

FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA ANIMAL

SECRECION BILIAR EN CONEJO ANESTESIADO:
INTERRELACIONES ENTRE BROMOSULFOFTALEINA
(BSP), PIGMENTOS Y SALES BILIARES

Félix Hidalgo Puertas

UNIVERSIDAD DE GRANADA

1981

La presente memoria fue defendida el día once de enero de mil novecientos ochenta y dos ante el Tribunal formado por:

PRESIDENTE: D. Fermín Sánchez de Medina y Louvrosas

VOCALES: D. F. José Mataix Verdú (Ponente)

D. Eduardo García Peregrin

D.^a María A. López Rodríguez

SECRETARIO: D. Alejandro Esteller Pérez

obteniendo la calificación de
Sobresaliente "cum laude"

UNIVERSIDAD DE GRANADA
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA	
- GRANADA -	
Sala	B
Entrada	138
Número	139

R.50.279

T 6 116

FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA ANIMAL

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA	
GRANADA	
Nº Documento	61351940
Nº Copia	15615650

SECRECION BILIAR EN CONEJO ANESTESIADO: INTERRELACIONES
ENTRE BROMOSULFOFTALEINA (BSP), PIGMENTOS Y SALES BILIARES.

Félix Hidalgo Puertas

UNIVERSIDAD DE GRANADA

1981



Memoria presentada para aspirar
al grado de Doctor por el Licenci
ciado D. Félix Hidalgo Puertas.

Esta tesis ha sido realizada bajo la dirección de:

Prof. Dr. D. Alejandro Esteller
Pérez.

Prof. Dr. D^a. María A. López
Rodríguez.

Ldo. D. Félix Hidalgo Puertas.

A Mi Familia

A Puri

Al someter esta tesis doctoral a la consideración del tribunal quiero testimoniar mi agradecimiento:

Al Prof. Dr. D. F. José Mataix Verdú, director del Dpto. Interfacultativo de Fisiología Animal - de la Univ. de Granada, por aceptar su ponencia y por las facilidades prestadas para la finalización de la misma.

A los Profs. Dr. D. Alejandro Esteller Pérez y Dr. D^a. María A. López Rodríguez, sus directores, - por su enseñanza, atención y ayuda.

A Frandy y Javier por su apreciable colaboración.

A los restantes miembros del Dpto. Interfacultativo de Fisiología Animal.

INDICE.

	<u>Página</u>
1.- OBJETO.....	9
2.- INFORMACION BIBLIOGRAFICA.....	13
2.1.- Bases estructurales de la secreción biliar.....	14
2.2.- Componentes de la bilis.....	17
2.2.1.- Electrolitos.....	17
2.2.2.- Sales biliares.....	18
2.2.3.- Pigmentos biliares.....	20
2.3.- Mecanismos de la secreción biliar.....	22
2.3.1.- Fracción canalicular dependiente de las sales biliares.....	22
2.3.2.- Fracción canalicular independiente de las sales biliares.....	24
2.3.3.- Fracción ductular independiente de las sales biliares.....	27
2.4.- Secreción biliar de solutos orgánicos.....	30
2.4.1.- Sales biliares.....	30
2.4.2.- Lípidos biliares.....	32
2.4.3.- Bromosulfoftaleina (BSP) y aniones relacionados.....	33
2.4.3.1.- Transporte plasmático.....	33
2.4.3.2.- Captación hepatocitaria y unión intracelular.....	34
2.4.3.3.- Conjugación.....	40
2.4.3.4.- Excreción canalicular.....	42
2.4.3.5.- Influencia de las sales bi- liares sobre la excreción - máxima de BSP.....	48
2.5.- Influencia de los anestésicos sobre la	

	<u>Página</u>
secreción biliar.....	54
3.- MATERIAL Y METODO.....	62
3.1.- Animales.....	63
3.2.- Procedimiento quirúrgico.....	63
3.2.1.- Preoperatorio.....	63
3.2.2.- Operatorio.....	63
3.3.- Mecánica de los experimentos.....	65
3.4.- Sistemas de infusión y registro.....	66
3.5.- Infusiones.....	66
3.5.1.- Bilirrubina.....	66
3.5.2.- Bromosulfoftaleina (BSP).....	67
3.5.3.- Sales biliares.....	67
3.6.- Control postmortem.....	67
3.7.- Métodos analíticos.....	68
3.7.1.- Determinación de bilirrubina.....	68
3.7.2.- Determinación de biliverdina.....	68
3.7.3.- Determinación de bromosulfoftaleina (BSP).....	68
3.7.4.- Determinación de sales biliares.....	68
3.7.5.- Determinación de cloruro.....	69
3.7.6.- Determinación de sodio y potasio.....	69
3.8.- Tratamiento estadístico.....	69
3.9.- Diseño experimental.....	71
4.- RESULTADOS.....	74
5.- DISCUSION.....	120
5.1.- Sobre algunos aspectos de la secreción biliar en condiciones de reposo con circulación <u>entera</u> hepática intacta o interrumpida.....	121



	<u>Página</u>
5.2.- Sobre la excreción de bromosulfoftaleina (BSP) a diferentes dosis de infusión de la misma.....	125
5.3.- Sobre el efecto de las sales biliares en la se- creción biliar en condiciones de transporte má- ximo de bromosulfoftaleina (BSP).....	131
5.4.- Sobre la influencia de las sales biliares en el transporte máximo de la bilirrubina.....	135
5.5.- Discusión general.....	137
5.5.1.- Sobre la influencia del tipo de anesté- sico en la secreción biliar de reposo.	137
5.5.2.- Sobre las variaciones de la interven- ción micelar en la excreción de anio- nes orgánicos en función del anesté- sico.....	139
5.5.3.- Sobre los mecanismos de excreción de - bromosulfoftaleina (BSP) y bilirrubina.	140
6.- CONCLUSIONES.....	142
7.- BIBLIOGRAFIA.....	146

1.- OBJETO.

La secreción biliar de pigmentos ha sido estudiada en profundidad durante las últimas tres décadas. Diversos trabajos - ponen de manifiesto que en los mamíferos es la bilirrubina el pigmento que se excreta de forma mayoritaria, aunque existen especies en las que el predominio no es tan claro y otras en las que incluso se invierte en favor de la biliverdina. Así mismo estas publicaciones coinciden en señalar cuatro etapas clave en la excreción hepática de pigmentos: formación de la bilirrubina, captación por el hepatocito, transporte y conjugación intrahepatocitaria y excreción canalicular. Estas cuatro fases, presentan peculiaridades en las diferentes especies en las que se han estudiado y a su vez están modificadas por los fenómenos intrahepáticos involucrados en la formación de la bilis. Así, por ejemplo, diferentes ácidos biliares pueden competir con los pigmentos bien en los procesos de captación hepática, bien en los de excreción canalicular.

Entre las técnicas empleadas para estudiar los mecanismos de excreción de pigmentos, se encuentra la administración endovenosa de aniones orgánicos captados selectivamente por el hígado (colorantes coléfilos) que parecen tener vías de salida comunes con las de aquellos. El más ampliamente utilizado ha sido la BSP, por la facilidad de su administración y su determinación.

En nuestro Departamento, durante los últimos diez años, hemos estudiado la fisiología biliar desde el punto de vista de los mecanismos de secreción de sales biliares y electrolitos, así como de los factores que los regulan. En los últimos años se emprendió además, la investigación de la excreción de pig-

mentos. Ambos aspectos se han desarrollado fundamentalmente en el conejo, animal muy peculiar en su fisiología biliar. En una tesis doctoral paralela a la presente y leída el pasado mes de Junio en esta Facultad (Excreción Hepática de Pigmentos Biliares en el Conejo: Interacción con las Sales Biliares. Javier González Gallego. Universidad de Granada, 1981), se estudiaron los aspectos básicos de la excreción de pigmentos biliares, se determinó la capacidad máxima del hígado para excretar dichas sustancias y se indicaron las posibles relaciones que existen entre sales biliares y pigmentos.

La presente memoria se programó de forma conjunta, como complemento mutuo, con la ya citada. De esta forma, pretendíamos no solo dilucidar los aspectos básicos de la excreción de BSP, la capacidad de transporte máximo del hígado de conejo para dicha sustancia, el efecto de la misma sobre la excreción endógena de pigmentos y el papel de tres sales biliares (dehidrocolato, taurocolato y glicodesoxicolato sódicos), sobre el transporte máximo de BSP, sino también establecer una comparación con los resultados expuestos en la ya citada tesis doctoral, prestando especial atención a la influencia de los dos anestésicos utilizados, etiluretano y pentobarbital, sobre los diferentes aspectos investigados.

Creemos que los resultados que se exponen en la presente memoria permiten obtener conclusiones que clarifican algunos de los problemas que originaron nuestros planteamientos iniciales. Por otra parte es interesante resaltar que la utilización de dos anestésicos ha permitido, de una forma indirecta, confirmar y completar la teoría general enunciada en la ya comentada -

tesis. Esta teoría engarza los diferentes aspectos funcionales de los hepatocitos centrilobulares y periportales, las distintas fracciones de la secreción biliar y las opiniones más aceptadas de - las múltiples que existen en la bibliografía.

2.- INFORMACION BIBLIOGRAFICA.

2.1.- BASES ESTRUCTURALES DE LA SECRECIÓN BILIAR

La bilis se forma en los hepatocitos y se segrega en los canaliculos biliares. Los hepatocitos son células claramente polarizadas, morfológica y funcionalmente, con una membrana canalicular o polo secretor, y una membrana sinusoidal en contacto con la sangre por donde se realiza la captación (208).

La membrana sinusoidal posee microvellosidades (149) que se proyectan al espacio de Disse o perisinusoidal, separado a su vez del sinusoides por células endoteliales, de Kupffer y lipocitos. El intercambio entre hepatocito y sangre se encuentra facilitado por los amplios espacios existentes en la superficie sinusoidal junto con la ausencia de una membrana capilar basal a este nivel.

Los canaliculos son unos espacios de alrededor de 1μ de diametro limitados por dos (o tres) hepatocitos vecinos (173); un canalículo biliar está, pues, formado por la separación de las membranas de estos hepatocitos, y no tiene pared epitelial propia. La membrana hepatocitaria que bordea los canaliculos (membrana canalicular) tiene, por esa cara, una superficie muy desarrollada debido a la formación de microvellosidades que se proyectan a la luz canalicular. En esta membrana se ha detectado una fuerte actividad ATPásica (30) y los datos disponibles ponen de manifiesto su gran importancia en los fenómenos secretores.

De cada lado del canalículo las membranas de las células adyacentes están unidas la una a la otra, entre otros tipos de uniones (88), por barras terminales (154); los espacios intercelula

res están abiertos libremente al espacio perisinusoidal. Debido a esta disposición no hay comunicación directa entre el espaciovascular sinusoidal (y el espacio perisinusoidal de Disse) y el canalículo biliar (198). Hay que hacer notar que la permeabilidad de las barras terminales al agua y electrolitos no es bien conocida actualmente.

Los canalículos forman una redcilla en el interior del lóbulo hepático. En la perifería del lóbulo hepático los canalículos se abren a los ductulos biliares.

Los ductulos al contrario de los canalículos están rodeados por un epitelio biliar, y se abren a su vez a los ductos (160) de los espacios porta, donde son acompañados de una rama de la arteria hepática y de una rama de la vena porta (59). Las células epiteliales que bordean las vías biliares tienen un aparato de Golgi bien desarrollado, su cara luminal posee microvellosidades y se encuentran separadas unas de otras por espacios intercelulares. Las vías biliares se encuentran, además, ricamente vascularizadas, principalmente con sangre arterial

Entre las características estructurales del sistema biliar, tres parecen tener una mayor importancia funcional: en primer lugar el canalículo está dispuesto como un canal largo y estrecho, cerrado por un extremo y abierto por otro a los ductulos; esta disposición está muy bien adaptada a la función secretora (55) y se observa a menudo en órganos secretores; la relación superficie/volumen es muy elevada y la superficie canalicular puede llegar a ser del orden de 10 m^2 para un hígado humano. En segundo lugar, en ningún punto de la red canalicular hay condiciones favorables para la filtración hidrostática: canalículos y sinusoi

des están separados siempre al menos por el espesor de medio hepatocito y por grandes espacios intercelulares. Por último, las características de las células epiteliales (similares a las presentes en los epitelios secretores) y la abundante vascularización de las vías biliares, sugieren que la bilis procedente del canalículo podría ser modificada a su paso por ductúlos y ductos (200).

2.2.- COMPONENTES DE LA BILIS

La bilis contiene, además de un 90 - 95 % de agua, - electrolitos inorgánicos y compuestos orgánicos tales como los - pigmentos biliares, los ácidos biliares, el colesterol y los fosfolípidos entre otros. El colesterol es mantenido en solución - gracias a la formación de micelas mixtas junto con fosfolípidos y sales biliares. Estas micelas también juegan un papel importante en el mantenimiento de concentraciones elevadas de algunos electrolitos. Estos, en general, se encuentran en bilis a concentraciones similares a las plasmáticas (32), pero sodio, potasio, calcio y bicarbonato pueden presentar niveles superiores a los plasmáticos (72, 73, 108). Esta anomalía podría ser consecuencia tanto de la formación de micelas (38) como de un transporte activo - de electrolitos (67).

2.2.1.- Electrolitos.

Del grupo de electrolitos los más importantes por su mayor concentración son: sodio, potasio, bicarbonato y cloruro. - El sodio es el catión predominante, con valores que en conejo van de 144 a 161 mEq/l (108). Tanto este electrolito como el potasio presentan variaciones en sus niveles biliares ligadas a la formación de micelas.

El cloruro, (178, 212) , suele presentar en bilis niveles inferiores a los plasmáticos, mientras que el bicarbonato puede alcanzar en conejo valores hasta de 50 mEq/l (72, 73, 178).

El pH de la bilis, afectado sobre todo por los cambios de concentración de bicarbonato (161, 209), oscila entre 5,9 y 7,8, siendo normalmente alcalino.

2.2.2.- Sales biliares.

Los ácidos biliares son derivados químicos hidroxilados de un núcleo común, el ácido 5 β -colanoico. Se llaman primarios los sintetizados en el hepatocito a partir del colesterol, y secundarios, los originados por la acción deshidroxilante de las bacterias intestinales sobre los ácidos primarios. Los dos ácidos primarios más importantes son el ácido cólico (con tres grupos-OH) y el quenodesoxicólico (con dos grupos-OH). Los dos ácidos secundarios predominantes son el ácido desoxicólico (con dos grupos-OH) y el litocólico (con un solo grupo-OH).

La transformación del colesterol en ácidos biliares - la llevan a cabo una serie de hidroxilasas microsomales que transforman el núcleo y rompen la cadena lateral del colesterol (68, -194).

En el mismo hepatocito, los ácidos biliares son conjugados con la glicina o con la taurina formando amidas estables, y así son encontrados en bilis. En las distintas especies animales estudiadas se ha puesto de manifiesto una amplia variedad en cuanto al tipo de ácidos biliares existentes y su concentración relativa, así como en el tipo de conjugados presentes (101). En el conejo el ácido mayoritario es el glicodesoxicólico (72, 73) que representa un 90 % del total (101).

La importancia fisiológica de los ácidos biliares, - tanto a nivel excretor como digestivo, viene ligada en gran parte a la capacidad formadora de micelas que poseen gracias a la existencia en su molécula de un componente hidrófobo (núcleo esteroide) y de un componente hidrófilo (cadena lateral). Esta capacidad solo existe por encima de una concentración micelar crítica - (CMC) (38).

La conjugación permite a los ácidos biliares la formación de micelas en un más amplio rango de pH que en estado libre. Por otro lado, los ácidos biliares trihidroxilados tienen una mayor solubilidad acuosa y CMC que los dihidroxilados y, - por tanto, una menor tendencia a formar micelas. Así, el ácido - taurocólico posee una CMC, a 40 °C, de 4 mEq/l y el glicodesoxicólico una de tan solo 1,2 mEq/l (38).

El aumento de la concentración en bilis de los ácidos biliares, dentro de los límites fisiológicos, no afecta al tamaño micelar y solo incrementa el número de micelas tanto de una manera absoluta, como relativa con respecto a las formas monomoleculares (38).

La verdadera importancia fisiológica de los ácidos biliares está en su capacidad para formar micelas mixtas con otras especies moleculares. Las micelas mixtas en bilis están formadas por ácidos biliares, fosfolípidos (lecitinas) y colesterol (107)- y, como hemos apuntado antes, son responsables de la solubilización de éste último. Algunos autores sugieren la participación - en estas micelas de bilirrubina y otros aniones exógenos a fin de explicar algunas particularidades de su excreción, si bien esto -

solo parece ser cierto en determinadas condiciones experimentales (87, 206).

Los ácidos biliares están sometidos a un ciclo entero hepático, siendo absorbidos en el íleon casi totalmente, y trasladados al hígado via porta donde son captados de nuevo con una gran eficacia por el hepatocito. El transporte en sangre lo realizan unidos a las proteínas plasmáticas, principalmente albúmina. Por otra parte, y de forma continua, tiene lugar una síntesis "de novo" de éstos en la célula hepática (68).

La interrupción experimental de este ciclo provoca una espectacular caída de flujo biliar en numerosas especies (70, 76, 95, 139, 140, 178, 201, 218) mientras en algunas como rata, hámster, cobaya y cerdo (111, 125, 126, 128, 176, 192), y para ciertos autores el conejo (128, 178), esta caída es de bastante menor grado. Sin embargo Esteller (69) y Gonzalez (87) trabajando con conejos anestesiados, y Jimenez (108) y Esteller y col. (73) con conejos no anestesiados, encuentran una substancial reducción del flujo al interrumpir la circulación enterohepática. Este efecto revierte casi totalmente al infundir en el duodeno la bilis recogida por canulación.

2.2.3.- Pigmentos biliares.

Los productos de la degradación de la hemoglobina son excretados en bilis bajo forma de bilirrubina y biliverdina. La mayoría de los mamíferos excretan fundamentalmente bilirrubina, mientras que en otros vertebrados la excreción mayoritaria es de-



biliverdina (102, 138). En conejo existe una apreciable excreción de biliverdina que no cabe confundir (dada su condición de herbívoro) con derivados de la clorofila dietaria (34, 40, 81, - 87, 199).

En este mismo animal, Gonzalez (87) obtiene parecidos valores de concentración en bilis para bilirrubina y biliverdina: 4 a 10 mg/100 ml; observa además una progresiva caída en la excreción de ambos en el transcurso de sus experiencias, aún cuando - reinfunde bilis en el duodeno.

2.3.- MECANISMOS DE LA SECRECIÓN BILIAR

La bilis, que se origina primariamente a nivel del canalículo, como resultado de la actividad secretora de los hepatocitos, es modificada a nivel de los conductos biliares por el - aporte que, de agua y electrolitos, hace el epitelio de los dis-- tintos tipos de conductos.

La bilis canalicular, a su vez, parece ser el resulta - do de dos procesos secretores distintos, uno ligado a la salida - de las sales biliares del hepatocito y el otro independiente de - éstas. A estas fracciones del flujo biliar se les denomina comun - mente fracción canalicular dependiente de las sales biliares y - fracción canalicular independiente de las sales biliares.

2.3.1.- Fracción canalicular dependiente de las sa-- les biliares.

La alta tasa de secreción biliar de sales biliares y= la observación de los efectos coleréticos de éstas en una gran mayoría de especies animales (64, 127, 128, 174, 175, 176, 184), hizo proponer que las sales biliares podrían ser responsables del - movimiento de agua y electrolitos que origina la bilis (197), gracias al gradiente osmótico que crea su secreción activa a alta - concentración en la misma.

Algunos hechos experimentales apoyan este supuesto: - la relación lineal existente entre flujo y producción de sales biliares en la bilis (61, 76, 211); el aumento de flujo provocado -

por la infusión de sales biliares, que es de origen canalicular, ya que producen un paralelo incremento del aclaramiento biliar de eritritol y/o manitol (12, 79), ampliamente considerados como medidas de flujo canalicular; el efecto colerético de otros aniones orgánicos exógenos excretados activamente en bilis, efecto que se atribuye a su poder de arrastre osmótico (11, 74).

Sin embargo esta hipótesis no ha recibido confirmación directa, debido a la dificultad de medida de la actividad osmótica de las sales biliares. Además ciertos hechos no encajan en esta explicación: así, la cantidad de bilis formada por mmol de sal biliar secretado oscila bastante de una especie a otra, variando desde 8 ml en el perro (taurocolato) (211), hasta 30 ml en el conejo (glicodesoxicolato) (61). También varía según el tipo de sal estudiada, sin que haya relación entre su previsible poder osmótico y su capacidad colerética. Así, en conejo, el glicodesoxicolato es más colerético que el taurocolato e igual que el dehidrocolato a pesar de su mayor capacidad micelar y por consiguiente menor potencia osmótica (87, 175, 176).

Teóricamente se puede argumentar que, puesto que las sales biliares forman micelas en la bilis, su poder osmótico estará muy disminuido. Además, concentraciones bajas de sales biliares próximas a su CMC deberían ser acompañadas de una coleresis relativamente importante, ya que casi todas las moléculas de sal biliar serían moléculas libres, osmóticamente activas. Al aumentar la concentración, por el contrario, su valor osmolal crecería más lentamente que su valor molal, al formarse agregados moleculares.

Una alternativa a la hipótesis osmótica sugiere que los ácidos biliares incrementarían la fracción de flujo independiente de las sales biliares modulando el mecanismo responsable de ésta, según su concentración. Según algunos autores la modulación se ejercería sobre una ATPasa CO_3H^- (176), pero, aún con inhibidores de este tipo de ATPasa hay incremento de flujo al infundir una sal biliar (63).

2.3.2.- Fracción canalicular independiente de sales biliares.

Con una producción similar de sales biliares la colesis en el conejo o rata es de diez a veinte veces superior a la del hombre o el perro (67). En la rata o en hígado aislado se han obtenido flujos apreciables de bilis carente casi totalmente de sales biliares, tras deplección de éstas (26, 28). Parece, pues, haber bilis, o fracciones de ella, formadas independientemente de las sales biliares.

Si extrapolamos la relación flujo biliar-producción de sales biliares (76, 211), para una producción de sales nula obtenemos un flujo teórico que se considera el valor de la fracción independiente de sales biliares (FISB). Si esta operación la repetimos relacionando producción de sales biliares con el aclaramiento de eritritol (12, 76) podemos separar esta fracción en otras dos: la fracción independiente de origen canalicular (FISBC) y la de origen ductular.

La fracción independiente de origen canalicular suele

variar entre el 40 y el 70 % del flujo biliar total según las especies (18, 28, 29, 63, 211), siendo en el conejo del 60 al 70 % = (53, 62, 63, 72, 108, 193).

Los inhibidores del transporte activo de sodio (como ouabaina y ácido etacrínico) disminuyen o suprimen la FISBC (62, = 63). Así, de manera hipotética, se puede proponer que esta fracción se debe a un transporte activo de sodio ligado a la ATPasa - $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, y que, el aumento de concentración de éste en el canal liculo arrastraría agua y otros electrolitos hacia él, a favor de - gradientes osmóticos y electricos.

Por el contrario sustancias que incrementan el transporte de sodio, posiblemente a través del sistema del AMP-cíclico (AMPc), como el mismo AMPc (148), la teofilina (10, 65, 148) y el glucagón (116), incrementan la FISBC. Bajo administración de fenobarbital o etinilestradiol (166) o en otras circunstancias experimentales tales como tiroidectomía o administración de hormonas-tiroideas, se ha encontrado una correlación entre FISBC y la actividad de la ATPasa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$.

En la tabla siguiente se muestran algunos de los numerosos agentes que actúan sobre la FISBC:

<u>INHIBICION</u>		<u>ESTIMULACION</u>	
estrógeno	rata (97)	AMPc	perro (148)
verde de		teofilina	perro (148)
indocianina	rata (103)	"	gato (131)

<u>INHIBICION</u>			<u>ESTIMULACION</u>		(continuación)
			glucagón	perro	(116)
BSP	rata	(52)	"	conejo	(112)
			hidrocortisona	perro	(142)
rosa de bengala	conejo	(53)	fenobarbital	rata	(18)
			tirosina	rata	(133)
ouabaina	conejo	(63)	SC-2644	perro	(83)
			ouabaina	rata	(93)
taurocolato	rata	(181)	dihidroxidibu- tiletel	hámster	(20)
rosa de bengala	rata	(75)	dinitrofenol	perro	(162)
			salicilato	perro	(177)
bilirrubina	conejo	(87)	"	rata	(36)

Una gran variedad de aniones distintos a los ácidos - biliares son excretados en bilis (incluidos aniones de administración exógena), y muchos de ellos tienen efectos coleréticos. Así la BSP incrementa el flujo al ser infundida en algunas especies - animales (2, 11, 94). Esta coleresis puede asociarse a un arrastre osmótico; sin embargo un estudio realizado con iodipamida - (74) indica que, al menos parte de su acción colerética puede ser atribuible a una estimulación directa del transporte de electrolitos, ya que su potencia colerética es demasiado alta para explicarse en términos osmóticos (igual conclusión es aplicable a la coleresis producida por el dehidrocolato (196)).

Otros aniones activamente transportados a bilis pueden por el contrario inhibir el flujo biliar. Incluso aquellos - que a dosis moderadas actúan como coleréticos pueden ser de efec-

tos colestáticos a dosis superiores.

El rosa de bengala disminuye el aclaramiento de eritritol (75) y la actividad de la ATPasa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ (53, 130). BSP (52, 96, 187, 216), verde de indocianina (103, 115, 124) y bilirrubina (87, 202) también pueden inhibir el flujo cuando se administran a dosis que exceden la capacidad hepática para excretarlos.

En conejo se ha demostrado que el efecto inhibitor del rosa de bengala se realiza sobre la FISB (53), e igual ha ocurrido en rata para el verde de indocianina (103). Para explicar esta inhibición de la FISB por algunos aniones orgánicos, sobre todo a altas dosis, se ha sugerido una acción inhibitora de éstos sobre la ATPasa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, que tendría lugar por encima de una determinada concentración hepatocitaria del anión en cuestión. Esta concentración tendría que ser elevada ya que, a dosis no saturantes de su excreción biliar, la inhibición del flujo sería inapreciable.

Por último ciertas maniobras experimentales como la hipotermia o la hepatectomía subtotal (141) reducen la fracción independiente de sales biliares, lo que se ha interpretado sobre la base de una interferencia en procesos activos.

2.3.3.- Fracción ductular independiente de las sales biliares.

La coleresis producida por la hormona secretina ha si

do, desde hace tiempo asociada con el epitelio secretor de los -
conductos biliares. La secretina incrementa el flujo biliar en -
numerosas especies (76, 70, 161, 178, 211), pero no es efectiva -
en la rata (190). En conejo, Esteller y col. han demostrado un -
cierto efecto colerético (71) aunque éste no había sido encontra-
do en trabajos anteriores (118, 178).

La coleresis secretínica no está asociada con cambios
en la secreción de ácidos biliares (161), y no incrementa el acla-
ramiento de eritritol o manitol (76, 211). Esto sugiere que la -
secretina actúa a nivel de dúctulos o ductos. Hasta ahora no hay
manera de separar de algún modo la secreción de los dúctulos de -
la producida en los ductos.

Otros péptidos como la colecistoquinina (71, 109), -
la gastrina (109), el VIP (79) y la ceruleína (109) que estimulan
la secreción de bilis parecen actuar también a este nivel.

Una prueba más directa de la actividad secretora de -
los conductos biliares ha sido obtenida por demostración de secreg-
ción en segmentos aislados de éstos (46).

Los cambios en el flujo y en la composición de bilis=
tras estimulación secretínica indican la elaboración por los -
conductos de una solución electrolítica rica en CO_3H^- que es -
transportada activamente a la luz del conducto (110). Por sus -
concentraciones en electrolitos esta solución debe tener una pre-
sión osmótica superior a la del plasma (79). En conductos -
aislados (46) se ha obtenido una secreción basal isotónica con el
plasma, con una tasa de flujo de 0,139 $\mu\text{l}/\text{min}$. en el conejo. La-
inhibición de esta secreción por la acción del 2,4 dinitrofenol -

(46) indica que posiblemente esté mediada por un proceso energético (164).

Además de su actividad secretora, los conductos biliares poseen una capacidad reabsortiva que parece muy pequeña en rata y conejo (63, 179), y que es importante en perro y en mono - (79, 211) con bloqueo colinérgico y resección del antro pilórico= e intestino delgado respectivamente. Por el momento se desconoce= la importancia fisiológica de esta reabsorción, y cual de los dos fenómenos, secreción o reabsorción, es el predominante.

2.4.- SECRECION BILIAR DE SOLUTOS ORGANICOS

Las moléculas orgánicas normalmente presentes en bilis son aniones (sales biliares, pigmentos biliares) y lípidos (colesterol y fosfolípidos).

Para una molécula dada, el transporte de plasma a bilis consta al menos de tres pasos: entrada en el hepatocito, transferencia a la membrana canalicular con posible alteración bioquímica del compuesto, y excreción a la bilis.

2.4.1.- Sales biliares.

Aunque el hígado sea el sitio de síntesis de los ácidos biliares, la mayor parte de los encontrados en bilis proceden de los ácidos biliares captados por el intestino y devueltos al hígado por la circulación enterohepática.

Como otros muchos compuestos eliminados por el hígado, las sales biliares en la sangre se encuentran ligadas a las proteínas plasmáticas, principalmente a la albúmina.

Estudiando la captación hepática de las sales biliares por el método de dilución de indicadores múltiples (90, 91) se ha constatado que la captación es un proceso saturable en condiciones extremas (84, 165). Además, existen fenómenos de competición entre varios ácidos biliares administrados simultáneamente (79). Experimentos de sustitución iónica sugieren que este transporte es parcialmente dependiente de la presencia de Na^+ (79).

Estos hechos indican la probable existencia de un transportador responsable de la captación hepática de sales biliares, localizado probablemente en la membrana sinusoidal (54).

Es muy poco lo que se sabe de los mecanismos de transporte intracelular. En cuanto a las alteraciones bioquímicas intrahepatocitarias de las sales biliares, las formas libres de éstas son conjugadas con glicina y/o taurina. Esta conjugación no es, sin embargo, indispensable para su excreción biliar aunque sí la favorezca (77). Por otra parte, el núcleo esteroideo puede ser también transformado en su paso por el hígado. Esto ha sido bien establecido para el dehidrocolato que es transformado en varios derivados diversamente hidroxilados (67).

Las sales biliares son secretadas a bilis encontrándose en ésta a concentraciones muy superiores a las plasmáticas y hepatocitarias. La excreción de sales biliares es un proceso saturable y puede encontrarse un transporte máximo que es del orden de 8,5 $\mu\text{mol/kg/min.}$ en perro y de 14 $\mu\text{mol/kg/min.}$ en la oveja (67). Este es alrededor de 10 veces superior al de la BSP y de 5 a 10 veces inferior a la capacidad máxima del sistema de captación (67). La excreción biliar de los ácidos biliares es, pues, el paso limitante en el conjunto del proceso de transporte hepático. La tasa de excreción biliar fisiológica de los ácidos biliares es de 5 a 10 veces inferior a su transporte máximo (67).

2.4.2.- Lípidos biliares.

La secreción biliar de lípidos parece estar íntimamente ligada a la secreción de sales biliares. Esta es necesaria -- para la secreción de lecitinas (152) y, en casos de infusión de dehidrocolato (sal biliar no formadora de micelas) disminuye la secreción biliar de lecitinas. La secreción de colesterol parece depender, igualmente, de las sales biliares. Wheeler y King (213) examinan la composición lipídica de la bilis de perro y encuentran que para el taurocolato y el glicocolato las producciones de lecitinas y colesterol quedan descritas como funciones hiperbólicas de la producción de ácidos biliares. La relación lineal se rompe, pues, a altos niveles de producción de ácidos biliares.

La importancia de las sales biliares en este fenómeno parece radicar en su capacidad formadora de micelas mixtas. Estas micelas contienen varias especies moleculares, siendo en este caso sal biliar, lecitina y colesterol, principalmente (67, 179). Dicha asociación micelar explicaría la solubilización de los lípidos en bilis, sobre todo la del colesterol que, de por sí, es insoluble en agua. La solubilidad se puede determinar según un sistema triangular de coordenadas en él que la de un componente del sistema estaría relacionada con los niveles combinados de los otros dos (67, 150, 201, 213)

De todo esto parece lógico suponer que la asociación micelar sería la responsable de la secreción lipídica biliar en estrecha relación con la de las sales biliares.

2.4.3.- Bromosulfoftaleina (BSP) y aniones relaciona- dos.

La BSP es un anión orgánico que pertenece al grupo de los colorantes coléfilos, sustancias que tienen la propiedad de ser captadas selectivamente por el hígado y excretadas a elevada concentración en la bilis. Su estudio aporta enseñanzas aplicables a la bilirrubina y a diversos medicamentos de cinética similar. En el hombre se han usado ampliamente en la exploración clínica del hígado. Estos colorantes de eliminación biliar selectiva son la BSP, la dibromosulfoftaleina (DBSP), el rosa de bengala y el verde de indocianina. Los tres primeros son ftaleinas similares, mientras que el verde de indocianina difiere en su estructura química. De ellos, solo la BSP sufre un metabolismo intrahepático, el resto es eliminado sin transformación. El peso molecular de la BSP es de 838.

2.4.3.1.- Transporte plasmático.

Como otros muchos aniones orgánicos, la BSP se une a las proteínas del plasma, principalmente a la albúmina (54). El 70 % de la BSP presente en el suero está unida a ésta, el resto se fija sobre las globulinas plasmáticas (54). Estas uniones son fuertes y en condiciones normales menos del 1 % de la BSP circula en forma libre.

La fracción libre y la ligada a proteínas están en un equilibrio dinámico según la ley de acción de masas. La fracción

libre es la de más importancia fisiológica por ser la única capaz de atravesar las membranas biológicas y, por tanto, de ser captada por el hepatocito. Esta penetración es seguida en el plasma de una redisociación prácticamente instantánea del complejo proteína-BSP. Se explica de este modo la importancia de sustancias capaces de interferir la unión de la BSP a la proteína, como algunos medicamentos que compiten con el colorante, o de las anomalías cualitativas o cuantitativas de la albúmina (54). Estos factores provocan una acentuada difusión extrahepática de la BSP (urinaria principalmente), pero, al mismo tiempo, podrían favorecer su captación hepatocitaria: aclaramientos de BSP muy elevados (no explicables por excreción urinaria) se observan en el hombre con hipoalbuminemia causada por el síndrome nefrótico; igualmente la captación de BSP se encuentra aumentada en animales tratados con tolbutamida, que interfiere la unión de la BSP con la albúmina plasmática (54).

2.4.3.2.- Captación hepatocitaria y unión intracelular.

La captación de aniones orgánicos desde el plasma sinusoidal ha sido estudiada con particular efectividad analizando las curvas de dilución del indicador de primer paso realizadas a partir de la sangre venosa hepática, tras inyección de un soluto con sus marcadores de referencia en la vena porta. Una aproximación matemática a este fenómeno ha sido realizada por Goresky y col. (90, 91) basándose en un modelo idealizado de la circulación sinusoidal. Con este tipo de estudios se han encontrado cinéti-

cas de saturación para la BSP (89), verde de indocianina (159) y ácidos biliares (84, 165) y, también que los niveles máximos de -influjo son sustancialmente más grandes que los respectivos valores máximos para la excreción biliar.

Dado que la albúmina marcada inyectada con estos aniones es completamente recuperada y aparece en el flujo venoso en -corto periodo de tiempo, es claro que los aniones están, en los hepatocitos, disociados de las proteínas plasmáticas (79).

Los datos disponibles sobre ácidos biliares indican - que taurocolato, colato, quenodesoxicolato y tauroquenodesoxicolato compiten por el mismo transportador de captación (85) y que el taurocolato parece inhibir competitivamente la captación de -BSP (48, 86). En estudios "in vitro" sin embargo, la inhibición de la captación de taurocolato por la BSP no era considerada competitiva (188).

Los niveles de captación hepática pueden medirse también analizando las curvas de desaparición plasmática (168) y, -así, se ha encontrado que la bilirrubina, la BSP y el verde de indocianina desarrollan cinéticas de saturación y que son mutuamente competitivos en la rata, mientras que no se han podido encontrar pruebas de competencia entre estos aniones y el glicocolato, ni entre el verde de indocianina y el taurocolato (79, 180).

El análisis de los datos disponibles indica la existencia de un mecanismo de captación limitada que toma con elevada eficiencia materiales unidos a proteínas. No se sabe sin embargo si hay uno o varios transportadores o si el proceso es activo o -pasivo, pero el hecho de que la acumulación intrahepatocitaria -

pueda ser acrecentada por unión a proteínas citoplasmáticas (135) inclina a pensar que la captación es simplemente un fenómeno equilibrativo de difusión facilitada. Esta conclusión está apoyada con los datos disponibles para BSP, bilirrubina y verde de indocianina (180), pero no por los disponibles para ácidos biliares. Por otro lado, la existencia de fenómenos de competencia y observaciones como las realizadas en el caso de la rifampicina (54), que compite con la bilirrubina y la BSP por su captación hepatocitaria y que sin embargo "in vitro" no aparece ligada a las proteínas intrahepáticas, sugieren la intervención de un hipotético mecanismo adicional del tipo de transportadores de membrana, mecanismo que algunos autores (85) consideran que intervendría también en la captación de sales biliares.

Con excepción de los ácidos biliares, la unión intracelular de los aniones orgánicos parece ampliamente atribuible a dos proteínas citoplasmáticas descubiertas por Arias y col.(6,7). Estudios preliminares mostraron que la bilirrubina en los hepatocitos estaba asociada a una proteína distinta de la albúmina (16). La cantidad de albúmina en dichas células es, por otro lado tan pequeña, que sería insuficiente para fijar incluso los niveles fisiológicos de bilirrubina en hígado (33).

Utilizando un método de filtración sobre gel se han localizado uniones de la BSP a proteínas en dos fracciones protéicas del citosol hepatocitario denominadas Z e Y (135). Sus pesos moleculares son relativamente bajos y poseen una gran afinidad hacia la bilirrubina, la BSP y otros aniones relacionados. A la fracción Y, la más importante cuantitativamente (5 % del total de proteínas del citosol hepatocitario), se la ha denominado li---

gandina.

El parecido patrón de unión de BSP y de bilirrubina - a las fracciones Z e Y "in vivo" e "in vitro" sugiere que ambos - aniones son fijados por las mismas proteínas, y que esas protei-- nas tienen un papel fisiológico en el proceso de captación (135). El verde de indocianina, que es captado rápidamente por los hepa- tocitos y compete con BSP y bilirrubina en este proceso (104), - está también unido a las proteínas Z e Y "in vitro" (135).

El azul de Evans es captado lentamente por el hígado= (147) y, tras inyectarlo a rata, no aparece unido a las fracciones Z e Y del sobrenadante hepático (135). Sin embargo, "in vitro", - la unión de este colorante a Y era comparable a la encontrada pa- ra BSP (135). Esto indica que la capacidad de un anión de unirse a Y "in vitro" no determina la selectividad en la captación anió- nica por los hepatocitos, y que parte de esta selectividad puede= residir en la fracción Z o en la pared celular.

Fármacos como el ácido flavaspídico (99, 153), el bu- namiodil (17) y la iodipamida (19) producen retención plasmática - de BSP y/o de bilirrubina en hombre y/o rata, e interfieren en el proceso de captación (17, 99). Dichas sustancias desplazan a la= bilirrubina "in vivo" y a la BSP "in vitro" de sus uniones a Z. = Solo a altas concentraciones desplazan a ambas de sus uniones a Y, ya que la afinidad de esta fracción por la BSP y por la bilirrubi na es superior a la de Z (135).

La oveja mutante "Southdown" (45) tiene reducida la - captación hepatocitaria de bilirrubina, BSP, rosa de bengala y - verde de indocianina sin que los patrones de unión de aniones a -

proteínas difieran entre oveja normal y mutante. El defecto en ésta última puede estar más bien en la membrana citoplasmática del hepatocito que en las proteínas aceptoras citoplasmáticas.

La transferencia de BSP, y otros aniones, del plasma al hepatocito puede depender de la disociación del anión de la albúmina plasmática, de la difusión del anión libre a través de la membrana celular, y de la subsiguiente unión del anión a las proteínas aceptoras. En este sistema la especificidad en la captación de aniones orgánicos estaría en las características de unión al receptor proteínico citoplasmático. La afinidad de los aniones orgánicos por la albúmina y las proteínas aceptoras citoplasmáticas puede ser del mismo orden, lo que establecería un delicado equilibrio bidireccional entre las formas aniónicas libres del plasma y del citoplasma. De hecho la bilirrubina se mueve bidireccionalmente entre hepatocito y plasma con un nivel de exflujo sustancialmente próximo al de influjo (14). Bajo estas condiciones pequeños cambios en la concentración de aniones libres en plasma pueden producir alteraciones mayores en el nivel de captación de éstos por los hepatocitos, como ha sido demostrado por estudios en hígado de rata aislado (9). También se ha sugerido que, en las cercanías de la membrana hepatocitaria, cambios conformacionales en la albúmina reducirían su afinidad por los aniones orgánicos, incrementándose en plasma la fracción no unida a proteínas (21).

Otra posibilidad es que la especificidad en la captación de aniones orgánicos se produzca en la membrana celular y que la ligandina y la proteína Z actúen como aceptores inespecíficos de manera similar a la albúmina plasmática. El transporte a-

través de la membrana seguiría siendo de difusión facilitada --- (135).

Otros hechos adicionales sugieren una función de las fracciones Z e Y en el proceso de captación de BSP y moléculas relacionadas: a) estudios ontogénicos han mostrado una estrecha relación entre la maduración de la ligandina y la rapidez de desaparición plasmática de la BSP (79); b) investigaciones filogenéticas han permitido correlacionar netamente la aparición de la ligandina con la facultad de depurar BSP (14); c) la administración de fenobarbital, que en la rata incrementa el contenido hepático en ligandina, eleva paralelamente el aclaramiento y el contenido hepatocitario de BSP (5, 54, 121).

Si el proceso de captación hepática es de difusión facilitada, el secuestro intracelular de los aniones eliminaría su actividad osmótica, facilitando el paso equilibrativo de los aniones desde el sinusoides al interior del hepatocito. Otra posibilidad no excluyente es que esta unión facilite la presentación de los solutos a sus enzimas conjugantes o a los sistemas de transporte canicular. Son significativos recientes experimentos que apuntan la identidad de la ligandina con el enzima conjugante de la BSP, la glutatión-S-amil-transferasa (98). La ligandina puede jugar también un papel protector similar al de la albúmina sérica, excluyendo materiales tóxicos de los lugares potencialmente afectables. Por ejemplo, protege la respiración mitocondrial de los efectos depresores de la bilirrubina (113). Por último, el hecho de que cierto tipo de peces puede concentrar BSP en bilis careciendo casi totalmente de ligandina, indica que ésta no parece ser esencial para el transporte hepático de estos aniones=

orgánicos (31).

2.4.3.3.- Conjugación.

La BSP es en gran parte metabolizada en su paso por el hígado, de tal modo, que un análisis de la bilis demuestra que un 70 % del colorante se transforma mientras el resto permanece inalterado (106). Esta transformación consiste en una conjugación con un tripeptido, el glutatión (γ -glutamil-cisteinil-glicina) que se une al núcleo ftálico de la BSP por intermedio del grupo -SH. Un átomo de bromo se libera en el curso de la reacción en forma de BrH (54). La conjugación está catalizada por la glutatión-S-ariltransferasa que, como hemos dicho anteriormente, se identifica con la ligandina (98). Esta tendría el doble papel de captar la BSP (y otros aniones orgánicos) y de conjugarla al glutatión. La BSP conjugada puede ser adicionalmente metabolizada a BSP-cisteinil-glicina y BSP-cisteína. Todos estos compuestos, más la BSP libre, pasan a la bilis (11).

La conjugación de la BSP, que produce un derivado más polar y por tanto más soluble en agua, parece jugar un importante papel en la excreción biliar del colorante. La reducción de la conjugación, obtenida en animales por deplección de glutatión en el curso de regimenes carentes de proteína (206), o por inhibición de la glutatión-S-aril-transferasa por benziodarona o ácido etacrínico, entraña una bajada paralela de la eliminación biliar de BSP. Este descenso puede ser debido a que el hígado no forma la suficiente BSP conjugada (206), o a que la acumulación intrahepática de BSP libre inhibe la excreción de la forma conjugada (11,

206, 216).

La infusión de BSP artificialmente conjugada produce notables aumentos en el transporte máximo del colorante en perro, rata y cobaya (11, 215, 216). Esto implica, bien que el proceso de conjugación es el paso limitante en la excreción del colorante, bien que la BSP libre interfiere con la transferencia a la bilis de sus derivados conjugados.

Para una concentración dada de BSP intrahepática conjugada, el transporte de ésta a bilis es mayor cuando se infunde la susodicha forma, que cuando lo es la forma libre. Esto sugiere que la BSP libre compite con sus compuestos conjugados en su transporte a bilis, inhibiendo su excreción (11, 216).

La conjugación dificulta la captación hepatocitaria del colorante, pudiendo deberse esto a distintas afinidades de las formas conjugada y no conjugada por las proteínas captadoras hepáticas.

La glutation-S-amil-transferasa presenta una actividad máxima en el hígado, pero puede encontrarse así mismo en el riñón o en el intestino delgado. Esta actividad podría explicar la presencia de BSP conjugada en suero y orina de perros hepatectomizados (54).

El incremento de la desaparición plasmática de colorante provocado por el tratamiento con fenobarbital (121) se ha intentado relacionar con un supuesto aumento de la conjugación (51, 171). De hecho el fenobarbital aumenta la actividad enzimática conjugante "in vitro" (182). Sin embargo, otros autores -

han atribuido el efecto del barbitúrico a una elevación de la excreción de BSP a nivel de membrana canalicular (121).

Al contrario que la BSP, la DBSP, el rosa de bengala y el verde de indocianina son eliminados sin transformación (54).

La bilirrubina sufre también un proceso de conjugación, uniéndose al ácido UDP-glucurónico. En bilis, el 98 - 99 % del pigmento se encuentra en forma conjugada (21).

2.4.3.4.- Excreción canalicular.

El transporte máximo para la captación neta por parte de los hepatocitos excede los correspondientes niveles de excreción biliar en todos los casos en que se ha dispuesto de mediciones aceptables (84, 89, 159, 165). Además, cuando la conjugación es un paso intermedio entre la captación y la excreción como ocurre para la bilirrubina y la BSP, altos niveles de infusión del material no conjugado son generalmente seguidos de la aparición de conjugados en plasma (87). De otra parte, las curvas de desaparición plasmática, que característicamente cursan con una empinada pendiente inicial seguida de un descenso más gradual, están de acuerdo con la deducción, hecha a partir de aquellas observaciones, de que la excreción canalicular es el paso limitante en la secuencia que va de plasma a bilis (4, 82, 94, 119, 202, 210).

En el paso de colorantes a la bilis parece intervenir, verosimilmente, un mecanismo de transporte activo. Diferentes argumentos están a favor de esta hipótesis (54): a) no existe en -

la bilis ninguna proteína que pueda jugar el papel de aceptor y - originar un transporte pasivo facilitado; b) la excreción biliar se hace contra un gradiente de concentración muy elevado; c) la excreción está limitada por un transporte máximo (T_m). Este fenómeno de saturación ha sido constatado en numerosas especies - (11, 49, 94, 120, 175), en las que, por encima de una cierta cantidad infundida, la excreción biliar no aumenta más mientras que la concentración plasmática continúa creciendo regularmente.

Otros autores (21) sugieren sin embargo que las micelas canaliculares podrían ser un factor determinante mayoritario del movimiento de pigmentos y colorantes hacia la bilis. Hacen notar que la concentración efectiva de estos aniones a cada lado de la membrana canalicular permanece desconocida y que el verdadero gradiente de concentración puede diferir del gradiente aparente por varias razones. En el hepatocito el pigmento y el colorante están en gran parte unidos a proteínas; en la bilis pueden residir ampliamente en las micelas. Estudios en la vesícula biliar indican que la bilirrubina está enteramente asociada a la fase micelar (203). Una extrapolación de estos hallazgos a la bilis hepática sugiere que la concentración efectiva de pigmentos y colorantes coléfilos en el canaliculo puede ser solo una pequeña parte del total de éstos en bilis. Si ello es así, las micelas originadas por las sales biliares podrían determinar, o al menos facilitar, el transporte neto de BSP por el hígado. Parece apoyar esta sugerencia el incremento del T_m de la BSP (10, 155) y de la bilirrubina (60) provocado por la infusión de sales biliares, incremento no relacionado al parecer con el de flujo ya que, la estimulación de la fracción de flujo independiente de las sales biliares no provoca variaciones en el T_m de la BSP (10, 66, 78, -



83). A la inversa, la deplección de sales biliares induce una depresión en el T_m (66, 143).

Así pues las sales biliares afectarían, "per se", al T_m de otros aniones orgánicos. Goresky y col.(92) proponen que estos compuestos crean un sumidero micelar en el canalículo que retira pigmentos y colorantes de la fase no micelar, y que mantiene por tanto un gradiente de concentración que facilita el paso neto de éstos a la bilis.

No obstante otra serie de datos experimentales se oponen a esta hipótesis. El dehidrocolato es una sal biliar sintética no formadora de micelas que posee un potente efecto colerético (20). En el hígado es metabolizado originando mono y diceto derivados, a su vez pobres formadores de micelas (20, 205). Contrariamente a lo que cabría esperar, la infusión de esta sal a dosis moderadas origina aumentos significativos en el T_m de colorantes y pigmentos (20, 60).

Aún sin rechazar la hipótesis micelar, la existencia de un sistema transportador activo no es excluyente, y hechos adicionales la apoyan; tanto en el síndrome de Dubin-Johnson como en la oveja mutante Corriedale el transporte de BSP y bilirrubina está considerablemente disminuido mientras que el de sales biliares es completamente normal (54, 185). Ya que la capacidad micelar permanece intacta en estas anomalías, el trastorno en el transporte de los aniones se ha de deber a un defecto en un hipotético transportador de membrana.

El mecanismo excretor ha sido repetidamente estudiado administrando colorantes y pigmentos juntos(56,146).En condiciones

normales, la aparente similitud en la eliminación de varios aniones orgánicos (197) permitió proponer un proceso excretor común para todos ellos. Sin embargo diversas observaciones apuntan la existencia de un proceso excretor múltiple. El uso de grandes dosis de infusión con proporciones desiguales de distintos aniones ha mostrado unas excreciones preferenciales de uno de los compuestos con respecto al otro (100); pero una posible competición por la unión a proteínas o por varios procesos hepáticos podría complicar cualquier interpretación (2). Clarenburg y Kao (39) señalan que en sus experimentos los niveles combinados de BSP y bilirrubina en plasma no excedían la concentración molar de la albúmina plasmática, y que, por lo tanto, la competición por unirse a ésta no sería responsable de las excreciones preferenciales. Hargreaves (100) y Clarenburg y Kao (39) concluyen que el hígado excreta la BSP preferentemente a la bilirrubina, y estos últimos proponen la existencia de dos vías excretoras diferentes: la primera sería común a BSP y bilirrubina; la otra vía, disponible solo a la BSP, se haría más activa conforme aumentara la cantidad de BSP suministrada (39).

Por su parte otros autores apuntan distintos caminos para la excreción de verde de indocianina (100), rosa de bengala (144) y para los distintos metabolitos de la BSP (41).

Diferentes condiciones patológicas y experimentales sugieren así mismo diversos mecanismos excretores para los distintos aniones. En perros (217) el Cl_4C deprime la excreción de BSP sin afectar la de bilirrubina endógena. El tratamiento con esteroides anabolizantes produce retención plasmática de BSP conjugada sin que se aprecien anomalías en el metabolismo de la bili

rrubina (134). Pacientes con la enfermedad de Gilbert, un defecto congénito en el metabolismo de la bilirrubina, excretan BSP normalmente (183).

Las observaciones realizadas en el síndrome de Dubin-Jhonson han sido ampliamente utilizadas para sugerir que las sales biliares y estos otros aniones tienen mecanismos de excreción separados. No obstante otros informes comunican que en determinadas ocasiones la BSP y otros aniones pueden inhibir la excreción de sales biliares y viceversa (23, 48, 8). A elevados niveles de excreción de taurocolato se ha apreciado una depresión, aunque reversible, de la excreción biliar de BSP (169). En ratas, el efecto del taurocolato sobre la relación cinética existente entre la BSP intrahepatocitaria y su nivel de excreción biliar, consiste en un incremento de la V_m y la K_m , sugiriendo que, además de la acción dominante de acelerar el transporte de BSP, ejerce una acción inhibitoria (77). En perros, infusiones de taurocolato y de dehidrocolato a altas dosis próximas a su T_m , deprimen la excreción máxima de BSP (48). Para explicar estos fenómenos se ha sugerido que las sales biliares y la BSP pueden competir por los mismos transportadores de membrana en su paso a la bilis, como veremos posteriormente.

Nos hemos referido con anterioridad a la saturación del sistema de transporte y a la existencia de un T_m , constatado en numerosas especies, para distintos aniones orgánicos. Su valor varía si cambiamos alguno de estos dos factores e incluso según el trabajo de referencia. A modo de ejemplo se citan a continuación varios valores de T_m de la BSP en distintas especies de mamíferos:

Rata..	<u>1.676</u> (54), <u>930</u> (39), <u>955</u> (120), <u>838</u> (41), <u>670</u> (27)	$\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min.}$
Conejo.....	<u>1.131</u> (120), <u>1.425</u> (175), <u>1.000</u> (137)	"
Perro.....	<u>168</u> (120), <u>190</u> (210), <u>80-150</u> (10), <u>134</u> (11)	"
Hombre.....	120 (210)	"
Oveja.....	1.000 (94)	"
Hámster.....	440 (20)	"

Como ya se ha comentado anteriormente, la BSP se excreta bajo sus formas conjugada y no conjugada, siendo la forma conjugada un 70% del total en bilis. Existen fenómenos de competencia de ambas formas por el mismo transportador.

En el curso de su transferencia a la bilis la BSP puede modificar la coleresis. En el perro y oveja (2, 11, 94), infusiones de este colorante incrementan el flujo de bilis. Una fácil explicación de este fenómeno sería de naturaleza osmótica, -- pues, debido a la alta concentración a la que pasa a la bilis, la BSP arrastraría agua y electrolitos. Barnhart y Combes (11) discuten esta propuesta y concluyen que este arrastre no sería suficiente para explicar los aumentos de flujo encontrados. Ellos -- proponen una acción adicional de la BSP sobre el flujo, de naturaleza no osmótica.

En la rata aparecen descritos efectos coleréticos (39, 121, 143), colestáticos (52, 96, 187, 214, 216) e, incluso, la -- ausencia de ambos (206). Un exámen más detenido de esta bibliografía nos permite apreciar que los efectos colestáticos aparecen a altas concentraciones plasmáticas de BSP, con infusiones supra-máximas de esta sustancia ($>T_m$). La coleresis en cambio suele -- asociarse a dosis más pequeñas, aún cuando el rango de variación=

de éstas es amplio. Podemos concluir, al igual que Forker (79),- que la BSP puede disminuir el flujo biliar cuando es administrada a altas dosis de infusión que superan la capacidad excretora del hígado, y que cuando ésta lo es a dosis menores aparece en su transporte hepático una clara relación lineal entre la producción de BSP y el flujo biliar.

El verde de indocianina, en rata (96), y el rosa de bengala, en conejo (53), también deprimen el flujo de bilis. Esta disminución parece ligada, en todo los casos comentados, a una depresión de la FISB atribuible a una inhibición de la fosforilación oxidativa por el colorante, al fijarse éste sobre las membranas mitocondriales (54).

Una vez en el intestino tanto BSP como bilirrubina apenas son reabsorbidas, y su ciclo enterohepático puede considerarse nulo (54).

2.4.3.5.- Influencia de las sales biliares sobre la excreción máxima de BSP.

En puntos anteriores se han discutido ampliamente algunos aspectos de la interacción sales biliares-BSP (y otros aniones orgánicos). Uno de particular importancia se refiere al aumento en el Tm de numerosos aniones provocado por la infusión de sales biliares a dosis moderadas (10, 15, 27, 52, 77, 83, 92, 94, 129, 151, 155, 169). Varias hipótesis de trabajo se han establecido para intentar explicar este hecho.

La primera explicación lógica sería atribuir el aumento en el T_m al incremento de flujo biliar canalicular. Si suponemos que la bilis que sale del canaliculo hacia el conducto biliar terminal representa el balance neto entre la BSP transportada al canaliculo y la que retrodifunde el hepatocito siguiendo gradientes de concentración favorables, una elevación del flujo canalicular disminuiría la concentración de BSP en el canaliculo. Esto evidentemente produciría un descenso en la retrodifusión (77).

Además, la infusión de sales biliares aumenta preferentemente la excreción de BSP no conjugada (20, 27, 169). Si bien podría concluirse la existencia de transportadores distintos para ambas formas de BSP, siendo el de la forma no conjugada el más afectado (27), es generalmente aceptada otra alternativa: la forma libre es más liposoluble y por tanto más fácilmente puede atravesar la membrana canalicular y volver al hepatocito. La disminución de la retrodifusión afectaría preferentemente a esta forma y aumentaría su concentración relativa en bilis (27, 169).

Otros autores han informado que las sales biliares no alteran apreciablemente la concentración biliar de BSP (27, 155), por lo cual el aumento en el T_m habría de ser atribuido exclusivamente a la subida de flujo. Boyer y col. (27) sugieren que el T_m estaría determinado por dos procesos independientes: una capacidad de concentración limitada y el nivel de producción biliar.

Contra esta hipótesis se acumulan otra serie de datos. Mahu y col. (144) no encuentran relación entre el incremento del flujo biliar obtenido con sales biliares y el aumento del T_m de BSP, DBSP y rosa de bengala. Con infusiones de dihidroxidibutil-

eter o de teofilina ambos potentes coleréticos en diversas especies de mamíferos, no se consigue subida en la excreción máxima de BSP (10, 20) ; en ambos casos tenía lugar un incremento en el aclaramiento del eritritol infundido simultaneamente, lo que es ampliamente reconocido como una medida de flujo canalicular. Igual ocurre con la hidrocortisona, que actúa a este mismo nivel (54).

Otras hipótesis de trabajo postulan una acción de las sales biliares "per se". La hipótesis micelar ya ha sido discutida con cierto detalle en el apartado anterior. El incremento de la excreción máxima se debería en este caso a una integración de las moléculas del colorante en las micelas mixtas originadas por las sales biliares, lo que produciría un descenso en su concentración efectiva en el canaliculo y disminuiría por tanto la retrodifusión de BSP.

Sin embargo, como ya señalamos, el dehidrocolato produce un incremento del Tm de la BSP a dosis moderadas. Binet y col. (20) relacionan el efecto de infusiones de taurodehidrocolato, tauroquenodesoxicolato y taurocolato, sobre la excreción biliar de BSP y lípidos biliares. El efecto sobre los lípidos biliares lo usa como una medida de la capacidad micelar de cada una de las sales biliares utilizadas. En los tres casos se produce una elevación similar en el Tm de la BSP. Taurocolato y tauroquenodesoxicolato aumentan la excreción de fosfolípidos y colesterol en gran medida, mientras que el taurodehidrocolato apenas produce un ligero incremento en la de fosfolípidos dejando inalterada la de colesterol. La conclusión obtenida es que ni el dehidrocolato ni sus derivados tienen apreciable tendencia a formar micelas, no

obstante aumentar flujo de bilis y T_m de la BSP en gran medida.

En otra aproximación a esta hipótesis se han realizado estudios "in vitro" de carácter físico-químico. Así, usando ultracentrifugación sobre membranas se ha podido mostrar una asociación a micelas mixtas de sustancias tales como la BSP conjugada y no conjugada, la bilirrubina conjugada y el rosa de bengala (207). Por otra parte Vonk y col. (205) han mostrado por ultracentrifugación asociaciones de verde de indocianina, fenolftaleína-glucuronido y DBSP a micelas de taurocolato y, que a pesar de esta asociación no se obtenía incremento en el T_m del fenolftaleína-glucuronido. Además no se observaba ninguna sedimentación de los colorantes con dehidrocolato pese a que éste aumenta el T_m de verde de indocianina, DBSP, BSP y bilirrubina (20,87).

Por otro lado, infundiendo glicodihidrofusidato, un esteroide formador de micelas excretado por la bilis, no se obtiene aumento de T_m de BSP aunque sí ocurra un incremento de la producción lipídica biliar (49).

Otra posible influencia de las sales biliares "per se" que se ha sugerido, es la de una acción directa de éstas sobre la maquinaria de transporte de la BSP. Forker y Gigson (77) han presentado un modelo teórico de esta interacción, que reproduce los resultados obtenidos experimentalmente por ellos. En su trabajo infunden BSP a dosis inferiores al T_m junto con taurocolato sódico y realizan un estudio cinético de las relaciones entre la concentración de BSP intrahepatocitaria y sus niveles estables de excreción. La infusión de taurocolato produce un incremento de

los parámetros V_{mx} y K_m de tal manera que la concentración en bilis de BSP se mantiene constante para amplios rangos de flujo. El aumento observado en la K_m indica la existencia de un efecto inhibitor provocado por el taurocolato, que coexiste con el incremento dominante sobre la excreción máxima. El modelo propuesto, consecuente con los hallazgos experimentales, consta de dos transportadores separados y relativamente independientes para taurocolato y BSP, y presenta ciertas características que conviene resaltar: la disociación del complejo transportador-anión en la cara canalicular de la membrana hepatocitaria es irreversible, lo que elimina el papel del flujo en el incremento de la excreción de BSP; se producen interacciones alostéricas entre la BSP y el taurocolato y sus respectivos transportadores, de tal manera que él de la BSP puede reaccionar con el taurocolato para producir un nuevo enzima que transporte la BSP con diferentes parámetros cinéticos, más eficientemente por ejemplo; por otra parte, los fenómenos de competición se explicarían al existir una cierta afinidad tanto de la BSP como del taurocolato por el respectivo transportador del otro, todo ello según los autores mencionados (77) y en sus condiciones experimentales, especialmente por lo que se refiere a los estrechos márgenes de flujo de bilis empleados.

Resumiendo el estado actual de conocimientos en éste tema no queda claro si la excreción canalicular está mediada por un sistema de transporte para sales biliares y otro u otros para los demás aniones orgánicos, ni si esos sistemas interaccionan en alguna forma. Es posible que el transporte de sales biliares active el de otros aniones por algún sistema cotransportador, o que ocurran interacciones alostéricas entre transportadores separados, pero los datos cinéticos disponibles no nos permiten con-

firmar o refutar ninguna de estas hipótesis. Además otros factores no excluyentes pueden contribuir a la interacción entre sales biliares y otros aniones, como es el caso de la formación de micelas mixtas. No obstante ningún dato permite afirmar que la incorporación de BSP y otros aniones a las micelas originadas por las sales biliares tenga una importancia funcional en el canalículo.

Por último hemos de reseñar otra hipótesis de trabajo, apuntada por algunos autores (10, 20), que sugieren que las sales biliares actuarían reclutando hepatocitos, haciendo funcionales los hasta entonces quiescentes. Se carece de datos experimentales en este sentido pero es bien sabido que la masa funcional del hígado es relativamente baja por lo cual ese reclutamiento puede ser importante.

Una variante de esta teoría elaborada recientemente (87) postula que este reclutamiento, que afectaría principalmente a las células centrilobulares, lo realizaría la bilirrubina al ser infundida a dosis máximas, y obligar al hígado a trabajar a niveles alejados de los fisiológicos. En los hepatocitos normalmente funcionales (periportales) desde el punto de vista biliar, dicha secreción es claramente dependiente de las sales biliares, mientras que en los reclutados (centrilobulares) parecen superponerse otros mecanismos de secreción de diversos electrolitos y aniones orgánicos. Esta mezcla de actividad explicaría la aparente superposición de fenómenos micelares y de otra índole que dichos autores han sugerido al observar el incremento de la excreción máxima de bilirrubina por las sales biliares.

2.5.- INFLUENCIA DE LOS ANESTESICOS SOBRE LA SECRE-- CION BILIAR.

Gran parte de los estudios experimentales sobre la fisiología biliar se han realizado con animales anestesiados con una amplia variedad de fármacos. Sin embargo, el efecto de los anestésicos, incluso el de los más corrientemente utilizados, apenas se encuentra documentado dificultando esto la interpretación de los datos disponibles. Un estudio de esta naturaleza es de vital importancia sobre todo para elegir aquel anestésico que provoque menos alteraciones en la fisiología de la secreción biliar.

Es conocido que la anestesia induce, al menos inicialmente, una apreciable hipotermia (170). Otra serie de trabajos muestran a su vez los efectos de ésta sobre la fisiología biliar (141) y en particular sobre los fenómenos de excreción máxima (172). Roberts y col. informan (172) del significativo efecto depresor que la hipotermia tiene sobre el Tm de BSP y bilirrubina en rata, y aconsejan cuidar al máximo la termorregulación del animal para contrarrestar esta acción indirecta de la anestesia.

Según algunos autores (47) la administración de barbitúricos provoca una disminución de la secreción biliar. Insistiendo en la importancia de la elección del anestésico concluyen que las fluctuaciones de la secreción biliar son más importantes con el meubarbital que con el uretano.

Delás y col. (50), en conejo, constatan que una única dosis de pentobarbital inyectada intravenosamente deprime sensiblemente la coleresis durante alrededor de hora y media. Una perfusión

lenta y continua de pentobarbital permite una coleresis aceptable. Concluyen que esta última técnica anestésica preserva, pues, la actividad secretora del animal y es poco agresiva para con la fisiología del hepatocito.

Vogin y col. (204) y Ketterer y col (115) atribuyen la depresión del flujo que acompaña a la infusión de verde de indocianina al uso de pentobarbital como anestésico.

Según Bizard y col. (22), el flujo biliar de los conejos anestesiados con barbitúricos (pentobarbital) es ligeramente inferior al de conejos anestesiados con uretano. En el perro el pentobarbital provoca solo un debil y pasajero descenso de la secreción biliar inmediatamente despues de su aplicación, sin afectar a los valores globales. El extracto seco se modifica poco y hay un aumento progresivo de la concentración de bilirrubina, debido posiblemente a factores hemolíticos extrahepáticos. Concluyen que la acción depresiva de los barbitúricos sobre la coleresis no puede ser atribuida a un mecanismo indirecto de hipoxia.

En preparaciones de hígados aislados procedentes de ratas anestesiadas con uretano y mebubarbital, el mismo autor (22) encuentra que los valores basales de bilirrubina en bilis son, respectivamente, 24,1 y 15,4 mg/100 ml, aunque no considera ninguna diferencia significativa entre ambos.

Todos estos informes sobre la depresión del flujo biliar provocada por los barbitúricos contrastan con datos posteriores obtenidos de trabajos realizados con el conejo anestesiado bien con barbitúricos u otros anestésicos, bien con uretano, y que

presentamos a continuación:

		TIPO DE ANESTESICO		
		Uretano	Pentobarbital	Mebubarbital(+) Propanidid (•)
F L U J O D E B I L I S	μl/min.	170 (3)	300 (35)	
		153 (71)		
		134 (118)		
		130 (141)		
		121 (178)		
F L U J O D E B I L I S	μl/gr híg./min.	2,16 (69)	2,37,~ (175)	
		1,67 (163)		
		1,47,~ (175)		
		1,80 (178)		
F L U J O D E B I L I S	μl/kg/min.	75 (127)	94 (87)	100 + (53)
		81 (128)	93 (191)	100 + (63) 100 • (193)
P R O D U C C I O N d e S a l e s B i l i a r e s	μEq/kg/min.	0,63 (127)	0,42 (87)	0,52 • (193)
		0,67 ~ (175)	0,73 ~ (175) 0,62 (191)	
F I S B	% Flujo de bilis	47 (128)		60 + (63) 62 • (193)

(~) Datos procedentes de un mismo autor.

(•) Diferencia estadísticamente significativa, $p < 0,025$.

/gr híg./: Por gramo de hígado.

Se desprende de estos valores que el flujo biliar en conejos anestesiados con uretano es inferior al de los anestesiados con barbitúricos (108), y que esta disminución de la secreción no afecta a la producción de sales biliares. Los datos de fracción independiente de sales biliares sugieren que el uretano la inhibe, siendo esta inhibición la responsable del descenso de flujo.

Rutishauser y Stone, con conejo (175), utilizan pentobarbital y uretano como anestésicos y, además de datos de flujo que aparecen en la tabla anterior, reseñan otras diferencias importantes provocadas por el uso de uno u otro anestésico: la presión sanguínea era más baja con uretano (60 mmHg) que con pentobarbital (90 mmHg); la concentración de sales biliares era significativamente mayor con uretano que con pentobarbital (16,0 y 10,9 mEq/l respectivamente. $p < 0,0125$). Igual ocurre con la osmolaridad de la bilis (322 y 292 mosmol/kg respectivamente. $p < 0,005$) y en ambos casos la bilis era isotónica con el plasma. Sugerían así mismo una mayor concentración de sodio y potasio con uretano, aún cuando la diferencia no era estadísticamente significativa.

La conclusión de este trabajo era, según los autores (175), que el descenso de flujo se debía a la hipertonicidad de la solución de uretano con respecto al plasma, pues la inyección intraperitoneal del anestésico (5ml/kg de una solución al 25 %) provocaría una salida de agua y electrolitos del torrente sanguíneo, lo que a su vez causaría un descenso del flujo biliar.

Otros autores (127, 128) inyectan el uretano intravenosamente y también es apreciable un menor flujo al comparar con

datos provenientes de animales anestesiados con pentobarbital u otros barbitúricos.

En rata (43) se han estudiado los efectos sobre la se cre ción biliar de varios anestésicos: eter, halotano y pentobarbital. El eter produce una fuerte caída en el flujo biliar y en la excreción de sales biliares y de bilirrubina. El halotano disminuye así mismo el flujo, y el pentobarbital no varía apenas los parámetros estudiados con respecto a los valores procedentes de experimentos con animales no anestesiados.

La inhibición producida por eter es confirmada por Os trow y col. (156), y también hay caída en la producción biliar en hígado de rata aislado tras la administración de eter, halotano y cloroformo (24, 25, 156). Parece existir pues una acción inhibitoria de los anestésicos volátiles sobre la secreción biliar, y un inapreciable efecto del pentobarbital sobre los parámetros estudiados.

Eter, y halotano en menor medida, producen un incremento en la actividad de enzimas tales como la β -glucuronidasa, la fosfatasa ácida y la β -galactosidasa, y no afectan la de la 5-nucleotidasa en bilis (43). Los incrementos de actividad parecen deberse a un aumento en su liberación desde los lisosomas (43). El pentobarbital no altera la actividad de la β -glucuronidasa, fosfatasa ácida y 5-nucleotidasa (43).

Los efectos de eter y halotano se han intentado relacionar con la elevación, que causan, de los niveles de corticotropina (ACTH) en sangre. No parece ser así respecto al flujo biliar,

que podría deberse a una acción directa sobre el hígado, pero hay indicios que relacionan la ACTH con el incremento de la actividad de los enzimas reseñados (43).

El tratamiento crónico con fenobarbital tiene numerosos efectos sobre el hígado; entre ellos, provoca un incremento en el peso de éste (121, 122, 171) y una proliferación del retículo endoplasmático liso (121); estimula la acción de varios enzimas - (42, 114, 167) y el flujo biliar (18). No hay correlación entre este incremento de flujo y el de peso hepático (122). Por lo que sabemos la sales biliares no producen esta coleresis; no hay aumento en la producción de éstas, y el incremento de su actividad osmótica al descender su concentración a valores próximos o inferiores a su concentración micelar crítica, no parece ser la causa de la coleresis (18). Esto concuerda con otro dato: la administración de fenobarbital no aumenta la actividad de los enzimas ne cesarios para la conversión de colesterol en taurocolato (58). - Tampoco se ha encontrado ningún cambio apreciable en la composición relativa de ácidos biliares en ratas, lo que sugiere que no hay inducción de las hidroxilasas implicadas en la biosíntesis - de ácidos biliares primarios (58). Experimentalmente, el fenobarbital no induce ni la 7 α , ni la 12 α -hidroxilasa en homogenados hepáticos (58). Así mismo en animales con deplección casi total de sales biliares persisten valores de flujo elevados (18).

Según Berthelot y col(18) el incremento de flujo biliar se debería a un aumento en la fracción independiente de las sales bi liares. Los valores de ésta calculados por el metodo de Erlinger y col(63) son apreciablemente mayores en animales tratados con fenobarbital; por otro lado el aclaramiento de eritritol en éstos -

sugiere que el aumento es de caracter enteramente canalicular y - que no está relacionada con la actividad osmótica del fenobarbital o de sus metabolitos (18).

Otra acción importante del fenobarbital en la fisiología hepática tiene lugar sobre la captación y la excreción biliar de aniones orgánicos tales como la BSP, bilirrubina y otras moléculas relacionadas. Se sabe que el tratamiento con barbitúricos tiene un gran efecto sobre la distribución hepática de bilirrubina (121). El barbital sódico incrementa la actividad conjugante de la bilirrubina (121); el fenobarbital incrementa la desaparición plasmática de la bilirrubina exógena, la concentración de ésta en los hepatocitos, y su transporte máximo (T_m) (171). En ratas con baja actividad glucuronil-transferasa, el fenobarbital no deprime los niveles totales de bilirrubina en suero (51). Se ha concluido, lógicamente que el fenobarbital induce un incremento en la conjugación. La desaparición plasmática de BSP también aumenta en tratamientos con fenobarbital (80), al igual que su conjugación con glutathion (182).

La mayor desaparición plasmática de bilirrubina y de BSP, según Klaasen y Plaa (121), no se debe al incremento de la conjugación, sino a un aumento del T_m simultáneo a la subida de flujo y sin variar la concentración, ya que también encuentran aumento de la desaparición plasmática de verde de indocianina y de la DBSP durante tratamientos con fenobarbital, siendo estos aniones no metabolizados ni conjugados a su paso por el hepatocito.

Un estudio similar de Roberts y Plaa (171) concluyen lo mismo para la bilirrubina y sugieren que la variación en el T_m

es provocada por el incremento de flujo.

Hemos de señalar que gran parte de los efectos del fenobarbital reseñados son producidos con tratamientos crónicos, no a dosis de anestesia, pero pueden ser indicativos sobre los lugares de acción de los barbitúricos y la intensidad de ésta.

--oo0oo--

3.- MATERIAL Y METODO.

3.1.- ANIMALES

En la realización del presente trabajo se emplearon un total de 65 conejos (*Oryctolagus cuniculus*) de raza castellana, de ambos sexos y peso comprendido entre 1,5 y 2,5 kg, suministrados por el Servicio de Animales de Laboratorio de la Universidad de Granada.

3.2.- PROCEDIMIENTO QUIRURGICO

3.2.1.- Preoperatorio.

Se utilizó como alimento básico un pienso comercial para conejos (Sanders). Este se le retiraba al animal veinticuatro horas antes de la intervención quirúrgica, aunque siempre se le dejó libre acceso al agua.

3.2.2.- Operatorio.

Se utilizaron como anestésicos etil-uretano y pentobarbital sódico, según el tipo de experimento, administrados endovenosamente a través de una cánula plástica (Braunula nº 0) aplicada a la vena marginal de la oreja.

El etil-uretano se inyectaba a dosis de 1,0 gr/kg peso corporal (solución al 20 %) y el pentobarbital sódico (Nembutal NR) a dosis de 20 mg/kg peso corporal. Con este último anestésico se utilizaba como inductor benzodiazepina (Valium NR) a dosis de 0,25 mg/kg peso corporal. La profundidad de la anestesia se controlaba-

mediante los reflejos plantar y oculo-parpebral.

Una vez pelado y afeitado el campo operatorio, el animal se fijaba en la mesa de quirófano, provista de una manta eléctrica con objeto de mantener constante la temperatura corporal, y se comenzaba la intervención quirúrgica. Primeramente se practicaba traqueotomía, como medida de rutina para evitar una posible asfixia, aunque en ningún caso fue necesario aplicar la respiración artificial.

La arteria y vena femorales eran disecadas a continuación, introduciendo en ellas sendos catéteres cuyos extremos se hacían llegar hasta la aorta abdominal y la vena cava posterior respectivamente. El cateter situado en la arteria femoral se conectaba a un sistema de registro de la presión arterial, y era usado además para la toma de muestras de sangre. El cateter de la vena femoral era usado para la administración endovenosa de las diferentes sustancias; en aquellos casos en los que se realizaban infusiones simultáneas se situaba otro cateter en la vena femoral de la otra pata.

Posteriormente, y tras laparatomía ventral media, se disecaba el colédoco procurando no dañar en absoluto los pequeños vasos sanguíneos situados en sus proximidades, y se introducía una cánula de polivinilo mediante una incisión en pico de flauta a unos diez milímetros de la entrada del conducto en duodeno.

Se ligaba el conducto cístico con objeto de excluir la vesícula biliar del sistema a estudiar. Así mismo se hacía una ligadura sobre el píloro, a fin de eliminar una posible acción de los productos procedentes del estomago sobre la secreción biliar, cuidando de respetar la abundante irrigación de la zona.

En aquellos experimentos con reingreso de bilis al duodeno se introducía una cánula en éste a unos cinco centímetros del-



píloro.

Por último, y tras una nueva laparatomía ventral, la vejiga urinaria era canulada introduciéndole un tubo de polivinilo que drenaba la orina durante los experimentos.

3.3.- MECANICA DE LOS EXPERIMENTOS

La recogida de muestras de bilis se iniciaba treinta minutos después de efectuada la canulación del colédoco, considerándose este intervalo como un periodo de equilibrio. Esta recogida se realizaba en tubos previamente tarados que se cambiaban cada veinte minutos. Inmediatamente después del cambio eran pesados para la determinación del flujo biliar.

Se tomaron muestras de sangre arterial en todos los experimentos, a intervalos variables según el tipo de éstos.

En aquellos casos en los que la circulación enterohepática se mantenía intacta se reingresaba la misma bilis obtenida por canulación del animal, inyectándola en duodeno de forma discontinua. Una pequeña porción de bilis era apartada para la realización de los pertinentes análisis.

Los tubos de recogida de bilis y la cánula aplicada al colédoco permanecían, durante todo el experimento, protegidos de la luz por una envoltura de papel de aluminio, a fin de evitar la fotodescomposición de los pigmentos biliares (157). Además los tubos se mantenían en un baño de hielo para evitar cualquier alteración de las muestras por efecto de la temperatura. Finalizado el periodo de recogida de muestra ésta era rápidamente congelada a -20°C . El análisis de los pigmentos biliares se realizaba dentro de las veinticuatro horas posteriores.

La temperatura corporal de los animales era mantenida constante entre 38 y 39°C durante todo el curso de los experimentos.

3.4.- SISTEMAS DE INFUSION Y REGISTRO

Para la infusión endovenosa de las distintas sustancias ensayadas se utilizó una bomba peristáltica con tubos de succión siliconados (Peristaltic Pump, model 603), que era conectada al cateter de la vena femoral. Un indicador de revoluciones por minuto incorporado a la bomba permitía determinar las velocidades de infusión, previa calibración de los tubos de succión empleados.

El registro de la presión arterial se realizó como medida de rutina para controlar el estado general del animal durante los experimentos. Se utilizó para ello un polígrafo de cuatro canales (Havard-Packar). A uno de éstos se conectaba un transductor para presión, unido a su vez a la cánula de la arteria femoral. Para las conexiones eran usados tubos de polivinilo poco deformables, manteniéndose todo el circuito lleno de una solución anticoagulante (heparina al 0,04 %).

3.5.- INFUSIONES

3.5.1.- Bilirrubina.

La bilirrubina (Sigma) se disolvía en agua destilada -

alcalinizada con unas gotas de NaOH hasta pH 8. La solución se protegía de la luz envolviéndola con papel de aluminio durante todo el periodo de infusión.

3.5.2.- Bromosulfoftaleina (BSP).

La BSP (Bromotaleina, Merck) era disuelta en una solución de cloruro sódico al 0,9 %. El pH se mantenía neutro adicionando unas gotas de tampón fosfato 0,1 M.

3.5.3.- Sales biliares.

Se prepararon soluciones de dehidrocolato, taurocolato y glicodesoxicolato sódicos (Sigma). En cada caso la sal biliar se disolvía en una solución de cloruro sódico al 0,9 % a la que se añadía un 4 % de albúmina bovina (fracción V Sigma) para evitar posibles efectos hemolíticos. El pH se mantenía neutro adicionando unas gotas de tampón fosfato 0,1 M.

3.6.- CONTROL POSTMORTEM

Finalizados los experimentos los animales eran sacrificados por exanguinación a través de la vena femoral. A continuación se extraía el hígado y, tras colocar un cateter en vena porta, se lavaba con solución salina para eliminar toda la sangre sequestrada en los vasos intrahepáticos. Algunos fragmentos de hígado eran fijados con formol para su ulterior estudio histológico.- Una vez realizado éste, se pusieron de manifiesto escasas y po-

co importantes alteraciones , aunque, ocasionalmente, los canalículos aparecían dilatados y los citoplasmas hepatocitarios es casamente teñidos y granulares.

3.7.- METODOS ANALITICOS

3.7.1.- Determinación de bilirrubina.

La bilirrubina se determinó, tanto en suero como en bilis, por el método colorimétrico de Malloy y Evelyn (145).

3.7.2.- Determinación de biliverdina.

La biliverdina se determinó en bilis por el método colorimétrico de Larson y col. (132).

3.7.3.- Determinación de bromosulfoftaleina (BSP).

La BSP se determinó en suero y en bilis por una modificación del método colorimétrico de Seligson y col. (189).

3.7.4.- Determinación de sales biliares.

El desoxicolato se determinó en bilis por el método de Levin y col. (136). Ya que en el conejo el glicodesoxicolato supone más del 90 % de las sales biliares presentes en bilis (101), -

hemos considerado sus valores en bilis como valores de sales biliares totales.

El colato se determinó mediante el método de Irvin y col. (105), solo en los casos en que se infundía taurocolato sódico.

El dehidrocolato se determinó por el método de Bartos (13), solo cuando era infundido dehidrocolato sódico.

En todos los casos, y como paso previo a la determinación de sales biliares, se eliminaron lípidos y pigmentos de la muestra por el método de Levin y col. (136).

3.7.5.- Determinación de cloruro.

El cloruro se determinó por volumetría potenciométrica con NO_3Ag 0,01 N previamente valorado. Se empleaban dos electrodos, uno de plata (Radiometer P-4011) y otro de sulfato mercurioso (Radiometer K-601), conectados ambos a un potenciómetro Radiometer-pH-Meter-26. La reacción tenía lugar en medio sulfúrico (SO_4H_2 1,5 N).

3.7.6.- Determinación de sodio y potasio.

Ambos cationes se determinaron por fotometría de llama utilizando un fotómetro "Klina Automatic", de lectura digital.

3.8.- TRATAMIENTO ESTADISTICO

Se han determinado media y error estandard de los va-

lores de cada parámetro, realizándose en los casos pertinentes -
análisis de varianza por aplicación del test de la t de Student.

3.9.- DISEÑO EXPERIMENTAL.

3.9.1.- Secreción biliar en condiciones de reposo.

Anestesia con etil-uretano.

3.9.1.1.- Con la circulación enterohepática intacta = (reingreso de bilis al duodeno). Experimentos del tipo CR.

3.9.1.2.- Con la circulación enterohepática interrumpida (sin reingreso de bilis al duodeno). - Experimentos del tipo SR.

3.9.2.- Secreción biliar durante la infusión endovenosa de BSP. Anestesia con etil-uretano.

3.9.2.1.- Infusión de BSP a dosis de 0,05 mg/kg peso corporal/min.. Experimentos del tipo BSR.

3.9.2.2.- Infusión de BSP a dosis de 0,1 mg/kg peso corporal/min.. Experimentos del tipo BSRA.

3.9.2.3.- Infusión de BSP a dosis de 0,5 mg/kg peso corporal/min.. Experimentos del tipo BSRb.

3.9.2.4.- Infusión de BSP a dosis de 1.0 mg/kg peso corporal/min.. Experimentos del tipo BSRc.

3.9.2.5.- Infusión de BSP a dosis de 1,5 mg/kg peso -

corporal/min.. Experimentos del tipo BSRd.

3.9.3.- Efecto de la infusión endovenosa de diferentes sales biliares sobre la secreción biliar, en condiciones de transporte máximo de BSP.

3.9.3.1.- Anestesia con etil-uretano.

3.9.3.1.1.- Infusión de BSP a dosis de 0,7 mg/kg peso corporal/min. y de dehidrocolato sódico a dosis de 0,8 mg/kg peso corporal/min.. Experimentos del tipo DB.

3.9.3.1.2.- Infusión de BSP a dosis de 0,7 mg/kg peso corporal/min. y de taurocolato sódico a dosis de 0,8 mg/kg peso corporal/min.. Experimentos del tipo TB.

3.9.3.1.3.- Infusión de BSP a dosis de 0,7 mg/kg peso corporal/min. y de glicodesoxicolato sódico a dosis de 0,6 mg/kg peso corporal/min. Experimentos del tipo GB.

3.9.3.2.- Anestesia con pentobarbital sódico.

3.9.3.2.1.- Infusión de BSP a dosis de 0,7 mg/kg peso corporal/min. y de dehidrocolato sódico a dosis de 0,8 mg/kg peso corporal/min.. Experimentos del tipo PDB.

3.9.3.2.2.- Infusión de BSP a dosis de 0,7 mg/kg peso corporal/min. y de taurocolato sódico a dosis de 0,8 mg/kg peso corporal/min.. Experimentos del tipo PTB.

3.9.3.2.3.- Infusión de BSP a dosis de 0,7 mg/kg peso corporal/min. y de glicodesoxicolato sódico a dosis de 0,8 mg/kg peso corporal/min. Experimentos del tipo PGB.

3.9.4.- Efecto de la infusión endovenosa de diferentes sales biliares sobre la secreción biliar, en condiciones de transporte máximo de bilirrubina. Anestesia con etil-uretano.

3.9.4.1.- Infusión de bilirrubina a dosis de 0,6 mg/kg peso corporal/min. y de dehidrocolato sódico a dosis de 0,8 mg/kg peso corporal/min. Experimentos del tipo BRD.

3.9.4.2.- Infusión de bilirrubina a dosis de 0,6 mg/kg peso corporal/min. y de taurocolato sódico a dosis de 0,8 mg/kg peso corporal/min.. Experimentos del tipo BRT.

3.9.4.3.- Infusión de bilirrubina a dosis de 0,6 mg/kg peso corporal/min. y de glicodesoxicolato sódico a dosis de 0,8 mg/kg peso corporal/min.. Experimentos del tipo BRG.

4.- RESULTADOS

En las páginas siguientes se incluyen las tablas y -
figuras de los resultados correspondientes a los valores medios=
para los diferentes ensayos. La totalidad de los protocolos y -
valores individuales se encuentran en el Departamento Interfacult
tativo de Fisiología Animal a disposición de quien desee consul-
tarlos.

ABREVIATURAS UTILIZADAS

- m - muestra.
- BSP- bromosulfoftaleina.
- Bv - biliverdina.
- Br - bilirrubina
- SB - sales biliares.
- Cl - cloruro.
- Na - sodio.
- K - potasio.

Tabla I.- Experimentos del tipo CR. Basales con circulación enterohepática intacta. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	Concentración						
	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	$\mu\text{l}/\text{Kg}/\text{min.}$	$\text{mg}/100\text{ml}$			mEq/l		
1	77,7 \pm 6,5	13,7 \pm 1,7	6,6 \pm 1,0	6,7 \pm 0,6	88 \pm 5	132 \pm 10	2,9 \pm 0,2
2	85,9 \pm 6,4	12,1 \pm 1,7	6,3 \pm 1,9	6,4 \pm 0,8	89 \pm 4	128 \pm 7	2,6 \pm 0,4
3	82,6 \pm 10,6	14,7 \pm 1,9	6,4 \pm 1,4	5,9 \pm 0,7	88 \pm 2	130 \pm 10	2,7 \pm 0,3
4	80,5 \pm 11,0	14,6 \pm 2,5	5,7 \pm 0,9	5,3 \pm 0,5	88 \pm 2	135 \pm 10	2,8 \pm 0,3
5	77,6 \pm 6,9	14,7 \pm 2,4	4,0 \pm 1,9	5,5 \pm 0,4	86 \pm 3	129 \pm 9	2,7 \pm 0,2
6	78,5 \pm 5,7	13,4 \pm 2,7	4,7 \pm 1,9	5,0 \pm 0,3	84 \pm 5	124 \pm 8	2,5 \pm 0,2
7	74,1 \pm 4,0	12,1 \pm 2,2	4,8 \pm 2,0	5,4 \pm 0,8	87 \pm 3	131 \pm 9	2,7 \pm 0,1
8	71,8 \pm 4,9	10,7 \pm 3,8	5,2 \pm 1,8	5,3 \pm 0,6	88 \pm 4	126 \pm 11	2,6 \pm 0,3
9	72,0 \pm 4,1	10,2 \pm 1,6	4,4 \pm 1,9	5,8 \pm 0,5	84 \pm 7	118 \pm 11	2,5 \pm 0,2
10	70,0 \pm 5,4	10,0 \pm 3,1	4,1 \pm 1,1	5,6 \pm 0,5	82 \pm 1	134 \pm 9	2,9 \pm 0,2
11	69,7 \pm 6,5	7,5 \pm 3,0	4,6 \pm 1,2	5,5 \pm 0,6	83 \pm 3	140 \pm 10	2,9 \pm 0,1
12	68,9 \pm 9,2	6,1 \pm 2,1	4,6 \pm 1,2	5,9 \pm 0,6	87 \pm 4	132 \pm 8	3,0 \pm 0,3
13	68,0 \pm 9,1	5,0 \pm 1,8	3,8 \pm 1,2	4,8 \pm 0,6	86 \pm 6	127 \pm 6	2,9 \pm 0,1
14	72,0 \pm 9,1	4,4 \pm 1,7	4,4 \pm 1,1	5,2 \pm 0,5	83 \pm 5	131 \pm 9	3,0 \pm 0,2
15	68,0 \pm 9,6	4,2 \pm 1,3	4,3 \pm 1,1	5,8 \pm 0,5	86 \pm 3	121 \pm 5	2,7 \pm 0,1

m	Producción					
	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	$\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min.}$		$\mu\text{Eq}/\text{Kg}/\text{min.}$			
1	10,5 \pm 1,0	5,0 \pm 0,6	0,53 \pm 0,09	6,7 \pm 0,3	10,1 \pm 0,7	0,22 \pm 0,02
2	10,3 \pm 1,2	5,2 \pm 1,2	0,56 \pm 0,11	7,7 \pm 0,7	10,9 \pm 0,6	0,23 \pm 0,03
3	12,0 \pm 2,0	4,9 \pm 0,4	0,49 \pm 0,10	7,3 \pm 1,0	10,4 \pm 0,7	0,21 \pm 0,02
4	11,5 \pm 1,8	4,6 \pm 0,9	0,44 \pm 0,10	7,1 \pm 1,1	10,7 \pm 1,3	0,22 \pm 0,02
5	11,1 \pm 1,4	2,8 \pm 1,1	0,42 \pm 0,05	6,7 \pm 0,7	9,9 \pm 0,5	0,21 \pm 0,01
6	10,4 \pm 1,8	3,5 \pm 1,2	0,40 \pm 0,05	6,6 \pm 0,7	9,9 \pm 1,3	0,21 \pm 0,03
7	8,8 \pm 1,3	3,9 \pm 1,3	0,41 \pm 0,07	6,4 \pm 0,5	9,8 \pm 0,7	0,20 \pm 0,01
8	7,5 \pm 2,3	4,7 \pm 1,4	0,39 \pm 0,06	6,3 \pm 0,6	8,7 \pm 0,5	0,19 \pm 0,02
9	7,3 \pm 1,1	2,8 \pm 1,2	0,42 \pm 0,05	6,1 \pm 0,6	8,4 \pm 0,5	0,18 \pm 0,01
10	6,7 \pm 1,7	2,1 \pm 0,9	0,39 \pm 0,04	5,7 \pm 0,5	9,3 \pm 0,5	0,21 \pm 0,02
11	4,9 \pm 1,5	2,4 \pm 1,0	0,38 \pm 0,05	5,8 \pm 0,6	9,9 \pm 1,3	0,21 \pm 0,03
12	3,8 \pm 1,0	2,8 \pm 0,7	0,40 \pm 0,06	6,1 \pm 0,9	8,9 \pm 0,8	0,20 \pm 0,02
13	3,2 \pm 1,0	2,5 \pm 0,7	0,33 \pm 0,05	5,8 \pm 0,8	8,6 \pm 1,0	0,20 \pm 0,03
14	2,9 \pm 0,9	3,3 \pm 0,5	0,38 \pm 0,05	6,1 \pm 1,0	9,2 \pm 0,6	0,21 \pm 0,03
15	2,6 \pm 0,6	2,4 \pm 0,9	0,39 \pm 0,08	5,9 \pm 0,9	8,2 \pm 0,9	0,19 \pm 0,03

n = 4

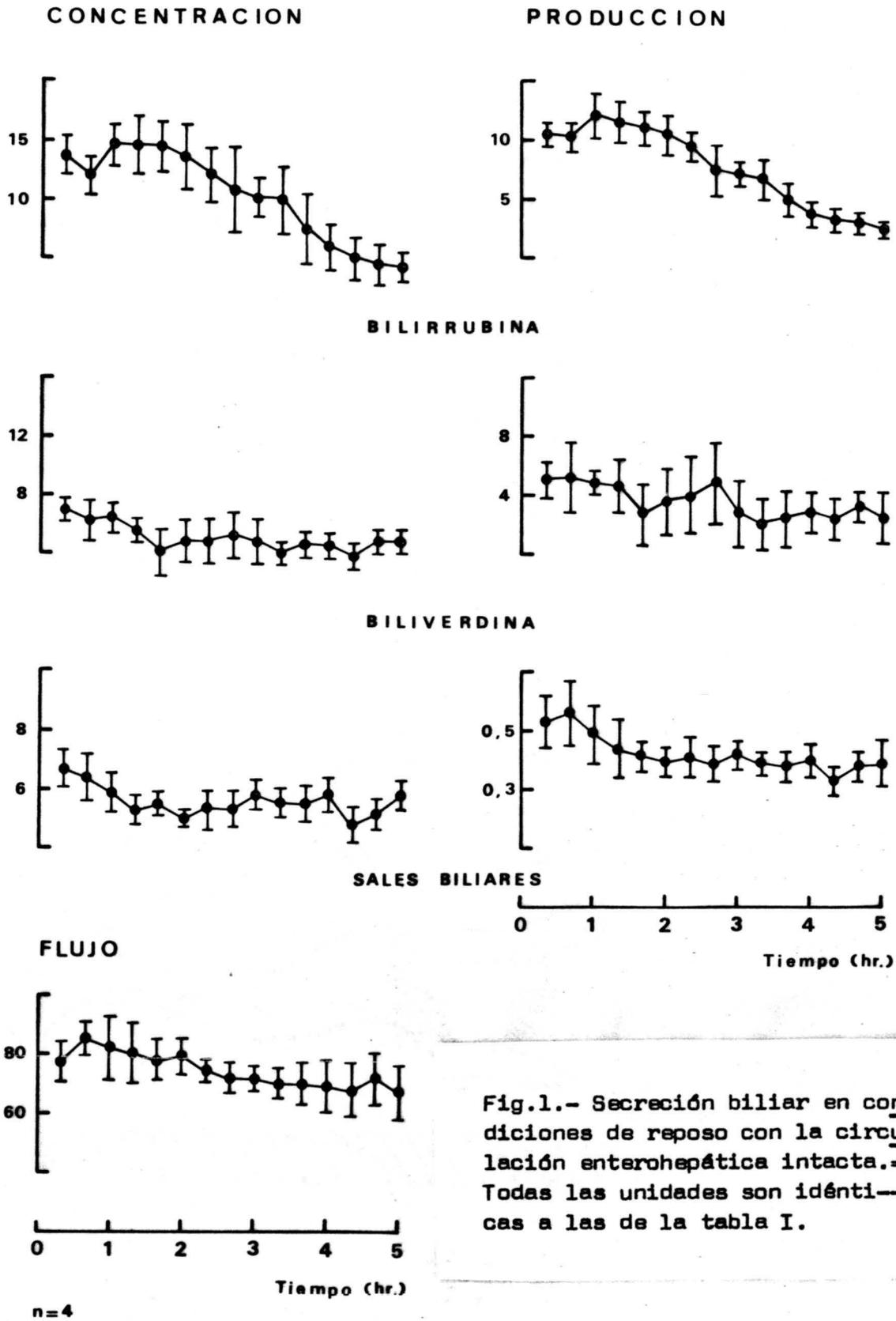


Fig.1.- Secreción biliar en condiciones de reposo con la circulación enterohepática intacta.- Todas las unidades son idénticas a las de la tabla I.

Tabla II.- Experimentos del tipo SR. Basales con circulación enterohepática interrumpida. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	Concentración						
	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	$\mu\text{l/Kg/min.}$	mg/100ml		mEq/l			
1	86,5 \pm 14,4	16,4 \pm 2,8	10,0 \pm 0,8	5,4 \pm 0,4	95 \pm 6	161 \pm 12	3,7 \pm 0,1
2	76,2 \pm 12,0	18,1 \pm 3,8	9,1 \pm 0,5	5,1 \pm 0,4	98 \pm 3	153 \pm 3	3,7 \pm 0,3
3	72,7 \pm 9,6	17,1 \pm 3,7	8,9 \pm 0,5	5,3 \pm 0,5	102 \pm 6	157 \pm 11	3,6 \pm 0,4
4	63,3 \pm 7,9	16,8 \pm 4,6	9,7 \pm 1,7	5,2 \pm 0,5	104 \pm 6	158 \pm 6	3,7 \pm 0,3
5	62,0 \pm 8,0	16,1 \pm 4,0	9,2 \pm 1,4	4,7 \pm 0,4	102 \pm 3	170 \pm 10	4,1 \pm 0,3
6	53,7 \pm 5,7	15,2 \pm 3,8	7,6 \pm 1,2	4,9 \pm 0,4	99 \pm 6	169 \pm 9	4,2 \pm 0,2
7	45,3 \pm 1,6	14,2 \pm 3,8	8,4 \pm 1,0	4,7 \pm 0,5	104 \pm 4	166 \pm 7	4,1 \pm 0,2
8	44,5 \pm 3,0	15,6 \pm 4,7	8,5 \pm 1,4	4,9 \pm 0,7	101 \pm 4	172 \pm 13	4,8 \pm 0,8
9	44,0 \pm 4,9	12,2 \pm 2,9	8,5 \pm 0,2	5,3 \pm 0,7	101 \pm 5	162 \pm 12	4,4 \pm 0,5
10	38,1 \pm 2,7	11,7 \pm 2,4	8,4 \pm 0,6	5,5 \pm 0,8	101 \pm 4	181 \pm 11	4,6 \pm 0,4
11	39,6 \pm 0,6	11,1 \pm 2,1	7,7 \pm 0,2	4,9 \pm 0,7	99 \pm 3	181 \pm 21	4,8 \pm 0,4
12	41,8 \pm 1,6	10,2 \pm 2,2	7,7 \pm 0,2	4,1 \pm 0,4	99 \pm 2	175 \pm 5	4,6 \pm 0,3
13	35,2 \pm 1,8	8,9 \pm 1,7	9,2 \pm 1,2	4,1 \pm 0,5	100 \pm 4	178 \pm 16	4,5 \pm 0,5
14	30,6 \pm 3,5	8,7 \pm 1,7	8,7 \pm 1,7	4,1 \pm 0,5	103 \pm 3	181 \pm 10	4,7 \pm 0,3

m	Producción					
	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	$\mu\text{g/Kg/min.}$		$\mu\text{Eq/Kg/min.}$			
1	13,1 \pm 1,3	8,9 \pm 2,1	0,46 \pm 0,06	8,4 \pm 1,9	13,7 \pm 2,1	0,32 \pm 0,06
2	12,6 \pm 2,0	6,9 \pm 1,2	0,40 \pm 0,07	7,5 \pm 1,4	11,6 \pm 1,7	0,28 \pm 0,05
3	11,8 \pm 2,3	6,5 \pm 0,9	0,40 \pm 0,08	7,6 \pm 1,4	12,1 \pm 1,5	0,21 \pm 0,05
4	10,0 \pm 2,5	6,1 \pm 1,3	0,34 \pm 0,06	6,7 \pm 1,0	10,1 \pm 1,5	0,24 \pm 0,04
5	9,5 \pm 2,2	5,6 \pm 0,9	0,30 \pm 0,05	6,4 \pm 1,0	10,6 \pm 1,7	0,26 \pm 0,04
6	8,0 \pm 2,0	3,9 \pm 0,4	0,26 \pm 0,03	5,4 \pm 0,8	9,1 \pm 1,2	0,23 \pm 0,03
7	6,4 \pm 1,7	3,8 \pm 0,3	0,21 \pm 0,02	4,8 \pm 0,4	7,5 \pm 0,3	0,19 \pm 0,01
8	7,0 \pm 2,1	3,8 \pm 0,6	0,22 \pm 0,03	4,5 \pm 0,2	7,6 \pm 0,4	0,21 \pm 0,02
9	5,2 \pm 1,2	3,8 \pm 0,5	0,23 \pm 0,04	4,4 \pm 0,4	7,1 \pm 0,9	0,19 \pm 0,01
10	4,3 \pm 0,7	3,2 \pm 0,4	0,21 \pm 0,03	3,9 \pm 0,3	6,9 \pm 0,7	0,17 \pm 0,01
11	4,4 \pm 0,9	3,0 \pm 0,1	0,19 \pm 0,02	3,9 \pm 0,1	7,2 \pm 0,8	0,18 \pm 0,02
12	4,3 \pm 0,9	4,0 \pm 0,3	0,18 \pm 0,03	4,5 \pm 0,4	7,3 \pm 0,2	0,19 \pm 0,01
13	3,2 \pm 0,8	2,9 \pm 0,3	0,13 \pm 0,03	3,2 \pm 0,4	6,5 \pm 0,7	0,16 \pm 0,02
14	2,7 \pm 0,5	2,6 \pm 0,5	0,12 \pm 0,01	3,2 \pm 0,4	5,6 \pm 0,8	0,14 \pm 0,01

n = 4

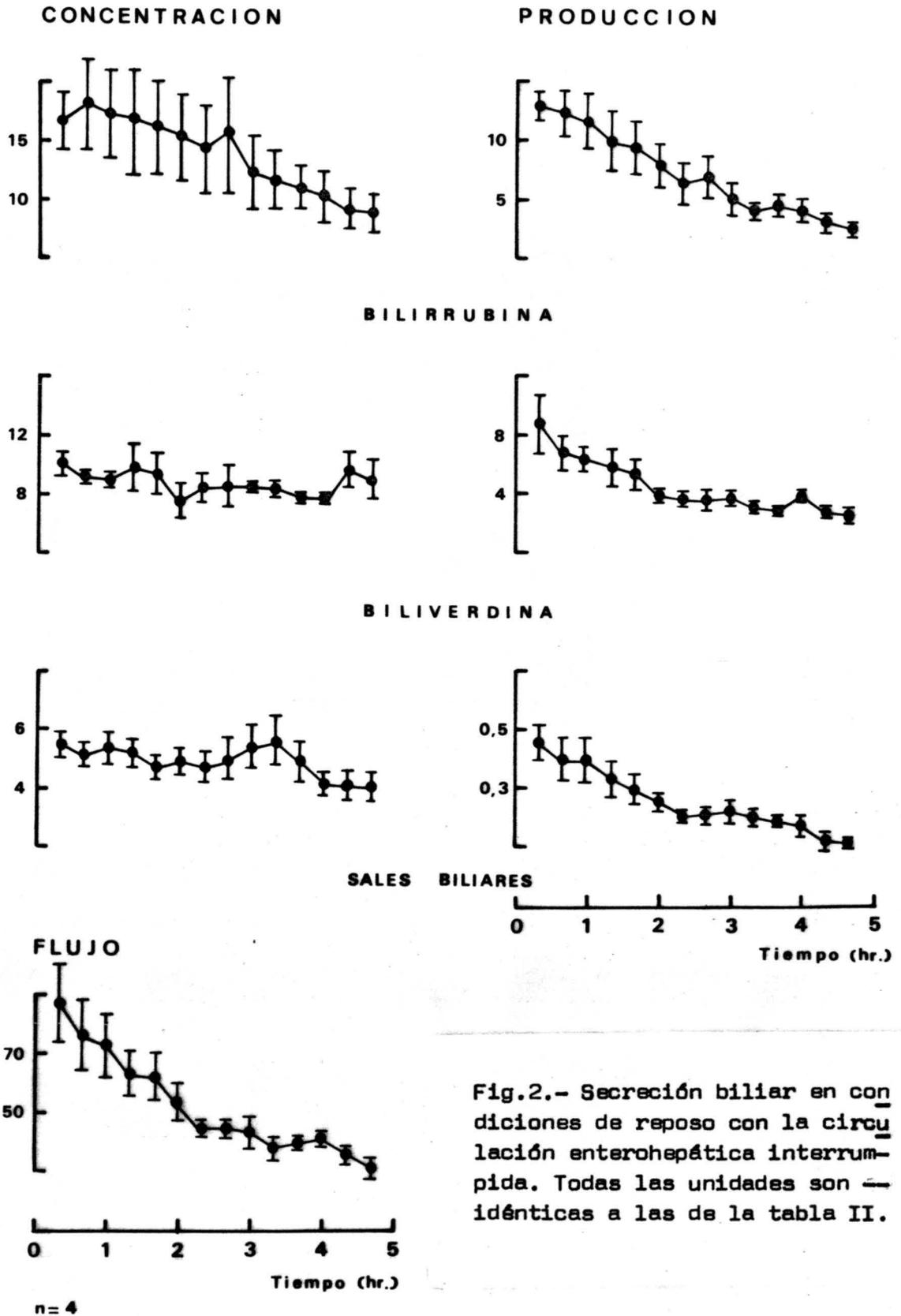


Fig.2.- Secreción biliar en condiciones de reposo con la circulación enterohepática interrumpida. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla II.

Tabla III.- Experimentos del tipo BSR. Infusión de bromosulfoftaleína a dosis de 0,05 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E. M. de flujo, concentración y producción de bromosulfoftaleína, bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo	Concentración						
		BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
		mg/ml	mg/100ml			mEq/l		
	μ l/Kg/min.							
1	79,5 \pm 10,0		15,6 \pm 3,2	9,8 \pm 2,1	8,0 \pm 1,0	91 \pm 4	150 \pm 10	3,3 \pm 0,3
2	76,1 \pm 10,0		16,5 \pm 4,0	11,2 \pm 0,9	8,2 \pm 1,0	88 \pm 5	141 \pm 9	3,2 \pm 0,2
3	70,7 \pm 8,5		18,5 \pm 3,9	8,0 \pm 1,3	7,3 \pm 0,9	81 \pm 1	132 \pm 7	3,1 \pm 0,2
4	71,7 \pm 7,2	0,05 \pm 0,02	15,1 \pm 2,6	6,0 \pm 1,7	5,5 \pm 0,8	101 \pm 2	140 \pm 5	3,3 \pm 0,2
5	64,2 \pm 5,2	0,27 \pm 0,03	16,4 \pm 3,4	5,8 \pm 1,4	6,3 \pm 0,7	100 \pm 3	155 \pm 4	3,8 \pm 0,2
6	74,9 \pm 11,4	0,31 \pm 0,06	14,6 \pm 3,8	5,8 \pm 1,1	4,6 \pm 0,7	84 \pm 8	137 \pm 15	3,3 \pm 0,4
7	66,6 \pm 7,8	0,37 \pm 0,07	12,5 \pm 4,6	5,4 \pm 1,7	5,4 \pm 0,8	101 \pm 3	147 \pm 6	3,6 \pm 0,2
8	61,6 \pm 7,6	0,39 \pm 0,06	10,5 \pm 2,9	6,1 \pm 1,3	5,4 \pm 0,4	102 \pm 2	156 \pm 5	3,9 \pm 0,1
9	63,3 \pm 6,6	0,41 \pm 0,07	11,0 \pm 3,3	4,9 \pm 1,7	5,2 \pm 1,2	93 \pm 3	144 \pm 11	3,7 \pm 0,2
10	66,1 \pm 5,8	0,38 \pm 0,08	7,7 \pm 2,5	5,1 \pm 1,3	4,8 \pm 0,4	94 \pm 5	144 \pm 4	3,5 \pm 0,1
11	65,1 \pm 6,0	0,38 \pm 0,09	7,0 \pm 2,0	3,8 \pm 0,6	4,3 \pm 0,7	103 \pm 2	155 \pm 3	3,9 \pm 0,1
12	62,0 \pm 4,5	0,36 \pm 0,09	7,0 \pm 1,9	4,5 \pm 0,5	4,7 \pm 0,9	104 \pm 4	150 \pm 8	4,1 \pm 0,2

m	Producción						
	BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	μ g/Kg/min.			μ Eq/Kg/min.			
1		11,5 \pm 1,0	8,0 \pm 2,5	0,60 \pm 0,13	7,3 \pm 1,1	12,7 \pm 1,8	0,26 \pm 0,04
2		11,5 \pm 1,6	7,9 \pm 1,6	0,63 \pm 0,13	6,7 \pm 1,0	10,7 \pm 1,5	0,24 \pm 0,03
3		12,4 \pm 2,0	5,8 \pm 1,6	0,53 \pm 0,10	6,2 \pm 0,7	10,0 \pm 1,6	0,23 \pm 0,03
4	3,8 \pm 1,7	10,4 \pm 1,4	4,5 \pm 1,8	0,40 \pm 0,07	7,3 \pm 0,9	10,7 \pm 1,2	0,25 \pm 0,02
5	17,9 \pm 3,2	10,4 \pm 1,9	3,9 \pm 1,3	0,38 \pm 0,04	6,5 \pm 0,7	10,0 \pm 0,9	0,25 \pm 0,02
6	23,6 \pm 5,6	10,2 \pm 1,9	4,5 \pm 1,5	0,34 \pm 0,04	6,1 \pm 0,7	10,0 \pm 1,2	0,23 \pm 0,03
7	25,2 \pm 5,6	7,2 \pm 1,8	4,7 \pm 1,4	0,35 \pm 0,05	6,8 \pm 1,0	9,9 \pm 1,3	0,24 \pm 0,03
8	24,7 \pm 5,5	5,9 \pm 0,9	4,4 \pm 1,8	0,32 \pm 0,03	6,3 \pm 0,9	9,7 \pm 1,5	0,24 \pm 0,02
9	26,2 \pm 5,0	6,6 \pm 1,5	3,8 \pm 2,0	0,32 \pm 0,05	5,9 \pm 0,6	9,2 \pm 1,3	0,23 \pm 0,02
10	25,2 \pm 5,5	4,8 \pm 1,3	3,9 \pm 1,6	0,31 \pm 0,02	6,2 \pm 0,8	9,5 \pm 1,1	0,23 \pm 0,02
11	24,8 \pm 6,1	4,3 \pm 1,1	2,8 \pm 0,9	0,28 \pm 0,04	6,7 \pm 0,7	10,1 \pm 1,1	0,25 \pm 0,02
12	22,1 \pm 5,7	4,4 \pm 1,4	3,2 \pm 0,8	0,29 \pm 0,06	6,5 \pm 0,7	9,3 \pm 1,1	0,25 \pm 0,03

n = 4

-- Infusión de bromosulfoftaleína. Muestras 4 a 12.

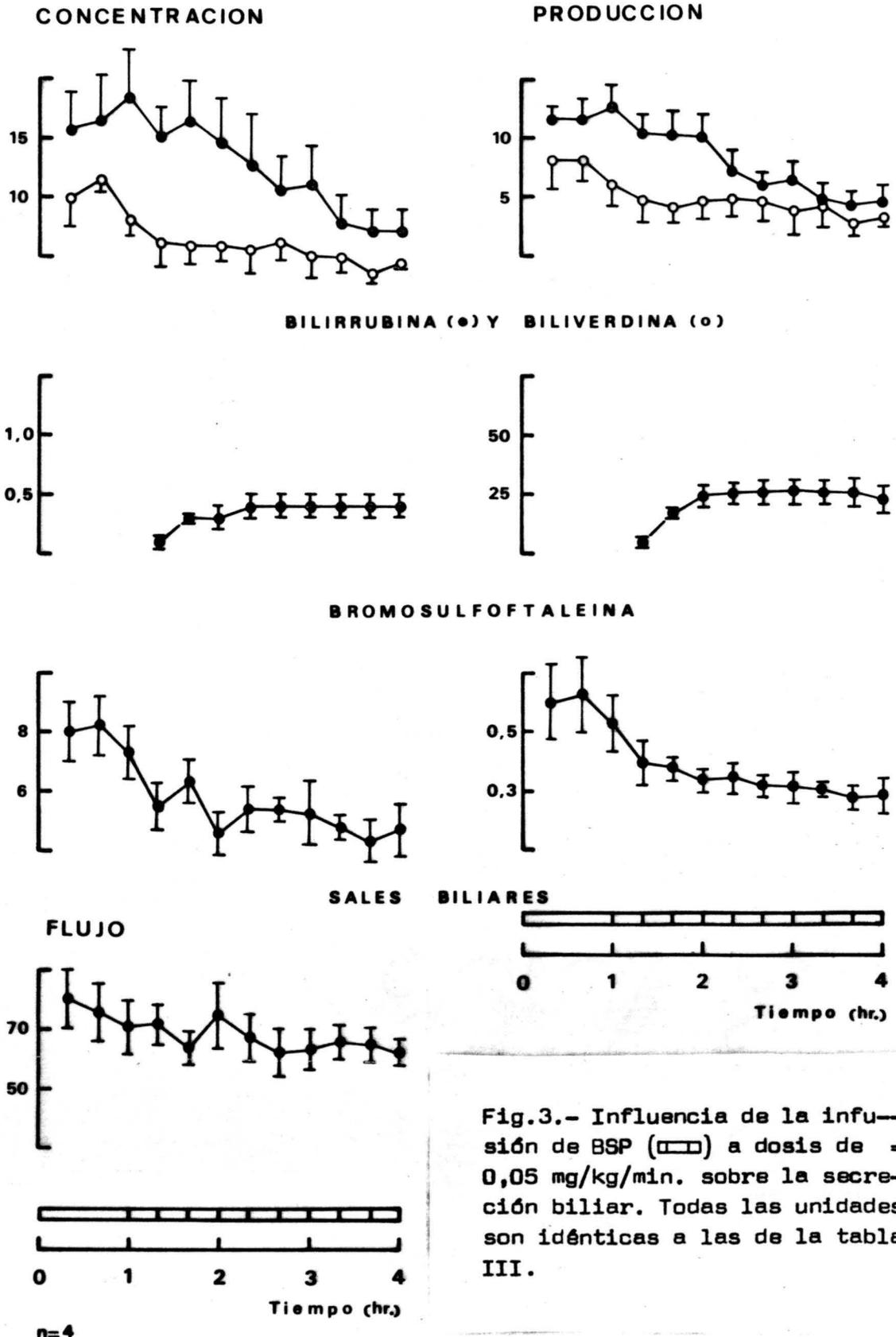


Fig.3.- Influencia de la infu--
sion de BSP (□□) a dosis de -
0,05 mg/kg/min. sobre la secre-
cion biliar. Todas las unidades
son idénticas a las de la tabla
III.

Tabla IV.- Experimentos del tipo BSRA. Infusión de bromosulfoftaleína a dosis de 0,1 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios±E.E. M. de flujo, concentración y producción de bromosulfoftaleína, bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo	BSP	Concentración					
			Br	Bv	SB	Cl	Na	K
			mg/100ml			mEq/l		
	μ l/Kg/min.	mg/ml						
1	84,3±4,6		13,4±0,6	6,7±0,7	10,2±1,0	86±7	122±22	3,2±0,5
2	86,4±4,1		15,5±0,7	6,2±0,9	8,3±0,5	85±3	99±16	2,6±0,3
3	86,9±6,7		16,6±2,6	6,3±1,8	8,0±0,7	81±7	107±21	2,7±0,4
4	71,5±3,3	0,08±0,04	14,5±0,9	5,7±1,5	7,5±0,4	92±4	146±5	3,6±0,1
5	63,5±5,0	0,41±0,11	14,8±1,9	6,4±1,4	7,2±0,9	97±3	125±15	3,1±0,3
6	58,6±6,0	0,68±0,14	14,0±2,2	8,1±2,6	8,1±0,4	98±4	97±19	2,4±0,3
7	54,0±5,4	0,76±0,14	14,2±3,3	7,7±2,1	7,7±0,6	99±1	112±19	3,2±0,4
8	48,3±3,0	0,81±0,16	13,9±3,4	7,9±2,3	6,9±0,4	102±2	135±8	3,8±0,5
9	50,7±4,1	0,86±0,18	14,1±2,7	5,7±1,0	7,2±0,4	99±5	138±5	3,8±0,3
10	48,2±6,5	0,88±0,17	12,1±3,0	6,7±0,6	7,0±0,5	103±2	152±10	4,2±0,6
11	52,2±7,4	0,95±0,22	10,8±2,5	6,5±1,0	6,9±0,7	104±3	157±8	4,7±0,4
12	43,1±5,2	1,04±0,23	10,9±2,9	6,3±0,8	7,0±0,8	106±2	166±12	4,9±0,3

m	Producción						
	BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	μ g/Kg/min.			μ Eq/Kg/min.			
1		11,3±0,3	5,7±0,6	0,86±0,08	7,2±0,5	10,2±1,6	0,26±0,04
2		13,5±1,2	5,3±0,7	0,72±0,07	7,4±0,3	8,5±1,2	0,23±0,03
3		14,3±2,3	5,4±1,6	0,67±0,06	6,9±0,3	8,8±1,1	0,22±0,02
4	5,3±2,9	10,3±0,4	4,0±0,9	0,53±0,03	6,4±0,7	10,4±0,5	0,26±0,02
5	25,6±7,2	9,2±0,7	4,0±0,9	0,46±0,08	6,1±0,3	7,7±0,5	0,20±0,02
6	37,7±5,1	8,0±0,9	4,9±1,8	0,48±0,06	5,7±0,5	5,4±0,5	0,14±0,01
7	39,9±4,0	7,3±1,4	4,4±1,6	0,42±0,07	5,3±0,6	5,9±0,6	0,17±0,01
8	38,4±6,1	6,7±1,6	3,8±1,1	0,32±0,02	4,9±0,3	6,5±0,4	0,18±0,02
9	41,2±4,7	7,1±1,6	3,0±0,7	0,36±0,02	5,0±0,5	7,0±0,5	0,19±0,02
10	40,7±5,4	6,1±1,9	3,2±0,5	0,33±0,03	5,0±0,7	7,3±0,9	0,20±0,02
11	45,5±4,6	5,1±1,1	3,4±0,8	0,37±0,08	5,4±0,7	8,1±1,1	0,25±0,05
12	41,5±3,3	4,6±1,3	2,6±0,3	0,30±0,06	4,6±0,6	7,1±0,7	0,21±0,02

n = 4

→ Infusión de bromosulfoftaleína. Muestras 4 a 12.

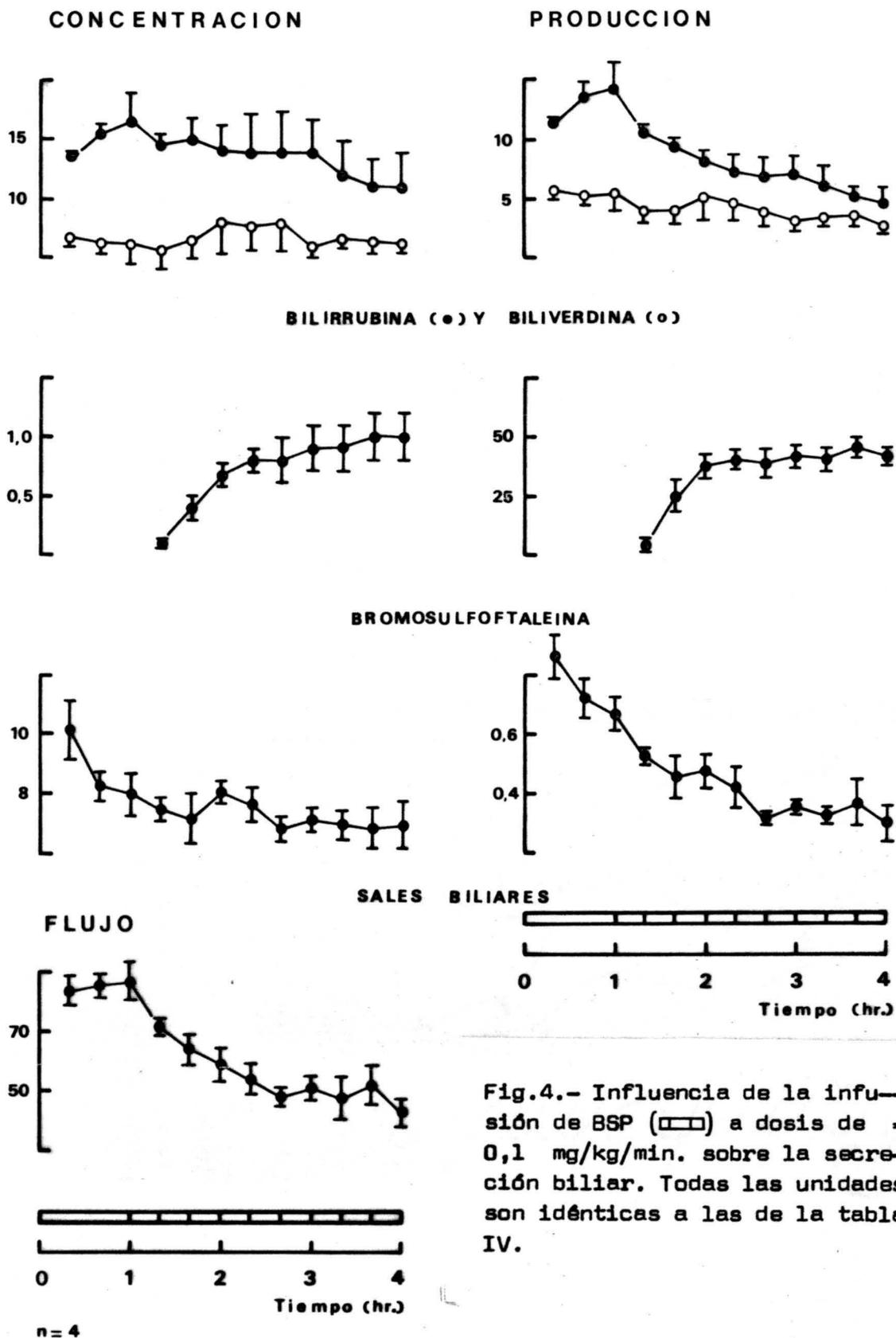


Fig.4.- Influencia de la infusión de BSP (□□) a dosis de 0,1 mg/kg/min. sobre la secreción biliar. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla IV.

Tabla V.- Experimentos del tipo BSRb. Infusión de bromosulfoftaleína a dosis de 0,5 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios±E.E.M. de flujo, concentración y producción de bromosulfoftaleína, bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo	Concentración						
		BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
		mg/ml	mg/100ml			mEq/l		
	$\mu\text{l/Kg/min.}$							
1	63,2±12,4		22,3±2,1	14,2±2,6	8,6±0,7	89±2	183±12	5,7±1,1
2	57,5± 9,7		23,9±1,2	13,6±3,3	8,3±0,9	90±6	148±14	3,9±0,3
3	56,6± 9,3		25,6±0,8	13,2±3,1	7,7±0,5	98±4	149± 9	4,1±0,3
4	44,8± 9,1	0,9±0,2	23,3±0,9	12,3±2,4	6,4±0,9	94±8	148±20	4,1±0,3
5	40,4± 3,8	6,1±0,6	28,1±1,5	13,8±2,2	6,9±0,9	100±3	144± 5	4,4±0,3
6	42,5± 4,0	7,8±0,7	25,9±1,4	12,8±2,0	5,7±1,0	94±8	149±12	5,1±0,5
7	40,9± 4,2	7,3±0,9	22,7±1,5	12,7±1,9	5,6±1,0	104±5	172± 9	6,0±0,3
8	40,0± 4,4	6,3±0,3	20,7±1,8	12,2±2,8	5,6±0,9	102±3	156±19	5,8±0,7
9	37,8± 4,8	6,5±0,4	18,2±1,3	11,1±2,6	5,9±0,8	103±8	146±20	5,7±0,8
10	37,3± 2,8	6,1±0,6	17,9±1,3	11,2±2,2	5,7±1,0	104±6	169±16	6,6±0,5
11	37,6± 3,8	6,2±0,5	16,3±1,2	10,5±2,5	5,7±0,9	104±5	159±19	6,5±1,1
12	39,9± 3,7	6,5±0,8	16,2±1,3	10,3±2,5	5,4±1,3	96±3	166±20	6,8±0,6

m	Producción						
	BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	$\mu\text{g/Kg/min.}$			$\mu\text{Eq/Kg/min.}$			
1		13,8±2,4	8,4±1,4	0,52±0,05	5,6±1,1	11,7±2,5	0,33±0,05
2		13,5±1,7	7,3±1,5	0,45±0,04	5,2±1,1	8,9±2,2	0,23±0,05
3		14,5±2,2	6,8±0,8	0,43±0,05	5,5±0,8	8,4±1,4	0,23±0,03
4	44,3±18,9	10,3±1,8	5,0±0,4	0,27±0,04	4,1±0,7	6,2±0,7	0,17±0,02
5	240,0± 9,3	11,5±1,6	5,4±0,7	0,27±0,02	4,0±0,4	5,8±0,5	0,18±0,01
6	325,7±21,7	11,2±1,5	5,2±0,3	0,23±0,02	3,9±0,3	6,2±0,2	0,21±0,01
7	289,9±15,5	9,4±1,5	5,0±0,3	0,22±0,03	4,3±0,5	6,9±0,8	0,24±0,02
8	252,1±35,1	8,5±1,4	4,5±0,5	0,21±0,01	4,1±0,5	6,0±0,7	0,22±0,02
9	241,4±29,7	7,1±1,2	4,2±0,6	0,21±0,02	3,9±0,6	5,2±0,2	0,22±0,02
10	229,2±34,8	6,7±0,9	4,3±0,5	0,20±0,02	4,0±0,1	6,2±0,6	0,26±0,01
11	237,5±39,6	6,3±1,0	3,8±0,7	0,21±0,02	3,9±0,3	5,8±0,4	0,23±0,03
12	258,3±34,4	6,5±0,9	4,1±1,0	0,21±0,04	4,4±0,5	6,7±0,6	0,26±0,01

n = 4

-- Infusión de bromosulfoftaleína. Muestras 4 a 12

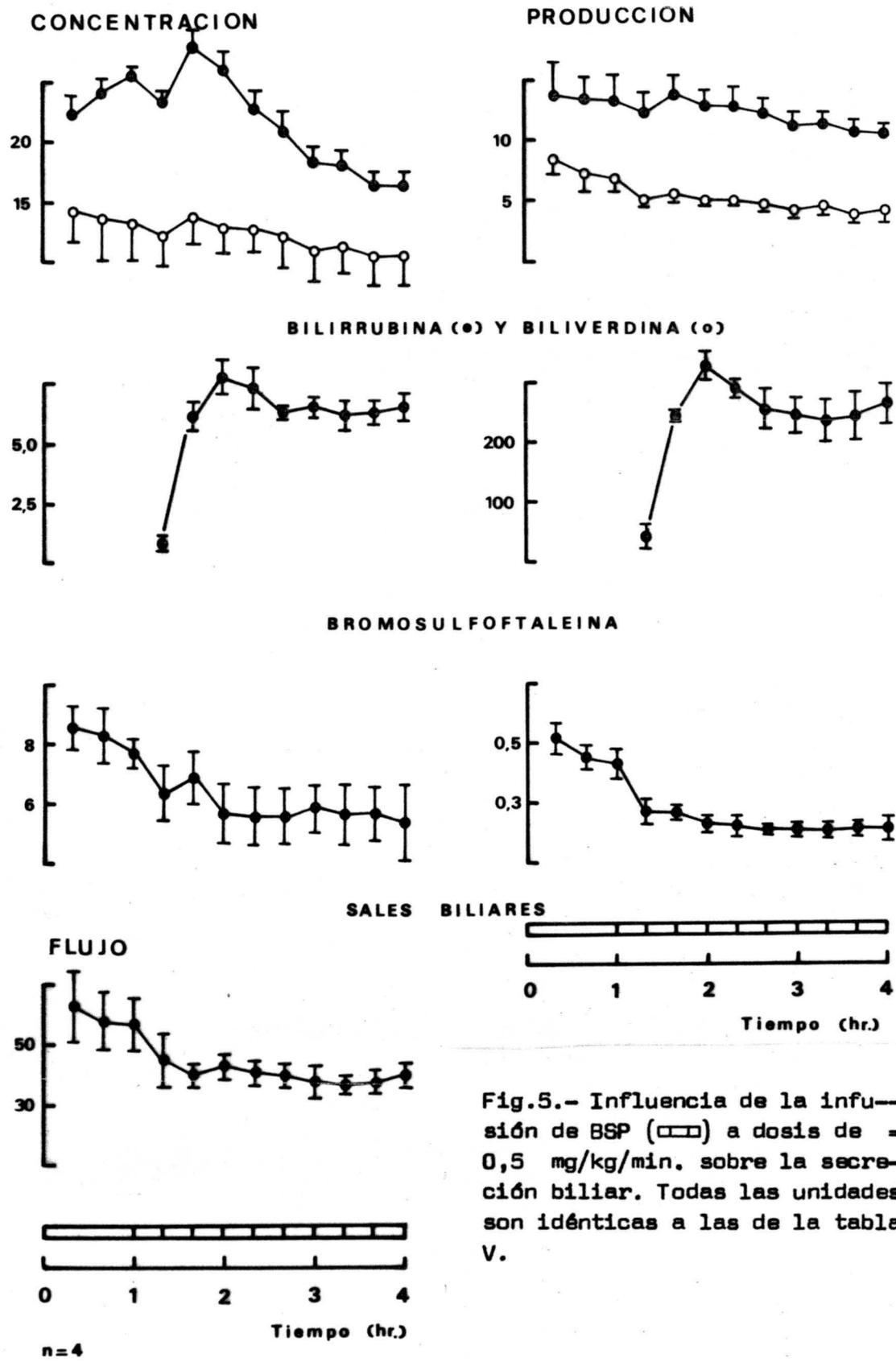


Fig.5.- Influencia de la infu--
sión de BSP (□□) a dosis de -
0,5 mg/kg/min. sobre la secre-
ción biliar. Todas las unidades
son idénticas a las de la tabla
V.

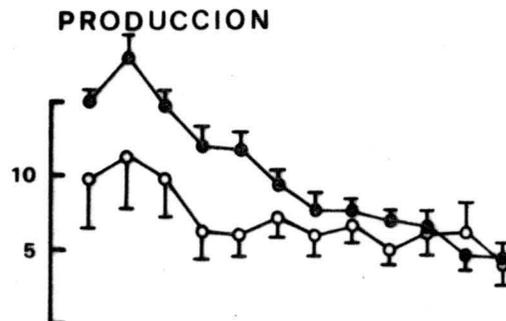
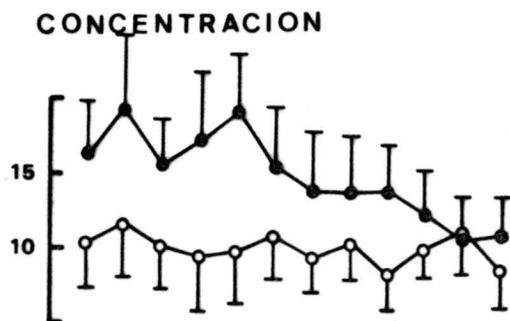
Tabla VI.- Experimentos del tipo BSRC. Infusión de bromosulfoftaleína a dosis de 1,0 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios±E.E.M. de flujo, concentración y producción de bromosulfoftaleína, bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo	BSP	Concentración					
			Br	Bv	SB	Cl	Na	K
			mg/100ml			mEq/l		
	μ l/Kg/min.	mg/ml						
1	103,3±17,2		16,2±3,5	10,3±3,1	6,9±0,5	84±8	166±9	3,7±0,1
2	108,0±17,6		19,2±5,3	11,5±3,4	6,3±0,9	84±8	158±13	3,7±0,6
3	104,9±14,7		15,4±3,3	9,9±2,7	5,6±0,7	87±8	144±12	3,4±0,4
4	80,4±17,0	0,9±0,3	17,2±4,5	9,4±3,8	5,3±0,3	96±3	177±13	4,1±0,5
5	69,4±14,8	4,5±1,3	18,9±4,0	9,8±3,6	5,3±0,8	91±3	171±23	4,8±0,6
6	75,6±21,2	4,6±1,0	15,5±4,0	10,7±2,9	5,2±0,9	93±3	163±22	5,1±0,7
7	65,9±12,8	4,4±1,0	13,9±3,7	9,3±2,2	5,7±1,4	92±4	180±23	5,5±0,6
8	67,7±17,0	4,7±1,0	13,8±3,7	10,3±2,6	4,6±0,8	91±5	172±13	5,6±0,6
9	58,3±10,9	4,5±1,1	13,7±3,3	8,3±2,6	4,3±0,5	91±8	165±17	5,7±0,8
10	56,5±7,1	4,1±0,9	12,3±3,1	9,9±2,0	4,8±0,7	90±6	154±16	5,3±0,5
11	50,2±8,8		10,9±2,6	10,9±2,3	4,8±0,8	96±5	179±5	6,8±0,9
12	46,9±5,7		10,8±2,8	8,6±2,6	4,4±0,8	92±5	177±17	6,6±1,0

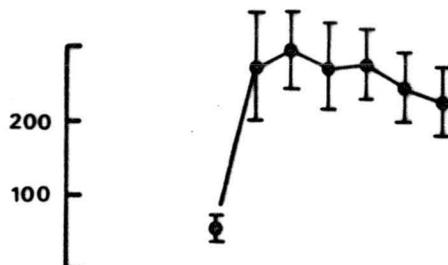
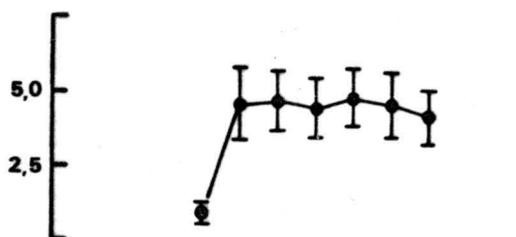
m	BSP	Producción					
		Br	Bv	SB	Cl	Na	K
		μ g/Kg/min.			μ Eq/Kg/min.		
1		14,9±0,8	9,7±3,3	0,72±0,16	8,4±1,2	17,4±3,3	0,38±0,06
2		18,0±1,5	11,3±3,6	0,70±0,18	8,8±1,3	16,6±2,6	0,39±0,06
3		14,8±1,1	9,7±2,4	0,56±0,09	8,8±0,7	14,5±2,1	0,37±0,05
4	56,2±17,4	11,9±1,2	6,3±1,7	0,43±0,11	7,7±1,6	13,6±2,5	0,33±0,05
5	268,8±74,6	11,7±1,2	5,8±1,3	0,37±0,10	6,4±1,5	12,2±2,9	0,33±0,06
6	296,2±52,8	9,6±0,9	7,3±1,2	0,38±0,13	7,2±2,2	13,1±3,8	0,38±0,09
7	269,4±60,9	7,8±1,2	6,1±1,2	0,38±0,11	6,1±1,4	12,2±3,2	0,36±0,07
8	273,4±47,6	7,8±0,8	6,8±1,2	0,31±0,09	6,3±1,8	11,6±2,8	0,35±0,05
9	241,0±51,5	7,0±0,8	4,9±0,9	0,24±0,03	5,3±1,4	9,6±2,0	0,31±0,03
10	219,8±47,6	6,4±1,2	6,3±1,2	0,27±0,05	5,2±0,9	8,8±1,6	0,29±0,02
11		4,7±0,9	6,2±2,0	0,21±0,03	4,6±0,8	9,0±1,6	0,32±0,05
12		4,4±1,0	4,1±1,2	0,18±0,02	3,8±0,4	8,3±1,3	0,31±0,05

n = 4

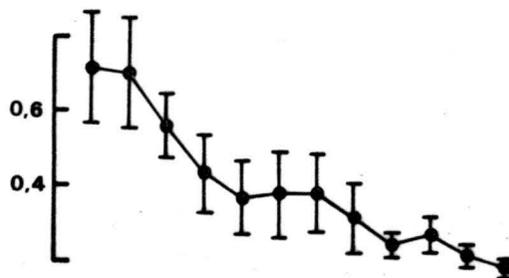
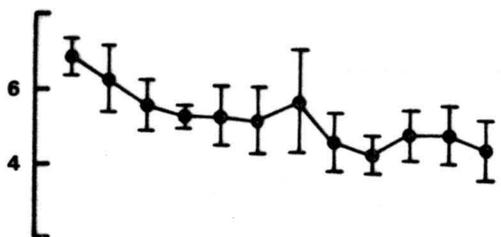
-- Infusión de bromosulfoftaleína. Muestras 4 a 12.



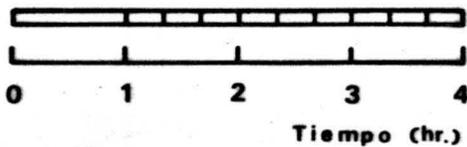
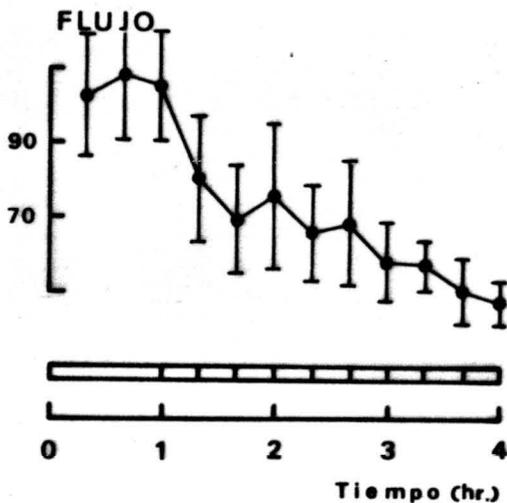
BILIRRUBINA (●) Y BILIVERDINA (○)



BROMOSULFOFTALEINA



SALES BILIARES



n = 4

Fig.6.- Influencia de la infusión de BSP (□□) a dosis de 1,0 mg/kg/min. sobre la secreción biliar. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla VI.

Tabla VII.- Experimentos del tipo BSRd. Infusión de bromosulfoftaleína a dosis de 1,5 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios±E.E.M. de flujo, concentración y producción de bromosulfoftaleína, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo	Concentración						
		BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
		mg/ml	mg/100ml			mEq/l		
1	67,1± 7,8		13,3±2,3	6,8±0,4	6,9±0,2	90±4	163± 9	4,0±0,4
2	82,9±10,6		15,0±3,9	7,4±1,1	6,5±0,4	91±2	151±10	4,1±0,3
3	79,6±13,5		13,8±3,0	10,1±2,0	6,1±0,9	91±3	146±16	3,7±0,5
4	51,3± 9,8	0,8±0,3	16,9±4,8	8,5±1,7	5,7±0,9	92±2	163±19	4,5±0,7
5	54,7± 7,7	5,6±0,8	18,7±4,9	8,4±1,5	4,9±0,7	91±2	211±16	7,1±1,1
6	53,9± 6,8	6,3±0,9	12,8±4,2	6,1±1,0	5,2±1,2	94±3	202±12	6,7±0,5
7	52,2±10,6	6,6±0,4	13,7±3,4	6,8±0,7	4,8±1,3	91±3	186± 9	7,1±0,7
8	43,3± 4,7	6,4±0,1	12,2±2,3	10,1±2,6	5,4±0,9	91±3	180± 3	7,0±0,7
9	43,5± 7,2	5,9±0,5	13,2±2,6	12,3±3,3	5,0±0,7	93±5	175± 6	6,9±0,5

m	Producción						
	BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	μg/Kg/min.			μEq/Kg/min.			
1		9,6±2,9	4,5±0,6	0,47±0,06	6,1±0,9	11,1±1,7	0,26±0,03
2		11,7±2,5	6,4±1,8	0,54±0,06	7,6±1,1	12,5±1,8	0,33±0,03
3		10,0±1,2	8,7±3,2	0,46±0,03	7,4±1,5	11,1±1,2	0,27±0,01
4	33,3±12,0	8,6±2,4	4,8±1,7	0,27±0,03	4,7±0,9	7,6±1,9	0,21±0,02
5	288,7±28,6	10,2±2,6	4,6±1,1	0,26±0,04	5,6±0,6	11,4±1,5	0,37±0,03
6	325,8±31,4	6,4±1,8	3,1±0,5	0,26±0,04	5,0±1,6	11,0±1,7	0,33±0,03
7	332,8±52,0	7,2±1,6	3,4±0,5	0,23±0,06	4,7±1,0	10,0±1,9	0,35±0,04
8	257,6±15,9	5,2±0,9	4,7±1,7	0,22±0,02	4,0±0,5	7,8±0,9	0,29±0,02
9	249,3±37,5	5,3±0,6	5,9±2,3	0,20±0,02	4,1±0,8	7,7±1,4	0,29±0,05

n= 4

-- Infusión de bromosulfoftaleína. Muestras 4 a 9

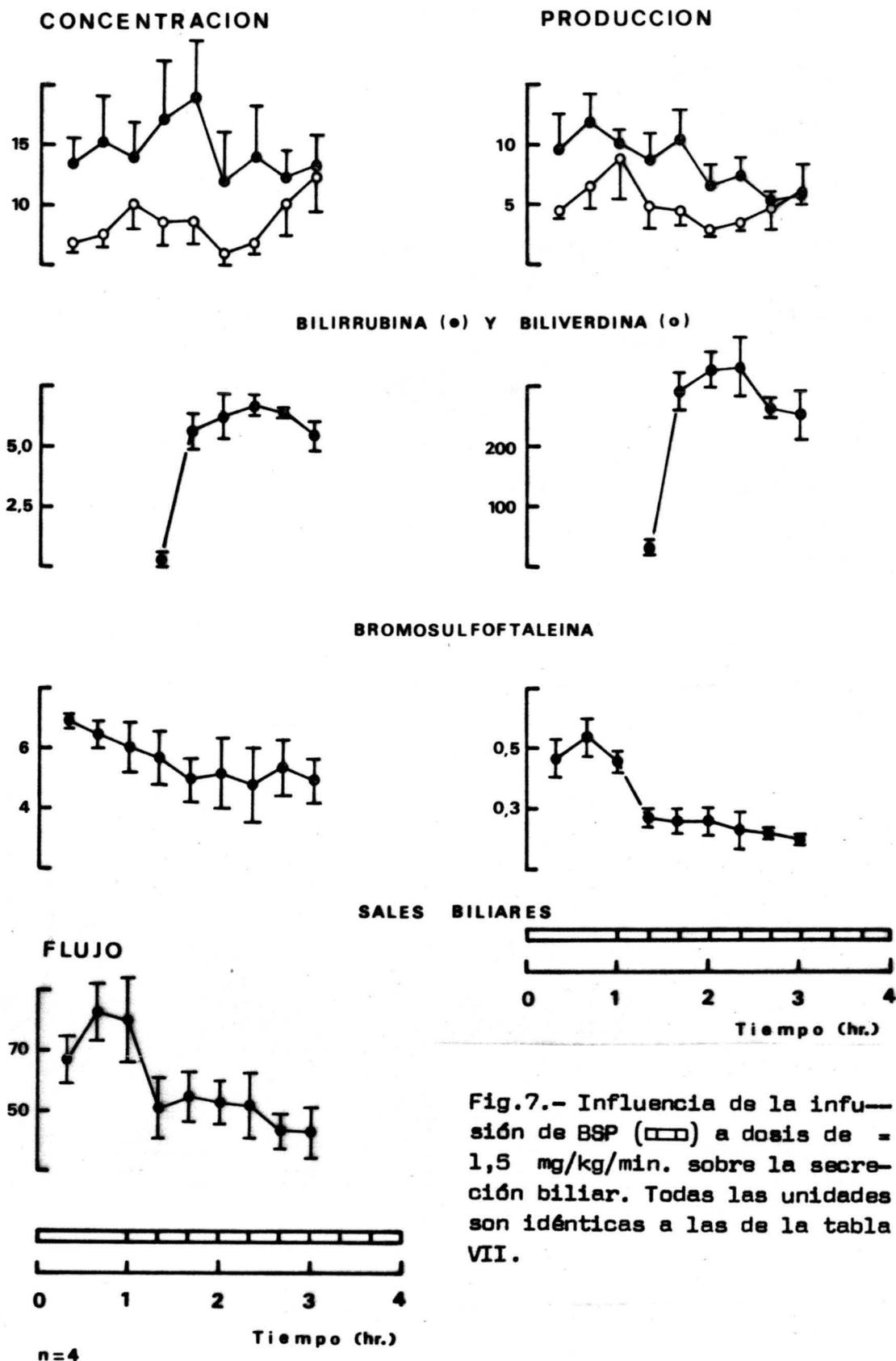


Fig.7.- Influencia de la infusión de BSP (□□) a dosis de 1,5 mg/kg/min. sobre la secreción biliar. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla VII.

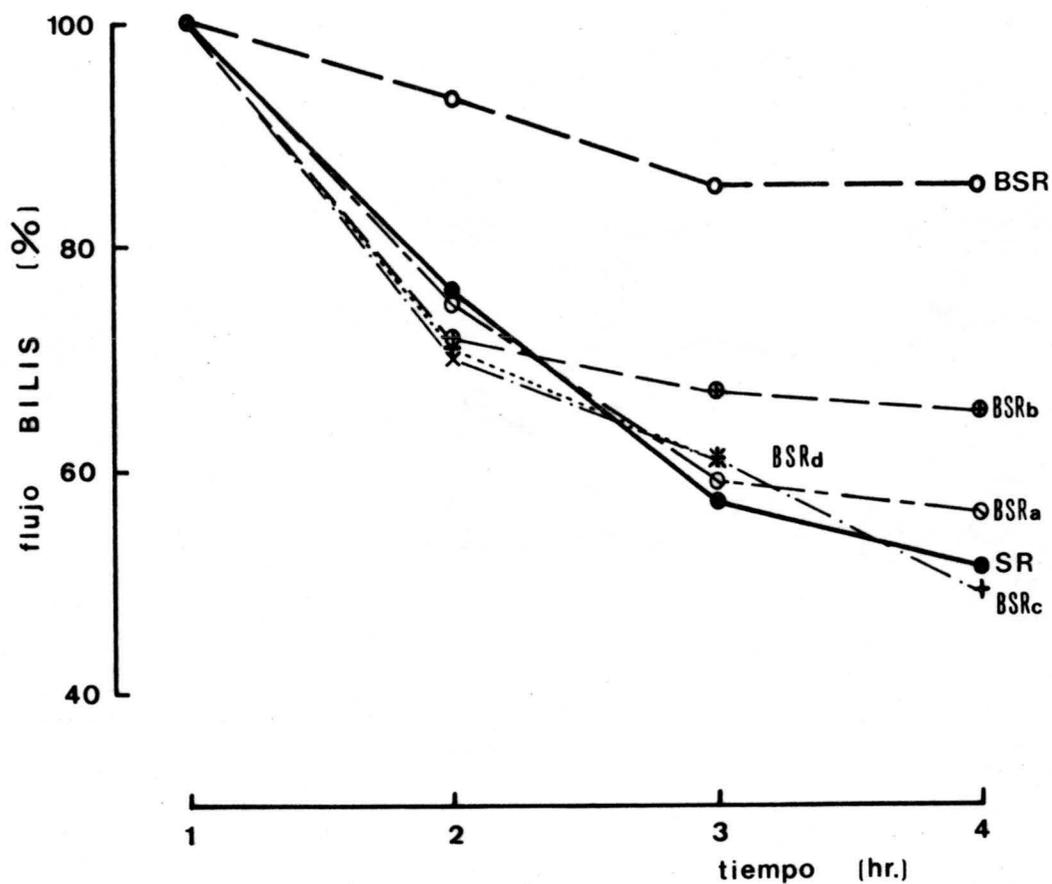


Fig.8.- Influencia sobre el flujo biliar (porcentual) de la infusión de BSP a dosis de 0,05 (BSR 0), 0,1 (BSRa 0), 0,5 (BSRb 0), 1,0 (BSRc +) y 1,5 mg/kg/min. (BSRd x).

(SR ●) Flujo biliar control.

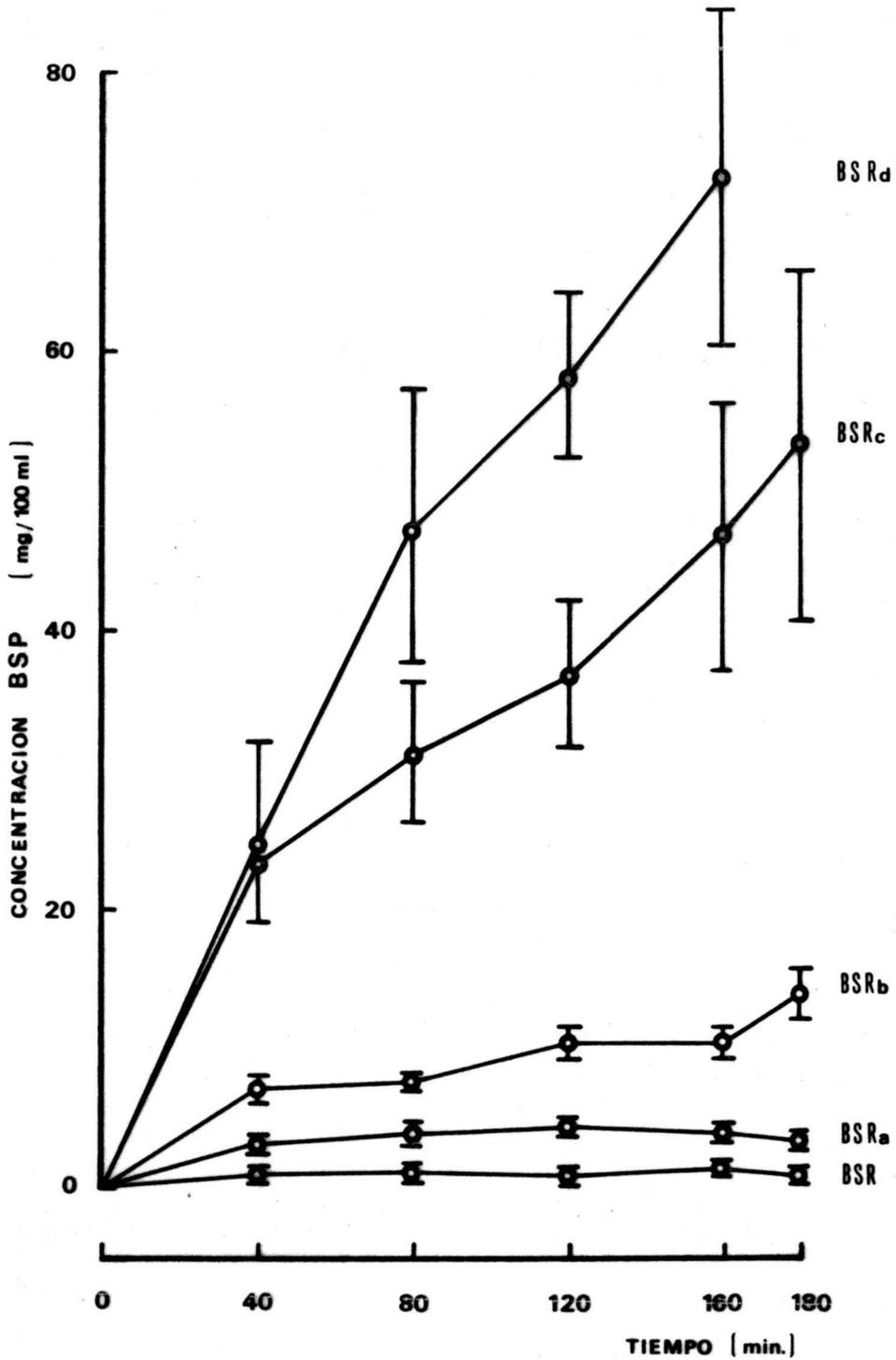


Fig.9.- Niveles séricos de BSP durante la infusión de ésta a dosis de 0,05 (BSR), 0,1 (BSRa), 0,5 (BSRb), 1,0 (BSRc) y 1,5 mg/kg/min. (BSRd).

Tabla VIII.- Experimentos del tipo DB. Infusión de bromosulfoftaleína a dosis de 0,7 mg/Kg peso corporal/min. y dehidrocolato sódico a dosis de 0,8 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bromosulfoftaleína, bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo $\mu\text{l/Kg/min.}$	BSP mg/ml	Concentración					
			Br mg/100ml	Bv mg/100ml	SB mg/100ml	Cl mEq/l	Na mEq/l	K mEq/l
1	72,5 \pm 3,2		20,9 \pm 1,3	10,9 \pm 3,4	8,0 \pm 1,0	83 \pm 6	161 \pm 7	5,1 \pm 0,8
2	71,3 \pm 5,4		20,9 \pm 1,7	9,3 \pm 2,2	7,5 \pm 1,0	87 \pm 3	168 \pm 8	5,3 \pm 1,1
3	66,2 \pm 5,6		20,8 \pm 2,8	9,8 \pm 2,9	7,2 \pm 1,1	86 \pm 6	161 \pm 13	4,6 \pm 1,1
4	47,2 \pm 4,1	2,0 \pm 0,5	19,5 \pm 1,7	10,3 \pm 2,5	7,4 \pm 1,7	86 \pm 3	154 \pm 4	4,5 \pm 0,8
5	42,8 \pm 3,5	6,7 \pm 0,9	24,9 \pm 2,8	11,9 \pm 3,5	7,1 \pm 1,5	80 \pm 4	165 \pm 8	5,2 \pm 1,0
6	41,4 \pm 3,1	7,5 \pm 0,9	20,4 \pm 1,7	9,6 \pm 1,7	7,2 \pm 1,4	90 \pm 3	179 \pm 7	6,1 \pm 0,8
7	54,0 \pm 3,6	6,0 \pm 0,8	16,3 \pm 1,7	7,7 \pm 2,4	6,0 \pm 0,9	92 \pm 2	180 \pm 3	6,5 \pm 0,9
8	66,7 \pm 4,7	4,0 \pm 0,5	11,3 \pm 2,0	6,8 \pm 1,5	6,3 \pm 0,7	86 \pm 3	176 \pm 9	6,4 \pm 0,8
9	70,5 \pm 3,8	3,7 \pm 0,5	9,6 \pm 1,2	6,3 \pm 1,4	4,7 \pm 0,4	86 \pm 2	172 \pm 10	6,1 \pm 0,8

m	BSP	Br	Bv	SB	Producción		
					Cl	Na	K
		$\mu\text{g/Kg/min.}$			$\mu\text{Eq/Kg/min.}$		
1		15,2 \pm 1,5	7,6 \pm 2,2	0,58 \pm 0,07	6,0 \pm 0,4	11,7 \pm 0,9	0,37 \pm 0,05
2		14,8 \pm 1,2	6,4 \pm 1,3	0,53 \pm 0,07	6,2 \pm 0,5	11,8 \pm 0,4	0,37 \pm 0,08
3		13,5 \pm 1,4	6,1 \pm 1,6	0,46 \pm 0,07	5,7 \pm 0,6	10,5 \pm 0,4	0,30 \pm 0,07
4	98,2 \pm 30,8	9,1 \pm 0,9	4,8 \pm 1,0	0,33 \pm 0,05	4,1 \pm 0,4	7,3 \pm 0,6	0,21 \pm 0,04
5	282,6 \pm 29,7	10,6 \pm 1,4	4,8 \pm 1,1	0,29 \pm 0,05	3,4 \pm 0,3	7,2 \pm 0,4	0,22 \pm 0,03
6	304,9 \pm 37,0	8,8 \pm 0,7	3,9 \pm 0,6	0,29 \pm 0,03	3,8 \pm 0,4	7,4 \pm 0,4	0,25 \pm 0,03
7	317,8 \pm 32,7	8,7 \pm 0,6	4,1 \pm 1,3	0,33 \pm 0,04	5,0 \pm 0,4	9,7 \pm 0,5	0,35 \pm 0,05
8	264,9 \pm 41,0	7,3 \pm 0,9	4,4 \pm 1,0	0,45 \pm 0,05	5,8 \pm 0,6	11,7 \pm 0,9	0,43 \pm 0,06
9	260,0 \pm 37,8	6,7 \pm 0,4	4,5 \pm 0,9	0,35 \pm 0,03	6,1 \pm 0,5	12,1 \pm 0,7	0,43 \pm 0,07

n = 4

→ Infusión de bromosulfoftaleína. Muestras 4 a 9.

▶ Infusión de dehidrocolato. Muestras 7 a 9

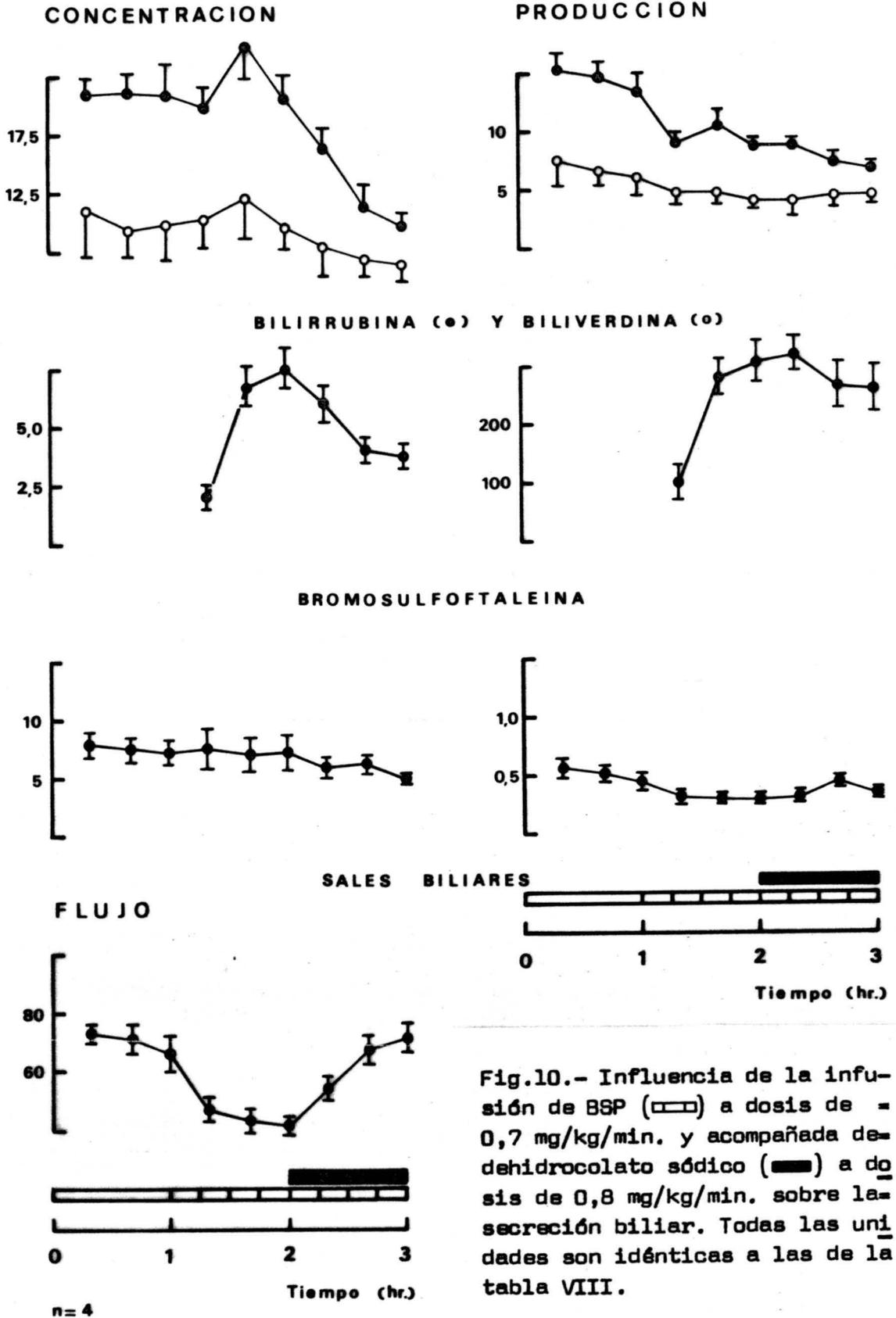


Fig.10.- Influencia de la infusión de BSP (◻) a dosis de 0,7 mg/kg/min. y acompañada de dehidrocolato sódico (■) a dosis de 0,8 mg/kg/min. sobre la secreción biliar. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla VIII.

Tabla IX.- Experimentos del tipo TB. Infusión de bromosulfoftaleína a dosis de 0,7 mg/Kg peso corporal/min. y taurocolato sódico a dosis de 0,8 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bromosulfoftaleína, bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo μ l/Kg/min.	BSP mg/ml	Concentración					
			Br mg/100ml	Bv mg/100ml	SB mg/100ml	Cl mEq/l	Na mEq/l	K mEq/l
1	85,7 \pm 10,5		17,2 \pm 5,2	7,5 \pm 3,6	7,2 \pm 0,7	84 \pm 3	176 \pm 4	5,4 \pm 0,2
2	78,6 \pm 11,1		16,9 \pm 4,1	6,7 \pm 2,1	6,2 \pm 0,6	86 \pm 1	152 \pm 4	4,0 \pm 0,2
3	74,7 \pm 9,9		14,9 \pm 3,9	6,0 \pm 1,9	6,6 \pm 1,0	86 \pm 5	154 \pm 9	4,1 \pm 0,2
4	51,6 \pm 7,1	1,0 \pm 0,2	19,6 \pm 2,5	6,7 \pm 2,0	6,8 \pm 0,7	91 \pm 4	155 \pm 10	4,1 \pm 0,3
5	46,4 \pm 3,9	5,5 \pm 0,8	21,6 \pm 2,4	5,0 \pm 1,5	6,7 \pm 0,7	92 \pm 3	170 \pm 3	4,8 \pm 0,4
6	43,7 \pm 3,2	5,8 \pm 0,6	18,4 \pm 2,5	5,2 \pm 1,4	6,2 \pm 0,6	88 \pm 4	181 \pm 10	5,8 \pm 0,6
7	48,2 \pm 3,8	5,4 \pm 0,5	18,0 \pm 4,3	4,7 \pm 1,3	8,3 \pm 0,7	85 \pm 4	171 \pm 9	5,4 \pm 0,3
8	57,4 \pm 1,9	4,5 \pm 0,3	13,7 \pm 2,3	5,6 \pm 1,0	22,3 \pm 2,2	90 \pm 2	189 \pm 11	6,4 \pm 0,6
9	56,2 \pm 4,5	4,4 \pm 0,2	15,2 \pm 2,7	5,3 \pm 1,3	21,2 \pm 1,0	86 \pm 4	191 \pm 7	6,6 \pm 0,6

m	Producción						
	BSP μ g/Kg/min.	Br μ g/Kg/min.	Bv μ g/Kg/min.	SB μ g/Kg/min.	Cl μ Eq/Kg/min.	Na μ Eq/Kg/min.	K μ Eq/Kg/min.
1		13,2 \pm 2,2	5,2 \pm 1,7	0,60 \pm 0,06	7,3 \pm 0,7	15,2 \pm 2,1	0,46 \pm 0,05
2		12,3 \pm 2,2	4,6 \pm 1,0	0,47 \pm 0,04	6,7 \pm 0,9	11,9 \pm 1,6	0,31 \pm 0,05
3		10,1 \pm 1,7	3,9 \pm 0,8	0,48 \pm 0,08	6,3 \pm 0,6	11,3 \pm 1,2	0,31 \pm 0,04
4	52,5 \pm 11,2	10,0 \pm 1,8	3,1 \pm 0,6	0,34 \pm 0,03	4,7 \pm 0,7	7,8 \pm 0,7	0,21 \pm 0,02
5	245,4 \pm 18,7	9,7 \pm 0,4	2,2 \pm 0,5	0,31 \pm 0,03	4,3 \pm 0,5	7,9 \pm 0,7	0,22 \pm 0,02
6	250,9 \pm 18,2	7,9 \pm 0,7	2,3 \pm 0,5	0,27 \pm 0,02	3,9 \pm 0,5	7,9 \pm 0,5	0,25 \pm 0,02
7	281,3 \pm 14,5	9,2 \pm 2,0	2,4 \pm 0,6	0,43 \pm 0,03	4,5 \pm 0,5	9,0 \pm 0,7	0,28 \pm 0,00
8	257,3 \pm 18,4	7,7 \pm 1,1	3,2 \pm 0,6	1,27 \pm 0,09	5,2 \pm 0,3	10,8 \pm 0,3	0,36 \pm 0,03
9	250,0 \pm 25,1	8,2 \pm 1,1	3,0 \pm 0,7	1,21 \pm 0,14	4,9 \pm 0,6	10,8 \pm 0,9	0,37 \pm 0,05

n = 4

-- Infusión de bromosulfoftaleína. Muestras 4 a 9.

> Infusión de taurocolato. Muestras 7 a 9.

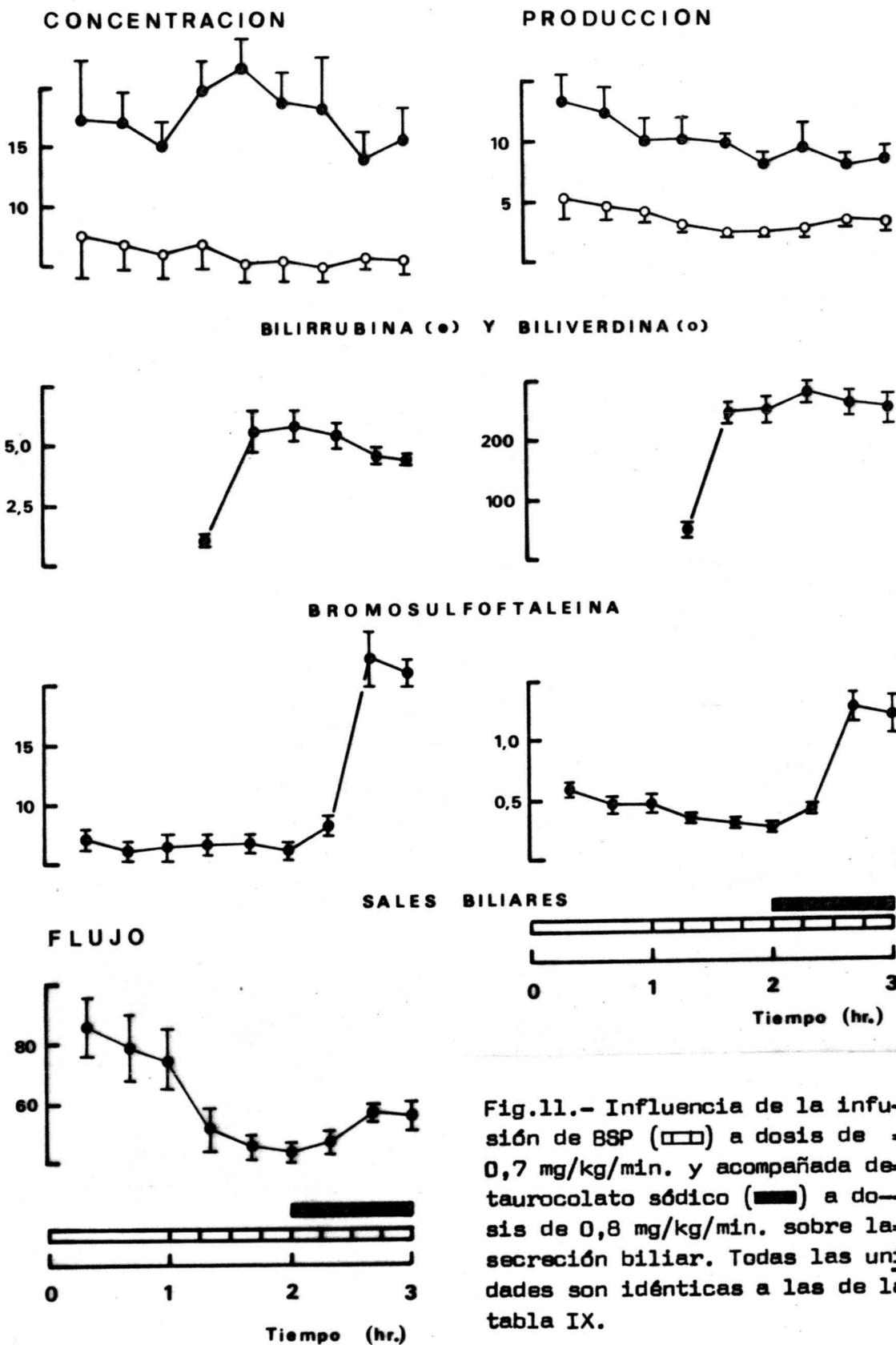


Fig.11.- Influencia de la infusión de BSP (□□) a dosis de 0,7 mg/kg/min. y acompañada de taurocolato sódico (■) a dosis de 0,8 mg/kg/min. sobre la secreción biliar. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla IX.



Tabla X.- Experimentos del tipo GB. Infusión de bromosulfoftaleína a dosis de 0,7 mg/Kg peso corporal/min. y glicodesoxicolato a dosis de 0,6 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E. M. de flujo, concentración y producción de bromosulfoftaleína, bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	Concentración							
	flujo	BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	$\mu\text{l/Kg/min.}$	mg/ml	mg/100ml		mEq/l			
1	63,1 \pm 5,3		15,2 \pm 1,9	11,3 \pm 1,2	7,2 \pm 0,9	92 \pm 3	144 \pm 13	3,7 \pm 0,4
2	59,7 \pm 4,5		19,1 \pm 2,0	11,0 \pm 0,6	7,7 \pm 0,7	93 \pm 6	134 \pm 15	3,6 \pm 0,3
3	61,5 \pm 6,8		17,4 \pm 3,0	9,9 \pm 1,6	7,8 \pm 0,9	96 \pm 4	164 \pm 12	4,4 \pm 0,3
4	46,9 \pm 4,6	0,8 \pm 0,4	16,7 \pm 4,0	11,3 \pm 2,3	5,3 \pm 0,5	98 \pm 3	153 \pm 11	4,3 \pm 0,4
5	45,9 \pm 3,5	4,9 \pm 0,7	17,5 \pm 3,2	10,3 \pm 1,1	4,7 \pm 0,5	95 \pm 1	168 \pm 20	5,2 \pm 0,6
6	39,2 \pm 2,4	6,9 \pm 0,9	15,6 \pm 3,0	9,6 \pm 1,4	4,3 \pm 0,9	94 \pm 2	167 \pm 11	5,6 \pm 0,4
7	55,5 \pm 3,9	6,4 \pm 0,8	16,4 \pm 2,8	9,2 \pm 1,2	8,2 \pm 0,5	95 \pm 3	188 \pm 4	6,2 \pm 0,6
8	67,9 \pm 5,1	3,9 \pm 0,4	14,3 \pm 2,5	8,3 \pm 1,2	19,6 \pm 0,5	91 \pm 3	165 \pm 8	6,0 \pm 0,3
9	71,0 \pm 5,6	4,3 \pm 0,3	14,8 \pm 3,0	8,7 \pm 1,0	20,7 \pm 0,5	90 \pm 2	186 \pm 3	6,9 \pm 0,3

m	Producción						
	BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	$\mu\text{g/Kg/min.}$	$\mu\text{Eq/Kg/min.}$					
1		9,4 \pm 0,9	6,9 \pm 0,3	0,49 \pm 0,06	5,8 \pm 0,5	9,0 \pm 0,8	0,23 \pm 0,03
2		11,2 \pm 0,7	6,6 \pm 0,7	0,46 \pm 0,05	5,4 \pm 0,4	8,1 \pm 1,3	0,21 \pm 0,02
3		10,1 \pm 0,8	5,8 \pm 0,3	0,47 \pm 0,06	5,9 \pm 0,7	10,1 \pm 1,3	0,26 \pm 0,01
4	38,2 \pm 21,0	7,5 \pm 1,6	5,0 \pm 0,7	0,25 \pm 0,03	4,6 \pm 0,5	7,2 \pm 1,0	0,20 \pm 0,02
5	218,1 \pm 21,8	7,9 \pm 1,3	4,7 \pm 0,6	0,22 \pm 0,04	4,4 \pm 0,3	7,6 \pm 0,8	0,24 \pm 0,03
6	267,7 \pm 32,8	6,1 \pm 1,2	3,8 \pm 0,6	0,18 \pm 0,03	3,7 \pm 0,3	6,5 \pm 0,6	0,22 \pm 0,02
7	355,3 \pm 50,3*	9,0 \pm 1,6	5,1 \pm 0,7	0,46 \pm 0,05	5,3 \pm 0,4	10,4 \pm 0,6	0,35 \pm 0,05
8	300,1 \pm 30,8	9,8 \pm 1,9	5,5 \pm 0,6	1,33 \pm 0,11	6,2 \pm 0,4	11,2 \pm 1,1	0,41 \pm 0,05
9	300,1 \pm 24,1	10,8 \pm 2,5	6,3 \pm 1,2	1,46 \pm 0,08	6,3 \pm 0,4	13,3 \pm 1,3	0,50 \pm 0,06

n = 4

-- Infusión de bromosulfoftaleína. Muestras 4 a 9.

> Infusión de glicodesoxicolato. Muestras 7 a 9.

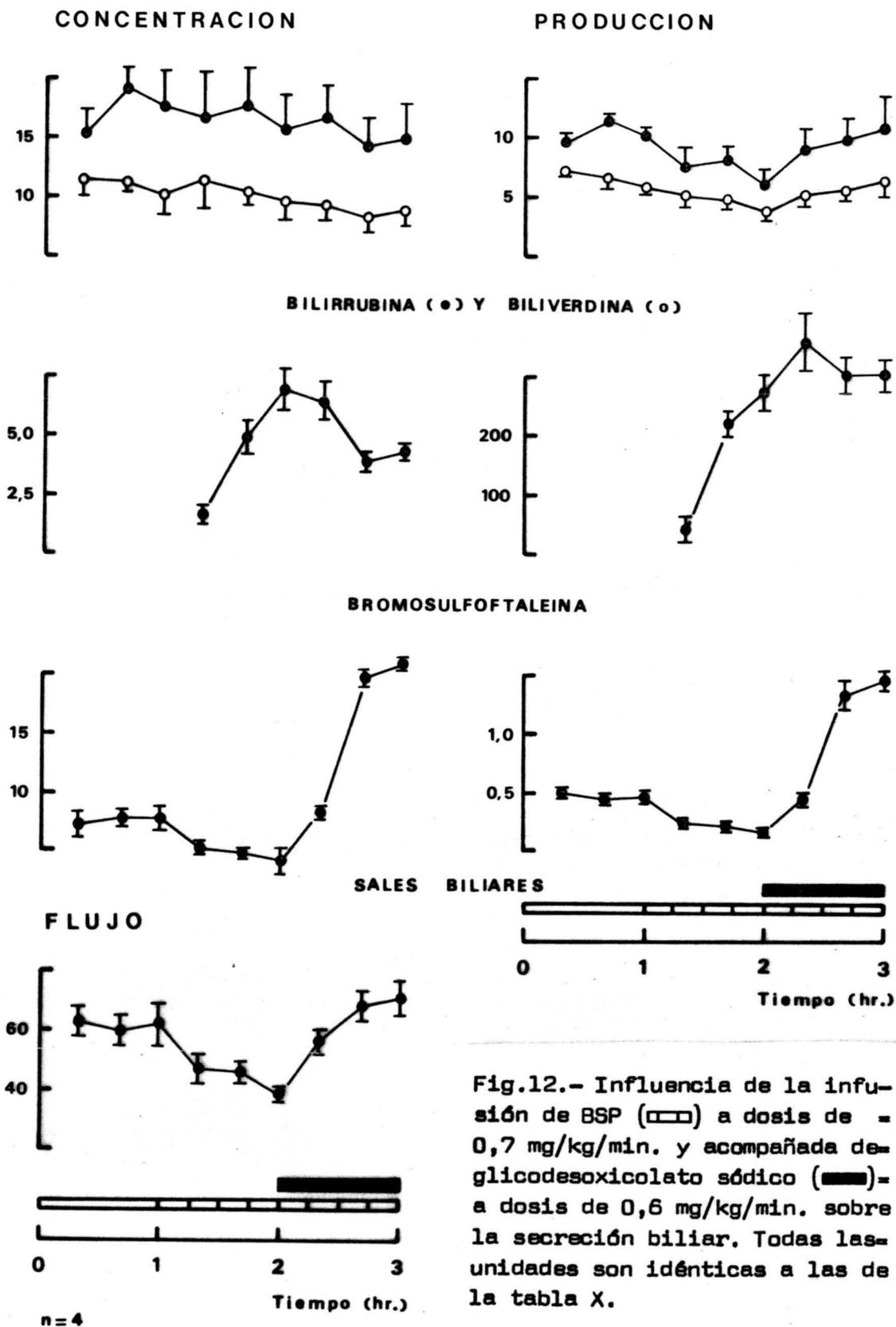


Fig.12.- Influencia de la infusión de BSP (□□) a dosis de 0,7 mg/kg/min. y acompañada de glicodesoxicolato sódico (■) a dosis de 0,6 mg/kg/min. sobre la secreción biliar. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla X.

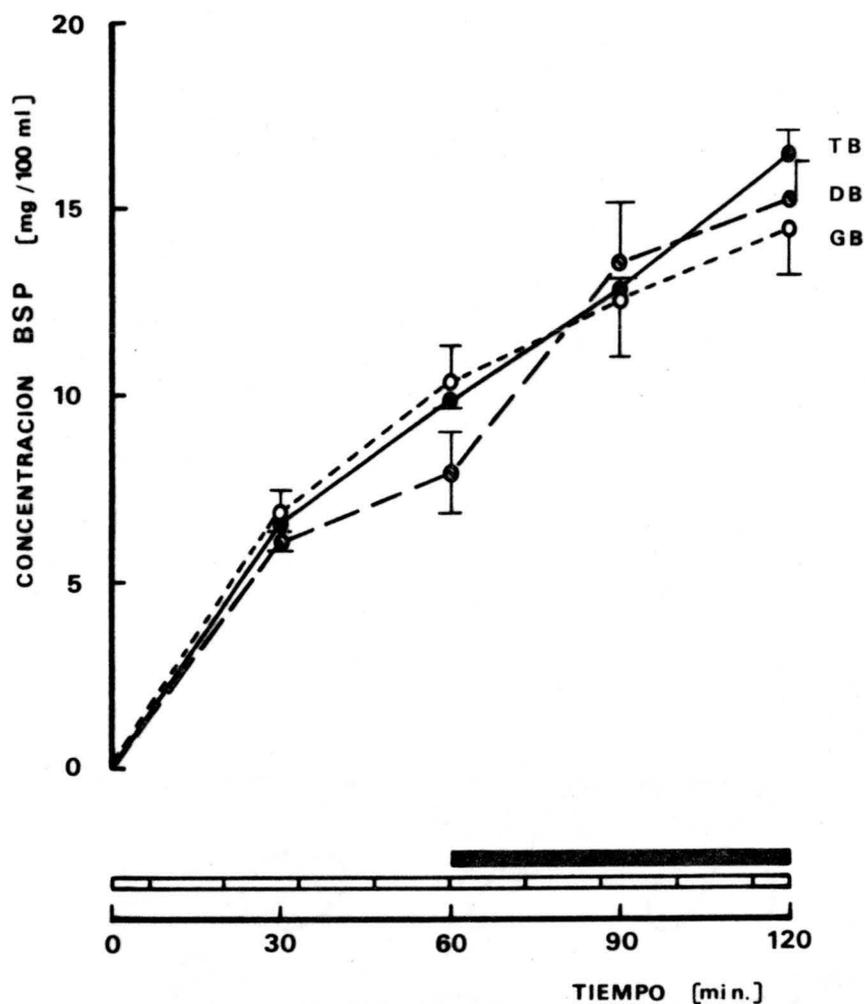


Fig.13.- Niveles séricos de BSP durante la infusión de la misma a dosis de 0,7 mg/kg/min. sola y acompañada de dehidrocolato sódico (DB ○) o taurocolato sódico (TB ●) a dosis de 0,8 mg/kg/min., o de glicodesoxicolato sódico (GB ○) a dosis de 0,6 mg/kg/min.

(□) Infusión de BSP.

(■) Infusión de sal biliar.

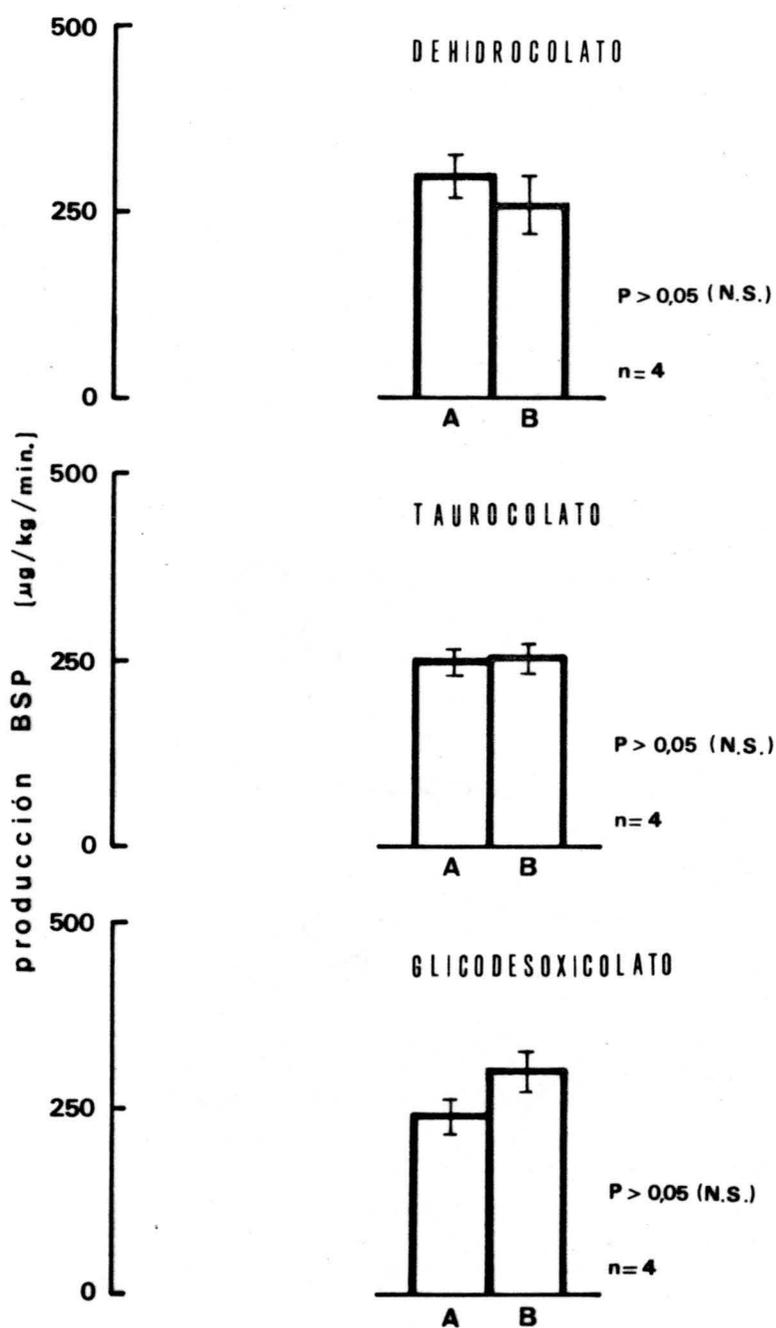


Fig.14.- Transporte máximo de BSP (A) y efecto sobre el mismo de la infusión de sales biliares (dehidrocolato sódico y taurocolato sódico a dosis de 0,8 mg/kg/min.; glicodesoxicolato-sódico a dosis de 0,6 mg/kg/min.) (B).

Tabla XI.- Experimentos del tipo PDB. Anestesia con pentobarbital sódico. Infusión de bromosulfoftaleína a dosis de 0,7 mg/Kg peso corporal/min. y dehidrocolato a dosis de 0,8 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bromosulfoftaleína, bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo	Concentración						
		BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
		mg/ml	mg/100ml			mEq/l		
1	90,4 \pm 13,1		9,5 \pm 2,3	10,4 \pm 2,8	6,4 \pm 0,3	89 \pm 5	139 \pm 16	3,0 \pm 0,3
2	93,4 \pm 20,0		9,1 \pm 2,9	7,1 \pm 1,9	5,8 \pm 0,4	93 \pm 7	151 \pm 16	3,3 \pm 0,4
3	82,3 \pm 15,3		8,7 \pm 2,7	7,2 \pm 1,9	6,0 \pm 0,6	96 \pm 4	134 \pm 16	3,0 \pm 0,3
4	74,3 \pm 11,8	1,1 \pm 0,1	9,0 \pm 2,6	7,0 \pm 1,8	5,8 \pm 0,4	98 \pm 3	147 \pm 7	3,2 \pm 0,3
5	65,0 \pm 7,9	4,0 \pm 0,7	10,5 \pm 2,1	7,8 \pm 2,1	6,7 \pm 0,8	96 \pm 5	141 \pm 10	3,5 \pm 0,2
6	66,3 \pm 5,3	4,4 \pm 0,8	9,6 \pm 1,8	6,6 \pm 1,5	6,6 \pm 0,8	92 \pm 6	145 \pm 15	3,8 \pm 0,4
7	86,6 \pm 7,0	3,7 \pm 0,5	9,1 \pm 1,4	5,8 \pm 1,5	5,5 \pm 0,5	96 \pm 3	167 \pm 4	4,3 \pm 0,1
8	111,9 \pm 9,9	2,7 \pm 0,5	6,6 \pm 1,6	4,5 \pm 1,4	4,9 \pm 0,6	89 \pm 3	180 \pm 8	5,0 \pm 0,4
9	106,3 \pm 10,0	2,8 \pm 0,4	5,2 \pm 1,0	4,0 \pm 1,1	4,5 \pm 0,7	89 \pm 5	165 \pm 8	4,5 \pm 0,2

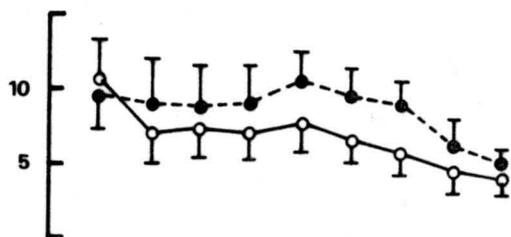
m	Producción						
	BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	μ g/Kg/min.			μ Eq/Kg/min.			
1		7,7 \pm 0,8	10,4 \pm 3,9	0,57 \pm 0,08	7,9 \pm 0,9	12,3 \pm 2,0	0,26 \pm 0,04
2		7,0 \pm 1,4	7,1 \pm 2,7	0,50 \pm 0,07	8,5 \pm 2,2	13,9 \pm 4,5	0,31 \pm 0,09
3		6,2 \pm 1,2	6,7 \pm 2,6	0,47 \pm 0,07	7,7 \pm 1,1	11,9 \pm 2,0	0,24 \pm 0,05
4	83,9 \pm 12,3	6,1 \pm 1,4	5,5 \pm 1,9	0,43 \pm 0,08	7,2 \pm 1,1	11,0 \pm 1,9	0,25 \pm 0,05
5	251,2 \pm 32,6	6,8 \pm 1,6	5,1 \pm 1,4	0,43 \pm 0,05	6,1 \pm 0,4	9,1 \pm 0,3	0,23 \pm 0,02
6	285,6 \pm 41,8	6,2 \pm 0,9	4,7 \pm 1,3	0,43 \pm 0,05	6,0 \pm 0,2	9,4 \pm 0,6	0,25 \pm 0,02
7	313,8 \pm 40,1	7,7 \pm 1,1	5,1 \pm 1,5	0,46 \pm 0,03	8,3 \pm 0,6	9,4 \pm 0,6	0,37 \pm 0,04
8	299,0 \pm 54,7	7,2 \pm 1,6	5,2 \pm 1,8	0,56 \pm 0,08	10,0 \pm 1,0	19,4 \pm 1,7	0,47 \pm 0,05
9	285,9 \pm 31,1	6,3 \pm 1,3	4,3 \pm 1,3	0,45 \pm 0,04	9,5 \pm 1,0	17,0 \pm 1,2	0,56 \pm 0,07

n = 4

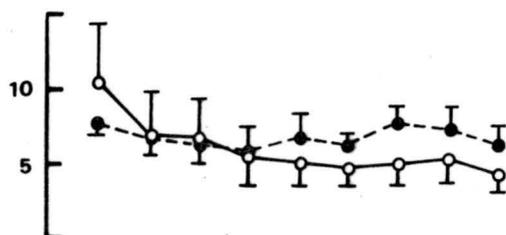
→ Infusión de bromosulfoftaleína. Muestras 4 a 9.

➤ Infusión de dehidrocolato. Muestras 7 a 9.

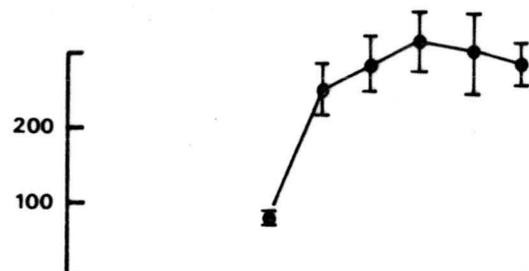
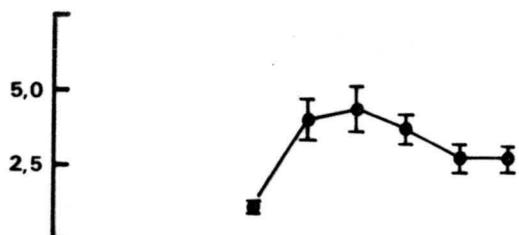
CONCENTRACION



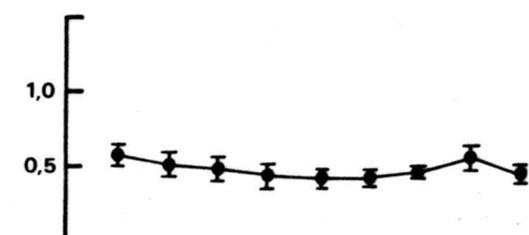
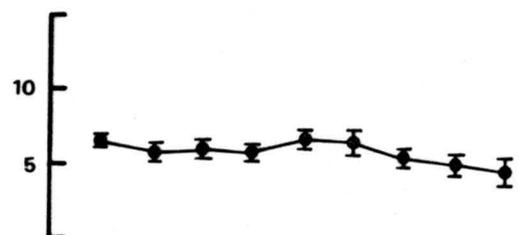
PRODUCCION



BILIRRUBINA (●) Y BILIVERDINA (○)



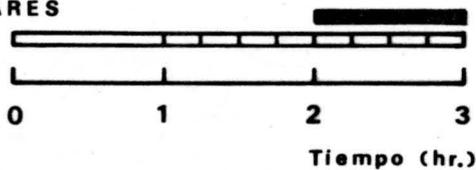
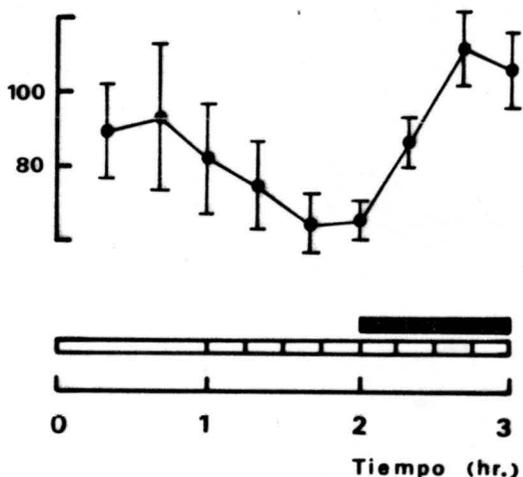
BROMOSULFOFTALEINA



FLUJO

SALES

BILIARES



n=4

Fig.15.- Anestesia con pentobarbital sódico. Influencia de la infusión de BSP (□) a dosis = de 0,7 mg/kg/min. y acompañada de dehidrocolato sódico (■) = a dosis de 0,8 mg/kg/min. sobre la secreción biliar. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla XI.

Tabla XII.- Experimentos del tipo PTB. Anestesia con pentobarbital sódico. Infusión de bromosulfoftaleína a dosis de 0,7 mg/Kg peso corporal/min. y taurocolato sódico a dosis de 0,8 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bromosulfoftaleína, bilirrubina, biliverdina, - sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo	Concentración						
		BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
		$\mu\text{l/Kg/min.}$	mg/ml	mg/100ml		mEq/l		
1	108,4 \pm 10,2		3,9 \pm 1,0	6,7 \pm 1,6	4,4 \pm 0,5	81 \pm 7	140 \pm 6	2,7 \pm 0,5
2	99,6 \pm 9,0		3,7 \pm 0,6	6,5 \pm 1,5	4,1 \pm 0,9	93 \pm 5	160 \pm 10	3,1 \pm 0,3
3	87,1 \pm 9,6		3,9 \pm 0,4	6,9 \pm 2,8	3,9 \pm 0,7	95 \pm 5	130 \pm 7	2,5 \pm 0,2
4	67,6 \pm 5,0	0,7 \pm 0,1	3,2 \pm 0,5	7,2 \pm 1,8	3,7 \pm 0,6	94 \pm 8	153 \pm 11	3,1 \pm 0,5
5	66,2 \pm 2,8	4,0 \pm 0,4	4,0 \pm 0,9	8,2 \pm 1,6	3,7 \pm 0,4	92 \pm 6	164 \pm 8	3,8 \pm 0,4
6	62,4 \pm 3,8	4,7 \pm 0,2	4,5 \pm 0,8	9,2 \pm 1,9	3,1 \pm 0,4	94 \pm 4	154 \pm 17	3,6 \pm 0,4
7	81,6 \pm 8,4	4,2 \pm 0,3	3,9 \pm 1,2	7,1 \pm 1,5	7,4 \pm 0,5	92 \pm 4	173 \pm 14	4,2 \pm 0,5
8	97,2 \pm 7,3	3,1 \pm 0,1	4,3 \pm 0,8	5,9 \pm 0,9	15,8 \pm 0,8	95 \pm 6	156 \pm 8	3,8 \pm 0,3
9	100,0 \pm 4,4	2,9 \pm 0,1	4,0 \pm 0,9	5,5 \pm 1,3	15,2 \pm 0,9	95 \pm 2	185 \pm 9	4,4 \pm 0,4

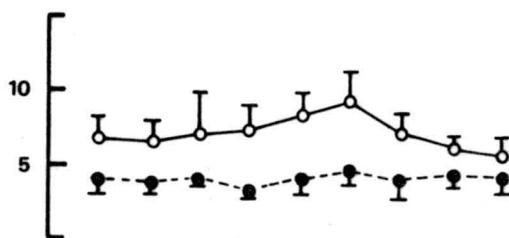
m	Producción						
	BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	$\mu\text{g/Kg/min.}$			$\mu\text{Eq/Kg/min.}$			
1		4,5 \pm 1,4	7,2 \pm 1,4	0,45 \pm 0,08	9,0 \pm 1,6	15,0 \pm 1,2	0,47 \pm 0,02
2		3,8 \pm 0,9	6,2 \pm 1,3	0,39 \pm 0,05	9,4 \pm 1,2	16,2 \pm 2,4	0,32 \pm 0,05
3		3,3 \pm 0,3	5,9 \pm 2,4	0,32 \pm 0,02	8,3 \pm 1,1	11,5 \pm 1,8	0,22 \pm 0,03
4	47,7 \pm 7,1	2,2 \pm 0,3	4,6 \pm 1,0	0,25 \pm 0,04	6,3 \pm 0,7	10,2 \pm 0,5	0,21 \pm 0,03
5	264,0 \pm 27,9	2,7 \pm 0,7	5,3 \pm 0,9	0,25 \pm 0,03	6,1 \pm 0,5	10,8 \pm 0,7	0,25 \pm 0,03
6	290,7 \pm 17,1	2,8 \pm 0,5	5,6 \pm 0,9	0,20 \pm 0,04	5,8 \pm 0,4	9,8 \pm 1,6	0,23 \pm 0,04
7	333,5 \pm 12,7	3,1 \pm 0,8	5,5 \pm 0,8	0,61 \pm 0,09	7,5 \pm 0,5	14,3 \pm 2,3	0,34 \pm 0,06
8	297,0 \pm 16,4	4,1 \pm 0,6	5,3 \pm 0,7	1,53 \pm 0,12	9,2 \pm 0,9	15,0 \pm 0,5	0,37 \pm 0,01
9	293,0 \pm 17,0	3,9 \pm 0,9	5,4 \pm 1,2	1,51 \pm 0,08	9,5 \pm 0,4	18,6 \pm 1,8	0,44 \pm 0,05

n = 4

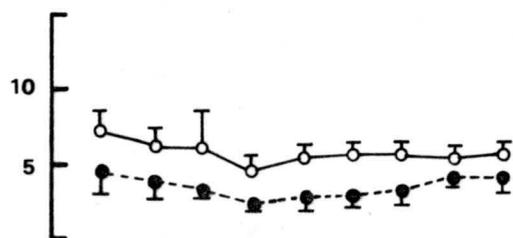
→ Infusión de bromosulfoftaleína. Muestras 4 a 9.

➤ Infusión de taurocolato. Muestras 7 a 9.

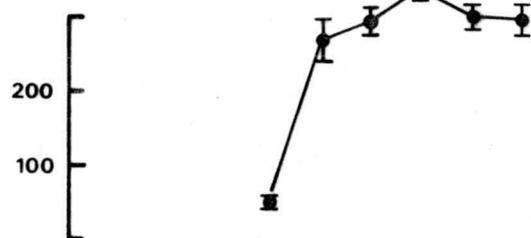
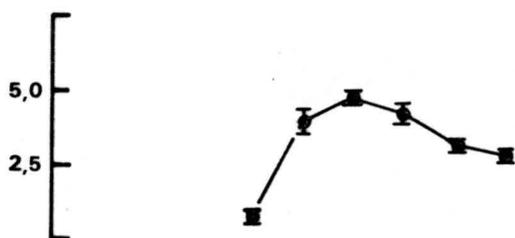
CONCENTRACION



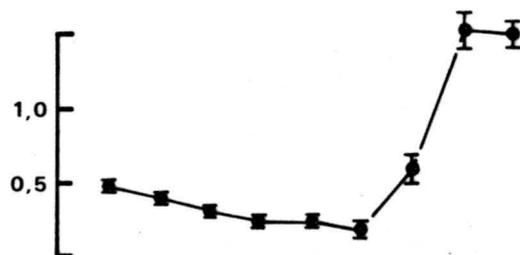
PRODUCCION



BILIRRUBINA (●) Y BILIVERDINA (○)



BROMOSULFOFTALEINA



SALES BILIARES

FLUJO

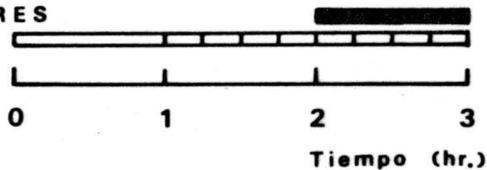
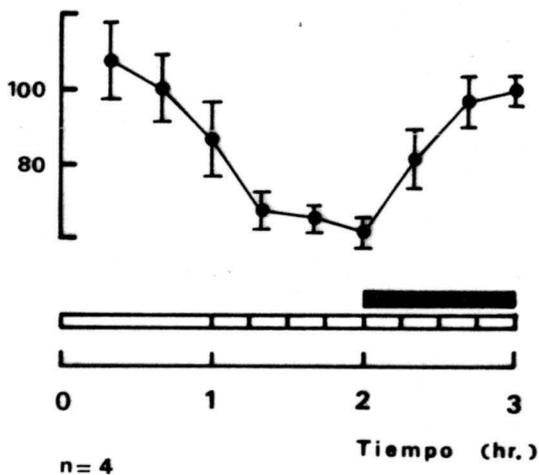


Fig.16.- Anestesia con pentobarbital sódico. Influencia de la infusión de BSP (□□) a dosis = de 0,7 mg/kg/min. y acompañada de taurocolato sódico (■) a = dosis 0,8 mg/kg/min. sobre la = secreción biliar. Todas las uni = dades son idénticas a las de la = tabla XII.

Tabla XIII.- Experimentos del tipo PGB. Anestesia con pentobarbital sódico. Infusión de bromosulfoftaleína a dosis de 0,7 mg/Kg peso corporal/min. y de glicodesoxicolato sódico a dosis de 0,6 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bromosulfoftaleína, bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo	Concentración						
		BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
		mg/ml	mg/100ml			mEq/l		
	μ l/Kg/min.							
1	102,4 \pm 7,1		7,9 \pm 1,4	7,8 \pm 2,0	6,0 \pm 0,8	92 \pm 6	155 \pm 13	3,7 \pm 0,4
2	96,6 \pm 2,4		7,5 \pm 1,3	7,8 \pm 2,3	5,5 \pm 0,7	90 \pm 3	145 \pm 12	3,5 \pm 0,4
3	84,9 \pm 6,0		6,6 \pm 0,5	6,2 \pm 1,5	5,8 \pm 0,5	87 \pm 5	140 \pm 10	3,4 \pm 0,2
4	75,1 \pm 1,7	0,7 \pm 0,2	7,3 \pm 1,0	6,8 \pm 1,2	5,2 \pm 0,6	96 \pm 3	154 \pm 13	3,9 \pm 0,5
5	66,5 \pm 1,9	4,3 \pm 0,1	6,3 \pm 0,7	6,1 \pm 1,5	5,3 \pm 0,9	96 \pm 3	174 \pm 10	4,9 \pm 0,3
6	68,7 \pm 2,8	4,9 \pm 0,2	4,5 \pm 1,1	6,4 \pm 1,8	5,0 \pm 0,4	90 \pm 4	159 \pm 7	5,0 \pm 0,3
7	103,7 \pm 8,5	3,8 \pm 0,2	5,4 \pm 0,7	4,6 \pm 1,1	6,9 \pm 0,7	88 \pm 4	176 \pm 9	5,6 \pm 0,3
8	122,9 \pm 12,5	3,1 \pm 0,4	5,2 \pm 0,7	4,9 \pm 1,4	12,6 \pm 0,3	91 \pm 4	172 \pm 13	5,5 \pm 0,2
9	117,4 \pm 11,7	3,0 \pm 0,4	5,0 \pm 0,3	4,3 \pm 1,0	13,0 \pm 0,6	85 \pm 5	156 \pm 14	5,3 \pm 0,4

m	Producción						
	BSP	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	μ g/Kg/min.			μ Eq/Kg/min.			
1		7,9 \pm 1,1	7,8 \pm 1,6	0,61 \pm 0,09	9,3 \pm 0,6	15,7 \pm 1,3	0,37 \pm 0,03
2		7,3 \pm 1,4	7,5 \pm 2,2	0,53 \pm 0,07	8,6 \pm 0,3	14,0 \pm 1,5	0,34 \pm 0,04
3		5,7 \pm 0,8	5,3 \pm 1,5	0,50 \pm 0,07	7,3 \pm 0,2	11,3 \pm 0,9	0,28 \pm 0,03
4	54,0 \pm 14,9	5,5 \pm 0,8	5,1 \pm 0,8	0,39 \pm 0,05	7,2 \pm 0,3	11,6 \pm 1,3	0,29 \pm 0,04
5	286,2 \pm 3,6	4,1 \pm 0,4	4,0 \pm 0,9	0,35 \pm 0,05	6,4 \pm 0,3	11,6 \pm 1,0	0,33 \pm 0,03
6	339,8 \pm 13,1	3,7 \pm 0,4	4,3 \pm 1,1	0,34 \pm 0,02	6,4 \pm 0,5	11,0 \pm 1,1	0,35 \pm 0,03
7	394,9 \pm 20,9	5,5 \pm 0,6	4,8 \pm 1,3	0,73 \pm 0,12	9,2 \pm 1,0	18,5 \pm 2,8	0,58 \pm 0,05
8	358,6 \pm 8,3	6,3 \pm 1,0	5,7 \pm 1,7	1,54 \pm 0,14	11,2 \pm 1,3	21,3 \pm 3,1	0,67 \pm 0,06
9	334,2 \pm 11,5	6,0 \pm 0,9	4,9 \pm 1,3	1,52 \pm 0,13	10,1 \pm 1,5	18,6 \pm 2,7	0,61 \pm 0,06

n = 5

-- Infusión de bromosulfoftaleína. Muestras 4 a 9

➤ Infusión de glicodesoxicolato. Muestras 7 a 9.

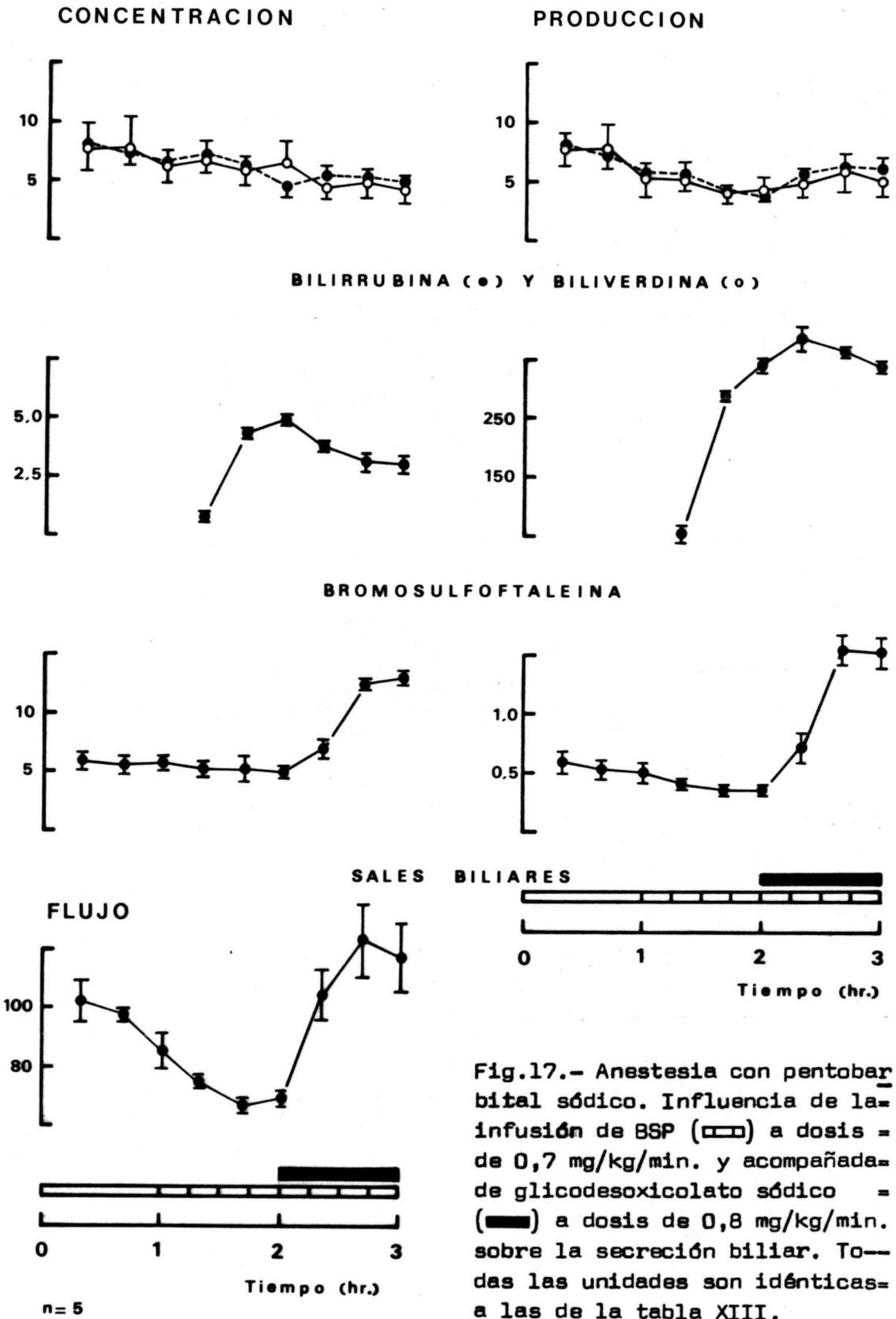


Fig.17.- Anestesia con pentobarbital sódico. Influencia de la infusión de BSP (□) a dosis = de 0,7 mg/kg/min. y acompañada de glicodesoxicolato sódico (■) a dosis de 0,8 mg/kg/min. sobre la secreción biliar. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla XIII.

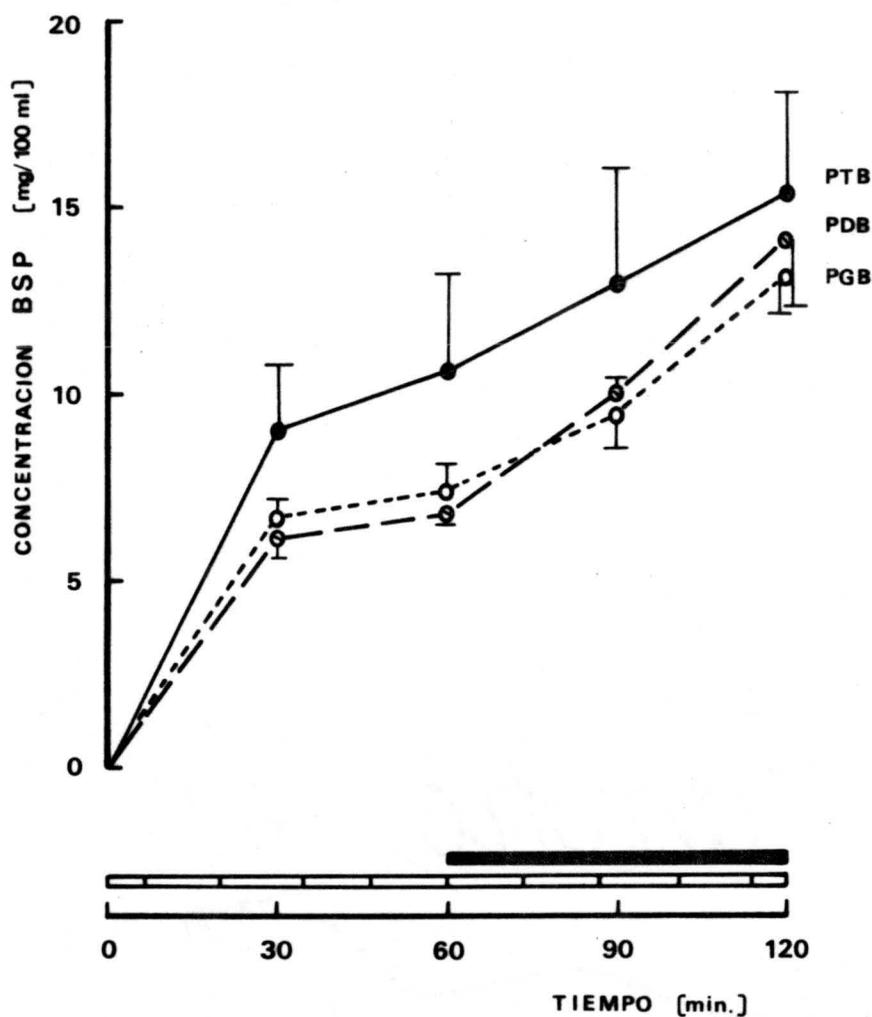


Fig.18.- Anestesia con pentobarbital sódico. Niveles séricos de BSP durante la infusión de la misma a dosis de 0,7 mg/kg/min. sola y acompañada de dehidrocolato sódico (PDB ○), taurocolato sódico (PTB ●) o glicodesoxicolato-sódico (PGB ○) a dosis de 0,8 mg/kg/min.

(□□) Infusión de BSP.

(■) Infusión de sal biliar.

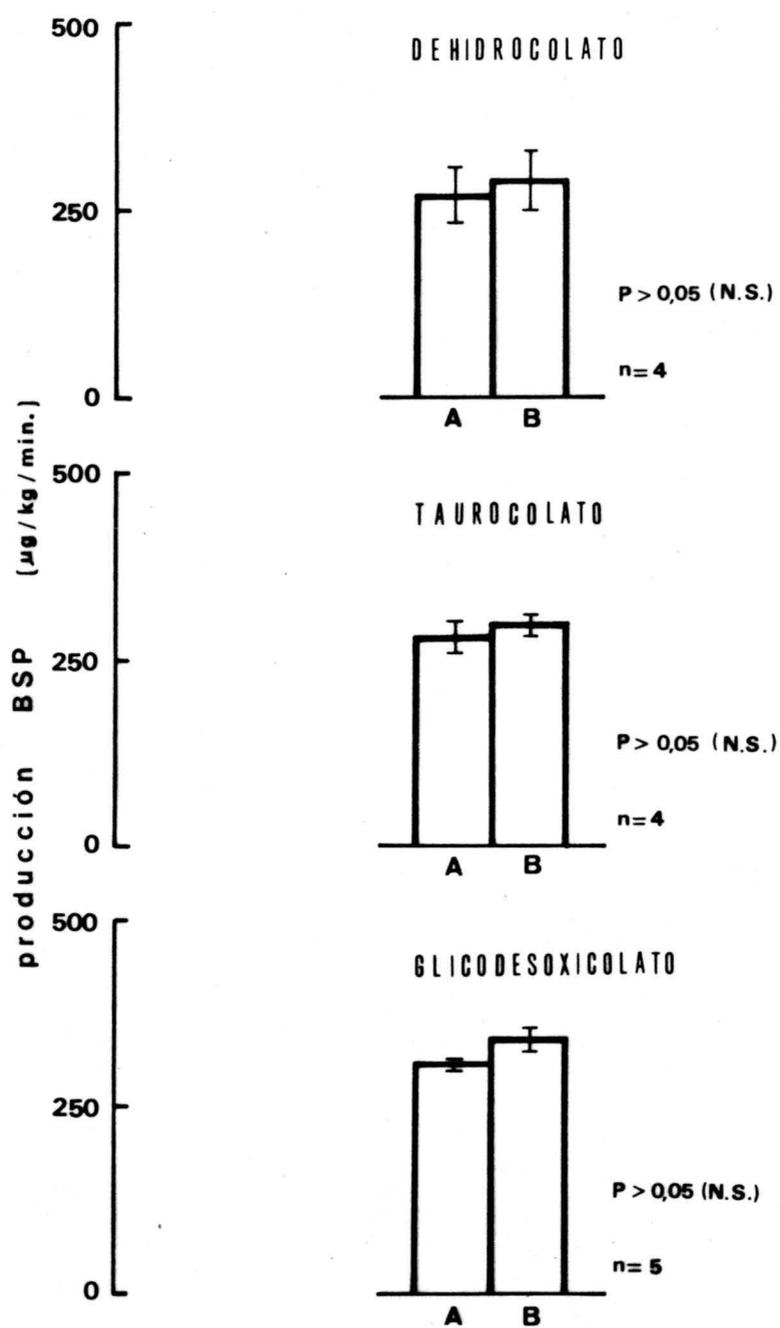


Fig.19.- Anestesia con pentobarbital sódico. Transporte máximo de BSP (A) y efecto sobre el mismo de la infusión de sales biliares a dosis de 0,8 mg/kg/min. (B).

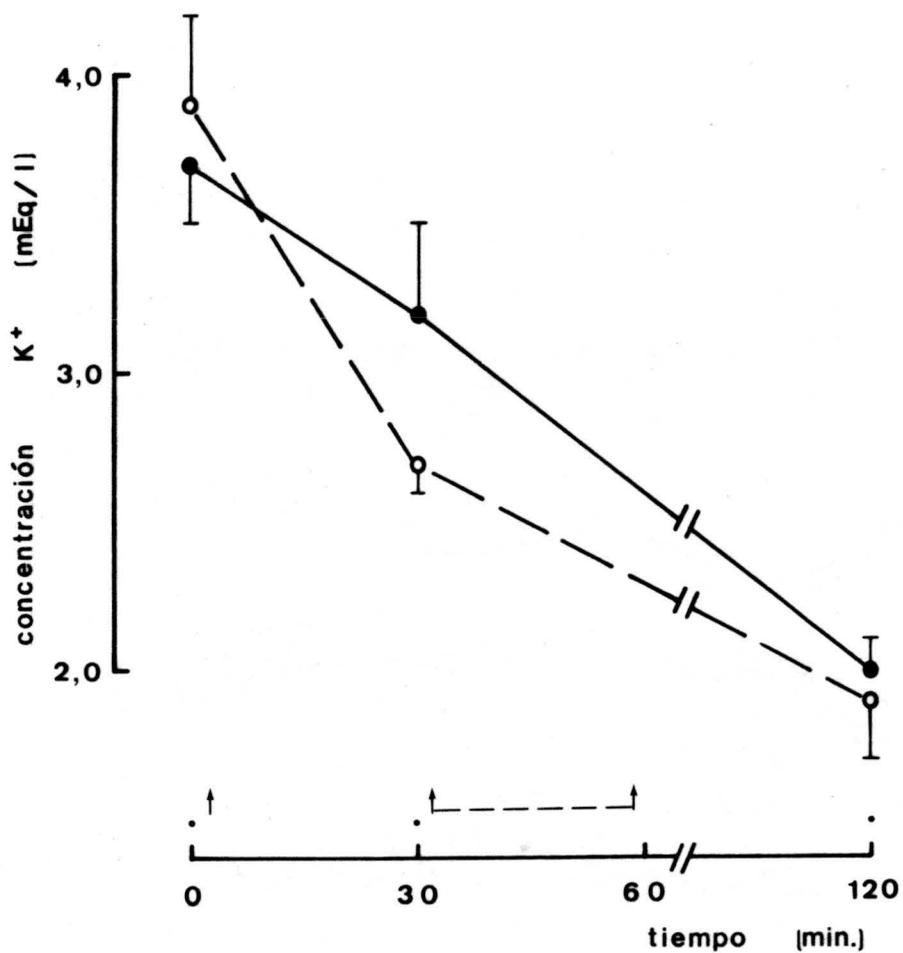


Fig.20.- Influencias del tipo de anestésico y de la intervención quirúrgica sobre los niveles séricos de potasio.

(●) Anestesia con etil-uretano.

(○) Anestesia con pentobarbital sódico.

(·) $p > 0,05$.

(†) Anestesia; (†.†) Intervención quirúrgica.

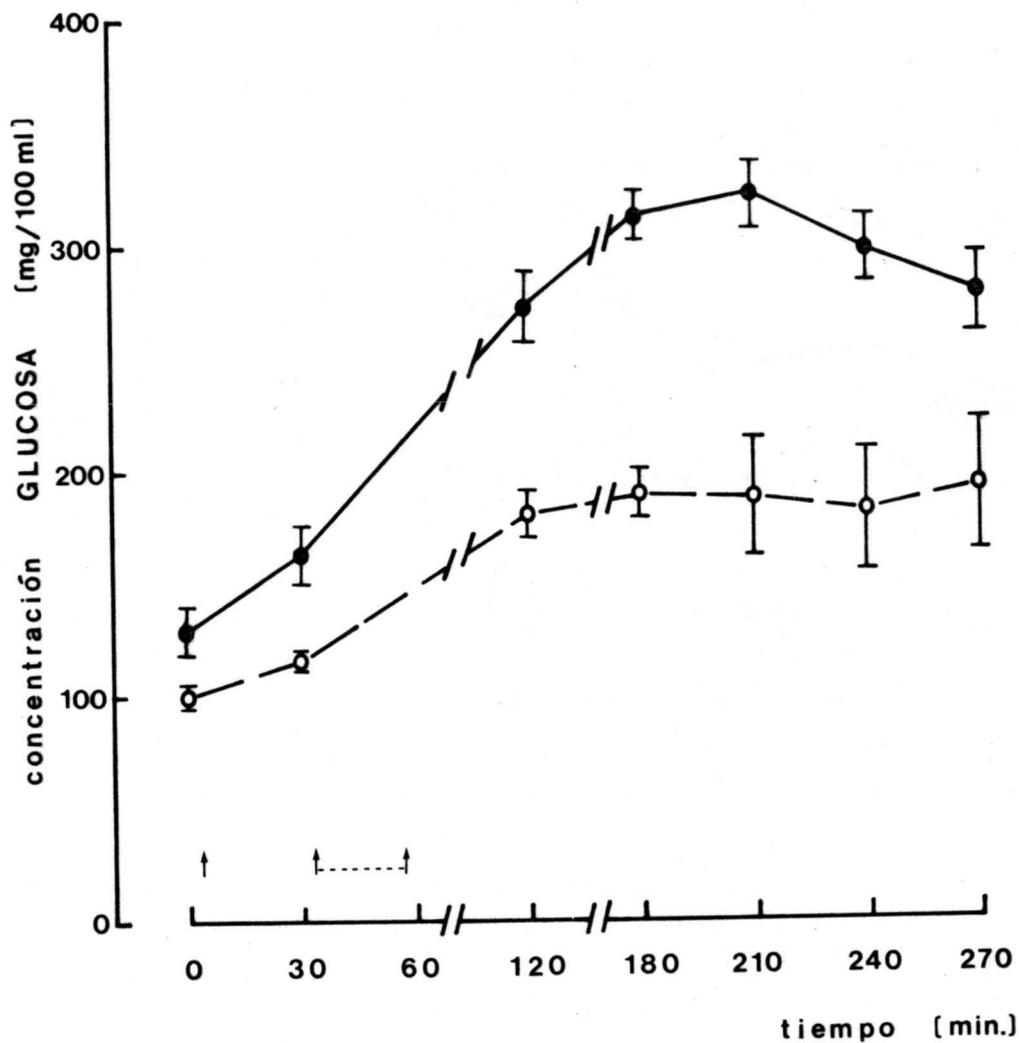


Fig.21.- Influencias del tipo de anestésico y de la intervención quirúrgica sobre los niveles de glucosa en sangre.

- (●) Anestesia con etil-uretano.
- (○) Anestesia con pentobarbital sódico.
- (↑) Anestesia. (↑-↑) Intervención quirúrgica.

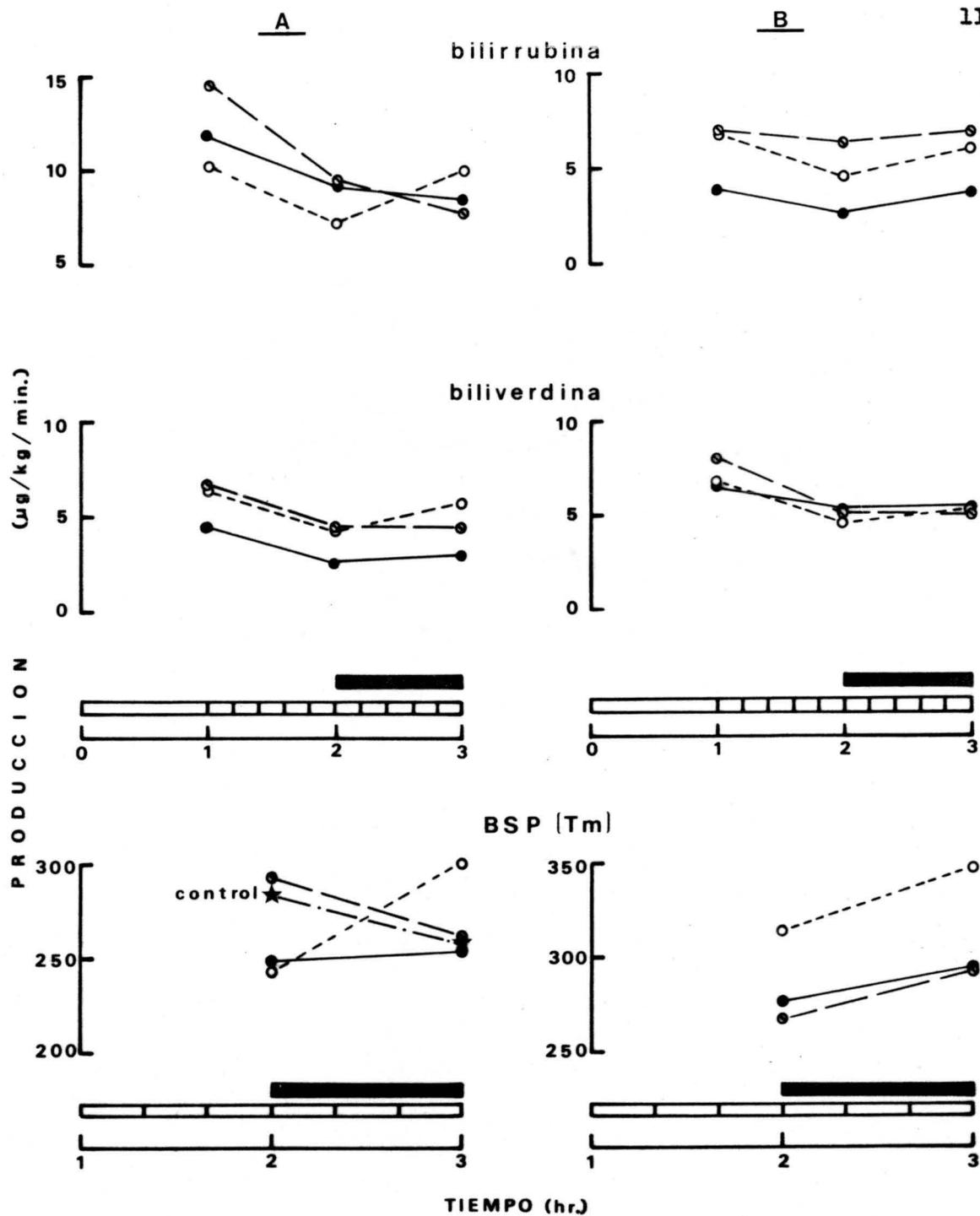


Fig.22.- Influencia de la infusión de dehidrocolato (◊),-taurocolato (•) o glicodesoxicolato (◊) sódicos sobre la producción endógena de bilirrubina y biliverdina, y sobre el transporte máximo de BSP. Efecto del tipo de anestésico.

- (A) Anestesia con etil-uretano.
- (B) Anestesia con pentobarbital sódico.
- (◊) Infusión de BSP.
- (■) Infusión de sal biliar.

Tabla XIV.- Experimentos del tipo BRD. Infusión de bilirrubina a dosis de 0,6 mg/Kg peso corporal/min. y de dehidrocolato sódico a dosis de 0,8 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo μ l/Kg/min.	Concentración					
		Br mg/100ml	Bv mg/100ml	SB mEq/l	Cl mEq/l	Na mEq/l	K mEq/l
1	72,6 \pm 8,6	20,8 \pm 3,0	14,2 \pm 2,9	5,9 \pm 0,2	88 \pm 4	168 \pm 8	3,1 \pm 0,2
2	65,9 \pm 8,4	25,7 \pm 0,8	13,2 \pm 2,6	5,4 \pm 0,6	87 \pm 3	150 \pm 8	2,8 \pm 0,2
3	61,3 \pm 7,9	23,8 \pm 2,5	14,8 \pm 4,0	5,2 \pm 1,1	88 \pm 3	156 \pm 8	3,1 \pm 0,2
4	54,6 \pm 5,5	110,7 \pm 25,6	18,5 \pm 3,5	5,7 \pm 0,9	90 \pm 4	153 \pm 3	3,0 \pm 0,2
5	48,1 \pm 4,1	522,1 \pm 37,8	25,6 \pm 1,9	5,1 \pm 0,3	91 \pm 3	161 \pm 7	3,2 \pm 0,2
6	44,5 \pm 2,5	605,3 \pm 17,5	24,4 \pm 2,6	5,3 \pm 0,5	88 \pm 3	162 \pm 6	3,4 \pm 0,2
7	56,3 \pm 3,9	553,1 \pm 26,8	21,1 \pm 1,9	5,2 \pm 0,4	84 \pm 2	158 \pm 5	3,4 \pm 0,2
8	75,5 \pm 6,2	461,1 \pm 44,0	17,6 \pm 3,1	4,4 \pm 0,6	85 \pm 3	136 \pm 12	2,9 \pm 0,2
9	79,3 \pm 5,9	443,4 \pm 31,0	15,9 \pm 3,6	4,3 \pm 0,6	82 \pm 3	134 \pm 8	2,9 \pm 0,2

m	Producción					
	Br μ g/Kg/min.	Bv μ g/Kg/min.	SB μ Eq/Kg/min.	Cl μ Eq/Kg/min.	Na μ Eq/Kg/min.	K μ Eq/Kg/min.
1	14,4 \pm 1,2	9,7 \pm 1,3	0,43 \pm 0,07	6,4 \pm 1,0	13,4 \pm 2,0	0,23 \pm 0,04
2	16,8 \pm 1,8	8,3 \pm 1,4	0,35 \pm 0,04	5,7 \pm 0,7	9,7 \pm 0,9	0,18 \pm 0,01
3	14,0 \pm 0,7	8,4 \pm 1,5	0,32 \pm 0,06	5,4 \pm 0,8	9,6 \pm 1,4	0,19 \pm 0,03
4	56,9 \pm 12,2	9,7 \pm 1,1	0,30 \pm 0,04	5,9 \pm 0,7	8,3 \pm 0,8	0,16 \pm 0,02
5	246,6 \pm 5,9	12,3 \pm 1,2	0,24 \pm 0,02	4,4 \pm 0,5	7,7 \pm 0,3	0,15 \pm 0,01
6	265,5 \pm 7,4	12,3 \pm 1,2	0,23 \pm 0,01	3,9 \pm 0,3	7,2 \pm 0,6	0,16 \pm 0,02
7	323,0 \pm 20,9	10,8 \pm 1,2	0,30 \pm 0,03	4,7 \pm 0,3	8,9 \pm 0,8	0,19 \pm 0,02
8	340,5 \pm 11,6	13,7 \pm 0,8	0,34 \pm 0,02	6,5 \pm 0,6	10,1 \pm 0,9	0,21 \pm 0,01
9	346,5 \pm 9,3	12,6 \pm 1,2	0,32 \pm 0,03	6,5 \pm 0,7	10,5 \pm 0,2	0,23 \pm 0,01

n = 4

→ Infusión de bilirrubina. Muestras 4 a 9.

➤ Infusión de dehidrocolato. Muestras 7 a 9.

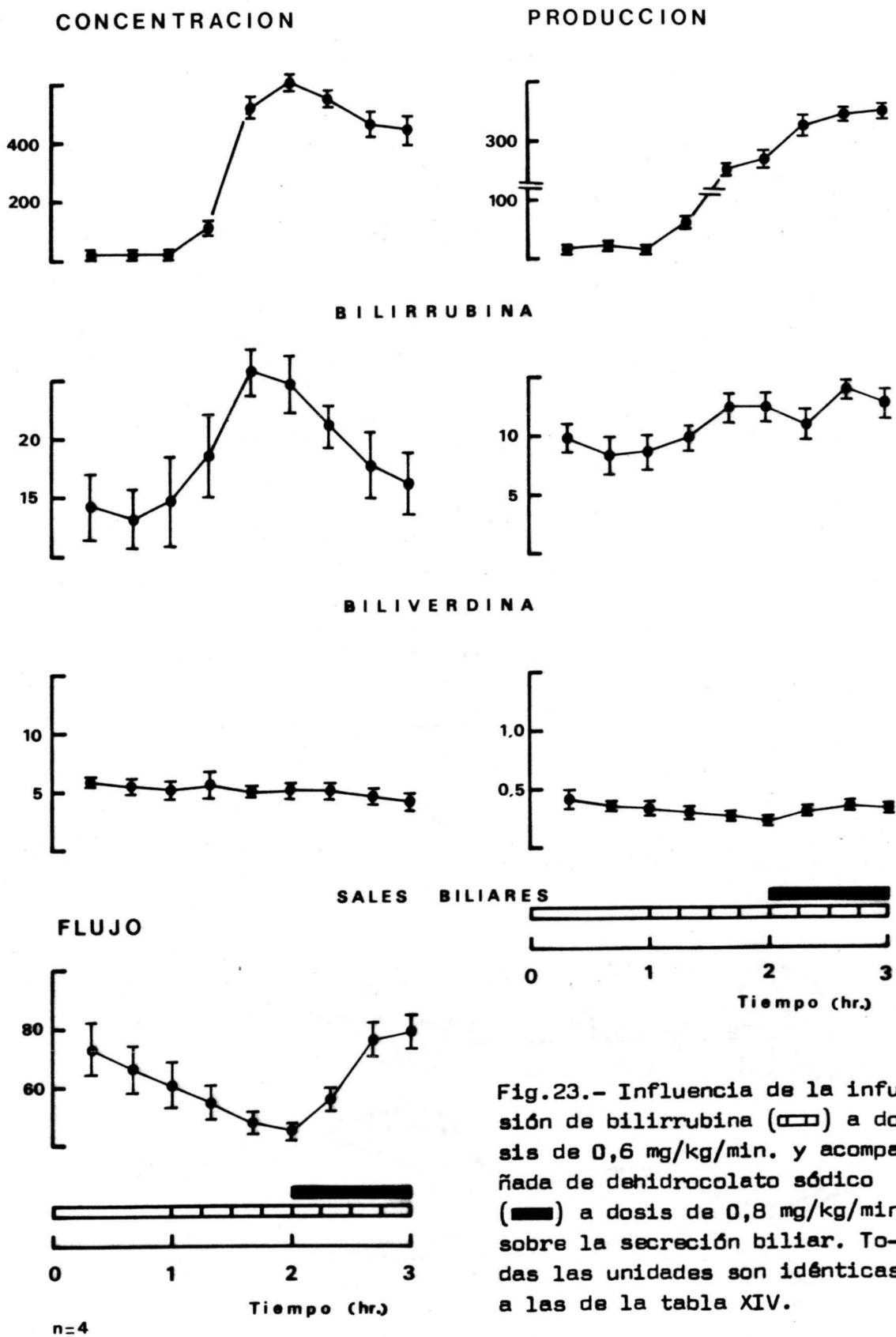


Fig.23.- Influencia de la infusión de bilirrubina (□) a dosis de 0,6 mg/kg/min. y acompañada de dehidrocolato sódico (■) a dosis de 0,8 mg/kg/min. sobre la secreción biliar. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla XIV.

Tabla XV.- Experimentos del tipo BRT. Infusiones de bilirrubina a dosis de 0,6 mg/Kg peso corporal/min. y de taurocolato sódico a dosis de 0,8 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo	Concentración					
		Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	μ l/Kg/min.	mg/100ml		mEq/l			
1	63,9 \pm 2,2	15,8 \pm 2,6	10,3 \pm 2,6	6,7 \pm 0,4	83 \pm 2	150 \pm 7	2,8 \pm 0,4
2	67,2 \pm 1,6	16,6 \pm 1,2	11,0 \pm 1,6	6,2 \pm 0,8	84 \pm 4	159 \pm 15	3,2 \pm 0,3
3	56,9 \pm 4,5	17,5 \pm 1,0	9,8 \pm 1,6	6,0 \pm 0,6	83 \pm 4	157 \pm 3	3,2 \pm 0,1
4	52,3 \pm 4,2	105,7 \pm 10,4	10,8 \pm 2,6	6,0 \pm 0,3	85 \pm 6	152 \pm 13	3,1 \pm 0,3
5	47,0 \pm 3,7	485,7 \pm 40,7	16,8 \pm 0,9	5,5 \pm 0,2	81 \pm 2	157 \pm 4	3,3 \pm 0,1
6	44,4 \pm 4,2	593,7 \pm 39,2	20,5 \pm 2,4	5,0 \pm 0,3	81 \pm 2	165 \pm 2	3,5 \pm 0,1
7	53,5 \pm 5,9	560,1 \pm 49,6	22,8 \pm 2,9	7,9 \pm 0,4	80 \pm 1	174 \pm 8	3,7 \pm 0,1
8	64,0 \pm 5,5	492,6 \pm 41,8	20,3 \pm 3,4	22,7 \pm 1,7	76 \pm 2	167 \pm 4	3,6 \pm 0,2
9	65,0 \pm 5,5	510,6 \pm 30,3	15,6 \pm 3,3	23,4 \pm 2,5	75 \pm 1	170 \pm 2	3,7 \pm 0,2

m	Producción					
	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	μ g/Kg/min.		μ Eq/Kg/min.			
1	10,3 \pm 1,7	6,6 \pm 1,7	0,42 \pm 0,02	5,3 \pm 0,2	9,5 \pm 0,5	0,18 \pm 0,02
2	11,2 \pm 1,0	7,3 \pm 0,9	0,41 \pm 0,05	5,6 \pm 0,4	10,7 \pm 1,1	0,21 \pm 0,02
3	9,9 \pm 0,8	5,5 \pm 0,8	0,34 \pm 0,03	4,7 \pm 0,4	8,9 \pm 0,7	0,18 \pm 0,02
4	56,6 \pm 9,3	5,5 \pm 1,1	0,31 \pm 0,03	4,4 \pm 0,4	8,0 \pm 1,1	0,16 \pm 0,02
5	224,8 \pm 11,9	7,8 \pm 0,4	0,26 \pm 0,03	4,0 \pm 0,4	7,4 \pm 0,7	0,16 \pm 0,01
6	258,6 \pm 11,3	9,4 \pm 0,8	0,22 \pm 0,03	3,8 \pm 0,4	7,3 \pm 0,7	0,16 \pm 0,02
7	290,6 \pm 10,8	11,7 \pm 0,3	0,42 \pm 0,04	4,2 \pm 0,5	9,3 \pm 1,1	0,20 \pm 0,02
8	311,9 \pm 13,5	12,5 \pm 1,1	1,43 \pm 0,08	4,8 \pm 0,4	10,7 \pm 0,8	0,23 \pm 0,01
9	327,1 \pm 13,4	9,6 \pm 1,4	1,48 \pm 0,02	4,9 \pm 0,5	10,8 \pm 0,7	0,23 \pm 0,01

n = 4

→ Infusión de bilirrubina. Muestras 4 a 9

➤ Infusión de taurocolato. Muestras 7 a 9.

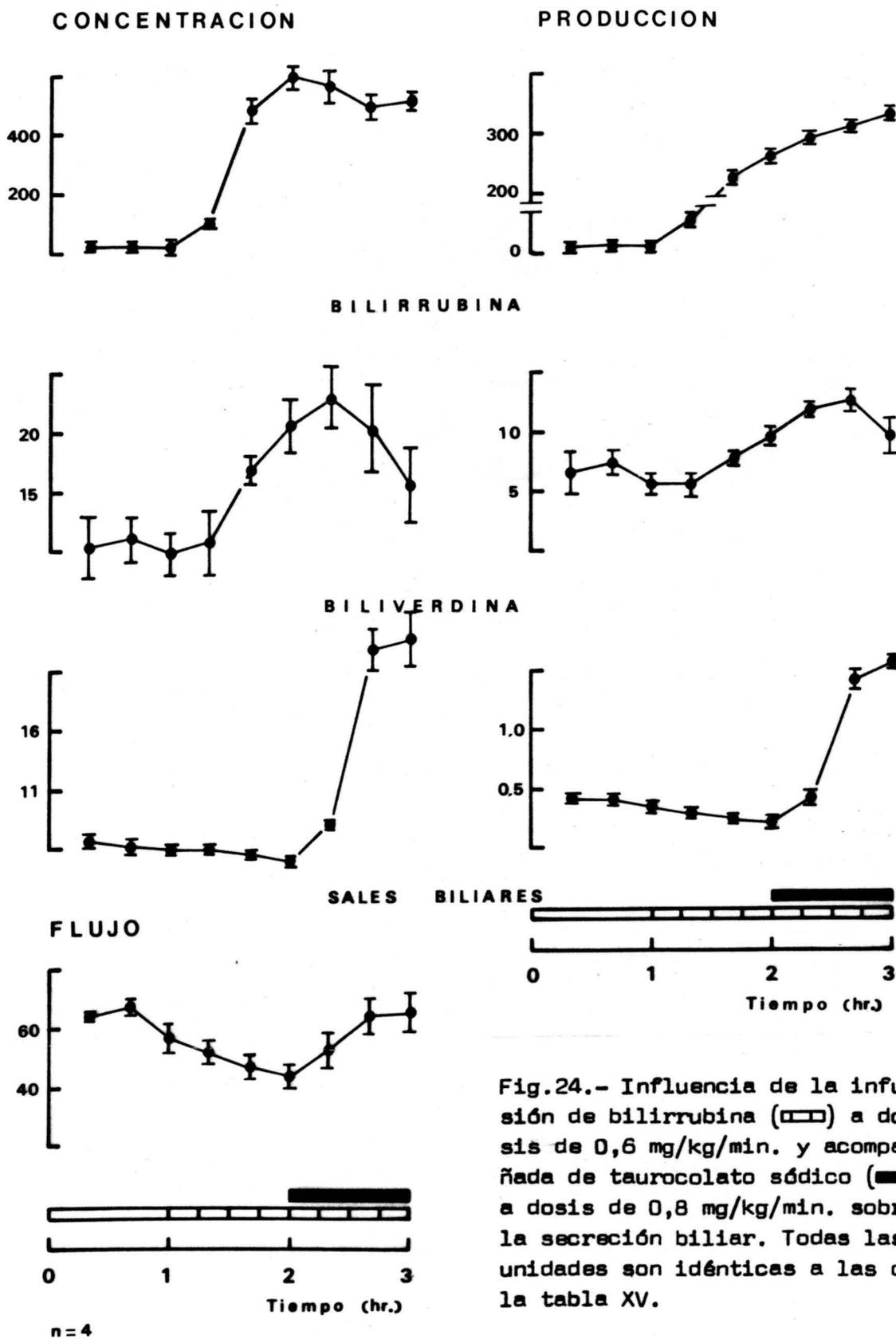


Fig.24.- Influencia de la infusión de bilirrubina (□□) a dosis de 0,6 mg/kg/min. y acompañada de taurocolato sódico (■) a dosis de 0,8 mg/kg/min. sobre la secreción biliar. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla XV.

Tabla XVI.- Experimentos del tipo BRG. Infusión de bilirrubina a dosis de 0,6 mg/Kg peso corporal/min. y de glicodesoxicolato sódico a dosis de 0,8 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio y potasio.

m	flujo	Concentración					
		Br	Bv	SB	Cl	Na	K
		mg/100ml		mEq/l			
	μ l/Kg/min.						
1	74,1 \pm 10,7	15,3 \pm 2,5	9,7 \pm 1,2	7,3 \pm 0,7	84 \pm 4	159 \pm 2	3,1 \pm 0,1
2	69,9 \pm 9,8	14,4 \pm 2,9	7,2 \pm 0,7	6,1 \pm 0,9	81 \pm 5	142 \pm 6	2,8 \pm 0,2
3	67,7 \pm 9,9	13,5 \pm 2,5	8,0 \pm 1,5	6,2 \pm 0,5	82 \pm 3	151 \pm 3	3,0 \pm 0,1
4	57,7 \pm 6,9	100,2 \pm 20,0	7,1 \pm 2,3	5,2 \pm 0,8	81 \pm 3	159 \pm 3	3,3 \pm 0,2
5	52,5 \pm 5,4	444,4 \pm 55,4	14,7 \pm 1,8	5,8 \pm 0,9	77 \pm 5	155 \pm 4	3,2 \pm 0,1
6	44,5 \pm 1,8	592,4 \pm 17,7	17,0 \pm 1,0	5,6 \pm 0,9	82 \pm 4	147 \pm 12	3,2 \pm 0,3
7	65,1 \pm 2,9	519,9 \pm 19,8	17,2 \pm 2,3	8,0 \pm 0,8	78 \pm 2	158 \pm 2	3,3 \pm 0,1
8	89,5 \pm 3,5	372,7 \pm 19,6	12,3 \pm 2,8	15,4 \pm 2,0	79 \pm 3	155 \pm 5	3,2 \pm 0,1
9	83,8 \pm 2,9	396,8 \pm 13,6	13,0 \pm 2,0	17,0 \pm 1,2	78 \pm 1	160 \pm 2	3,3 \pm 0,1

m	Producción					
	Br	Bv	SB	Cl	Na	K
	μ g/Kg/min.			μ Eq/Kg/min.		
1	11,0 \pm 2,1	7,2 \pm 1,6	0,54 \pm 0,09	6,2 \pm 1,1	11,8 \pm 1,8	0,23 \pm 0,03
2	9,4 \pm 1,2	5,0 \pm 0,9	0,44 \pm 0,11	5,8 \pm 1,1	10,1 \pm 1,7	0,20 \pm 0,04
3	8,7 \pm 1,6	5,2 \pm 1,1	0,41 \pm 0,06	5,5 \pm 0,7	10,2 \pm 1,5	0,20 \pm 0,03
4	57,4 \pm 13,7	5,6 \pm 1,2	0,30 \pm 0,07	5,5 \pm 0,7	9,2 \pm 1,2	0,20 \pm 0,02
5	224,6 \pm 11,0	7,8 \pm 1,4	0,31 \pm 0,07	4,0 \pm 0,4	8,2 \pm 0,9	0,17 \pm 0,01
6	262,5 \pm 5,9	7,6 \pm 0,7	0,25 \pm 0,04	3,7 \pm 0,2	6,5 \pm 0,6	0,14 \pm 0,01
7	338,5 \pm 24,6	12,0 \pm 1,4	0,48 \pm 0,03	5,1 \pm 0,2	10,3 \pm 0,6	0,22 \pm 0,01
8	331,8 \pm 7,2	10,4 \pm 1,8	1,38 \pm 0,19	7,1 \pm 0,6	13,9 \pm 0,8	0,29 \pm 0,01
9	351,2 \pm 8,8	10,9 \pm 1,7	1,42 \pm 0,08	6,5 \pm 0,2	13,4 \pm 0,5	0,28 \pm 0,01

n = 4

→ Infusión de bilirrubina. Muestras 4 a 9.

➤ Infusión de glicodesoxicolato. Muestras 7 a 9.

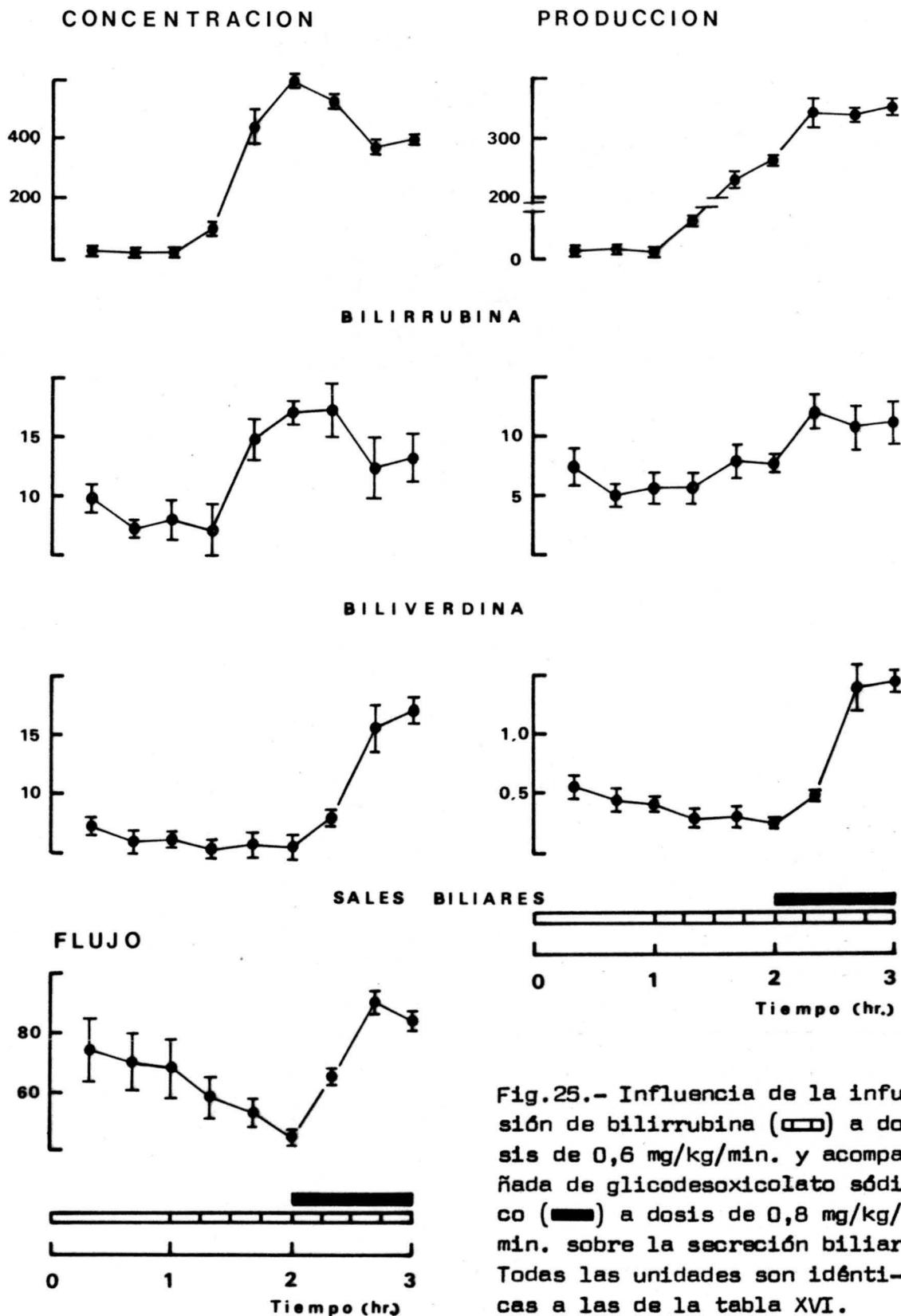


Fig.25.- Influencia de la infusión de bilirrubina (□□) a dosis de 0,6 mg/kg/min. y acompañada de glicodesoxicolato sódico (■) a dosis de 0,8 mg/kg/min. sobre la secreción biliar. Todas las unidades son idénticas a las de la tabla XVI.

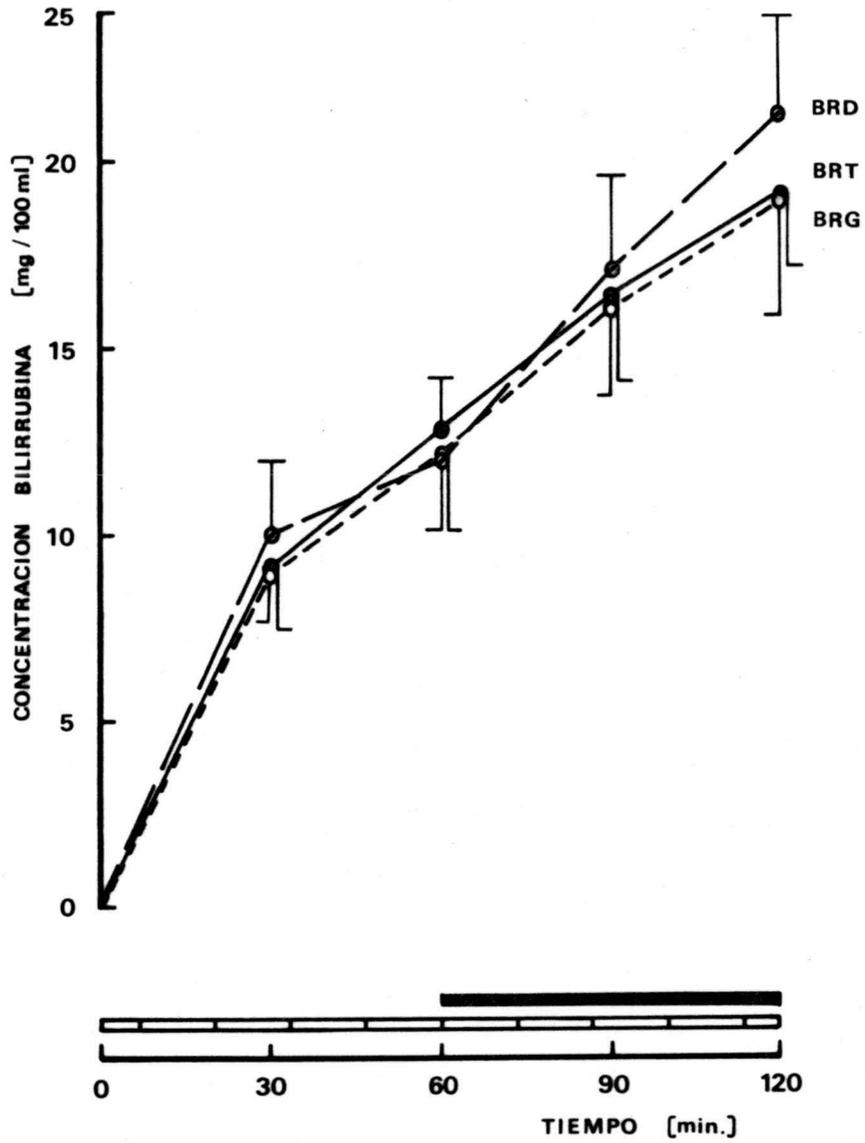


Fig.26.- Niveles séricos de bilirrubina durante la infusión de la misma a dosis de 0,6 mg/kg/min. sola y acompañada de dehidrocolato sódico (BRD \circ), taurocolato sódico (BRT \bullet) o glicodesoxicolato sódico (BRG \circ) a dosis de 0,8 mg/kg/min.

(\square) Infusión de bilirrubina.

(\blacksquare) Infusión de sal biliar.

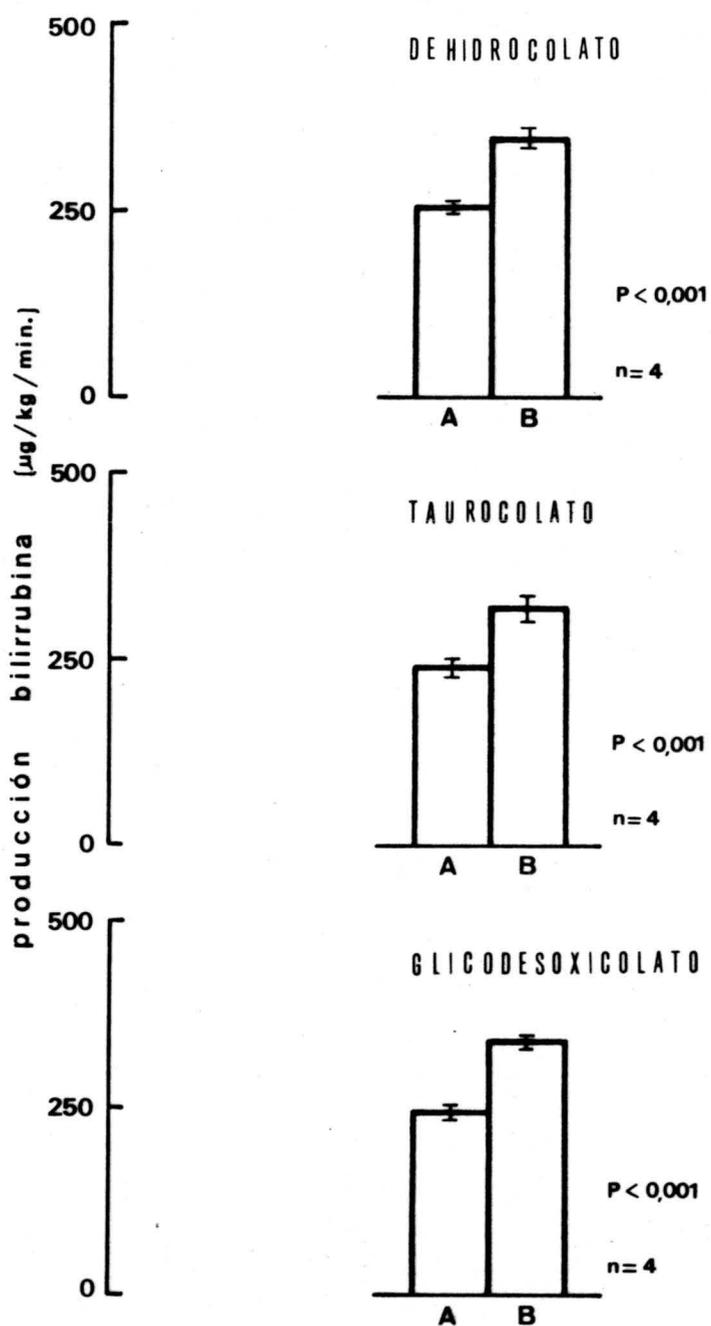


Fig.27.- Transporte máximo de bilirrubina (A) y efecto sobre el mismo de la infusión de sales biliares a dosis de 0,8 mg/kg/min. (B).

5.- DISCUSSION.

5.1.- Sobre algunos aspectos de la secreción biliar -
en condiciones de reposo con circulación entero
hepática intacta o interrumpida.

En nuestras condiciones experimentales en conejo anes-
tasiado con etil-uretano, con el conducto cístico y el piloro li-
gados e iniciando los ensayos 30 minutos después de la canulación
del colédoco, y manteniendo la circulación enterohepática intacta
por reingreso de bilis al duodeno, el flujo de secreción biliar -
(valores medios de 4 animales durante 5 horas) oscila entre 68,0=
y 85,9 $\mu\text{l}/\text{kg}/\text{min}$. (tabla I). Estos valores son inferiores a los -
descritos por González (87) en condiciones experimentales idén-
ticas a las nuestras, con la única diferencia del anestésico em-
pleado, que en este caso fue pentobarbital sódico, y sensiblemente
iguales a los obtenidos por Esteller (71) en conejos aneste-
siados, como los nuestros, con etil-uretano. Considerables dife-
rencias en función del anestésico utilizado han sido ya indicadas
por otros autores en la misma especie (63, 128, 178). Por otra
parte, en conejos no anestesiados (108) se obtienen valores de -
flujo ligeramente inferiores.

La producción de sales biliares (tabla I) es similar-
a la descrita en bibliografía (87, 108, 118, 128, 192), y la -
concentración de las mismas es superior a la citada para animales
anestesiados con pentobarbital (87), como consecuencia del me-
nor flujo. También las concentraciones de cloruro, sodio y pota-
sio coinciden con los datos bibliográficos (87, 63, 71, 128, -
175) (tabla I).

Lo mismo que otros autores (34, 81, 87) encontra-
mos cantidades apreciables de biliverdina, pero en nuestro caso -

la bilirrubina siempre es predominante (tabla I) y su concentración suele ser doble de la del otro pigmento (diferencia significativa, $p < 0,001$), lo que acerca más al conejo al patrón habitual en mamíferos, y contrasta marcadamente con los datos de González (87). Por otro lado las concentraciones de bilirrubina obtenidas por nosotros son muy superiores a las de este autor (87). - Estas diferencias deben de nuevo achacarse al distinto anestésico empleado.

A lo largo de los ensayos de 5 horas de duración, se mantienen los valores de flujo, y de concentración y producción de sales biliares, sodio, potasio y cloruro (tabla I, fig.1), pero no así las concentraciones y las producciones de pigmentos biliares, que caen progresivamente, existiendo diferencias significativas entre los valores de la primera hora y los de las dos últimas ($p < 0,001$). En este sentido nuestros resultados concuerdan con los publicados recientemente por González en nuestro propio Departamento (87). La explicación sugerida por este autor en cuanto a un posible efecto negativo de la anestesia sobre la formación y/o excreción hepática de los pigmentos biliares podría ser válida según nuestros datos experimentales a pesar de ser diferente el anestésico utilizado. Sin embargo, también cabe postular, junto con González (87), la existencia de una elevación artificial inicial de los niveles de pigmentos, con lo que la caída no sería más que una vuelta a la normalidad; ahora bien, dicho autor considera probable que tal elevación se deba a hemólisis a consecuencia del stress quirúrgico; tenemos que negar tal interpretación, pues, habiendo determinado las concentraciones de potasio en plasma, antes y después de la intervención, no encontramos en ningún caso incrementos en dicho parámetro (fig. 20), que des-

ciende tanto en conejos anestesiados con uretano como con pento--barbital (fig. 20). Aunque no estamos en condiciones de afirmar nada por falta de apoyo experimental cabe la posibilidad de una influencia del stress no mediada por la hemolisis, sino a través de alteraciones metabólicas.

Es preciso tener en cuenta que las concentraciones y por supuesto las producciones, tanto de bilirrubina como de biliverdina, se estabilizan finalmente a niveles muy parecidos sea cual sea el valor de partida, distinto, como hemos indicado, en el trabajo de González (87) y en el nuestro; indirectamente este hecho parece apoyar la hipótesis de una subida inicial debida al anestésico, que, en consecuencia sería diferente en ambos casos, y revertiría con el tiempo.

Al interrumpir la circulación enterohepática (tabla II, fig. 2) se aprecian marcadas caídas de flujo y de la producción de todos los componentes analizados (caídas estadísticamente significativas a partir de la segunda hora, $p < 0,001$), exactamente igual que en los datos de González (87) y de acuerdo con lo indicado para algunos de ellos por Esteller (69) con el mismo anestésico que nosotros y por Jiménez (108) en animal no anestesiado, todo ello en nuestro propio Departamento. La caída en la concentración de bilirrubina y biliverdina es paralela a la obtenida con circulación enterohepática intacta (figs. 2 y 1) y las producciones de ambos pigmentos se estabilizan exactamente al mismo nivel.

A la vista de los resultados expuestos, dado que el objetivo primordial de nuestro trabajo es la excreción de BSP y



de pigmentos, y teniendo en cuenta que la BSP no presenta circulación enterohepática (54) todo el resto de los ensayos se han -
llevado a cabo sin reingreso de bilis al duodeno.

Por otro lado, nuestros resultados confirman lo postulado por González (87) en el sentido de que los cambios en la -
excreción de pigmentos biliares en reposo son aparentemente inde-
pendientes, no solo del flujo, sino también de la oscilaciones en-
las producciones de sales biliares y electrolitos inorgánicos -
(tablas I y II, figs. 1 y 2).

5.2.- Sobre la excreción de BSP a diferentes dosis de infusión de la misma.

En este bloque de ensayos se ha pretendido establecer la cuantía del transporte máximo (T_m) de la BSP en el conejo, en nuestras condiciones experimentales, y para ello se han probado dosis de infusión similares a las citadas en la escasa bibliografía existente sobre este tema en la especie objeto de nuestro estudio (120, 137, 175). Dado que han sido descritos efectos coleréticos de esta sustancia en oveja (2) y perro (11) y que en la rata parece haber efectos coleréticos para dosis bajas (39) y colestáticos para dosis altas (52), hemos ensayado una amplia gama de dosis de infusión con objeto de comprobar si alguno de es tos efectos se presenta en el conejo, punto este sobre él que no hemos encontrado información concreta en la bibliografía.

A la dosis más baja de las empleadas por nosotros (0,05 mg/kg/min; tabla III, fig. 3) la BSP manifiesta un efecto colerético, que se hace patente al comparar los resultados con los correspondientes obtenidos en condiciones basales con la circulación enterohepática interrumpida (fig. 2); es decir que la BSP evita la caída de flujo que se observaba en experimentos similares, pero sin infusión de dicha sustancia. Por tanto, en este orden de cosas, el conejo se comporta de forma semejante a la rata.

A las dosis siguientes (0,1 mg/kg/min., tabla IV, fig. 4 y 0,5 mg/kg/min., tabla V, fig. 5) el efecto colerético es menor; tan solo se pone de manifiesto al comparar las caídas de flujo en términos porcentuales, tratamiento que se representa en la fig. 8 y que evita la influencia de las oscilaciones en los flu--

jos de partida.

La recuperación de la BSP infundida en estos tres bloques de ensayos es del orden del 50 %, valor inferior al descrito en la rata (195d), y semejante al del hombre (195d), así como al obtenido en el conejo para la bilirrubina infundida a dosis similares (87) (ver recuperaciones en Cuadro I).

Para las dosis de 1,0 y 1,5 mg/kg/min. (tablas VI y VII, figs. 6 y 7) el efecto colerético de la BSP ha desaparecido por completo, pero tampoco aparece un efecto colestático; ambas cosas pueden apreciarse claramente en la fig. 8.

Para explicar las acciones de la BSP a diversas dosis sobre el flujo de bilis, y basándonos en nuestros resultados y en informaciones bibliográficas, proponemos la siguiente hipótesis: a dosis bajas la mayor parte de la BSP infundida se excreta por bilis en forma conjugada y monomolecular (52); por consiguiente ejerce un efecto osmótico que puede explicar la coleresis (fig.28); a dosis progresivamente mayores empieza a aparecer en bilis BSP libre en cantidades crecientes (57), y por tanto aparece una tendencia a la formación de agregados micelares, sola o con otras especies moleculares (207), hecho que tiende a enmascarar la acción colerética (figs.4 y 5) de acuerdo con lo indicado por otros autores (207). Para dosis aún mayores, por encima del T_m , como luego veremos, se acumula BSP en hígado, lo que ocasionaría efectos tóxicos probablemente a nivel mitocondrial (54), y podría inducir colestasis; este hecho no llega a manifestarse (figs. 6 y 7), contrariamente a lo descrito en las ratas (52), quizá porque las dosis empleadas no sean suficientes, o quizá porque en el conejo, como en el perro y a diferencia de la rata, parte de

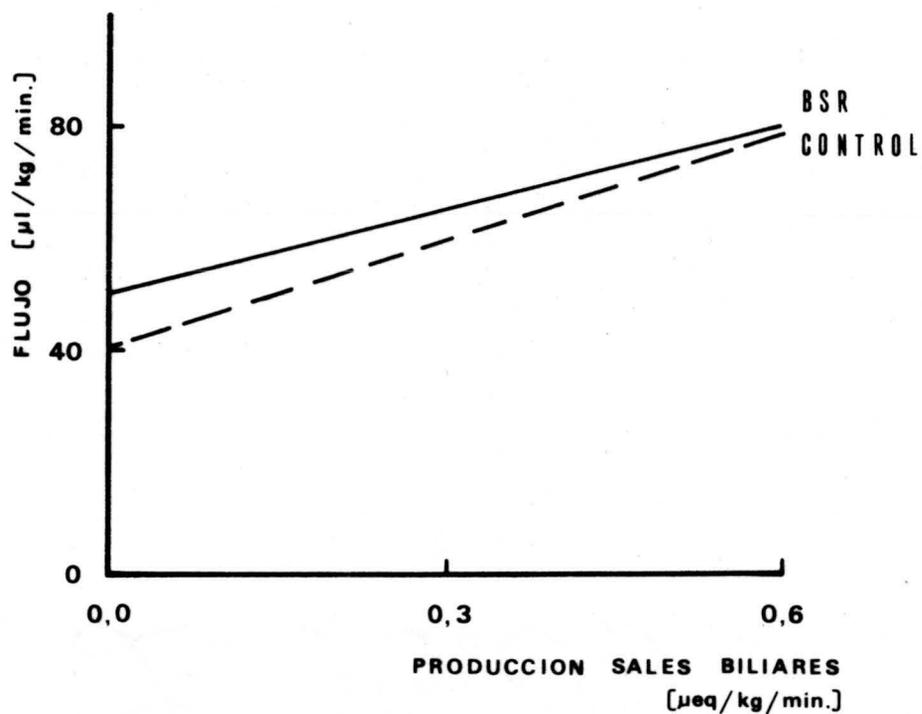


Fig. 28.- Efecto de la infusión de BSP a 0,05 mg/kg/min. - sobre la F I S B.

Control

$$y = 63,7 \times \frac{1}{2} 40,0$$

$$\bar{y} = 74,9$$

$$r = 0,5854 ; \quad g1 = 80$$

$$p < 0,001$$

$$F I S B = 40,0 \mu l/kg/min. \\ (53 \%)$$

Infusión de BSP

$$y = 51,1 \times \frac{1}{2} 49,2$$

$$\bar{y} = 66,2$$

$$r = 0,3621 ; \quad g1 = 34$$

$$p < 0,05$$

$$F I S B = 49,2 \mu l/kg/min. \\ (74 \%)$$

Cuadro I.- Recuperación biliar de BSP.	
Dosis de infusión de BSP.	Porcentaje de recuperación biliar de BSP.
0,05 mg/kg/min.....	47 %
0,1 "	38 %
0,5 "	52 %
1,0 "	26 %
1,5 "	19 %

Cuadro II.- Valores de algunos parámetros, en bilis, según el tipo de anestésico. Muestras 1, 2 y 3= de los experimentos DB, TB y GB (Uretano) contra las mismas de PDB, PTB y PGB (Pentobarbital).			
	URETANO	PENTOBARBITAL	Nivel de significac.
Flujo ul/kg/min.	70,4 ± 4,4	97,5 ± 4,9	p<0,001
Br mg/100ml	18,1 ± 1,6	6,7 ± 1,0	p<0,001
[Bv] mg/100ml	9,1 ± 1,3	7,8 ± 1,0	no signif.
[SB] mEq/l	7,3 ± 0,5	5,4 ± 0,4	p<0,01
Producción Br	12,2 ± 0,8	6,0 ± 0,8	p<0,001
Producción Bv	5,9 ± 0,7	7,6 ± 1,1	p<0,01
Producción SB	0,50 ± 0,03	0,49 ± 0,04	no signif.

la BSP se elimina por orina, según lo indicado por otros autores (155) y que nosotros mismos hemos comprobado.

Considerables diferencias en la cuantía de la excreción biliar de compuestos exógenos han sido puestos de manifiesto por Smith (195a), quien sugiere asimismo que las excreciones biliar y urinaria juegan papeles complementarios (195b) y afirma que el conejo se encuentra entre los animales que relativamente utilizan menos que otros mamíferos la vía biliar (195c).

Hasta el momento hemos comentado los niveles de excreción de BSP para las dosis de 0,05, 0,1 y 0,5 mg/kg/min.. Para los dos primeros (fig. 9) los niveles plasmáticos de BSP permanecen inalterados; con la dosis de 0,5 mg/kg/min., los niveles plasmáticos empiezan a aumentar claramente, por lo que creemos que se ha alcanzado el Tm. Dosis superiores (1 y 1,5 mg/kg/min.) ocasionan marcadísimas elevaciones de la BSP plasmática (fig. 9), sin que se incremente la excreción biliar, (tablas V, VI y VII) que queda fijada a niveles del orden de 280 μ g/kg/min.. La recuperación, que a dosis de 0,5 mg/kg/min. sigue siendo del 50 %, cae netamente para la dosis inmediatamente superior, lo que refuerza la idea de que justamente a 0,5 mg/kg/min. se ha llegado al Tm. A pesar de que estos valores de Tm son inferiores a los de otros autores para la misma especie (120, 137, 175), hecho que no estamos en condiciones de explicar y que podría deberse, según observaciones preliminares realizadas por nosotros, a diferencias entre razas, que se han observado en otras especies (123), nuestros datos son suficientemente concluyentes, y en consecuencia los restantes experimentos se han realizado con infusión de BSP a la dosis de 0,7 mg/kg/min.. Hay que hacer constar en este punto que, a

lo largo de cada experimento (figs. 5, 6 y 7) el T_m de la BSP cae ligeramente, hecho que ha sido estudiado en profundidad por Dhumeaux y col. (52) sin que se haya llegado a conclusiones definitivas sobre sus causas.

Globalmente, para todas las dosis ensayadas, la infusión de BSP no tuvo repercusión alguna sobre la excreción de sales biliares endógenas (tablas III, IV, V, VI y VII, figs. 3,4,5, 6,7,y tabla II, fig. 2). Por lo que se refiere a los pigmentos biliares, la BSP, a partir de la dosis de 0,1 mg/kg/min. (tabla IV, fig. 4), atenúa la caída en concentración y producción, y para dosis mayores (tablas V, VI, VII, figs. 5, 6, 7) se aprecia incluso un ligero incremento al comienzo de la infusión. Este hecho, en principio inesperado puesto que algunos autores hablan de mecanismos de transporte compartidos entre la BSP y pigmentos biliares (39, 100, 146), podría explicarse sobre la base de la formación de micelas, lo que está en la misma línea del modelo propuesto anteriormente. No es de extrañar que esta situación no afecte a las sales biliares, ya que, de acuerdo con Ware y col. (207) la interacción micelar entre BSP y glicodesoxicolato, sal biliar predominante en el conejo (73, 101, 108) es mínima.

En cuanto a los electrolitos, Rutishauser y Stone (175) encuentran aumentos claros en las concentraciones de sodio y potasio, sin cambios en los de cloruro, cuando infunden BSP a dosis altas (2-2,5 mg/kg/min.); en nuestros ensayos, para dosis bajas no aparece ningún efecto, pero a las dosis de 1 y 1,5 mg/kg/min. se observan aumentos en la concentración de sodio y más aún en la de potasio, que no pueden explicarse por la caída de flujo.

5.3.- Sobre el efecto de las sales biliares en la secreción biliar en condiciones de transporte - máximo de BSP.

5.3.1.- En conejos anestesiados con etil-uretano.

En estas condiciones experimentales, ninguna de las tres sales biliares ensayadas ocasiona cambios estadísticamente significativos en el T_m de la BSP (tablas VIII, IX, X, figs. 10, 11 y 12 y figs. 14 y 22). Esta situación contrasta marcadamente con lo descrito en la bibliografía para diversas especies: perro (169), rata (77), oveja (94) y hámster (20), en las cuales tanto las sales biliares formadoras de micelas como las no formadoras incrementan significativamente el T_m de la BSP. En nuestros ensayos, en cambio, aparecen diferencias en el comportamiento de las sales biliares, de acuerdo con su capacidad micelar; así el dehidrocolato (tabla VIII, fig. 10), que carece de dicha capacidad, no solo no aumenta el T_m de BSP, sino que aparentemente lo reduce (figs. 14 y 22), pero esta caída es análoga a la observada en los experimentos control (fig. 22); podemos decir por tanto que el dehidrocolato carece de efecto.

El taurocolato, con una cierta capacidad micelar, evita la caída del T_m (figs. 14 y 22), luego, en términos absolutos, manifiesta un efecto positivo.

El glicodesoxicolato, cuya gran capacidad micelar es conocida, produce un aumento del T_m ya en términos relativos (fig. 14) que es más clara en términos absolutos (fig. 22).

Todos estos hechos hablan a favor de un efecto positivo de la formación de micelas sobre el transporte máximo de la BSP, cuando se infunden sales biliares. Este punto, que en principio contradice a la bibliografía existente, será discutido ampliamente con posterioridad.

En nuestros ensayos, las tres sales biliares manifiestan el esperado efecto colerético, mayor para glicodesoxicolato (tabla X) y dehidrocolato (tabla VIII) y menor para taurocolato (tabla IX), confirmando plenamente las observaciones bibliográficas (64, 87, 175). En la misma línea, los cambios en las concentraciones de sales biliares reproducen los datos de González (87).

Desde el punto de vista de la excreción de pigmentos, hay que resaltar que también se hace patente la influencia de la capacidad micelar de las distintas sales biliares (fig. 22), de forma que la caída en la concentración de pigmentos observada en los experimentos control, sigue presente cuando se infunde dehidrocolato (tabla VIII y fig. 10), se palia con el taurocolato (tabla IX y fig. 11) y desaparece totalmente en el caso del glicodesoxicolato (tabla X y fig. 12).

5.3.2.- En conejos anestesiados con pentobarbital sódico.

Los resultados discutidos en los dos apartados anteriores discrepan de los bibliográficos en dos puntos fundamentales: en primer lugar la cuantía del T_m de la BSP es inferior a -

los datos bibliográficos en el conejo, y en segundo lugar el efecto de las sales biliares sobre dicho T_m muestra diferencias cuantitativas con lo descrito en otras especies. Ante la posibilidad de que el anestésico empleado sea causa de estas discrepancias, y puesto que la mayoría de los trabajos han sido realizados bajo anestesia con barbitúricos, hemos programado ensayos idénticos a los discutidos en el apartado 5.3.1., anestesiando los animales con pentobarbital sódico.

Lo primero que salta a la vista (tablas VIII, IX, X, y figs. 10, 11, 12 y 13) (tablas XI, XII, XIII, y figs. 15, 16, 17 y 18) es que el T_m de la BSP es similar en ambos bloques de ensayos ($261,4 \pm 14,9 \mu\text{g/kg/min.}$, $n=12$, con etil-uretano frente a $288,3 \pm 13,0 \mu\text{g/kg/min.}$, $n=13$, con pentobarbital) sin que existan diferencias significativas; por lo tanto las divergencias con la bibliografía no se deben al anestésico, y volvemos a sugerir las influencias raciales como probable explicación.

En cuanto al efecto de las sales biliares (tablas XI, XII, XIII, y figs. 15, 16 y 17) nuestros resultados en este apartado confirman globalmente los bibliográficos, en el sentido de que las tres sales biliares aumentan el T_m de la BSP, si bien en nuestros ensayos los incrementos son ligeros y no significativos (figs. 19 y 22); no hay en este caso, correlación aparente con la capacidad micelar, como ocurría en los animales anestesiados con uretano, aunque la influencia de la actividad micelar no queda excluida, al menos para el glicodesoxicolato. Por otra parte, la acción de las distintas sales biliares sobre la excreción endógena de pigmentos parece estar, de nuevo, relacionada con su capacidad para formar micelas (tablas XI, XII, XIII y figs. 15, 16 y

17), aunque en este caso, la influencia de los fenómenos micelares sobre la citada excreción es, aparentemente, más débil que - en los experimentos en los que se usa etil-uretano como anestésico (fig. 22).

Puesto que ambos grupos de ensayos son idénticos salvo por lo que se refiere al anestésico debemos postular un efecto del uretano, no solo por que aleja nuestros resultados de los bibliográficos, sino también porque, al reducir la fracción de la secreción biliar independiente de las sales biliares, podría hacer más patentes los fenómenos micelares.

5.4.- Sobre la influencia de las sales biliares en el
Transporte máximo (Tm) de bilirrubina.

Es generalmente admitida la similitud entre los mecanismos de excreción de BSP y bilirrubina. La bibliografía consultada para diversas especies indica que las sales biliares incrementan el Tm para ambos aniones (92, 155, 169). En nuestro Departamento González (87) ha comprobado el efecto positivo de de hidocolato, taurocolato y glicodesoxicolato sobre el Tm de la bilirrubina en conejos, de la misma raza que los empleados por nosotros, anestesiados con pentobarbital sódico. En vista de ello, y para facilitar la discusión general de nuestros resultados, hemos llevado a cabo un último grupo de ensayos en él que se investiga el efecto de las mismas sales biliares sobre el Tm de bilirrubina en conejos anestesiados con etil-uretano.

El Tm de bilirrubina en estas condiciones (tablas XIV, XV, XVI, y figs. 23, 24, 25 y 26) es similar al obtenido por González (87) aunque ligeramente inferior.

La infusión de las tres sales biliares (tablas XIV, XV, XVI, y figs. 23, 24 y 25) provoca incrementos significativos del Tm de la bilirrubina (fig. 27), como ocurre en el estudio de González (87). Por otra parte, la recuperación en la producción de las sales biliares, como consecuencia de la infusión de las mismas, es superior en nuestros animales anestesiados con uretano que en los de González, para las dos sales biliares formadoras de micelas, es decir, glicodesoxicolato (tabla XVI y fig. 25) y taurocolato (tabla XV y fig. 24). Finalmente, los incrementos del Tm obtenidos por nosotros muestran, con respecto a los señalados por

González (87), diferencias que hablan a favor de la teoría micelar, siendo idénticos para el dehidrocolato, pero superiores para glicodesoxicolato y taurocolato, ambos capaces de formar micelas. Esto es coherente con la mejor recuperación de estas dos sales biliares.

5.5.- Discusión general.

Nuestros resultados han sido, hasta el momento, discutidos, de forma específica, punto por punto. El conjunto de los mismos, y su comparación con los obtenidos recientemente por González en nuestro Departamento, permiten, sin embargo, hacer algunas consideraciones de orden general, que vamos a concretar en tres apartados que consideramos de especial interés dado que en el momento actual son objeto de amplia controversia: 1) influencias del tipo de anestésico en la secreción biliar de reposo; 2) variaciones de la intervención micelar en la excreción de aniones orgánicos en función del anestésico; y 3) mecanismos de excreción de BSP y de bilirrubina, todo ello en el conejo de raza castellana y en las condiciones experimentales utilizadas en nuestro Departamento.

5.5.1.- Sobre la influencia del tipo de anestésico en la secreción biliar de reposo.

Es un hecho evidente que el etil-uretano, cuando se compara con el pentobarbital, reduce significativamente el flujo de bilis (Cuadro II). Esta reducción debe atribuirse, al menos en gran parte, a un descenso en la fracción de la secreción biliar independiente de las sales biliares, descenso que hemos demostrado en nuestros ensayos (fig. 29). Ello es, muy probablemente, consecuencia de la inhibición por el uretano del metabolismo oxidativo, inhibición que, a través de las ATPasas Na^+ dependientes, afectaría de forma negativa a la fracción canalicular independiente de las sales biliares. Dado que, al mismo tiempo, la producción

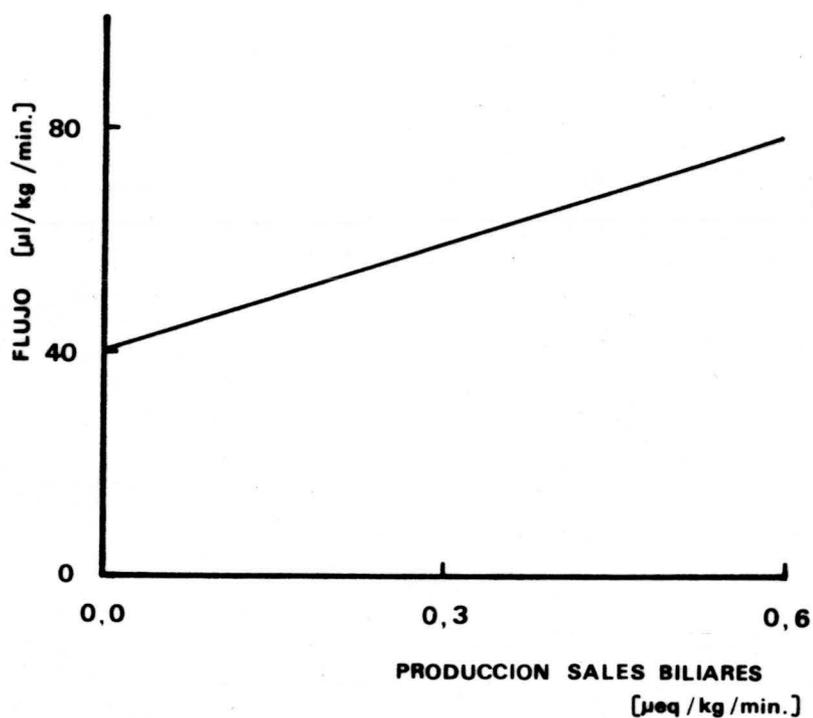


Fig. 29.- Determinación de la F I S B en conejo anestesiado con etil-uretano.

$$y = 63,7 \times x + 40,0$$

$$\bar{y} = 74,9$$

$$r = 0,5854 ; \quad g1 = 80$$

$$p < 0,001$$

$$F I S B = 40,0 \mu\text{l/kg/min.} (53\%)$$

(FISB en conejo anestesiado con barbitúricos, datos bibliográficos, cita 63- : 60 %)

de sales biliares se mantiene, la concentración de éstas en bilis se ve aumentada, siempre en comparación a lo que ocurre con anestesia de barbitúricos (Cuadro II).

El uretano ocasiona incrementos muy marcados en la excreción biliar de bilirrubina sin grandes cambios en la de biliverdina, de modo que la excreción total de pigmentos está netamente aumentada. De otra parte el uretano produce una notable hiperglucemia, comprobada por nosotros (fig. 21) y probablemente debida a su acción inhibidora sobre el metabolismo oxidativo; el exceso de glucosa en sangre, con su inmediata repercusión intrahepática, podría estimular la síntesis de UDP-glucurónico y en consecuencia facilitar la conjugación y excreción de bilirrubina.

5.5.2.- Sobre las variaciones de la intervención micelar en la excreción de aniones orgánicos en función del anestésico.

En los animales anestesiados con uretano, la participación de los fenómenos micelares se hace más patente, como lo demuestran los resultados ya discutidos sobre influencia de distintas sales biliares en el T_m de BSP y de bilirrubina, así como en la excreción endógena de esta última (fig. 22). Por otra parte, como hemos indicado el uretano deprime la fracción de flujo canalicular independiente de las sales biliares, lo que indica que su efecto tóxico se ejerce de preferencia a nivel de los hepatocitos centrilobulares. Ello aumentaría la importancia relativa de los hepatocitos periportales, en los que la secreción biliar es, de preferencia, dependiente del transporte de sales biliares. El simple hecho de que la concentración de sales biliares esté umenta

da explica, por sí solo, la mayor excreción de bilirrubina endógena al infundir sales biliares formadoras de micelas (fig. 22).= Ahora bien, en condiciones de T_m tanto de BSP como de bilirrubina, es decir, cuando se fuerza al hígado a trabajar al límite de sus posibilidades fisiológicas, debería ser aplicable la hipótesis formulada por González (87) de reclutamiento de hepatocitos quiescentes, que explica el enmascaramiento de los fenómenos micelares en estas condiciones. Este enmascaramiento no se produce con tanta intensidad en animales anestesiados con uretano porque son precisamente los hepatocitos centrilobulares los susceptibles de reclutamiento, y éstos están inhibidos por la acción del anestésico.

5.5.3.- Sobre los mecanismos de excreción de BSP y bilirrubina.

En la bibliografía consultada se admiten dos modelos teóricos para el transporte y excreción de BSP y bilirrubina: el primero en ser elaborado habla de un único mecanismo de transporte compartido por ambos aniones (37, 197); el segundo, postulado con posterioridad por Clarenburg y Kao (39) admite dos vías separadas aunque la correspondiente a la bilirrubina sería compartida por la BSP en determinadas circunstancias.

De nuestros datos experimentales, y fijando la atención en el efecto claro de las sales biliares sobre el T_m de la bilirrubina y en el ligero efecto sobre el T_m de BSP, se puede llegar a pensar que las dos vías de excreción son totalmente independientes, en nuestras condiciones de trabajo y sea cual sea el

anestésico utilizado; ello sería coherente con la similitud entre los valores de T_m de los dos aniones, es decir, con la falta de excreción preferencial de BSP en bilis. Ahora bien, existe un punto en él que las sales biliares pueden actuar sobre ambos, y sería a nivel de la formación de micelas en el canaliculo biliar, - posteriormente a la excreción; en este momento sí aparecen diferencias debidas al anestésico, puesto que, como hemos indicado, - los fenómenos micelares son más patentes en el caso del uretano.

--ooOoo--

6.- CONCLUSIONES.

CONCLUSION 1ª.- La excreción total de pigmentos biliares (bilirrubina + biliverdina), en condiciones de reposo, es mayor en conejos anestesiados con etil-uretano que en los anestesiados con pentobarbital sódico. El aumento se debe por completo a la bilirrubina; en los animales anestesiados con uretano este pigmento es el predominante, como es habitual en mamíferos, mientras que en los conejos anestesiados con pentobarbital la biliverdina se encuentra en bilis a concentraciones mayores que la bilirrubina.

CONCLUSION 2ª.- En nuestras condiciones experimentales, la excreción de pigmentos biliares es independiente del flujo de bilis y de la secreción de sales biliares y electrolitos inorgánicos; así la mayor excreción de pigmentos debida a la anestesia con uretano va acompañada de un menor flujo de bilis, sin cambios en la producción de sales biliares ni electrolitos; lógicamente no existe influencia de la interrupción de la circulación enterohepática en la excreción de pigmentos; tampoco se aprecia en este caso ningún efecto del anestésico.

CONCLUSION 3.- La caída en la excreción de pigmentos a lo largo del tiempo, con la circulación enterohepática mantenida o interrumpida, se observa por igual en conejos anestesiados con etil-uretano y con pentobarbital sódico; los altos valores iniciales no se deben a hemolisis asociada con el trauma quirúrgico.

CONCLUSION 4ª.- El transporte máximo de la bilirrubina es similar, independientemente del anestésico empleado; dicho=

transporte aumenta por infusión de sales biliares, especialmente de aquellos que tienen mayor capacidad micelar.

CONCLUSION 5ª.- En el conejo la BSP a dosis bajas - posee efectos coleréticos análogos a los descritos para la rata; en nuestras condiciones experimentales no se observan efectos coleréticos a dosis altas, a diferencia de lo que ocurre en la rata, lo que podría deberse a la alta capacidad que tiene el conejo para eliminar la BSP por la orina, capacidad que ha sido comprobada por nosotros.

CONCLUSION 6ª.- El transporte máximo de la BSP, determinado por la elevación de sus niveles plasmáticos, la constancia de sus niveles en bilis y el descenso de su porcentaje de recuperación, es prácticamente igual para los dos anestésicos, y los valores son muy inferiores a los descritos en la bibliografía para esta especie.

CONCLUSION 7ª.- A las dosis ensayadas por nosotros - la infusión de BSP no afecta a la excreción de sales biliares; a las dosis más altas, la BSP induce un aumento en las concentraciones de Na^+ y K^+ en bilis; finalmente la BSP facilita la excreción de pigmentos biliares, lo que a dosis bajas se manifiesta por una menor caída de la misma, y a dosis altas se observa de forma neta. Este hecho es inesperado pues toda la información existente para otras especies habla de efectos competitivos entre BSP y pigmentos biliares, que se deberían a una vía de excreción común y saturable. Nuestros resultados solo se pueden explicar sobre la base de dos vías de excreción independientes, lo que refuerza-

una hipótesis propuesta recientemente.

CONCLUSION 8ª.- El aumento que las sales biliares - ensayadas producen en el transporte máximo de la BSP no es significativo ni en conejos anestesiados con uretano ni con pentobarbital a diferencia de lo descrito en otras especies; el efecto es - más claro para las sales biliares formadoras de micelas, especialmente en los animales anestesiados con etil-uretano.

CONCLUSION GENERAL.- La anestesia con etil-uretano,= al deprimir selectivamente la fracción de la secreción biliar independiente de las sales biliares, que radica mayoritariamente en los hepatocitos centrilobulares, hace más patente la influencia - de los procesos micelares en la excreción, tanto de pigmentos como de BSP, y evita el enmascaramiento de la misma por los fenómenos de reclutamiento de hepatocitos centrilobulares quiescentes.

--oo0oo--



7.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Accatino, L., Simon, F. R. (1976). Identification and characterization of a bile acid receptor in isolated liver - surface membranes. *J. Clin. Invest.* 57:496.
- 2.- Alpert, S., Moshar, M., Shanske, A., Arias, I.M. (1969). -- Multiplicity of hepatic excretory mechanisms for organic - anions. *J. Gen. Physiol.* 53: 238
- 3.- Altman, Ph. L. (1961). "Blood and other Body fluids". pag.- 409. Ed. D. S. Dittmer.
- 4.- Arias, I.M., Johnson, L., Wolfson, S. (1961). Biliary excretion of injected conjugated and unconjugated bilirubin by normal and Gunn rat. *Am. J. Physiol.* 200: 1091.
- 5.- Arias, I.M. (1972). Transfer of bilirubin from blood to bile. *Sem. Hematol.* 9: 55.
- 6.- Arias, I.M., Fleischner, G., Kirsch, R., Mishkin, S., Gatmaitan, Z. (1976). On the structure, regulation and function of ligandin. In "Glutathione: Metabolism and Function". pag. 175. Ed. I.M. Arias, V. Jacoby New York: Raven.
- 7.- Arias, I.M., Fleischner, G., Listowsky, I., Kamisaka, K., -- Mishkin, S., Gatmaitan, Z. (1976). On the structure and function of ligandin an Z protein. In "the Hepatobiliary System". pag. 88. Ed. W. Taylor. New York: Plenum.
- 8.- Bailey, D. G., Johnson, G. E. (1975). Multiple hepatic excretory mechanisms for organic anions. A study with succinyl sulfathiazole and taurocholate in rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 53: 97.
- 9.- Barnhart, J. L., Clarenburg, R. (1973). Factors determining clearance of bilirubin in perfused rat liver. *Am. J. Physiol.* 225: 497.
- 10.- Barnhart, J. L., Ritt, D., Ware, A., Combes, B. (1973). A comparison of the effects of taurocholate and teophylline on bromosulphthalein excretion in dogs. In the Liver. - Quantitative Aspect of Structure and Function. pag. 315 - Ed. G. Paumgartner and R. Preisig. Basel, Karger.
- 11.- Barnhart, J. L., Combes, B. (1976). Biliary excretion of dye in dogs infused with sulfobromophthalein (BSP) or its glutathione conjugate (BSP-GSH). *Am. J. Physiol.* 231: 399.

- 12.- Barnhart, J.L, Combes, B. (1978). Erythritol and mannitol - clearances with taurocholate and secretin-induced cholereses, *Am. J. Physiol* 234: E 146.
- 13.- Bartos, J. (1959). Sur l'analyse colorimetrique des 3 ceto - steroïdes a l'aide du 2,6 ditert butil p-cresol. *Ann. -- Pharm. Fr.* 17: 141.
- 14.- Berk, P.D., Bloomer, J.R., Howe, R.B. (1970). Constitutional hepatic dysfunction (Gilbert's syndrome). A new defini- - tion based on kinetic studies with unconjugated radiobili- rubin. *Am. J. Med.* 49: 296.
- 15.- Berk, R.N., Goldberger, L.E., Loeb, P.M. (1974). The role - of bile salts in the hepatic excretion of iopanoic acid. - *Invest. Radiol.* 9: 7
- 16.- Bernstein, L.H., Ben Ezzer, J., Gartner, L., Arias, I.M. - (1966). Hepatic intracellular distribution of tritiumlabe - led unconjugated and conjugated bilirubin in normal and - Gunn rats. *J. Clin. Invest.* 45: 1194.
- 17.- Berthelot, P., Billings, B. (1966). Effet of bunamiodyl on - hepatic uptake of sulfobromophthalein in the rat. *Am. J. = Physiol.* 211: 395.
- 18.- Berthelot, P., Erlinger, S., Dhumeaux, D., Freaux, A.M. (1970) Mechanism of phenobarbital induced hypercholeresis in rat. *Am. J. Physiol.* 219: 809.
- 19.- Billings, B.H., Maggiore, Q., Cartter, M.A. (1963). Hepatic= transport of bilirubin. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 111: 319.
- 20.- Binet, S., Delage, Y., Erlinger, S. (1979). Influence of - taurocholate, taurochenodeoxycholate and taurodehydrochola - te and taurodehydrocholate on bromosulphthalein transport - into bile. *Am. J. Physiol.* 5: E. 10.
- 21.- Bissell, D.M. (1975). Formation and elimination of biliru- - bin. *Gastroenterology.* 69: 519.
- 22.- Bizard, G., Robelet, A., Bizard-Gregoire, N. (1962). Action= des barbituriques sur la secretion biliaire. *Rev. Intern. Hepatol.* 12: 587.
- 23.- Bloomer, J.R., Boyer, J.L., Klatskin, G. (1973). Inhibition of bilirubin excretion in man during dehydrocholate chole- resis. *Gastroenterology.* 65: 929.

- 24.- Bloxam, D.L. (1967). Effect of various anaesthetics on metabolism and general condition of isolated perfused rat liver. *Biochem. Pharmacol.* 16: 283.
- 25.- Bloxam, D.L. (1967). Effects of halotane, trichloroethylene, pentobarbitone and thiopentone on amino acid transport in perfused rat liver. *Biochem. Pharmacol.* 16: 1848.
- 26.- Boyer, J.L., Klatskin, G. (1970). Canalicular bile flow and bile secretory pressure: evidence for a non bile salt dependent fraction in the isolated perfused rat liver. *Gastroenterology.* 59: 853.
- 27.- Boyer, J.L., Scheig, R.L., Klatskin, G. (1970). The effect of sodium taurocholate on the hepatic metabolism of sulfobromophthalein sodium (BSP). The role of bile flow. *J. Clin. Invest.* 49: 206.
- 28.- Boyer, J.L. (1971). Canalicular bile formation in the isolated perfused rat liver. *Am. J. Physiol.* 221: 1156.
- 29.- Boyer, J.L., Bloomer, J.R. (1974). Canalicular bile secretion in man. Studies utilizing the biliary clearance of C manitol. *J. Clin. Invest.* 54: 773.
- 30.- Boyer, J.L., Reno, D. (1975). Properties of Na^+ - K^+ activated ATPase in rat liver plasma membrane enriched with bile canaliculi. *Biochim. Biophys. Acta.* 401: 59.
- 31.- Boyer, J.L., Schwarz, J., Smith, N. (1976). Biliary secretion in salamanders. I. Bile collection and composition. *Am. J. Physiol.* 230: 970.
- 32.- Brauer, R.W. (1959). Mechanisms of bile secretion. *JAMA.* 169: 1462.
- 33.- Brown, W.R., Grodsky, G.M., Carbone, J.V. (1964). Intracellular distribution of tritiated bilirubin during hepatic uptake and excretion. *Am. J. Physiol.* 207: 1237.
- 34.- Bruss, M.L., Cornelius, C.C. (1980). Effect of exogenous bilirubin on biliary excretion of biliverdin and bilirubin in rabbits. *Fed. Proc.* 39: 283.
- 35.- Bursaux, C.D., Bursaux, E. (1969). Choleric action of bile salt on rabbit. Effect of ouabain. *J. Physiol. Par.* 61: 155.
- 36.- Butter, H.S., Coldwell, B.B., Thones, B.H. (1973). The

- effect of salicylate on the biliary excretion of ^{14}C bis-hydroxy coumarin in rat. *Br. J. Pharmac.* 48: 278.
- 37.- Cantarow, A., Wirts, C.W., Snape, W.J., Miller, L.L. (1948). Excretion of bilirubin and bromsulphalein in bile. *Am. J. - Physiol.* 154: 211.
- 38.- Carey, M.C., Small, D.M. (1972). Micelle formation by bile-salts. Physical-chemical and thermodynamic considerations. *Arch. Intern. Med.* 130: 508.
- 39.- Clarenburg, R., Kao, Ch.Ch. (1973). Shared and separate pathways for biliary excretion of bilirubin and BSP in rats. - *Am. J. Physiol.* 225: 192.
- 40.- Colleran, E., O'Carra, P. (1977). In "Chemistry and Physiology of Bile Pigments". p. 69. Ed. P. D. Berk. and N.I. - Berlin. Bethesda, National Institutes of Health.
- 41.- Combes, B. (1965). The importance of conjugation with glutathione for sulfobromophthalein sodium (BSP) transfer from blood to bile. *J. Clin. Invest.* 44: 1214.
- 42.- Conney, A.H. (1967). Pharmacological implications of microsomal enzyme induction. *Pharmacol. Rev.* 19: 317.
- 43.- Cooper, B., Eakins, M.N., Slater, T.F. (1976). The effect of various anaesthetic techniques on the flow rate, constituents and enzymic composition of rat bile. *Biochem. Pharmacol.* 25: 1711.
- 44.- Cornelius, C.E., Ben Ezrar, J., Arias, I.M. (1967). Binding of bromosulphalein and other organic anions by isolated hepatic cell plasma membranes in vitro. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 124: 665.
- 45.- Cornelius, C.E., Gronwall, R.R. (1968). Congenital photosensitivity and hyperbilirubinemia in Southdown sheep in the United States. *Am. J. Vet. Res.* 29: 291.
- 46.- Chenderovit, J. (1971). Transport d'eau et d'électrolytes dans le choledoque de lapin in vivo. *Rev. Euro. Etud. Clin. et Biol.* 16: 591.
- 47.- Debray, C., Dela Tour, J., Vaille, C., Roze, C., Souchard, M. (1961). Etudes sur la secretion pancréatico-biliaire du rat. *Presse Méd.* 69: 2601.
- 48.- Delage, Y., Erlinger, S., Duval, M., Benhamou, J.P. (1975). Influence of dehydrocholate and taurocholate on bromosulph

- talein uptake, storage and excretion in the dog. *Gut.* -
16: 105.
- 49.- Delage, Y., Dumont, M., Erlinger, S. (1976). Effect of gly-
codihydrofusidate on bromosulphthalein transport maximum in
hamster. *Am. J. Physiol.* 231: 1875.
- 50.- Delás, R., Roux, G., Ecalle, R. (1958). Influence de l'anes-
thésie sur la cholérèse expérimentale. *C.R. Soc. Biol.* -
151: 1429.
- 51.- De Leon, A., Gartner, L.M., Arias, I.A. (1967). The effect-
of phenobarbital on hyperbilirubinemia in glucuronyl trans-
ferase deficient rats. *J. Lab. Clin. Med.* 70: 273.
- 52.- Dhumeaux, D.P., Berthelot, P., Preaux, A. (1970). A criti-
cal study of the concept of maximal biliary transport of -
bromosulphthalein in the Wistar rat. *Rev. Eur. Etud. Clin.*
Biol. 15: 279.
- 53.- Dhumeaux, D.P., Erlinger, S., Benhamou, J.P., Fauvert, R. -
(1975). Effects of rose bengal on bile secretion in the -
rabbit. Inhibition of a bile salt independent fraction. -
Gut. 11: 134.
- 54.- Dhumeaux, D. Transport hépatobiliaire des colorants choléphi-
les. Dans "Physiologie Humaine". pag. 128. Ed. Ph. Meyer-
Paris.(1977).
- 55.- Diamond, J.M., Bossert, W.H. (1968). Functional consequen-
ces of ultrastructural geometry in "backwards" fluid -
transporting epithelia. *J. Cell. Biol.* 37: 691.
- 56.- Dragstedt, C.A., Mills, M.A. (1936). Bilirubinemia and brom-
sulphthalein retention. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* -
34: 467.
- 57.- Edwards, K.D.L., Javitt, N.B., Wheeler, H.O., Bradley, S.E. -
(1968). Excretion of bromsulphthalein and depletion of hepa-
tic glutathione in the rat. *Aust. Ann. Med.* 17: 118.
- 58.- Einarsson, K., Johansson, G. (1968). Effect of phenobarbi-
tal on the conversion of cholesterol to taurocholic acid.=
European J. Biochem. 6: 293.
- 59.- Elias, H., Petty, D. (1953). Terminal distribution of the -
hepatic artery. *Anat. Rec.* 116: 9.
- 60.- Engelkin, L.R., Gronwall, R., Anwer, M.S. (1980). Effect of
dehydrocholic, chenodeoxycholic and taurocholic acids on -

- the secretion of bilirubin. *Am. J. Vet. Res.* 41: 355. -
- 61.- Erlinger, S., Dhumeaux, D., Benhamou, J.P. (1969). La secretion biliaire du lapin. Preuves en faveur d'une importante fraction independente des sals biliars. *Rev. Fr. Et. - Clin. Biol.* 14: 144.
- 62.- Erlinger, S., Dumont, M., Beuhamon, J.P. (1969). Effects de l'ouabaïne sur la sécrétion biliaire du lapin. *Rev. Franç. Etudes. Clin. et Biol.* 14: 1007.
- 63.- Erlinger, S., Dhumeaux, D., Berthelot, P., Dumont, M. (1970). Effect of inhibitors of sodium transport on bile formation in the rabbit. *Am. J. Physiol.* 219: 416.
- 64.- Erlinger, S., Dumont, M., Berthelot, P., Dhumeaux, D. (1971). Comparison of the choleric effects of dehydrocholate and glycodeoxycholate in the rabbit. *Digestion.* 4: 144.
- 65.- Erlinger, S., Dumont, M. (1973). Influence of theophylline on bile formation in the dog. *Biomedicine.* 19: 27.
- 66.- Erlinger, S., Dumont, M. (1973). Influence of canalicular - bile flow on bromosulphthalein transport maximum en bile. - in the dog. In "The Liver. Quantitative Aspects of Structure and Function. pag. 306. Ed. G.Paumgartner and R. Prei sig. Basel, Karger.
- 67.- Erlinger, S. (1977). Mécanismes de la sécrétion biliaire. - Dans "Physiologie Humaine", pag. 113. Ph Meyer. Paris. -
- 68.- Erlinger, S. (1977). Métabolisme des acides biliars. Dans "Physiologie Humaine" pag. 119. Ed. Ph. Meyer. Paris
- 69.- Esteller, A. (1974). La secreción biliar en el conejo. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- 70.- Esteller, A., Lisbona, F., Martinez de Victoria, E., Murillo, A. (1977). Algunos aspectos de la secrecion biliar en - cuatro especies de primates (*P. mandrillus*, *P. papio*, *M. - mulata*, *E. patas*). *Rev. Esp. Fisiol.* 33: 31.
- 71.- Esteller, A., Lopez, M.A., Murillo, A. (1977). The effect of secretin and cholecystokinin-pancreozymin on the secretion of bile in the anesthetized rabbit. *Quart. J. Exp. Physiol.* 62: 353.
- 72.- Esteller, A., Jimenez, R., Lopez, M.A. (1981). Biliary response to food in rabbits: role of the gall bladder and the enterohepatic circulation of bile salts. *Quart. J. Exp. -*

Physiol. En prensa.

- 73.- Esteller, A., Jimenez, R., Lopez, M.A. (1981). Biliary secretion in conscious rabbits: role of the enterohepatic - circulation of bile salts and of the gall bladder. Quart. J. Exp. Physiol. En prensa.
- 74.- Feld, G.K., Loeb, P.M., Berk, R.N., Wheeler, H.O. (1975). - The choleric effect of iodipamide. J. Clin. Invest. 55: 528.
- 75.- Fischer, E., Varga, F. (1979). Hepatic storage and biliary= excretion of rose bengal in the rat. Acta Physiol. Acad.= Sci. Hung. 54: 89.
- 76.- Forker, E.L. (1967). Two sites of bile formation as determi= ned by mannitol and erythritol clearance in the guinea pig. J. Clin. Invest. 46: 1189.
- 77.- Forker, E.L., Gibson, G. (1973). Interaction between bromo= sulphthalein and taurocholate. In "The Liver. Quantitative= Aspects of Structure and Function". pag. 326. Ed. G. Paum= gartner and R. Preisig. Basel, Karger.
- 78.- Forker, E.L., (1976). Canalicular anion transport-the effect of bile acids and bile acid independent choleric s. In "Chemistry and Physiology of Bile Pigments. Fogar= ty Int. Cent. Proc. , No. 35". Ed. P.D. Berk, N.T. Ber= lin, Wash. D.C.: U.S. Gov. Print. Office.
- 79.- Forker, E.L. (1977). Mechanisms of hepatic bile formation.= Ann. Rev. Physiol. 39: 323.
- 80.- Fujimoto, J.M., Eich, W.F., Nichols, H.R. (1965). Enhanced= sulfobromophthalein disappearance in mice pretreated with= various drugs. Biochem. Pharmacol. 14: 515.
- 81.- Garay, E.R., Noir, B., Royer, M. (1965). Biliverdin pig= ments in green biles. Biochem. Biophys. Acta. 100: 411.
- 82.- Gartner, L.M., Arias, I.M. (1969). The transfer of bilir= bin from blood to bile in the neonatal guinea pig. Pediat. Res. 3: 171.
- 83.- Gibson, G.E., Forker, E.L. (1974). Canalicular bile flow - and bromosulphthalein transport maximum. The effect of a - bile salt independent choleric, SC2644. Gastroenterolog= y. 66: 1046.

- 84.- Glasinovic, J.C., Dumont, M., Duval, M., Erlinger, S. (1975). Hepatocellular uptake of taurocholate in the dog. *J. Clin. Invest.* 55: 419.
- 85.- Glasinovic, J.C., Dumont, M., Erlinger, S. (1974). Hepatocellular uptake of bile acids: Further evidence for a carrier-mediated transport system. *Digestion.* 10: 323.
- 86.- Glasinovic, J.C., Dumont, M., Duval, M., Erlinger, S. (1975). Hepatic uptake of taurocholate (TC) and sulfobromophthalein (BSP): Evidence for a common transport system. *Digestion.* 13: 176.
- 87.- González, J. (1981). Excreción hepática de pigmentos biliares en el conejo: interacción con las sales biliares. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- 88.- Goodenough, D.A., Revel, J.P. (1970). A fine structural analysis of intercellular junctions in the mouse liver. *J. Cell. Biol.* 45: 272.
- 89.- Goresky, C.A. (1964). Initial distribution and rate of uptake of sulfobromophthalein in the liver. *Am. J. Physiol.* 207: 13.
- 90.- Goresky, C.A., Bach, G.G., Nadeau, B.E. (1973). On the uptake of materials by the intact liver. Concentrative transport of rubidium-86. *J. Clin. Invest.* 52: 975.
- 91.- Goresky, C.A., Bach, G.G., Nadeau, B.E. (1973). On the uptake of materials by the intact liver. The transport and net removal of galactose. *J. Clin. Invest.* 52: 991.
- 92.- Goresky, C.A., Haddad, H.H., Kluger, W.S. (1974). The enhancement of maximal bilirubin excretion with taurocholate induced increments in bile flow. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 52: 389.
- 93.- Graf, J., Peterlik, M. (1976). Ouabain mediated sodium uptake and bile formation by isolated perfused rat liver. *Am. J. Physiol.* 230:876.
- 94.- Gronwall, R., Cornelius, C.E. (1970). Maximal biliary excretion of sulfobromophthalein sodium in sheep. *Am. J. Dig. Dis.* 15: 37.
- 95.- Gronwall, R., Engelking, L.R., Anwer, M.S., Erichsen, D.F., Klentz, R.D. (1975). Bile secretion in ponies with biliary

- ry fistulas. Am. J. Vet. Res. 36: 653.
- 96.- Groszman, R.J., Kotelanski, B., Kendler, J., Zimmerman, H.J. (1969). Effect of sulfobromophthalein and indocyanine green on bile excretion. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 132: 712.
- 97.- Gumuccio, J.J., Valdivieso, V.S. (1971). Studies on the mechanism of ethinylestradiol impairment of bile flow and bile salt excretion in the rat. Gastroenterology. 61: 339.
- 98.- Habig, W.H., Pabst, M.J., Fleischner, G., Gatmaitan, Z., Arias, I.M., Jakoby, W.B. (1974). Identity of glutathione-S-transferase-B with ligandin, a major binding protein of liver. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 71: 3879.
- 99.- Hammaker, L., Schmid, R. (1967). Interference with bile pigment uptake in the liver by flavaspidic acid. Gastroenterology 53: 31.
- 100.- Hargreaves, T. (1966). Bilirubin, bromsulphthalein and indocyanine green excretion in bile. Quart. J. Exptl. Physiol. 51: 184.
- 101.- Haslewood, G.A.D. (1968). Evolution and bile salts. In "Handbook of Physiology". Section 6. Volume V. pag. 2387 American Physiological Society. Washington.
- 102.- Himes, J.A., Cornelius, C.E. (1974). Biliverdin and bilirubin excretion in the turkey. Cornell. Vet. 65: 374.
- 103.- Horak, W., Grabner, G., Paumgartner, G. (1973). Inhibition of bile salt independent bile formation by indocyanine green. Gastroenterology. 64: 1005.
- 104.- Hunton, D.B., Bollman, J.L., Hoffman, H.N. (1961). Plasma removal of ICG and BSP. Effect of dosage and blocking agents. J. Clin. Invest. 40: 1648.
- 105.- Irwin, J.L., Johnston, C.G., Kopala, J. (1944). A photometric method for the determination of cholates in bile and blood. J. Biol. Chem. 153: 439.
- 106.- Javitt, N.B., Wheeler, H.O., Baker, K.J., Ramos, O.L., Bradley, E. (1960). The intrahepatic conjugation of sulfobromophthalein and glutathione in the dog. J. Clin. Invest. 39: 1570.
- 107.- Javitt, B. (1976). Hepatic bile formation. New. Eng. J. Med. 295: 1464.

- 108.- Jimenez, R. (1979). Secreción biliar en conejos no anestesiados. Influencia de la circulación enterohepática y respuesta a la comida. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- 109.- Jones, R.S., Grossman, M.I. (1970). Choleretic effects of -cholecystokinin, gastrin II, and cerulein in the dog. *Am. J. Physiol.* 219: 1014.
- 110.- Jones, R.S., Meyers, W.C. (1979). Regulation of hepatic biliary secretion. *Ann. Rev. Physiol.* 41: 67.
- 111.- Juste, C., Corring, T., Breant, P. (1979). Excretion biliarre chez le porc: niveau et réponse au repas. *Ann. Biol. Ani. Bioch. Biophys.* 19: 79.
- 112.- Kaminsky, D.L., Brown, B.H., Deshpande, Y.G. (1980). Effect of glucagon on bile cyclic AMP secretion. *Am. J. Physiol.* 238: G 119.
- 113.- Kamisaka, K., Gatmaitan, Z., Moore, C.L., Arias, I.M. (1975). Ligandin reverses bilirubin inhibition of liver respiration in vitro. *Pediat. Res.* 9: 903.
- 114.- Kappas, A., Song, C.S. (1968). Enzyme induction in the liver. *Gastroenterology.* 55: 731.
- 115.- Ketterer, S.G., Wiegand, B.D., Rapoport, E. (1960). Hepatic uptake and biliary excretion de indocyanine green and its use in estimation of hepatic blood flow in dog. *Am. J. Physiol.* 199: 481.
- 116.- Khedis, A., Dumont, M., Duval, M., Erlinger, S. (1974). Influence of glucagon on canalicular bile production in the dog. *Biomedicine.* 21: 176.
- 117.- King, J.F., Schoenfield, J.L. (1971). Cholestasis induced - by taurocholate in isolated hamster liver. *J. Clin. Invest.* 50: 2305.
- 118.- Kirchmayer, S., Tarnawski, A., Drodz, H., Cichecka, K. (1972). Effect of cholecystokinin-pancreozymin and secretin on volume, composition and enzymatic activity of hepatic bile - in rabbits. *Gut.* 13: 709.
- 119.- Klaasen, C.D., Plaa, G.L. (1967). Species variation in metabolism, storage and excretion of bromosulphthalein. *Am. J. Physiol.* 213: 1322.
- 120.- Klaasen, C.D., (1968). Hepatic disposition of phenoldibrom

- phthalein disulfonate and sulfobromophthalein. *Am. J. Physiol.* 215: 971
- 121.- Klaassen C.D., Plaa, G.L. (1968). Studies on the mechanism of phenobarbital-enhanced sulfobromophthalein disappearance. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 161: 361.
- 122.- Klaassen, C.D. (1969). Biliary flow after microsomal enzyme induction. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 168: 218.
- 123.- Klaassen, C.D., Roberts, R.J., Plaa, G.L. (1969). Maximal biliary excretion of bilirubin and sulfobromophthalein during various rates of infusion in rats of different weights and strains. *Toxic. Appl. Pharmacol.* 15: 143.
- 124.- Klaassen, C.D., Plaa, G.L. (1969). Plasma disappearance and biliary excretion of indocyanine green in rats, rabbits and dogs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 15: 374.
- 125.- Klaassen, C.D., (1971). Does bile acid secretion determine canalicular bile production in rats? *Am. J. Physiol.* 220: 667.
- 126.- Klaassen, C.D. (1971). Gas-liquid chromatographic determination of bile acids in bile. *Clin. Chim. Acta.* 35: 225.
- 127.- Klaassen, C.D. (1972). Species differences in the choleric response to bile salts. *J. Physiol.* 224: 259.
- 128.- Klaassen, C.D. (1974). Bile flow and composition during bile acid depletion and administration. *Can. J. Pharmacol.* 52: 334.
- 129.- Kneapler, D., Boyer, J.L. (1972). Bile flow and its effect on hepatic excretion of sulfobromophthalein (BSP). *Clin. Res.* 20: 457.
- 130.- Laperche, Y., Lannay, A., Ondea, P., Doulin, A., Barand, J. (1972). Effects of phenobarbital and rose bengal on the ATPases of plasma membranes of rat and rabbit liver. *Gut.* 13: 920.
- 131.- Larsen, J.A., Krarup, N., Thomsen, O.O. (1979). Effect of glucagon, dibutyryl cyclic AMP and teophylline on bile production in the cat. *Acta. Physiol. Scand.* 106: 23.
- 132.- Larson, E.A., Evans, G.T., Watson, C.J. (1947). A study of the serum biliverdin concentration in various types of jaundice. *Lab. Clin. Med.* 32: 481.

- 133.- Layden, T.J., Boyer, J.L. (1976). The effect of thyroid hormone on bile salt independent bile flow and Na^+ - K^+ ATP-ase activity in liver plasma membranes enriched in bile canaliculi. *J. Clin. Invest.* 57: 1009.
- 134.- Leevy, C.M., Cherrick, G.R., Davidson, C.S. (1961). Observations on Norethandrolone induced abnormalities in plasma decay of BSP and indocyanine green. *J. Lab. Clin. Med.* 57: 918.
- 135.- Levi, A.J., Gatmaitan, Z., Arias, I.M. (1969). Two hepatic-cytoplasmic fractions Y and Z their possible role in the hepatic uptake of bilirubin, bromosuphthalein and other organic anions. *J. Clin. Invest.* 48: 2156.
- 136.- Levin, S.J., Johnston, C.G., Boyle, A.J. (1961). Spectrophotometric determination of several bile acids as conjugates. *Anal. Chem.* 33: 1407.
- 137.- Lewis, A.E. (1950). Investigation of hepatic function by clearance techniques. *Am. J. Physiol.* 163: 54.
- 138.- Lind, G.W., Gronwall, R.R., Cornelius, C.E. (1967). Bile pigments in the chicken. *Res. Vet. Sci.* 3: 280.
- 139.- Lisbona, F. (1977). Regulación de la secreción biliar en el pollo. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- 140.- Lisbona, F., Jimenez, R., Esteller, A., Lopez, M.A. (1981). Basal biliary secretion in conscious chicken and role of enterohepatic circulation. *Comp. Biochem. Physiol.* 69 A: 341
- 141.- Lupiani, M.J., Zamora, S., Esteller, A., Lopez, M.A. (1978). Effects of hypotermia on some aspects of biliary secretion in anaesthetized rabbits and rats. *Comp. Biochem. Physiol.* 64 A: 185.
- 142.- Macarol, V., Morris, T.Q., Beker, K.J., Bradley, S.E. (1970). Hidrocortisone choleresis in the dog. *J. Clin. Invest.* 49: 1714.
- 143.- Mackinnon, M., Kohler, M. (1980). The effect of overnight biliary drainage on the hepatic excretion of bromosulphthalein. *AJEBAK.* 58: 415.
- 144.- Mahu, J.L., Duvaldestin, P., Dhumeaux, D., Berthelot, P. (1977). Biliary transport of cholephilic dyes: evidence for two different pathways. *Am. J. Physiol.* 232: E 445.

- 145.- Malloy, H.T., Evelyn, K.A. (1937). The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J. Biol. Chem.* 119: 481.
- 146.- Mendeloff, A.I., Kramer, P., Ingelfinger, F.J., Bradley, S.E. (1949). Studies with bromsulfalein. II. Factors altering its disappearance from the blood after a single intravenous injection. *Gastroenterology.* 13: 222.
- 147.- Miller, A.T. (1947). Excretion of the blue dye T-1824 in the bile. *Am. J. Physiol.* 151: 229.
- 148.- Morris, T.Q. (1972). Choleretic responses to cyclic AMP and teophylline in the dog. *Gastroenterology.* 63: 187.
- 149.- Motta, P., Porter, K.R. (1974). Structure of rat liver sinusoids and associate tissue spaces as revealed by scanning electron microscopy. *Cell. Tissue. Res.* 148: 111.
- 150.- Murillo, A., Lopez, M.A. (1971). Contribución al control hormonal de la secreción pancreática en el conejo. *Rev. Esp. Fisiol.* 27: 131.
- 151.- Nelson, J.A., Staubus, A.E., Riegelman, S. (1975). Saturation kinetics of iopanoate in the dog. *Invest. Radiol.* 10: 371.
- 152.- Nilsson, S., Schersten, T. (1970). Influence of bile acids on the synthesis of biliary phospholipids in man. *Eur. J. Clin. Invest.* 1: 109.
- 153.- Nosslin, B., Morgan, E.H. (1965). The effect of phloroglucinol derivatives from male fern on dye excretion by the liver in the rabbit and rat. *J. Lab. Clin. Med.* 65: 891.
- 154.- Novikoff, A.B., Essner, E. (1960). The liver cell, some new approaches to its study. *Am. J. Med.* 29: 102.
- 155.- O'Maille, E.R.L., Richards, T.G., Short, A.H. (1966). Factors determining the maximal rate of organic anion secretion by the liver and further evidence on the hepatic site of action of the hormone secretin. *J. Physiol.* 186: 424.
- 156.- Ostrow, J.D., Jandl, J.H., Schmid, R. (1962). The formation of bilirubin from hemoglobin in vivo. *J. Clin. Invest.* 41: 1628.
- 157.- Ostrow, J.D., Branham, R.V. (1970). Photodescomposition of bilirubin and biliverdin in vitro. *Gastroenterology.* 58: 15.

- 158.- Paumgartner, G., Horak, W., Probst, P., Grabner, G. (1971). Effect of phenobarbital on bile flow and bile salt excretion in the rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 276: 98.
- 159.- Paumgartner, G., Reichen, J. (1975). Different pathways for hepatic uptake of taurocholate and indocyanine green. *Experientia.* 31: 306.
- 160.- Popper, H., Schaffner, F. (1957). "Liver Structure and Function". pag. 103. McGraw Hill, New York.
- 161.- Preisig, R., Cooper, H.L., Wheeler, H.O. (1962). The relationship between taurocholate secretion rate and bile production in the unanesthetized dog during cholinergic blockade and secretin administration. *J. Clin. Invest.* 41: 1152.
- 162.- Pugh, P.M., Stone, S.L. (1968). The effect of 2,4-DNP and related compounds on bile secretion. *J. Physiol.* 198: 39.
- 163.- Pugh, P.M., Stone, S.L. (1969). The ionic composition of bile. *J. Physiol.* 201: 50 P.
- 164.- Pugh, P.M., Rutishauser, S.C.B. (1978). Comparative effects of 2,4 DNP and sodium salicylate on bile secretion in the dog, cat, rabbit and guinea pig. *Gen. Pharmac.* 9: 119.
- 165.- Reichen, J., Paumgartner, G. (1975). Kinetics of taurocholate uptake by the perfused rat liver. *Gastroenterology.* 68: 132.
- 166.- Reichen, J., Paumgartner, G. (1976). Definition of $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase dependent bile formation in the rat. *Digestion.* 14: 486.
- 167.- Remmer, H., Merker, H.J. (1965). Effect of drugs on the formation of smooth endoplasmic reticulum and drug-metabolizing enzymes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 123: 79.
- 168.- Richards, T.G., Tindall, V.R., Young, A. (1959). A modification of the bromosulphthalein liver function test to predict the dye content of the liver and bile. *Clin. Sci.* 18: 449.
- 169.- Ritt, D.J., Combes, B. (1967). Enhancement of apparent excretory maximum of bromosulphthalein by taurocholate and dehydrocholate. *J. Clin. Invest.* 46: 1108.

- 170.- Roberts, R.J., Plaa, G.L. (1966). Effect of bile duct ligation, bile duct cannulation and hypotermia on alphanaphthylisothiocyanate-induced hyperbilirubinemia and cholestasis in rats. *Gastroent.* 50: 768.
- 171.- Roberts, R.J., Plaa, G.L. (1967). Effect of phenobarbital on the excretion of an exogenous bilirubin load. *Biochem. - Pharmacol.* 16: 827.
- 172.- Roberts, R.J., Klaassen, C.D., Plaa, G.L. (1967). Maximum biliary excretion of bilirubin and sulfobromophthalein during anesthesia-induced alteration of rectal temperature - *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 126: 313.
- 173.- Rouiller, C. (1956). Les canalicules biliares. Etude au microscope electronique. *Acta. Anat.* 26: 94.
- 174.- Rutishauser, S.C.B. (1980). An analysis of the choleric effect of infusions of sodium cholate in the guinea pig. - *Quart. J. Exp. Physiol.* 65: 37.
- 175.- Rutishauser, S.C.B., Stone, L. (1975). Aspects of bile secretion in the rabbit. *J. Physiol.* 245: 567.
- 176.- Rutishauser, S.C.B., Stone, L. (1975). Comparative effects of sodium taurodeoxycholate and sodium taurocholate on bile secretion in the rat, dog and rabbit. *J. Physiol.* 245: 583.
- 177.- Rutishauser, S.C.B., Stone, L. (1975). The effect of sodium salicylate on bile secretion in the dog. *J. Physiol.* 245: 549.
- 178.- Scratcherd, T. (1965). Electrolyte composition and control of biliary secretion in the cat and rabbit. In "The Biliary System". pag. 515. Ed. W. Taylor, Oxford: Blackwell.
- 179.- Schanker, L.S. (1977). "Physiologie Humaine". pag. 609. Ed. Ph. Meyer. Paris.
- 180.- Scharschmidt, B.F., Waggoner, J.G., Berk, P.D. (1975). Hepatic organic anions uptake in the rat. *J. Clin. Invest.* 56: 1280.
- 181.- Schawrtz, H.P., Herz, R., Sauter, K., Paumgartner, G. (1973). Taurocholate induced anticholeresis in rat. *Eur. J. Clin. Invest.* 3: 268.
- 182.- Schellhas, H., Hornef, W., Remmer, H. (1965). Beschleunigung

- der elimination von bromsulftmalein (BSP) durch phenobarbital. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 251: 111.
- 183.- Schiff, L., Billing, B.H. (1959). Congenital defects in bilirubin metabolism as seen in the adult. Gastroenterology. = 37: 595.
- 184.- Schiff, M. (1870). Bericht über einige Versuchsreihen I Gallenbildung abhängig der Aufsaugung der Gallenstoffe. - Pflügers. Arch. ges. Physiol. 3: 598.
- 185.- Schmid, R. (1972). Hyperbilirubinemia. In "The Metabolic Basis of Inherital Disease" Third edition. pag. 1141. Ed. = J.B. Stanbury, J.B. Wyngaarden, D.S. Fredrickson, Mc - Graw-Hill Book Co. New York.
- 186.- Schmid, M.D. (1978). Bilirubin metabolism: state of the art. Gastroenterology. 74: 1307.
- 187.- Schulze, P.J., Czok, G. (1975). Reduced bile flow in rats during sulfobromophthalein infusion. Toxicol. Appl. Pharmacol. 32: 213.
- 188.- Schwarz, L.R., Burr, R., Schwenk, M., Pfaff, E., Greim, H. - (1975). Uptake of taurocholic acid into isolated rat-liver cells. Eur. J. Biochem. 55: 617.
- 189.- Seligson, M., Marino, J., Dodson, E. (1957). The determination of sulfobromophthalein in serum. Clin. Chem. 3: 638.
- 190.- Shaw, H.M., Heath, T. (1972). The significance of hormones - bile salts, and feeding in the regulation of bile and other digestive secretion in the rat. Austr. J. Biol. Sci. - 25: 147.
- 191.- Shaw, H., Caple, I., Heath, T. (1972). Effect of ethacrynic acid on bile formation in sheep, dogs, rats, guinea pigs - and rabbits. J. Pharmacol. Exp. Ther. 182: 27.
- 192.- Shaw, H., Heath, T. (1974). Regulation of bile formation in rabbits and guinea pigs. Q. J. Expl. Physiol. 59: 93.
- 193.- Shaw, H., Heath, T. (1975). Bile salt and bile formation - in rats, rabbits and guinea pigs. Com. Biochem. Physiol. = 50 A: 615.
- 194.- Shefer, S., Nicolau, G., Mosbach, E.H. (1975). Isotope derivative assay of microsomal cholesterol 7 hydroxylase. J. = Lipid. Res. 16: 92.

- 195a.- Smith, R.L. (1973). "The Excretory Function of Bile". pag.= 17. Ed. Chapman and Hall. London.
- 195b.- Idem. pag. 72.
- 195c.- Idem. pag. 77.
- 195d.- Idem. pag. 163.
- 196.- Soloway, P.D., Hofman, A.F., Thomas, P.J., Schoendield, L.J., Klein, P.D. (1973). Triketocholanoic (dehydrocholic) acid. Hepatic metabolism and effect on biliary flow and biliary lipid secretion in man. J. Clin. Invest. 52: 715.
- 197.- Sperber, I. (1959). Secretion of organic anions in the formation of urine and bile. Pharmacol. Rev. 11: 109.
- 198.- Steiner, J.W., Carruthers, J.S. (1961). Studies on the fine tree. The morphology of normal bile canaliculi, bile preductules and bile ductules. Am. J. Pathol. 38: 639.
- 199.- Tenhunen, R. (1965). Studies on bilirubin and its metabolism. Annls. Med. Exp. Biol. Fenniae. 43: Suppl. 6,1.
- 200.- Theiler, K. (1963). Do bile ducts act solely as biliary channels?. Ger. Med. Mon. 8: 202.
- 201.- Thureborn, E. (1962). Human hepatic bile. Composition changes due to altered enterohepatic circulation. Acta. Chir. Scand. Suppl. 303: 1.
- 202.- Upson, D.W., Gronwall, R.R., Cornelius, C.E. (1970). Maximal hepatic excretion of bilirubin in sheep. Proc. Soc. Exp. Med. 134: 9.
- 203.- Verschure, J.C.M., Mynlieff, P.P. (1956). The dominating macromolecular complex of human gallbladder bile. Clin. Chim. Acta. 1: 154.
- 204.- Vogin, E.E., Scott, W., Boyd, J., Bear, W.T., Mattis, P.A. (1966). Effect of probenecid on indocyanine green clearance. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 152: 509.
- 205.- Vonk, R.J., Jekel, P., Meijer, D.F. (1975). Choleresis and hepatic transport mechanisms. II. Influence of bile salt choleresis and biliary micelle binding on biliary excretion of various organic anions. Naunyn Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol. 290: 375.
- 206.- Ware, A.J., Combes, B. (1973). Influence of diet on metabolism and excretion of bromosulphthalein sodium. Am. J. -

Physiol. 225: 1973.

- 207.- Ware, A.J., Carey, M.C., Combes, B. (1976). Solution properties of bromosulphthalein compound alone and in association with sodium taurocholate. J. Lab. Clin. Med. 87: 443.
- 208.- Weibel, E.R., Staubli, W., Gnagi, H.R., Hess, F.A. (1969). - Correlated morphometric and biochemical studies on the liver cell. I. Morphometric model, stereologic methods and normal morphometric data for rat liver. J. Cell. Biol. - 42: 68.
- 209.- Wheeler, H.O., Ramos, O.L. (1960). Determinants of the flow and composition of bile in the unanesthetized dog during constant infusions of sodium taurocholate. J. Clin. Invest. 39: 161.
- 210.- Wheeler, H.O., Meltzer, J.I., Bradley, S.E. (1960). Biliary transport and hepatic storage of sulfobromophthalein sodium in the unanesthetized dog, in normal man and in patients with hepatic disease. J. Clin. Invest. 39: 1131.
- 211.- Wheeler, H.O., Ross, E.D., Bradley, S.E. (1968). Canalicular bile production in dogs. Am. J. Physiol. 214: 866.
- 212.- Wheeler, H.O. (1968). Water and electrolytes in bile. "Handbook of physiology" Sec. 6, Vol. V, pag. 2409.
- 213.- Wheeler, H.O., King, K.K. (1972). Biliary excretion of lecithin and cholesterol in the dog. J. Clin. Invest. 51: - 1337.
- 214.- Whelan, G., Hoch, J., Combes, B. (1969). Biliary excretion of conjugated sulfobromophthalein sodium (BSP) in rats fed a protein-free diet. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 132: - 704.
- 215.- Whelan, G., Hoch, J., Combes, B. (1970). A direct assessment of the importance of conjugation for biliary transport of sulfobromophthalein sodium. J. Lab. Clin. Med. 75: 542.
- 216.- Whelan, G., Combes, B. (1971). Competition by unconjugated and conjugated sulfobromophthalein sodium (BSP) for transport into bile. Evidence for a single excretory system. - J. Lab. Clin. Med. 78: 230.
- 217.- Wirts, C.W., Cantarow, A., Snape, W.J., Debserone, B. (1951) Bile volume and excretion of pigment and bromosulphthalein in dogs receiving carbon tetrachloride. Am. J. Physiol. -

165: 680.

- 218.- Zaterka, S., Grossman, M.I. (1966). The effect of gastrin - and histamine on secretion of bile. Gastroenterology 50: 500.

--oo0oo--



Faint, illegible handwriting, possibly bleed-through from the reverse side of the page.

 Biblioteca Universitaria de Granada

01066801