

■ **EN DEUX MOTS** ■ Une dizaine de sociétés dans le monde prélèvent et commercialisent chaque année quelques kilogrammes de venins de serpent. Les laboratoires hospi-

taliers ont commencé à utiliser les enzymes qu'ils contiennent à des fins de tests diagnostics. Elles interagissent en effet avec les protéines naturelles de la coagulation sanguine,

ce qui en fait des outils intéressants pour l'étude des troubles de la coagulation ou la surveillance et l'ajustement des traitements anticoagulants.

# Les venins. du diagnostic

Des laboratoires hospitaliers de pointe utilisent désormais les venins de serpent pour diagnostiquer des maladies ou suivre la réponse de l'organisme à un traitement.

**Jean-Philippe Chippaux** est chercheur à l'Institut pour la recherche et le développement à La Paz, en Bolivie.  
chippaux@ird.fr

L'utilisation des venins de serpent à des fins médicales ne coule pas de source. Les venins de cobra, mamba et autres crotales ne tuent-ils pas leurs victimes en quelques minutes ? Les enzymes présentes dans ces poisons sont pourtant de plus en plus utilisées dans les laboratoires hospitaliers pour le diagnostic de l'hémophilie ou encore la surveillance de traitements anticoagulants. Quant aux toxines, elles se sont montrées très utiles pour comprendre le fonctionnement de notre appareil neuromusculaire.

Une des substances utilisées à cette fin est précisément celle qui provoque la paralysie et l'arrêt respiratoire caractéristique des morsures de cobra : la neurotoxine- $\alpha$ . Injectée par les crochets du reptile, cette dernière reconnaît et se lie à des récepteurs spécifiques, les récepteurs cholinergiques. Situés au niveau des synapses entre neurones et muscles, ces récepteurs sont impliqués dans la transmission de l'influx nerveux assurant la commande musculaire. En les bloquant, la toxine provoque une paralysie, notamment celle des muscles du diaphragme, ce qui conduit à l'asphyxie.

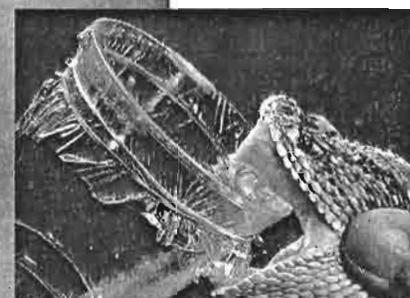
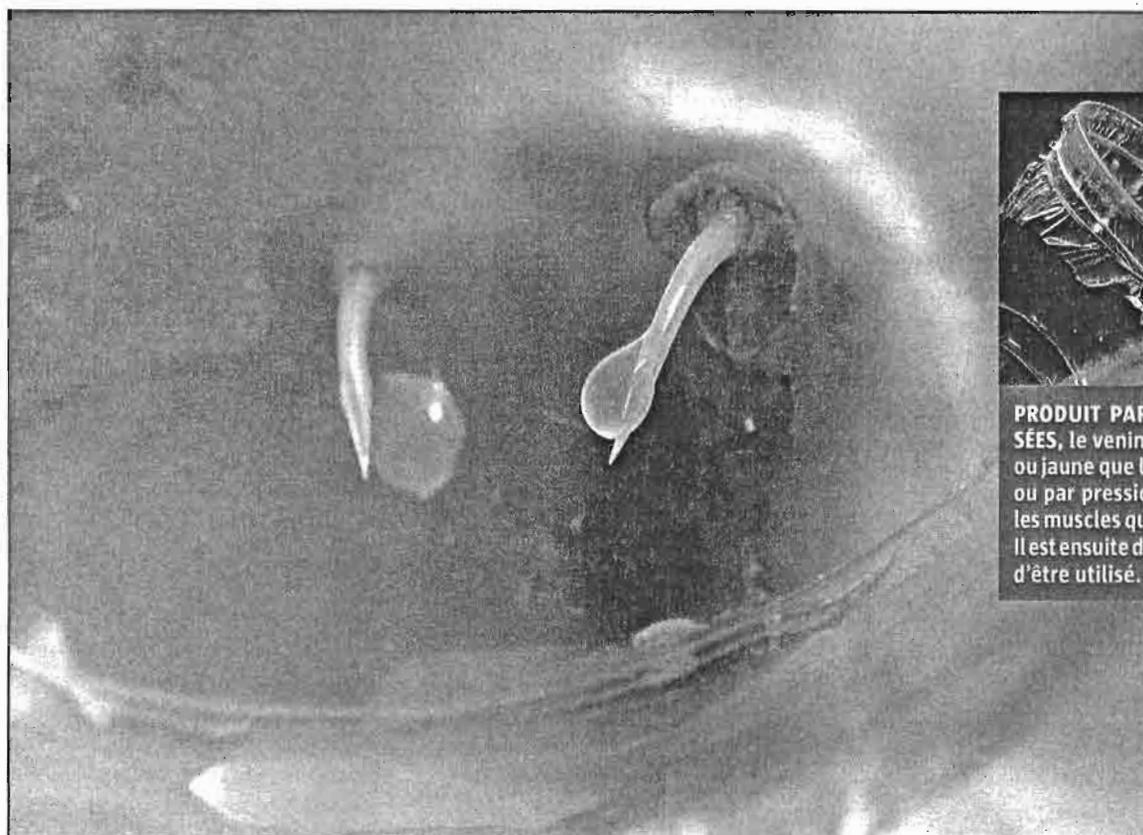
Les neurobiologistes ont rapidement trouvé un grand intérêt à cette toxine. Elle a permis par exemple, dans les années 1970, à Jean-Pierre Changeux, de l'Institut

Pasteur, de comprendre la structure et le fonctionnement du récepteur cholinergique. La neurotoxine- $\alpha$  présente en effet de subtiles différences avec l'acétylcholine, le médiateur qui se lie normalement aux récepteurs cholinergiques. Mais tandis que l'acétylcholine se lie une fraction de seconde au récepteur pour permettre le transfert de l'influx nerveux, la neurotoxine- $\alpha$  s'y accroche de façon définitive en interdisant tout passage de l'influx. En comparant le mode d'action de ces deux substances sur des muscles isolés de grenouille, les neurobiologistes ont compris certaines étapes du fonctionnement de notre appareil neuromusculaire. La forte affinité de la neurotoxine- $\alpha$  avec le récepteur cholinergique a également permis d'isoler le récepteur.

Elle a en outre conduit, à la fin des années 1990, à l'élaboration d'un test pour le diagnostic d'une maladie : la myasthénie [1]. Cette dernière touche environ 3 500 personnes en France. Elle se traduit par une sévère insuffisance des contractions musculaires et provoque une paralysie complète, qui évoque l'envenimation par morsure de cobra. En réalité, le patient fabrique des anticorps contre ses propres récepteurs cholinergiques. La transmission de l'influx nerveux gouvernant la commande musculaire est alors diminuée proportionnellement à la quantité de récepteurs détruits par ces anticorps.

Le clinicien évalue la sévérité de cette maladie et son

[1] M. Ohta et K. Ohta, *J. toxicol. Toxin. rev.*, 17, 337, 1998.



PRODUIT PAR DES GLANDES SPÉCIALISÉES, le venin est un liquide épais blanc ou jaune que l'on extrait électriquement ou par pression manuelle, en stimulant les muscles qui enveloppent les glandes. Il est ensuite desséché ou lyophilisé avant d'être utilisé. ©PHOTOS DANIEL HEUCLIN

évolution en mesurant le taux de ces anticorps dans le sang du malade, à l'aide d'un test mettant en jeu la neurotoxine- $\alpha$ . La toxine, couplée à un marqueur radioactif, est fixée sur des récepteurs cholinergiques de torpille, un poisson doté d'organes électriques particulièrement riches en récepteurs de ce type. Cette préparation est ensuite mélangée au sérum du malade, la fraction du sang contenant les anticorps. Tous les anticorps anti-récepteurs cholinergiques présents se fixent alors sur les récepteurs de torpille. Après élimination des récepteurs en excès, il est possible de quantifier le nombre d'anticorps en présence, en mesurant la radioactivité produite par la neurotoxine- $\alpha$ .

## Enzymes et coagulation

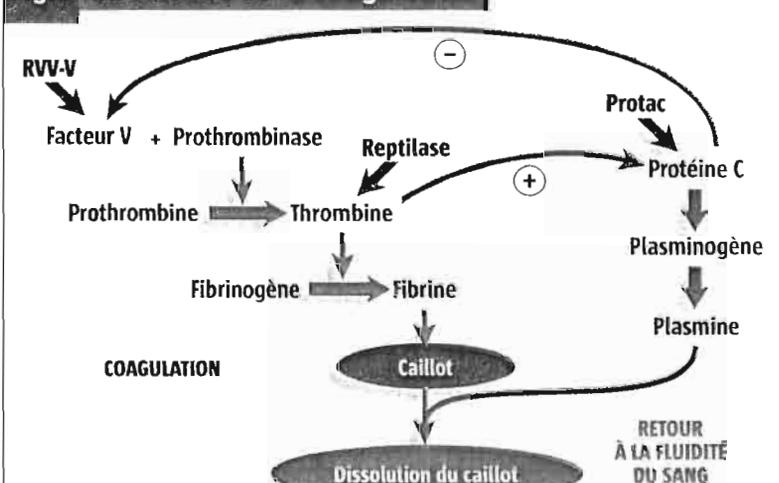
Plus récemment, ce sont les enzymes présentes dans les venins qui ont fait leur apparition dans les laboratoires hospitaliers. Il faut dire qu'elles sont d'une grande diversité – il en existe plusieurs milliers –, et que les enzymes des venins de *Viperidae* (vipères, crotales) et de quelques *Elapidae* australiens (la famille des cobras et des mambas) interagissent avec les protéines naturelles de la coagulation sanguine.

Lorsqu'une lésion survient au niveau d'un vaisseau, elle doit être rapidement obstruée pour arrêter le saignement : c'est la fonction du caillot sanguin. Une fois le vaisseau réparé, ce caillot doit pouvoir se dissoudre. En situation normale, ces deux grandes étapes, coagulation et retour à la fluidité sanguine, résultent d'une cascade complexe de réactions biochimiques, met-

tant en jeu plusieurs dizaines de protéines différentes, dans le sang, à la surface des plaquettes\* et sur la paroi des vaisseaux [fig. 1]. La coagulation est en outre contrôlée par des mécanismes régulateurs qui font intervenir ces protéines.

\* Une **plaquette** est une cellule sanguine sans noyau qui joue un rôle dans la coagulation.

Fig.1 La cascade de la coagulation



LA COAGULATION SANGUINE, qui aboutit à la formation d'un caillot, résulte d'une cascade de réactions biochimiques (en vert). Elle implique plusieurs dizaines de protéines, dont seules les principales sont représentées ici. Une fois le vaisseau réparé, la dissolution du caillot est assurée par une autre cascade (en bleu). Certaines enzymes de serpent (en violet) modifient ces mécanismes en interagissant spécifiquement avec l'une ou l'autre de ces protéines. © INFOGRAPHIE SYLVIE DESSERT

## POUR EN SAVOIR PLUS

■ G.S. Bailay, *Enzymes from Snake Venom*, Alaken Inc., Fort Collins, 1998.

■ J.-P. Chippaux, *Venins de serpent et envenimations*, IRD Éditions, coll. « Didactiques », 2002.

■ M. Goyffon, J. Heurtault, *La Fonction venimeuse*, Masson, 1995.

■ F.S. Jr. Markland, « Snake Venoms and The Hemostatic System », *Toxicon*, 36, 1749, 1998.

■ F.S. Pirkle, F.S. Jr. Markland, *Hemostasis and Animal Venoms*, Marcel Dekker Inc., 1988.

■ D. Mebs, *Animaux venimeux et vénéneux*, Lavoisier, 2006.

⇒ Or les enzymes de serpent peuvent interagir avec la plupart de ces protéines, soit en se substituant à l'une d'entre elles, soit en activant leur fonctionnement normal, soit, plus rarement, en inhibant le processus naturel. Cela en fait des outils intéressants pour l'étude des troubles de la coagulation sanguine ou le suivi des traitements anticoagulants.

Ce type de traitement nécessite en effet un ajustement permanent car il doit offrir au patient une protection suffisante contre la formation des caillots tout en minimisant le risque d'hémorragie. Cet ajustement est réalisé en fonction du résultat d'un test de coagulation qui consiste à mesurer le taux de prothrombine dans le sang du patient, une molécule impliquée dans la première étape de coagulation.

Cependant, la présence d'un anticoagulant perturbe le résultat de la plupart des tests de coagulation car il inhibe l'une ou l'autre des protéines sanguines actrices de la coagulation.

### Mimétisme

Les laboratoires contournent ce problème en utilisant un test diagnostique, le temps de reptilase, élaboré à partir de la reptilase extraite du venin de crotale « fer de lance » sud-américain.

Cette enzyme mime la thrombine, une protéine clé de la coagulation, en activant la coagulation selon un mécanisme voisin. Mais à la différence de la thrombine, la reptilase n'est pas sensible aux mécanismes régulateurs de la coagulation, ni à la plupart des

traitements anticoagulants, tels que l'héparine. Elle permet donc d'obtenir une coagulation sanguine et de mesurer *in vitro* la vitesse de coagulation du sang d'un patient alors même que celui-ci est sous traitement anticoagulant.

Une enzyme extraite d'un autre serpent, le mocassin d'eau, un crotale d'Amérique du Nord, permet, elle, de doser la protéine C, un régulateur de la coagulation. Le test diagnostique qui en découle, baptisé test au Protac®, est la technique la plus utilisée actuelle-

ment pour cette application.

Puissant activateur de la protéine C, le Protac® provoque *in vitro* un allongement du temps de coagulation proportionnel à la concentra-

tion de protéine C dans le sang du patient.

En l'associant à un autre test, le RVV-V provenant du venin de la vipère de Russell, le clinicien peut dépister une mutation dont sont porteurs 15 % de la population d'origine européenne : la mutation du facteur V, une protéine coagulante. Cette mutation rend le patient résistant à la protéine C. Il présente alors un risque élevé d'accidents vasculaires.

Le diagnostic se fonde sur l'utilisation successive des deux tests. Dans un premier temps, l'ajout de Protac® au plasma du patient active sa protéine C, ce qui va retarder la coagulation. On additionne ensuite du RVV-V, enzyme qui stimule le facteur V, coagulant. Le temps de coagulation est alors mesuré : en cas de mutation du facteur V, il est deux fois plus court que chez les sujets normaux et les patients sous anticoagulant. ■ J.-P. C.

## Une enzyme de serpent permet de mesurer *in vitro* la vitesse de coagulation du sang d'un patient

## TOXICITÉ Bestiaire venimeux

■ **SUR 2 700 ESPÈCES DE SERPENTS** dans le monde environ, la moitié est venimeuse et le quart dangereux pour l'homme en raison de la toxicité du venin ou de leur agressivité. Les espèces venimeuses se répartissent en quatre familles dont deux principales, les *Elapidae* et les *Viperidae*, et deux au nombre d'espèces dangereuses plus faible, *Colubridae* et *Atractaspididae*.

Les *Elapidae* regroupent les cobras, les mambas, les serpents corail et marins. On les observe sur tous les continents, à l'exception de l'Europe. Leur crochet venimeux est fixe et situé en avant du maxillaire. Leur venin est essentiellement neurotoxique. Il provoque une paralysie respiratoire rapidement mortelle.

Les *Viperidae* sont représentés par les vipères et les crotales. Ils vivent sur tous les continents, sauf l'Australie. Leur crochet venimeux est long et porté par un maxillaire court et mobile. Le venin est inflammatoire, hémorragique et nécrosant.

Certains *Colubridae* (couleuvres) possèdent des crochets venimeux situés en arrière de la gueule, ce qui réduit le risque d'inoculation à l'homme du venin, parfois aussi toxique que celui des *Elapidae* ou *Viperidae*.

Les *Atractaspididae* (vipères taupes) sont des serpents africains fouisseurs, relativement rares, qui n'occasionnent qu'exceptionnellement des accidents. Leur venin est cardiotoxique.



⇨ **CHERCHEUR MANIPULE UNE VIPÈRE** de Malaisie avant d'en extraire le venin. Ce dernier contient en effet une enzyme utilisée pour la surveillance des traitements anticoagulants. © VOLKER STEGER/SPL/COSMOS

Chippaux Jean-Philippe (2007)

Les venins du diagnostic. La Recherche, 408, 50-52

ISSN 0029-5671