Mem. Inst. Butantan
Simp. Internac.
33(3):933-936, 1966

36. LES VENINS DE SERPENTS, SOURCE D'ENZYMES ANTICANCÉREUX

I. ASPECTS BIOCHIMIQUES FONDAMENTAUX DU PROBLÈME

L. GILLO

Laboratoire d'Enzymologie Tumorale, Bruxelles, Belgique

Introduction

Nous nous proposons d'exposer ici les résultats d'une recherche de trois années faite au Laboratoire de Biochimie de l'Institut Technique Supérieur de Chimie Meurice de la Province de Brabant et au Laboratoire de Pharmacodynamie de l'Université Libre de Bruxelles.

Le but de cette recherche était de vérifier si les venins de serpents ont ou non une activité anticancéreuse et de tenter de situer cette action dans l'une ou l'autre des fractions enzymatiques du venin.

Un exposé exhaustif des bases théoriques et des hypothèses fondamentales de cette recherche a été fait dans un article publié cette année par L. Gillo (1). Ce problème n'était pas nouveau. La plupart des travaux expérimentaux sur les tumeurs d'origine animale et en clinique humaine ont été publiés entre les années 1930 et 1940. Les résultats qui en découlèrent furent souvent positifs mais aussi inconstants. Quatre groupes de savants dont Calmette, Saenz et Costil (2) attribuèrent au venin de Cobra une action antitumorale alors que cinq autres lui déniaient toute action: Essex et Priestley (3), Morelli (4), Morelli et Focosi (5), Julius (6), Vannfalt (7), Rosenbohm (8). La recherche d'une activité antalgique éventuelle donna environ 50% de résultats positifs (1).

Devant l'inconstance des résultats, la thérapeutique du cancer par les venins animaux fut abandonnée vers 1950.

A la lumière des connaissances actuelles sur la composition enzymatique des venins, nous pensons que cet échec doit être attribué à une erreur de conception faite par les auteurs. En effet, leur hypothèse était que l'action anticancéreuse était due aux composants nécrosants, aux agents cytolytiques, aux neurotoxines du venin et donc intimement liée à leur toxicité. Ainsi Calmette (2), puis Chopra et Chowhan (9) et Rousseau (10) ont attribué l'activité anticancéreuse aux lysolécithinases. Yiengar (11) et d'autres y voyaiant l'action des protéases.

La plupart des chercheurs et cliniciens de l'école française, Grasset et des Ligneris (12), pensaient que cette action était liée aux toxines et titraient leurs préparations en unités-souris, unités basées directement sur le degré de toxicité. Il est compréhensible que, partant de telles hipóthèses et devant la néccesité d'utiliser des doses élevées pour atteindre le seuil d'activité, on ait abouti à l'intoxication de l'animal d'expérience ou du patient.

La croissance et la multiplication des cellules normales et cancéreuses ont été étudiées par les voies de la génétique biochimique et de l'enzymologie. L'étude du processus de croissance d'une cellule, de la synthèse des protéines cytoplasmiques sous le contrôle des acides nucléiques, des enzymes intracellulaires et des processus énergétiques rend très probable la possibilité d'une intervention des venins de serpents sur les processus cancéreux, par le moyen de leurs nucléases, leurs phosphatases, leurs ATPases, leurs inhibiteurs de déshydrogénases et bien d'autres enzymes non toxiques.

Contrairement à la conviction des premiers chercheurs, l'action antitumorale ou antalgique éventuelle est due à des enzymes non toxiques. Les anciens chercheurs ont fait une erreur de conception en attribuant cette action aux toxines. Par conséquent, dans les recherches expérimentales futures, les toxines et les lysolécithinases devront être écartées du complexe venimeux pour laisser apparaitre l'action des enzymes non toxiques responsables de l'effet antitumoral ou antalgique.

Resultats et discussion

Dans nos expériences, nous avons choisi le même venin que Calmette, le venin de Cobra, que a l'avantage de n'être ni protéolytique ni nécrosant. Nous avons étudié sur des milliers d'animaux l'action antitumorale de doses de ¼ à 1 gamma de venin de *Naja naja*, *Naja naja atra* et *Naja melanoleuca*, sur 9 types de tumeurs spontanées et greffées. Les méthodes utilisées à cet effet sont décrites dans la communication du Docteur Wirtheimer.

Nous avons pu démontrer que le venin total de *Naja naja atra* est tout aussi actif sur le carcinome d'Ehrlich que l'Actinomycine D, médicament chimiothérapique classique, inhibiteur du RNA messager. Ce venin total est moins toxique que l'Actinomycine D. Pour savoir si cette activité antitumorale était due aux toxines ou aux non toxines, nous avons approché ce problème par deux voies, la première consistant à apporter la preuve que les toxines ne sont pas actives, la seconde en démontrant que les enzymes, peu ou non toxiques, ont une activité.

Nous avons appliqué le test "in vitro" sur le carcinome d'Ehrlich à la cobratoxine par cinq fois recristallisée *. Cette cobratoxine est estrêmement toxique: sa LD_{50} est de 60 γ/Kg. Elle s'est révélée totalement inactive même aux doses sublétales de 75 γ/Kg qui entrainent rapidement la morte de plus de la moitié des souris.

La même expérience fut faite avec la lysolécithinase extraite par nous de notre venin de Cobra par chromatographie sur TEAE-cellulose. En présence et en absence de lécithine, cet enzyme réputé toxique et admis par beaucoup d'auteurs comme le principal agent anticancéreux n'a aucune action inhibitrice sur le carcinome d'Ehrlich même aux doses sublétales. Il est important d'ajouter qu'à toutes doses l'examen microscopique démontre que la lécithinase n'a aucune action destructrice sur cette cellule contrairement à ce qu'on a toujours pensé.

En conséquence nous pouvons conclure que ni la cobratoxine, ni la lysolécithinase ne sont directement actives sur le cancer d'Ehrlich.

Pour vérifier si certaines fractions, peu ou non toxiques, du venin de *N. n. atra* possédaient une activité anticancéreuse, le venin fut soumis aux méthodes

---

* Cette cobratoxine nous a été aimablement envoyee par le Prof. Yang du Kaohsuing Medical College — Kaohsuing — Formose.

classiques de fractionnement. Les pics obtenus furent caractérisés suivant leur toxicité, leur composition enzymatique et de plus leur pouvoir d'arrêt de la croissance et de la propagation du carcinome d'Ehrlich.

Certaines fractions sont très actives et peu toxiques, quelquefois vingt cinq fois moins nocives que le venin total dont elles étaient issues.

Le venin agirait à l'extérieur de la cellule en dégradant par voie enzymatique le facteur de propagation (13).

Resume

Il a été démontré que le venin de *Naja naja atra* a une action inhibitrice sur le carcinome d'Ehrlich.

Contrairement aux hypothèses des précédents chercheurs, cette action n'est pas liée aux fractions toxiques.

Il a été démontré que les fractions le plus toxiques du venin, soit la cobratoxine et la lysolécithinase sont dépourvues d'activité anticancéreuse. D'autre part, des fractions qui sont jusque vingt cinq fois moins toxiques que le venin total se sont révélées très actives.

Reconnaissance — Nous tenons à exprimer ici toute notre reconnaissance à la Province de Brabant, à la F. W. Breth Foundation de New York et à Monsieur Mattens de Bruxelles dont la confiance et le soutien matériel nous ont permis d'effectuer cette recherche.

Summary

It was demonstrated that *Naja naja atra* venom has an inhibitory action on the Ehrlich's carcinoma.

Contrary to previously supported theories, this action is not due to the toxic fractions: cobratoxin and lysolecithinase, the most toxic components of the venom, show any anticancerous action. Fractions 25 times less toxic than initial venom appearead to be very active.

Bibliographie

1. GILLO, L., *Ann. Soc. Med. Nat. Bruxelles*, **19**, 121, 1966.
2. CALMETTE, A., SAENZ, A., et COSTIL, L., *C. R. Acad. Sci.*, **197**, 205, 1933.
3. ESSEX, H. E., et PRIESTLEY, J. T., *Proc. Soc. exp. Biol.*, **28**, 550, 1931.
4. MORELLI, E., *Sperimentale*, **84**, 443, 1930.
5. MORELLI, E., et FOCOSI, M., *Z. Krebsforsch.*, **34**, 473, 1931.
6. JULIUS, H. W., *Acta Brev. Neerland.*, **5**, 49, 1935.
7. VANNFALT, K. A., *Uppsala Läkfören Förh*, **42**, 315, 1936.
8. ROSENBOHM, A., *Z. Krebsforsch.*, **53**, 307, 1943.
9. CHOPRA, R. N., et CHOWHAN, J. S., *Indian med. Gaz.*, **70**, 445, 1935.

10. ROUSSEAU, E., *C. R. Soc. Biol.*, **117**, 565, 1934.

11. IYENGAR, N., DUTT, N. K., et MUKERJI, B., *Indian med. Gaz.*, **77**, 409, 1942.

12. GRASSET, E., et des LIGNERIS, M., *C. R. Soc. Biol.*, **116**, 386, 1934.

13. GILLO, L., et WIRTHEIMER, C., *Nature*, **211**, 1422, 1966.