

57. ACTION NEUROMUSCULAIRE DES VENINS DE QUELQUES  
*CROTALIDAE, ELAPIDAE ET HYDROPHIIDAE*

JEAN CHEYMOL, FRANÇOIS BOURILLET, MONIQUE ROCH

*Institut de Pharmacologie, Faculté de Médecine, Paris, France*

Dans les trois grands groupes des serpents venimeux, OPISTOGLYPHES, PROTEROGLYPHES, SOLENOGLYPHES, les deux derniers sont pratiquement les seuls dangereux pour l'Homme.

Parmi les signes de l'intoxication on note pour beaucoup une action neuromusculaire. Nous nous sommes attachés à l'étude de cet effet produit par les venins de:

PROTEROGLYPHES

ELAPIDAE

*Naja*

*Naja naja*

*Naja haje*

*Naja nigricollis*

HYDROPHIIDAE

*Lapemis*

*Lapemis hardwickii*

*Hydrophis*

*Hydrophis cyanocinctus*

*Enhydrine*

*Enhydrine schistosa*

SOLENOGLYPHES

CROTALIDAE

*Crotalus*

*Crotalus durissus terrificus*

*C. d. terrificus*

*C. d. terrificus* var. *crotaminicus* (crotaminé)

Pour respecter l'ordre chronologique de nos recherches, nous examinerons d'abord les effets des venins de Crotale et la crotamine, puis les venins des *Naja* et des HYDROPHIIDAE, l'action inhibitrice neuromusculaire de ces deux derniers groupes étant voisine.

Les quantités réduites de venins mises à notre disposition nous ont obligé à chercher des préparations les économisant le plus possible.

Les schémas de ces essais comprennent:

la toxicité,

les essais sur le muscle strié, stimulation indirecte par le nerf, excitation directe du muscle,

préparation tibial antérieur de Rat *in situ*, innervé ou dénervé,  
 préparation nerf sciatique, muscle tibial antérieur, muscle soléaire *in situ*  
 de Chat,  
 préparation diaphragme isolé de Rat innervé ou dénervé,  
 préparation du *rectus abdominis* isolé de Grenouille,  
 parfois une courte incursion sur le muscle lisse,  
 préparation d'iléon isolé de Cobaye.

### VENIN DE *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS* var. *CROTAMINICUS* ET CROTAMINE

(Venins provenant de l'Institut Butantan (Dr. Schenberg), crotamine fournie par le Pr. J. Moura Gonçalves).

Ils ont des actions qualitativement semblables, ils seront donc traités ensemble.

TOXICITÉ (250 mcg/kg crotamine inject. i/v queue de la souris blanche), la crise a un aspect typique d'une durée de 2 à 3 minutes, on constate une contracture du dos avec rejet des pattes postérieures en arrière, les doigts des pattes antérieures recroquevillés sur eux-mêmes. L'animal se déplace en rampant sur les moignons de ses pattes antérieures ainsi que sur sa queue. Les crises se reproduisent plusieurs fois. Entre temps il y a une accélération respiratoire et une démarche anormale "en canard" sur la pointe des doigts des pattes postérieures.

#### PRÉPARATION NEUROMUSCULAIRE IN SITU DE RAT

##### ACTION PROPRE DIFFÉRENTE SELON LES DOSES:

25-50 mcg/kg i/v, pas de modification de l'amplitude des contractions mais diminution de l'aptitude à maintenir un tétanos.

100-200 mcg/kg, le muscle répond aux excitations mais il y a gêne à la décontraction jusqu'au niveau de base. On note une tachyphylaxie par répétition des doses, fait déjà signalé par les auteurs brésiliens.

400-500 mcg/kg, donne phénomène complexe:

- a — une forte contracture avec forte élévation du niveau de base, gêne de la décontraction et diminution de l'amplitude des contractions tant par stimulation indirecte (nerf) que par stimulation directe (muscle).
- b — retour à la ligne de base initiale et diminution de l'amplitude.
- c — retour à l'amplitude du départ et même augmentation de celles-ci par rapport à la normale.
- d — durée phénomène: 30 minutes environ, puis après temps variable (30-45 min.) apparaissent des contractures spontanées moins fortes mais typiques.
- e — une nouvelle injection est sans effet.

Le fait que les résultats sont identiques sur les mouvements entraînés par excitation indirecte ou directe *est en faveur d'une origine musculaire du phénomène.*

**PRÉPARATION DÉNERVÉE** (tibial antérieur dénervée). Sur un tel muscle excité directement une injection de crotamine produit une contracture mais elle est moins forte que celle entraînée par stimulation du nerf de l'autre patte. De plus la tachyphylaxie apparaît dès la 2.<sup>e</sup> injection sur le muscle dénervé. *Ceci est aussi en faveur d'une action directe sur le muscle.*

**INTERACTION AVEC LES PARALYSANTS NEUROMUSCULAIRES** — Nous avons utilisé un acétylcholinocompétitif (d-tubocurarine), un acétylcholinomimétique (C<sub>10</sub>).

*d-tubocurarine* — La contracture par la crotamine se produit comme si la préparation n'était pas curarisée, mais dans un 2.<sup>e</sup> temps les 2 substances agissent pour donner une inhibition complète avant retour des mouvements (Fig. 1).

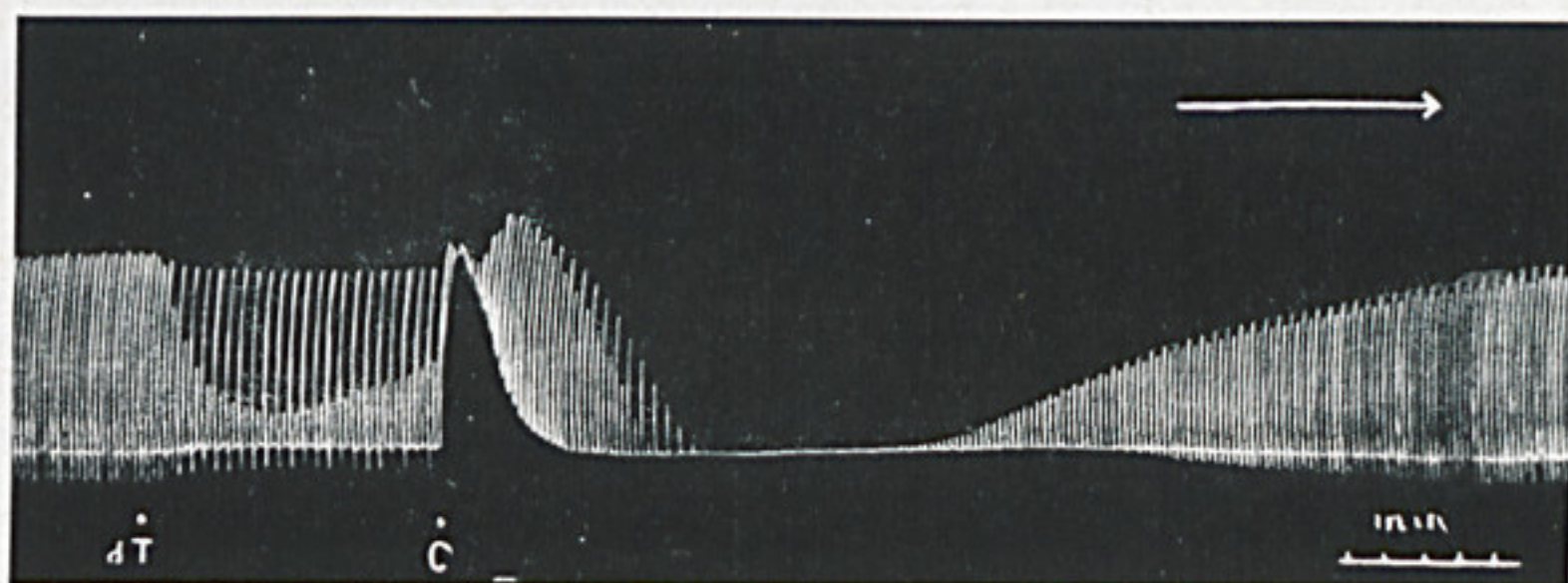


Fig. 1 — RAT: Contractions du muscle tibial antérieur *in situ*. Stimulation alternée du nerf (indirecte) et du muscle (directe) toutes les 10 secondes (nerf sciatique: 0,2 msec, 3 V — muscle 0,1 msec, 60 V). En dT: d-tubocurarine — 40 mcg/kg i/v: seule la contraction indirecte est déprimée. En C: Crotamine — 500 mcg/kg i/v: contracture typique avec reprise fugace des contractions indirectes puis inhibition complète des deux contractions.

*Le maintien de la contracture après curarisation est un argument de plus pour une action musculaire.*

La crotamine diminue la sensibilité à une 2.<sup>e</sup> injection ultérieure de d-tubocurarine.

*décaméthonium* — Après C<sub>10</sub>, la contracture est maintenue mais est moins forte que sur une préparation non partiellement inhibée. La crotamine augmente la sensibilité à une 2.<sup>e</sup> injection de C<sub>10</sub>.

#### ANTAGONISME DES IONS —

*Antagonisme des ions Ca<sup>++</sup>* — Comme pour la vératrine l'injection de CaCl<sub>2</sub> annule la contracture crotaminique et la prévient si CaCl<sub>2</sub> est injecté préalablement.

*Antagonisme des ions  $Mg^{++}$*  — L'action est du même type qu'avec  $Ca^{++}$ , ils sont moins toxiques mais leur effet est plus fugace.

**TACHYPHYLAXIE CROISÉE** — Nous avons montré une tachyphylaxie croisée entre crotamine et venin à crotamine et vice-versa. Par contre le venin sans crotamine et la crotamine administrés l'un après l'autre et vice-versa n'ont entraîné aucune atténuation de la contracture crotaminique. *La tachyphylaxie serait donc due à cette dernière substance.*

#### PRÉPARATION NERF PHRÉNIQUE — DIAPHRAGME ISOLÉE DE RAT

**ACTION PROPRE** — Crotamine (7 mcg/ml) entraîne une action contracturante avec élévation du niveau de base et décontraction difficile, la contracture est généralement immédiate ou peu différée. Elle décroît sans lavage, progressivement mais reparaît par lavage. Puis des contractures apparaissent spontanément à intervalles longs imprévisibles.

**ACTION DES IONS** —  $Ca^{++}$  prévient la contracture ( $CaCl_2$  200 mcg/ml) celle-ci apparaît au lavage.  $Ca^{++}$  supprime la contracture en cours.  $Mg^{++}$  d° mais abolit plus difficilement une contracture en cours.

#### INTERACTION AVEC LES PARALYSANTS NEUROMUSCULAIRES

*d-tubocurarine* (dose entraînant une faible paralysie). La crotamine entraîne une faible contracture qui apparaît nettement au lavage.

*décaméthonium*, après très faible contracture par crotamine et lavage n'entraîne pas de contracture importante.

**TACHYPHYLAXIE CROISÉE** obtenue sur ce test par venin à crotamine et crotamine ou vice-versa.

#### RECTUS ABDOMINIS DE GRENOUILLE

**ACTION PROPRE** — Aucun effet contracturant sur ce test.

2 à 5 mcg/ml de crotamine sensibilise considérablement le *rectus* au  $K^+$  doublant ou triplant les effets du  $K^+$  (30 à 45 min. après), cette sensibilisation persiste après lavage et se prolonge 12 heures et plus. Les ions  $Ca^{++}$  (250 mcg/ml) suppriment les effets de la crotamine vis à vis du  $K^+$ .

10 mcg/ml de crotamine doublent les effets de l'acétylcholine, mais cette action disparaît après lavage.

#### ILÉON DE COBAYE

La crotamine (2,5 mcg/ml) provoque la contracture des fibres lisses avec apparition des mouvements spontanés de la fibre lisse, disparaissant par lavages répétés. Peu ou pas d'action sensibilisante à l'acétylcholine.

## VENIN DE *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS* SANS CROTAMINE

**TOXICITÉ** — 250 mcg/kg i/v chez la Souris provoquent une gêne respiratoire de toutes les souris après 5 minutes. 50% meurent en 24 heures. Ce venin est donc plus toxique que celui à crotamine, conclusion donnée également par Vital-Brazil qui pense que la toxicité du venin du *C. d. terrificus* est due à la crotoxine.

**PRÉPARATION NEUROMUSCULAIRE *IN SITU* DE RAT** — Après une légère augmentation de l'amplitude des contractions au moment de l'injection, on observe une paralysie de la préparation très lente à s'établir et *irréversible*, les myogrammes sont identiques sur le tibial antérieur excité directement comme sur le tibial excité indirectement par son nerf. *Il semble donc que le venin agisse directement sur le muscle.*

Très léger et fugace antagonisme par  $\text{Ca}^{++}$  et chlorhydrat de Choline. Après venin sans crotamine le venin à crotamine exerce son effet contracturant habituel si la paralysie n'est pas trop avancée, mais l'effet est atténué. Le venin sans crotamine sensibilise aux inhibiteurs neuromusculaires tant d-tubocurarine que succinylcholine.

Si sur une préparation neuromusculaire de Chat, on injecte dans l'artère tibiale de l'acétylcholine, on a une contraction plus grande ou égale à celle donnée par l'excitation indirecte par le nerf, après le venin l'effet acétylcholinique est diminué. *Donc les récepteurs de la plaque motrice paraissent également touchés.* Sur le diaphragme isolé de Rat on note une paralysie progressive lente et irréversible.

**RECTUS ABDOMINIS DE GRENOUILLE** — Après un certain temps (doses  $\geq$  à 10 mcg/ml) on note des contractions de grande amplitude mais de courte durée atténuables ou supprimables par les ions  $\text{Ca}^{++}$ . Pas des modifications des sensibilités au  $\text{K}^+$  ou à l'A/C.

L'action contracturante de la crotamine est-elle vératrinique? Ce rapprochement a été présenté par Moussatché et Gonçalves en 1956. Quatre points sont communs entre les effets de ces deux substances:

- 1 — Mêmes symptômes d'intoxication chez la Souris.
- 2 — Sensibilisent le *rectus abdominis* de Grenouille aux  $\text{K}^+$  (c'est l'effet vératrinique de BACQ).

3 — Gênent la décontraction du muscle.

4 — Ont leurs effets antagonisés par les ions  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Mg}^{++}$ .

Par contre d'autres effets sont nettement différents. Entre autres:

1 — Sur une préparation neuromusculaire non stimulé, la crotamine provoque une contracture, la vératrine ne le fait pas.

2 — Sur une préparation neuromusculaire stimulée directement ou indirectement, isolée ou *in situ*, la vératrine provoque une augmentation de l'amplitude des contractions sans élévation de la ligne de base alors que la crotamine provoque une élévation de la ligne de base et diminution pendant la contracture de l'amplitude des contractions.

3 — La crotamine présente une paralysie secondaire jamais observée avec la vératrine.

4 — La crotamine présente le phénomène de tachyphylaxie et non la vératrine.

5 — Les effets de la vératrine varient en fonctions de la fréquence de stimulation, alors que ceux de la crotamine sont identiques, quelle que soit la fréquence de stimulation.

6 — Après d-tubocurarine (dose entraînant une paralysie partielle), la crotamine produit une contracture puis la paralysie souvent totale. La vératrine entraîne la reprise des contractions et l'augmentation d'amplitude au-delà du niveau d'origine.

#### VENINS DE *NAJA* (*N. naja*, *N. haje*, *N. nigricollis*)

(Venins provenant de l'Institut Pasteur (annexe de Garches — Dr. Boquet, Paris))

Les actions *qualitatives* sont du même type pour les trois, nous décrirons plus particulièrement celles du *N. naja* indiquant à la fin les différences surtout d'ordre quantitatif entre les trois.

**TOXICITÉ** — L'aspect qualitatif est toujours semblable mais la valeur quantitative assez variable d'un échantillon à l'autre bien que ceux-ci soient conservés à l'état sec en tubes bien bouchés, parfois scellés et en glacière. Chiffres variables. Souris blanche ( $DL_{50}$  i/v allant de 390 mcg/kg à 850 mcg/kg). Les solutions sont toujours préparées extemporanément, l'activité diminuant en 24 à 48 heures de façon sensible.

La mort présente toujours le même aspect. Après un temps de latence plus ou moins long, gêne respiratoire qui s'accroît jusqu'à l'asphyxie, le cœur continuant à battre après l'arrêt respiratoire.

Même tableau, chez le Poussin de 8 jours, bien que celui-ci soit plus sensible que la Souris, la  $DL_{50}$  i/v se situant vers 100 mcg/kg.

#### PRÉPARATION NEUROMUSCULAIRE *IN SITU* DE RAT

**ACTION PROPRE** — Après injection par voie i/v ou i/artérielle, la paralysie s'installe après un temps de latence plus ou moins long, selon la dose administrée, elle est lente (plusieurs heures), progressive et irréversible dans les 7 à 8 heures des expériences.

Si l'on enregistre l'excitation directe et indirecte du muscle, on constate que le muscle reste contractile jusqu'à la fin, même quand l'excitation indirecte par le nerf est inefficace.

*Cet aspect est comparable à une curarisation classique, la transmission nerveuse est annulée alors que la contraction directe par excitation du muscle persiste.*

**ESSAI D'ANTAGONISTES** — La néostigmine, l'édrophonium sur une paralysie par venin de *Naja* encore à moitié des contractions normales, assure une reprise nette mais fugace.

Sur une même préparation en cours de paralysie par venin de *Naja*, le venin de *Crotalus durissus terrificus crotaminicus*, donne sa contracture habituelle, puis une reprise des mouvements, mais la paralysie *progressive* et *définitive* réapparaît après.

INTERACTION AVEC INHIBITEURS NEUROMUSCULAIRES, D-TUBOCURARINE — Alors que l'on peut injecter par voie i/v jusqu'à 6 fois 20 mcg/kg de d-tubocurarine sans curarisation, les mêmes injections après une seule injection de 100 mcg/kg de venin de *N. naja* sont toujours progressivement efficaces.

Avec la succinylcholine les résultats sont contradictoires. *Chose peu étonnante le Rat ne réagissant pas de façon pure aux acétylcholinomimétiques, la première injection agit selon ce type, mais par répétition des doses l'évolution se fait vers le type compétitif.*

#### CHUTE DE LA TÊTE DU LAPIN

Sur des lapins étalonnés par rapport à la d-tubocurarine ou à la succinylcholine, nous avons montré qu'une injection de venin de *N. naja* (80 mcg/kg) diminuait de 50% les doses de d-tubocurarine nécessaires pour obtenir la chute de la tête et ceci, sensible 9 heures après l'injection du venin se maintient en s'atténuant jusqu'au 9.<sup>e</sup> jour.

*Pour les raisons indiquées ci-avant, les résultats avec la succinylcholine sont contradictoires.*

DIAPHRAGME ISOLÉ DE RAT — Le venin de *N. naja* entraîne après un certain temps de latence une contracture (élévation du niveau de base) disparaissant par lavage. En même temps s'installe la paralysie progressive, lente, irréversible. Néostigmine, édrophonium antagonisent nettement mais passagèrement la paralysie. Les ions  $Ca^{++}$  et  $Mg^{++}$  agissent de même. Le venin de *C. d. terrificus crotaminicus* donne sa contracture habituelle, mais la paralysie réapparaît inexorable.

Comme pour la préparation *in situ*, le venin de *N. naja* sensibilise le diaphragme à la d-tubocurarine. Avec la succinylcholine pas de sensibilisation mais parfois antagonisme. Ceci augmente la parenté de l'action du venin de *N. naja* avec les acétylcholinocompétitifs.

DIAPHRAGME DÉNERVÉ ISOLÉ DE RAT — Sur une telle préparation les mouvements provoqués par excitation directe du muscle étant enregistrés si on arrête les mouvements et ajoute de l'A/C durant l'arrêt, on a une contraction d'amplitude normale. Après addition de venin on voit l'action de l'A/C disparaître (Fig. 2). On retrouve ces effets sur une préparation *in situ* de Chat par injection d'A/C dans l'artère tibiale avant et après venin de *N. naja*.

On peut donc admettre que le venin de *Naja* diminue la sensibilité des plaques motrices à l'acétylcholine.

RECTUS ABDOMINIS DE GRENOUILLE — A doses faibles le venin de *N. naja* n'a aucun effet. A doses fortes on obtient des contractures, ne disparaissant pas par lavage. A la dose de 0,5 mcg/kg, on a suppression des effets de l'acétylcholine, mais aucune action sur les effets du  $K^{+}$ .

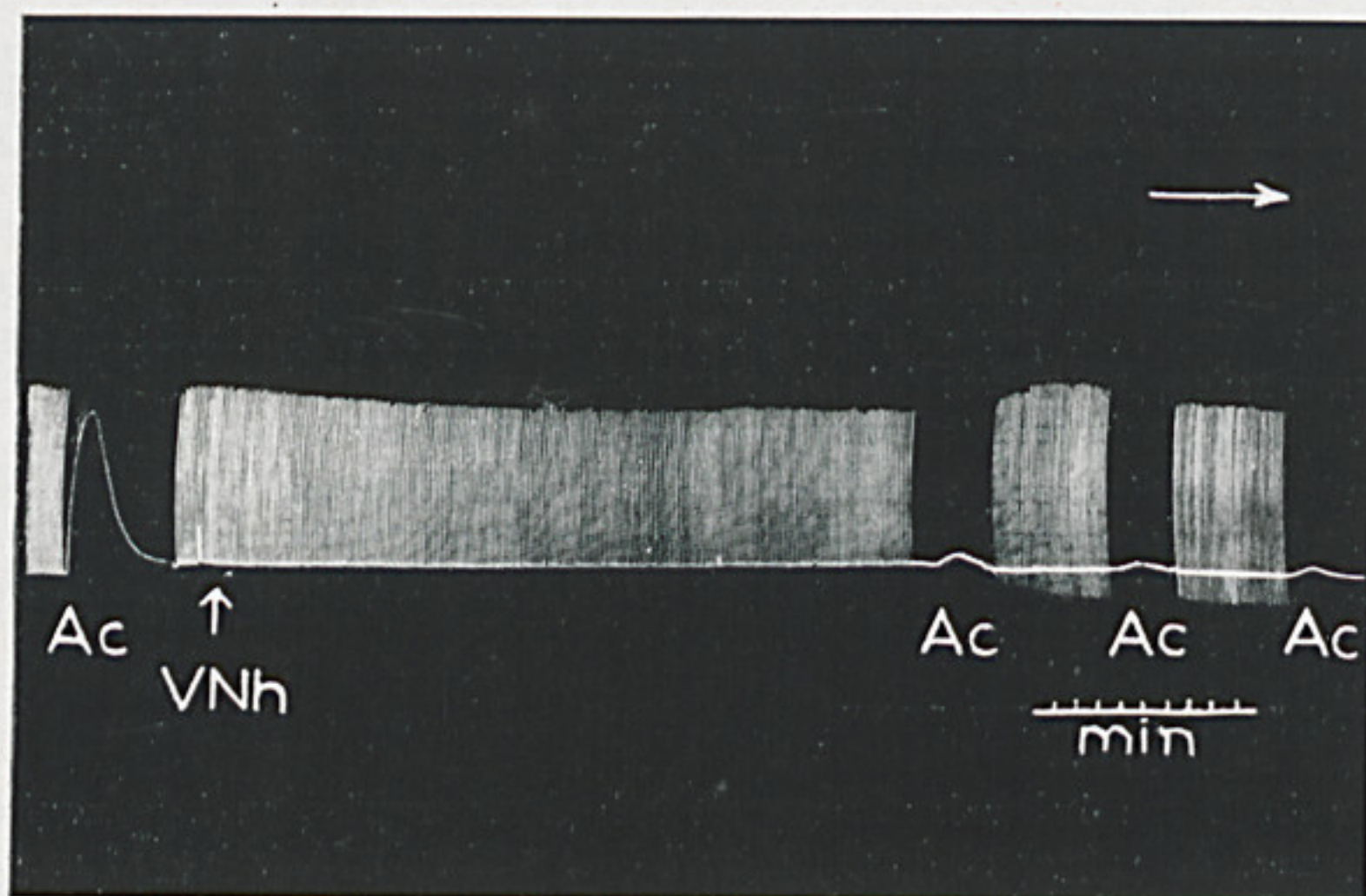


Fig. 2 — RAT: Hémi-diaphragme chroniquement dénervé et isolé: Stimulation du muscle (0,1 c/s — 0,1 à 0,2 msec — 60-80 V). La stimulation électrique est interrompue pour permettre l'addition au bain de l'acétylcholine (30 sec) et le lavage continu de la préparation (9,5 min). La stimulation électrique est reprise 5 min avant une nouvelle addition d'acétylcholine. En Ac, l'acétylcholine (0,75 mcg/ml) est ajoutée avant et 30-45 et 60 min après l'addition (en VNH) de 1 mcg/ml de venin de *Naja haje*. Solution de Tyrode — Bain de 50 ml à 36-37°C — Oxygénation par 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>.

*Quelques différences entre les trois venins de Naja:* Réserve faite des différences d'activité d'un échantillon à un autre, il nous a paru que le venin de *N. haje* était quantitativement le plus paralysant (dose minima active 100 mcg/kg i/v). L'étude neuromusculaire du venin de *N. nigricollis* est difficile à montrer sur l'animal entier à cause de son action cardiovasculaire brutale choquant beaucoup les sujets. L'injection répétée et lente de faibles doses (50 à 100 mcg/kg) nous a permis d'expérimenter.

Notons également que sur le diaphragme isolé de Rat, l'antagonisme par la néostigmine est plus marqué sur le venin de *N. nigricollis*.

#### VENINS D'HYDROPHIIDAE: *Lapemis hardwickii*, *Hydrophis cyanocinctus*, *Enhydrina schistosa*

(Venins provenant de l'Institut Pasteur de Saigon, Dr. Barthe)

Les trois venins expérimentés ont des actions qualitatives communes, nous pouvons donc traiter leur action neuromusculaire en même temps.

TOXICITÉ — V. *Lapemis hardwickii*: DL<sub>50</sub> i/v Souris 440 mcg/kg voisine de celle du *Naja haje*, le plus toxique des 3 *Naja* que nous avons étudiés. On constate une excitation légère après l'injection, après un temps de latence de

10 à 15 minutes, une gêne respiratoire s'installe, suivie d'une paralysie progressive généralement mortelle. Après une dose non mortelle, il faut au moins 5 heures pour que les troubles respiratoires disparaissent.

**PRÉPARATION NEUROMUSCULAIRE DE RAT** — L'excitation électrique indirecte par le nerf devient inefficace, l'excitation électrique directe par le muscle reste efficace (dose paralysante seuil 75-100 mcg/kg). Il y a une grande ressemblance avec l'effet du venin de *Naja*, mais ici pas d'effet hypotenseur conjoint gênant.

*Donc type curarisation classique, mais la paralysie est irréversible.* Néostigmine et édrophonium ont une action antagoniste fugace. Il y a sensibilisation nette aux doses non paralysantes de d-tubocurarine.

**SUR LA PRÉPARATION ISOLÉE DIAPHRAGME DE RAT**, on note une paralysie lentement irréversible s'installant après un temps de latence plus ou moins long selon la dose (2 mcg/ml — la paralysie apparaît après 20 à 30 min., devient totale, malgré les lavages, 30 à 40 minutes après). Là encore, l'excitation électrique indirecte par nerf devient inefficace, l'excitation électrique directe du muscle reste efficace. Mêmes antagonismes fugaces par néostigmine et édrophonium. Même sensibilisation nette aux doses non paralysantes de d-tubocurarine.

#### ACTION DE L'ACÉTYLCHOLINE EXOGÈNE

a) Sur un diaphragme chronique dénervé, isolé 10 jours après, l'excitation directe du muscle étant interrompue, l'addition d'A/C n'entraîne aucune contraction après venin d'HYDROPHIIDAE.

b) Sur une préparation *in situ* de Chat, l'excitation indirecte étant interrompue, l'injection dans l'artère tibiale d'A/C, n'entraîne aucune contraction après venin de *Lapemis* (Fig. 3).

#### RECTUS ABDOMINIS ISOLÉ DE GRENOUILLE

Sur ce test venins d'HYDROPHIIDAE: pas d'action propre, diminution considérable des effets de l'A/C, pas de sensibilisation aux ions  $K^+$ .

En conclusion action neuromusculaire du même type que celle des *Naja*, mais peut-être plus dépouillée, car il n'y a pas de facteur cardiovasculaire donc l'action hypotensive surajoutée rend parfois pour ceux-ci l'expérimentation difficile sur les préparations *in situ*.

*Mécanisme d'action périphérique neuromusculaire des venins de Naja et d'HYDROPHIIDAE étudiés.*

Le trois venins de *Naja* (*N. naja*, *N. haje*, *N. nigricollis*) et les trois venins d'HYDROPHIIDAE (*Lapemis hardwickii*, *Hydrophis cyanocinctus*, *Enhydriana schistosa*) étudiés ont une action neuromusculaire du même type. Cette action ressemble nettement à une curarisation typique. On constate après leur administration:

Arguments pour type curarisation classique (type Claude Bernard)

1 — l'excitation électrique indirecte par le nerf devient inefficace, l'excitation électrique du muscle reste efficace.

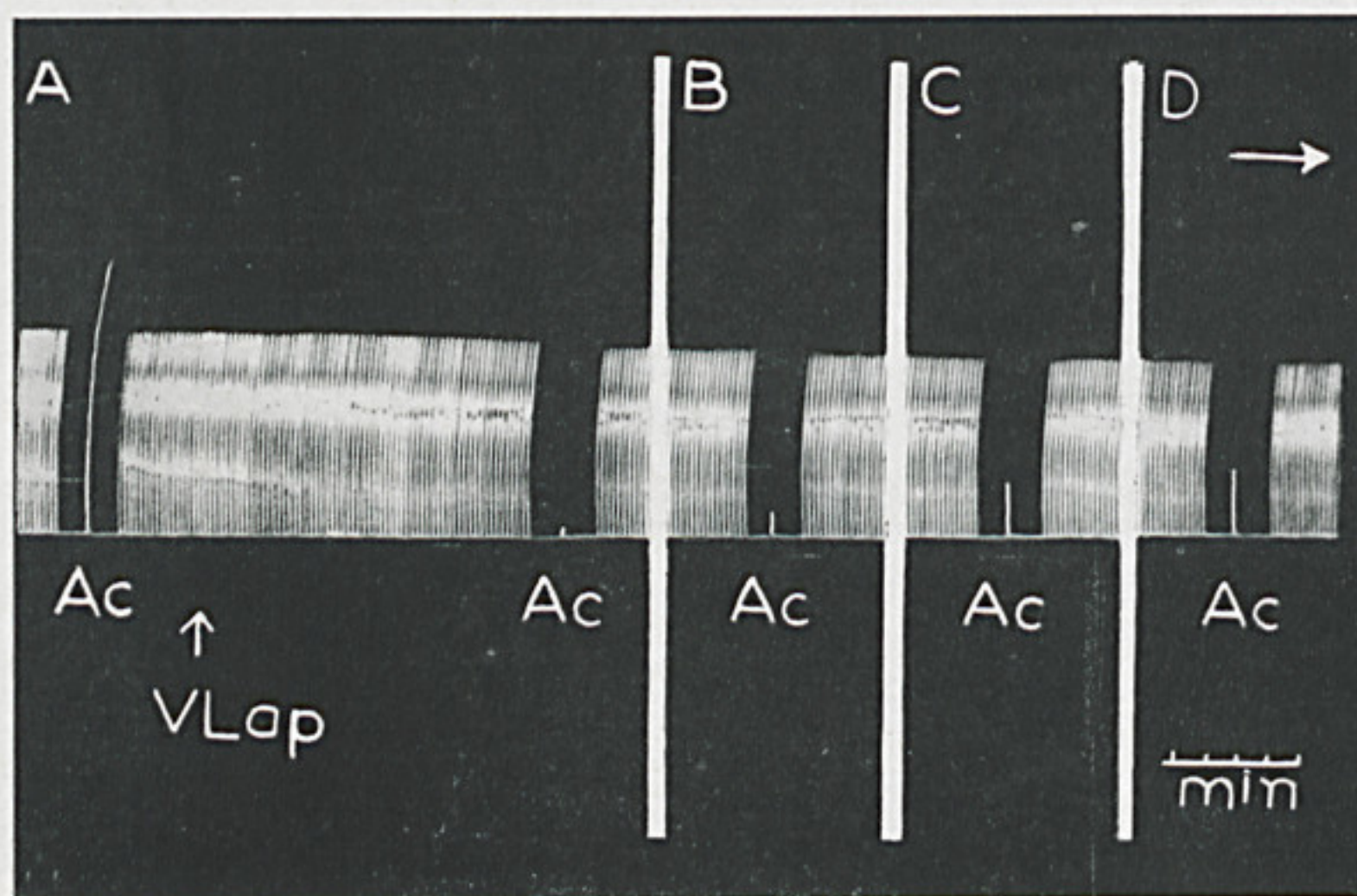


Fig. 3 — CHAT: Contractions du muscle tibial antérieur *in situ*. Stimulation du nerf sciatique (0,3 msec — 3 V — 0,1 c/sec) interrompue pendant 2 min pour permettre l'injection rapide d'acétylcholine en Ac (2,5 mcg) dans l'artère tibiale (portion distale à contre courant). A: contracture témoin en V Lap, injection i/v de 50 mcg/kg de venin de *Lapemis* (dose paralysante seuil). La contracture est presque totalement inhibée au bout de 12 min: elle récupère ensuite progressivement au bout de 30 min (B), 45 min (C) et 1 h (D), mais sans jamais pouvoir atteindre l'amplitude initiale.

- 2 — néostigmine, édrophonium, antagonisme, net mais fugace.
- 3 — synergie avec les acétylcholinocompétitifs, antagonisme (?) avec acétylcholinomimétiques.
- 4 — injection directe dans l'artère (Prep. nerf-muscle *in situ*) inefficace addition d'A/C diaphragme isolé innervé ou énérvé (depuis 15 jours) inefficace.

Ceci montre que l'A/C exogène n'agit plus sur les récepteurs spécifiques et laisse supposer qu'il en est de même pour l'A/C endogène. S'il y a diminution de la synthèse de l'A/C (?), cela ne tient pas à un déficit en choline, l'administration de celle-ci ne modifiant pas la paralysie.

Aux doses supraliminaires de venin, l'augmentation de fréquence des excitations (augmentant la consommation d'A/C endogène) paraît accélérer la paralysie.

- 5 — diminution ou suppression des effets de l'A/C sur le *rectus abdominis* de Grenouille.

#### *Arguments contre une curarisation classique:*

- 1 — temps de latence plus ou moins prolongé et paralysie irréversible,
- 2 — pas d'antagonismes vrais, puisque fugaces.

Bien qu'il semble y avoir avec ces venins une action sur les récepteurs spécifiques à l'acétylcholine de la plaque motrice, on ne peut donc l'assimiler à la paralysie réversible par les acétylcholinocompétitifs (curares historiques ou substances de synthèse). Le blocage des récepteurs paraît ici irréversible.

### CONCLUSIONS

D'une façon un peu simpliste, on peut opposer:

L'action *musculaire* des venins de CROTALIDAE: contracturante dans le cas des venins à crotamine, paralysante pour les venins sans crotamine.

L'action curarisante de type compétitif des venins de *Naja* et d'HYDROPHIIDAE.

### SUMMARY

I. The neuromuscular actions of several cobra (common cobra, *Naja naja*, Egyptian cobra, *N. haje*, and spitting cobra, *N. nigricollis*) and sea-snake (*Lapemis hardwickii*, *Hydrophis cyanocinctus* and *Enhydrina schistosa*) venoms were studied as well as those of both varieties of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) venom, the crotamin containing one and the variety devoid of that substance. The actions of crotamin itself, a basic protein isolated by Moura Gonçalves, was also investigated.

II. All three cobra venoms studied are neuromuscular blocking agents: they exert a peripheral, slowly induced and irreversible action. The paralysis of neuromuscular transmission appears concurrently with a cardiovascular depression on *in situ* preparations or with a contracture on isolated preparations. *N. haje* venom is a more potent neuromuscular blocking agent than a cardiovascular depressing or contracture inducing substance while *N. nigricollis* venom is more active in producing cardiovascular depression or skeletal muscle contracture than in eliciting neuromuscular blockade. The venom of *N. naja* occupies, from this point of view, an intermediate position.

1. The skeletal muscle paralysis is not due to a direct action of the cobra venoms on the muscle fibre; the contracture, on the contrary, is produced at this level.

2. The interruption of neuromuscular transmission produced by the *Naja* venoms is, at least in some measure, explainable by a slow and irreversible inhibition of end-plate receptors: therefore their neuromuscular blocking action resemble a curarization in Cl. Bernard sense. It is with the venom of *N. naja* that this inhibition of receptors can be better evidenced.

3. It is assumed, without direct evidence, that these venoms also exert a presynaptic action.

III. All three HYDROPHIIDAE venoms studied show qualitatively identical neuromuscular blocking properties. Their mechanism of action is very close to that of the *Naja* venoms: paralysis of neuromuscular transmission by a slow

and irreversible inhibition of end-plate receptors. On the other hand, the HYDROPHIIDAE venoms, contrary to the cobra venoms, do not produce cardiovascular depression or contractures.

IV. The crotamin containing variety of rattlesnake venom and crotamin itself show contracture inducing properties on skeletal muscles which can be observed on intact and conscious animals as well as on *in situ* or isolated preparations. This effect is produced by a direct action of crotamin on muscle fibres. A secondary paralysis is inconstantly produced.

In spite of some similarities with veratrin, the action of crotamin and crotaminic venom can not be compared with a veratrinic one.

V. The non crotaminic rattlesnake venom shows a weak and slowly induced paralytic effect which can not be easily evidenced on account of its strong cardiovascular depressing properties.

This paralytic effect is due to a direct action on the muscle fibre without inhibition of the end-plate receptors.

#### REFERENCES

##### VENIN DE CROTALE — CROTAMINE

1. BARRIO, A., et VITAL BRAZIL, O., *Rev. Inst. Malbrán*, **16**, 22-40, 1954.
2. ESSEX, H. E., et MARKOWITZ, J., *Amer. J. Physiol.*, **92**, 317, 348, 695-706, 1930.
3. FRAENKEL-CONRAT, H., et SINGER, B., *Arch. Biochem.*, **60**, 64-73, 1956.
4. GRALEN, N., et SVEDBERG, T., *Biochem. J.*, **32**, 1375-77, 1938.
5. HABERMANN, E., et NEUMANN, W. P., *Biochem. Z.*, **327**, 170-85, 1955.
6. HABERMANN, E., et NEUMANN, W. P., *Biochem. Z.*, **329**, 405-415, 1957.
7. HOUSSAY, B. A., et coll., *C. R. Soc. Biol.*, **87**, 821-824, 1922.
8. HOUSSAY, B. A., et coll., *C. R. Soc. Biol.*, **88**, 367-68, 1923.
9. KLAUBER, *Rattlesnakes*, Berkeley University Press, 1956.
10. MOURA GONÇALVES, J., *Venoms*, 261-274, 1956.
11. MOUSSATCHÉ, H., et VIEIRA, G. D., *An. Acad. brasil. Cienc.*, **25**, 249-58, 1953.
12. MOUSSATCHÉ, H., GONÇALVES, J. M., VIEIRA, G. D., et HASSON, A., *Venoms*, 275-79, 1956.
13. SCHENBERG, S., *Science*, **129**, 1361-63, 1959.
14. SLOTTA, K. H., et FRAENKEL-CONRAT, H. L., *Nature*, **142**, 213, 1938.
15. VELLARD, J., *C. R. Soc. Biol.*, **130**, 463-64, 1939.

VENINS DE NAJA

16. ARTHUS, M., *Arch. int. Physiol.*, **10**, 161-191, 1910.
17. BOQUET, P., *Toxicon*, **3**, 243-79, 1966.
18. BRUNTON, T. L., et FAYRER, J., *Proc. roy. Soc.*, **21**, 358-374, 1872.
19. BRUNTON, T. L., et FAYRER, J., *Proc. roy. Soc.*, **22**, 68-133, 1873 .
20. CICARDO, V. H., *C. R. Soc. Biol.*, **120**, 732-733, 1935.
21. SU, C., *J. Formosan med. Ass.*, **59**, 1083-1091, 1960.
22. DETRAIT, J., IZARD, Y., et BOQUET, P., *C. R. Soc. Biol.*, **153**, 1722-24, 1959.
23. ELLIOT, R. H., *Phill. trans. roy. Soc.*, **197**, 361-406, 1955.
24. GAUTRELET, J., HALPERN, N., et CORTEGGIANI, E., *Arch. int.*, **38**, 293-352, 1934.
25. KELLAWAY, C. H., *Bull. John's Hopk. Hosp.*, **60**, 18-39, 1937.
26. KELLAWAY, C. H., CHERRY, R. O., et WILLIAMS, F. E., *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.*, **10**, 181-194, 1932.
27. LEE, C. Y., et PENG, M. T., *Arch. int. Pharmacol.*, **133**, 180-192, 1961.
28. MELDRUM, B. S., *Brit. J. Pharmacol.*, **25**, 197-205, 1965.
29. MELDRUM, B. S., *Physiol. Rev.*, **17**, 393-445, 1965.
30. RAGOTZI, V., *Arch. Pathol. Anatom. Physiol.*, **122**, 201-234, 1890.
31. SARKAR, N. K., et MAITRE, S. R., *Amer. J. Physiol.*, **163**, 209-211, 1950.
32. VICK, J. A. et coll., *Arch. int. Pharmacol.*, **153**, 424-429, 1965.
33. VITAL BRAZIL, O., Thèse fac. med. São Paulo, 1963.
34. VITAL BRAZIL, O., et BARRIO, A., *Rev. Inst. Malbrán*, **16**, 1-18, 1954.
35. WALL, A. J., *Proc. roy. Soc.*, **32**, 333-362, 1881.

VENINS D'HYDROPHIIDAE

36. BARME, M., *Ven. and pois. animals and noxious plants of the Pacific region*, Pergamon Press, 1963, pp. 373-378.
37. BARME, M., et DETRAIT, J., *C. R. Acad. Sci.*, **248**, 312-315, 1959.
38. CARREY, J. E., et WRIGHT, E. A., *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **54**, 50-67, 1960.
39. CARREY, J. E., et WRIGHT, E. A., *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **55**, 153, 1961.
40. FRASER, T. R., et ELLIOT, R. H., *Proc. roy. Soc.*, **74**, 104-109, 1904.
41. FRASER, T. R., et ELLIOT, R. H., *Philal. Trans. roy. Soc.*, **197**, 249-279, 1905.
42. HALSTEAD, B. W., *Dangerous marine animals*, 1959, pp. 93-99.

43. MARSDEN, A. T. H., et REID, H. A., *Brit. med. J.*, 1290-93, 1961.
44. REID, H. A., *Brit. med. J.*, 2, 73-78, 1956.
45. REID, H. A., *Brit. med. J.*, 2, 1284-89, 1961.
46. REID, H. A., *Symposium sur an. et pl. ven. du Pacif.*, Pergamon Press, 1963, pp. 355-362.
47. ROGERS, L., *Proc. roy. Soc.*, 71, 481-496, 1903.
48. ROGERS, L., *Proc. roy. Soc.*, 72, 305-319, 1903.
49. TAUB, A. M., et ELLIOTT, W. B., *Toxicon*, 2, 87-92, 1964.
50. WERLER, J. E., et KEEGAN, H. L., *Symposium sur an. et pl. ven. du Pacif.*, Pergamon Press, 1963, pp. 219-325.

### DISCUSSION

A. Barrio comments: "Nos cupo a Oswaldo Vital Brazil y a mi señalar por primera vez la existencia de dos tipos de veneno de *Crotalus durissus terrificus* en cuanto a su acción neuromuscular: uno (tipo I) que producía parálisis y otro (tipo II) que en forma muy llamativa provocaba espasmos. Posteriormente pude demostrar que este cuadro era producido por la crotamina, sustancia aislada por Moura Gonçalves, del veneno de *C. durissus terrificus* procedente de la Argentina. Comparamos la acción del veneno tipo II con la veratrina. Aclaro que denominamos a esta ponzoña "veratrine-like", nunca quisimos señalar identidad absoluta y total entre estas dos sustancias."