

### 35. ACTION DU VENIN DE *NAJA NIGRICOLLIS* SUR LA COAGULATION SANGUINE

J. MEAUME, M. JOUANNET, Y. IZARD et P. BOQUET

*Institut Pasteur, Paris, France*

Parmi les ELAPIDAE africains, ceux de l'espèce *Naja* sécrètent un venin dont l'activité anticoagulante a été observée depuis fort longtemps (1).

Le mécanisme par lequel ces venins empêchent la coagulation du sang de se produire demeure mal expliqué. Le venin de *Naja nigricollis*, par exemple, ne présente aucun pouvoir anti-thrombique puisqu'il ne s'oppose ni à la coagulation du plasma, ni à celle du fibrinogène par la thrombine. L'effet inhibiteur se manifeste par contre au cours de la coagulation du sang total, du plasma recueilli sur oxalates et secondairement recalcifié, ou de la détermination du taux de prothrombine par la méthode de Quick. L'expérience montre également que l'incubation du venin de *Naja nigricollis* avec la thromboplastine tissulaire amène la destruction partielle de celle-ci. Malheureusement, dans des tests de coagulation plus complexes, la nature de l'effet anticoagulant n'apparaît pas clairement (2); à peu près toutes les hypothèses ont été envisagées concernant la destruction de tel ou tel facteur de coagulation et aucune certitude ne peut être acquise.

Substituant au venin brut de *Naja nigricollis* une fraction très anticoagulante (fraction III), obtenue par filtration du venin sur Sephadex G<sub>100</sub> (3, 4), nous avons cherché à déterminer la nature du facteur responsable de l'activité anticoagulante.

Les expériences de diffusion-précipitation (3, 4) montrent en effet la présence dans la fraction III de quatre antigènes.

L'un de ces antigènes est commun avec la fraction I. Un autre antigène a pu être identifié à la phospholipase. Le fait que la fraction I, soumise à un chauffage très bref à 96°, présente un pouvoir anticoagulant, suggère que le facteur anticoagulant est cet antigène commun aux fractions III et I. Mais sa nature demeure inconnue. Nous ignorons s'il s'agit d'une enzyme ou d'un inhibiteur. Aucune activité protéolytique ou estérasique n'a pu lui être imputée: la caséine, l'hémoglobine, la sérum-albumine ne sont pas hydrolysées, les esters synthétiques (TAME, BAME) ne sont pas scindés.

Si nous admettons que le facteur anticoagulant principal du venin de *Naja nigricollis* est cet antigène, devons-nous pour autant suivre Kruse et Dam (5) qui, comme Fleckenstein et Fettig (6), dénie toute activité anticoagulante à la phospholipase? Si l'on ajoute de très grandes quantités de phospholipides (Inosithin) à un plasma soumis à l'action de la fraction III du venin, on parvient à réduire considérablement l'effet anticoagulant observé. Il s'agit peut-être néanmoins d'un effet non spécifique et cette expérience ne prouve pas que la phospholipase dégrade les phospholipides nécessaires à la coagulation.

Outre cette activité anticoagulante difficile à préciser, le venin des *Naja* africains est capable de coaguler le sang de cheval. Boquet et Izard (7) observèrent en effet qu'à fortes doses, ce venin était susceptible, non plus de retarder, mais d'accélérer la coagulation.

L'addition de quantités croissantes de venin à du plasma humain exerce d'abord un effet anticoagulant qui augmente avec la dose de venin, puis un effet coagulant très intense.

La séparation du venin en différentes fractions (3, 4) permet de retrouver le facteur coagulant dans l'une d'elles (fraction I). La présence de calcium favorise l'activité de ce facteur, mais n'est pas indispensable. L'hypothèse de l'existence d'une enzyme de type thrombinique semble à exclure car la fraction I est totalement dépourvue d'action sur le fibrinogène pur. La possibilité d'une activation directe du facteur X par un mécanisme analogue à celui qui a été décrit dans le cas du venin de *Vipera russeli* (9, 10) ne nous a pas semblé devoir être retenue, car des plasmas de malades congénitalement privés de facteur X sont coagulés aussi vite que des plasmas normaux ou dépourvus des facteurs IX ou VII. Par contre, des plasmas adsorbés sur sulfate de baryum ou sur phosphate tricalcique, dépourvus des facteurs IX, VII et X ainsi que de la prothrombine vraie ne peuvent être coagulés. La présence de prothrombine apparaît donc comme indispensable à l'action du venin qui s'est révélé susceptible de coaguler seul une préparation contenant du fibrinogène pur et de la prothrombine purifiée.\*

Certains auteurs actuels, parmi lesquels Magnusson (11), estiment que l'activation directe de la prothrombine en thrombine résulte d'une protéolyse. Or la fraction I du venin de *Naja nigricollis* (fraction qui comporte plusieurs constituants) ne présente aucune activité protéolytique sur l'hémoglobine, la caséine, la sérum-albumine et les acides aminés estérifiés. La nature de ce constituant du venin pose de ce fait un problème particulièrement complexe. Il s'agit d'un constituant par ailleurs très sensible à la chaleur: il disparaît après quelques secondes de chauffage à 96°. La mise en évidence d'un facteur accélérant la coagulation du sang dans le venin de *Naja nigricollis* nous a incité à rechercher une substance analogue dans les venins des autres *Naja* africains.

Une expérimentation récente a pu nous montrer que le venin de *Naja haje* possède, comme celui de *Naja nigricollis*, un facteur coagulant.

Il ressort de ce court exposé que l'étude de l'activité des venins d'ELAPIDAE africains sur la coagulation apporte des faits expérimentaux utiles à notre connaissance de la coagulation sanguine comme à celle du problème de la filiation de ces serpents au cours de l'évolution. Dans cet ordre de faits, il est intéressant de noter qu'à la différence des *Naja* vivant en Asie, les ELAPIDAE australiens des espèces *Notechis* et *Pseudechis* (12, 13, 14) présentent un très net pouvoir coagulant. On peut se demander quelle relation existe entre ce pouvoir coagulant et celui des ELAPIDAE africains que nous venons d'exposer.

#### REFERENCES

1. NOC, F., *Ann. Inst. Pasteur*, 18, 387, 1904.
2. MEAUME, J., *Toxicon*, 4, 58, 1966.
3. BOQUET, P., IZARD, Y., JOUANNET, M., et MEAUME, J., *C. R. Acad. Sci.*, 262, 1134, 1966.

\* Préparée par le Docteur J.-P. SOULIER.

4. BOQUET, P., IZARD, Y., JOUANNET, M., et MEAUME, J., *Ann. Inst. Pasteur*, 1966, à paraître.
5. KRUSE, I., et DAM, H., *Biochim. Biophys. Acta*, **5**, 268, 1950.
6. FLECKENSTEIN, A., et FETTIG, O., *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, **216**, 415,, 1952.
7. BOQUET, P., et IZARD, Y., Expériences non publiées.
8. MEAUME, J., IZARD, Y., BOQUET, P., *C. R. Acad. Sci.*, **262**, 1650, 1966.
9. McFARLANE, R. G., et ASH, B. J., *Br. J. Haematol.*, **10**, 217, 1964.
10. ESNOUF, M. P., et WILLIAMS, W. J., *Thromb. Diath. Haemorr.*, **7**, 198,, 1962.
11. MAGNUSSON, S., Communication personnelle.
12. MARTIN, C. J., *J. Physiol.*, **15**, 380, 1893.
13. HOUSSAY, B. A., et SORDELLI, A., *C. R. Séanc. Soc. Biol.*, **81**, 12, 1918.
14. EAGLE, H., *J. exp. Med.*, **65**, 613, 1937.

