaire pour corriger une bradycardie excessive ou un bloc auriculo-ventriculaire résistants à l'atropine, comme cela a été le cas dans le cas d'une intoxication volontaire à visée suicidaire par des feuilles de digitale pourpre chez une jeune femme de 27 ans en Croatie[100]. Mais l'insertion de cette sonde doit être faite avec précaution car elle peut provoquer, au contraire de la bradycardie à corriger, une arythmie ventriculaire potentiellement mortelle. L'insertion s'accompagnera alors de lidocaïne[101]. Les troubles cardiaques doivent absolument être corrigés car ce sont eux qui provoquent le décès du patient, que ce soit par bloc auriculo-ventriculaire ou par fibrillation ventriculaire.
Nous allons voir que ces troubles sont corrigés par l'administration d'un antidote, et que les traitements précédemment cités sont administrés en attente de cet antidote.

4. L'antidote des digitaliques : le DIGIFAB®

L'utilisation des anticorps monoclonaux dans les intoxications aux digitaliques date de 1976. Le principe est d'utiliser des fractions Fab, qui correspondent à la fraction variable des anticorps, obtenus en clivant la partie constante via la papaïne. Avant d'obtenir les fragments Fab, il est nécessaire de produire des anticorps anti-digoxine. Pour ce faire, Curd et al[102] rapportent que pour créer des anticorps anti-digoxine, il est administré aux moutons chaque semaine pendant 20 semaines par voie intramusculaire du sérum humain contenant de la digoxine conjuguée avec de l'albumine. Ce mélange est également émulsionné avec l'adjuvant complet de Freund, qui contient des huiles minérales et le bacille de Koch tué, c'est-à-dire la mycobactérie responsable de la tuberculose, pour augmenter la réaction immunitaire et donc la sécrétion d'anticorps par le système immunitaire. Au bout des 20 semaines d'injection, on prélève 250 mL de sang de mouton, où l'on séparera le sérum que l'on stockera à -20°C. Après de nombreuses opérations de dilutions, de modification de pH, d'adjonction de divers composés comme de la ribonucléase pancréatique bovine, et de l'ouabaïne, un hétéroside cardiotonique, une immunoadsorption est ainsi possible, via la méthode immuno-enzymatique ELISA, permettant alors d'identifier les anticorps anti-digoxine.

Il est ensuite procédé à la purification et la séparation des anticorps, pour obtenir uniquement les anticorps anti-digitaliques, par chromatographie. Le clivage par la papaïne destiné à séparer les fractions variables Fab de la fraction constante vise à réduire l'immunogénicité et ainsi l'apparition de réactions allergiques, à augmenter la distribution des anticorps au niveau extravasculaire, et enfin à augmenter l'élimination, via l'amélioration de la clairance rénale et de la filtration glomérulaire et donc l'élimination rénale. L'affinité de la digoxine est plus grande pour les anticorps monoclonaux que pour la pompe ATPase. Les anticorps séquestrent alors rapidement la digoxine dans le sang et les fluides interstitiels, ce qui réduit la présence de digoxine dans le milieu intracellulaire, réduisant alors les symptômes d'intoxication. Ces anticorps sont précieux dans la prise en charge des surdosages, car ils empêchent la fixation de digoxine sur leurs récepteurs, et permettent également de déplacer la digoxine déjà fixée. Leur demi-vie est comprise entre 20 et 30 heures, et leur élimination est rénale, donc dépendant de l'état rénal des patients. Aujourd'hui l'antidote est fabriqué en Angleterre par le laboratoire Protherics UK Ltd détenu par l'industrie pharmaceutique SERB Pharmaceuticals, et est utilisé partout dans le monde. C'est le seul antidote désormais disponible dans le monde, après l'arrêt de commercialisation du DIGIDOT® et DIGIBIND®. Les patients présentant un état rénal altéré élimineront donc moins bien le complexe anticorps-digoxine. L'action est rapide, en quelques minutes. L'efficacité complète est obtenue dans les 4 heures suivant la prise de l'antidote, avec disparition des symptômes d'intoxication. Des réactions allergiques sont possibles, à cause de la présence de protéine de mouton. Il est recommandé, avant l'injection, de procéder en une instillation oculaire de ces anticorps pour évaluer la survenue d'une potentielle réaction allergique, mais en pratique, cela est rarement fait puisque l'on se trouve dans une urgence vitale, et l'administration des anticorps et le seul moyen de lever l'intoxication. De plus, aucun choc anaphylactique n'a jamais été rapporté. D'autre part, chez les patients traités au long cours par les digitaliques, il a été rapporté une aggravation de leurs maladies cardiaques pour lesquelles ils étaient traités par la digoxine, à savoir une décompensation cardiaque dans le cas de l'insuffisance cardiaque et l'apparition de troubles du rythme dans le cas de fibrillation atriale. Enfin une hypokaliémie peut survenir par le retrait brutal de la digoxine de ses récepteurs, avec une réentrée du potassium en intracellulaire. Un rebond de toxicité est possible si les doses employées sont insuffisantes. Pour déterminer la posologie adéquate d'antidote, il faut savoir qu'un flacon contient 40 mg de fragments Fab neutralisant 0,5 mg de digoxine. Il suffit de se reporter au RCP du DIGIFAB® pour calculer les doses à administrer :

- L'administration de 20 flacons est nécessaire si la dose ingérée de digoxine est inconnue, lors d'une intoxication aigue,

- L'administration de 6 flacons est nécessaire si la dose ingérée de digoxine est inconnue, lors d'une intoxication chronique,

- En cas d'intoxication aigue à la digoxine à des doses connues, il faut diviser la dose totale en mg de digoxine prise par 0,5. Cela donnera le nombre de flacon à administrer puisqu'un flacon neutralise 0,5 mg de digoxine,

- En cas d'intoxication à la digoxine, avec une digoxinémie connue, il faut multiplier la digoxinémie en ng/mL par le poids en kg, et diviser l'ensemble par 100. La formule donnera le nombre de flacons à administrer. Par exemple, pour un patient de 80 kg avec une digoxinémie de 8 ng/mL, il faudra 7 flacons.

- Pour les enfants de moins de 20 kg, en cas de dose inconnue on administrera un flacon, et si la digoxinémie est connue, on pourra appliquer la même formule que les adultes, mais le nombre de flacon obtenu sera multiplié par 40 mg, ce qui correspond à la quantité d'anticorps par flacon. On obtiendra alors la dose à administrer en mg.

Cette dernière sera ajustée au mg, car on aura pris le soin de reconstituer les flacons avec 36 mL de chlorure de sodium, ce qui permettra d'avoir une concentration de 1 mg/mL. La seringue à tuberculine sera alors utilisée pour réaliser les injections, car elle peut injecter jusque 1 mL, correspondant ici à 1 mg.

En ce qui concerne l'administration, il faut reconstituer au préalable le flacon en ajoutant 4 mL d'eau stérile ou eau pour préparation injectable, ce qui permettra d'obtenir une concentration de 10 mg/mL. C'est pour cette raison que l'on doit procéder différemment dans le cas des enfants, car ces derniers nécessitent souvent des doses inférieures à 10 mg, parfois moins de 5 mg, il sera donc plus précis d'utiliser la seringue à tuberculine.
Avant utilisation, le flacon (Fig. 60) doit être détenu dans un environnement avec une température comprise entre 2 et 8 C°. Seules les pharmacies à usage intérieur (PUI) peuvent détenir le DIGIFAB®. Le flacon peut être utilisé dans les 4 heures après reconstitution, car il n'y a pas de conservateurs. Pour réduire les réactions allergiques, il est nécessaire d'effectuer une perfusion en intraveineuse lente sur 30 minutes. Mais en cas d'urgence absolue, une injection en bolus est possible. Il est important de noter que les concentrations en digoxine, après administration de l'antidote, ne reflètent pas la réelle digoxinémie, car le DIGIFAB® va venir retirer la digoxine fixée en intracellulaire, et va la séquestrer dans le plasma. La digoxinémie après injection de l'antidote va donc monter en flèche, jusqu'à 30 fois la digoxinémie avant la prise d'antidote. Enfin précisons que cet antidote est très couteux puisque ce dernier coute plusieurs centaines d'euros par flacon. Pour lever l'intoxication, il est fréquent d'utiliser au moins 20 flacons, correspondant à la posologie à utiliser en cas d'intoxication à une dose inconnue. Cela représente un coût de plusieurs milliers d'euros pour un patient intoxiqué. Le prix élevé explique que seulement certaines PUI détiennent cet antidote, d'autant plus que les intoxications ne sont pas fréquentes.

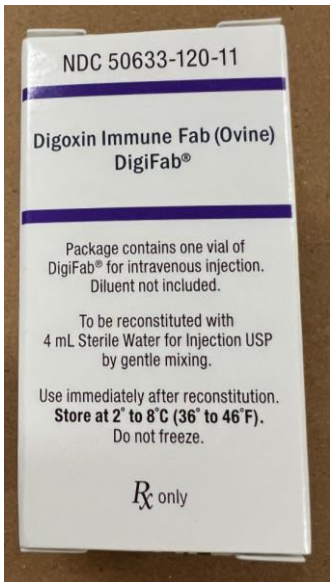

Figure 60 : DIGIFAB détenu à la PUI du CHU de Poitiers, *par E. Lafforgue*

D. Présentation d'un cas d'intoxication volontaire à *Nerium oleander* survenue au CHU de Poitiers en février 2023

1. Circonstances

Le patient est Monsieur C, âgé de 50 ans, pesant 95 kg et mesurant 183 cm, ce qui donne un indice de masse corporelle (IMC) de 28,4 kg/m^2, indiquant que le patient est en surpoids. Il ne présente pas de traitements, et n'a pas de maladie psychiatrique. Il a comme antécédents une sleeve en 2014 pour réduire sa surcharge pondérale, et a connu des gastrites traitées par l'ompéprazole. Au niveau professionnel, il est patrouilleur sur les autoroutes. Il vit avec sa femme et ses deux filles. Il présente une consommation d'alcool occasionnelle, et ne présente pas d'addictions. Le patient apprend 15 jours avant son passage à l'acte le décès de sa belle-mère. Une semaine plus tard, son épouse lui annonce qu'elle va être licenciée par son employeur, car elle a détourné une importante somme d'argent, et ce pendant 2 ans. Le patient présentera alors une anxiété avec des baisses de moral. Il présentera des idées suicidaires en scénarisant son suicide par ingestion de plantes toxiques. Il parlera de son projet à sa femme et à ses amis. Il sera amené aux urgences le 18/02 pour une alcoolisation massive. Le 21/02, il préparera une tisane à l'aide de 50 feuilles de *Nerium oleander* provenant de son propre jardin. Il boira 2 verres entiers. C'est sa fille qui le découvrira et appellera les urgences. Aux médecins qui le prendront en charge, il expliquera avoir choisi cette plante et cette quantité de feuilles, car il possédait de bonnes connaissances en botanique, et voulait « être sûr de mourir ».

2. Prise en charge de l'intoxication

C'est le SMUR, structure mobile d'urgence et réanimation de Saintes qui est envoyé au domicile du patient. L'appel de la fille aura lieu à 22h10, et l'équipe médicale arrivera à 22h29 sur les lieux. Le médecin relèvera les informations auprès du patient lui-même et de ses proches. Il apprend que le patient a donc pris une décoction de 50 feuilles de laurier rose à 14 heures, soit 8 heures et demie avant l'arrivée des secours. Il a présenté des vomissements, mais n'a pas de marbrures, ni de foyers lors de l'auscultation pulmonaire. Il présente cependant une bradycardie mesurée à 30 battements par minute. Le patient est conscient, avec un score de 14. Il présente des dyspnées, avec une sensation d'oppression thoracique, et présente une somnolence. Deux ECG sont réalisés : le premier ne montre pas de troubles de la repolarisation, mais le second réalisé à 23h36 montre une anomalie avec l'apparition d'une cupule typique d'une imprégnation en hétéroside cardiotonique, au niveau du segment ST (Fig. 61).

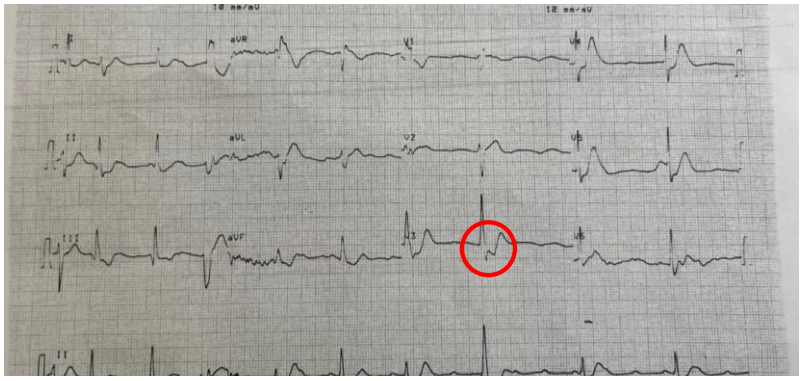

Figure 61 : ECG du patient montrant une cupule digitalique au niveau du segment ST

Associée à la bradycardie, le patient présente un bloc-auriculoventriculaire, un symptôme rencontré fréquemment car les hétérosides cardiotoniques à doses toxiques ralentissent la conduction. La tension artérielle mesurée est de 129/109, et la saturation en oxygène est de 97%. Le médecin posera des palettes de défibrillateurs, et il sera posé 2 voies veineuses périphériques pour administrer des traitements médicamenteux. Il lui sera administré du pantoprazole 40 mg, un IPP pour diminuer l'acidité gastrique causée par les vomissements. Une ampoule de métoclopramide, un antiémétique antagoniste de la dopamine, lui sera injecté pour lutter contre les vomissements. Du paracétamol 1 g lui sera également administré. Le patient sera ventilé de manière non invasive par un masque à oxygène. Une couverture de survie lui sera appliquée. Le médecin prendra contact avec le centre hospitalier de Saintes pour évaluer la prise en charge possible par le service réanimation. La décision est prise d'acheminer le patient en réanimation à Saintes, suite à l'avis du centre antipoison de Bordeaux pour lui administrer l'antidote DIGIFAB®. Pendant le transport, il lui est injecté de l'isoprénaline à un débit de 12 mL/h, un agoniste adrénergique, pour augmenter la fréquence cardiaque. L'objectif est d'atteindre une fréquence de 70 battements par minute, fréquence qui sera atteinte. Une hypokaliémie à 3,3 mmol/L est mesurée à la suite de l'arrivée en réanimation de Saintes. Le centre antipoison de Bordeaux recommande l'administration de 10 flacons de l'antidote, soit 400 mg. À la suite de l'injection, il y a un retour au rythme sinusal, avec la disparition de la confusion. Cependant, le patient présente toujours des accès de bloc auriculo-ventriculaire. Dans un contexte de déshydratation suite aux vomissements, il y a un risque de persistance de la toxicité, il est procédé au remplissage par 1000 ml de solution de Ringer, une solution de réhydratation comprenant des électrolytes, permettant de corriger également l'hypokaliémie. Suite à la persistance des blocs auriculo-ventriculaires, il est décidé de procéder une nouvelle fois à l'injection de 400 mg d'anticorps monoclonaux. Le problème est que le centre hospitalier de Saintes ne possède plus d'antidote, car les 10 flacons constituant les stocks ont été utilisés pour ce patient. Le patient sera alors transféré au CHU de Poitiers, qui possède un stock plus important d'antidote (15 flacons avant l'arrivée du patient), car c'est plus simple que de faire venir les antidotes à Saintes. Ce transfert est jugé doublement utile, car en cas de dégradation, le CHU de Poitiers pourra fournir une assistance circulatoire. Le patient arrivera au CHU de Poitiers à 3h21, où il est de nouveau ausculté. Il ne se plaint pas de douleur, mais présente toujours des nausées et un bloc auriculo-ventriculaire. La digoxinémie mesurée au CHU est de 1,38 ng/mL. L'isoprénaline est quant à elle majorée, et 10 autres flacons de DIGIFAB® sont ré-administrés, permettant l'arrêt de l'isoprénaline.

3. Évolution

Suite à l'administration de l'antidote, l'ECG est normalisé, les blocs auriculo-ventriculaires sont éliminés. La fonction rénale est normale et les nausées disparaissent. Le patient restera sous surveillance, et sera suivi au centre médico-psychiatrique de Poitiers, où un entretien sera mené avec un psychiatre. Le patient est calme et présente un discours cohérent. Il explique son geste par des ruminations anxieuses, à cause des actes de sa femme, craignant de perdre son logement, qu'il aurait rénové entièrement seul. Cette tentative de suicide a été préparée 1 semaine avant. Il dit ne pas avoir changé son mode de vie entre ce projet et la tentative, en continuant ses activités, le bricolage et le jardinage. Il critique son passage à l'acte, et ne présente plus d'idées noires ou suicidaires. Le patient parle de sa femme et de ses filles qu'il a vu tristes de son passage à l'acte. Il regrette ce geste, et assure que cela n'arrivera plus car « il l'a décidé » et « il va se battre ». Il ne veut pas être hospitalisé en psychiatrie, mais accepte d'être suivi au centre médico-psychiatrique. Le psychiatre ne requiert pas une hospitalisation sous contrainte. Le patient rentrera à son domicile.

4. Discussion

On constate que la prise en charge du patient a été rapide, mais qu'elle n'a pas impliqué les molécules traditionnellement utilisées pour traiter les troubles du rythme lors de l'intoxication aux hétérosides cardiotoniques, à savoir la lidocaïne et la phénytoïne. C'est l'isoprénaline qui a été choisie, mais elle a été efficace, car la fréquence est remontée de 30 battements par minute à 70. Concernant les symptômes, aucune hallucinations visuelles et dyschromatopsies jaune-vert n'ont été rapportées, pourtant typique de l'intoxication. Au niveau cardiaque, seule la bradycardie associée aux blocs auriculo-ventriculaires ont été présents. Enfin, des vomissements sont survenus. L'injection d'antidote a été efficace, et on notera une faible dotation dans les deux centres hospitaliers de Saintes et de Poitiers. En effet, on rappelle qu'en cas de dose inconnue d'hétérosides cardiotoniques, il est nécessaire d'injecter 20 flacons d'antidote. Dans les deux centres, cette valeur de dotation n'était pas atteinte. Mais après cette intoxication, le CHU de Poitiers a reconstitué sa dotation, et l'a portée à 20.
L'intoxication volontaire au laurier rose est très rare en Europe, mais un peu plus fréquente en Asie[103]. Précisons également que le dosage de la digoxinémie lors de l'intoxication par le laurier rose est plus complexe, les valeurs obtenues étant plus faibles[104], de par sa faible biodisponibilité. La dose mortelle d'oléandrine, la principale molécule présente dans le laurier rose est de 9 ng/mL[105]. Selon les différents cas d'intoxications reportés, il semblerait que l'ingestion de feuilles fraiches soit plus grave que l'ingestion d'une décoction des feuilles dans de l'eau. Cela s'explique par la faible solubilité des hétérosides cardiotoniques dans l'eau, ce dont témoigne l'extraction complexe de Nativelle faisant intervenir des réactifs comme l'acétate de plomb. Le patient du CHU de Poitiers a donc subi moins de toxicité, par sa prise d'une décoction au lieu de l'ingestion des feuilles directement. Notons également que les hétérosides cardiotoniques sont émétiques, ce qui a donc provoqué les vomissements chez ce patient.
Après avoir contacté le centre antipoison de Nouvelle-Aquitaine, situé à Bordeaux, nous apprenons que de 2018 à 2022, il y a eu 40 appels recensés et que 75% des intoxications aux médicaments contenant des digitaliques sont volontaires, lors de tentatives de suicide et que le reste des intoxications aux médicaments contenant des digitaliques sont donc accidentelles. La moyenne d'âge des patients intoxiqués est de 80 ans, ce qui est plutôt logique car la population âgée est la plus susceptible de présenter des surdosages aux digitaliques, de par leur fonction rénale altérée, et par les nombreux médicaments pris en plus de la digoxine, capables de créer des interactions. Ces nombreux médicaments peuvent créer des confusions supplémentaires, notamment chez des patients atteints de maladies neurodégénératives pouvant alors provoquer des prises multiples de digoxine, conduisant à l'intoxication. La moitié des intoxications rapportées sont graves, et il y a eu 3 décès, à la suite d'intoxications iatrogènes involontaires à chaque fois. Rappelons que ces données ne reflètent que les informations portées à la connaissance du centre antipoison de Bordeaux, et ne concernent que la région Nouvelle-Aquitaine, et ce sur 5 ans. Les intoxications graves aux hétérosides cardiotoniques sont le plus souvent d'origine iatrogène et sont donc involontaires. Les intoxications accidentelles par confusion sont néanmoins possibles, avec la tendance au retour à la nature, avec des patients souhaitant se soigner eux-mêmes en récoltant des plantes. Les autolyses sont assez rares mais peuvent survenir. D'une manière générale, ces intoxications via les végétaux peuvent être plus complexes à traiter car beaucoup de paramètres influent sur la quantité d'hétérosides cardiotoniques ingérés : la plante consommée qui contient plus ou moins de composés, la digitale laineuse étant l'espèce en contenant le plus, la saison qui modifie la quantité d'hétérosides dans les végétaux, la manière dont les hétérosides cardiotoniques sont ingérés, et la quantité de matière végétale absorbée. La quantité létale[106] est de 4 g de feuilles de *Nerium oleander*, tandis qu'elle correspond à 2 g de feuilles fraiches de *Digitalis purpurea*, ou 0,5 g de feuilles séchées. Le décès peut donc rapidement survenir. L'antidote reste cependant très efficace.

IV. Les potentiels effets anticancéreux des digitaliques

Nous allons dans la dernière partie de cette thèse nous intéresser aux potentiels effets anticancéreux des digitaliques. Nous étudierons d'abord les mécanismes d'action probables, nous nous intéresserons à un médicament à base d'oléandrine, l'Anvirzel® en phase d'essais cliniques dans le traitement des cancers et nous présenterons ensuite différentes études récentes portant sur l'utilisation des digitaliques en tant que médicament anticancéreux.
L'effet anticancéreux des digitaliques a été suspecté en 1979, lorsque Stenkvist et al[107] publièrent une étude dans *The Lancet* indiquant que 142 patientes atteintes de cancer du sein et prenant des digitaliques pour traiter une maladie cardiaque, présentaient des tumeurs moins agressives que celles des femmes ne prenant pas de digitaliques. D'autre part, ces femmes prenant des hétérosides cardiotoniques ont eu 9,6 fois moins de récidives de leur cancer 5 ans après le diagnostic, par rapport à celles ne prenant pas de digitaliques. Enfin les mêmes auteurs ont suivi sur 20 ans 175 femmes atteintes de cancer du sein, 32 prenant des digitaliques et 143 n'en prenant pas. En excluant les autres causes de décès que le cancer et des facteurs pouvant mener à confusion, la mortalité par cancer chez les patientes prenant des digitaliques était seulement de 6% contre 34% pour celles ne prenant pas de digitaliques. C'est à partir de ces données que les digitaliques furent étudiés de plus près à la recherche d'une action anticancéreuse.

A. Mécanismes d'action anticancéreux des digitaliques

1. Action sur l'ATPase Na^+/K^+

Comme nous l'avons vu précédemment, les digitaliques ciblent la pompe ATPase Na^+/K^+. Cette dernière est impliquée dans le développement et la progression de certains cancers, notamment les cancers pulmonaires et les cancers cérébraux comme le glioblastome. En plus des fonctions précédemment décrites, elle permet également la prolifération de cellules, lorsqu'elle est activée, c'est-à-dire en l'absence d'hétérosides cardiotoniques pouvant l'inhiber. Cela a été observé pour la première fois grâce à l'ouabaïne, un composé endogène retrouvé chez l'Homme et les mammifères à de très faibles doses. Khundmiri et al[108] ont montré qu'une faible concentration en ouabaïne stimulait une cascade de signalisation médiée par l'ATPase, augmentant ainsi la prolifération cellulaire rénale, ainsi que l'augmentation de l'activité intrinsèque de l'ATPase, à savoir l'échange d'ions. La cascade de signalisation impliquée serait celle mettant en jeu la phosphorylation de la protéine kinase B appelée également Akt. Cette kinase empêche l'apoptose, à savoir la mort cellulaire programmée. Ce faisant, la survie cellulaire est possible. On comprend alors qu'en augmentant la concentration en ouabaïne, l'apoptose n'est plus inhibée, puisque la protéine kinase B n'est plus phosphorylée, car l'ouabaïne a une concentration élevée inhibe la cascade de signalisation menant à une prolifération cellulaire.
D'autre part, il a également été montré[109] que l'ATPase est liée avec une protéine Src, appartenant à la famille des non-récepteurs tyrosine-kinases. Ces protéines sont retrouvées au niveau de la membrane plasmique. Prassas et Diamandis[110] expliquent dans le revue *Nature* que lorsque que la ouabaïne se fixe à l'ATPase à de très faibles concentrations, de l'ordre de quelques nM, il y a un changement de conformation allostérique au niveau de l'extrémité N-

terminale de la sous-unité catalytique de l'ATPase. Elle se retrouve dissociée de la protéine Src, qui va être activée et va alors phosphoryler l'EGFR, « *Epidermal growth factor receptor* », qui est une protéine transmembranaire, qui quand elle est activée par un ligand, se dimérise. Ce faisant, elle permet de stimuler son activité protéine kinase. Une autophosphorylation est alors réalisée au niveau de l'EGFR, conduisant alors à plusieurs voies aboutissant alors à la prolifération cellulaire.
Par ailleurs, il y aurait le recrutement de la phospholipase C et de l'inositol triphosphate (IP3), qui formeraient ensemble et avec l'ATPase un micro-domaine fonctionnel permettant de rapprocher la partie cytosolique de la pompe au contact direct du récepteur à l'inositol triphosphate présent à la surface du réticulum endoplasmique. Lors de ce contact, des oscillations calciques sont produites par le réticulum endoplasmique. Ces oscillations contrôlent plusieurs phases de la vie cellulaire telle que la prolifération, la différenciation et l'apoptose. La réponse cellulaire à ces oscillations dépend de la fréquence des oscillations, et leur durée. En présence d'ouabaïne à de faibles concentrations, il se produit des oscillations calciques de très faibles fréquences, environ 4 à 6 par minute. Il survient alors l'activation d'un facteur de transcription calcium-dépendant, le NF-κB. Ce facteur une fois activé contrôle la transcription de gènes anti-apoptotiques et qui induisent la prolifération. Ce mécanisme suggère que les hétérosides cardiotoniques seraient au contraire des agents augmentant la prolifération cellulaire, ce qui est le cas, mais à de faibles concentrations qui sont physiologiques, car on rappelle que plusieurs hétérosides cardiotoniques sont synthétisés par l'Homme que ce soit les bufadiénolides, mais surtout des cardénolides comme l'ouabaïne et la digoxine. Toujours au niveau de Src, un autre mécanisme est explicité par les mêmes auteurs.

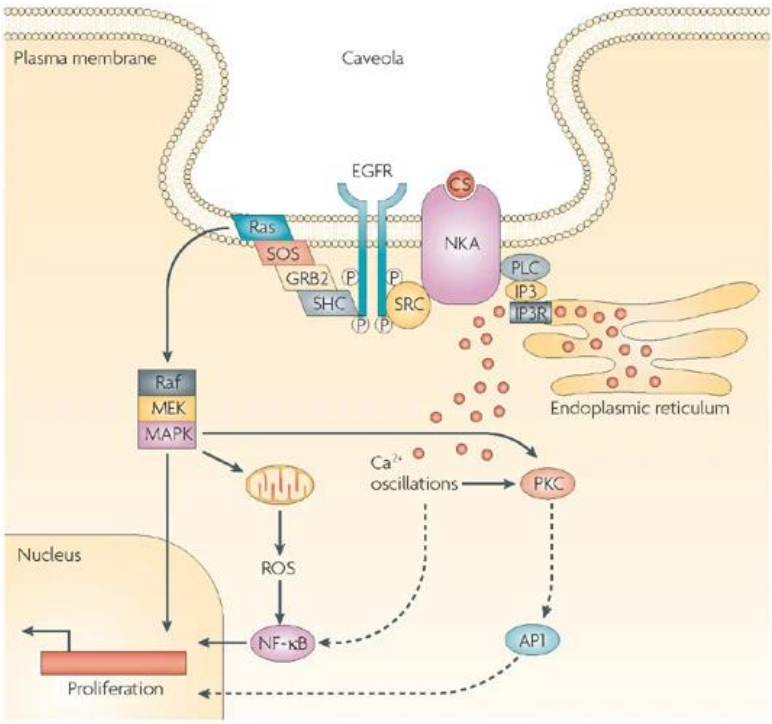

Figure 62 : Les deux mécanismes faisant intervenir le Src, *d'après Prassas et al*[108], *2008.*

De manière semblable au premier mécanisme, lors de la fixation de l'ouabaïne à l'ATPase, la dissociation de Src du complexe ATPase-Src provoque son activation, via sa phosphorylation, et active à son tour l'EGFR, qui va être dimérisé et activé. En réponse, l'EGFR va recruter une protéine adaptative, la SHC, qui a son tour va recruter le GRBD2, lui-même recrutant le facteur SOS. Ce recrutement en cascade, joue le rôle de signal d'activation d'une autre cascade bien connue, la cascade Ras-Raf-MAPK, qui est impliquée dans la transduction du signal du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire et notamment le noyau, où divers gènes contrôlant

la croissance, la différenciation et la division cellulaire sont activés. L'activation de cette cascade déclenche l'ouverture d'une canal potassique ATP-dépendant au niveau mitochondrial, ce qui provoque la synthèse d'espèces oxygénées réactives par les mitochondries. Ces espèces activent le NF-κB, qui garde la même fonction à savoir l'activation de la transcription de différents gènes.

Les deux mécanismes aboutissent donc à la prolifération cellulaire, mais par des voies différentes (Fig. 62). Cette prolifération cellulaire est normale, et est observée au niveau de cellules non cancéreuses comme les cardiomyocytes, les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales[111]. Dans les cellules cancéreuses, l'expression et l'activité de l'ATPase sont bien plus importantes que dans les cellules saines. Parfois, une altération de cette pompe dans divers cancers comme ceux de la vessie, du colon-rectum et du poumon à petites cellules est retrouvée. Il a été montré[112] que les cellules cancéreuses arrêtaient leur croissance lors de l'activation de la voie du Src et de l'EGFR par les digitaliques, conduisant à la cascade des MAPK kinases. Cette cascade augmenterait l'expression d'une protéine inhibitrice des cyclines, comme la CDK2. Cette protéine inhibitrice est nommée p21, et permet l'arrêt du cycle cellulaire à la suite de stress oxydatif, de dégâts au niveau de l'ADN, mais également à la suite de prise d'agents anticancéreux, qui la stimule comme c'est le cas ici avec les hétérosides cardiotoniques. Une certaine spécificité est donc possible dans la cytotoxicité par les glycosides cardiaques, car les cellules cancéreuses présentent les différences énoncées précédemment, par rapport aux cellules saines. C'est à des dosages proches de ceux utilisés dans le traitement de maladies cardiaques que les digitaliques sont antiprolifératifs et pro-apoptotiques, car en inhibant l'ATPase, celle-ci ne peut plus jouer son rôle de transduction du signal, et les différentes voies activant la croissance cellulaire sont donc inhibées. D'autres mécanismes d'actions sont proposés. L'augmentation du niveau de calcium[113], obtenue lors de l'inhibition de l'ATPase par les digitaliques permet en réponse une activation la caspase 3, conduisant alors à l'apoptose des cellules.

Les hétérosides cardiotoniques joueraient un rôle important dans le métabolisme cellulaire, notamment au niveau mitochondrial. En bloquant l'ATPase, il y aura alors une augmentation de la concentration en sodium intracellulaire, comme il l'a été observé au niveau cardiaque. Cette augmentation du sodium stimulera l'activité de l'échangeur mitochondrial Na^+/Ca^{2+}, ce qui diminuera alors le taux de calcium mitochondrial. Il y aura un impact direct sur les enzymes mitochondriales calcium-dépendantes, qui ont un rôle important dans la chaine respiratoire. Au final, la production d'ATP par les mitochondries se retrouve diminuée, impactant alors la croissance cellulaire qui se retrouve largement ralentie[114]. De plus, la génération d'espèces oxygénées réactives délétères pour la cellule cancéreuse est observée lors de la baisse de NADH généré par la chaine respiratoire, qui est altérée avec les hétérosides cardiotoniques.

Une autre conséquence de l'inhibition par les digitaliques de l'ATPase, est la modification du pH intracellulaire. Les cellules cancéreuses ont un pH qui est augmenté, aux alentours de 7,4, contrairement aux cellules saines, où le pH est situé entre 6,7 et 7,1. Les digitaliques acidifieraient la cellule, rendant la hausse du métabolisme nécessaire pour les cellules cancéreuses impossible. Un autre effet des hétérosides cardiotoniques serait la perturbation de l'absorption de glucose par les cellules cancéreuses, par l'inhibition de l'ATPase, qui aboutit à une perturbation ionique par rupture de l'équilibre ionique habituellement maintenu par l'ATPase. Ces perturbations ioniques impacteraient les enzymes responsables de la glycolyse. En ciblant l'utilisation du glucose, les cellules cancéreuses se retrouvent rapidement altérées, car leur métabolisme augmenté dépend en grande partie d'une consommation élevée de glucose. La fluidité membranaire pourrait être modifiée et endommager les cellules cancéreuses, par l'action des digitaliques sur la protéine Src. Toujours au niveau de cette protéine, il a été montré[115] que la digoxine causait une inhibition de celle-ci, menant à une inhibition de la kinase d'adhésion focale (FAK) qui permet de réguler la mobilité des cellules cancéreuses. Cette action réduirait la possibilité de former des métastases.

L'angiogénèse est aussi une cible des digitaliques, cette dernière est essentielle aux cellules cancéreuses qui voient leur métabolisme augmenté, et donc leurs besoins en nutriments également, d'où la génération de nouveaux vaisseaux. L'angiogénèse est induite sous l'impulsion de facteur d'hypoxie, comme le HIF-1 alpha, un facteur de transcription qui régule l'expression du VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) et de l'angiopoïétine, deux molécules pro-angiogéniques. La digoxine et la digitoxine montrent une inhibition de la synthèse du facteur HIF-1 alpha. Ce faisant, il n'y pas de régulation de la transcription des molécules pro-angiogéniques, et la masse tumorale se retrouve alors appauvrie en oxygène et nutriment, limitant alors son développement.

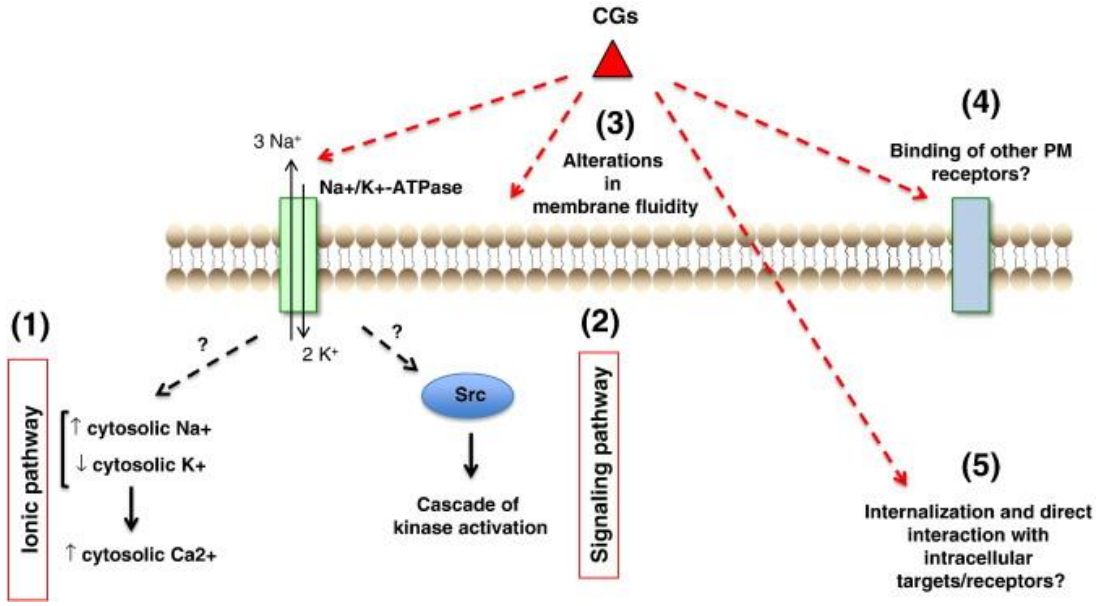

Figure 63 : Plusieurs mécanismes d'action anti-cancéreux attribués aux digitaliques, *d'après Cerella et al*[114], *2013*

Plusieurs mécanismes sont illustrés par ce schéma (Fig. 63). Par exemple, une altération dans la fluidité membranaire ou la liaison à d'autres récepteurs membranaires sur la membrane plasmique sont possibles, de même qu'une internalisation des hétérosides cardiotoniques qui pourraient interagir avec des cibles intracellulaires. Ce schéma illustre également le mécanisme d'action par lequel l'inhibition de l'ATPase jouerait un rôle : le blocage de la dissociation de Src à l'ATPase, empêchant ainsi la prolifération cellulaire. Enfin, l'action de la modification de l'équilibre ionique menant à plusieurs perturbations telles qu'une acidification de la cellule et des modifications au niveau mitochondrial sont présentées ici. Un autre mécanisme d'action rapporté est la désorganisation du cytosquelette par les digitaliques, notamment au niveau des microtubules de manière similaire à la vincristine, aboutissant à un blocage des cellules dans différents stades du cycle cellulaire, les empêchant alors de l'accomplir en totalité. Par exemple, de nombreuses cellules cancéreuses se retrouvent bloquées dans la phase G2, ou dans la phase S de réplication. Des altérations au niveau des microtubules conduisent à des modifications de protéines impliquées dans l'apoptose. Il s'agit des molécules Mcl-1 et Bcl-xL. Ces deux facteurs sont anti-apoptotiques, mais leur dégradation aboutit à la mort cellulaire. Concernant Mcl-1, il séquestre en temps normal, un médiateur important impliqué dans la régulation de l'autophagie, Beclin-1. La dégradation de Mcl-1 est nécessaire pour obtenir l'autophagie, en libérant ainsi Beclin-1. L'altération de Mcl-1 et de Bcl-xL est atteinte à la suite de l'arrêt du cycle cellulaire lors de la perturbation des microtubules induite par les digitaliques.

L'inhibition de Mcl-1 (Fig. 64) conduit à l'autophagie, et l'altération de Bcl-xL, active l'apoptose mitochondriale, par dimérisation de plusieurs protéines pro-apoptotiques : les protéines Bak et Bax.

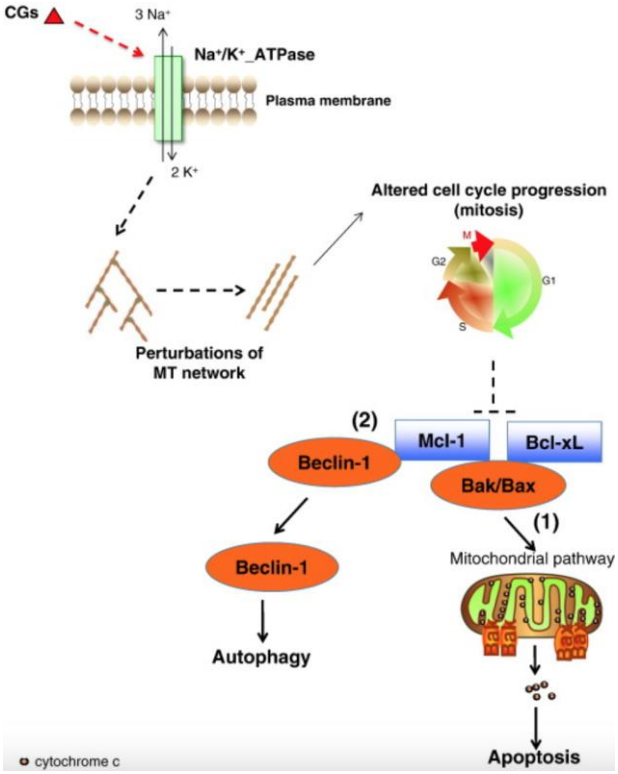

Figure 64 : Action des digitaliques sur le cystosquelette, aboutissant à deux voies induisant la mort cellulaire, *d'après Cerella et al*[114], *2013.*

Au niveau de la mitochondrie, il y aura des homodimères Bax et Bak, qui vont faire sortir de la mitochondrie en créant des canaux dans la membrane mitochondriale, le cytochrome C ainsi que de l'ATP qui vont venir se lier dans le cytosol à Apaf-1, une protéine qui est repliée sur elle-même quand elle est inactive. Lors de la liaison cytochrome C-Apaf-1-ATP, il y a un changement de conformation de cette protéine, qui va pouvoir exposer des domaines particuliers appelés CARD, WD40 et Ced-4-like qui vont servir de point d'accroche à d'autres protéines Apaf-1, pour former un ensemble, nommé apoptosome (Fig. 65). L'apoptosome permettra le recrutement de la procaspase 9, une caspase initiatrice menant à l'activation de deux caspases effectrices, les caspases 3 et 7, qui pourront alors activer la voie intrinsèque de l'apoptose. D'autres auteurs[116] ont également rapporté l'augmentation de l'apoptose des cellules cancéreuses du sein après administration de digoxine. Cette dernière a diminué dans ces cellules l'expression de Bcl-2, une protéine anti-apoptotique, et a augmenté la quantité de

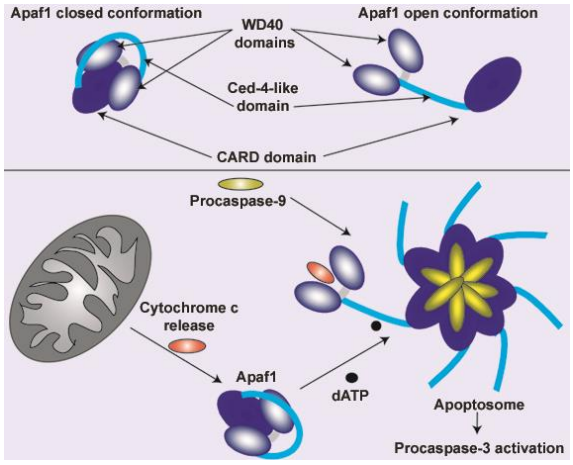

Figure 65 : Formation de l'apoptosome *d'après Corvaro et al.*

protéines Bax, une protéine apoptotique. Le ratio Bax/Bcl-2 est donc en faveur de Bax, et les cellules sont sensibles à ce ratio, qui détermine leur entrée en apoptose ou non.
Nous venons donc de voir plusieurs mécanismes d'action anticancéreux des hétérosides cardiotoniques, grâce à leurs effets sur l'ATPase Na^+/K^+. Mais les digitaliques auraient d'autres propriétés cytotoxiques indépendantes de l'inhibition de l'ATPase.

2. Inhibition des topoisomérases

Les digitaliques entrainent une augmentation de la sensibilité des cellules cancéreuses aux radiations ionisantes utilisées dans les traitements de radiothérapie, contrairement aux cellules saines qui ne sont pas affectées. L'oléandrine et la ouabaïne ont été utilisées, et le mécanisme d'action responsable est une activation de l'apoptose par la caspase 3, suite à l'administration d'oléandrine[117]. Les auteurs ont prouvé cela en administrant préalablement de l'oléandrine à des lignées de cellules cancéreuses prostatiques. Plusieurs administrations ont été réalisées, permettant de comparer l'effet cytotoxique en fonction du temps d'exposition à l'oléandrine : plus les cellules ont longtemps été exposées à l'oléandrine, plus leur survie est faible après application de rayonnements (Fig. 66).

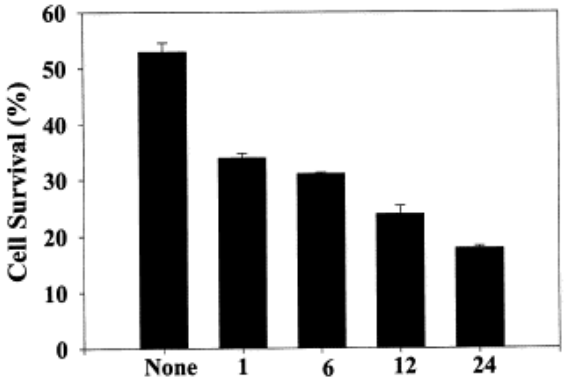

Figure 66 : Survie en fonction du temps d'exposition (en heures) à l'oléandrine des cellules cancéreuses, *d'après Newman et al [117], 2002.*

D'autres expérimentations ont été menées en administrant avant l'exposition aux rayonnements et à l'oléandrine, un inhibiteur de la caspase 3. Les résultats montrent que même en présence d'oléandrine, la survie des cellules cancéreuses est bien meilleure malgré les rayons ionisants, prouvant ainsi que les hétérosides cardiotoniques augmentent la sensibilité à la radiothérapie en activant la caspase 3, responsable de l'apoptose.
Un autre mécanisme d'action proposé pour les digitaliques est l'inhibition des topoisomérases de types I et II. Ces enzymes sont importantes dans la gestion de la conformation de l'ADN. Elles interviennent dans la réplication, la transcription et les processus de réparation de l'ADN. La topoisomérase I agit sur le simple brin, et la topoisomérase II agit sur le double brin. Ces enzymes sont retrouvées chez les procaryotes et les eucaryotes. Précisons qu'il existe plusieurs isoformes des topoisomérases. L'inhibition des topoisomérases est donc recherchée pour empêcher la prolifération des cellules cancéreuses. Une étude polonaise[118] a testé l'inhibition des topoisomérases I et II par les digitaliques sur des cellules de cancer du sein. L'ouabaïne et la digoxine, deux cardénolides et la proscillaridine A, un bufadiénolide issu de la scille maritime, ont montré des résultats intéressants. C'est la proscillaridine A qui montre la meilleure inhibition, suivie de la digoxine et de l'ouabaïne. Pour observer cela, les auteurs ont mis des plasmides contenant de l'ADN surenroulé, avec des topoisomérases purifiées, et des hétérosides cardiotoniques. Les topoisomérases ont pour propriétés de supprimer les supertours de l'ADN en effectuant des clivages, pour rendre une forme relâchée à l'ADN, et d'ouvrir l'ADN circulaire pour obtenir de l'ADN linéaire. De l'étoposide, une molécule anticancéreuse utilisée actuellement en clinique, connue pour ses propriétés d'inhibition des toposiomérase, a

été ajoutée pour comparer l'effet des hétérosides cardiotoniques. Du sodium dodecylsulfate et de la proteinase K ont été utilisés pour enlever les protéines liées de manière covalente.
Enfin, les mélanges ont été soumis à une électrophorèse en présence de bromure d'éthidium pour séparer les ADN circulaires (fermés) et les ADN linéaires (ouverts). On remarque sur le gel d'agarose (Fig. 67), que les 3 hétérosides cardiotoniques montrent une inhibition de la topoisomérase II. En effet, la piste 5 contient un mélange d'ADN circulaire avec uniquement de la topoisomérase II, et aucun agent inhibiteur. On remarque qu'il y a bien une bande épaisde d'ADN relâché et qu'il n'y a pas de bande d'ADN surenroulé, ce qui prouve que la topoisomérase II seule effectue bien son opération de clivage de l'ADN, puisqu'il n'y plus de supertours, et que l'ADN est sous forme relâchée.
Quand on regarde au niveau des hétérosides cardiotoniques, correspondant à la piste 1 pour la ouabaïne, la piste 2 pour la digoxine et la piste 3 pour la proscillaridine A, on remarque que c'est l'inverse : l'ADN circulaire est uniquement sous forme surenroulée. Cela montre qu'il y a donc bien eu une inhibition de la topoisomérase II. Les résultats obtenus avec l'étoposide, dans la piste 4 sont similaires à ceux obtenus avec les hétérosides cardiotoniques. Les auteurs ont même remarqué que la proscillaridine A présente une meilleure inhibition de la topoisomérase II que l'étoposide, car les concentrations efficaces de proscillaridine A est 0,03 µM contre 10 µM pour l'étoposide. Les concentrations d'ouabaïne et de digoxine étaient de 0,1 µM. Dans d'autres tests, les auteurs expliquent que l'ouabaïne et la digoxine inhibent spécifiquement la toposiomérase II, alors que la proscillaridine A est capable d'inhiber à la fois la topoisomérase I et II.

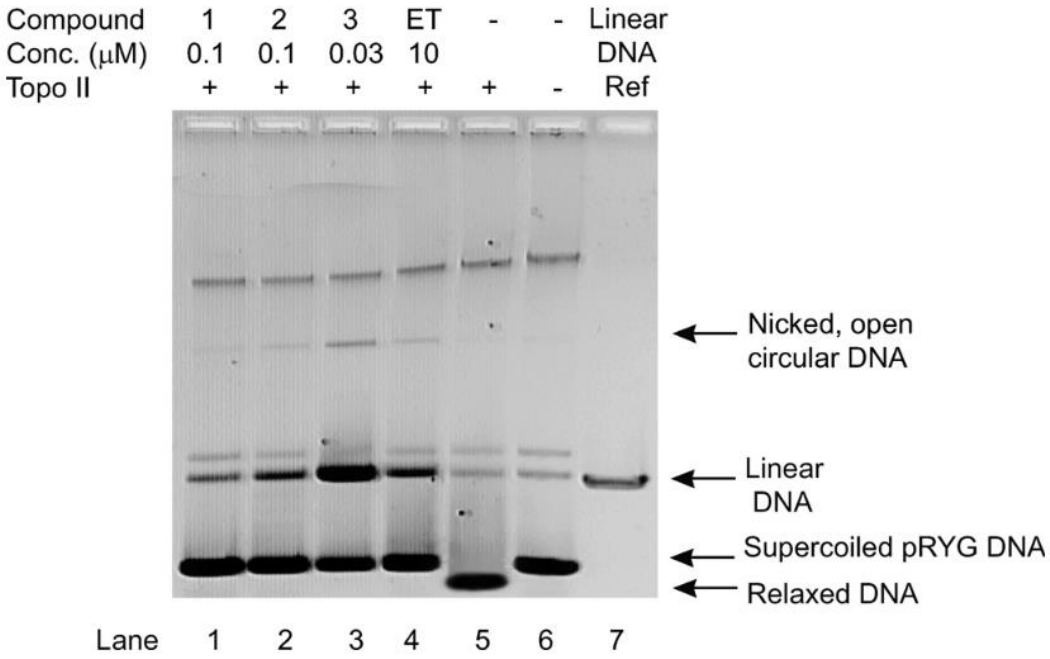

Figure 67 : Electrophorèse montrant l'inhibition de la topoisomérase II par les hétérosides cardiotoniques. *D'après Bielawski et al, 2018.*

Pour conclure leur étude, les auteurs expliquent que les concentrations utilisées pour la proscillaridine A sont situées dans les valeurs habituellement retrouvées dans le traitement de l'insuffisance cardiaque, et sont plus faibles que les concentrations testées pour la digoxine et l'ouabaïne. De plus ils indiquent qu'une inhibition simultanée des topoisomérases I et II comme c'est le cas par le bufadiénolide proscilliaridine A, augmenterait la cytotoxicité.
L'inhibition des topoisomérases est donc un mécanisme anticancéreux différent de l'action directe sur l'ATPase. Ce mécanisme d'action semble prometteur, et pourrait se révéler efficace chez l'Homme, puisque l'étoposide, molécule actuellement utilisée, présente le même mécanisme d'action.

B. L'oléandrine, issue de *Nerium oleander*

L'Anvirzel®, appelé également PBI-01207, est un candidat-médicament produit par le laboratoire Phoenix Biotechnology. Il est a été conçu à partir d'extraits de *Nerium oleander*, le laurier rose. Il contient notamment des triterpènes et des polysaccharides, mais les principes actifs sont l'oléandrine, l'oléandringénine, l'ordoside et le neritaloside. Le mécanisme d'action retenu est l'inhibition de la pompe ATPase Na^+/K^+ des cellules cancéreuses, menant à une augmentation du calcium intracellulaire avec une libération de cytochrome C par les mitochondries, amenant alors à l'activation des caspases, menant à la voie apoptotique intrinsèque. De plus, l'oléandrine bloquerait l'activation du NF-κB, permettant d'empêcher la prolifération cellulaire. L'étude de référence sur ce médicament est celle de Smith et al[119], qui ont montré que les cellules cancéreuses prostatiques des lignées PC3 et DU145 exportent via l'ATPase le *Fibroblast growth factor-2* (FGF-2), qui est un facteur permettant la prolifération, la différenciation, l'angiogenèse et donc la croissance tumorale. Cette protéine ne possède pas le peptide signal permettant sa sortie de la cellule par le réticulum endoplasmique. Son exportation nécessite sa fixation à l'ATPase, sur la sous unité alpha-1. L'inhibition de l'ATPase par l'oléandrine réduit drastiquement la sortie du FGF-2, entrainant une réduction de la croissance des cellules cancéreuses prostatiques de l'ordre de 60%, et ce à des doses non toxiques. Cette étude a été publiée en 2001. S'en est alors suivi une étude clinique de phase 1[120] dont le but était d'évaluer la toxicité de ce candidat-médicament, chez des patients présentant des tumeurs solides réfractaires. Lors de cet essai clinique, des doses de 0,5 mL d'Anvirzel® contenant 7,5 mg d'extrait de laurier rose, correspondant à 10 à 20 µg d'oléandrine et 25 à 55 µg d'oléandrigénine, ont été injectées quotidiennement par voie intramusculaire. Les critères d'inclusion des patients étaient : que les patients soient majeurs, avec une espérance de vie d'au moins 6 semaines, avec des bilans biologiques proches des valeurs normales, ainsi que des états hépatiques et rénaux non altérés. Les traitements anti-cancéreux précédemment reçus n'excluent pas les patients de l'étude, seule la toxicité induite par ces derniers doit être révolue depuis au moins 2 semaines. Les patients ayant des pathologies cardiaques ou neurologiques graves, et prenant certains traitements (comme des antiarythmiques), au même titre que les femmes enceintes ou allaitantes, ainsi que les femmes en âge de procréer refusant de suivre une contraception orale tout le long de l'essai et 1 an après, n'étaient pas inclus dans l'étude. Les 18 patients qui ont été inclus présentaient divers cancers comme le cancer colorectal, rénal, ovarien, du poumon, de la vessie et un mélanome. Les patients étaient étroitement suivis au niveau de leur fonction cardiaque par le port d'un holter 24 h sur 24, et un suivi biologique était réalisé quotidiennement puis de manière hebdomadaire. Les patients ont été attribués à 3 groupes par randomisation. Le groupe 1 allait recevoir 0,1 0,2 ou 0,4 mL/m^2/jour (par doses croissantes en fonction de la survenue d'effets indésirables considérés comme préoccupants), le groupe 2 allait recevoir 0,8 mL/m^2/jour et le groupe 3 1,2 mL/m^2/jour. Même si ce n'était pas le but de cet essai clinique, aucune régression tumorale n'a été observée. L'effet indésirable le plus fréquemment rapporté était la douleur au niveau du point d'injection, indépendamment de la dose. Des érythèmes ont également été rapportés au point d'injection. La plupart des patients ont rapporté une asthénie modérée, un seul patient rapportant une asthénie majeure. Des symptômes gastro-intestinaux ont été présents de type nausées, vomissements, diarrhées. Ces symptômes étaient plus fréquents et plus marqués pour les doses les plus élevées. La fonction cardiaque a été protégée dans tous les cas, les seuls symptômes rapportés à savoir des palpitations sont attribuables à des pathologies préexistantes à l'essai. Les auteurs concluent donc à une sécurité d'utilisation chez l'Homme pour l'Anvirzel®, avec une absence d'effets indésirables majeurs. Les auteurs recommandent alors une dose journalière de 0,8 mL/m^2 pour l'essai clinique de phase 2. Depuis, peu d'informations sont disponibles. Le laboratoire affirme qu'Anvirzel® est autorisé par la *Food and Drug Administration* (l'équivalent de l'ANSM aux États-Unis), pour être utilisé chez l'Homme dans le cadre d'un accès compassionnel.

Cela correspond aux patients atteint de maladies mettant en jeu le pronostic vital à court terme et pour lesquels il n'existe pas d'alternatives thérapeutiques. Cependant, la sécurité de ce médicament a été évaluée, tout comme sa pharmacocinétique, lorsqu'il était associé au docetaxel, un poison du fuseau et à la carboplatine, un agent alkylant, chez des patients présentant un cancer du poumon à petites cellules. Cette étude de phase 1 a pris place entre 2012 et 2015. Les résultats n'ont pas été publiés.
Ce canditat-médicament reste donc prometteur, et il est nécessaire d'évaluer son efficacité *in vivo* après avoir démontré que son utilisation était possible à des doses non toxiques lors de l'essai clinique de phase 1. Concernant l'oléandrine, notons que le même laboratoire a mené un essai clinique de phase 2 sur des patients atteints de cancers pancréatiques de stade 4. La molécule utilisée, nommée PBI-05204, est issue d'une extraction au CO_2 supercritique de feuilles de *Nerium oleander*. Un essai de phase 1 a été réalisé, en montrant une absence d'évolution tumorale pendant plus de 4 mois chez des patients présentant des tumeurs solides, et même une régression chez certains patients[121]. Cet essai de phase 1 a également permis de déterminer la dose non toxique à utiliser lors de l'essai clinique de phase 2[122] récent mené en 2020, à savoir 0,2255 mg/kg par jour. Cette dose a été administrée sous forme de gélules, et a été divisée en 2 pour être prise deux fois par jour, pour des cycles de 28 jours. Le but de cet essai clinique de phase 2 était d'évaluer la survie (Fig. 68) à 4,5 mois des patients atteints de cancers pancréatiques de stade 4 et étant traités par cette molécule. 38 patients ont été inclus dans l'essais. Seulement 10 patients ont survécu au-delà de 4,5 mois. 31% des patients ont complété 2 cycles de traitement et la majorité de ces patients ont survécu plus de 4,5 mois. Une régression de la maladie a été observée chez un patient, pendant 162 jours. Concernant les effets indésirables, ce sont des effets gastro-intestinaux de type nausées, vomissements, diarrhées et perte d'appétit qui ont été rapportés par les patients. Selon la conclusion des auteurs, cet essai n'a pas atteint son objectif qui était d'améliorer de manière significative la survie générale.

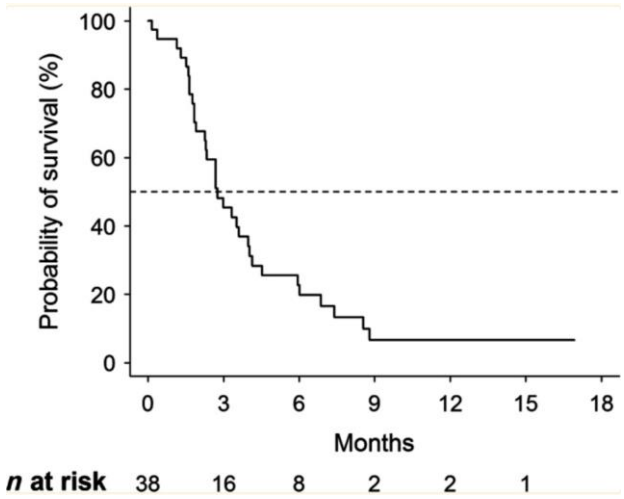

Figure 68 : Courbe de Kaplan-Meier, évaluant la survie des patients après administration de PB-05204, *d'après Roth et al [122], 2020.*

Mais cela pourrait s'expliquer par une administration trop tardive de cette molécule, les cancers pancréatiques évoluant très vite et s'aggravant de jour en jour. Peu de patients de cet essai ont pu compléter plus de 2 cycles de traitement, due à l'agressivité du cancer. Les auteurs suggèrent qu'une administration plus précoce, à un stade moins avancé, permettrait de meilleurs résultats. Enfin, les patients n'avaient pas suivi les mêmes protocoles de chimiothérapies, les auteurs rapportant que ceux ayant été au préalable traité par la gemcitabine obtenaient de meilleurs résultats. De nouveaux essais devraient être menés à des stades de cancer moins avancés et sur un plus grand nombre de patients, ainsi que sur des tumeurs différentes pour pouvoir mieux évaluer l'efficacité de l'oléandrine. Les essais réalisés jusqu'aujourd'hui permettent cependant de noter une sécurité satisfaisante.

C. La digitaline et la digoxine, des cardénolides d'intérêt

Les deux cardénolides issus des espèces végétales du genre *Digitalis* ont fait l'objet de plusieurs études, notamment in vitro, en ce qui concerne leur effet anticancéreux. Une étude menée en 2021 par Chou et al[123] a évalué l'impact des deux digitaliques sur la croissance de cellules ovariennes cancéreuses humaines de la lignée SKOV-3. Pour cela, les auteurs ont fait proliférer les cellules cancéreuses ovariennes humaines dans milieu de croissance gélosé contenant du sérum de veau fœtal, des nutriments et des antibiotiques pour éviter une contamination bactérienne. Les cellules ont été ensemencées sur 96 géloses, à une densité de $2{,}0.10^4$ cellules par géloses. Elles ont ensuite été exposées à différentes concentrations de digitaline et de digoxine, pendant 24 h. Des concentrations croissantes ont été utilisées, allant de 10^{-9} M à 10^{-4} M de digitaline et digoxine. La cytotoxicité (Fig.69) a été évaluée en mesurant la quantité de LDH (lactate déshydrogénase), une enzyme qui est ubiquitaire dans les cellules, et qui est libérée à la suite de l'altération de la membrane plasmique, après la mort cellulaire. Grâce à des couplages avec d'autres enzymes et certains composés, il est possible d'observer par spectrophotométrie une coloration plus ou moins intense qui dépend de la quantité de LDH libérée dans le milieu de culture, et ainsi évaluer la cytotoxicité des cardénolides sur cette lignée de cellules cancéreuses.

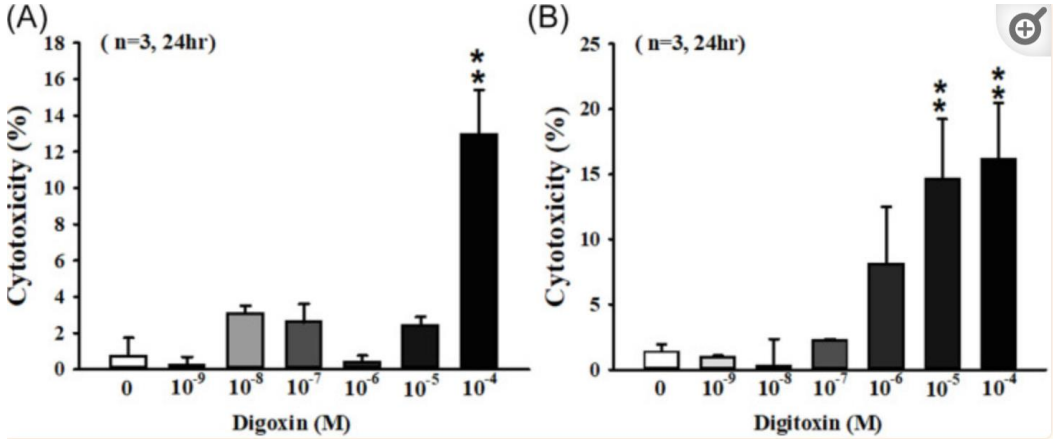

Figure 69 *:* Cytotoxicité de la digoxine et de la digitaline sur les cellules SKOV-3 après 24h d'exposition, *d'après Chou et al[123], 2021.*

On remarque (Fig. 70) que la cytotoxicité est augmentée largement avec une concentration de 10^{-4} M de digoxine ou de digitaline, et que la digitaline est plus efficace que la digoxine, aux mêmes concentrations. La cytotoxicité a été estimée à 20% au bout de 24 heures, ce qui est significatif par rapport aux groupes contrôles. De même, les auteurs ont évalué la capacité des deux cardénolides à inhiber la formation de colonies de cellules cancéreuses SKOV-3, en fonction de la concentration. Les cellules cancéreuses ont été exposées 10 jours aux hétérosides cardiotoniques. On constate (Fig. 70) une nette inhibition de la formation des colonies, d'abord de manière visuelle en regardant la disparition des cellules cancéreuses sur les différentes géloses après 10 jours d'exposition aux cardénolides. Ensuite, on voit que le taux de croissance des colonies est significativement diminué dans les mêmes proportions pour la digoxine et la digitaline, passant de 1 à 0,4 par rapport au groupe contrôle, représentant une diminution d'environ 60%. Cette inhibition survient à une concentration de 10^{-6} M, qui est inférieure à la concentration nécessaire pour obtenir une cytotoxicité.

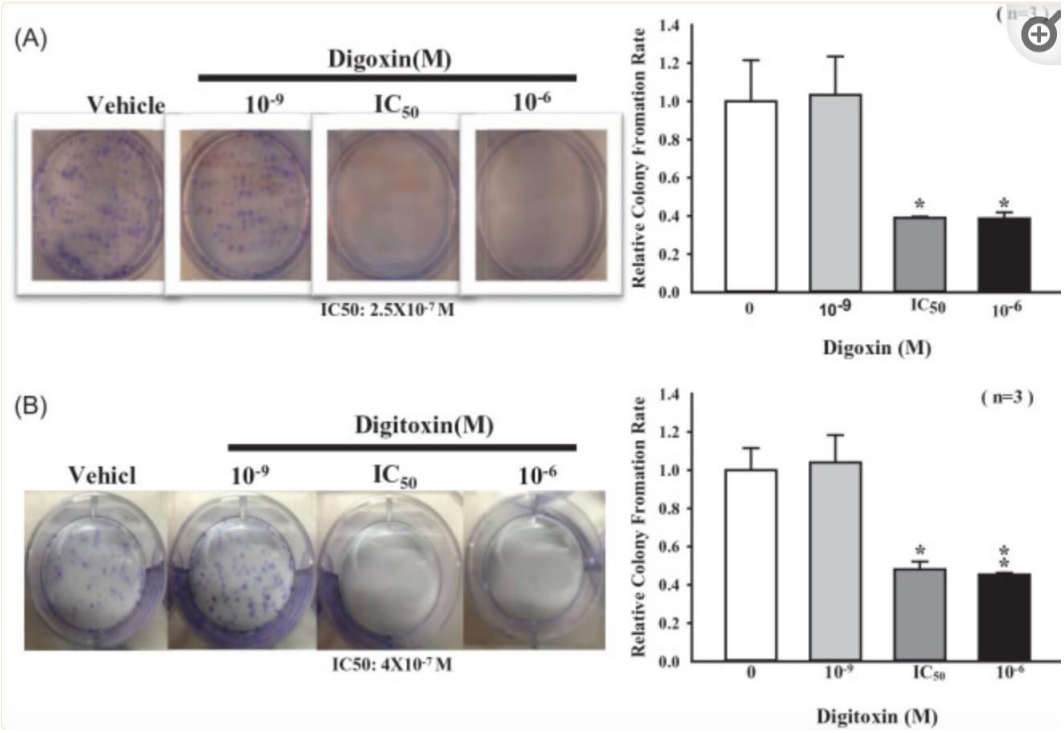

Figure 70 : Capacité d'inhibition de formation de colonies après 10 jours d'exposition à la digoxine et la digitaline, *d'après Chou et al*[123], *2021.*

La prolifération est donc plus facilement inhibée, en présence de digoxine et de digitaline. Les auteurs suggèrent plusieurs mécanismes d'action, notamment un arrêt du cycle cellulaire en phase G0/G1, grâce à d'autres tests in vitro. Un autre mécanisme d'action cité est l'inhibition de l'ATPase Na^+/K^+, avec en conséquence une augmentation du niveau de calcium intracellulaire, amenant alors comme nous l'avons expliqué plus tôt une libération du cytochrome C, activant alors la caspase 3 qui permet d'induire la mort cellulaire. L'étude permet donc d'observer un effet anticancéreux efficace sur les cellules ovariennes tumorales, et ce à des faibles concentrations. D'autres études devraient être menées sur des lignées différentes, permettant de préciser le mécanisme d'action.

Une étude récente[124] de 2021 a également étudié l'effet anticancéreux de la digoxine, dans le cancer du poumon non à petites cellules. Pour ce faire, des cellules des lignées A549 et H1299 ont été mise en culture dans un milieu contenant du sérum de veau fœtal et des antibiotiques. Plusieurs puits ont été préparés, avec une densité de 8.10^3 cellules par 200 µl par puits. Différentes concentrations de digoxine ont été administrées, et au bout de 12 jours les cellules ont été colorées. La capacité à former des colonies par les cellules cancéreuses pulmonaires A549 et H1299 a été significativement réduite (Fig. 71) de manière dose dépendante en présence de digoxine. Pour les cellules A549, une inhibition forte est observée dès la dose de 0,1 µM, et cette même dose produit une inhibition moins marquée dans la lignée H1299, où il faut doubler cette dose pour avoir une inhibition plus franche. Un des mécanismes évoqués par les auteurs est d'abord, comme pour les cellules cancéreuses ovariennes, un arrêt du cycle cellulaire. Les auteurs expliquent cela par d'autres tests in vitro où ils notent une diminution des niveaux de cycline D1, de CdCd2 et de la cycline B1, des protéines essentielles dans le bon déroulement du cycle cellulaire. L'apoptose serait également induite par la voie mitochondriale, car des altérations de la membrane mitochondriale ont été visualisées par ces mêmes auteurs après exposition à la digoxine.

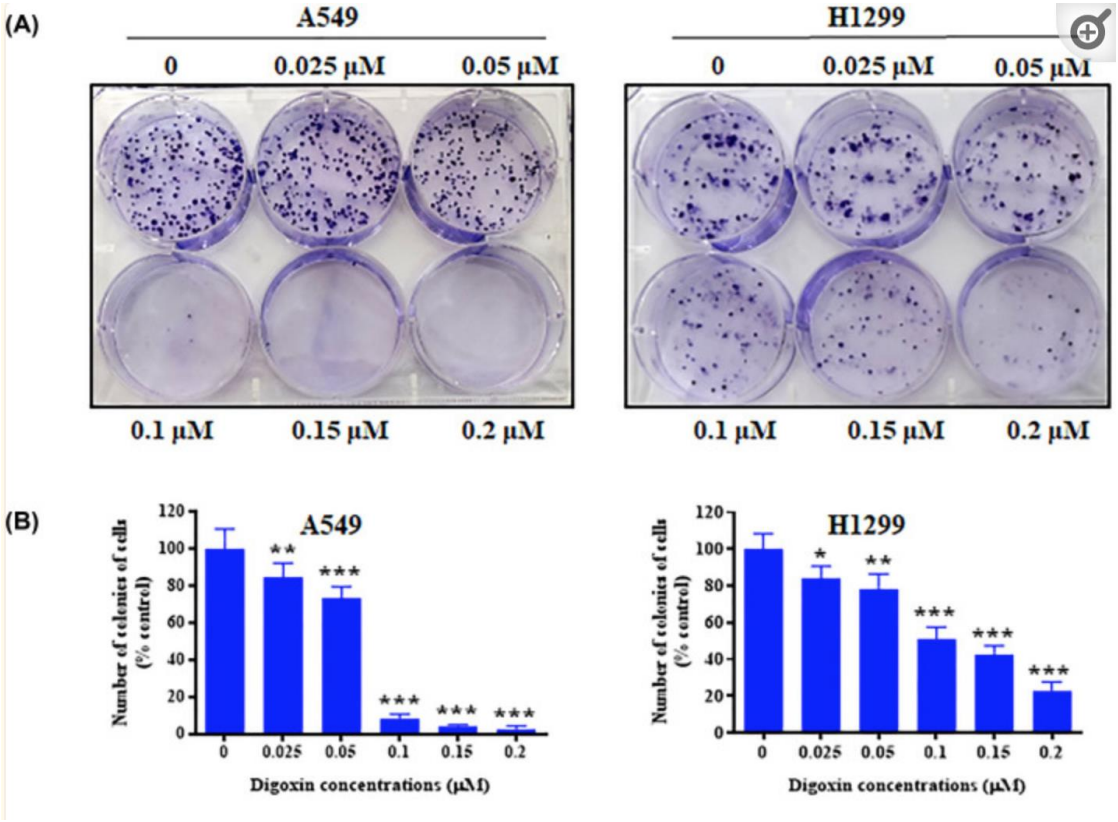

Figure 71 : Inhibition de la formation de colonies de cellules cancéreuses pulmonaires par la digoxine, *d'après Wang et al*[124], *2021.*

D'autre part, les auteurs ont observé une diminution de la migration, de l'invasion et de l'adhésion des cellules cancéreuses. Par Western-blot, une diminution des niveaux de E-cadhérine et de vimentine, des protéines d'adhésion, a été notée. De même, l'autophagie a été augmentée dans les cellules exposées à la digoxine avec des vacuoles autophagiques plus nombreuses, suggérant alors que la digoxine induirait l'autophagie. Enfin, il a été noté une inhibition de la phosphorylation d'Akt en présence de digoxine. *In vitro*, de multiples mécanismes d'action sont proposés, mais il est à chaque fois observé une diminution de la prolifération cellulaire cancéreuse, associée à l'apoptose et à une interruption du cycle cellulaire.

Des études[125] ont ensuite été menées *in vivo*. Plusieurs cancers ont été ciblés, notamment le cancer du sein, du poumon, de la tête et du cou, et de la peau avec les mélanomes. Peu de résultats sont accessibles. Nous pouvons cependant citer l'étude de phase 2 de Lin et al[126] qui s'est intéressée à l'évolution du niveau de PSA (*Prostate Specific Antigen*), un marqueur du cancer de la prostate) pour des patients atteints de cancer de la prostate, à qui on a fait prendre de la digoxine. Pour cela, 16 patients ont été inclus dans l'étude, et leur niveau de PSA a été mesuré avant administration de digoxine. Celle-ci a été effectuée à partir de comprimés de 0,250 mg une fois par jour la première semaine, et la digoxinémie a été mesurée pour rester en dessous de 2 ng/mL, une valeur en dessous du seuil de toxicité mais néanmoins supérieure à la fenêtre thérapeutique habituelle. Après cette première semaine, la dose de 0,125 mg par jour a été administrée. Des cycles de 4 semaines ont été décidés, avec un objectif de 6 cycles correspondant à 6 mois. Un ECG était réalisé tous les 2 cycles, tout comme la digoxinémie, et les doses étaient ajustées si cela était nécessaire. Enfin la mesure du PSA a été faite tous les 2 cycles. Les résultats ont montré un PSADT (*PSA Doubling Time*, temps au bout duquel le niveau de PSA est doublé, signifiant une progression dans la maladie) augmenté de 200% pour 38% des patients, ce qui est encourageant, car on observe alors un ralentissement dans la progression de la maladie.

Au niveau de la tolérance, celle-ci était bonne puisque seulement 18,75% ont montré des changements au niveau de l'ECG. De plus les auteurs ont mesuré la quantité de VEGF dans le plasma des patients : seulement 4 patients avaient un niveau de VEGF détectable avant l'étude, et 3 de ces patients ont montré une diminution du VEGF par rapport aux niveaux mesurés avant le début de l'étude. Les auteurs proposent alors une inhibition du facteur HIF-1 alpha.

Au niveau international, 36 essais cliniques (qu'ils soient en phase de recrutement de patients, en cours ou terminés) sur la digoxine dans la prise en charge de cancer sont reportées sur le site de la *National Library of Medicine*. Précisons que 2 sont réalisés par des équipes française, le premier étant une étude multicentrique de phase 2 sur la digoxine dans le traitement du sarcome de Kaposi, et le deuxième portant sur l'association digoxine-cisplatine pour la prise en charge de cancers de la tête ou du cou. La digoxine semble donc être une molécule prometteuse et de nombreux résultats intéressants devraient être bientôt disponibles. Notons que plusieurs associations de molécules anticancéreuses avec la digoxine sont en train d'être évaluées, car l'efficacité semble être augmentée, comme par exemple lors d'un essai clinique[127] où le cisplatine, la vinblastine, l'interleukine 2 et l'interféron et la digoxine avait été associés chez des patients atteints de mélanome de stade 4, et où la réponse aux traitements avait été améliorée de manière significative.

D. Discussion

Les différentes études réalisées ont été menées sur un nombre plutôt restreint de patient, donc il est nécessaire d'augmenter le nombre de patients pour tirer de solides conclusions. De même il faudrait élargir les cancers ciblés, pour évaluer la sensibilité des différents cancers aux hétérosides cardiotoniques, afin d'éclaircir les différents modes d'actions proposés. De plus, des auteurs[128] s'intéressent actuellement à modifier la structure de quelques cardénolides ou bufadiénolides, afin de moduler l'affinité avec laquelle ils se lient à l'ATPase Na^+/K^+, pour ainsi modifier l'effet anticancéreux des glycosides cardiaques. Aussi, il serait intéressant d'évaluer l'efficacité de différentes associations de molécules anticancéreuses avec la digoxine. D'autre part, de nombreux hétérosides cardiotoniques n'ont pas été testés, à l'image des bufadiénolides par exemple, et d'autres hétérosides cardiotoniques existent surement dans la nature, mais qui n'ont jamais été identifiés ni extraits.
Néanmoins, précisons qu'initialement les hétérosides cardiotoniques ont montré une diminution de l'évolution des cancers du sein, mais que récemment une méta-analyse[129] menée sur 90 202 femmes ménopausées, suivies de 1994 à 2010 montre au contraire une augmentation de la survenue de cas de cancer du sein. Sur ces 90 202 femmes, 5004 prenaient de la digoxine, ce qui représente 1,05 million de personnes-années sur la période d'étude. Les auteurs ont ainsi prouvé qu'une prise de digoxine supérieure à 4 ans augmentait le risque de cancer du sein hormono-dépendant de 45%. Cela s'expliquerait par l'effet agoniste des digitaliques, qui par leur structure chimique se rapprochent grandement des œstrogènes, ce qui est délétère car leur fixation sur les récepteurs hormonaux augmente la prolifération des cellules tumorales. Les hétérosides cardiotoniques ont donc un effet anti-prolifératif dans les cancers non hormonaux, mais augmente la multiplication cellulaire des cellules tumorales dépendantes des hormones, comme dans les cancers du sein et des ovaires. Les récentes modifications structurales permettront peut-être d'éviter cet inconvénient.

Enfin, il est intéressant de remarquer que les différents effets anti-cancéreux des digitaliques sont observables à des concentrations similaires à celles utilisées dans le traitement des maladies cardiaques. Le profil de sécurité et de tolérance de la digoxine est bien connu depuis plusieurs années, tout comme ses effets indésirables. La marge thérapeutique reste très étroite mais les médecins et pharmaciens savent comment manier cette classe médicamenteuse. Les autorisations de mise sur le marché pourront être en ce sens accélérées.

Conclusion

Dans cette thèse, nous avons réalisé un état de l'art des digitaliques, en nous intéressant d'abord à leur distribution dans le règne végétal, et nous avons pu à cette occasion décrire les différentes espèces végétales qui en contiennent, que ce soit en précisant leurs caractéristiques botaniques, leurs modes de vie et de reproduction parfois très spécifiques, à l'image des digitales, ainsi que leur habitat. Le genre le plus connu est le genre *Digitalis*, de la famille des Plantaginacées, mais les digitaliques sont également retrouvés dans d'autres familles comme les Apocynacées. Nous nous sommes aussi intéressés au règne animal, dans lequel les papillons du genre *Danaus* et les crapauds du genre *Bufo* contiennent des digitaliques et utilisent leur toxicité pour leur survie.

Nous avons retracé l'histoire de l'utilisation des hétérosides cardiotoniques, en étudiant les manuscrits laissés par William Withering, qui fut le premier à réaliser l'intérêt des digitaliques dans la prise en charge des symptômes de l'insuffisance cardiaque, en les utilisant pour soulager les patients atteints d'œdèmes. Nous avons ensuite décrit la structure chimique et les voies de biosynthèses des cardénolides et bufadiénolides, ainsi que le procédé d'extraction mis en place par Nativelle au XIX^{ième} siècle pour sécuriser l'utilisation des digitaliques, permettant ainsi leur utilisation à grande échelle le siècle suivant dans deux indications : la fibrillation atriale et l'insuffisance cardiaque. La physiopathologie de ces deux affections a pu être rappelée, et la place moins fréquente mais néanmoins importante de la digoxine dans la prise en charge de ces deux maladies cardiaques a pu être précisée, en complément des traitements plus récents.

Nous avons rappelé le mécanisme d'action de ces molécules, qui agissent en inhibant la pompe ATPase Na^+/K^+ des cardiomyocytes, et permettent alors de ralentir, renforcer et régulariser le cœur. Les caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques ont été énoncées, permettant de mieux comprendre les effets en thérapeutique. Nous avons rappelé le rôle du pharmacien d'officine dans la prévention des surdosages par ce médicament à marge thérapeutique étroite, en connaissant les facteurs de risque des intoxications, les dosages biologiques à suivre, les interactions médicamenteuses et les contre-indications. Les populations particulièrement concernées ont pu être désignées pour augmenter la vigilance lors de la délivrance. Nous avons eu l'occasion de rapporter une intervention pharmaceutique en gériatrie ayant permis d'éviter une intoxication plus grave.

Nous avons brièvement fait un point sur la toxicité des digitaliques, en expliquant leurs effets toxiques et en recherchant des statistiques sur les circonstances d'intoxications en France et en Nouvelle-Aquitaine. Nous nous sommes penchés sur l'antidote existant et les différentes manières de prendre en charge les intoxications aux hétérosides cardiotoniques. Ce fut l'occasion de rapporter un cas récent d'intoxication volontaire au CHU de Poitiers.

Enfin, nous nous sommes intéressés à de récents travaux ouvrant de nouvelles perspectives d'utilisation des digitaliques, dans le traitement des cancers. Les effets antiprolifératifs, (survenant à des concentrations déjà utilisées dans les deux indications des digitaliques) des hétérosides cardiotoniques ont largement été démontrés *in vivo*, comme les différentes études expliquées dans cette thèse le confirment. Les mécanismes d'action proposés sont différents, et peuvent être retrouvés simultanément, conduisant de toute manière à la mort cellulaire programmée, encore appelée apoptose. *In vivo*, il est intéressant de remarquer des études aux résultats encourageants, avec à chaque fois des effets indésirables largement acceptables et tous déjà connus par des décennies d'utilisation des digitaliques en cardiologie. De nouvelles études sont en cours, et sont sur le point de remettre en lumière des substances végétales issues des digitales et parfois reléguées en dernière intention en cardiologie, au-devant de la scène dans le traitement des cancers.

Bibliographie

1. Coste H (1858 1924) A du texte. Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes. Tome 3 / par l'abbé H. Coste,... ; avec une introduction sur la flore et la végétation de la France, accompagnée d'une carte coloriée, par Ch. Flahault,... [Internet]. 1937 [cité 28 mai 2023]. Disponible sur: https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k9693245z

2. van Baalen J, Prins EGM. Growth and reproduction of Digitalis purpurea in different stages of succession. Oecologia. 1 avr 1983;58(1):84-91.

3. Best LS, Bierzychudek P. Pollinator Foraging on Foxglove (Digitalis purpurea): A Test of a New Model. Evolution. 1982;36(1):70-9.

4. NAZIR R, Reshi Z, WAFAI B. Reproductive ecology of medicinally important Kashmir Himalayan species of Digitalis L. Plant Species Biol. 8 juill 2008;23:59-70.

5. Elsevier Masson SAS [Internet]. [cité 24 mai 2023]. Botanique | Livre | 9782294741173. Disponible sur: https://www.elsevier-masson.fr/botanique-9782294741173.html

6. Kitashiba H, Nasrallah JB. Self-incompatibility in Brassicaceae crops: lessons for interspecific incompatibility. Breed Sci. mai 2014;64(1):23-37.

7. Ramanauskas K, Igić B. RNase-based self-incompatibility in cacti. New Phytol. 2021;231(5):2039-49.

8. Stuligross C, Williams NM. Past insecticide exposure reduces bee reproduction and population growth rate. Proc Natl Acad Sci U S A. 30 nov 2021;118(48):e2109909118.

9. Chène P. Études du genre Digitalis. 1. Hybrides naturels. J Bot. 2010;50(1):5-16.

10. Arsac J, Mosnier E. Une nouvelle station en Haute-Loire près de Solignac-sur-Loire.

11. Sosa-Bourdouil MC. Sur le pollen de l'hybride de *Digitalis lutea* L. × *Digitalis purpurea* L. Bull Société Bot Fr. janv 1938;85(4):584-6.

12. Darwin, C. R. 1868. The variation of animals and plants under domestication. London: John Murray. First edition, first issue. Volume 2. [Internet]. [cité 3 juin 2023]. Disponible sur: http://darwin-online.org.uk/converted/published/1868_Variation_F877/1868_Variation_F877.2.html

13. Blaringhem L. Sur les lignées pures de *Digitalis purpurea* L. var. *peloria*. Bull Société Bot Fr. janv 1927;74(3):412-6.

14. Keeble F, Pellew MC, Jones WN. The Inheritance Op Peloria and Flowercolour in Foxgloves (digitalis Purpurea). New Phytol. 1910;9(1-2):68-77.

15. Bi X, van Esse W, Mulki MA, Kirschner G, Zhong J, Simon R, et al. CENTRORADIALIS Interacts with FLOWERING LOCUS T-Like Genes to Control Floret Development and Grain Number. Plant Physiol. juin 2019;180(2):1013-30.

16. Rozier F (1734 1793) A du texte. Cours complet d'agriculture théorique, pratique, économique, et de médecine rurale et vétérinaire. Tome 4 / , suivi d'une Méthode pour étudier l'agriculture par principes, ou Dictionnaire universel d'agriculture, par une société d'agriculteurs, et rédigé par M. l'abbé Rozier,... [Internet]. 1781 [cité 27 mai 2023]. Disponible sur: https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k10427254

17. Vandepitte K, Roldán-Ruiz I, Jacquemyn H, Honnay O. Extremely low genotypic diversity and sexual reproduction in isolated populations of the self-incompatible lily-of-the-valley (Convallaria majalis) and the role of the local forest environment. Ann Bot. mai 2010;105(5):769-76.

18. Ehrlén J, Eriksson O. Toxicity in Fleshy Fruits: A Non-Adaptive Trait? Oikos. 1993;66(1):107-13.

19. Krukoff BA, Letouzey R. Contribution à la connaissance du genre Strophanthus au Cameroun français et au Gabon. J Agric Tradit Bot Appliquée. 1950;30(329):121-38.

20. Dafni A, Dukas R. Insect and wind pollination in Urginea maritima (Liliaceae). Plant Syst Evol. 1 mars 1986;154:1-10.

21. Gentry HS, Verbiscar AJ, Banigan TF. Red Squill (Urginea maritima, Liliaceae). Econ Bot. 1987;41(2):267-82.

22. Yizhaq H, Al-Tawaha ARMS, Stavi I. A First Study of Urginea maritima Rings: A Case Study from Southern Jordan. Land. févr 2022;11(2):285.

23. Jim Conrad's Naturalist Newsletter [Internet]. [cité 12 juin 2023]. Disponible sur: https://www.backyardnature.net/n/08/080915.htm

24. Herrera CM, Sánchez-Lafuente AM, Medrano M, Guitián J, Cerdá X, Rey P. Geographical variation in autonomous self-pollination levels unrelated to pollinator service in Helleborus foetidus (Ranunculaceae). Am J Bot. juin 2001;88(6):1025-32.

25. L'Hellébore fétide : la fleur d'hiver | Zoom Nature [Internet]. 2018 [cité 13 juin 2023]. Disponible sur: https://www.zoom-nature.fr/fleur-dhiver/

26. Herrera CM. Post-floral perianth functionality: contribution of persistent sepals to seed development in Helleborus foetidus (Ranunculaceae). Am J Bot. sept 2005;92(9):1486-91.

27. Guitián J, Garrido J. Is early flowering in myrmechorous plants an adaptation for ant dispersal? Plant Species Biol. 1 déc 2006;21:165-71.

28. Iguchi T, Yokosuka A, Kawahata R, Andou M, Mimaki Y. Bufadienolides from the whole plants of Helleborus foetidus and their cytotoxicity. Phytochemistry. avr 2020;172:112277.

29. Yokosuka A, Inomata M, Yoshizawa Y, Iguchi T, Mimaki Y. Bufadienolides and ecdysteroids from the whole plants of Helleborus niger and their cytotoxicity. J Nat Med. mars 2021;75(2):393-402.

30. Thomann M, Imbert E, Cheptou PO. Is rapid evolution of reproductive traits in Adonis annua consistent with pollinator decline? Acta Oecologica. 1 nov 2015;69:161-6.

31. Zhan X, Wu H, Wu H, Wang R, Luo C, Gao B, et al. Metabolites from Bufo gargarizans (Cantor, 1842): A review of traditional uses, pharmacological activity, toxicity and quality control. J Ethnopharmacol. 10 janv 2020;246:112178.

32. Ujszegi J, Vajna B, Móricz ÁM, Krüzselyi D, Korponai K, Krett G, et al. Relationships Between Chemical Defenses of Common Toad (Bufo bufo) Tadpoles and Bacterial Community Structure of their Natural Aquatic Habitat. J Chem Ecol. 2020;46(5):534-43.

33. Bókony V, Mikó Z, Móricz ÁM, Krüzselyi D, Hettyey A. Chronic exposure to a glyphosate-based herbicide makes toad larvae more toxic. Proc R Soc B Biol Sci. 12 juill 2017;284(1858):20170493.

34. Pocius VM, Debinski DM, Pleasants JM, Bidne KG, Hellmich RL. Monarch butterflies do not place all of their eggs in one basket: oviposition on nine Midwestern milkweed species. Ecosphere. 2018;9(1):e02064.

35. Karageorgi M, Groen SC, Sumbul F, Pelaez JN, Verster KI, Aguilar JM, et al. Genome editing retraces the evolution of toxin resistance in the monarch butterfly. Nature. oct 2019;574(7778):409-12.

36. Holzinger F, Frick C, Wink M. Molecular basis for the insensitivity of the Monarch (Danaus plexippus) to cardiac glycosides. FEBS Lett. 1992;314(3):477-80.

37. Vaughan GL, Jungreis AM. Insensitivity of lepidopteran tissues to ouabain: Physiological mechanisms for protection from cardiac glycosides. J Insect Physiol. 1 janv 1977;23(5):585-9.

38. Opitz SEW, Müller C. Plant chemistry and insect sequestration. Chemoecology. 1 sept 2009;19(3):117-54.

39. Groen SC, Whiteman NK. Convergent evolution of cardiac-glycoside resistance in predators and parasites of milkweed herbivores. Curr Biol. 22 nov 2021;31(22):R1465-6.

40. Kreis W. The Foxgloves (Digitalis) Revisited. Planta Med. août 2017;83(12-13):962-76.

41. Groves MJ, Bisset NG. A note on the use of topical Digitalis prior to William Withering. J Ethnopharmacol. 1 déc 1991;35(2):99-103.

42. Withering W. An account of the foxglove, and some of its medical uses:with practical remarks on dropsy, and other diseases [Internet]. Birmingham: Printed by M. Swinney for G.G.J. and J. Robinson ... London; 1785. 233 p. Disponible sur: https://www.biodiversitylibrary.org/item/21902

43. Krikler DM. Withering and the foxglove: the making of a myth. Br Heart J. sept 1985;54(3):256-7.

44. Burchell HB. Digitalis poisoning: Historical and forensic aspects. J Am Coll Cardiol. 1 févr 1983;1(2, Part 1):506-16.

45. Girardot M. Cours sur les digitaliques, 3ième année de Pharmacie, Université de Poitiers.

46. Bruneton J. Pharmacognosie : Phytochimie -Plantes médicinales. 5ième édition.

47. El-Seedi HR, Khalifa SAM, Taher EA, Farag MA, Saeed A, Gamal M, et al. Cardenolides: Insights from chemical structure and pharmacological utility. Pharmacol Res. 1 mars 2019;141:123-75.

48. Smith P, Brown L, Boutagy J, Thomas R. Cardenolide analogues. 14. Synthesis and biological activity of glucosides of C17 beta-modified derivatives of digitoxigenin. J Med Chem. oct 1982;25(10):1222-6.

49. Morsy N. Cardiac Glycosides in Medicinal Plants. In: Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature [Internet]. IntechOpen; 2017 [cité 29 juin 2023]. Disponible sur: https://www.intechopen.com/chapters/53014

50. Kreis W, Müller-Uri F. Cardenolide Aglycone Formation in Digitalis. In: Bach TJ, Rohmer M, éditeurs. Isoprenoid Synthesis in Plants and Microorganisms: New Concepts and Experimental Approaches [Internet]. New York, NY: Springer; 2013 [cité 29 juin 2023]. p. 425-38. Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4063-5_29

51. Burnat P. Les hétérosides cardiotoniques [Internet]. 1984. Disponible sur: https://www.researchgate.net/profile/Pascal-Burnat/publication/268742238_Les_heterosides_cardiotoniques/links/54747e270cf2778985abe2da/Les-heterosides-cardiotoniques.pdf

52. Terzioglu-Usak S, Nalli A, Elibol B, Ozek E, Hatiboglu MA. AnvirzelTMregulates cell death through inhibiting GSK-3 activity in human U87 glioma cells. Neurol Res. janv 2020;42(1):68-75.

53. Moreno Y Banuls L, Katz A, Miklos W, Cimmino A, Tal DM, Ainbinder E, et al. Hellebrin and its aglycone form hellebrigenin display similar in vitro growth inhibitory effects in cancer cells and binding profiles to the alpha subunits of the Na+/K+-ATPase. Mol Cancer. 26 avr 2013;12:33.

54. Shang X, Miao X, Yang F, Wang C, Li B, Wang W, et al. The Genus Adonis as an Important Cardiac Folk Medicine: A Review of the Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacology. Front Pharmacol. 4 févr 2019;10:25.

55. Zoltani CK. Chapter 14 - Cardiovascular Toxicity. In: Gupta RC, éditeur. Veterinary Toxicology (Third Edition) [Internet]. Academic Press; 2018 [cité 4 juill 2023]. p. 227-38. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128114100000143

56. Nativelle CAA du texte. Découverte de la digitaline cristallisée de C.-A. Nativelle... ses avantages en thérapeutique [Internet]. 1872 [cité 4 juill 2023]. Disponible sur: https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k6138147h

57. Brugidou C, Jacques M. Le développement de Digitalis lanata (Ehrh.) en conditions contrôlées et naturelles : établissement de critères de sélection. Agronomie. 1987;7(9):685-94.

58. DIGITALINE - Encyclopædia Universalis [Internet]. [cité 5 juill 2023]. Disponible sur: https://www.universalis.fr/encyclopedie/digitaline/

59. Orosz F, Nuridsány M, Ovádi J. Isolation and quantitative determination of some cardioactive glycosides from Digitalis lanata by high-performance liquid chromatography. Anal Biochem. juill 1986;156(1):171-5.

60. Kamina P. Anatomie Clinique Tome 3.

61. Sarrouilhe D. Cours de Cardiologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Poitiers.

62. Crocini C, Gotthardt M. Cardiac sarcomere mechanics in health and disease. Biophys Rev. 1 oct 2021;13(5):637-52.

63. Roux-Buisson NRB. Etude et caractérisation des gènes impliqués dans la tachycardie ventriculaire polymorphe catécholaminergique [Internet] [phdthesis]. Université de Grenoble; 2012 [cité 10 juill 2023]. Disponible sur: https://theses.hal.science/tel-00767106

64. Digitaliques [Internet]. [cité 19 juill 2023]. Disponible sur: https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/digitaliques

65. Geering K. Na,K-ATPase. Curr Opin Nephrol Hypertens. sept 1997;6(5):434-9.

66. Lacroix D, Klein C. Épidémiologie et mécanismes de la fibrillation atriale. Bull Académie Natl Médecine. 1 oct 2020;204(8):846-53.

67. Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M, Quiniou G, et al. Spontaneous Initiation of Atrial Fibrillation by Ectopic Beats Originating in the Pulmonary Veins. N Engl J Med. 3 sept 1998;339(10):659-66.

68. Recommandations ESC 2020 : du screening à l'ablation, une nouvelle prise en charge globale de la fibrillation atriale [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: https://www.cardio-online.fr/Actualites/A-la-une/Recommandations-ESC-2020-du-screening-a-l-ablation-une-nouvelle-prise-en-charge-globale-de-la-fibrillation-atriale

69. Wang X, Luo Y, Xu D, Zhao K. Effect of Digoxin Therapy on Mortality in Patients With Atrial Fibrillation: An Updated Meta-Analysis. Front Cardiovasc Med. 1 oct 2021;8:731135.

70. Ferrari F, Santander IRMF, Stein R. Digoxin in Atrial Fibrillation: An Old Topic Revisited. Curr Cardiol Rev. mai 2020;16(2):141-6.

71. Sethi NJ, Nielsen EE, Safi S, Feinberg J, Gluud C, Jakobsen JC. Digoxin for atrial fibrillation and atrial flutter: A systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis of randomised clinical trials. PLoS ONE. 8 mars 2018;13(3):e0193924.

72. Washam JB, Stevens SR, Lokhnygina Y, Halperin JL, Breithardt G, Singer DE, et al. Digoxin use in patients with atrial fibrillation and adverse cardiovascular outcomes: a retrospective analysis of the Rivaroxaban Once Daily Oral Direct Factor Xa Inhibition Compared with Vitamin K Antagonism for Prevention of Stroke and Embolism Trial in Atrial Fibrillation (ROCKET AF). Lancet Lond Engl. 13 juin 2015;385(9985):2363-70.

73. L'insuffisance cardiaque - FFC [Internet]. [cité 7 sept 2023]. Disponible sur: https://www.fedecardio.org/je-m-informe/l-insuffisance-cardiaque/

74. Packer M, Gheorghiade M, Young JB, Costantini PJ, Adams KF, Cody RJ, et al. Withdrawal of Digoxin from Patients with Chronic Heart Failure Treated with Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibitors. N Engl J Med. juill 1993;329(1):1-7.

75. Résumé des Caractéristiques du Produit [Internet]. [cité 9 sept 2023]. Disponible sur: http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0157209.htm

76. Haiser HJ, Seim KL, Balskus EP, Turnbaugh PJ. Mechanistic insight into digoxin inactivation by Eggerthella lenta augments our understanding of its pharmacokinetics. Gut Microbes. 1 mars 2014;5(2):233-8.

77. Bagrov AY, Shapiro JI. Endogenous digitalis. Nat Clin Pract Nephrol. juill 2008;4(7):378-92.

78. Saha JR, Butler VP, Neu HC, Lindenbaum J. Digoxin-inactivating bacteria: identification in human gut flora. Science. 15 avr 1983;220(4594):325-7.

79. Open Medic : base complète sur les dépenses de médicaments interrégimes - data.gouv.fr [Internet]. [cité 12 sept 2023]. Disponible sur: https://www.data.gouv.fr/fr/datasets/open-medic-base-complete-sur-les-depenses-de-medicaments-interregimes/

80. Résumé des caractéristiques du produit - DIGOXINE NATIVELLE 0,25 mg, comprimé - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 15 sept 2023]. Disponible sur: https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=67681303&typedoc=R

81. Shi L, Sun LD, Odel JG. Colored floaters as a manifestation of digoxin toxicity. Am J Ophthalmol Case Rep. 1 juin 2018;10:233-5.

82. Demir D, Görkey Ş. Van gogh and the obsession of yellow: style or side effect. Eye. janv 2019;33(1):165-6.

83. Van Gogh : revue de littérature de ses diverses pathologies et essai d'analyse du déséquilibre énergétique à travers ses peintures [Internet]. [cité 19 sept 2023]. Disponible sur: https://www.meridiens.org/AcuMox/articles-exemples/219-van-gogh-revue-de-litterature-de-ses-diverses-pathologies-et-essai-d-analyse-du-desequilibre-energetique-a-travers-ses-peintures

84. Biggar RJ. Molecular Pathways: Digoxin Use and Estrogen-Sensitive Cancers—Risks and Possible Therapeutic Implications. Clin Cancer Res. 16 avr 2012;18(8):2133-7.

85. Merrill JJ, DeWeese G, Wharton JM. Magnesium reversal of digoxin-facilitated ventricular rate during atrial fibrillation in the Wolff-Parkinson-White syndrome. Am J Med. 1 juill 1994;97(1):25-8.

86. Becquemont L, Verstuyft C, Kerb R, Brinkmann U, Lebot M, Jaillon P, et al. Effect of grapefruit juice on digoxin pharmacokinetics in humans. Clin Pharmacol Ther. 2001;70(4):311-6.

87. Gardiner BJ, Tai AY, Kotsanas D, Francis MJ, Roberts SA, Ballard SA, et al. Clinical and Microbiological Characteristics of Eggerthella lenta Bacteremia. J Clin Microbiol. févr 2015;53(2):626-35.

88. Zimner-Rapuch S, Amet S, Janus N, Deray G, Launay-Vacher V. Néphrotoxicité des médicaments. Rev Francoph Lab. 1 sept 2013;2013(455):75-82.

89. Chimenea Á, García-Díaz L, Méndez A, Antiñolo G. Maternal effects induced by oral digoxin during treatment of fetal tachyarrhythmia: Case series and literature review. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1 janv 2021;256:354-7.

90. Luxford AME, Kellaway GSM. Pharmacokinetics of digoxin in pregnancy. Eur J Clin Pharmacol. 1 janv 1983;25(1):117-21.

91. Miyoshi T, Maeno Y, Hamasaki T, Inamura N, Yasukochi S, Kawataki M, et al. Antenatal Therapy for Fetal Supraventricular Tachyarrhythmias: Multicenter Trial. J Am Coll Cardiol. 20 août 2019;74(7):874-85.

92. Halpern DG, Weinberg CR, Pinnelas R, Mehta-Lee S, Economy KE, Valente AM. Use of Medication for Cardiovascular Disease During Pregnancy: JACC State-of-the-Art Review. J Am Coll Cardiol [Internet]. 5 févr 2019 [cité 27 sept 2023]; Disponible sur: https://www.jacc.org/doi/10.1016/j.jacc.2018.10.075

93. Digoxin. In: Drugs and Lactation Database (LactMed®) [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Child Health and Human Development; 2006 [cité 27 sept 2023]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK501845/

94. Bauman JL, DiDomenico RJ, Viana M, Fitch M. A Method of Determining the Dose of Digoxin for Heart Failure in the Modern Era. Arch Intern Med. 11 déc 2006;166(22):2539-45.

95. Zanoli L, Lentini P, Fatuzzo P. Digoxin and Hypermagnesuria. Nephron. 2018;138(2):89-91.

96. Carfora A, Petrella R, Borriello R, Aventaggiato L, Gagliano-Candela R, Campobasso CP. Fatal poisoning by ingestion of a self-prepared oleander leaf infusion. Forensic Sci Med Pathol. mars 2021;17(1):120-5.

97. (PDF) Mechanisms, Manifestations, and Management of Digoxin Toxicity in the Modern Era [Internet]. [cité 1 oct 2023]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/7223169_Mechanisms_Manifestations_and_Management_of_Digoxin_Toxicity_in_the_Modern_Era

98. Smith TW, Antman EM, Friedman PL, Blatt CM, Marsh JD. Part I Digitalis glycosides: Mechanisms and manifestations of toxicity. Prog Cardiovasc Dis. 1 mars 1984;26(5):413-58.

99. Digitalis Toxicity Treatment & Management: Approach Considerations, GI Decontamination and Enhanced Elimination, Treatment of Electrolyte Imbalance. 10 mars 2023 [cité 2 oct 2023]; Disponible sur: https://emedicine.medscape.com/article/154336-treatment?icd=login_success_email_match_norm#showall

100. Joost A, Kurowski V, Kaiser A. INTOXICATION BY DIGITALIS PURPUREA IN SUICIDAL INTENTION – A CASE REPORT. In 2010 [cité 3 oct 2023]. Disponible sur: https://www.semanticscholar.org/paper/INTOXICATION-BY-DIGITALIS-PURPUREA-IN-SUICIDAL-%E2%80%93-A-Joost-Kurowski/9cd7b3985b65c32559e5f5b8d4d60e8dfa0abeb0

101. Dubuc A. Intoxication à la digoxine. Pharmactuel [Internet]. 2000 [cité 3 oct 2023];33(1). Disponible sur: https://pharmactuel.com/index.php/pharmactuel/article/view/351

102. Curd J, Smith TW, Jaton JC, Haber E. The isolation of digoxin-specific antibody and its use in reversing the effects of digoxin. Proc Natl Acad Sci U S A. oct 1971;68(10):2401-6.

103. Bandara V, Weinstein SA, White J, Eddleston M. A review of the natural history, toxinology, diagnosis and clinical management of Nerium oleander (common oleander) and Thevetia peruviana (yellow oleander) poisoning. Toxicon. 1 sept 2010;56(3):273-81.

104. Jortani SA, Helm RA, Valdes R. Inhibition of Na,K-ATPase by oleandrin and oleandrigenin, and their detection by digoxin immunoassays. Clin Chem. oct 1996;42(10):1654-8.

105. Zhai J, Dong X, Yan F, Guo H, Yang J. Oleandrin: A Systematic Review of its Natural Sources, Structural Properties, Detection Methods, Pharmacokinetics and Toxicology. Front Pharmacol. 21 févr 2022;13:822726.

106. Khan I, Kant C, Sanwaria A, Meena L. Acute Cardiac Toxicity of Nerium Oleander/Indicum Poisoning (Kaner) Poisoning. Heart Views Off J Gulf Heart Assoc. 2010;11(3):115-6.

107. Stenkvist B, Bengtsson E, Eriksson O, Holmquist J, Nordin B, Westman-Naeser S, et al. CARDIAC GLYCOSIDES AND BREAST CANCER. The Lancet. 10 mars 1979;313(8115):563.

108. Khundmiri SJ, Amin V, Henson J, Lewis J, Ameen M, Rane MJ, et al. Ouabain stimulates protein kinase B (Akt) phosphorylation in opossum kidney proximal tubule cells through an ERK-dependent pathway. Am J Physiol Cell Physiol. sept 2007;293(3):C1171-1180.

109. Bejček J, Spiwok V, Kmoníčková E, Rimpelová S. Na+/K+-ATPase Revisited: On Its Mechanism of Action, Role in Cancer, and Activity Modulation. Mol Basel Switz. 28 mars 2021;26(7):1905.

110. Prassas I, Diamandis EP. Novel therapeutic applications of cardiac glycosides. Nat Rev Drug Discov. nov 2008;7(11):926-35.

111. Haas M, Wang H, Tian J, Xie Z. Src-mediated Inter-receptor Cross-talk between the Na+/K+-ATPase and the Epidermal Growth Factor Receptor Relays the Signal from Ouabain to Mitogen-activated Protein Kinases *. J Biol Chem. 24 mai 2002;277(21):18694-702.

112. Kometiani P, Liu L, Askari A. Digitalis-induced signaling by Na+/K+-ATPase in human breast cancer cells. Mol Pharmacol. mars 2005;67(3):929-36.

113. Winnicka K, Bielawski K, Bielawska A, Miltyk W. Dual effects of ouabain, digoxin and proscillaridin A on the regulation of apoptosis in human fibroblasts. Nat Prod Res. févr 2010;24(3):274-85.

114. Cerella C, Dicato M, Diederich M. Assembling the puzzle of anti-cancer mechanisms triggered by cardiac glycosides. Mitochondrion. 1 mai 2013;13(3):225-34.

115. Shin HK, Ryu BJ, Choi SW, Kim SH, Lee K. Inactivation of Src-to-Ezrin Pathway: A Possible Mechanism in the Ouabain-Mediated Inhibition of A549 Cell Migration. BioMed Res Int. 2015;2015:537136.

116. Zhao YT, Yan JY, Han XC, Niu FL, Zhang JH, Hu WN. Anti-proliferative effect of digoxin on breast cancer cells via inducing apoptosis. Eur Rev Med Pharmacol Sci. déc 2017;21(24):5837-42.

117. Nasu S, Milas L, Kawabe S, Raju U, Newman RA. Enhancement of radiotherapy by oleandrin is a caspase-3 dependent process. Cancer Lett. 28 nov 2002;185(2):145-51.

118. Bielawski K, Winnicka K, Bielawska A. Inhibition of DNA topoisomerases I and II, and growth inhibition of breast cancer MCF-7 cells by ouabain, digoxin and proscillaridin A. Biol Pharm Bull. juill 2006;29(7):1493-7.

119. Smith JA, Madden T, Vijjeswarapu M, Newman RA. Inhibition of export of fibroblast growth factor-2 (FGF-2) from the prostate cancer cell lines PC3 and DU145 by anvirzel and its cardiac glycoside component, oleandrin11Abbreviations: PARP, poly(ADP-ribose) polymerase; NF-κB, nuclear factor-κB; FGF-2, fibroblast growth factor-2; ER, endoplasmic reticulum; and MTT, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide. Biochem Pharmacol. 15 août 2001;62(4):469-72.

120. Mekhail T, Kaur H, Ganapathi R, Budd GT, Elson P, Bukowski RM. Phase 1 trial of Anvirzel™ in patients with refractory solid tumors. Invest New Drugs. 1 sept 2006;24(5):423-7.

121. Hong DS, Henary H, Falchook GS, Naing A, Fu S, Moulder S, et al. First-in-human study of pbi-05204, an oleander-derived inhibitor of akt, fgf-2, nf-κB and p70s6k, in patients with advanced solid tumors. Invest New Drugs. déc 2014;32(6):1204-12.

122. Roth MT, Cardin DB, Borazanci EH, Steinbach M, Picozzi VJ, Rosemury A, et al. A Phase II, Single-Arm, Open-Label, Bayesian Adaptive Efficacy and Safety Study of PBI-05204 in Patients with Stage IV Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma. The Oncologist. oct 2020;25(10):e1446-50.

123. Chou JC, Li JH, Chen CC, Chen CW, Lin H, Wang PS. Inhibitory Effects of Digoxin and Digitoxin on Cell Growth in Human Ovarian Cancer Cell Line SKOV-3. Integr Cancer Ther. 19 mars 2021;20:15347354211002662.

124. Wang Y, Hou Y, Hou L, Wang W, Li K, Zhang Z, et al. Digoxin exerts anticancer activity on human nonsmall cell lung cancer cells by blocking PI3K/Akt pathway. Biosci Rep. 6 oct 2021;41(10):BSR20211056.

125. Menger L, Vacchelli E, Kepp O, Eggermont A, Tartour E, Zitvogel L, et al. Trial watch: Cardiac glycosides and cancer therapy. Oncoimmunology [Internet]. 2 févr 2013 [cité 26 oct 2023];2(2). Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3601180/

126. Lin J, Zhan T, Duffy D, Hoffman-Censits J, Kilpatrick D, Trabulsi EJ, et al. A pilot phase II Study of digoxin in patients with recurrent prostate cancer as evident by a rising PSA. Am J Cancer Ther Pharmacol. 7 sept 2014;2(1):21-32.

127. Khan MI, Taft B, Rasku MA, Laber D, Chesney J, Miller DM. A phase II trial of biochemotherapy with cisplatin, vinblastine, dacarbazine, interleukin-2, interferon, and digoxin in melanoma matients. J Clin Oncol. 20 juin 2007;25(18_suppl):8573-8573.

128. Ren Y, Wu S, Burdette JE, Cheng X, Kinghorn AD. Structural Insights into the Interactions of Digoxin and Na+/K+-ATPase and Other Targets for the Inhibition of Cancer Cell Proliferation. Molecules. 16 juin 2021;26(12):3672.

129. Ahern TP, Tamimi RM, Rosner BA, Hankinson SE. Digoxin use and risk of invasive breast cancer: evidence from the Nurses' Health Study and meta-analysis. Breast Cancer Res Treat. 1 avr 2014;144(2):427-35.

Université de Poitiers

Faculté de Médecine et Pharmacie

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances,

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement,

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité,

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession,

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens,

De coopérer avec les autres professionnels de santé.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Signature de l'étudiant	du Président du jury
Nom :	Nom :
Prénom :	Prénom :

Version validée par la conférence des Doyens de facultés de Pharmacie le 7 février 2018

Résumé / Abstract

Le but de cette thèse est d'étudier les digitaliques sous tous les angles, que ce soit du point de vue botanique, historique, chimique et médical. Ce travail met l'accent sur ces composés aux propriétés cardiotoniques, ainsi que sur l'utilisation actuelle en cardiologie, tout comme leur toxicité déjà bien connue, à travers la présentation d'un cas d'intoxication au laurier rose. Enfin, cette thèse met en lumière les récentes découvertes concernant les effets anticancéreux des hétérosides cardiotoniques comme la digoxine et l'oléandrine, observés *in vitro* et *in vivo*, et qui permettront peut-être dans un futur proche de traiter des tumeurs cancéreuses.

Mots clés : Digitale pourpre, Laurier rose, Digitaline, Digoxine, Oléandrine, Insuffisance cardiaque, Fibrillation atriale, Intoxications aux digitaliques, Cancers, Cytotoxicité.

The main goal of this thesis is to study digitalis compounds from different point of view: botanical, historical, chemical, and medical. This work focuses on those compounds with cardiotonic properties and their actual use in the cardiology field, and their well-known toxicity, with the presentation of an intoxication case by Oleander. Finally, this thesis highlights the recent discoveries of the anti-proliferative effects of cardiac glycosides like digoxin and oleandrin, spotted *in vitro* and *in vivo*, that maybe one day, will treat cancer.

Keywords: Foxglove, Oleander, Digitoxin, Digoxin, Oleandrin, Heart Failure, Atrial fibrillation, Digitalis intoxication, cancer, cytotoxicity.