

R.52.499

t 6/127

DEPARTAMENTO INTERFACULTATIVO DE
FISIOLOGIA ANIMAL

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
GRANADA
Nº Documento 613593857
Nº Copia 15618973

2

" LA SECRECION BILIAR EN LA RATA ANESTESIADA "

José Juan García Marín



UNIVERSIDAD DE GRANADA

1.982

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
— GRANADA —
Sala B
Fondo 139
Número 51

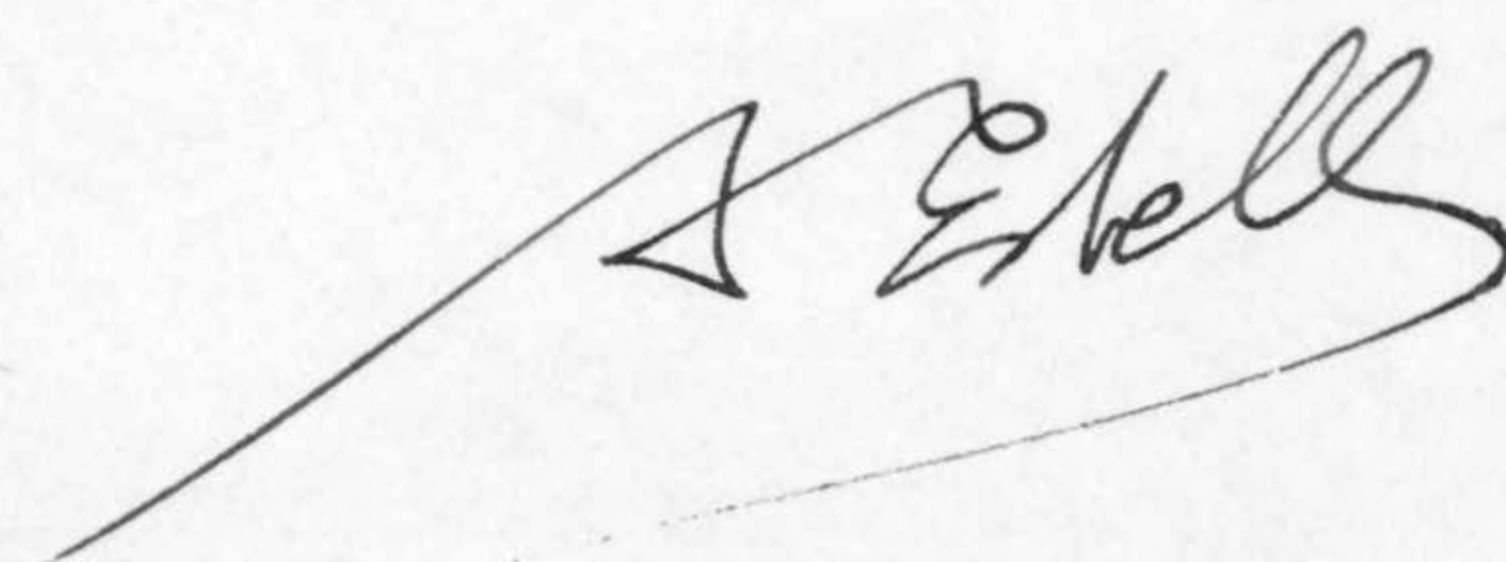
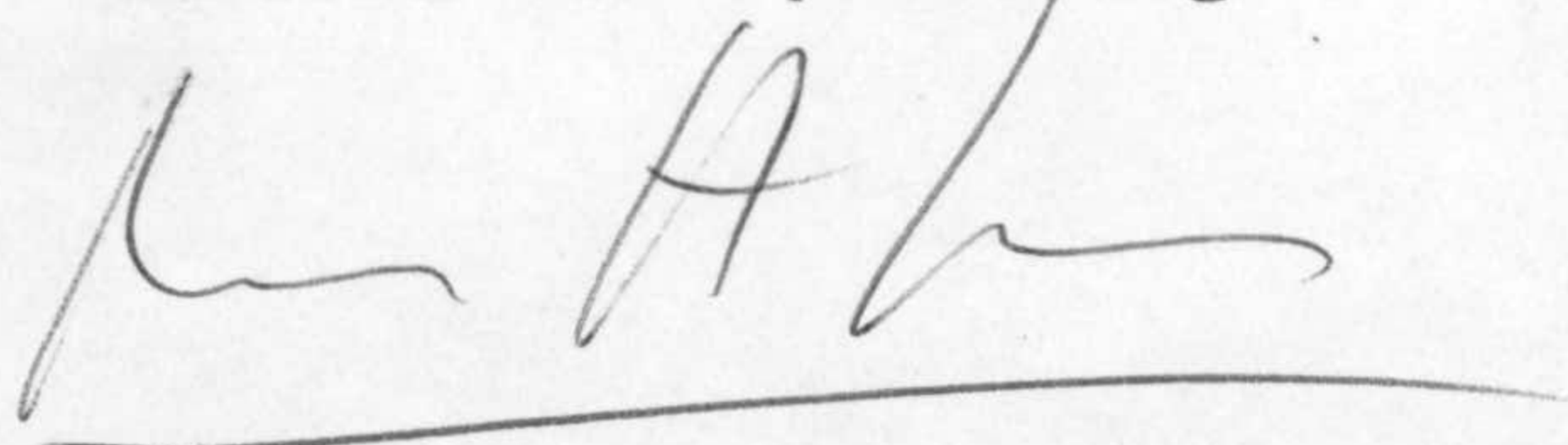
Parotremum

Memoria presentada para aspirar al
Grado de Doctor en Ciencias Bioló-
gicas por el Licenciado José Juan
García Marín.

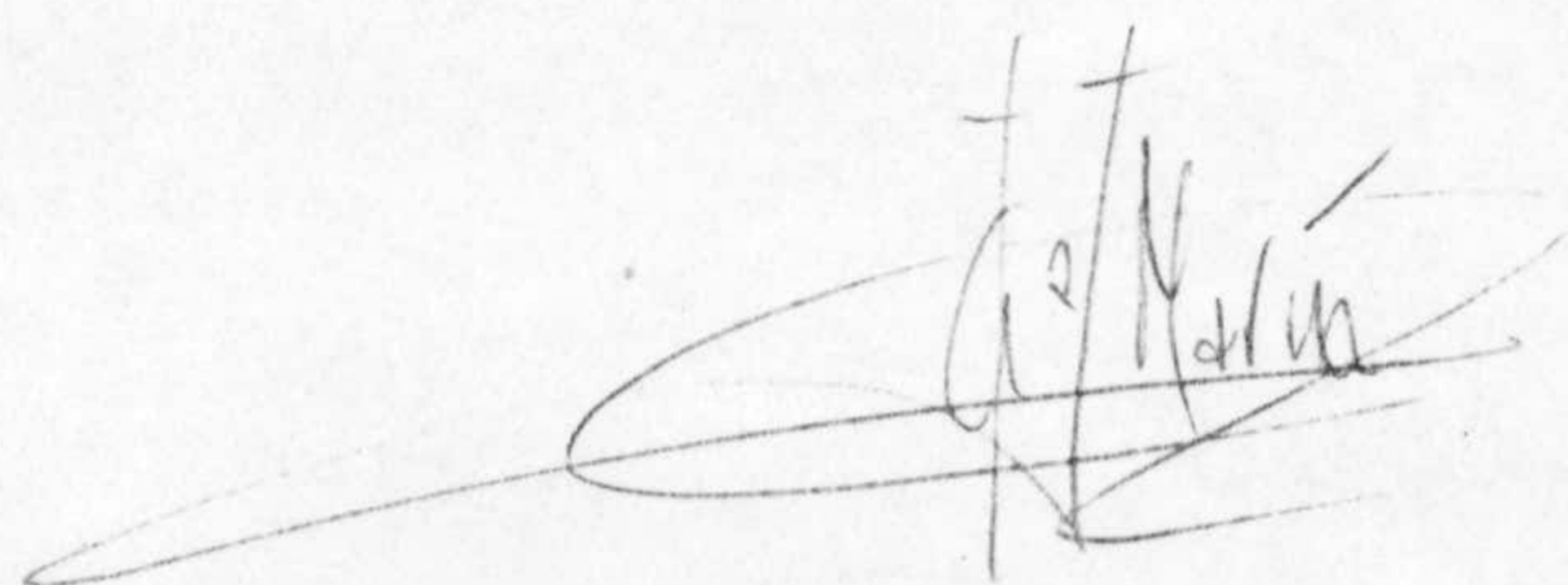
Esta tesis ha sido realizada bajo la dirección de los siguientes Profe-
sores Doctores :

Dña. Maria Abdonalópez Rodríguez

D. Alejandro Esteller Pérez

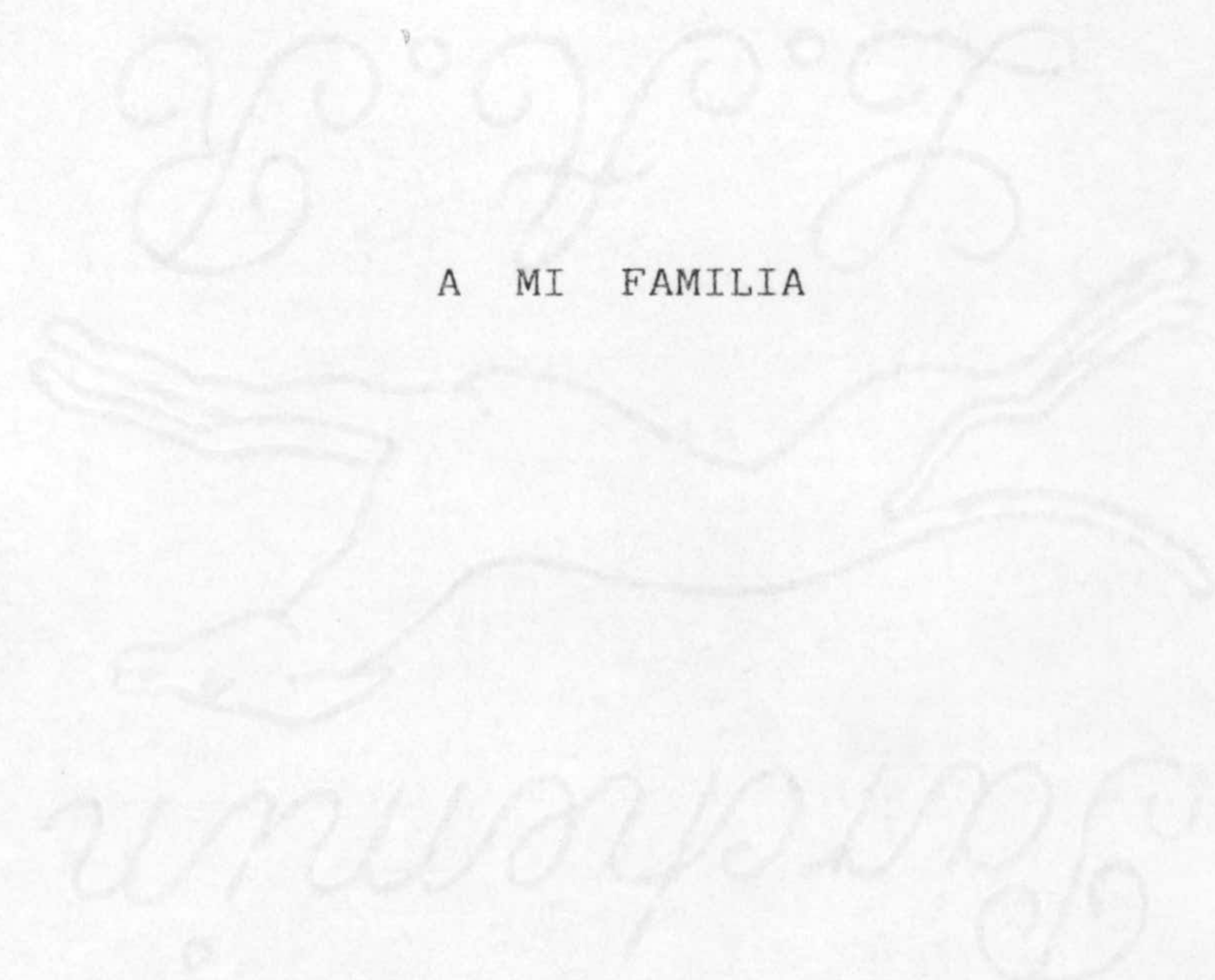


Licenciado José Juan García Marín
aspirante al grado de Doctor en
Ciencias Biológicas.



Granada , Noviembre de 1982

Pro. T 3-30 (1)



Al someter esta Tesis Doctoral a la consideración del tribunal, quisiera testimoniar mi agradecimiento :

A los Profesores Doctores Dñ. María A. López Rodríguez y D. Alejandro Esteller Pérez , por la rica formación profesional y humana que de ellos he recibido . Por su amistad y acertada dirección , factores ambos sin los que esta Tesis no hubiera sido llevada a cabo.

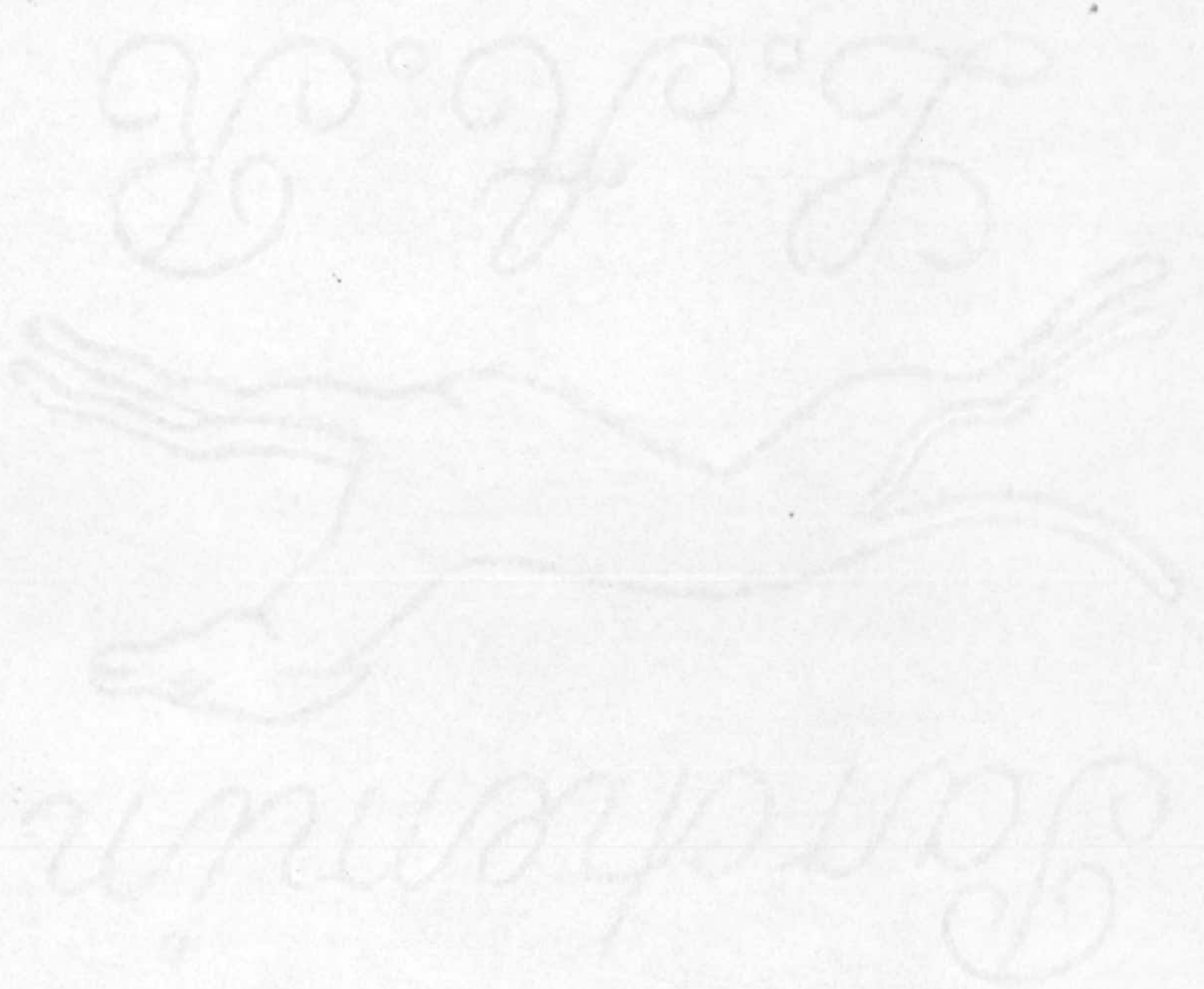
A M^a Angeles, Rafa , Fernando , M^a Eugenia y demás compañeros del Departamento de Fisiología Animal de Salamanca por su especial colaboración y estímulo constante. Así como a Loli , Pepa y todo el Departamento de Fisiología Vegetal y de Bioquímica de la Universidad de Salamanca.

Al Departamento Interfacultativo de Fisiología Animal de la Universidad de Granada en el que empecé este trabajo .



INDICE

	<u>Página</u>
1.- OBJETO	10
2.- INFORMACION BIBLIOGRAFICA	14
2.1.- Bases anatómicas: Relaciones Estructura - Fun- ción	15
2.2.- La bilis canalicular	20
2.3.- La bilis ductular y ductal	35
2.4.- Principales sistemas de excreción y sus inte- racciones	36
3.- MATERIALES Y METODOS	50
3.1.- Animales	51
3.2.- Procedimiento quirúrgico	51
3.3.- Desarrollo de los experimentos	52
3.4.- Sistema de infusión	53
3.5.- Infusiones	53
3.6.- Control postmortem	53
3.7.- Métodos análitos	54
3.8.- Tratamiento estadístico	55
3.9.- Diseño experimental	56
4.- RESULTADOS	59
5.- DISCUSION	103
5.1.- Del efecto de la interrupción de la circulación enterohepática	104
5.2.- Del efecto de las infusiones crecientes de tau- rocolato o dehidrocolato	110
5.3.- Del efecto de las infusiones de taurocolato o dehidrocolato a dosis constantes	115
5.4.- Del efecto de la infusión de bilirrubina	118
5.5.- Del efecto de la infusión de taurocolato o de- hidrocolato en condiciones de transporte máximo de bilirrubina	120
5.6.- Del efecto de la infusión de bilirrubina en - condiciones de secreción submáxima de sales bi- liares	124
6.- CONCLUSIONES	127
7.- BIBLIOGRAFIA	130



OBJETO

La bilis es un fluido biológico formado por agua y diversos electrolitos orgánicos (sales biliares , fosfolípidos , colesterol , bilirrubina y proteínas) , e inorgánicos (sodio , cloruro , potasio , bicarbonato y calcio) . La secreción de bilis se realiza en el hígado que desde este punto de vista se puede considerar como una glándula exocrina . La función de bilis es doble : digestiva , en la que las sales biliares y el bicarbonato juegan un papel importante y excretora , permitiendo al organismo liberarse de sustancias tóxicas o nocivas como la bilirrubina y el colesterol .

La formación de bilis es compleja incluyendo mecanismos sinusoidales de captación , intrahepatocitarios de conjugación , hidroxilación , almacenaje y transporte y canaliculares de secreción y excreción de los diversos componentes de la misma .

En los canaliculos , la especiales propiedades fisicoquímicas de las sales biliares , fosfolípidos y pigmentos , permiten la formación de micelas mixtas , proceso que altera profundamente las características osmóticas del fluido . En los ductulos y ductos se dan procesos de reabsorción y secreción de agua y electrolitos , lo que es especialmente importante en la vesícula biliar . En el ileón se reabsorbe un porcentaje muy elevado de las sales biliares , que vuelven al hígado via porta , lo que permite no solo el ahorro de estas importantes moléculas sino también un cierto grado de autorregulación de los procesos secretores intrahepáticos .

Los grupos de trabajo dedicados al estudio de la fisiología biliar lo han hecho tradicionalmente desde dos perspectivas separadas fijadas por las dos funciones fundamentales de la bilis . Así unos se dedican a la investigación de los fenómenos de excreción de pigmentos y otros a los relacionados con los procesos digestivos en los que las sales biliares son prioritarias . Esta dicotomía de enfoque ha llevado a la colección de un abundante bagage de información específica muy interesante pero que necesita para su engarce de la realización de estudios más amplios y generales que permitan la elaboración de modelos fisiológicos globales . Este planteamiento se ve reforzado por los datos recientes que sugieren que entre los mecanismos de secreción de pigmentos y de sales biliares existen profundas interdependencias , no solo a nivel de captación y excreción sino también de aquellos procesos de retroregulación basados en los fenómenos micelares .

Nuestro grupo de trabajo hace ya algunos años que comprendió la utilidad de estudiar la secreción biliar como un todo y buena prueba de ello es la culminación de varias Tesis Doctorales que han permitido profundizar en el conocimiento de dicho proceso . Esta Tesis sin embargo se planteaba diversas modificaciones de las cuales la más decisiva fue la elección del animal de experimentación , que en este caso ha sido , por primera vez la rata . La elección se decidió por las siguientes razones .

- 1ª La carencia de vesícula biliar en esta especie que elimina interferencias y facilita la interpretación de los resultados . Este problema se podría haber evitado también utilizando animales colecistectomizados o con el cístico ligado pero es evidente que ambas maniobras quirúrgicas plantean efectos secundarios aun no bien conocidos .
- 2ª La escasísima contribución ductal - ductular a la secreción biliar de esta especie (22) . Podemos hablar por tanto de bilis canalicular lo que facilita enormemente la realización de inferencias sobre los procesos hepatocitarios . Es pues una especie muy recomendable hasta que se pongan a punto los procesos de micropunción para la toma de muestras de bilis canalicular .
- 3ª La buena tolerancia a los niveles altos de pigmentos y sales biliares lo que nos ha permitido trabajar con dosis máximas o submáximas necesarias para que sean evidentes los fenómenos de competencia y compatibles con unas condiciones fisiológicas aceptables .
- 4ª El abundante material bibliográfico existente para este animal que nos ha permitido confrontar nuestros resultados con los datos aportados por otros autores .

El objetivo que nos fijamos al iniciar la presente Tesis Doctoral fue multiple .

- 1º Estudio de las modificaciones que sufren los procesos básicos de formación de bilis cuando se interrumpe la circulación enterohepática por drenaje de bilis al exterior .

- 2º Analisis del papel de los fenómenos micelares en la producción cuantitativa y cualitativa de bilis . Para ello hemos utilizado una sal formadora de micelas , el taurocolato que además es la mayoritaria en la rata y otra xenobiótica no formadora de micelas , el dehidrocolato .
- 3ª Estudio de las interferencias entre los mecanismos de secreción de sales , pigmentos y lípidos biliares .
- 4º Investigación de las correlaciones existentes entre la secreción de sodio y la de aniones orgánicos y análisis del papel co~~o~~leretico de cada uno de ellos .

Los resultados obtenidos han justificado la bondad de nuestro diseño experimental , pues si bien es verdad que quedan muchos puntos oscuros , creemos que no es menos cierto que se han encontrado hechos experimentales que no solo son primicias sino también que permiten comprender mejor la cadena de fenómenos que intervienen en la secreción biliar .

Parchemin



L. H. B.

Parthenon



L. H. B.

INFORMACION BIBLIOGRAFICA

2.1.- BASES ANATOMICAS ; RELACIONES ESTRUCTURA-FUNCION

2.1.1.- EL PARENQUIMA HEPATICO

El parénquima hepático está formado por un sistema de láminas cribiformes anastomosadas , en cuyo interior se ramifica el sistema de canales de recogida de la bilis , canalículos , conectados según una disposición tridimensional arborescente complicada . El parénquima está recorrido por una red de sinusoides formados por linfocitos , células de Kupffer y células endoteliales ricamente fenestradas , lo que unido a la carencia de membrana basal permite una comunicación directa entre el sinusoides y el hepatocito mediante el espacio denominado de Disse (83) (33) .

2.1.2.- EL HEPATOCITO

Las células del parénquima hepático , los hepatocitos , son los encargados de la formación de la bilis , son células voluminosas de 15 a 25 μm de diámetro , de forma poligonal . una o más caras están expuestas al espacio sinusoidal mientras que las otras se encuentran en contacto con hepatocitos vecinos , este contacto puede ser continuo o puede presentar una dilatación ovalada : el canalículo biliar. Se considera al hepatocito como una célula claramente polarizada, con tres zonas especializadas : sinusoidal , intercelular y canalicular (147) .

La membrana sinusoidal muestra microvellosidades irregulares (110) que se proyectan hacia el espacio de Disse , aumentando la superficie de intercambio y que representan un 37% de la superficie total del hepatocito (83) . En el polo sinusoidal se encuentran con frecuencia vacuolas de endo y exocitosis , reflejando el intenso tránsito de sustancias en esta zona

Gracias a diversos estudios histoquímicos se han puesto de manifiesto la existencia en la membrana sinusoidal de receptores para las sales biliares (1) y una actividad ATP-ásica considerada débil en un principio (33) , pero a la que hoy se atribuye gran importancia (18) (95) .

Los canaliculos biliares son pequeños conductos de aproximadamente 0,1 a 0,5 μm de diámetro (109) que están limitados por la membrana del hepatocito y que no presentan ni un epitelio ni una membrana basal propia (6)(141). Los canaliculos pueden estar limitados por uno (109) dos o raramente tres hepatocitos .

En esta zona se postuló la presencia de ATP-asas activas (23), hecho que ha sido hoy casi totalmente desechado (18)(47)(95).

Se observan dos diferenciaciones en la membrana de los hepatocitos que rodean a los canaliculos : vesiculas y lagunas alrededor de invaginaciones ; es tentador identificarlas con vacuolas del aparato de Golgi que drenan hacia la luz del canaliculo (109).

Las paredes de los canaliculos presentan microvellosidades de distribución no uniforme ; en los canaliculos de zonas próximas a la salida venosa (centrolobulares) se extienden por toda la membrana mientras que en los canaliculos próximos a las zonas de aferencia de sangre (periportales), donde son de mayor tamaño , las microvellosidades presentan una localización preferente sobre el borde marginal (145) con una función , probablemente , específica , ya que no desaparecen durante colestasis como ocurre con los demás (145). Por otra parte las microvellosidades de las ramas intracelulares de los canaliculos son menos abundantes y mas pequeñas que las de los canaliculos intercelulares (109). La membrana canalicular presenta , en la parte que da a la luz , una película de vellosidades de 200 a 300 Å de altura que se tiñen con rojo de rutenio y que probablemente se trata de una cubierta de mucopolisacáridos (128).

Las uniones intercelulares hacen que no exista comunicación directa entre el espacio de Disse y la luz del canaliculo . El lumen canalicular está sellado por los desmosomas , zonas adherentes y zonas ocludentes y separado del espacio intercelular por las últimas (6)(109), que junto a los desmosomas y las uniones adherentes determinan la resistencia y permeabilidad intercelular del tejido . Las uniones ocludentes se forman por una obliteración del espacio intercelular como resultado de la fusión de la capa externa de las membranas plasmáticas de las células adyacentes . La fusión no es contínua sino que se hace según una red de bandas de contacto ; la permeabilidad al agua es proporcional a la densidad

de estas redes (47). Ciertos argumentos permiten pensar en la existencia en las uniones cerradas de canales selectivos cargados negativamente que permiten la difusión de cationes (36) y evitan la de iones cargados negativamente (25).

El citoesqueleto : El canalículo está rodeado de una zona estrecha aparentemente libre de orgánulos , denominada ectoplasma pericanalicular. Se han identificado en esta zona filamentos de aproximadamente 7 nm de diámetro formados por una proteína similar a la actina (34)(68) (59), que se disponen según una intrincada red , insertandose tanto en la cara interna de la membrana celular como en los distintos orgánulos . Esta red es especialmente densa cerca del aparato de Golgi y del canalículo biliar (59) , extendiendose profusamente hacia el interior de las microvellosidades constituyendo su eje . Además de mantener el tono celular , los microfilamentos están implicados en la disposición espacial de los receptores y transportadores de membrana (111); su inhibición por citocalasina B a concentraciones inferiores a 10^{-5} M implica una inhibición del flujo biliar (123) , del transporte de sales biliares (127) y de la excreción de calcio EDTA (66). Tras la administración de citocalasina B el canalículo aparece distendido , lo que sugiere que los microfilamentos mantienen el tono de los canalículos (123). También se localizan microfilamentos en polo sinusoidal y en el interior del hepatocito distribuidos en el citoplasma de manera más homogénea .

Los microtúbulos de aproximadamente 24 nm de diámetro formados de unidades de tubulina , se han asociado con la secreción de proteínas desde el hepatocito al sinusoides (118) , con la secreción biliar de lípidos a través de la membrana canalicular (68) y con el transporte de sales biliares a través de la membrana canalicular (68)(115) y sinusoidal (115)(127).

El aparato de Golgi se ha relacionado con procesos secretores en muchos epitelios , sin embargo los datos concernientes a su localización en el hepatocito son conflictivos : mientras algunos autores indican su presencia cerca del canalículo (6) , otros defienden una distribución al azar (141) . No obstante las cisternas en la proximidad de las membranas canaliculares se han identificado con vesículas de exocitosis derivadas del aparato de Golgi (109).



2.1.3.- MICROCIRCULACION HEPATICA Y GRADIENTES TRANSLOBULARES

Tradicionalmente se ha considerado que la unidad funcional del hígado es el lobulillo hepático, delimitado periféricamente por espacios porta que contienen cada uno : uno o más ductos , una rama de la arteria hepática, una rama de la vena porta y un conducto linfático . La sangre irriga a los hepatocitos gracias a una compleja red de sinusoides y se drena por una rama de la vena suprahepática situada en el centro del lobulillo . Otra manera más moderna de considerar la organización funcional del hígado es la que acepta el concepto de acino hepático , centrado en el espacio porta y teniendo en su periferia a las vénulas suprahepáticas (125)(126). En los dos casos , el hecho importante es que al ser el flujo sanguíneo unidireccional , los hepatocitos adyacentes a los espacios porta son los primeros en recibir la sangre aferente . Son ellos , pues , los expuestos a las más altas concentraciones de las sustancias que llegan al hígado . A medida que las sustancias son captadas por los hepatocitos su concentración en el sinusoides disminuye, esto origina la creación de un gradiente de concentración translobular decreciente desde el espacio porta hacia las venas centrolobulillares . Tal gradiente ha sido claramente demostrado por autorradiografías para la D-galactosa y para un derivado de ácido biliar , la colil-glicil-histamina (64) (82) .

La administración de taurocolato a dosis fisiológicas provoca un aumento en el diámetro de los canalículos periportales con respecto al de los centrolobulillares (97) . Este hecho podría estar ligado al mayor volumen de bilis secretado en los canalículos periportales y sugiere que los hepatocitos periportales juegan un papel mayoritario en la producción de sales biliares . Sin embargo si se destruye selectivamente la población periportal , los hepatocitos centrolobulillares se hacen cargo de la secreción de sales biliares (70) . Se ha sugerido que en condiciones fisiológicas , los hepatocitos periportales podrían tener un papel mayor en la elaboración de fracción dependiente de las sales biliares (FDSB) mientras que los centrolobulillares podrían jugar prioritariamente una función de formación de la fracción independiente de las sales biliares (FISB) .

Si todo esto es así , se favorecerá el mantenimiento en la periferia del lóbulo (cerca de la zona de afluencia de sangre) de una concentración elevada de ácidos biliares , en el sinusoides , en el hepatocito y en

el canalículo biliar . Este hecho evita una eventual reabsorción de sales biliares a lo largo del canalículo y favorece la formación de una bilis concentrada (47) .

2.1.4.- EL ARBOL BILIAR INTRAHEPATICO

Está compuesto por los canalículos biliares que drenan la bilis desde la periferia del acino hepático hacia el tracto portal . Así , el flujo de bilis canalicular es opuesto al de sangre sinusoidal , lo que permite la existencia de mecanismos de contracorriente (43) .

Poco antes de alcanzar el tracto portal los canalículos drenan en los conductos de Herring (llamados también porción intermediaria , canales intermediarios o predúctulos), donde ya existe un recubrimiento de células epiteliales (141). Los predúctulos desembocan en los ductos y éstos en los ductos . El epitelio biliar de estos conductos es piramidal con interdigitaciones citoplasmáticas cerradas (141)(142) y presenta algunas características de epitelio secretor , tales como microvellosidades , vesículas de pinocitosis , grandes vacuolas y lagunas intracelulares (142). En el tracto portal , los ductos están fuertemente irrigados sobre todo por sangre arterial.

El árbol biliar se encuentra perfectamente adaptado para funcionar como un sistema de flujo determinado por gradiente osmótico (37). En primer lugar , en ningún punto del árbol existen condiciones favorables para la filtración hidrostática . Por otra parte , los canalículos son estructuras cerradas en su extremo de origen . Además la relación superficie/volumen es muy elevada ; los canalículos solo ocupan el 0,4% del volumen hepático total (21), mientras su superficie es de al menos de 70 cm²/gr de hígado (148), sin tener en cuenta el aumento de superficie debido a la formación de microvellosidades .

2.2.- LA BILIS CANALICULAR

2.2.1.- QUE ES LA BILIS

La bilis es fluido de densidad próxima a la unidad (87), con un pH generalmente alcalino , aunque varía entre 5,9 y 7,8 (148).

Está formada , en su mayor parte (90 a 95%) por agua , como vehí- culo en el coexisten una gran variedad de sustancias en suspensión , di- solución o en equilibrio entre ambos estados.

Son los hepatocitos las células encargada de la formación de la bi- lis , que después puede ser modificada a su paso por el árbol biliar o durante su almacenamiento en la vesícula biliar . Se distingue , así , entre bilis canalicular , bilis ductular-ductal y bilis vesicular.

Desempeña dos funciones en la fisiología del organismo , difíciles de separar y que estudiaremos conjuntamente : SECRECION y EXCRECION .

Paracetamin



L.H.B.

2.2.2.- LA FRACCION DEPENDIENTE DE LAS SALES BILIARES (FDSB)

Las sales biliares son uno de los principales constituyentes aniónicos de la bilis . Inducen una más o menos marcada coleresis de origen osmótico (139) .

La excreción de sales biliares conduce , usualmente , a la formación de una bilis isotónica con el plasma pero con una alta concentración de sales biliares , ésto se debe al comportamiento osmótico no ideal de las sales biliares , como resultado de su especial estructura molecular anfífila , por la que en medios acuosos tiende a formar agregados moleculares : micelas (26) .

La hipótesis de que las sales biliares inducen un flujo osmótico de agua fué propuesta por Sperber (139) apoyandose en sus observaciones de que la tasa de secreción de sales biliares y el flujo estaban linealmente relacionados (49)(55)(81)(76)(124) .

La relación incremento de flujo / incremento de producción de sales biliares , con dimensiones de ml / mmol , se ha tomado como una medida de la capacidad osmótica de las sales biliares , e indica la cantidad de agua ligada a la salida a canalículo de cada milimol de sal biliar. Para taurocolato esta relación oscila entre 6 y 12 ml / mmol , en diferentes especies (49)(100) .

Como regla general se acepta que las sales biliares conjugadas son menos coleréticas que sus análogos libres , con la única excepción del taurodeoxicolato que es casi igual de colerético que el deoxicolato . La explicación de la diferente capacidad colerética de las sales biliares se ha basado en su distinta potencialidad para formar micelas " in vitro " , explicación que ha sido puesta en duda recientemente (63) .

El concepto de una tasa de secreción de sales biliares conduce a una invariable tasa de flujo canalicular es , desde luego , una simplificación que puede ser válida solo en un rango restringido de producciones de sales biliares . Una relación más compleja entre la secreción de sales biliares y el flujo biliar ha sido descrita por otros autores (8) .

El que esta relación no sea aún bien comprendida , no es sorprendente , si se tiene en cuenta que las sales biliares parecen ser el mayor factor regulador de la permeabilidad de las zonas de unión intercelular (98), e incluso pueden influir en la formación de la llamada fracción independiente de las sales biliares .

La regulación de la secreción de las sales biliares se lleva a cabo a distintos niveles , aparentemente . Bajo la mayoría de las situaciones fisiológicas , la secreción de sales biliares depende de su " pool " total , gobernado a su vez por la reabsorción intestinal y por la síntesis endógena de las mismas .

La síntesis de sales biliares está regulada por el retorno de las sales biliares al hígado vía circulación enterohepática (15). Así después de la interrupción de la circulación enterohepática por drenaje biliar continuo sin reingreso de bilis , el flujo declina (54) hasta la síntesis endógena de sales biliares se incrementa , al desaparecer el " feed - back " negativo que mantienen las sales biliares al pasar a través del hepatocito (38) .

Parochemin



L. H. B.

2.2.3.- LA FRACCION INDEPENDIENTE DE LAS SALES BILIARES (FISB)

2.2.3.1.- PRUEBAS

Esta fracción del flujo canalicular ha suscitado numerosas controversias . Su existencia se postuló en base a la observación de que al representar la relación flujo - producción de sales biliares , la recta obtenida daba un corte positivo con el eje del flujo para una producción nula de sales biliares (48)(51)(58)(136).

La presencia de esta fracción la apoya el estudio con drogas que aumentan el flujo biliar sin aumentar la producción de sales biliares ; este es el caso de algunos barbitúricos (47), de la teofilina (11), del glucagon (107) y del anión SC-2644 (48)(58). Ninguno de estos agentes es excretado en bilis y no se les puede , pues , achacar un efecto osmótico directo . Por otra parte , no existe ningún argumento que sugiera que estas sustancias puedan modificar la capacidad osmótica de las sales biliares o la permeabilidad del sistema biliar al agua o a los electrolitos. La interpretación más admitida es pues , que estos coleréticos estimulan mecanismos secretores independientes de los ácidos biliares

2.2.3.2.- PAPEL DE LAS ATPasas , $Na^+ - K^+$

La hipótesis de que la fuerza rectora para la elaboración de la fracción independiente de las sales biliares es la actividad ATPásica , fue planteada por Erlinger (49), basandose en las observación de que di-versos inhibidores del transporte de sódio (la ouabaina , el ácido etacrínico y la amilorida) , administrados " in vivo " a conejos , inhibían selectivamente esta fracción (48)(52).

Sin embargo , en otras especies los inhibidores de la fracción independiente inducen , incluso , un efecto colerético , si bien es cierto, que en estas especies (perro y rata) la ouabaina y el ácido etacrínico se transportan a la bilis de forma acumulativa , por lo que es posi-ble que su efecto osmótico enmascare parcial o totalmente su efecto inhibidor .

Debido a la dificultad de interpretar los resultados obtenidos " in vivo ", se ha medido directamente la actividad ATPásica en membranas plasmáticas obtenidas a partir de homogenados de hígado . Estos experimentos realizados a partir de hígados de ratas tratadas con fenobarbital y hormonas tiroideas que aumentan al flujo biliar , y con clorpromacina y estrógenos (57) que lo disminuyen , parecen demostrar un paralelismo entre la actividad ATPásica, $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ y la variación de la fracción independiente de las sales biliares (16) (47) (96) . En el caso del tratamiento con estrógenos , se observó , también , una disminución en la fluidez de la membrana (47) .

Un problema más complejo es comprender como la actividad de la enzima de membrana puede estar ligada a la secreción biliar . Hoy día se proponen dos mecanismos de acoplamiento entre la actividad ATPásica y la fracción independiente de las sales biliares :

- 1º) Transporte activo de Na^+ desde el hepatocito hacia el espacio intercelular . La acumulación de Na^+ crearía un gradiente que tendería a desplazar al Na^+ , bien hacia el espacio sinusoidal , bien hacia el canalículo , en función de la resistencia que encuentre .

Si la permeabilidad de las uniones intercelulares al sodio no es nula , lo que es probable , una fracción del Na^+ bombeado al espacio intercelular , podría alcanzar el canalículo por esta vía paracelular . Esta fracción de sodio podría ejercer un efecto osmótico y contribuir a la formación del flujo biliar .

- 2º) El otro mecanismo propuesto postula la existencia de un transporte acoplado a la actividad ATPásica , para un anión Cl^- o CO_3H^- , que aprovechando el gradiente de Na^+ creado, alcanzase la luz canalicular donde ejercería su acción osmótica . Esto no es descabellado pues un transporte de Cl^- gracias a un gradiente de Na^+ ha sido puesto de manifiesto en distintos epitelios (47) .

2.2.3.3.- RELATIVIDAD DE LA INDEPENDENCIA FISB - FDSB

Existen pruebas experimentales que muestran una relación entre las sales biliares y la supuesta fracción independiente de las sales biliares. Así, la administración de estrógenos, además de disminuir selectivamente la fracción independiente de ácidos biliares, disminuye también la secreción de ácidos biliares (71).

La administración de taurocolato a monos modifica la fracción independiente de sales biliares de forma relacionada con la tasa de infusión (7) .

En el curso de la obstrucción biliar selectiva (de un solo conducto hepático) , se produce un aumento del flujo biliar por parte del lóbulo hepático no obstruido , aumentando de manera paralela la producción de sales biliares y la actividad ATPasica . Sin embargo el aumento de flujo biliar en estas situaciones está ligado principalmente a un aumento de la fracción independiente de sales biliares (47).

Teniendo en cuenta estos hechos , no es sorprendente que se admita que en parte , la fracción dependiente de las sales biliares y , ciertamente la fracción independiente de las sales biliares están ligadas a la actividad de la ATPasa, $\text{Na}^+ - \text{K}^+$.

Puesto que la entrada de ácidos biliares en el hepatocito está estrechamente asociada a la entrada de Na^+ , y puesto que las sales biliares activan a la ATPasa (134) , es igualmente aceptable a " priori " , que las sales biliares ejerzan parte de su acción colerética estimulando la bomba de sodio , lo que podría explicar , de confirmarse , por qué distintas sales biliares secretadas a la misma tasa producen distintos efectos coleréticos. (63).

2.2.4.- SUCESOS SINUSOIDALES

2.2.4.1.- LOCALIZACION DE LA ATPasa

La localización de la ATPasa , $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ sobre la membrana del hepatocito es de vital importancia para formular un modelo de secreción de agua y solutos . Pruebas histoquímicas han revelado que la actividad ATPásica de la membrana canalicular es escasa frente a la que se detecta en la membrana sinusoidal y preferentemente intercelular (18). Es decir en el 90% de la superficie del hepatocito . El hígado no es una excepción en este aspecto , puesto que esta localización basolateral es la que se ha encontrado como regla general en epitelios de secreción o de absorción (19)(47).

A la inversa , la fosfatasa alcalina se ha localizado selectivamente sobre la membrana canalicular (43). Su papel en los mecanismos secretores aún no es bien comprendido .

La adenilato ciclase activada por el glucagon parece tener una localización específica sinusoidal y lateral (56) .

2.2.4.2.- EL FENOMENO ELECTRICO

Las medidas realizadas con microelectrodos de registro intracelular han revelado la existencia de una diferencia de potencial entre el exterior y el interior de la membrana del hepatocito, diferencia que era de unos -50 mV en hígado de rata " in situ " (150) y aproximadamente de -33 mV en hígado de rata aislado y perfundido . Aún no se conoce la razón de esta diferencia que refleja unas condiciones de limitación metabólica en el hígado aislado .

Se ha observado en perro que este potencial de membrana se inhibe por ouabaina . El dinitrofenol (capaz de causar en 15 minutos una caída del 74% en los niveles de ATP intracelular) produce una caída en el potencial de membrana similar al obtenido inactivando la bomba electrogénica (150). La fenilhidantoina , que estimula la actividad

ATPásica , produce un ligero pero significativo aumento de -42 mV a -47 mV (150) , que se acompaña de un aumento en la concentración de K^+ intracelular .

Las altas concentraciones de potasio (más de 20 mM) en el medio de perfusión de hígado aislado de cobaya provocaban un descenso de 33 mV en el potencial , mientras que altas concentraciones de otros iones : Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{++} , Mg^{++} , OH^- y CO_3H^- , en el medio tenían poco efecto sobre el potencial de membrana (75) .

Estos valores de potencial se obtuvieron de registros puntuales (20 registros en 10 minutos) en los que se consideraba potencial de membrana el de aquellas células en las que tras ser penetradas, éste subía hasta estacionarse , al menos dos segundos .

Wondergem (152) ha estudiado en cultivo de hepatocitos en monocapa las evoluciones del potencial de membrana . Algunas células después de 48 horas en cultivo eran capaces de mantener un ritmo en potencial de membrana de 25 mV de amplitud y 7 minutos de periodo . Midiéndose un aumento de la resistencia eléctrica del exterior al interior de la célula , durante la hiperpolarización.

Cuando se añade al medio ClK (120 mM) , el potencial decrece y las oscilaciones desaparecen , lo que sugiere que durante las oscilaciones la conductancia , al menos para el K^+ , es variable . Resta saber si ocurre igual para otros iones como el Na^+ o el Cl^- (30) y qué papel juegan en los mecanismos de captación .

Esta capacidad de mantener dos estados alternos de potencial de membrana se ha detectado también en macrófagos y en oocitos (152) .

2.2.4.3.- CAPTACION HEPATICA

La entrada de sódio en el hepatocito a favor del gradiente electrogénico generado por la actividad ATPásica parece que está relacionada con el proceso de captación hepática de distintas sustancias .

De acuerdo con esta hipótesis , el uso de furosamida y bumetanida , inhibidores del transporte acoplado al Na^+ en muchos epitelios, bloquea la captación de taurocolato Na^+ - dependiente por hepatocitos aislados de rata (19).

Los aminoácidos cuya captación hepática es Na^+ - dependiente inhiben no competitivamente , a altas concentraciones , la captación de taurocolato , posiblemente por disipar el gradiente de sodio , reduciendo la energía para la captación de sales biliares (20).

Por otra parte existen datos recientes que sugieren que la actividad ATPásica , $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ puede ser regulada , al menos en parte , por la concentración de sales biliares . Los incrementos de flujo de sales biliares a través del hepatocito , como resultado de una infusión crónica de sales biliares o por una obstrucción biliar selectiva , en la que aumenta el flujo de sales biliares a través del lóbulo no obstruido , aumentan la actividad de la ATPasa en la superficie de la membrana hepatocitaria (146). Esta subida es bloqueada por cicloheximida o actinomicina - D , lo que sugiere que el aumento en la actividad ATPásica resulta de una estimulación en la síntesis de la proteína enzimática . No obstante , el estudio de fracciones membranosas de hepatocitos incubados con altas concentraciones de sales biliares indican una inhibición de la actividad ATPásica , aunque se piensa que esta inhibición no es específica sino más bien debida a daños en la membrana (19) .

Por último se sabe que los cambios en la composición lipídica y en la fluidez de la membrana canalicular pueden alterar la actividad ATPásica .

Por analogía con el mecanismo propuesto para las sales biliares , no es ilógico pensar que otros aniones entren en el hepatocito según un sistema de acoplamiento al ión Na^+ . La captación de estos iones implicaría la existencia de transportadores de membrana iguales o similares a los usados por las sales biliares .

En epitelios donde se han localizado sistemas de transporte ligados al sodio , aparece una relativa inespecificidad al anión captado . Así , en vesícula biliar de conejo , podía sustituirse el CO_3H^- por Cl^- . El requerimiento de Na^+ parece ser , sin embargo , específico (19) .

La subsecuente excreción canalicular de estos aniones podría proveer de un mecanismo adicional para la secreción de fluido de manera osmótica . La supresión del Cl^- o del CO_3H^- del medio de perfusión en hígado de rata aislado , provoca una reducción significativa en el flujo biliar total , por disminución de la fracción independiente de las sales biliares (74) .

No se ha demostrado que la captación de Cl^- y CO_3H^- sea Na^+ - dependiente . Incluso en cultivo de hepatocitos la captación de Cl^- resultó ser Na^+ - independiente (19) .

En bilis de rata se ha detectado (91) la existencia de una sustancia colerética con un peso molecular inferior a 1000 d de naturaleza aniónica pero distinta a la de los ácidos biliares 3 -hidroxilados . Estos datos son concordantes con los estudios de acoplamiento biliar anión - catión (86)(130) .

Muchos aminoácidos se captan de forma Na^+ - dependiente (20) y pueden ser excretados en bilis , pero no se han detectado para ellos efectos coleréticos importantes , ni que sean necesarios para la formación de la bilis , por lo que su contribución a la secreción biliar es incierta .

Sarcosin

2.2.5.- TRANSFORMACIONES , ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE INTRACELULAR

En estudios " in vitro " las sales biliares se unen ávidamente a proteínas citoplasmáticas solubles encontradas en los homogenados de hígado de rata . Tras purificación se encontró que estas proteínas eran de dos tipos y ambas poseían actividad glutathion-S-transferasa . Una de ellas era la anteriormente identificada LIGANDINA , relacionada estrechamente con la conjugación y almacenamiento de otros aniones como la BSP y la bilirrubina (151) .

Se ha encontrado "in vivo " competencia por el almacenamiento entre la BSP y las sales biliares taurocolato o dehidrocolato (32). La unión a proteínas tiene implicaciones importantes tanto para la captación como para la excreción , puesto que reduce la concentración efectiva dentro de la célula .

El papel de orgánulos celulares en el transporte de ácidos biliares es aún oscuro . Un mecanismo propuesto implicaría un transporte vesicular vectorial a través del hepatocito , de manera análoga a la secreción de proteínas en páncreas o a la secreción hepática de IgA (19). Apoyan esta hipótesis las observaciones hechas durante coleresis inducidas por sales biliares , en las que aparece un crecimiento del sistema de Golgi; así como la proliferación de vesículas en la zona pericanalicular (19).

Parachemin

2.2.6.- SUCESOS CANALICULARES

2.2.6.1.- EL CONCEPTO DE T_m

El paso de sustancias de los hepatocitos a los canalículos encierra aún muchos secretos y generalmente se considera como etapa limitante en los procesos de excreción . En cada caso se ha caracterizado un transporte máximo (T_m) , tasa de excreción para la que los sistemas de transporte de una sustancia dada están saturados .

El concepto de T_m está empezando ya a ponerse en tela de juicio , al menos en lo que se refiere a las sales biliares . Hoy se tiende a hablar de SR_m o tasa máxima de excreción , puesto que la limitación del transporte parece radicar más en el nivel de toxicidad de las distintas sales biliares que en una saturación de los transportadores.

Las altas tasas de secreción máxima (SR_m) registradas para el ursodeoxicólico probablemente se deben a su baja toxicidad (73)(84). A su vez el ursodeoxicólico puede evitar los efectos colestáticos del taurocolato , pues impide la caída que sufre la SR_m para el taurocolato durante infusiones mantenidas (85).

La T_m para otras sustancias parece depender de su concentración canalicular , este es el caso de la BSP, que en todos los experimentos se mantiene en un estrecho margen (27)(35). El aumento de la T_m de BSP por el taurocolato en hígado de rata aislado , se pensó que podría deberse seguramente a una retirada de la BSP por el efecto celerético y micelar del taurocolato (24). A la misma conclusión se llegó cuando aumentaba la T_m de BSP al administrar fenobarbital que estimula la fracción independiente de las sales biliares (89).

Al administrar a perros SC-2644 (62), teofilina y metilumbeliferona (50), agentes que aumentan el flujo canalicular , no se encontró elevación alguna en la T_m de BSP . Además , el hecho de que tres sales biliares con distintas capacidades colerética y formadora de micelas

(taurocolato , tauroquenodeoxicolato y taurodehidrocolato) aumentan de manera similar la Tm de BSP (17), sugiere que existe una interacción no solo en la luz canalicular , sino , quizás , también a nivel de los sistemas de transportadores .

Tanto en ratas Wistar normales (JJ) como en ratas Gunn heterocigóticas (Jj) , con dos tercios de la capacidad bilirrubina - UDP - glucuroniltransferasa , el tratamiento con agentes inductores enzimáticos como el fenobarbitone o la glutemida , provocan un aumento de la actividad glucuroniltransferásica y conduce a un aumento de la Tm de bilirrubina , proporcionalmente mayor en las ratas Gunn . Estos datos implican que la Tm de la bilirrubina depende de la capacidad de conjugación (140).

2.2.6.2.- EXOCITOSIS

Los procesos de transporte vectorial de vesículas , que acabarán por verter su contenido al canalículo , va ganado credibilidad . El hecho de que la eliminación de Ca^{++} en el líquido de perfusión de hígado aislado reduzca el flujo biliar hace pensar que el Ca^{++} , además de en otros procesos celulares , coopera en condiciones normales en la exocitosis de productos coleréticos .

La detección en bilis de enzimas microsomales y la localización previa del " pool " de lípidos biliares que forman parte de la membrana microsomal , abogan por un transporte vesicular y consecuentemente , por procesos de exocitosis (19).



2.2.6.3.- MICROFILAMENTOS Y MICROTUBULOS

Las drogas como la citocalasina B (123), que causa la despolimerización de los filamentos , o la faloidina (39), que los aglutina y desorganiza irreversiblemente , inducen un descenso (incluso una inhibición total) del flujo biliar.

Aunque los mecanismos por los que la disfunción de los microfilamentos causa colestasis no se conoce con exactitud , se plantean tres posibilidades no incompatibles :

- a) Una alteración de la organización estructural principalmente de las microvellosidades , probablemente con alteración de los sistemas de transporte.
- b) Una bajada del tono en el sistema biliar ya que los microfilamentos pueden tener un papel mecánico en el mantenimiento del flujo biliar , por su capacidad contráctil (39).
- c) Una modificación de la acción reguladora que los microfilamentos parecen jugar sobre la permeabilidad de la vía paracelular (44).

No obstante , otros estudios indican que la inhibición de los microtúbulos con agentes como la colchicina y la vimblastina , no provocan alteraciones en la producción de bilis (39).

En trabajos en los que se aprecia una reducción significativa del flujo (68) , se detectó deterioro , tanto de los procesos de captación (115)(127) . como de secreción (116) de sales biliares en ratas y en hepatocitos aislados.

En ratas , la colchicina no disminuye el flujo biliar pero impide la respuesta colerética a cargas exógenas de sales biliares , pues la fracción dependiente de las sales biliares sufre alteraciones (60) . Si se administra junto con faloidina causa un descenso del flujo mucho mayor que el ocasionado solo por la faloidina . Es decir que la interacción de los sistemas formados por microtúbulos y microfilamentos , parecen jugar papeles , aún no conocidos , en los procesos de formación de la bilis (39).

2.2.7.- LA VIA PARACELULAR

Las sustancias de elevado peso molecular como la inulina (5000 d), la sacarosa (342 d), el polietilenglicol (4000 d) y el ferrocianuro (484 d) pasan rápidamente a la bilis sin sufrir un equilibrio previo en el hepatocito , lo que sugiere la existencia de una vía alterna a la transcelular , para alcanzar el canalículo . En otros experimentos con carboxilinulina y ferrocianuro (25) el aclaramiento biliar de estas sustancias cargadas negativamente , fue inferior al de sustancias sin carga del mismo tamaño (inulina y sacarosa) . Esto parece indicar que existe una barrera o permeabilidad selectiva en la vía paracelular , dificultando la entrada de cargas negativas y facilitando la de iones cargados positivamente , como el Na^+ .

En las coleresis inducidas por dehidrocolato y taurodehidrocolato , se observa un aumento progresivo de la permeabilidad para la sacarosa , una penetración del ion lantano por las uniones intercelulares y la formación de vesículas en estas zonas (99) . Estos datos parecen indicar que la via paracelular contribuye en los mecanismos de formación de la bilis , al menos en estas condiciones experimentales .

El taurocólico , ácido biliar endógeno formador de micelas , altera la permeabilidad del sistema biliar para el eritritol y la inulina , modificando simultáneamente la fracción independiente de las sales biliares y su propia respuesta colerética (7) . Parece , pues , que la vía paracelular es importante , si no predominante , en la coleresis inducida por las sales biliares (46) .

Si durante el tratamiento con fenobarbital , clásico estimulador de la fracción independiente de sales biliares (121) , se administra leucina marcada , la radiactividad al cabo de seis horas aparece principalmente en una subfracción pesada rica en complejos de unión intercelulares , sin embargo , se observa que no existen cambios en la actividad ATPásica durante el tratamiento , por lo que la vía paracelular parece ser importante , también , en la formación de la fracción independiente de sales biliares (69) .

2.3.- LA BILIS DUCTULAR Y DUCTAL

El sistema ductular-ductal altera la composición electrolítica y el volumen de la bilis primaria (canalicular) por procesos de absorción y secreción .

La secreción de agua depende , sobre todo , de una secreción activa de bicarbonatos (28) y , posiblemente , de un mecanismo de bombeo electroneutro $\text{Na}^+ - \text{Cl}^-$ (128) .

La contribución cuantitativa del sistema ductular-ductal al flujo biliar total depende de la especie , siendo mínima en la rata (22) .

El epitelio del sistema es impermeable a las sales biliares y el papel preponderante lo tienen los electrolitos (28) . Los datos experimentales sugieren la presencia de un transporte activo para Cl^- , Na^+ y CO_3H^- pero pasivo en el caso de K^+ . Se postula una bomba electroneutra $\text{Cl}^- - \text{Na}^+$ y una bomba de bicarbonatos que probablemente no se deba a la anhidrasa carbónica , pues no se ha detectado su presencia en este epitelio .

La luz del conducto biliar es siempre electronegativa respecto a la cara serosa del epitelio , quizás debido a potenciales de difusión del bicarbonato (28) .

Aunque la bilis canalicular es usualmente isotónica con el plasma o ligeramente hipotónica durante coleresis inducidas por taurocolato , la actuación del sistema ductular-ductal conduce a la formación de una bilis hipertónica (28)(148) , lo cual puede ser debido a una secreción de fluido rico en CO_3H^- , como ocurre en coleresis producidas por secretina (12)(148) , o bien a la reabsorción de agua .

En perro , se incrementa la capacidad de concentrar la bilis primaria que , en condiciones fisiológicas , posee el conducto biliar común, tras la colecistectomía , reemplazando así a la vesícula biliar en esta misión (54)(128) .

2.4.- PRINCIPALES SISTEMAS DE EXCRECION Y SUS INTERACCIONES

2.4.1.- CARACTERISTICAS MOLECULARES QUE DETERMINAN LA EXCRECION BILIAR

2.4.1.1.- PESO MOLECULAR

El umbral de peso molecular para la excreción hepática de sustancias orgánicas es variable y depende de la especie : 325 ± 50 d para rata , 400 ± 50 d para cobaya y 475 ± 50 d para conejo (77)(88), pero tiene unos límites no muy amplios . Por encima de estos valores una sustancia puede excretarse tanto por hígado como por riñón . Hasta un peso molecular de 850 d , por encima del cual la excreción es predominantemente hepática (77) .

2.4.1.2.- POLARIDAD

En general puede decirse que parece necesaria la presencia de un grupo fuertemente polar para la excreción biliar (138). Bien que estuviera de antemano en la molécula o bien que se añada a ella en el hepatocito por conjugación con moléculas polares tales como ácido glucurónico , glutatión , sulfato , glicina o taurina (138). Esta regla , sin embargo, no es aplicable siempre . Así , la excreción biliar de glucósidos cardíacos es inversamente proporcional a su polaridad , en ratas , cobayas y perros (129)(88) , pero no en conejos (129) .

2.4.1.3.- LIPOSOLUBILIDAD

La influencia de esta propiedad , se ha demostrado convincentemente comparando la excreción biliar de una serie de ferrioxaminas de liposolubilidad variable . La excreción de estos compuestos es función directa de su liposolubilidad . Similarmente , se ha comprobado que la excreción biliar de compuestos de amonio cuaternario , depende de su liposolubilidad (128) .

2.4.2.- IONES INORGANICOS

La composición catiónica de la bilis es muy parecida a la del plasma, siendo los cationes predominantes Na^+ y K^+ (148), aunque la concentración de Na^+ en bilis hepática es, generalmente, superior a la plasmática. La bilis canalicular es normalmente isotónica o ligeramente hipotónica debido a la agregación en las micelas mixtas de sales biliares, las cuales aumentan o disminuyen la actividad osmótica del Na^+ y del K^+ .

Se han tabulado valores de actividad osmótica de sodio y potasio en soluciones con diferentes concentraciones de sales biliares (128).

Parte del Na^+ entra en la bilis acompañando a las sales biliares secretadas activamente, o junto a otros iones orgánicos que, como se ha postulado, requieren un transporte activo Na^+ -dependiente (12)(16) (49)(148), aunque este punto de vista no está aceptado por todos los autores (67). Un mecanismo propuesto alternativamente, sugiere la existencia de una bomba electroneutra $\text{Na}^+ - \text{Cl}^-$ (128).

El K^+ parece alcanzar la bilis por simple difusión pasiva. La aparición en bilis de K^{42} exhibe dos componentes, una muy rápida compatible con la presencia de un "shunt" paracelular y otra más lenta que probablemente representa el movimiento de K^+ transcelular (66).

Los aniones inorgánicos mayoritarios son Cl^- y CO_3H^- , con rangos de concentración biliar de 30 - 120 mEq/l y 11 - 65 mEq/l, respectivamente (148). La tasa de secreción de sales biliares influye en la concentración de Cl^- en la bilis (12). Así, cuando la producción de sales biliares es elevada se detecta una caída en la concentración biliar de Cl^- , en perro (148), conejo (128) y hombre (124). La concentración biliar de Cl^- es menor que la plasmática, pero esta relación puede invertirse a tasas de secreción de sales biliares bajas. La acetazolamida, un inhibidor de la anhidrasa carbónica, produce coleresis con aumento en la concentración de Cl^- (148).

La concentración de CO_3H^- es menos sensible a las variaciones de sales biliares pero es modificada a nivel ductulo-ductal por ciertos estímulos hormonales y nerviosos.

Recientemente se ha postulado también la existencia de una bomba de bicarbonatos a nivel hepatocelular, y se ha sugerido que este mecanismo es el responsable de una elevada proporción de la fracción canalicular de la bilis (74). Dos ácidos biliares de alto poder colerético, derivados del metabolismo del quenodeoxicólico, el ursodeoxicólico y el 7-cetolitolocólico, estimulan la secreción canalicular de CO_3H^- (42).

Aunque la contribución de los metales al total de los solutos de la bilis es mínima o nula, se tiende a prestar más atención a su excreción, debido a su cada vez más frecuente presencia como contaminantes ambientales y a su conocida toxicidad. La excreción biliar de estos elementos parece ser un fenómeno saturable, siendo especialmente eficaz para el plomo. La excreción de manganeso y la de cobre es también eficiente pero la de mercurio y arsénico es mucho menor (128).

Paracetamol

2.4.3.- IONES ORGANICOS

El descubrimiento de que la oveja mutante Corriedale es incapaz de excretar colorantes orgánicos aniónicos , tales como la bromosulfoftaleína , aunque posee una capacidad normal para excretar sales biliares , sugirió que el hígado está dotado de , al menos , dos sistemas de transporte para aniones orgánicos . Hoy se admite la existencia de varios sistemas de transporte para este tipo de moléculas y que éstos están estrechamente implicados en los mecanismos de formación de la bilis (139) .

2.4.3.1.- SALES BILIARES

El transporte de sales biliares de sangre a bilis es un proceso concentrativo , que alcanza una relación bilis / plasma de aproximadamente 100 (58) , aunque en este dato no se incluyen la unión a proteínas plasmáticas , la formación de micelas en bilis ni la reabsorción de agua .

La captación de sales biliares por el hepatocito es un proceso que presenta , al menos , tres componentes :

- 1º) Componente Na^+ - independiente insaturable . Debido a la difusión a través de la membrana citoplasmática . Es un componente relacionado con la liposolubilidad , por lo que es mayor para ácidos biliares dihidroxilados que para trihidroxilados (79) .
- 2º) Componente Na^+ - independiente saturable . Es inhibido competitivamente por bilirrubina y por bromosulfoftaleína (93) .
- 3º) Componente Na^+ - dependiente saturable . La presencia en los hepatocitos de receptores específicos para las sales biliares se ha demostrado tanto en hepatocitos aislados de rata (8) (113) como en membranas sinusoidales separadas de éstos (1) , hecho que es coherente con la existencia de mecanismos saturables , los cuales se inhiben inespecíficamente por CNK , oligomicina y , competitivamente por otros ácidos biliares .

Se ha demostrado recientemente , utilizando vesículas de membranas sinusoidales de hepatocitos que la captación de sales biliares , sobre todo de las conjugadas , está ligada directamente al gradiente de Na^+ (40).

Las ATPasas , $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ atúan como fuente de energía para este tipo de transporte generando el gradiente de Na^+ que aprovecha el transportador el cual toma una molécula de sal biliar a la vez que , probablemente , dos de Na^+ , para translocarse y liberaralos en el interior . Este tipo de TRANSPORTE ACTIVO SECUNDARIO (pues no utiliza directamente el ATP sino el gradiente iónico generado por la ATPasa) no es único de hepatocitos (46).

La captación hepática no es el paso limitante para la excreción de sales biliares , puesto que la velocidad máxima de captación excede seis veces de la T_m encontrada para las sales biliares .

Se ha demostrado que los ácidos biliares trihidroxilados presentan mayor afinidad por el receptor , pero que su velocidad de transporte es menor que la de los ácidos biliares dihidroxilados .

La conjugación con taurina reduce la K_m pero no altera la V_{max} . La conjugación con glicina no cambia ningún parámetro , al menos en hepatocitos de rata (79).

" In vivo " la captación hepática parece depender de la afinidad de la sal biliar por el sistema de transporte , más que de la capacidad de éste para transportarla , puesto que los coeficientes de extracción dan valores mayores para aquellas sales biliares que tienen más alta afinidad " in vitro " (78) .

Una vez acumuladas y concentradas en la célula , las sales biliares tienden a salir espontáneamente , a favor del gradiente de concentración así creado y del potencial de membrana canalicular (negativo en el interior de la célula y positivo en el canaliculo)(128) .

La secreción de sales biliares al canalículo es también un fenómeno saturable (47). Se caracteriza por la tasa secretora máxima (SRm), que parece ser mayor para las formas conjugadas . Se ha identificado una proteína transportadora en la membrana canalicular , pero no se sabe si utiliza alguna fuente de energía suplementaria al gradiente electroquímico (1) .

2.4.3.2.- PIGMENTOS Y COLORANTES COLEFILOS

El hígado tiene , aparentemente , uno o varios sistemas de transporte para aniones orgánicos del tipo de la bilirrubina , la bromosulfoftaleína (BSP), la dibromosulfoftaleína (DBSP) , el verde de indocianina (ICG) , el rosa de bengala y otros . Las moléculas transportadas por estos sistemas tienen una estructura química muy diversa , siendo el grupo ácido un carboxilo , un grupo sulfónico o ninguno de éstos (88) . El único hecho común es que se comportan como un anión al pH de la bilis y el plasma , y que entre ellos existen numerosas interacciones a nivel hepatobiliar.

El hepatocito depura la bilirrubina , BSP , ICG y DBSP según un proceso saturable , cuya velocidad máxima es cinco veces mayor que la Tm (122) . Compiten mutuamente por la captación (29) aunque también pueden seguir mecanismos de captación independientes (61)(103) . A pesar de que se pensaba que su captación no es afectada por las sales biliares (122), se han descrito interferencias entre sales biliares y DBSP o BSP . A bajas relaciones sales biliares / colorantes puede presentarse una facilitación y a altas una inhibición no competitiva (32) .

En estudios con cultivos de hepatocitos se ha detectado la existencia de dos sistemas para la captación de BSP . Esta heterogeneidad no había sido puesta de manifiesto en estudios cinéticos habituales , debido a la afinidad similar de ambos sistemas , uno de los cuales es insensible a las sales biliares mientras que el otro interfiere con la captación de sales biliares en su componente Na^+ - independiente saturable (93) .

A pesar de que se admite que el transporte de BSP y DBSP no es dependiente ni de energía ni de Na^+ , la aldosterona que produce una caída de la producción biliar de Na^+ y del flujo , así como un descenso en la cap-

tación hepática de ácido cólico , provoca una clara disminución del aclaramiento plasmático de la BSP (2) .

La presencia de altas cantidades de proteínas citoplasmáticas tal como la ligandina , puede condicionar , a nivel de almacenamiento , la transferencia acumulativa de sangre a bilis .

La reciente localización en las membranas sinusoidal y canalicular de sitios de unión saturables , y el aislamiento a partir de estas membranas de proteínas a las que se fija la BSP , parece indicar la existencia de una captación mediada por transportadores (128) .

Mientras la BSP se conjuga casi exclusivamente con glutation , se han descrito una gran variedad de conjugados de la bilirrubina , aunque predominantemente se conjuga con ácido glucurónico , una o dos veces .

La Tm es muy variable interespecíficamente , así , la Tm de bilirrubina es de 39 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$. para hombre y de 610 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$. para rata (128). Se ha sugerido que la distinta capacidad excretora dependería de la distinta capacidad de conjugación , principalmente de la actividad bilirrubin-glucuroniltransferasa , esto no es de extrañar si se tiene en cuenta que , a diferencia de la BSP , la mayor parte de la bilirrubina se excreta en su forma conjugada . Las mutantes Gunn de la raza de ratas Sprague-Dawley, con actividad glucuroniltransferásica deficiente , tienen muy deprimida la excreción endógena de bilirrubina pero su Tm para dicho pigmento es normal (5) .

A nivel de excreción canalicular , existen relaciones complejas entre esta familia de moléculas , el flujo y las sales biliares . El taurocolato puede aumentar o disminuir , dependiendo de la dosis , la excreción de la BSP en perros (24) . también en perros , la excreción de bilirrubina aumenta de forma lineal por administración simultanea de taurocolato , ésto se ha atribuido a un reclutamiento de los hepatocitos centrolobulillares por el taurocolato (65) . El efecto dual del dehidrocolato es similar al del taurocolato , para la misma especie , aunque su efecto inhibitor sobre la excreción de BSP y bilirrubina que también se ha descrito en hombre , no está claro si se produce a nivel de almacenamiento o de excreción, aunque existen más datos para creer en la primera posibilidad (9) .

En hamster , la excreción de BSP , DBSP e ICG no parece afecta a la secreción de sales biliares y sin embargo disminuyen la excreción de fosfolípidos y colesterol (41) . Para la bilirrubina se ha encontrado un comportamiento similar en ratas (4) , quizás debido a una competencia con los lípidos biliares por el sistema de transporte en bilis .

2.4.3.3.- CATIONES ORGANICOS

En hígado de rata se ha demostrado la existencia de sistemas de transporte eficaces para la captación y excreción de compuestos de amonio ternario y cuaternario .

El requerimiento estructural para que un catión orgánico sea transportado eficientemente por el sistema de excreción , es que posea un grupo amino básico en uno de sus extremos y en el otro extremo molecular un grupo más apolar , lo que confiere a la molécula propiedades anfipáticas (88)(128) .

2.4.4.- COMPONENTES NEUTROS

Entre los componentes neutros orgánicos , han recibido particular atención , dos tipos de sustancias : monosacáridos y esteroides neutros, entre los que se encuentran tanto glicósidos cardíacos como hormonas esteroides.

Se han estudiado ampliamente los monosacáridos por su utilidad como marcadores en estudios de permeabilidad del árbol biliar y de determinación de la tasa de formación de bilis canalicular.

Estos compuestos pasan a la bilis de forma pasiva sin interferir con los sistemas de transporte , por lo que su producción biliar es índice de la producción de bilis canalicular (para los que el árbol biliar es impermeable) .

Pocos monosacáridos aparecen en la bilis , en condiciones fisiológicas ; la glucosa aparece en la bilis humana solo cuando su concentración plasmática excede de 350 mg/ 100 ml , y en rata cuando sobrepasa los 280 mg/ 100 ml. En esta especie se ha descrito una circulación bilio-hepática de glucosa , que es inhibida por la fluorizina . Existe , pues , un sistema específico de transporte para la glucosa , cuya localización se desconoce , que evita la pérdida de este monosacárido por el árbol biliar (128) .

La excreción biliar de de las hormonas esteroides puede ser responsable de la depuración de hasta un 65% de su carga endógena , dependiendo de la especie (88) . En hombre , todos los esteroides hormonales son excretados en forma de conjugados de ácido glucurónico , glucosiduronato o de sulfato . Parece ser , al menos en rata , que el sistema de transporte es activo y similar al de ouabaína y otros glicósidos cardíacos (88) .

2.4.5.- MACROMOLECULAS

La bilis contiene una pequeña cantidad de proteínas cuya función es incierta , salvo quizás para la IgA .

Sobre el 80% de las proteínas presentes en la bilis proceden del " pool " de proteínas plasmáticas , el resto representa el conjunto de proteínas plasmáticas específicas (128) . Para algunas de las proteínas de este grupo se han descrito comportamientos electroforéticos idénticos a los de ciertas proteínas situadas en la membrana canalicular . Entre las proteínas biliares específicas pueden encontrarse algunas con actividad enzimática , en su mayoría similar a la de enzimas de membrana , cuyo origen se encuentra posiblemente en el arrastre por la acción detergente de las sales biliares desde el sitio que ocupaban en la membrana, a bilis . Esto también es aplicable a las lipoproteínas relacionadas con la excreción biliar de lípidos (128) .

2.4.6.- LIPIDOS

Una de las misiones de la bilis es la excreción del colesterol , practicamente insoluble en agua . En la bilis el colesterol aparece principalmente como colesterol libre (no esterificado) mantenido en solución por micelas mixtas de sales biliares , fosfolípidos y colesterol (132) en una relación molar aproximada de 74:20:6 en hombre (bilis vesicular) . Las propiedades fisicoquímicas de las micelas mixtas han sido estudiadas ampliamente por Small (137) y más recientemente por Carey y Small (26) .

El origen del colesterol biliar es bastante incierto . En la rata el colesterol presente en la bilis parece proceder de un " subpool " microsomal (68)(128) . Aproximadamente dos tercios del colesterol destinado a la excreción biliar derivan del colesterol plasmático . Un 20% es de nueva síntesis y el resto procede de un " subpool " hepático no identificado .

La excreción de colesterol por el hepatocito depende en gran parte de una amplia variedad de factores dietarios (144) , tales como la ingesta de colesterol , la ingesta de acidos grasos insaturados y el ayuno .

La excreción de colesterol se mantuvo independiente de su tasa de síntesis, en experimentos con ratas, durante los que se variaba la formación de colesterol por el hígado .

Similarmente a lo que sucede con el colesterol , los fosfolípidos se incorporan a la membrana microsomal antes de ser excretados en bilis (68) . Su biosíntesis está ligada a los niveles de colina en la dieta .

Los mecanismos por los que los fosfolípidos y el colesterol se excretan por el hepatocito en la bilis , todavía no se conocen con seguridad aunque si se puede decir que su excreción propiamente dicha no está mediada por vesículas (141) .

Agentes como la colchicina , la vimblastina y la vincristina que no permiten o revierten la polimerización de la tubulina , producen un dete

rioro de la excreción de colesterol pero no de su síntesis (68), lo que implica que la síntesis y la excreción no están necesariamente acoplados .

Cuando se marcan precursores de colesterol y de fosfolípidos y se inyectan en ratas , la radiactividad aparece rapidamente en la fracción microsomal y en la fracción lipídica de la membrana canalicular (68). Puesto que en la membrana canalicular faltan las enzimas necesarias para la síntesis , los autores de estas investigaciones concluyen que los lípidos biliares de síntesis hepática y excreción biliar se sintetizan a nivel microsomal y son transportados a la membrana canalicular para su posterior excreción. Existen datos que parecen indicar que en la membrana canalicular existe un " subpool " específico dispuesto para la excreción biliar (68) .

La teoría de un mecanismo común para la excreción de colesterol y fosfolípidos , está apoyada en el descubrimiento de que los inhibidores de los microtúbulos reducen su excreción en un grado muy similar. El hecho de que estos inhibidores afecten en menor grado a las sales biliares , que se siguen excretando no acompañadas de fosfolípidos , ha llevado a algunos autores a postular la existencia de una fracción de la excreción de fosfolípidos y colesterol independiente de las sales biliares (68).

Se ha demostrado la asociación de los lípidos biliares a un complejo lipoproteico relacionado con la membrana canalicular (92), que es inmunológicamente idéntico a la lipoproteína X humana.

A pesar de la hipotética existencia de una fracción independiente, la fuerza rectora del proceso de excreción biliar de lípidos es el conjunto de sales biliares presentes en la luz canalicular . Así , los fosfolípidos de nueva síntesis y el colesterol se acumulan en las membranas canalicular y microsomal en ausencia de sales biliares y son excretadas solo cuando la secreción de sales biliares se ha activado (68). Cuando se interrumpe la circulación enterohepática en hombre (112) , mono rhesus (38) , perro y rata (72) , se produce una sustancial caída en la excreción fosfolipídica .

La interrupción de la circulación enterohepática de las sales biliares afecta en menor grado a la excreción de colesterol (112).

En oveja y rata , la excreción de fosfolípidos está limitada por la secreción de sales biliares a tasa bajas de las mismas y por la síntesis fosfolipídica a tasas altas de producción de sales biliares (72). Esto podría explicar la relación hiperbólica encontrada entre la producción biliar de sales biliares y fosfolípidos para hombre y para perro (149). Wheeler y King (149) han construido un modelo que explica esta particular relación , basado en las propiedades fisicoquímicas de las micelas mixtas . Este modelo asume que la excreción de fosfolípidos se lleva a cabo por la acción detergente de las sales biliares . Esta suposición está apoyada en el hecho de que el dehidrocolato , una sal biliar sintética con escaso poder detergente y por tanto con pobre capacidad formadora de micelas , no aumenta la excreción de fosfolípidos (72)(149).

El fusidato sódico , un antibiótico esteroide fungico , con propiedades fisicoquímicas similares a las de las sales biliares , presenta aproximadamente el mismo efecto sobre la excreción de fosfolípidos que las sales biliares endógenas (108).

Las distintas sales biliares presentan distinta capacidad de aumentar la excreción de fosfolípidos . Así , en hombre dicha capacidad es mayor para el colato que para el quenodeoxicolato (100).

Los colorantes orgánicos aniónicos , a tasa de secreción próximas a su T_m , inhiben la excreción lipídica , probablemente por la interferencia con la formación de micelas (4)(41)(135).

Aunque todas las pruebas aportadas están a favor de una hipótesis puramente fisicoquímica para describir el fenómeno de la excreción lipídica , ésta no explica algunos datos farmacológicos que indican la posibilidad de una disociación de la excreción de sales biliares y la de fosfolípidos , ni tampoco , el que la composición fosfolipídica de la bilis y de la membrana canalicular sea diferente (56).

Según algunos autores podría excretarse una pequeña fracción de fosfolípidos independientemente de las sales biliares , para hombre se ha calculado

lado que ésta sería de unos $0,54 \mu\text{mol}/\text{min.}$, mientras que la fracción dependiente alcanzaría los $0,25 \mu\text{mol}$ de fosfolípidos por cada μmol de sal biliar secretado (133).

Algo semejante se ha descrito para el colesterol (72). Estando más ligado a las evoluciones de los fosfolípidos que a las de las sa les biliares (100).

La fracción de la excreción del colesterol independiente de las sa les biliares (128), podría ser la responsable de la sobresaturación de colesterol que se observa en bilis durante el ayuno y durante la interrupción de la circulación enterohepática (38) . Según Hardison , la excreción de colesterol únicamente mediada por micelas mixtas solubilizadoras , no explica la sobresaturación de colesterol en bilis que se detecta antes y durante las colelitiasis (72) .

Porter



P. H. L.

MATERIALES Y METODOS

3.1.- ANIMALES

Para la realización de este trabajo se han utilizado 119 ratas de raza WISTAR CF de ambos sexos y peso comprendido entre 250 y 300 gr. Suministradas por el Servicio de Animales de la Universidad de Granada y por el Servicio de Animales para Laboratorio (SEPAL) de Madrid. Todos ellos se sometían en nuestro laboratorio a un periodo de estandarización de 20 días durante los cuales se le alimentaba con pienso comercial para ratas (PICOSA) , que contenía : 40% de glúcidos , 16,6% de proteínas y 2,6% de grasa. Las condiciones de humedad , temperatura (20°C) y fotoperiodo (12 horas) se mantenían constantes.

3.2.- PROCEDIMIENTO QUIRURGICO

3.2.1.- PREOPERATORIO

Todos los animales se sometieron a un periodo de ayuno de 24 horas previo a la intervención quirúrgica , aunque siempre se les dejó libre acceso al agua . .

3.2.2.- OPERATORIO

El anestésico utilizado fue , en todos los casos , pentobarbital sódico (Nembutal N.R.) que se escogió por los escasos efectos que tiene sobre la secreción biliar (31) . Se administró intraperitonealmente a dosis de 50 mgr/Kg de peso corporal (91) , disuelto en solución salina (0,9% de ClNa). La profundidad de la anestesia se controló mediante los reflejos plantar y oculo-parpebral.

Una vez pelado y afeitado el campo operatorio , el animal se fijaba a una tabla-quirófano colocándose junto a una lámpara térmica con objeto de mantener constante la temperatura corporal.

La intervención quirúrgica se iniciaba practicándole al animal una traqueotomía de rutina como medida preventiva para disminuir la resistencia respiratoria y compensar la depresión causada por el anestésico. Sin embargo , nunca fue necesaria la respiración asistida.

Se disecaban arteria carótida y vena yugular del lado izquierdo , instalándoseles un cateter (Braun 0,5 x 0,9) provisto de solución anticoagulante (heparina al 0,04%) . La colocación del cateter en la carótida permitía el control del estado general del animal por la medida de la presión arterial , mediante un sistema de registro (polígrafo Harvard-Packar) conectado al cateter .

El cateter de la vena yugular se usaba para la administración intravenosa de las diferentes sustancias.

Posteriormente tras laparotomía ventral media y con sumo cuidado de no dañar la delicada y abundante irrigación de la zona , se ligaba el píloro para evitar que la estimulación no controlada de la secreción gástrica pudiera ejercer efectos inesperados sobre la secreción biliar.

Se disecaba el conducto biliar común , para lo que era necesario retirar parcialmente el tejido pancreático, y a un milímetro de su entrada a duodeno , y a través de una incisión en pico de flauta , se introducía una cánula de polivinilo (PE-10) .

Para evitar la posible estimulación refleja de la secreción biliar con origen en la vejiga de la orina , se canulaba la misma y se drenaba la orina al exterior.

3.3.- DESARROLLO DE LOS EXPERIMENTOS

La recogida de muestras de bilis se iniciaba treinta minutos después de interrumpir la circulación enterohepática al canular el conducto biliar común , considerando este intervalo como periodo de recuperación del "stress" quirúrgico.

Se utilizaban, para la recogida , viales previamente tarados , que posteriormente se pesaban para determinar el flujo biliar por diferencia de pesada al considerar que la densidad de la bilis es aproximadamente igual a 1 (87).

Tanto las cánulas como los tubos y los viales permanecían durante todo el curso de los experimentos protegidos de la luz por una envoltura de papel de aluminio , a fin de evitar la fotodescomposición de los pigmentos biliares (119). Durante el periodo de recogida el vial se mantenía en un baño de hielo y una vez retirado se llevaba a congelación a -4°C . El análisis de pigmentos biliares se llevaba a cabo dentro de las veinticuatro horas siguientes.

Antes de empezar la intervención quirúrgica y cada treinta minutos durante todos los experimentos se midió la glucemia y el microhematocrito con sangre obtenida mediante cortes en el extremo del rabo (57). El plasma resultante se congelaba protegido de la luz para el posterior análisis de la bilirrubina plasmática.

La temperatura rectal era mantenida entre $36,5$ y $37,5^{\circ}\text{C}$ durante todo el procedimiento quirúrgico para evitar los efectos de la hipotermia sobre la secreción biliar (101).

3.4.- SISTEMA DE INFUSION

Para la infusión endovenosa se utilizó una bomba peristáltica de dos canales (Microperpex- LKB) de calibración computarizada. El selector digital de flujo permitía fijar con precisión una velocidad de infusión de 50 μ l/min. en todos los casos. La bomba tomaba la solución elegida de un matraz y la infundía por el cateter colocado en la vena yugular.

3.5.- INFUSIONES

3.5.1.- SOLUCION SALINA

Para un mejor mantenimiento de la homeostasis se infundió una solución de ClNa 0,4% y glucosa 2,5% (57), infusión que no tenía efectos sobre la secreción biliar , la glucemia , el hematocrito o la temperatura.

3.5.2.- SALES BILIARES

Se utilizaron taurocolato sódico y dehidrocolato sódico (Sigma). Las soluciones se preparaban en cloruro sódico 0,9% y tampón fosfato 0,1 M (pH = 7,4), añadiendose un 4% de albúmina bovina (fracción V Sigma) para evitar los probables efectos hemolíticos de las sales biliares.

3.5.3.- BILIRRUBINA

La cantidad adecuada de bilirrubina (Sigma) para cada experimento se disolvía en 10 ml de una solución isotónica que contenía 0,52 grs de CO_3Na_2 y 0,52 grs de ClNa por cada 100 ml. El pH de la solución preparada se ajustaba con ClH .5N (90) y se añadía entonces albúmina bovina al 4% . Las soluciones a infundir se mantuvieron protegidas de la luz durante todo el periodo de infusión .

3.6. CONTROL POSTMORTEN

Finalizados los experimentos los animales se sacrificaron por exanguinación . Se les extraía el hígado y tras colocar un cateter en vena porta , se lavaba con solución salina para eliminar toda la sangre retenida en los vasos intrahepáticos . Se pesaba el hígado y algunos fragmentos se

fijaban con formol para su ulterior estudio histológico , que nunca reveló alteraciones a tener en cuenta.

3.7.- METODOS ANALITICOS

3.7.1.- DETERMINACION DE PIGMENTOS BILIARES

Se determinó por el método de Malloy y Evelyn (104), la bilirrubina total en bilis y plasma , y la conjugada en plasma.

La biliverdina se determinó por el método de Larson y col. (94).

3.7.2.- DETERMINACION DE SALES BILIARES

Previamente a la determinación de sales biliares se realizó una eliminación de proteínas y pigmentos biliares (99) y una extracción de lípidos biliares (99)(154) .

El taurocolato se determinó en bilis por el método de Irvin y col. (80) específico para colatos.

En los casos en que se infundía dehidrocolato sódico , éste se determinó en bilis por el método de Bartos (14), específico para 3-cetoesteroides.

3.7.3.- DETERMINACION DE LIPIDOS BILIARES

Previamente al análisis de fosfolípidos y colesterol , una parte alícuota de la bilis se sometió a un proceso de eliminación de proteínas y pigmentos biliares (99), sonicación (154) y extracción de sales biliares (999) .

Los fosfolípidos se determinaron por medida del fosforo fosfolipídico según el método de Yee (154) .

Debido a la escasa cantidad de colesterol presente en la bilis de rata , fue necesario recurrir a la determinación del colesterol conjunto de todos los animales de un mismo bloque experimental, para cada punto del muestreo (86) .

Tras mezclar los extractos de la misma muestra para distintos animales , el colesterol se determinó por el método colorimétrico de Liebermann-Burchard , según una modificación de Martensson (105) .

3.7.4.- DETERMINACION DE SODIO Y POTASIO

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

3.7.5.- DETERMINACION DE CLORURO

Se utilizó la técnica de espectrofotometría directa para microdeterminación de ión cloruro en fluidos biológicos como cloruro de cromilo, desarrollada por Sanchez y Gonzalez (131).

En todos los casos en los que se recurrió a la espectrofotometría directa se utilizaron los espectrofotómetros " Itachi 100-10 UV " y " PYE - UNICAM SP-600 UV " .

3.7.6.- DETERMINACION DE LA GLUCEMIA

Se utilizó el test comercial " DEXTROSTIX " , basado en la acción de la enzima glucosa-oxidasa que cataliza , específicamente , la oxidación de la glucosa por el oxígeno de la atmósfera formando ácido glucónico y peróxido de hidrógeno . La presencia de peroxidasa cataliza la reacción del peróxido de hidrógeno con un sistema cromógeno , desarrollando tonalidades proporcionales a la concentración de glucosa , y que se midieron en un fotocolorímetro de reflexión (Dextrometer AMES).

3.8.- TRATAMIENTO ESTADISTICO

Se ha calculado la media y el error estandar de la media de cada muestra para cada parámetro , realizandose los análisis de varianza por aplicación del test de la t de Student .

3.9.- DISEÑO EXPERIMENTAL

3.9.1.- EXCRECION DE PIGMENTOS Y LIPIDOS BILIARES EN CONDICIONES BASALES

3.9.1.1.- Experimentos tipo BISS

6 horas : drenaje continuo de bilis e infusión endovenosa de solución salina glucosada (condiciones de control) .

3.9.2.- EXCRECION DE PIGMENTOS Y LIPIDOS BILIARES DURANTE LA INFUSION ENDOVENOSA DE SALES BILIARES

3.9.2.1.- Experimentos tipo ICTC

2 horas : condiciones de control.

4 horas : infusión a dosis crecientes (0,065 - 0,125 - 0,25 - 0,50 - 1,0 - 2,0 mg/Kg de peso corporal/min.) de taurocolato sódico .

3.9.2.2.- Experimentos tipo ICDHC

2 horas : condiciones de control.

4 horas : infusión de dehidrocolato sódico a dosis crecientes (0,065 - 0,125 - 0,25 - 0,50 - 1,0 - 2.0 mg/Kg de peso corporal/min.) .

3.9.2.3.- Experimentos tipo TC

2 horas : condiciones de control.

2 horas : infusión de taurocolato sódico a dosis de 1 mg/Kg de peso corporal/min.

3.9.2.4.- Experimentos tipo DHC

2 horas : condiciones de control.

2 horas : infusión a dosis de 1 mg/Kg de peso corporal/min. de dehidrocolato sódico .

3.9.3.- EXCRECION DE PIGMENTOS Y LIPIDOS BILIARES EN CONDICIONES DE EXCRECION MAXIMA DE BILIRRUBINA

3.9.3.1.- Experimentos tipo BR

2 horas : condiciones de control.

2 horas : infusión de bilirrubina a dosis de 1,5 mg/Kg de peso corporal/min.

3.9.4.- EFECTO DE LA INFUSION CONJUNTA DE BILIRRUBINA (A DOSIS DE 1,5 mg/Kg /min.) Y SALES BILIARES (A DOSIS DE 1 mg/Kg/min.) SOBRE LA EXCRECION DE PIGMENTOS Y LIPIDOS BILIARES.

3.9.4.1.- Experimentos tipo BR + TC

2 horas : condiciones de control.

1 hora : infusión de bilirrubina.

1 hora : infusión conjunta de bilirrubina y taurocolato sódico.

3.9.4.2.- Experimentos tipo BR + DHC

2 horas : condiciones de control.

1 hora : infusión de bilirrubina.

1 hora : infusión conjunta de bilirrubina y dehidrocolato sódico .

3.9.4.3.- Experimentos tipo TC + BR

2 horas : condiciones de control.

1 hora : infusión de taurocolato sódico

1 hora : infusión conjunta de taurocolato sódico y bilirrubina .

3.9.4.4.- Experimentos tipo DHC + BR

2 horas : condiciones de control.

1 hora : infusión de dehidrocolato sódico .

1 hora : infusión conjunta de dehidrocolato sódico y bilirrubina .

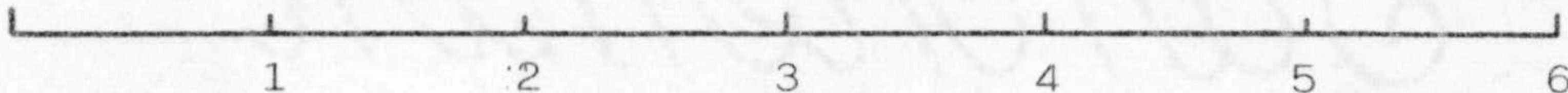
ESQUEMA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

tipo de experimento

tiempo en horas

tipo de infusión

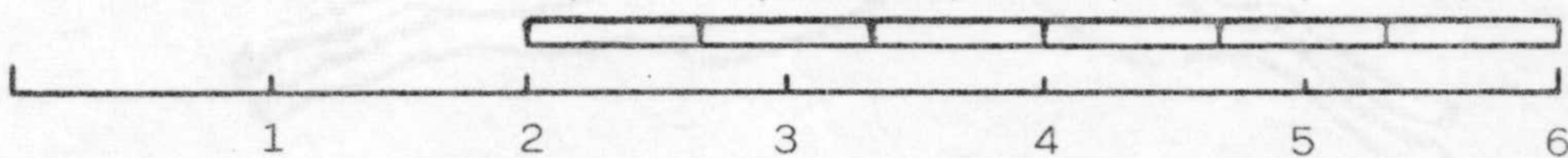
BISS



ICTC ○

ICDHC

0,065 0,125 0,25 0,50 1,0 2,0

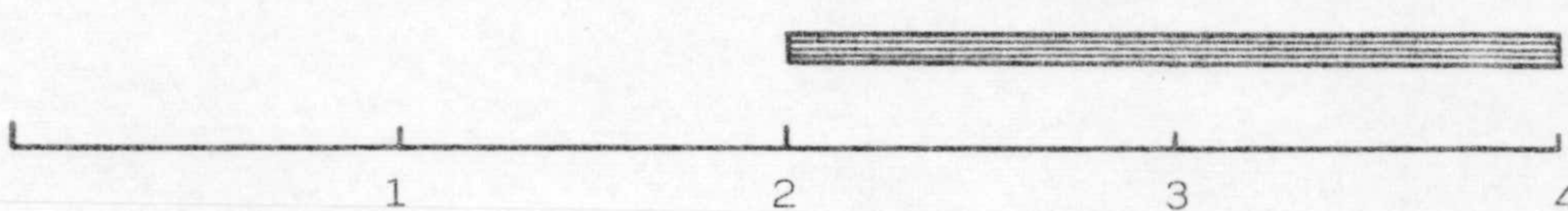


TC ○

DHC

TC ○

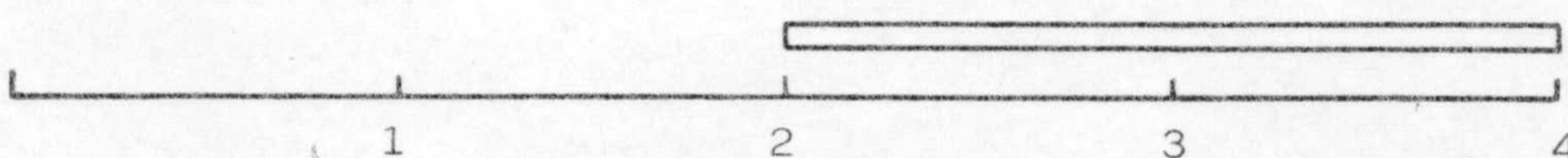
DHC



TC ○

DHC

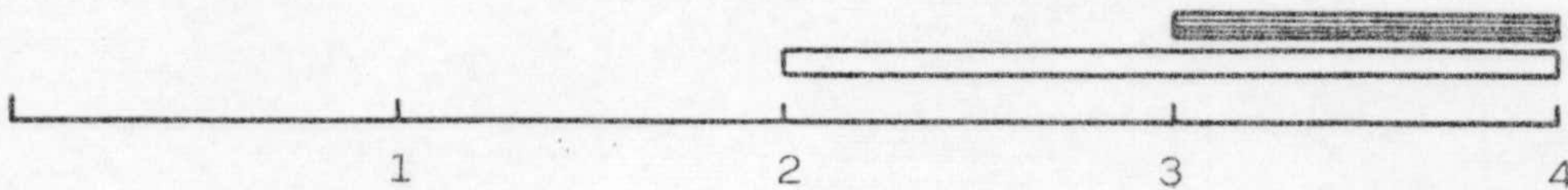
BR



BR

BR + TC ○

BR + DHC

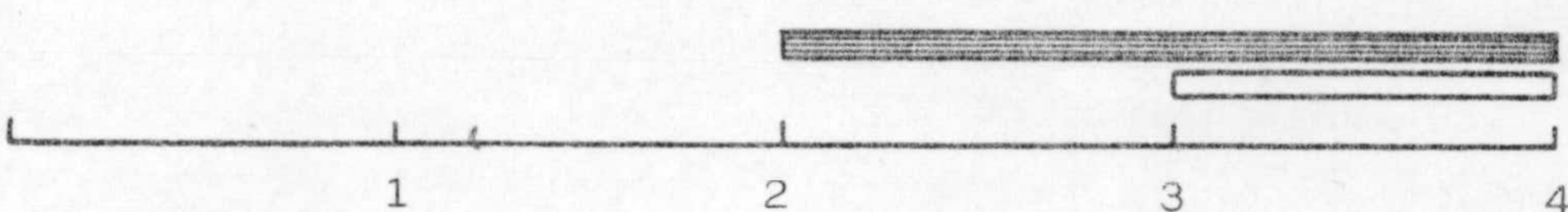


TC ○ DHC

BR

TC + BR ○

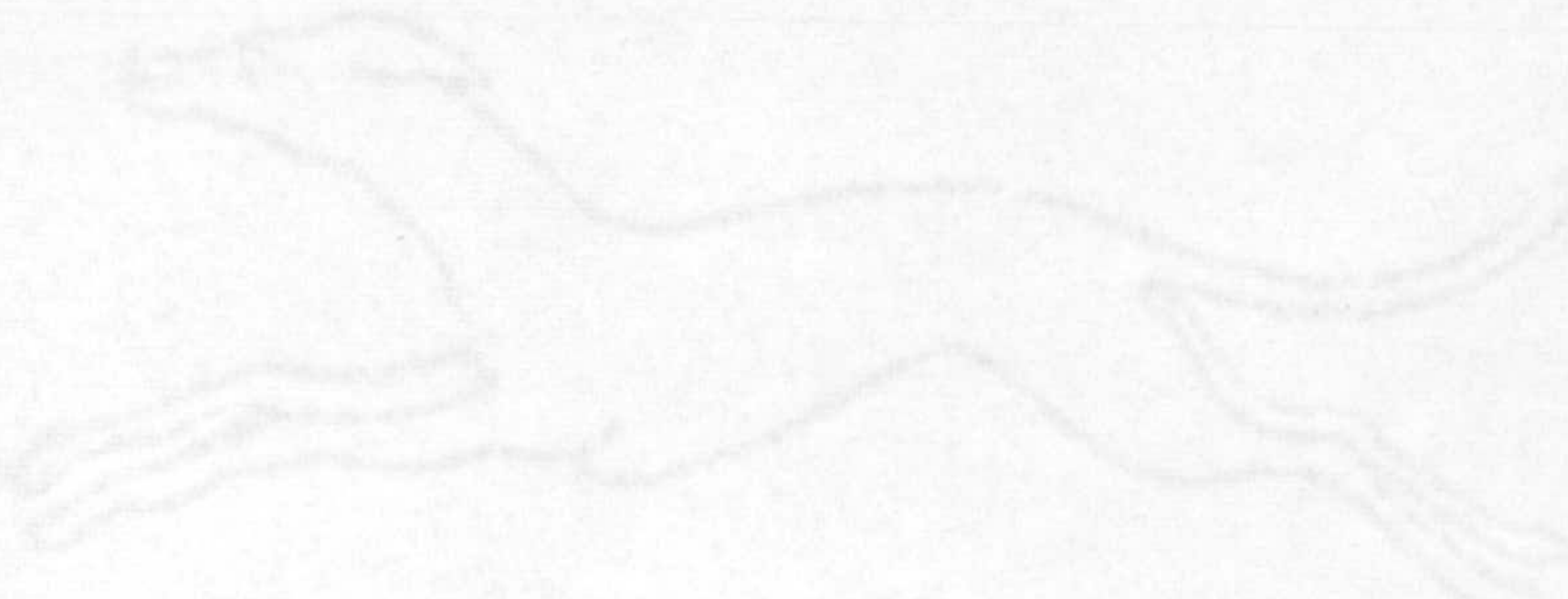
DHC + BR



TC ○ DHC

BR

Compendio



B. H. L.

RESULTADOS

Compendio



TABLA I .- EXPERIMENTOS DEL TIPO BISS .

Muestras 1 a 4 (30 min. cada una) y 5 a 16 (20 min. cada una)
condiciones de control: drenaje continuo de bilis - circulación
enterohepatica interrumpida - , con infusión de solución salina
glucosada.

Valores medios \pm E.E.M. de Flujo (Ia), Concentración (Ia), y
Producción (Ib) de Na^+ , K^+ , Cl^- , fosfolípidos , colesterol ,
taurocolato y bilirrubina .

Ia

N = 9

T	M	Flujo	Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br
hr		$\mu\text{l/Kg/min.}$	mEq/L						
1	2	57,0 \pm 13,3	179 \pm 5	4,7 \pm 0,8	85 \pm 24	1,2 \pm 0,3	0,08	10,1 \pm 2,9	0,12 \pm 0,05
	3	65,0 \pm 12,0	166 \pm 9	5,6 \pm 1,0	89 \pm 17	1,1 \pm 0,3	0,06	7,9 \pm 1,9	0,12 \pm 0,05
2	4	59,7 \pm 13,3	162 \pm 6	4,6 \pm 0,4	93 \pm 25	1,1 \pm 0,2	0,08	10,6 \pm 1,2	0,13 \pm 0,08
	5	57,3 \pm 10,8	174 \pm 28	4,7 \pm 0,7	94 \pm 26	1,1 \pm 0,2	0,07	5,0 \pm 1,0	0,14 \pm 0,03
	6	56,3 \pm 9,8	180 \pm 22	4,9 \pm 0,8	98 \pm 26	1,1 \pm 0,2	0,06	4,6 \pm 1,0	0,15 \pm 0,05
3	7	56,8 \pm 10,3	182 \pm 4	5,1 \pm 0,9	106 \pm 27	1,2 \pm 0,2	0,06	4,6 \pm 1,2	0,17 \pm 0,06
	8	55,2 \pm 9,9	174 \pm 14	4,9 \pm 0,6	104 \pm 24	1,0 \pm 0,2	0,06	4,5 \pm 1,2	0,18 \pm 0,06
	9	53,1 \pm 9,4	174 \pm 21	5,0 \pm 0,5	109 \pm 25	1,0 \pm 0,2	0,06	4,5 \pm 1,2	0,19 \pm 0,07
4	10	50,6 \pm 8,9	182 \pm 25	5,4 \pm 0,8	120 \pm 30	1,0 \pm 0,2	0,06	4,3 \pm 1,0	0,22 \pm 0,08
	11	50,5 \pm 9,2	178 \pm 23	5,1 \pm 0,7	121 \pm 32	1,0 \pm 0,2	0,06	4,1 \pm 1,0	0,21 \pm 0,08
	12	49,5 \pm 9,3	175 \pm 25	5,1 \pm 0,7	120 \pm 32	1,0 \pm 0,2	0,06	3,9 \pm 1,0	0,23 \pm 0,08
5	13	47,6 \pm 9,3	174 \pm 25	5,3 \pm 1,0	117 \pm 31	1,0 \pm 0,2	0,05	3,7 \pm 0,8	0,26 \pm 0,09
	14	43,8 \pm 8,4	170 \pm 14	4,5 \pm 0,9	118 \pm 26	0,8 \pm 0,1	0,07	3,1 \pm 0,6	0,26 \pm 0,09
	15	42,1 \pm 8,2	165 \pm 10	4,1 \pm 0,8	121 \pm 26	0,7 \pm 0,1	0,09	2,9 \pm 0,6	0,26 \pm 0,09
6	16	42,6 \pm 8,6	159 \pm 11	4,2 \pm 0,7	125 \pm 30	0,6 \pm 0,2	0,09	3,1 \pm 0,6	0,26 \pm 0,09

TABLA Ib

PRODUCCION

T	M		Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	F.L.	Col.	T.C.	Br
hr			μEq/Kg/min.			μg/Kg/min.			
1	2		9,7 _{-2,4}	0,25 _{+0,04}	4,6 _{+1,4}	47 _{+ 8}	1,9	259 ₋₄₅	3,6 _{+1,1}
	3		10,8 _{+2,1}	0,35 _{+0,05}	5,4 _{+1,0}	52 _{+ 7}	1,6	246 ₊₃₅	4,2 _{+1,0}
2	4		9,7 _{+1,7}	0,28 _{+0,06}	5,4 _{+1,6}	48 _{+ 4}	1,8	178 ₋₃₆	4,5 _{+0,6}
	5		9,8 _{+1,6}	0,27 _{+0,05}	5,3 _{+1,6}	45 _{+ 5}	1,7	146 ₊₂₈	4,6 _{+0,6}
	6		9,9 _{+1,5}	0,27 _{+0,05}	5,4 _{+1,7}	45 _{+ 6}	1,5	132 ₊₃₂	4,8 _{+0,7}
3	7		10,0 _{+1,6}	0,28 _{+0,04}	5,9 _{+1,8}	49 _{+ 7}	1,4	136 ₊₄₇	5,0 _{+0,8}
	8		9,5 _{+1,6}	0,27 _{+0,05}	5,6 _{+1,5}	43 _{+ 7}	1,3	128 ₊₄₁	5,1 _{+0,8}
	9		9,2 _{+1,4}	0,27 _{+0,05}	5,5 _{+1,2}	40 _{+ 7}	1,3	120 ₊₃₇	5,3 _{+0,9}
4	10		9,1 _{+1,0}	0,27 _{+0,04}	5,7 _{+0,9}	38 _{+ 7}	1,2	112 ₊₃₅	5,6 _{+1,1}
	11		8,8 _{+1,3}	0,26 _{+0,05}	5,8 _{+1,3}	38 _{+ 7}	1,3	102 ₊₃₁	5,5 _{+1,0}
	12		8,4 _{+1,4}	0,25 _{+0,05}	5,7 _{+1,5}	36 _{+ 7}	1,3	93 ₊₂₆	5,8 _{+1,0}
5	13		8,0 _{+1,3}	0,24 _{+0,05}	5,4 _{+1,6}	33 _{+ 7}	1,0	85 ₊₂₀	6,3 _{+1,3}
	14		7,3 _{+1,3}	0,19 _{+0,04}	5,0 _{+1,2}	27 _{+ 5}	1,2	68 ₊₁₇	6,0 _{+1,3}
	15		6,9 _{+1,2}	0,17 _{+0,05}	4,9 _{+1,0}	23 _{+ 4}	1,3	61 ₊₁₆	5,8 _{+1,3}
6	16		6,7 _{+1,1}	0,18 _{+0,06}	5,0 _{+0,9}	22 _{+ 4}	1,4	64 ₊₁₇	5,8 _{+1,2}

TABLA II .- EXPERIMENTOS DEL TIPO ICTC.

Muestras 1 a 4 (30 min. cada una): condiciones de control.
 Infusión de taurocolato a dosis crecientes: 0,065 mg/Kg/min.
 (muestras 5 y 6)- 0,125 mg/Kg/min.(muestras 7 y 8) - 0,250
 mg/Kg/min.(muestras 9 y 10) - 0,50 mg/Kg/min.(muestras 11 y
 12) - 1,0 mg/Kg/min.(muestras 13 y 14) y 2,0 mg/Kg/min.(mues
 tras 15 y 16). Muestras de 20 min: cada una.

Valores medios \pm E.E.M. de Flujo (IIa) , Concentración (IIa)
 y Producción (IIb) de Na⁺, K⁺, Cl⁻, fosfolípidos , colesterol
 taurocolato y bilirrubina .

IIa		N = 6							
T	M	Flujo	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	F.L.	Col.	T.C.	Br
hr		μ l/Kg/min.	mEq/L						
1	2	53,4 \pm 8,3	182 \pm 17	4,9 \pm 0,4	123 \pm 29	1,0 \pm 0,1	0,05	8,1 \pm 1,7	0,18 \pm 0,02
	3	53,0 \pm 9,9	180 \pm 11	4,8 \pm 0,8	103 \pm 25	1,1 \pm 0,1	0,06	6,2 \pm 0,8	0,19 \pm 0,04
2	4	50,6 \pm 10,3	178 \pm 19	4,6 \pm 0,8	136 \pm 37	1,1 \pm 0,1	0,06	6,6 \pm 1,2	0,18 \pm 0,05
*	5	56,8 \pm 11,7	192 \pm 30	5,0 \pm 1,4	120 \pm 15	1,0 \pm 0,1	0,03	6,8 \pm 0,8	0,20 \pm 0,05
**	6	55,4 \pm 11,7	190 \pm 24	4,7 \pm 1,0	112 \pm 24	1,0 \pm 0,1	0,03	5,8 \pm 1,0	0,19 \pm 0,05
***3	7	55,9 \pm 14,6	181 \pm 10	4,9 \pm 1,2	102 \pm 25	1,1 \pm 0,1	0,02	7,2 \pm 1,4	0,21 \pm 0,06
**	8	55,5 \pm 12,2	168 \pm 11	3,9 \pm 0,6	100 \pm 17	1,1 \pm 0,1	0,02	6,6 \pm 1,2	0,20 \pm 0,07
**	9	55,6 \pm 13,4	185 \pm 25	4,0 \pm 0,8	115 \pm 28	1,3 \pm 0,1	0,02	7,9 \pm 1,6	0,24 \pm 0,05
***4	10	55,8 \pm 12,9	194 \pm 45	4,4 \pm 1,1	135 \pm 33	1,4 \pm 0,1	0,03	9,1 \pm 1,2	0,24 \pm 0,05
**	11	56,5 \pm 10,6	176 \pm 14	4,0 \pm 1,1	102 \pm 30	1,3 \pm 0,1	0,03	11,0 \pm 1,2	0,24 \pm 0,06
**	12	58,2 \pm 13,0	174 \pm 10	4,4 \pm 1,0	128 \pm 26	1,5 \pm 0,2	0,03	12,8 \pm 1,4	0,24 \pm 0,05
***5	13	62,9 \pm 7,6	177 \pm 16	4,3 \pm 0,8	104 \pm 14	1,6 \pm 0,2	0,03	18,8 \pm 3,9	0,22 \pm 0,04
**	14	66,2 \pm 6,2	182 \pm 21	4,4 \pm 0,8	85 \pm 20	1,7 \pm 0,1	0,02	23,7 \pm 3,7	0,20 \pm 0,03
**	15	72,2 \pm 8,5	181 \pm 10	4,3 \pm 1,1	87 \pm 17	1,8 \pm 0,1	0,02	29,9 \pm 3,1	0,19 \pm 0,03
***6	16	75,8 \pm 17,2	187 \pm 7	4,4 \pm 1,1	99 \pm 16	1,9 \pm 0,3	0,02	37,0 \pm 5,2	0,19 \pm 0,03

(*)= 1ªdosis, (**) = 2ªdosis , (***)= 3ª dosis

(****)= 4ª dosis , (*****)= 5ª dosis , (*****)= 6ª dosis .

TABLA Iib .

PRODUCCION

T	M	Na ⁺	K ⁺	CL ⁻	F.L.	Col.	T.C.	Br	
hr		μEq/Kg/min.			μgr/Kg/min.				
1	2	9,8 _± 2,4	0,26 _± 0,05	6,5 _± 1,8	42 _± 8	1,0	226 _± 54	5,4 _± 0,6	
	3	9,6 _± 1,9	0,26 _± 0,06	5,5 _± 1,8	44 _± 6	1,1	168 _± 38	5,5 _± 0,4	
2	4	9,0 _± 1,8	0,23 _± 0,04	6,6 _± 1,6	45 _± 9	1,1	173 _± 51	5,0 _± 0,5	
*	5	10,4 _± 2,0	0,28 _± 0,06	6,7 _± 1,0	45 _± 8	0,8	196 _± 36	6,2 _± 0,5	
*	6	10,3 _± 1,7	0,25 _± 0,04	5,9 _± 0,7	44 _± 11	0,8	163 _± 26	5,9 _± 0,4	
**3	7	10,0 _± 2,2	0,26 _± 0,06	5,4 _± 1,3	47 _± 11	0,5	194 _± 15	6,4 _± 0,5	
**	8	9,4 _± 2,3	0,21 _± 0,04	5,4 _± 1,0	49 _± 11	0,4	177 _± 15	6,4 _± 0,8	
**	9	10,1 _± 1,9	0,21 _± 0,03	6,1 _± 1,3	55 _± 10	0,5	223 _± 45	7,2 _± 0,5	
**4	10	10,6 _± 2,4	0,24 _± 0,05	7,1 _± 1,7	58 _± 8	0,6	256 _± 45	7,2 _± 0,4	
**	11	9,8 _± 1,5	0,21 _± 0,03	5,7 _± 1,8	58 _± 8	0,7	332 _± 62	7,6 _± 0,6	
**	12	10,1 _± 2,1	0,24 _± 0,04	7,2 _± 1,4	65 _± 10	0,6	379 _± 71	7,6 _± 0,4	
**	13	11,2 _± 2,0	0,27 _± 0,08	6,5 _± 1,2	81 _± 15	0,8	602 _± 119	8,0 _± 0,6	
**	14	12,0 _± 1,6	0,29 _± 0,05	5,6 _± 1,1	90 _± 10	0,5	792 _± 80	7,7 _± 0,6	
**	15	13,0 _± 1,1	0,30 _± 0,05	6,2 _± 1,0	102 _± 12	0,5	1095 _± 45	7,8 _± 0,6	
**	16	14,1 _± 3,0	0,31 _± 0,06	7,3 _± 1,4	107 _± 13	0,6	1260 _± 150	8,0 _± 0,6	

(*)= 1ª dosis , (**)= 2ª dosis , (***)= 3ª dosis ,

(****)= 4ª dosis , (*****)= 5ª dosis , (*****)= 6ª dosis .

TABLA III .- EXPERIMENTOS DEL TIPO ICDHC .

Muestras 1 a 4 (30 min. cada una): condiciones de control .
 Infusión de dehidrocolato a dosis crecientes: 0,065 mg/Kg/min.
 (muestras 5 y 6)- 0,125 mg/Kg/min.(muestras 7 Y 8)- 0,250
 mg/Kg/min.(muestras 9 y 10)- 0,50 mg/Kg/min.(muestras 11 y 12)
 - 1,0 mg/Kg/min. (muestras 13 y 14)- 2,0 mg/Kg/min.(muestras 15
 y 16). Muestras de 20 min. cada una.
 Valores medios \pm E.E.M. de Flujo (IIIa) , Concentración (IIIa)
 y Producción (IIIb) de Na^+ , K^+ , Cl^- , fosfolípidos , colesterol,
 taurocolato y bilirrubina.

IIIa											N = 6
T	M	Flujo	Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br	DHC	
hr		$\mu\text{l}/\text{Kg}/\text{min}$	mEq/L							mg/l	
1	2	59,2 \pm 5,6	192 \pm 24	5,3 \pm 1,4	132 \pm 18	0,98 \pm 0,08	0,08	5,8 \pm 0,4	0,09 \pm 0,01		
	3	58,8 \pm 5,0	170 \pm 8	4,9 \pm 0,5	114 \pm 13	1,13 \pm 0,11	0,04	5,8 \pm 0,4	0,12 \pm 0,03		
2	4	56,0 \pm 5,0	160 \pm 18	4,3 \pm 0,7	141 \pm 16	1,10 \pm 0,13	0,07	5,4 \pm 0,8	0,13 \pm 0,03		
*	5	55,9 \pm 4,2	166 \pm 13	4,6 \pm 0,3	131 \pm 23	1,19 \pm 0,08	0,03	5,8 \pm 1,0	0,15 \pm 0,02	0,25 \pm 0,04	
*	6	56,5 \pm 4,6	162 \pm 22	4,5 \pm 0,5	116 \pm 14	1,23 \pm 0,10	0,02	5,4 \pm 0,4	0,14 \pm 0,02	0,20 \pm 0,04	
**3	7	58,7 \pm 6,1	173 \pm 7	4,5 \pm 0,6	116 \pm 22	1,16 \pm 0,12	0,03	5,4 \pm 0,2	0,14 \pm 0,03	0,24 \pm 0,05	
**	8	59,4 \pm 5,9	181 \pm 14	4,9 \pm 0,7	131 \pm 14	1,09 \pm 0,04	0,02	5,2 \pm 0,8	0,16 \pm 0,02	0,27 \pm 0,04	
**	9	61,3 \pm 7,0	173 \pm 19	4,7 \pm 0,7	130 \pm 18	1,07 \pm 0,16	0,02	5,0 \pm 1,0	0,17 \pm 0,02	0,44 \pm 0,03	
**4	10	63,5 \pm 6,6	184 \pm 24	5,0 \pm 1,0	147 \pm 27	1,06 \pm 0,13	0,02	5,0 \pm 0,8	0,14 \pm 0,01	0,48 \pm 0,03	
**	11	69,7 \pm 9,5	168 \pm 10	4,8 \pm 0,9	115 \pm 19	1,03 \pm 0,11	0,02	4,3 \pm 0,8	0,12 \pm 0,03	0,62 \pm 0,07	
**	12	80,4 \pm 16,2	161 \pm 13	4,0 \pm 0,7	115 \pm 23	0,97 \pm 0,10	0,02	4,3 \pm 1,0	0,14 \pm 0,02	0,75 \pm 0,16	
**5	13	88,4 \pm 11,1	178 \pm 19	5,0 \pm 0,6	141 \pm 26	0,92 \pm 0,04	0,04	3,7 \pm 0,6	0,14 \pm 0,02	0,68 \pm 0,08	
**	14	105,8 \pm 20,1	161 \pm 26	4,6 \pm 1,2	132 \pm 27	0,85 \pm 0,10	0,03	3,9 \pm 0,6	0,12 \pm 0,03	0,76 \pm 0,15	
**	15	116,4 \pm 13,7	173 \pm 17	4,1 \pm 1,0	127 \pm 22	0,78 \pm 0,09	0,04	3,1 \pm 0,6	0,10 \pm 0,02	0,77 \pm 0,11	
**6	16	128,6 \pm 15,8	163 \pm 10	3,4 \pm 0,5	120 \pm 10	0,64 \pm 0,07	0,03	2,7 \pm 0,4	0,10 \pm 0,02	0,98 \pm 0,12	

(*)= 1ª dosis , (**)= 2ª dosis , (***)=3ª dosis ,
 (****)= 4ª dosis , (*****)= 5ª dosis , (*****)= 6ª dosis .

TABLA IIIb

PRODUCCION

T	M	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	F.L.	Col.	T.C.	Br	DHC
hr		μEq/Kg/min.			μg/Kg/min.				
1	2	11,2±0,9	0,30±0,07	7,9±1,6	47± 6	1,7	177± 21	3,1±0,6	
	3	9,9±0,6	0,29±0,04	6,7±1,0	51± 8	1,0	180± 20	4,4±0,8	
2	4	8,9±0,8	0,24±0,04	7,9±1,3	48± 6	1,4	156± 23	4,4±1,0	
*	5	9,2±0,9	0,26±0,01	7,3±1,4	52± 6	0,5	166± 26	5,0±0,7	14± 3
*	6	9,3±1,8	0,26±0,05	6,6±1,3	54± 4	0,5	165± 25	4,2±0,6	11± 3
**3	7	10,2±1,1	0,26±0,03	6,8±1,6	53± 6	0,6	162± 22	4,9±0,9	14± 3
**	8	10,8±1,6	0,29±0,05	7,6±1,1	49± 6	0,5	159± 26	5,4±0,8	16± 2
**	9	10,8±2,2	0,29±0,06	7,8±1,0	51± 9	0,6	158± 22	6,2±1,0	26± 3
**4	10	11,5±0,3	0,31±0,05	9,2±1,5	52± 7	0,5	166± 21	5,3±0,5	30± 3
**	11	11,8±1,9	0,33±0,04	7,9±1,3	55± 8	0,6	154± 25	4,9±1,0	43± 4
**	12	12,9±2,8	0,31±0,06	8,8±1,0	59± 9	0,7	166± 18	6,8±1,5	57± 2
**5	13	15,5±1,2	0,44±0,09	12,1±1,3	63± 7	1,2	158± 27	7,5±1,5	59± 4
**	14	16,3±0,6	0,47±0,08	13,4±1,7	71±18	1,1	198± 20	7,3±1,6	77± 5
**	15	20,1±2,2	0,43±0,06	14,7±1,6	72±13	1,8	186± 17	6,9±1,6	88± 2
**6	16	20,9±2,4	0,44±0,06	15,2±1,0	65±13	1,6	175± 31	7,4±1,4	124± 7

(*) = 1ª dosis , (**) = 2ª dosis , (***) = 3ª dosis ,

(****) = 4ª dosis , (*****) = 5ª dosis , (*****) = 6ª dosis .

TABLA IV .- EXPERIMENTOS DEL TIPO TC .

Muestras 1 a 4 (30 min. cada una): periodo de control.

Muestras 5 a 10 (20 min. cada una): infusión de taurocolato (*) a dosis de 1mg/kg/min.

Valores medios \pm E.E.M. de Flujo (IVa), Concentración (IVa) y Producción (IVb) de Na^+ , K^+ , Cl^- , fosfolípidos, colesterol, taurocolato y bilirrubina .

IVa

N = 7

T	M	Flujo	Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br
hr		$\mu\text{l}/\text{Kg}/\text{min.}$	mEq/L						
1	2	56,4 \pm 3,3	190 \pm 24	4,7 \pm 0,8	74 \pm 10	1,4 \pm 0,3	0,07	6,6 \pm 1,4	0,10 \pm 0,01
	3	59,3 \pm 6,6	183 \pm 20	5,2 \pm 1,1	84 \pm 16	1,3 \pm 0,3	0,08	5,2 \pm 1,4	0,10 \pm 0,01
2	4	59,6 \pm 6,1	201 \pm 35	4,5 \pm 0,8	74 \pm 15	1,3 \pm 0,2	0,05	4,5 \pm 1,0	0,10 \pm 0,01
*	5	66,9 \pm 4,6	199 \pm 17	4,6 \pm 0,4	79 \pm 12	1,6 \pm 0,3	0,06	9,7 \pm 1,0	0,09 \pm 0,02
*	6	70,5 \pm 2,4	197 \pm 19	4,6 \pm 0,7	65 \pm 9	2,1 \pm 0,2	0,06	11,8 \pm 1,4	0,09 \pm 0,01
* 3	7	69,6 \pm 2,4	199 \pm 30	4,5 \pm 0,6	74 \pm 9	2,3 \pm 0,4	0,04	11,8 \pm 0,6	0,09 \pm 0,01
*	8	69,4 \pm 2,1	196 \pm 21	4,5 \pm 0,5	76 \pm 11	2,3 \pm 0,3	0,06	12,6 \pm 0,8	0,09 \pm 0,01
*	9	64,9 \pm 2,6	186 \pm 22	4,4 \pm 0,5	76 \pm 13	2,4 \pm 0,4	0,02	12,6 \pm 0,4	0,10 \pm 0,02
* 4	10	64,9 \pm 3,2	202 \pm 20	4,6 \pm 0,7	72 \pm 8	2,5 \pm 0,4	0,03	12,4 \pm 0,6	0,10 \pm 0,01

IVb

T	M		Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br
hr			$\mu\text{Eq}/\text{Kg}/\text{min.}$			$\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min.}$			
1	2		10,6 \pm 2,1	0,28 \pm 0,04	4,2 \pm 0,7	63 \pm 11	1,7	175 \pm 36	3,3 \pm 0,4
	3		10,8 \pm 1,4	0,31 \pm 0,07	4,9 \pm 0,9	57 \pm 9	1,8	162 \pm 38	3,3 \pm 0,4
2	4		12,0 \pm 2,4	0,27 \pm 0,05	4,3 \pm 0,7	61 \pm 6	1,1	139 \pm 28	3,5 \pm 0,6
*	5		13,4 \pm 1,6	0,31 \pm 0,04	5,2 \pm 0,7	87 \pm 10	1,5	332 \pm 31	3,7 \pm 0,8
*	6		13,9 \pm 1,3	0,32 \pm 0,04	4,6 \pm 0,6	115 \pm 10	1,7	431 \pm 56	3,8 \pm 0,5
* 3	7		13,9 \pm 2,4	0,31 \pm 0,04	5,1 \pm 0,6	123 \pm 19	1,1	426 \pm 28	3,8 \pm 0,4
*	8		13,7 \pm 1,9	0,31 \pm 0,04	5,1 \pm 0,7	122 \pm 17	1,6	447 \pm 22	3,8 \pm 0,4
*	9		12,1 \pm 1,6	0,28 \pm 0,03	5,0 \pm 1,0	123 \pm 20	0,5	420 \pm 18	3,8 \pm 0,7
* 4	10		13,1 \pm 1,5	0,30 \pm 0,04	4,7 \pm 0,5	127 \pm 16	0,7	416 \pm 18	3,9 \pm 0,3

L.H.B.

TABLA V .- EXPERIMENTOS DEL TIPO DHC .

Muestras 1 a 4 (30 min. cada una): periodo de control .
 Muestras 5 a 10 (20 min. cada una): infusión de dehidrocolato (*)
 a dosis de 1 mg/Kg/min.
 Valores medios \pm E.E.M. de Flujo (Va) , Concentración (Va) y
 Producción (Vb) de Na^+ , K^+ , Cl^- , fosfolípidos , colesterol,
 taurocolato , bilirrubina y dehidrocolato .

Va

N = 6

T	M	Flujo	Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br	DHC
hr		$\mu\text{l}/\text{Kg}/\text{min.}$	mEq/L							mg/L
1	2	57,8 \pm 8,6	193 \pm 24	5,3 \pm 1,0	110 \pm 18	0,96 \pm 0,19	0,07	6,6 \pm 0,8	0,11 \pm 0,01	
	3	60,0 \pm 7,4	201 \pm 25	4,7 \pm 0,6	101 \pm 15	0,76 \pm 0,08	0,07	5,4 \pm 1,0	0,10 \pm 0,01	
2	4	60,7 \pm 4,6	195 \pm 23	4,3 \pm 0,5	108 \pm 20	0,79 \pm 0,13	0,07	4,8 \pm 0,8	0,10 \pm 0,01	
*	5	79,0 \pm 7,8	199 \pm 39	4,7 \pm 0,7	112 \pm 35	0,79 \pm 0,16	0,07	3,9 \pm 0,4	0,09 \pm 0,02	0,48 \pm 0,05
*	6	90,1 \pm 3,5	212 \pm 41	4,8 \pm 0,7	103 \pm 23	0,66 \pm 0,08	0,03	3,3 \pm 0,4	0,07 \pm 0,01	0,59 \pm 0,07
* 3	7	88,7 \pm 2,1	201 \pm 34	4,8 \pm 1,0	96 \pm 28	0,63 \pm 0,12	0,04	2,7 \pm 0,4	0,07 \pm 0,01	0,53 \pm 0,08
*	8	91,6 \pm 3,3	208 \pm 31	4,1 \pm 0,6	102 \pm 30	0,63 \pm 0,12	0,05	2,9 \pm 0,4	0,07 \pm 0,01	0,59 \pm 0,09
*	9	89,5 \pm 3,2	213 \pm 39	4,3 \pm 0,9	108 \pm 28	0,62 \pm 0,12	0,03	2,5 \pm 0,4	0,07 \pm 0,01	0,65 \pm 0,05
* 4	10	88,8 \pm 3,9	203 \pm 21	3,8 \pm 0,5	103 \pm 19	0,65 \pm 0,09	0,04	2,5 \pm 0,4	0,07 \pm 0,01	0,67 \pm 0,04

Vb

T	M	Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br	DHC
hr		$\mu\text{Eq}/\text{Kg}/\text{min.}$			$\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min.}$				
1	2	11,2 \pm 2,6	0,30 \pm 0,07	6,4 \pm 1,6	42 \pm 10	1,5	195 \pm 37	3,8 \pm 0,6	
	3	12,2 \pm 2,6	0,28 \pm 0,03	6,1 \pm 1,2	35 \pm 4	1,6	165 \pm 27	3,7 \pm 0,4	
2	4	11,9 \pm 2,1	0,26 \pm 0,02	6,5 \pm 1,4	37 \pm 5	1,7	149 \pm 18	3,5 \pm 0,5	
*	5	14,6 \pm 2,0	0,37 \pm 0,08	8,3 \pm 2,5	48 \pm 9	2,2	161 \pm 29	4,1 \pm 1,1	39 \pm 5
*	6	19,1 \pm 3,7	0,43 \pm 0,07	9,2 \pm 2,1	46 \pm 6	1,2	150 \pm 24	4,0 \pm 0,6	53 \pm 6
* 3	7	17,8 \pm 3,0	0,43 \pm 0,09	8,6 \pm 2,5	44 \pm 7	1,6	129 \pm 23	3,8 \pm 0,6	47 \pm 7
*	8	19,0 \pm 2,7	0,37 \pm 0,07	9,4 \pm 2,8	44 \pm 9	1,7	138 \pm 23	3,6 \pm 0,7	54 \pm 8
*	9	19,0 \pm 3,5	0,38 \pm 0,08	9,7 \pm 2,6	43 \pm 8	1,2	113 \pm 19	3,6 \pm 0,6	58 \pm 6
* 4	10	18,6 \pm 2,4	0,34 \pm 0,04	9,1 \pm 1,7	45 \pm 7	1,4	115 \pm 20	3,7 \pm 0,7	59 \pm 3

Paracetamol



TABLA VI .- EXPERIMENTOS DEL TIPO BR .

Muestras 1 a 4 (30 min. cada una): condicones de control .
 Muestras 5 a 10 (20 min. cada una): infusión de bilirrubina (*)
 a dosis de 1,5 mg/Kg/min.
 Valores medios \pm E.E.M. de Flujo (VIa) , Concentración (VIa) y
 Producción (VIb) de Na^+ , K^+ , Cl^- , fosfolípidos , colesterol,
 taurocolato y bilirrubina .

VIa

N = 7

T	M	Flujo	Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br
hr		$\mu\text{l}/\text{Kg}/\text{min.}$	mEq/L						
1	2	58,2 \pm 3,8	172 \pm 10	4,0 \pm 0,5	98 \pm 16	1,12 \pm 0,17	0,08	8,5 \pm 1,7	0,10 \pm 0,03
	3	60,0 \pm 4,1	167 \pm 10	4,0 \pm 0,2	104 \pm 15	1,07 \pm 0,16	0,07	7,2 \pm 1,4	0,10 \pm 0,03
2	4	67,7 \pm 4,7	163 \pm 10	3,8 \pm 0,2	87 \pm 8	1,04 \pm 0,11	0,10	6,0 \pm 1,2	0,11 \pm 0,02
*	5	61,0 \pm 6,1	191 \pm 22	4,5 \pm 0,4	113 \pm 19	0,89 \pm 0,12	0,05	5,2 \pm 1,0	5,89 \pm 0,66
*	6	62,9 \pm 6,8	193 \pm 17	5,6 \pm 0,1	102 \pm 16	0,63 \pm 0,09	0,04	5,2 \pm 1,0	16,48 \pm 2,35
* 3	7	50,0 \pm 5,2	203 \pm 23	5,9 \pm 0,7	95 \pm 15	0,56 \pm 0,08	0,03	4,1 \pm 0,6	18,00 \pm 1,91
*	8	56,3 \pm 3,4	216 \pm 20	6,4 \pm 0,7	104 \pm 11	0,57 \pm 0,10	0,04	4,3 \pm 0,8	18,78 \pm 2,22
*	9	55,3 \pm 3,5	205 \pm 15	6,9 \pm 0,9	115 \pm 13	0,54 \pm 0,09	0,03	3,9 \pm 0,8	18,70 \pm 2,42
* 4	10	55,3 \pm 5,0	184 \pm 18	5,3 \pm 0,9	116 \pm 11	0,52 \pm 0,08	0,07	3,5 \pm 0,8	19,24 \pm 2,48

VIb

T	M		Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br
hr			$\mu\text{Eq}/\text{Kg}/\text{min.}$			$\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min.}$			
1	2		10,0 \pm 0,9	0,23 \pm 0,04	5,6 \pm 0,8	50 \pm 7	1,7	253 \pm 53	3,5 \pm 0,8
	3		10,0 \pm 0,5	0,24 \pm 0,02	6,2 \pm 0,8	50 \pm 8	1,5	228 \pm 50	3,5 \pm 1,0
2	4		11,0 \pm 1,0	0,26 \pm 0,02	5,8 \pm 0,4	54 \pm 4	2,4	212 \pm 44	4,3 \pm 1,0
*	5		11,5 \pm 0,6	0,28 \pm 0,04	6,8 \pm 1,0	41 \pm 5	1,2	159 \pm 23	210,8 \pm 35,6
*	6		12,0 \pm 1,2	0,35 \pm 0,04	6,4 \pm 1,1	30 \pm 3	1,1	168 \pm 40	587,7 \pm 47,0
* 3	7		11,7 \pm 1,5	0,34 \pm 0,04	5,5 \pm 1,0	25 \pm 4	0,6	122 \pm 17	601,4 \pm 51,4
*	8		12,1 \pm 0,9	0,36 \pm 0,03	5,8 \pm 0,7	25 \pm 4	0,8	121 \pm 25	614,4 \pm 61,3
*	9		11,3 \pm 0,7	0,38 \pm 0,06	6,3 \pm 0,6	23 \pm 4	0,7	111 \pm 18	604,6 \pm 85,6
* 4	10		10,1 \pm 0,9	0,29 \pm 0,06	6,4 \pm 0,8	22 \pm 3	1,5	97 \pm 15	642,4 \pm 93,4

TABLA VII .- EXPERIMENTOS DEL TIPO BR+TC .

Muestras 1 a 4 (30 min. cada una): condiciones de control .
 Muestras 5 a 7 (20 min. cada una): infusión de bilirrubina (*)
 a dosis de 1,5 mg/Kg/min.
 Muestras 8 a 10 (20 min. cada una):infusión conjunta (**) de
 bilirrubina (1,5 mg/Kg/min.) y taurocolato (1mg/Kg/min.)
 Valores medios \pm E.E.M. de Flujo (VIIa) , Concentración (VIIa) y
 Producción (VIIb) de Na^+ , K^+ , Cl^- , fosfolípidos , colesterol ,
 taurocolato y bilirrubina .

VIIa

N = 6

T	M	Flujo	Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br
hr		$\mu\text{l/Kg/min.}$	mEq/L						
1	2	66,0 \pm 5,8	161 \pm 2	4,4 \pm 0,7	70 \pm 9	1,08 \pm 0,21	0,06	5,6 \pm 0,6	0,09 \pm 0,01
	3	70,3 \pm 4,7	164 \pm 4	5,0 \pm 0,7	78 \pm 18	0,98 \pm 0,09	0,04	5,4 \pm 1,2	0,10 \pm 0,01
2	4	65,4 \pm 7,0	158 \pm 9	4,3 \pm 0,8	85 \pm 12	1,06 \pm 0,10	0,05	4,1 \pm 0,8	0,11 \pm 0,01
*	5	71,2 \pm 6,6	159 \pm 5	5,1 \pm 0,6	77 \pm 12	0,86 \pm 0,05	0,03	4,3 \pm 1,0	6,54 \pm 0,61
*	6	74,2 \pm 4,2	184 \pm 11	5,6 \pm 1,3	76 \pm 10	0,71 \pm 0,04	0,01	3,9 \pm 0,8	14,86 \pm 1,08
* 3	7	78,3 \pm 4,0	178 \pm 7	5,6 \pm 1,2	77 \pm 16	0,75 \pm 0,04	0,01	3,1 \pm 0,8	16,89 \pm 1,17
**	8	88,4 \pm 7,5	179 \pm 5	5,0 \pm 0,6	75 \pm 10	0,73 \pm 0,09	0,01	12,6 \pm 2,1	13,97 \pm 1,24
**	9	92,9 \pm 6,9	174 \pm 5	4,6 \pm 0,7	68 \pm 14	0,82 \pm 0,07	0,01	12,8 \pm 1,5	12,59 \pm 1,31
***4	10	90,5 \pm 7,1	174 \pm 9	4,4 \pm 0,6	50 \pm 5	0,88 \pm 0,14	0,02	17,1 \pm 1,4	12,28 \pm 0,85

VIIb

T	M	Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br	
hr		$\mu\text{Eq/Kg/min.}$			$\mu\text{g/Kg/min.}$				
1	2	10,6 \pm 0,8	0,30 \pm 0,07	4,6 \pm 0,6	54 \pm 6	1,5	190 \pm 32	3,4 \pm 0,2	
	3	11,5 \pm 0,8	0,33 \pm 0,04	5,4 \pm 1,4	54 \pm 7	1,2	192 \pm 39	4,3 \pm 0,2	
2	4	10,3 \pm 0,9	0,24 \pm 0,02	5,6 \pm 1,0	53 \pm 7	1,2	133 \pm 12	4,0 \pm 0,3	
*	5	11,3 \pm 1,4	0,38 \pm 0,06	5,4 \pm 0,9	47 \pm 4	0,9	154 \pm 35	270,7 \pm 22,4	
*	6	13,6 \pm 0,5	0,39 \pm 0,06	5,7 \pm 0,9	41 \pm 2	0,4	150 \pm 30	642,8 \pm 49,1	
* 3	7	13,0 \pm 1,4	0,41 \pm 0,06	6,0 \pm 1,4	45 \pm 4	0,3	136 \pm 35	770,8 \pm 46,3	
**	8	15,8 \pm 1,3	0,42 \pm 0,06	6,7 \pm 1,2	50 \pm 7	0,3	568 \pm 53	719,0 \pm 69,0	
**	9	16,1 \pm 1,0	0,44 \pm 0,07	6,3 \pm 1,3	59 \pm 4	0,2	612 \pm 51	676,0 \pm 85,8	
***4	10	15,7 \pm 1,3	0,42 \pm 0,07	4,5 \pm 0,2	61 \pm 6	0,6	809 \pm 12	651,2 \pm 77,9	

TABLA VIII .- EXPERIMENTOS DEL TIPO BR+DHC .

Muestras 1 a 4 (30 min. cada una): condiciones de control .
 Muestras 5 a 7 (20 min. cada una): infusión de bilirrubina (*)
 a dosis de 1,5 mg/Kg/min.
 Muestras 8 a 10 (20 min. cada una): infusión conjunta (**) de
 bilirrubina (1,5 mg/Kg/min.) y dehidrocolato (1 mg/Kg/min.).
 Valores medios \pm E.E.M. de Flujo (VIIIa) , Concentración (VIIIa)
 y Producción (VIIIb) de Na⁺ , K⁺ , Cl⁻ , fosfolípidos, coleste-
 rol , taurocolato , bilirrubina y dehidrocolato .

VIIIa

N = 6

T	M	Flujo	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	F.L.	Col.	T.C.	Br	DHC
hr		μ l/Kg/min.	mEq/L							mg/l
1	2	62,5 \pm 3,5	194 \pm 20	5,0 \pm 0,4	94 \pm 19	1,07 \pm 0,09	0,06	9,3 \pm 1,4	0,12 \pm 0,02	
	3	66,4 \pm 5,5	192 \pm 18	5,2 \pm 0,2	97 \pm 12	0,98 \pm 0,11	0,05	7,8 \pm 1,7	0,10 \pm 0,02	
2	4	67,6 \pm 6,1	193 \pm 24	5,0 \pm 0,2	94 \pm 13	1,15 \pm 0,14	0,06	7,0 \pm 1,4	0,09 \pm 0,01	
*	5	70,6 \pm 4,7	188 \pm 21	4,8 \pm 0,3	87 \pm 10	0,82 \pm 0,09	0,03	5,4 \pm 1,0	6,51 \pm 0,64	
*	6	66,2 \pm 9,3	212 \pm 19	5,7 \pm 0,2	96 \pm 28	0,69 \pm 0,07	0,02	5,0 \pm 1,0	17,48 \pm 0,91	
* 3	7	70,0 \pm 7,1	226 \pm 41	6,0 \pm 0,6	86 \pm 23	0,66 \pm 0,05	0,02	5,0 \pm 1,2	19,45 \pm 1,97	
**	8	84,6 \pm 9,6	211 \pm 28	5,8 \pm 0,3	93 \pm 12	0,67 \pm 0,03	0,02	3,7 \pm 0,6	16,19 \pm 1,56	0,13 \pm 0,01
**	9	97,2 \pm 9,8	218 \pm 46	5,4 \pm 0,5	87 \pm 15	0,67 \pm 0,05	0,01	3,1 \pm 0,4	13,36 \pm 1,66	0,18 \pm 0,02
**4	10	100,1 \pm 10,0	230 \pm 36	5,3 \pm 0,2	99 \pm 6	0,69 \pm 0,05	0,01	2,9 \pm 0,4	13,63 \pm 1,53	0,22 \pm 0,03

VIIIb

T	M	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	F.L.	Col.	T.C.	Br	DHC
hr		μ Eq/Kg/min.			μ g/Kg/min.				
1	2	12,2 \pm 1,9	0,32 \pm 0,04	5,8 \pm 1,1	52 \pm 4	1,4	294 \pm 35	4,4 \pm 0,8	
	3	12,8 \pm 1,9	0,34 \pm 0,02	6,4 \pm 0,8	50 \pm 2	1,3	262 \pm 62	4,0 \pm 0,7	
2	4	13,1 \pm 2,3	0,33 \pm 0,02	6,3 \pm 0,9	59 \pm 4	1,6	249 \pm 59	3,7 \pm 0,7	
*	5	13,4 \pm 2,0	0,34 \pm 0,03	6,2 \pm 0,8	45 \pm 4	0,9	196 \pm 37	270,4 \pm 29,4	
*	6	14,2 \pm 3,0	0,37 \pm 0,02	6,1 \pm 1,4	37 \pm 7	0,5	170 \pm 23	674,0 \pm 85,9	
* 3	7	15,6 \pm 2,4	0,42 \pm 0,06	5,9 \pm 1,4	36 \pm 5	0,5	179 \pm 36	792,1 \pm 83,2	
**	8	17,8 \pm 2,6	0,48 \pm 0,03	7,8 \pm 1,1	44 \pm 4	0,5	159 \pm 21	795,2 \pm 74,0	11 \pm 2
**	9	20,7 \pm 2,8	0,52 \pm 0,05	8,3 \pm 1,2	51 \pm 8	0,5	155 \pm 26	755,1 \pm 94,0	18 \pm 2
**4	10	22,6 \pm 1,9	0,54 \pm 0,02	10,0 \pm 1,4	53 \pm 6	0,4	150 \pm 27	794,8 \pm 99,5	22 \pm 3

Paracetamol

TABLA IX .- EXPERIMENTOS DEL TIPO TC+BR.

Muestras 1 a 4 (30 min. cada una): periodo de control.

Muestras 5 a 7 (20 min. cada una): infusión de taurocolato (*) a dosis de 1mg/Kg/min.

Muestras 8 a 10 (20 min. cada una):infusión conjunta (**) de taurocolato (1mg/Kg/min.) y bilirrubina (1,5mg/Kg/min.).

Valores medios \pm E.E.M. de Flujo (IXa), Concentración (IXa) y Producción (IXb) de Na^+ , K^+ , Cl^- , fosfolípidos, colesterol,taurocolato y bilirrubina.

IXa N=6

T	M	Flujo	Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br
hr		$\mu\text{l}/\text{Kg}/\text{min.}$	mEq/L						
1	2	62,2 \pm 6,3	210 \pm 19	5,6 \pm 0,6	79 \pm 7	0,66 \pm 0,10	0,04	5,4 \pm 0,6	0,10 \pm 0,02
	3	62,7 \pm 7,0	218 \pm 31	6,8 \pm 0,5	78 \pm 7	0,75 \pm 0,15	0,04	5,2 \pm 0,8	0,09 \pm 0,02
2	4	62,2 \pm 9,8	224 \pm 17	6,4 \pm 1,2	78 \pm 14	0,82 \pm 0,14	0,06	4,7 \pm 0,8	0,09 \pm 0,02
*	5	72,6 \pm 9,8	249 \pm 20	5,6 \pm 0,4	68 \pm 11	1,20 \pm 0,19	0,06	7,4 \pm 0,8	0,08 \pm 0,01
*	6	72,0 \pm 8,0	246 \pm 22	5,4 \pm 0,9	57 \pm 10	1,54 \pm 0,21	0,06	9,1 \pm 0,8	0,07 \pm 0,01
* 3	7	68,0 \pm 6,1	249 \pm 25	5,7 \pm 0,6	66 \pm 6	1,72 \pm 0,13	0,06	9,5 \pm 0,8	0,07 \pm 0,01
**	8	70,8 \pm 5,8	276 \pm 54	6,1 \pm 1,0	60 \pm 7	1,27 \pm 0,23	0,04	8,9 \pm 0,6	4,8 \pm 0,7
**	9	74,4 \pm 9,1	271 \pm 49	7,4 \pm 0,8	50 \pm 7	0,87 \pm 0,12	0,03	8,7 \pm 0,8	13,5 \pm 1,1
**4	10	67,1 \pm 14,8	308 \pm 72	6,8 \pm 1,6	53 \pm 12	0,59 \pm 0,11	0,04	8,7 \pm 1,1	15,3 \pm 1,2

IXb

T	M		Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br
hr			$\mu\text{Eq}/\text{Kg}/\text{min.}$			$\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min.}$			
1	2		12,9 \pm 0,5	0,35 \pm 0,06	5,0 \pm 0,8	32 \pm 3	1,1	173 \pm 36	3,5 \pm 0,5
	3		13,4 \pm 0,8	0,43 \pm 0,05	4,9 \pm 0,8	37 \pm 8	1,1	170 \pm 41	3,2 \pm 0,7
2	4		14,5 \pm 2,3	0,39 \pm 0,06	4,6 \pm 1,0	39 \pm 8	1,4	149 \pm 39	3,1 \pm 0,5
*	5		18,1 \pm 3,2	0,40 \pm 0,05	4,8 \pm 0,3	66 \pm 7	1,6	274 \pm 43	3,4 \pm 0,6
*	6		17,9 \pm 3,4	0,38 \pm 0,05	4,0 \pm 0,8	85 \pm 11	1,7	334 \pm 31	3,0 \pm 0,6
* 3	7		17,1 \pm 3,2	0,38 \pm 0,05	4,5 \pm 0,6	91 \pm 11	1,5	333 \pm 27	2,8 \pm 0,6
**	8		19,7 \pm 4,8	0,43 \pm 0,07	4,2 \pm 0,6	69 \pm 8	1,1	322 \pm 6	200,0 \pm 36,0
**	9		19,7 \pm 1,7	0,55 \pm 0,08	3,7 \pm 0,5	41 \pm 5	0,7	331 \pm 27	548,0 \pm 48,0
**4	10		19,9 \pm 3,3	0,44 \pm 0,08	3,4 \pm 0,4	30 \pm 6	0,9	297 \pm 47	594,0 \pm 118,0

TABLA X .- EXPERIMENTOS DEL TIPO DHC+BR .

Muestras 1 a 4 (30 min. cada una): condiciones de control .
 Muestras 5 a 7 (20 min. cada una): infusión de dehidrocolato (*)
 a dosis de 1 mg/Kg/min.
 Muestras 8 a 10 (20 min. cada una): infusión conjunta (**) de
 dehidrocolato (1 mg/Kg/min.) y bilirrubina (1,5 mg/Kg/min.)
 Valores medios \pm E.E.M. de Flujo (Xa) , Concentración (Xa) y
 Producción (Xb) de Na^+ , K^+ , Cl^- , fosfolípidos , colesterol
 taurocolato , bilirrubina y dehidrocolato .

Xa

N = 6

T	M	Flujo	Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br	DHC
hr		$\mu\text{l/Kg/min.}$	mEq/L							mg/L
1	2	62,0 \pm 7,4	191 \pm 24	5,7 \pm 0,7	116 \pm 22	0,86 \pm 0,14	0,07	6,8 \pm 1,0	0,10 \pm 0,01	
	3	67,5 \pm 4,7	185 \pm 27	5,3 \pm 0,7	140 \pm 22	1,00 \pm 0,22	0,06	5,4 \pm 0,4	0,11 \pm 0,01	
2	4	66,3 \pm 3,5	200 \pm 42	5,3 \pm 0,8	148 \pm 32	0,95 \pm 0,24	0,05	3,9 \pm 0,6	0,12 \pm 0,01	
*	5	94,2 \pm 8,4	192 \pm 25	4,8 \pm 0,4	124 \pm 26	0,87 \pm 0,17	0,04	3,5 \pm 0,6	0,09 \pm 0,01	0,39 \pm 0,06
*	6	99,1 \pm 5,0	199 \pm 29	4,1 \pm 1,1	142 \pm 33	0,97 \pm 0,14	0,04	2,7 \pm 0,6	0,07 \pm 0,01	0,43 \pm 0,06
* 3	7	97,8 \pm 3,9	192 \pm 28	4,2 \pm 1,3	136 \pm 37	0,75 \pm 0,18	0,04	2,5 \pm 0,4	0,07 \pm 0,01	0,43 \pm 0,04
**	8	92,8 \pm 10,0	205 \pm 32	4,7 \pm 1,1	146 \pm 36	0,68 \pm 0,21	0,03	2,3 \pm 0,4	6,00 \pm 0,50	0,40 \pm 0,03
**	9	98,9 \pm 12,5	234 \pm 38	5,7 \pm 0,4	132 \pm 31	0,55 \pm 0,10	0,02	2,3 \pm 0,4	13,03 \pm 1,59	0,36 \pm 0,09
**4	10	98,6 \pm 12,8	244 \pm 39	4,9 \pm 0,3	126 \pm 38	0,44 \pm 0,10	0,02	2,7 \pm 0,6	15,00 \pm 1,05	0,28 \pm 0,06

Xb

T	M	Na^+	K^+	Cl^-	F.L.	Col.	T.C.	Br	DHC
hr		$\mu\text{Eq/Kg/min.}$			$\mu\text{g/Kg/min.}$				
1	2	11,8 \pm 1,4	0,34 \pm 0,05	7,0 \pm 1,0	41 \pm 8	1,7	224 \pm 60	3,9 \pm 0,8	
	3	12,4 \pm 1,8	0,35 \pm 0,04	9,3 \pm 1,2	52 \pm 9	1,6	187 \pm 29	4,2 \pm 0,3	
2	4	13,2 \pm 3,0	0,35 \pm 0,06	9,6 \pm 1,7	48 \pm 9	1,3	132 \pm 18	4,5 \pm 0,4	
*	5	18,1 \pm 2,6	0,46 \pm 0,04	11,4 \pm 1,8	62 \pm 10	1,5	163 \pm 24	4,9 \pm 0,3	36 \pm 5
*	6	19,6 \pm 2,2	0,40 \pm 0,11	13,9 \pm 3,0	74 \pm 8	1,6	133 \pm 26	4,2 \pm 0,4	43 \pm 5
* 3	7	18,6 \pm 2,1	0,41 \pm 0,11	13,1 \pm 3,4	57 \pm 12	1,4	132 \pm 19	4,0 \pm 0,5	42 \pm 3
**	8	18,8 \pm 2,4	0,39 \pm 0,05	13,2 \pm 2,7	47 \pm 11	1,1	111 \pm 20	324,5 \pm 48,8	37 \pm 3
**	9	23,2 \pm 4,7	0,56 \pm 0,07	13,6 \pm 2,2	41 \pm 5	0,9	117 \pm 15	744,5 \pm 71,8	30 \pm 5
**4	10	24,2 \pm 5,0	0,49 \pm 0,07	11,9 \pm 3,0	33 \pm 6	0,7	129 \pm 19	858,2 \pm 83,2	27 \pm 5

Fig. 1.- Comparación de las variaciones porcentuales de diferentes parámetros a lo largo de dos experimentos BISS (●), ICTC (▲), ICDHC (○) .

1a. Flujo.

1b. Concentración y producción de Na^+ y K^+ .

1c. Concentración de taurocolato , bilirrubina, colesterol y fosfolípidos.

1d. Producción de taurocolato , bilirrubina , colesterol y fosfolípidos.

Nivel de significación para los puntos entre los que se sitúan los asteriscos , obtenido a partir de los valores absolutos :

- $p < 0,05$ *
- $p < 0,01$ **
- $p < 0,001$ ***

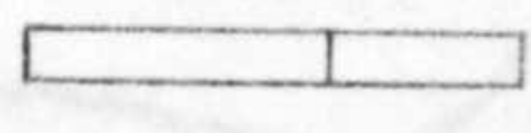
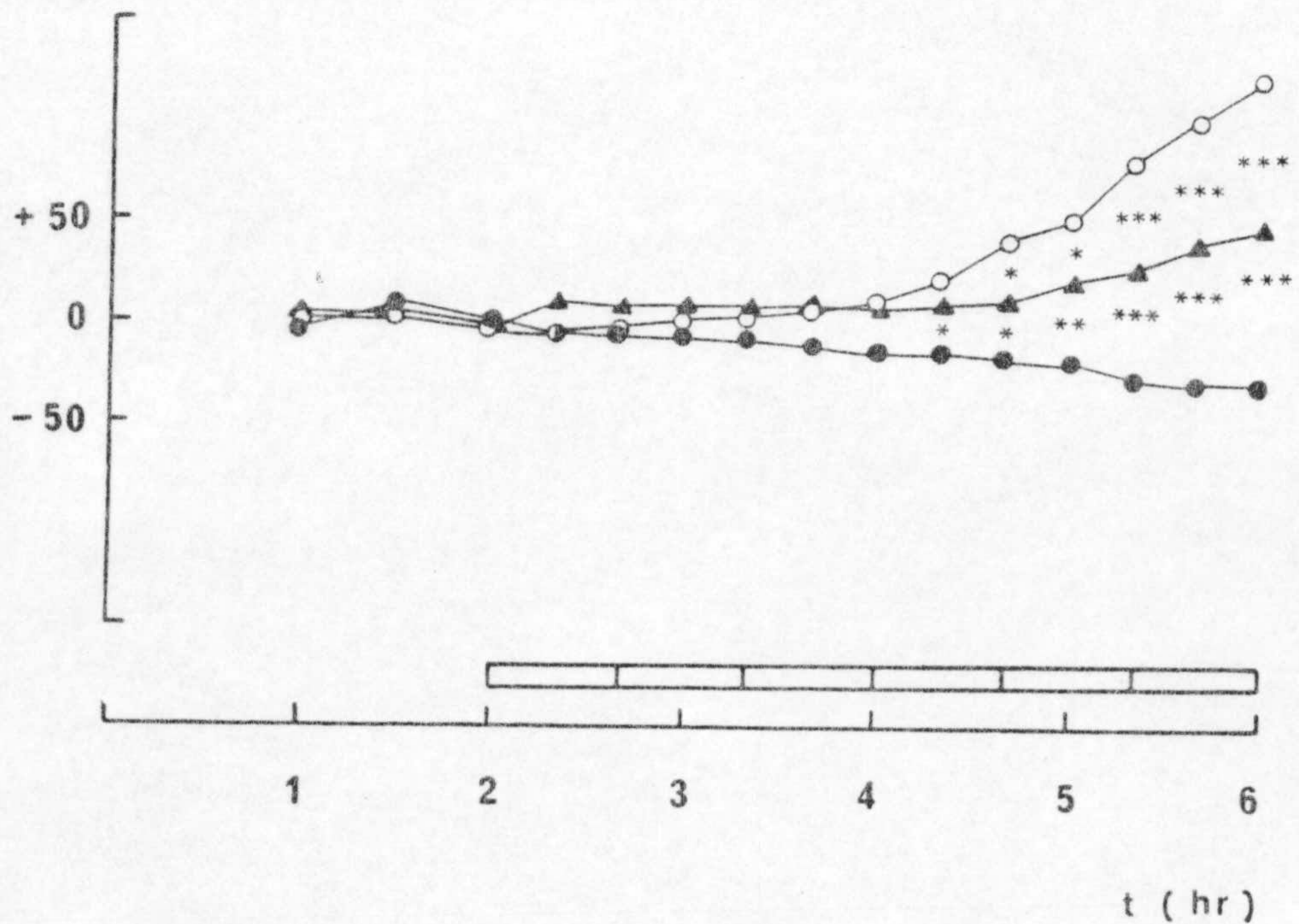
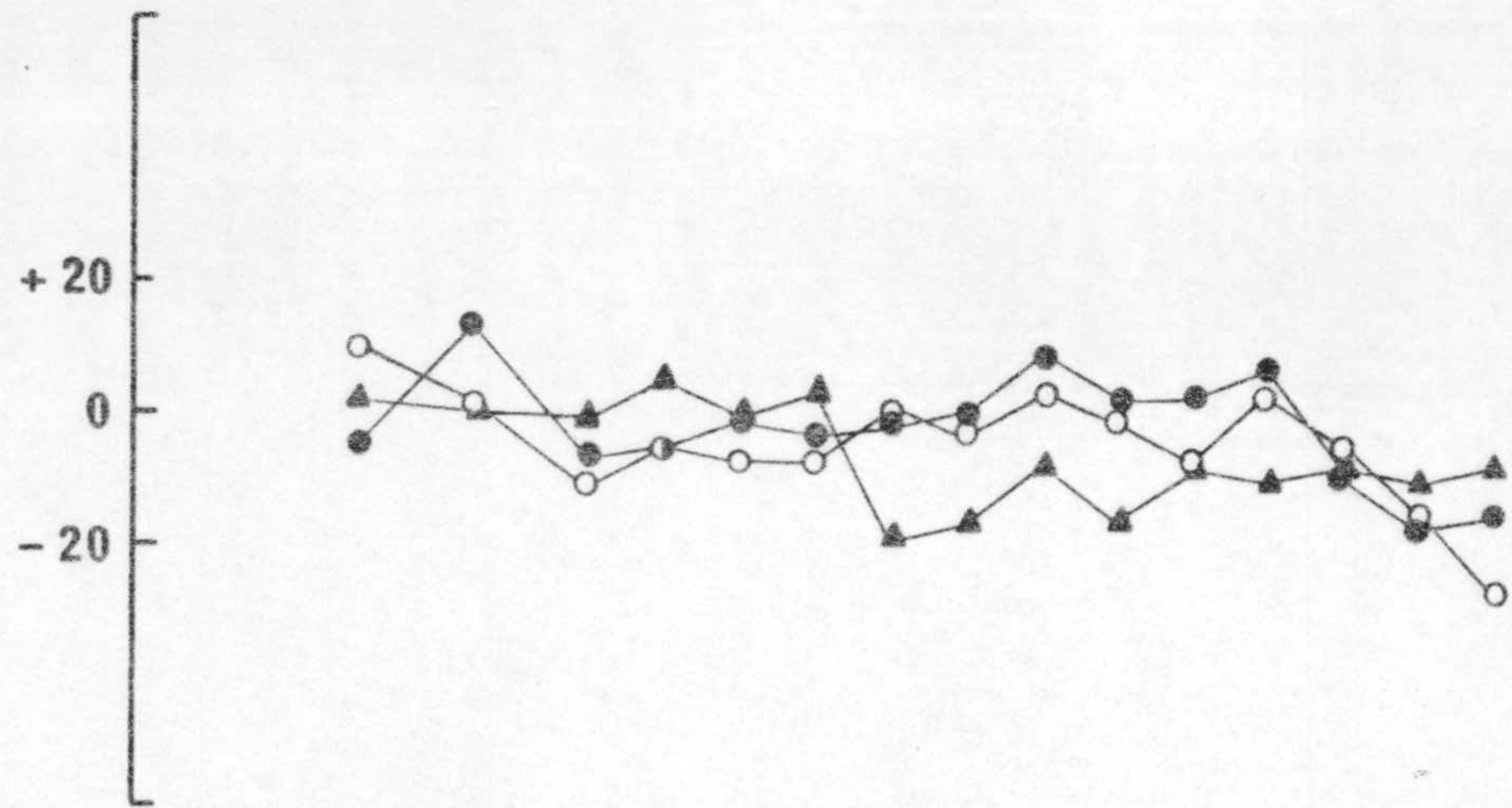
 Dosis sucesivas de infusión de sal biliar.

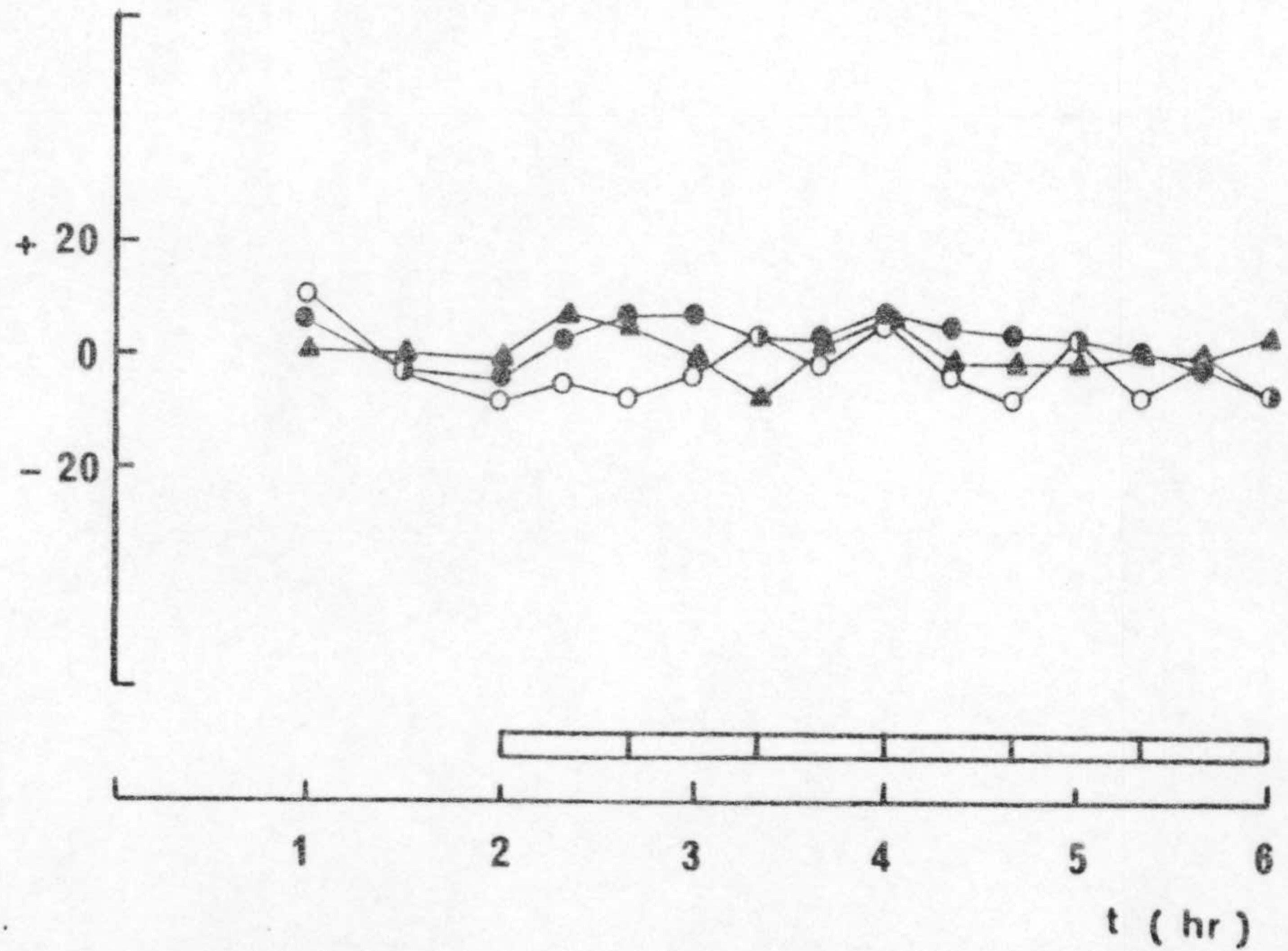
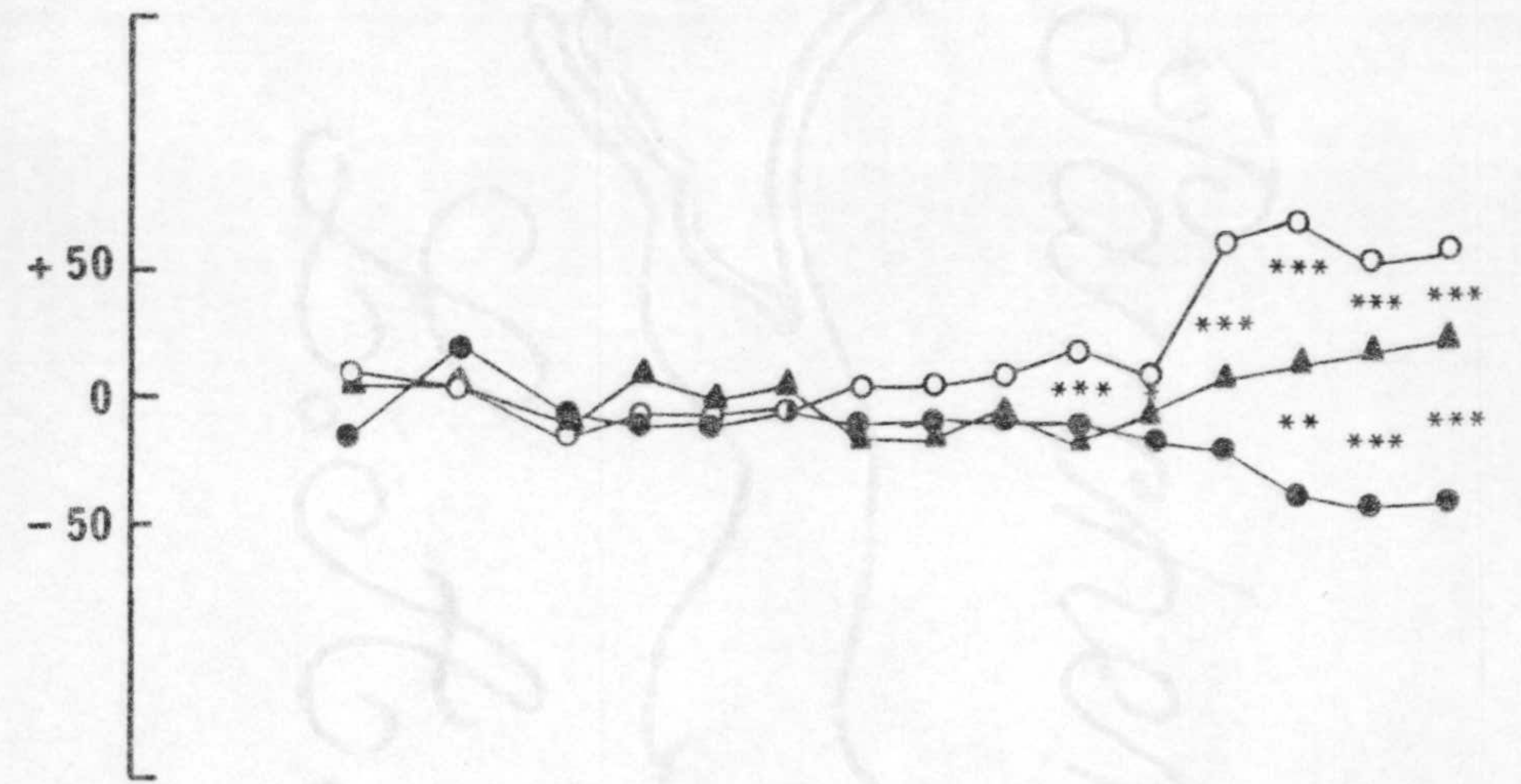
Fig. 1a.- FLUJO.



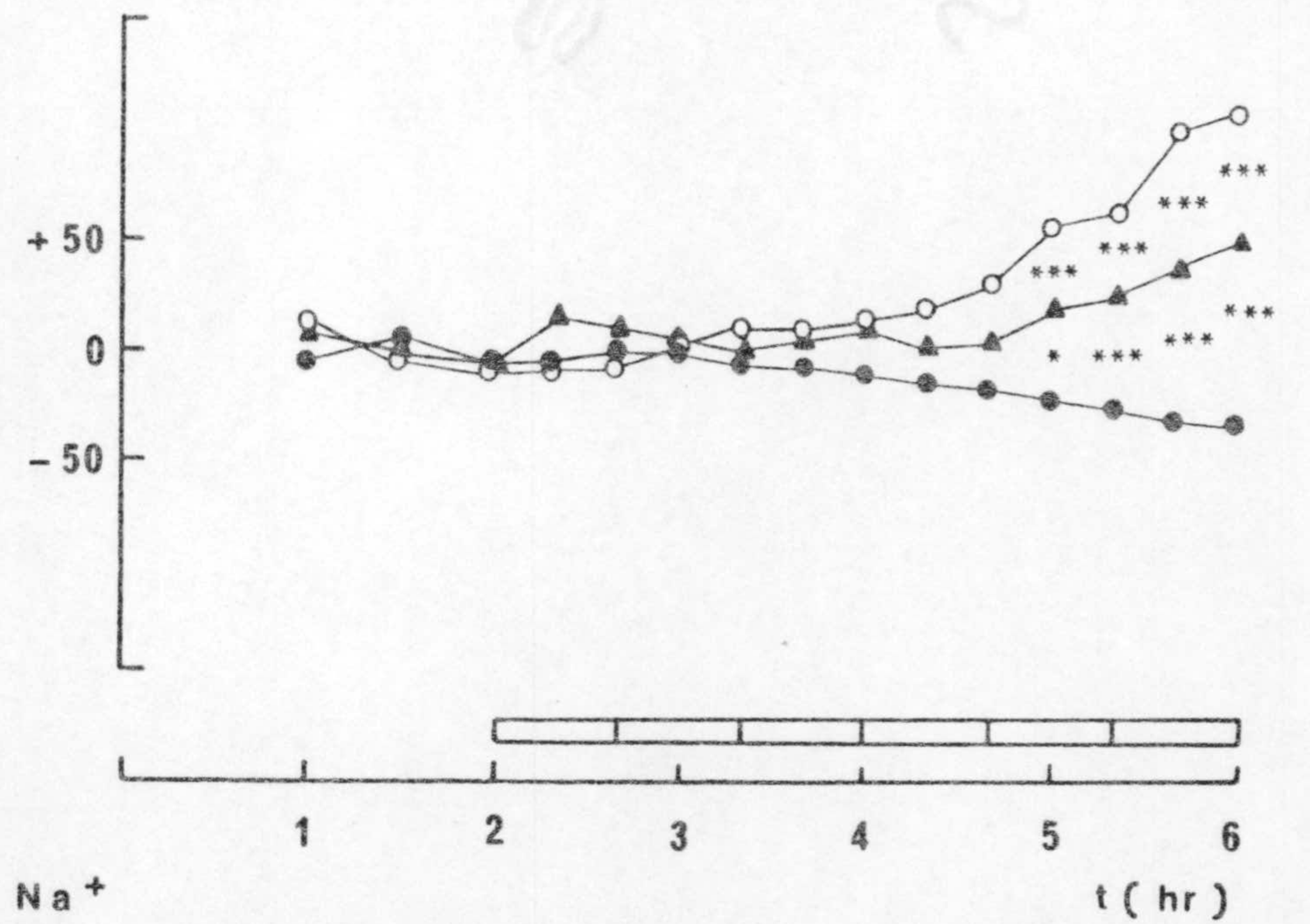
CONCENTRACION



PRODUCCION



K⁺

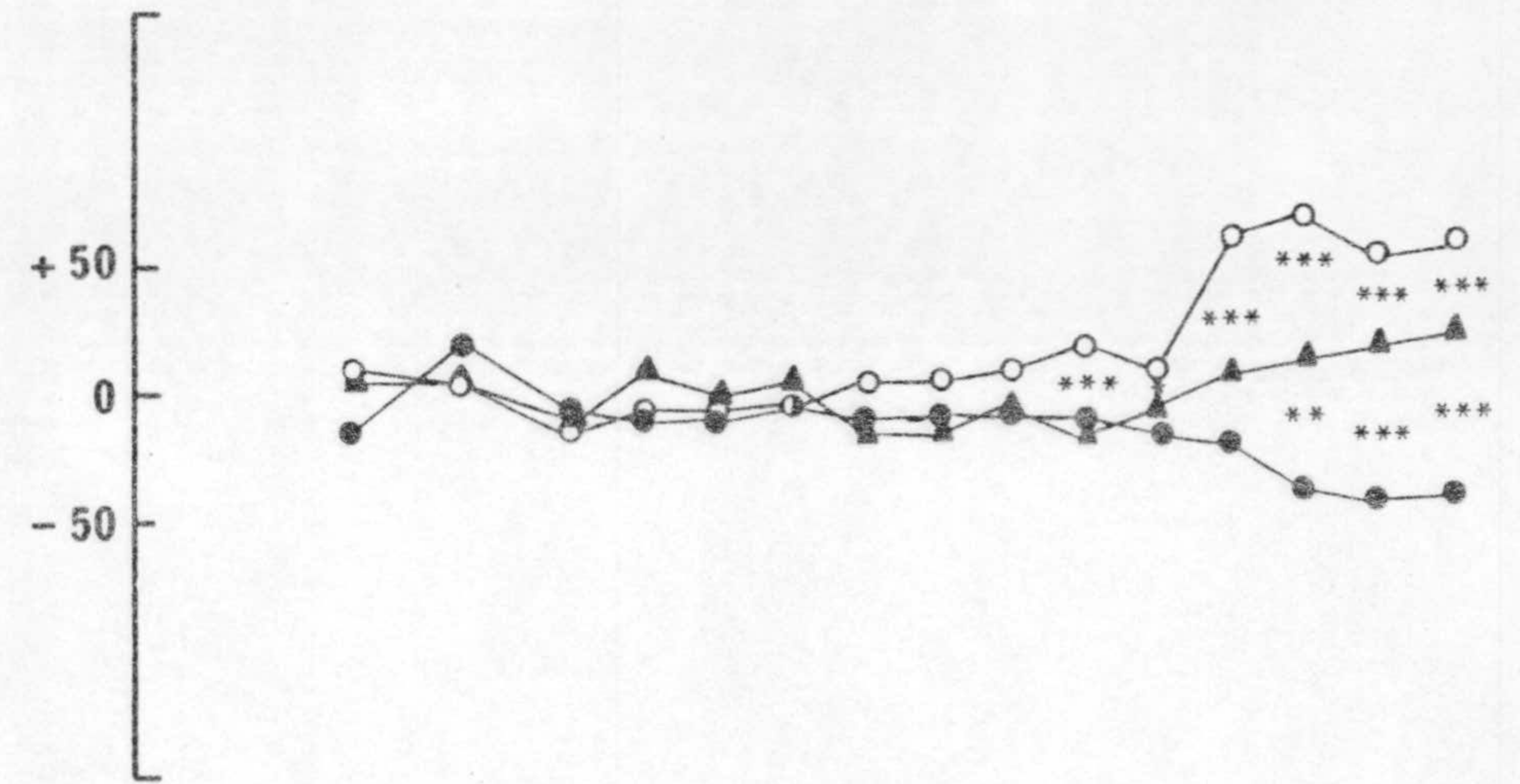


Na⁺

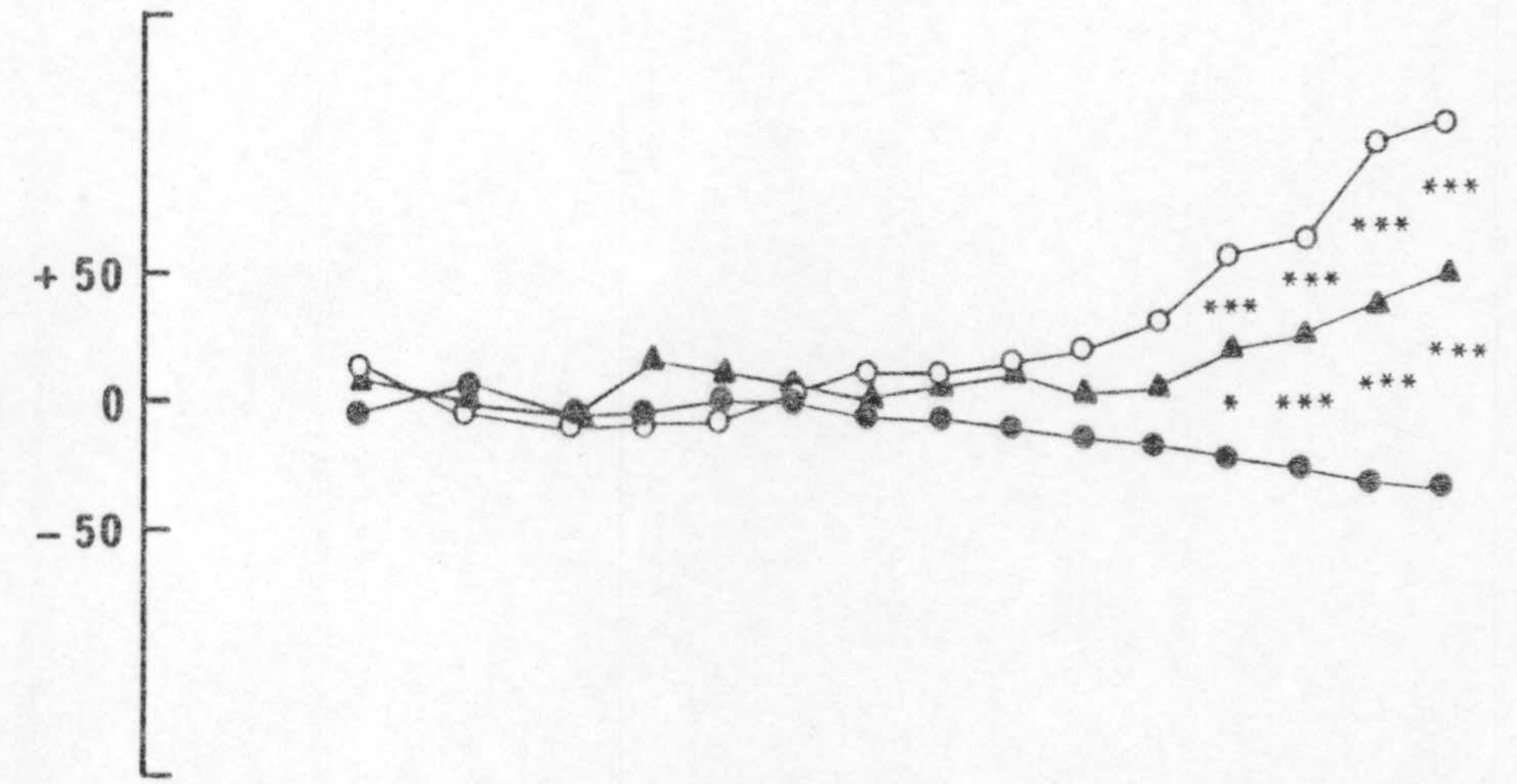
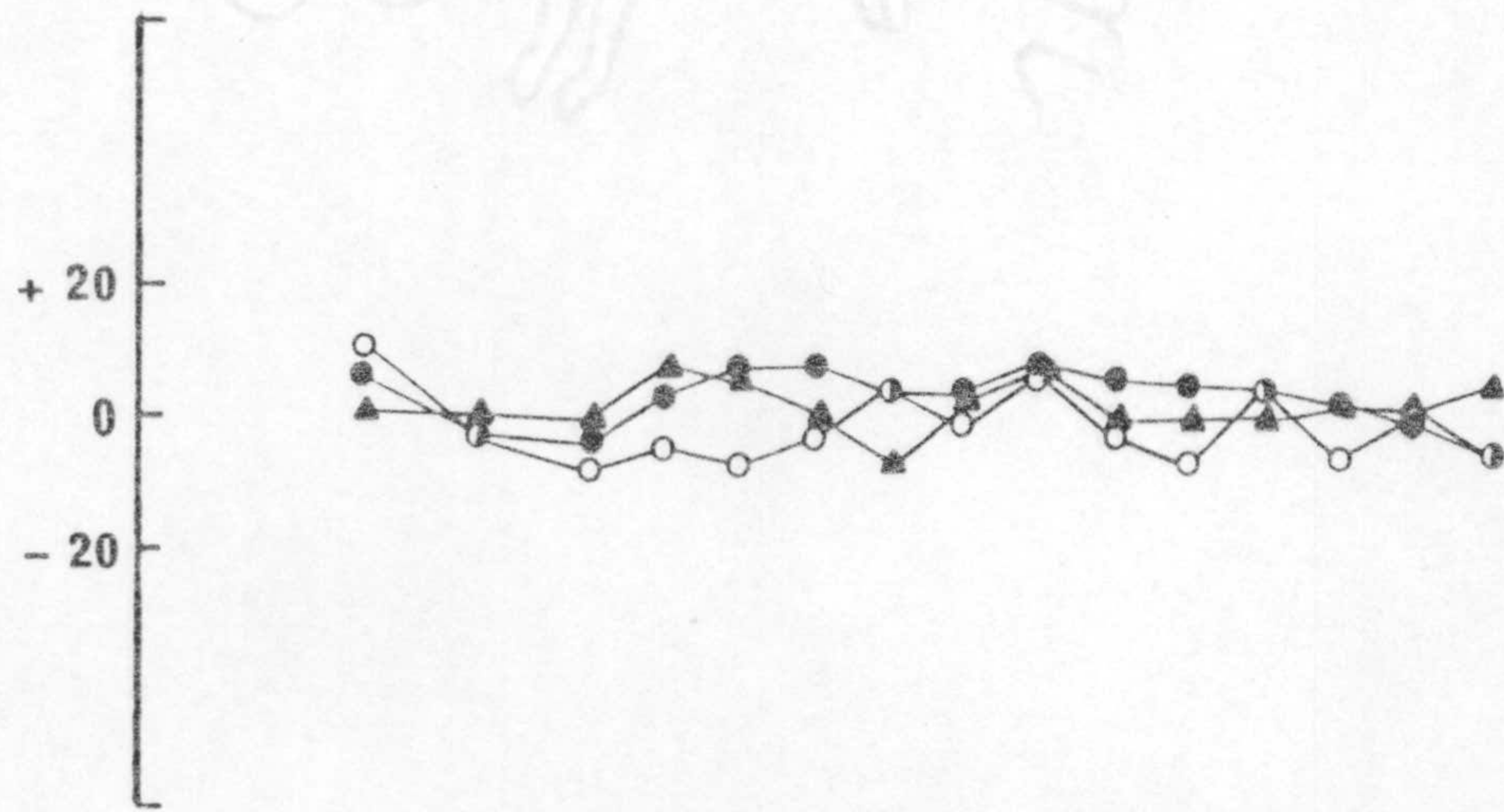
CONCENTRACION



PRODUCCION



K⁺



Na⁺

1 2 3 4 5 6
t (hr)

1 2 3 4 5 6
t (hr)

Fig. 1b

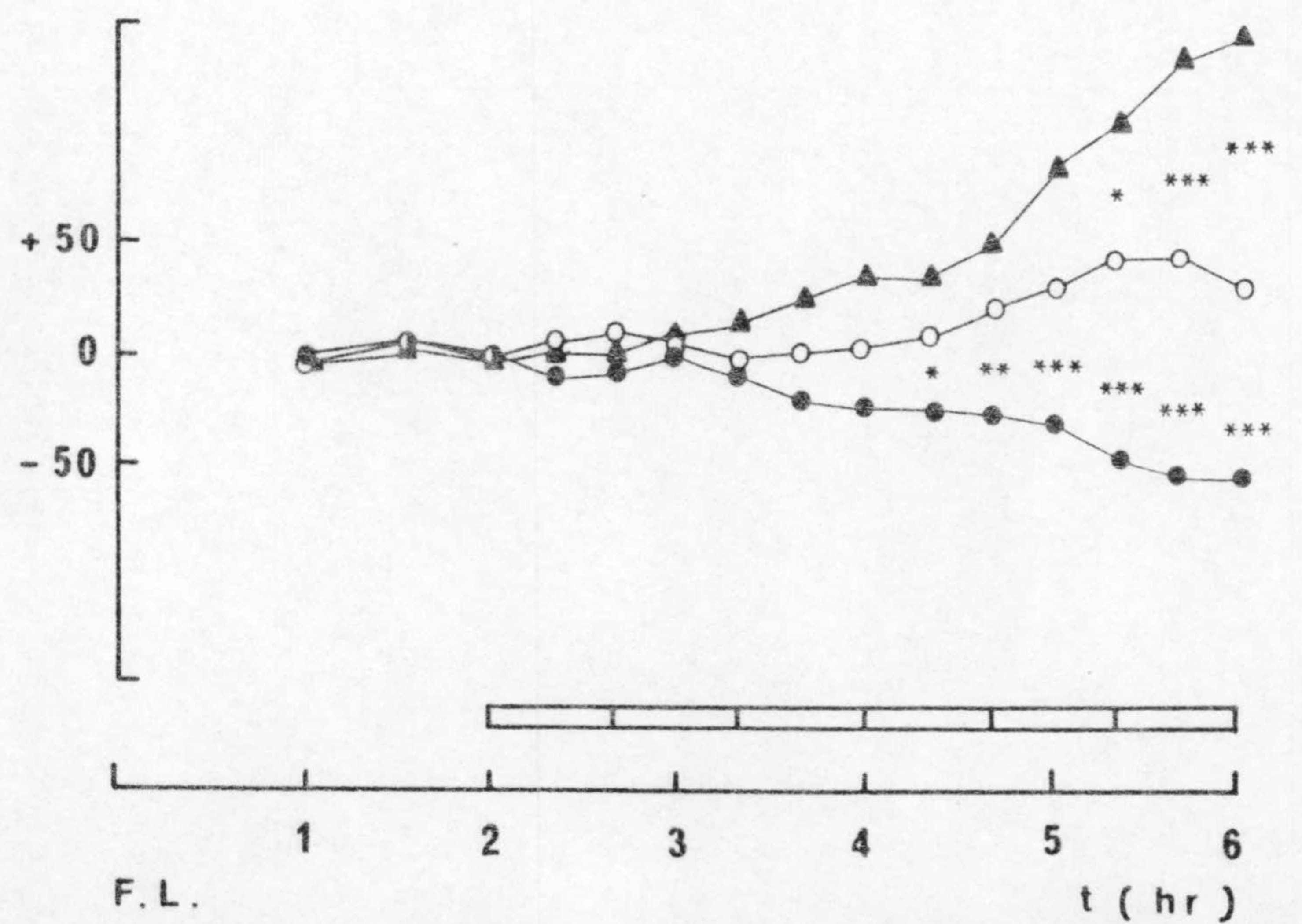
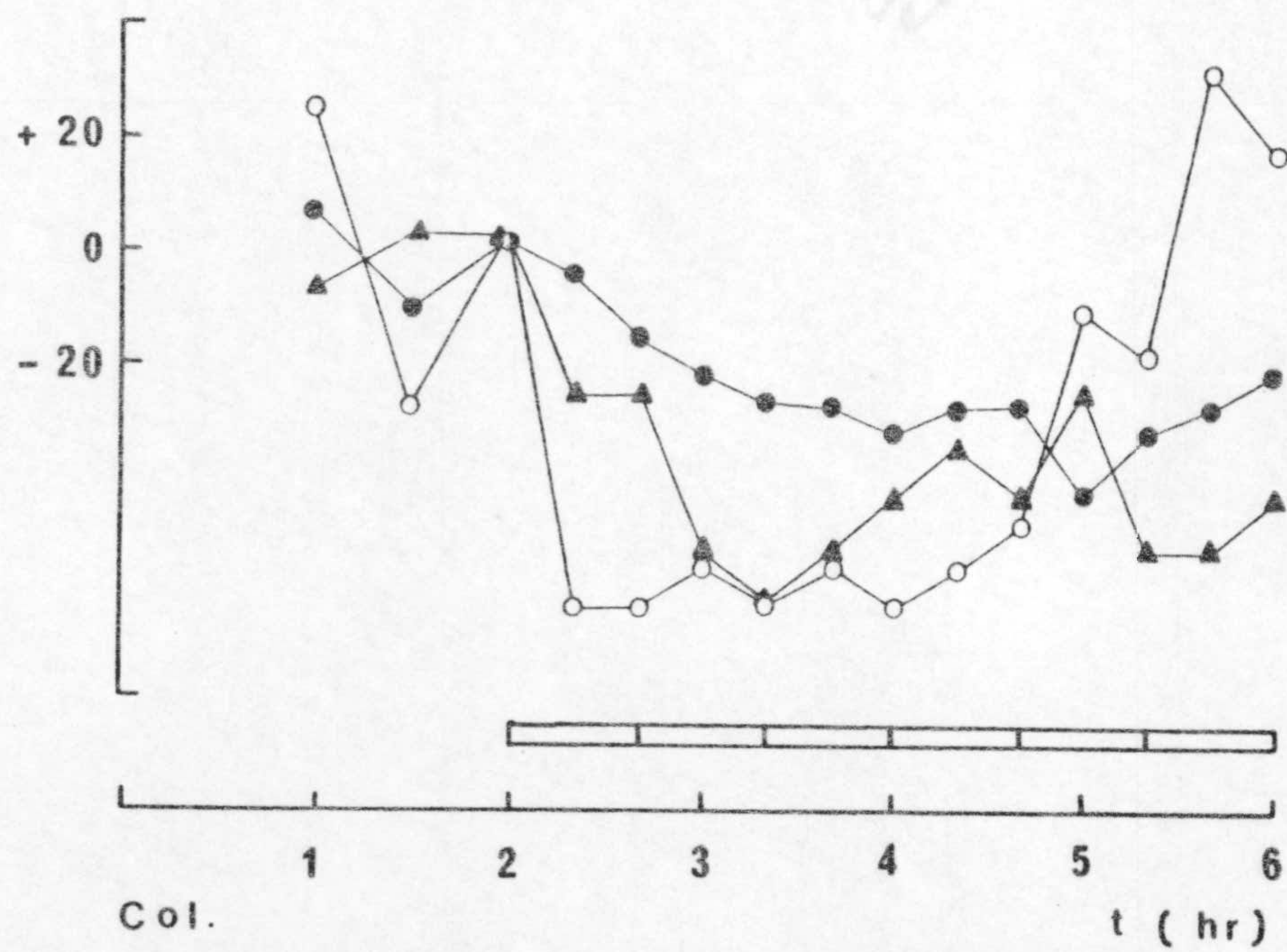
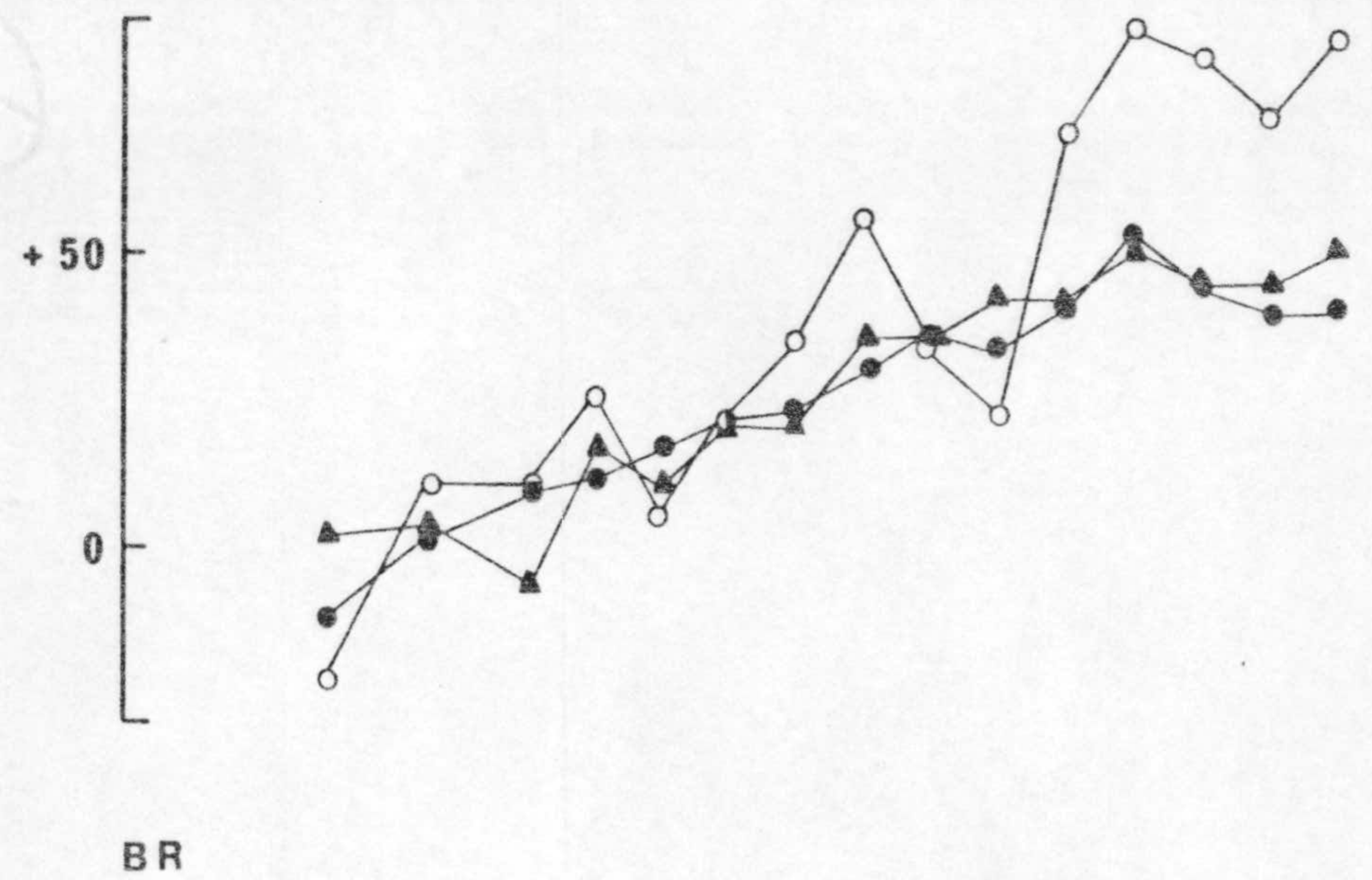
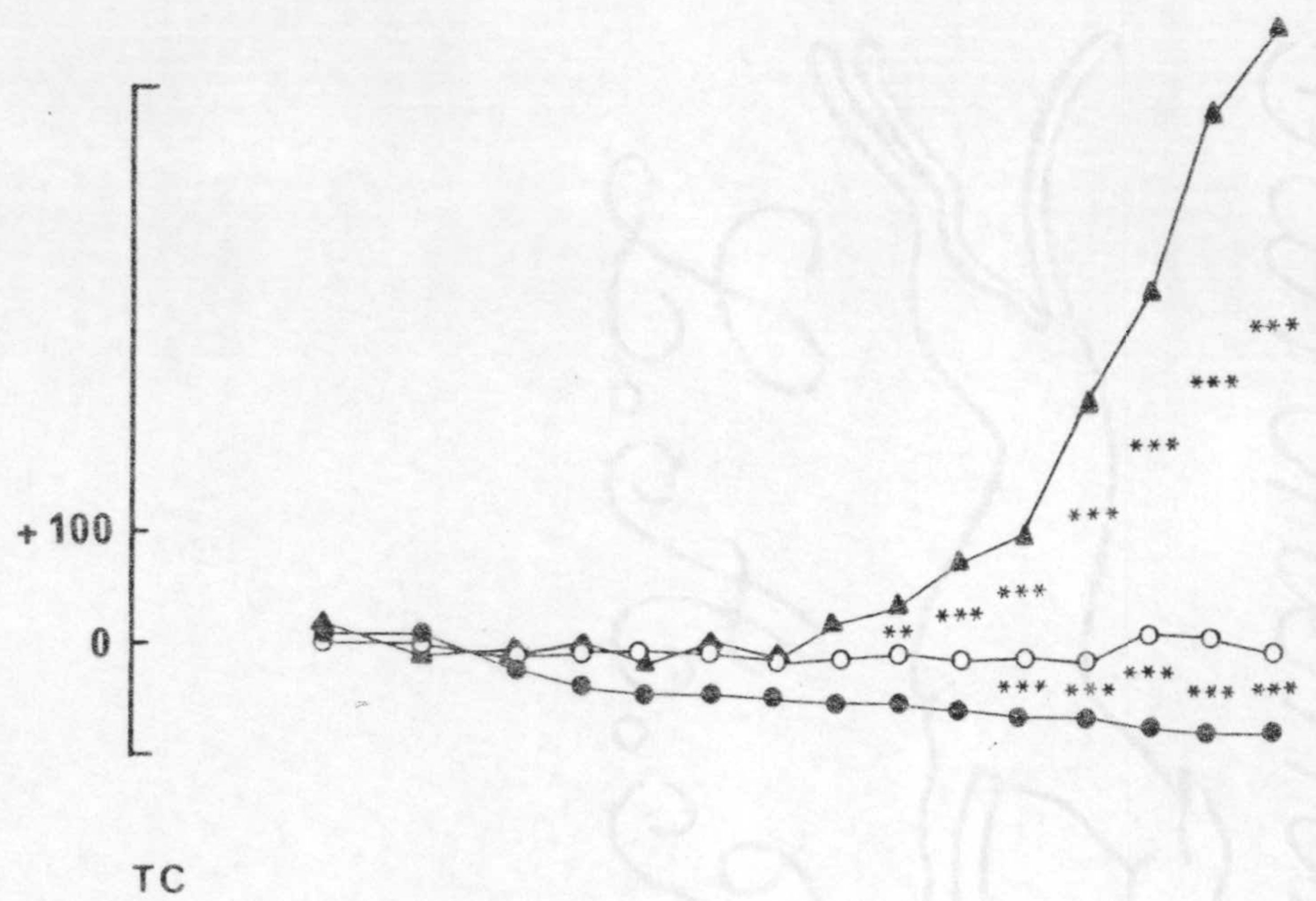


Fig. 1d.- PRODUCTION.

Fig. 2.- Comparación de las variaciones porcentuales de diferentes parámetros a lo largo de los experimentos BISS (●), TC (▲) y DHC (○).

2a. Flujo.

2b. Concentración y Producción de Na^+ y K^+ .

2c. Concentración de taurocolato , bilirubina, colesterol y fosfolípidos .

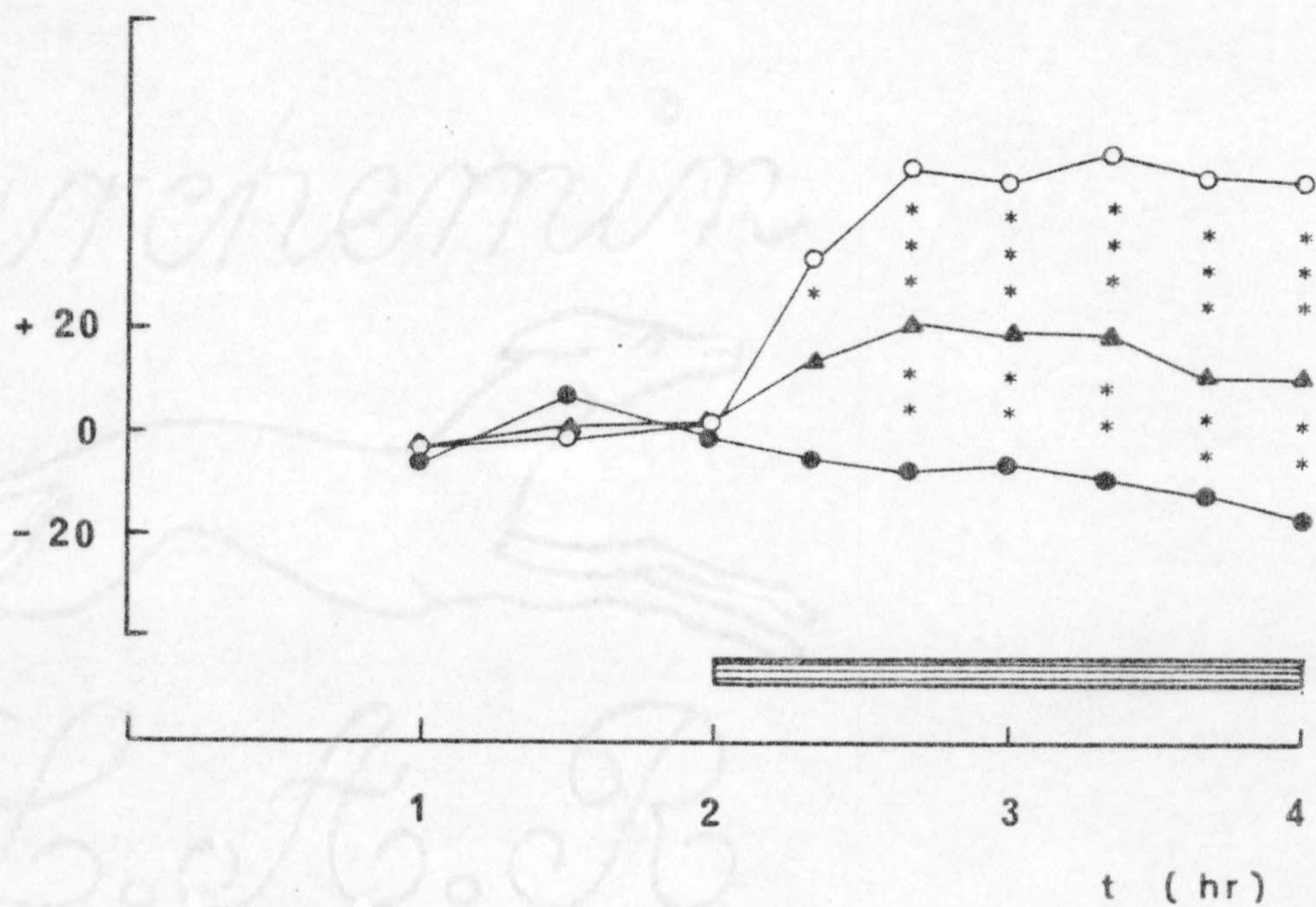
2d. Producción de taurocolato , bilirrubina , colesterol y fosfolípidos .

Nivel de significación para los puntos entre los que se sitúan los asteriscos , obtenido a partir de los valores absolutos :

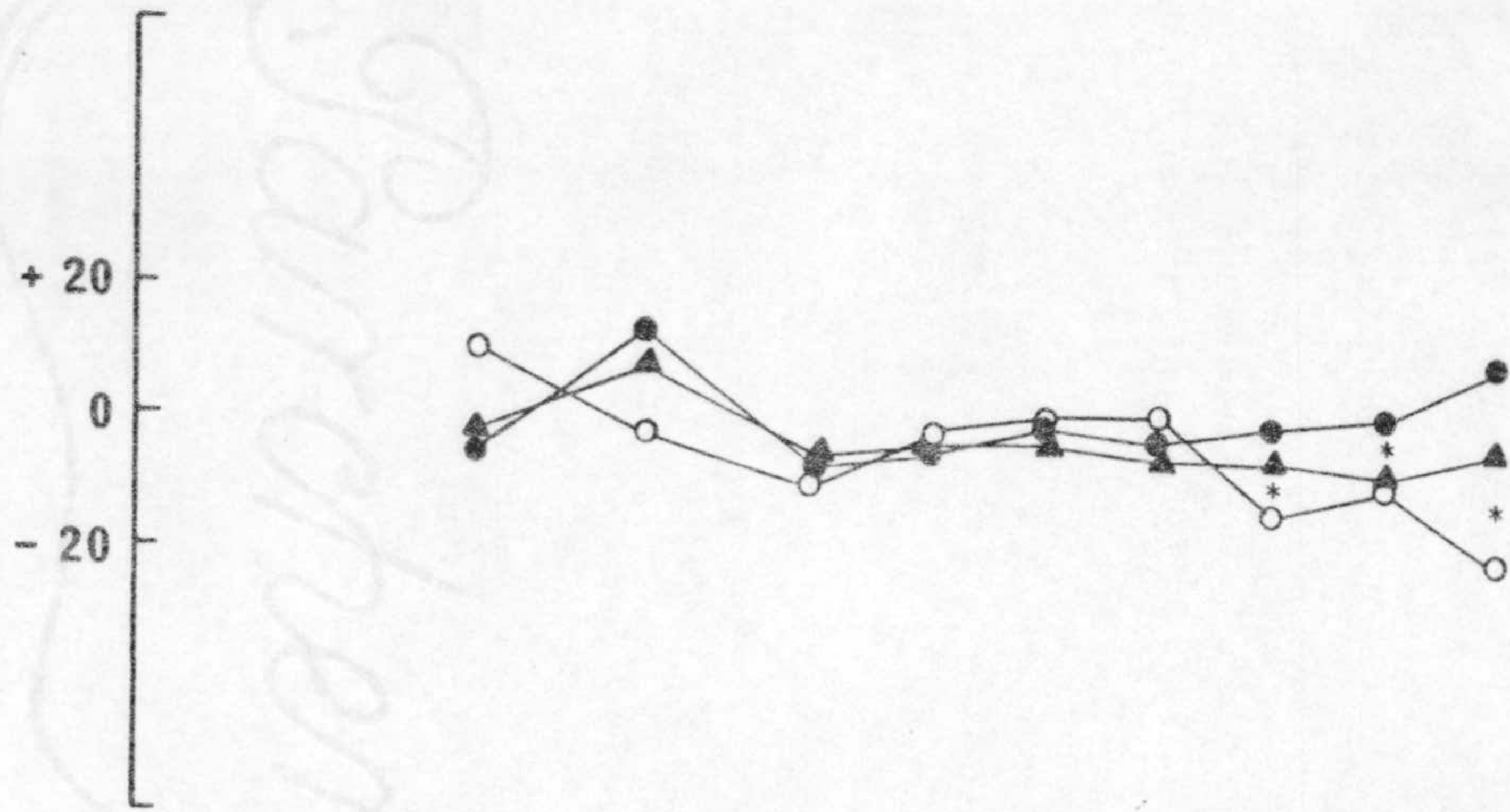
- $p < 0,05$ *
- $p < 0,01$ **
- $p < 0,001$ ***

▬ Infusión de sal biliar .

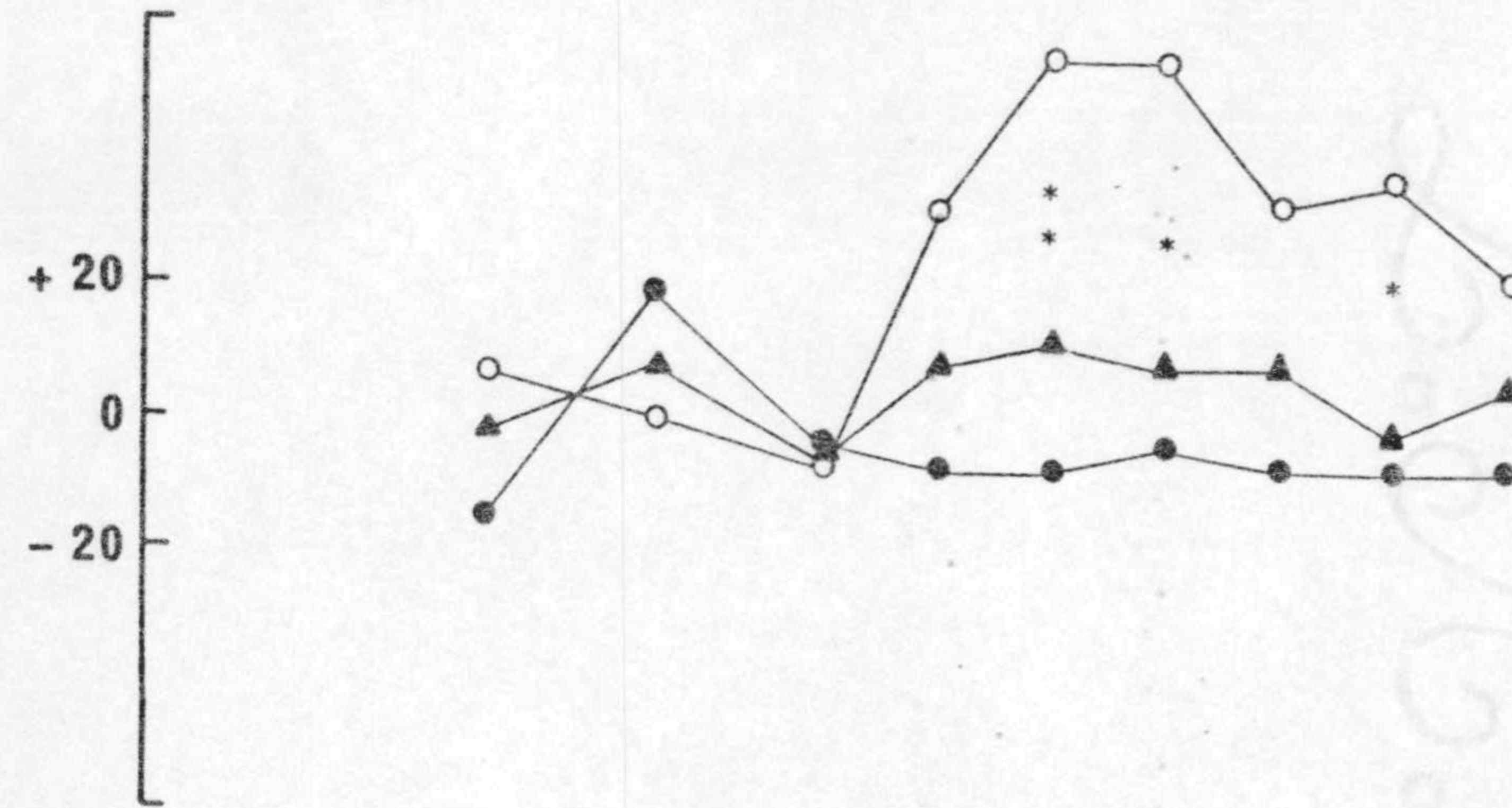
Fig. 2a.- FLUJO.



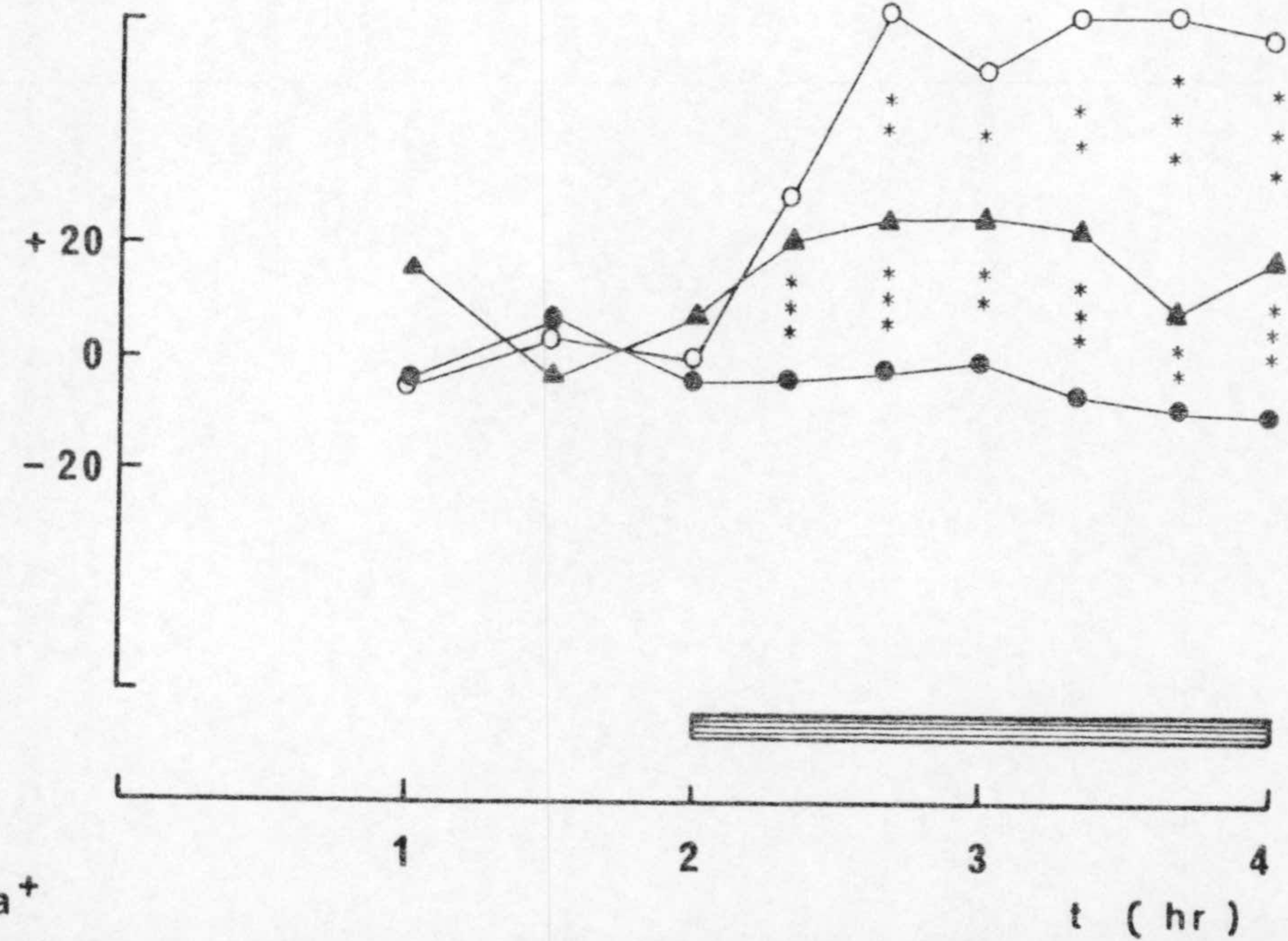
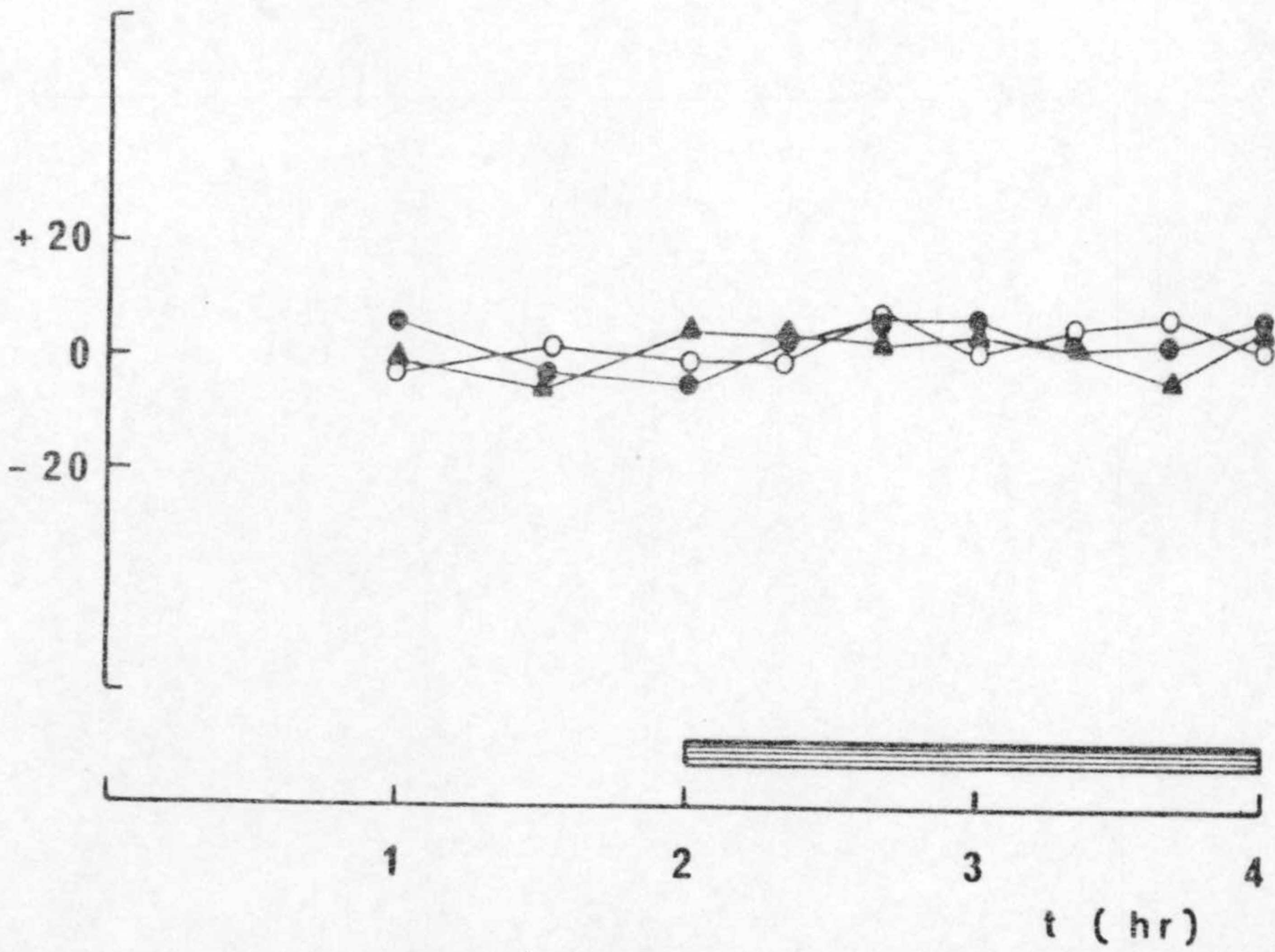
CONCENTRACION



PRODUCCION



K⁺



Na⁺

Fig. 2b.

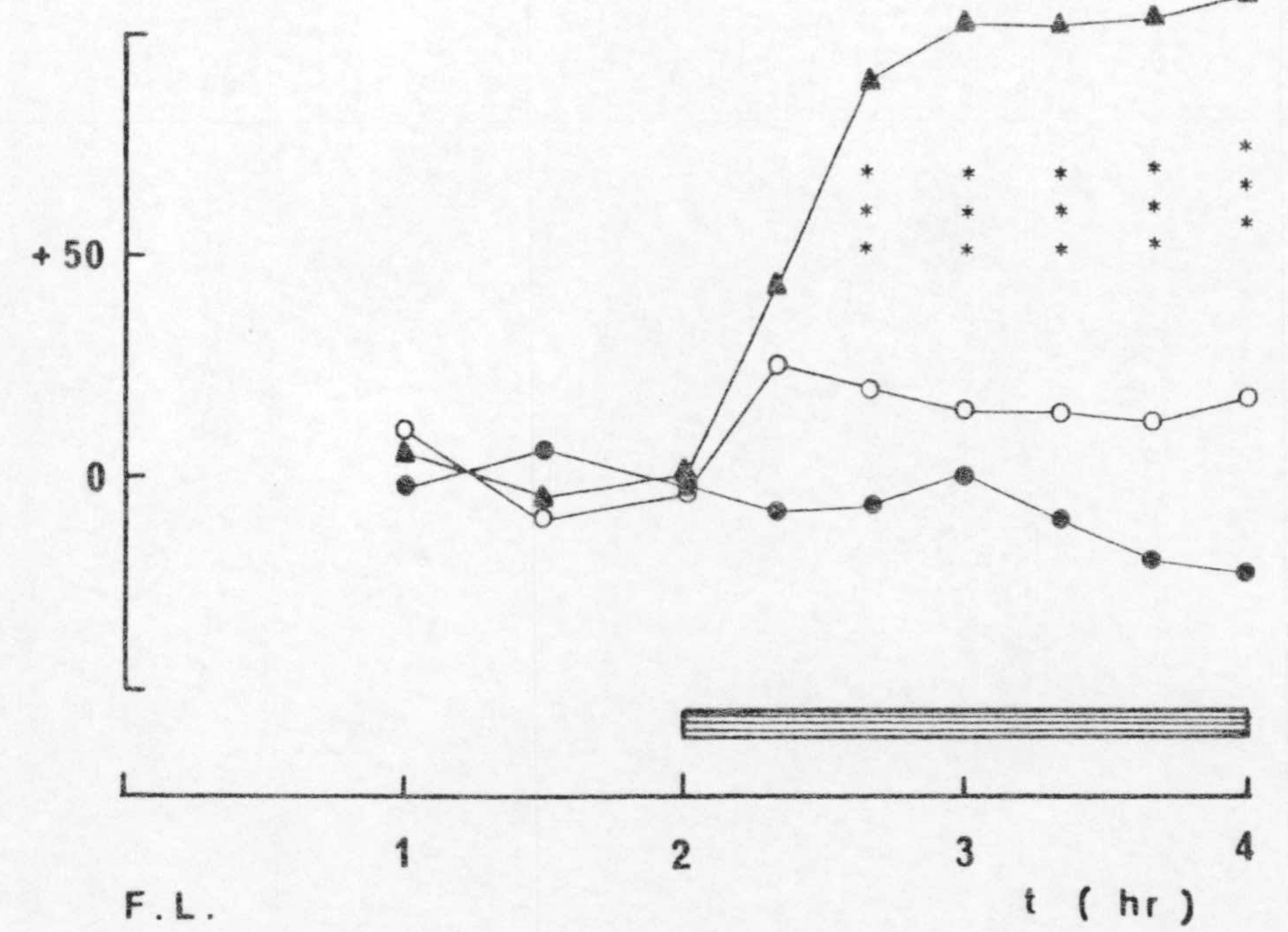
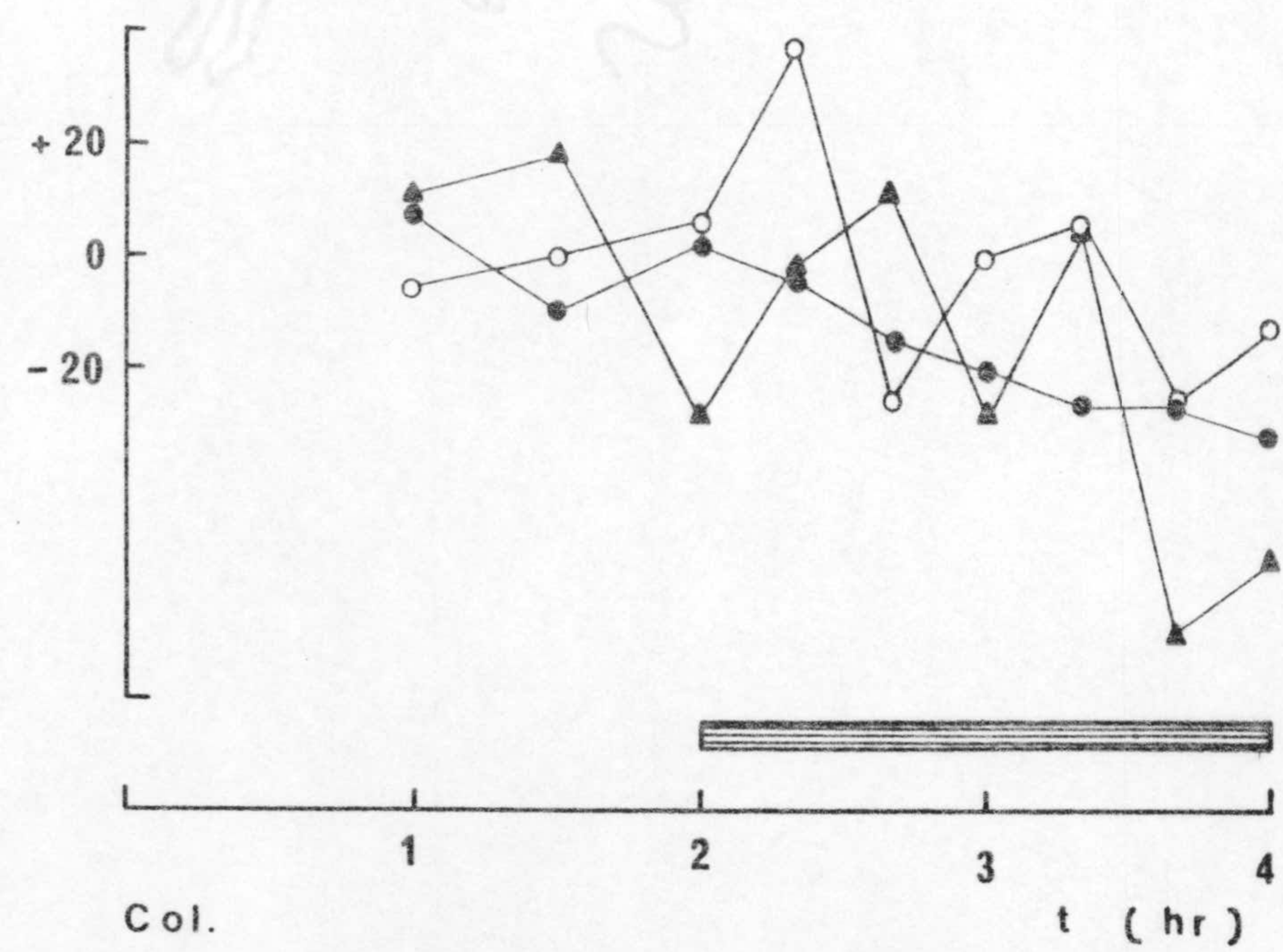
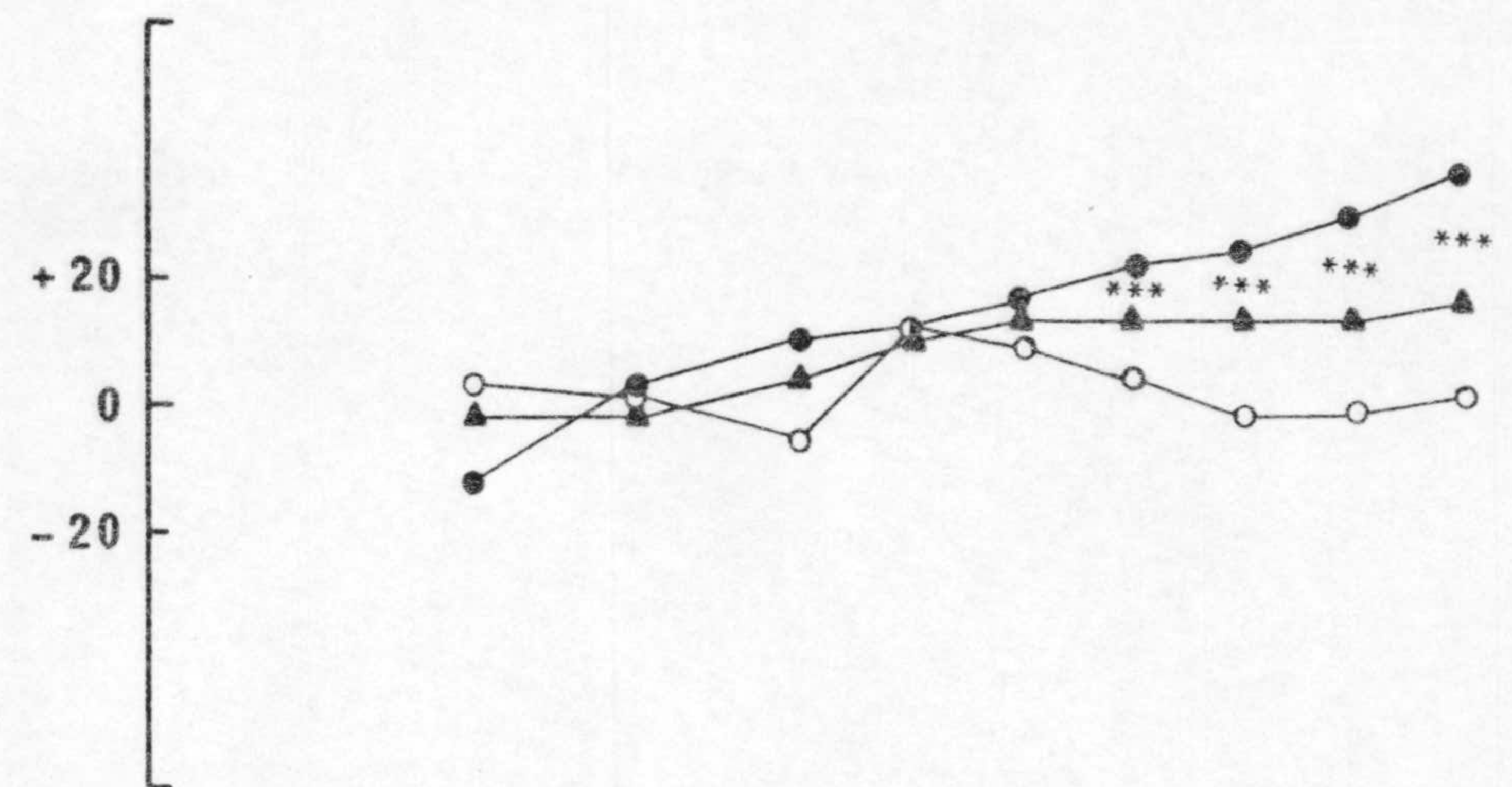
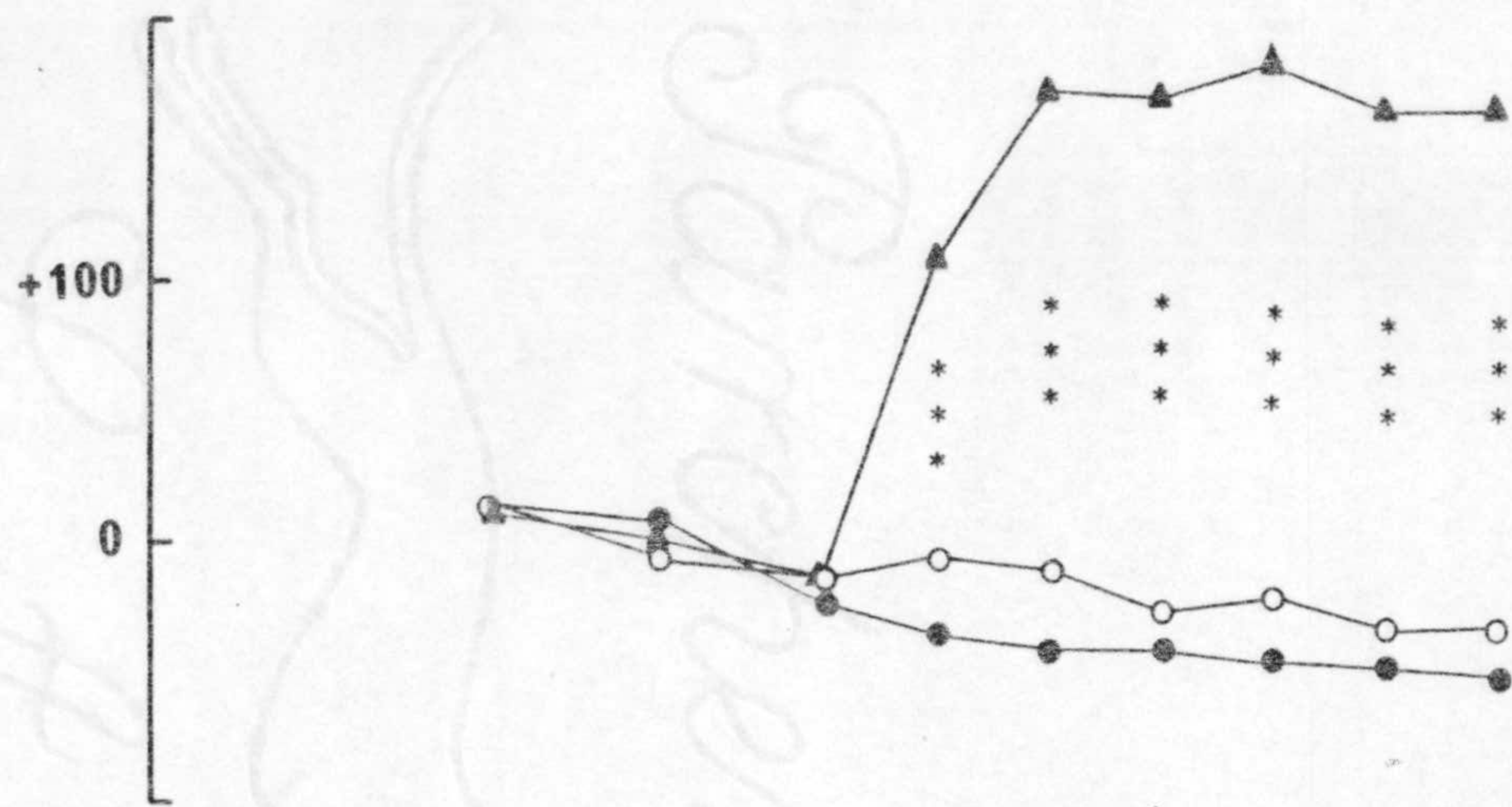


Fig. 2c.-CONCENTRACION.

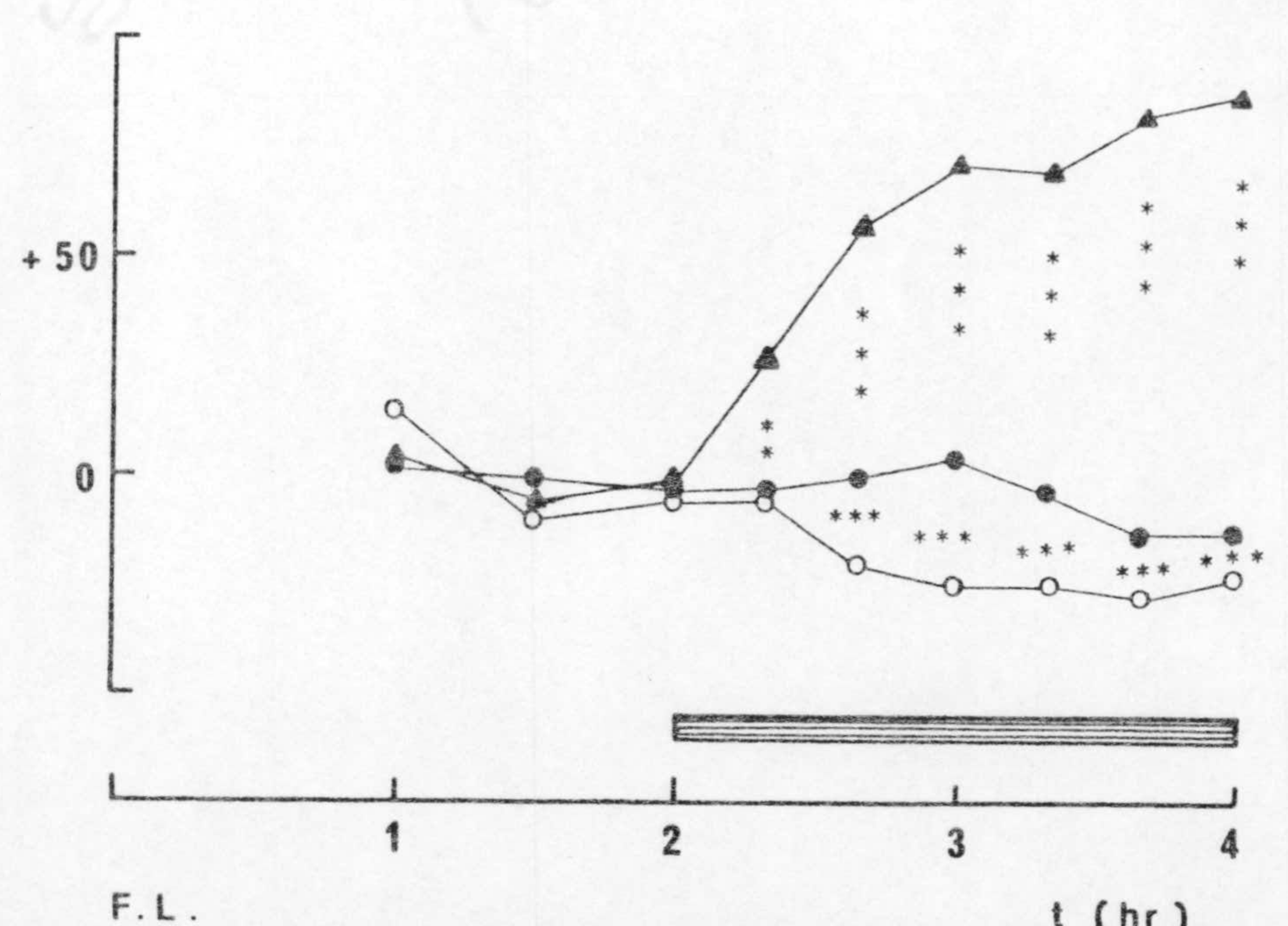
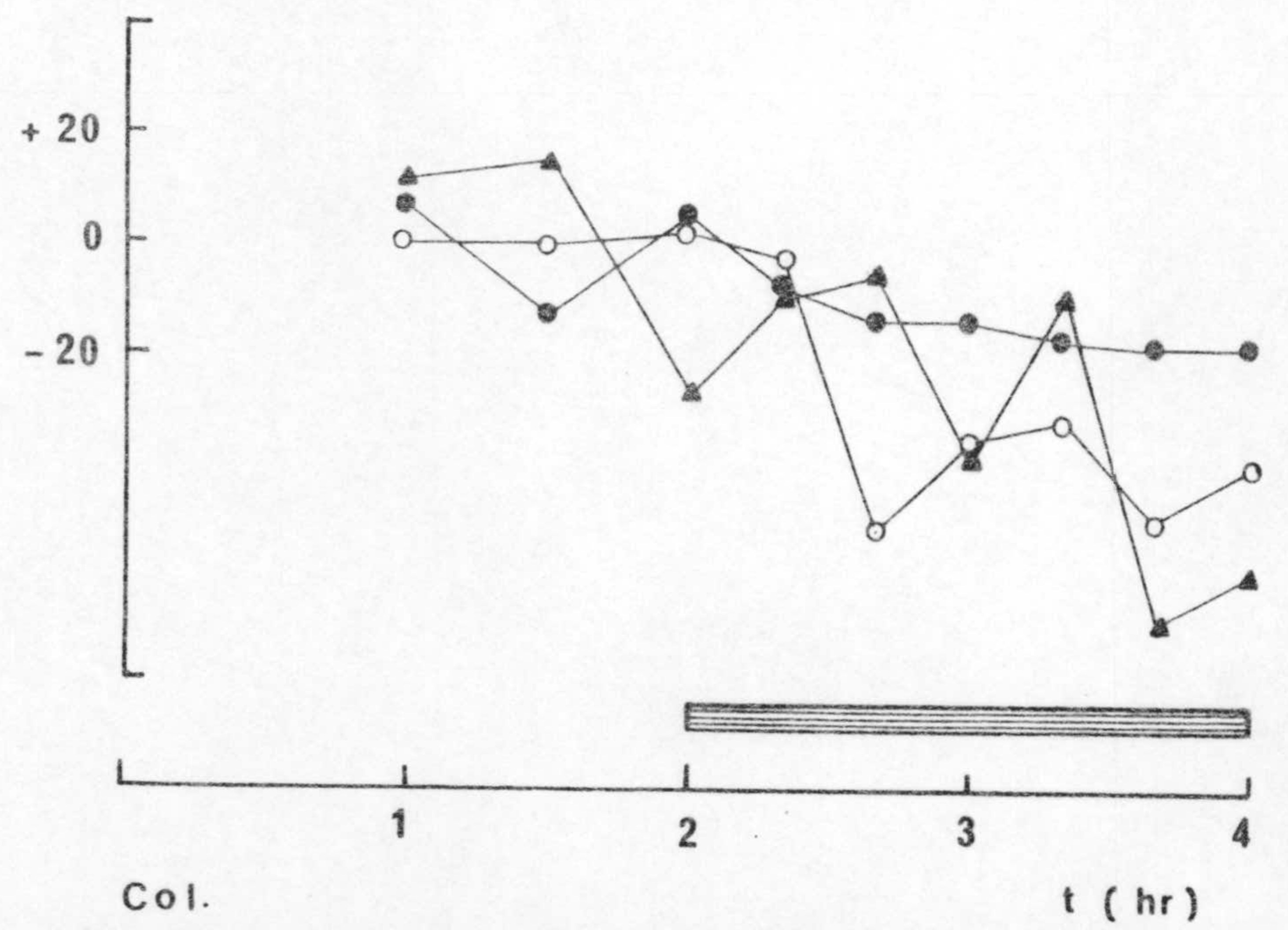
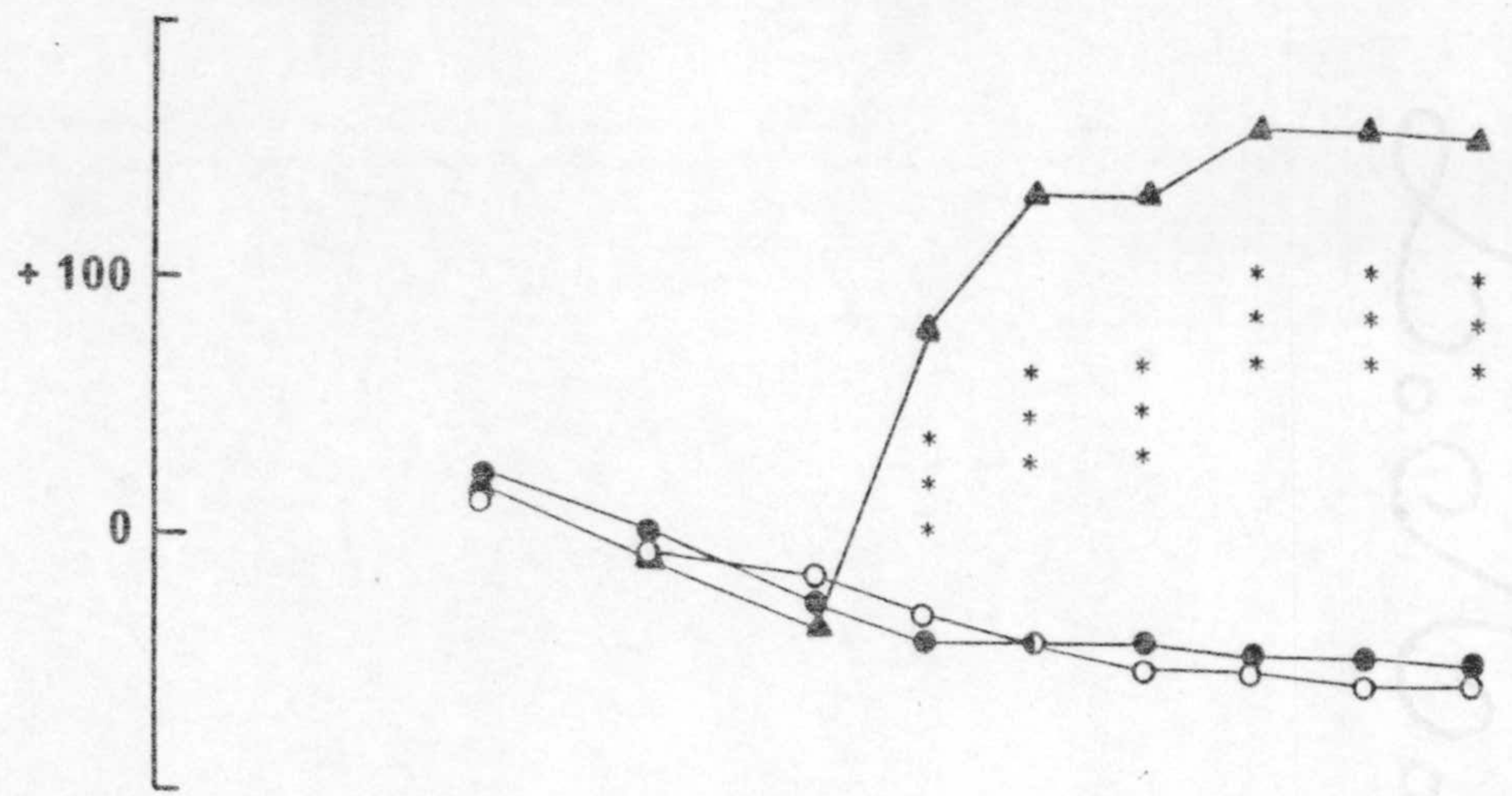


Fig. 2d. - PRODUCTION.

Fig. 3.- Comparación de las variaciones porcentuales de diferentes parámetros a lo largo de los experimentos BISS (●), BR (◻), BR + TC (▲), BR + DHC (○). Durante las infusiones de bilirrubina se consideró 100% de concentración y producción de bilirrubina, la concentración máxima y la Tm, respectivamente, encontradas para cada bloque experimental.

3a. Flujo.

3b. Concentración y Producción de Na⁺ y K⁺.

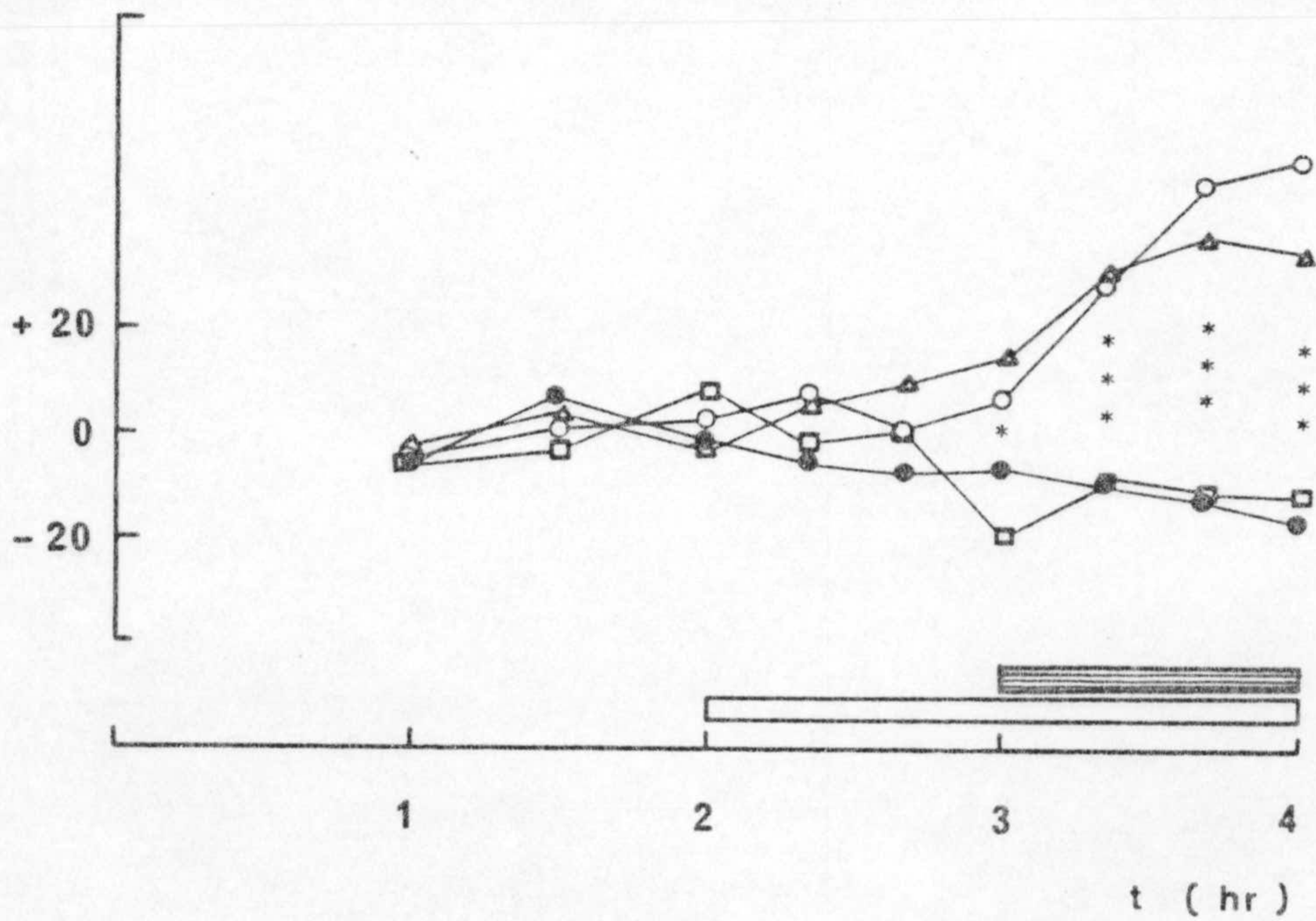
3c. Concentración de taurocólato, bilirrubina, colesterol y fosfolípidos.

3d. Producción de taurocolato, bilirrubina, colesterol y fosfolípidos.

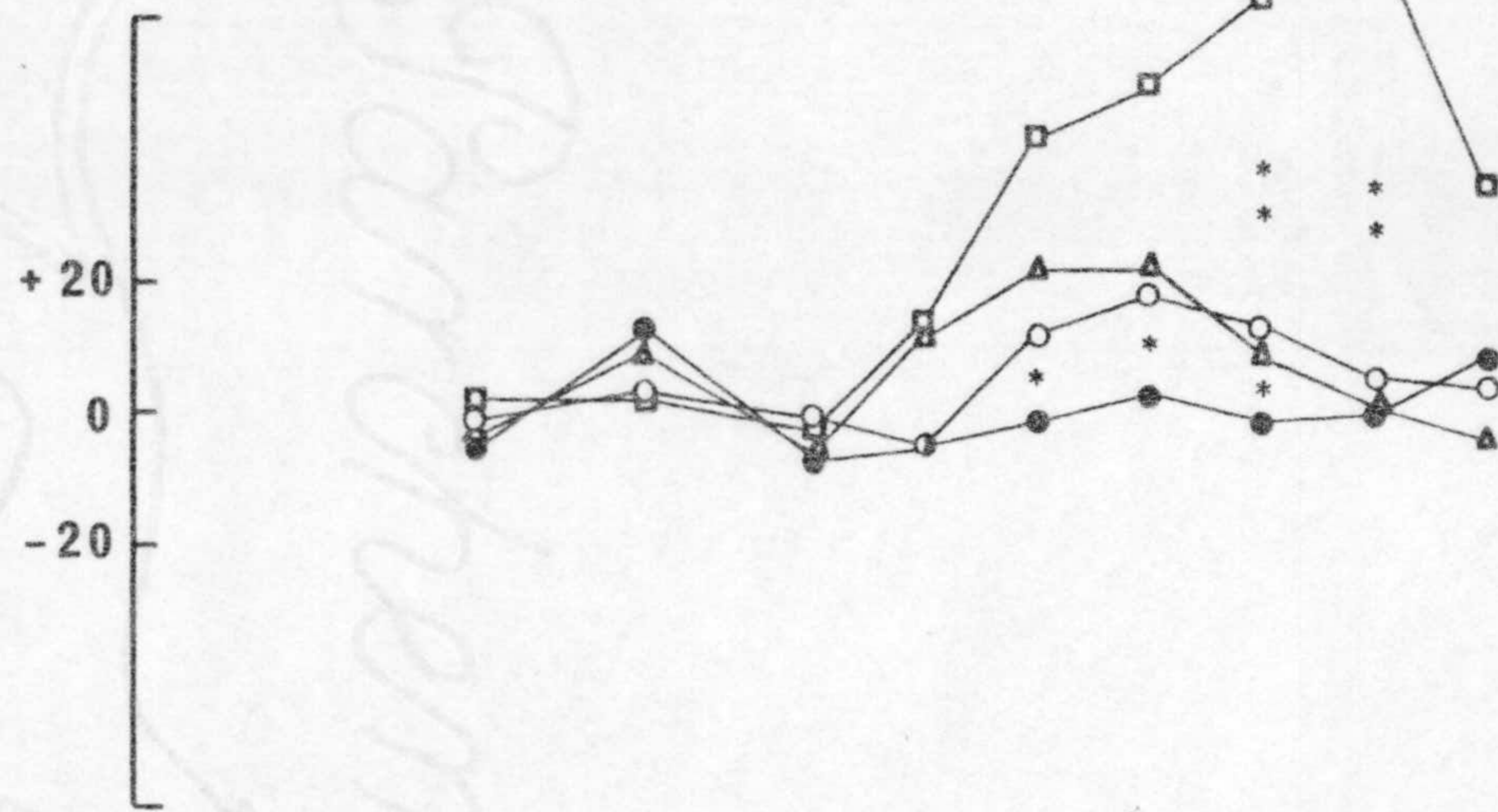
Nivel de significación : p < 0,05 *
 p < 0,01 **
 p < 0,001 ***

◻ Infusión de bilirrubina.
▨ Infusión de sal biliar.

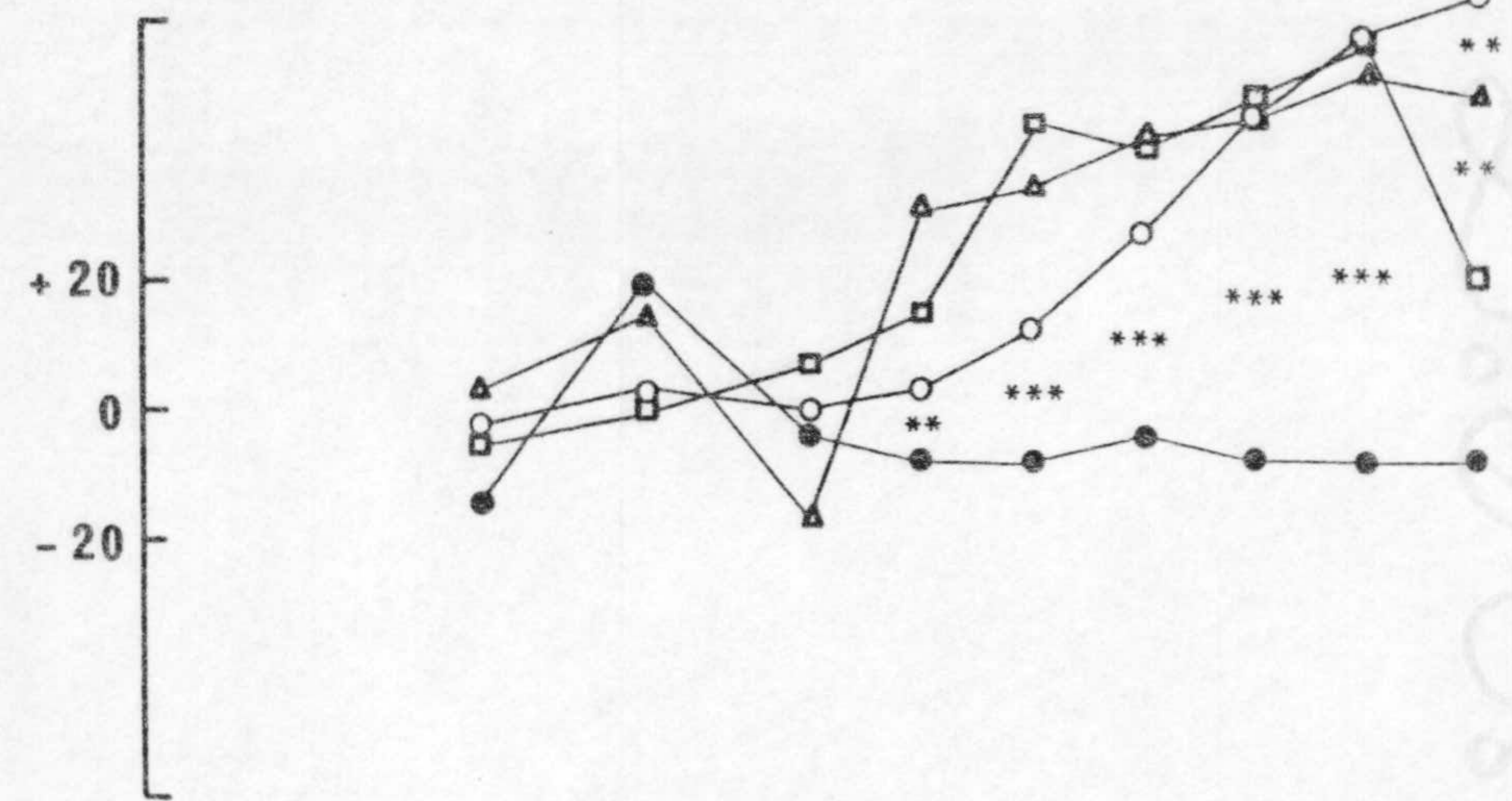
Fig. 3a.- FLUJO.



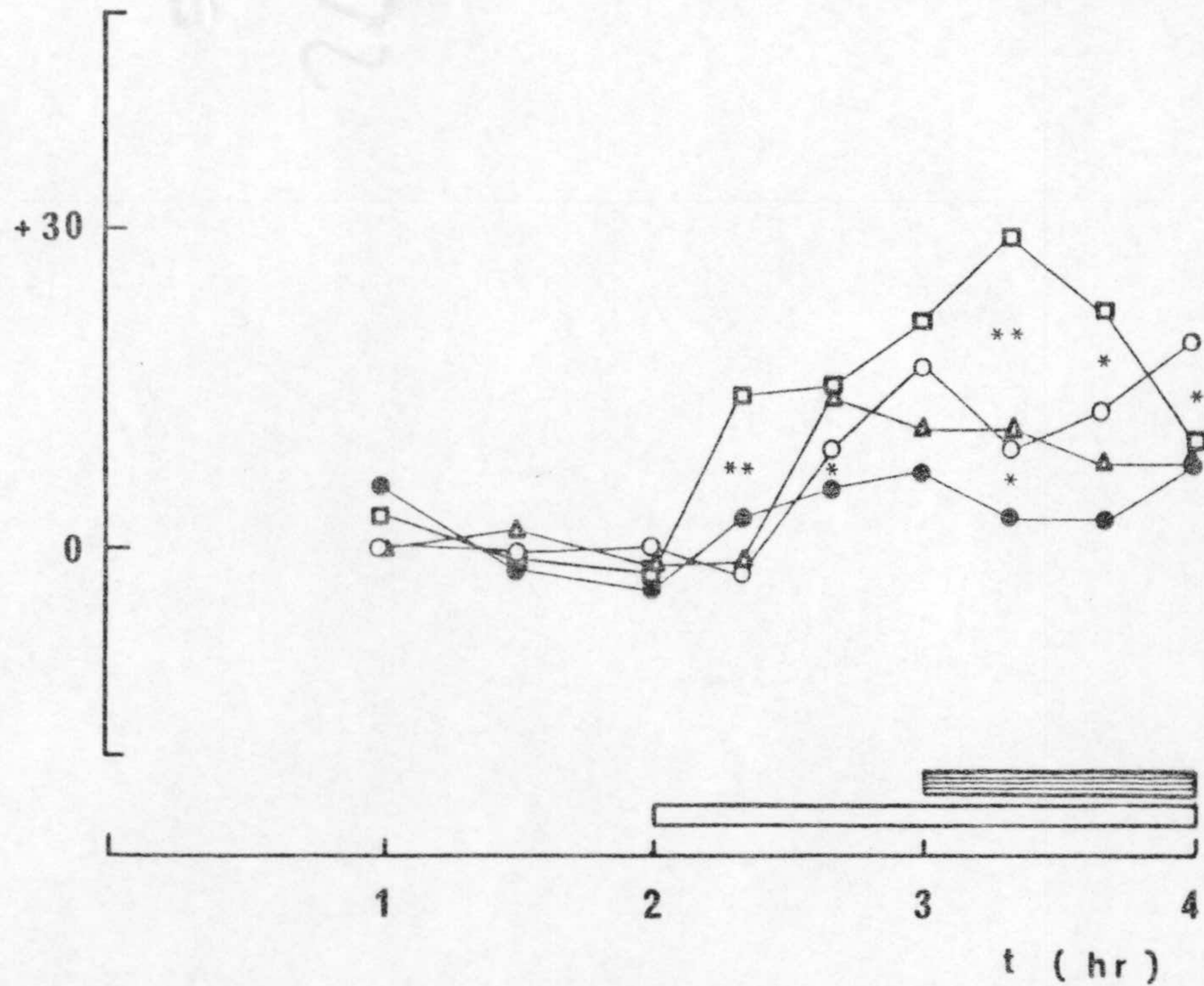
CONCENTRACION



PRODUCCION



+30



K⁺

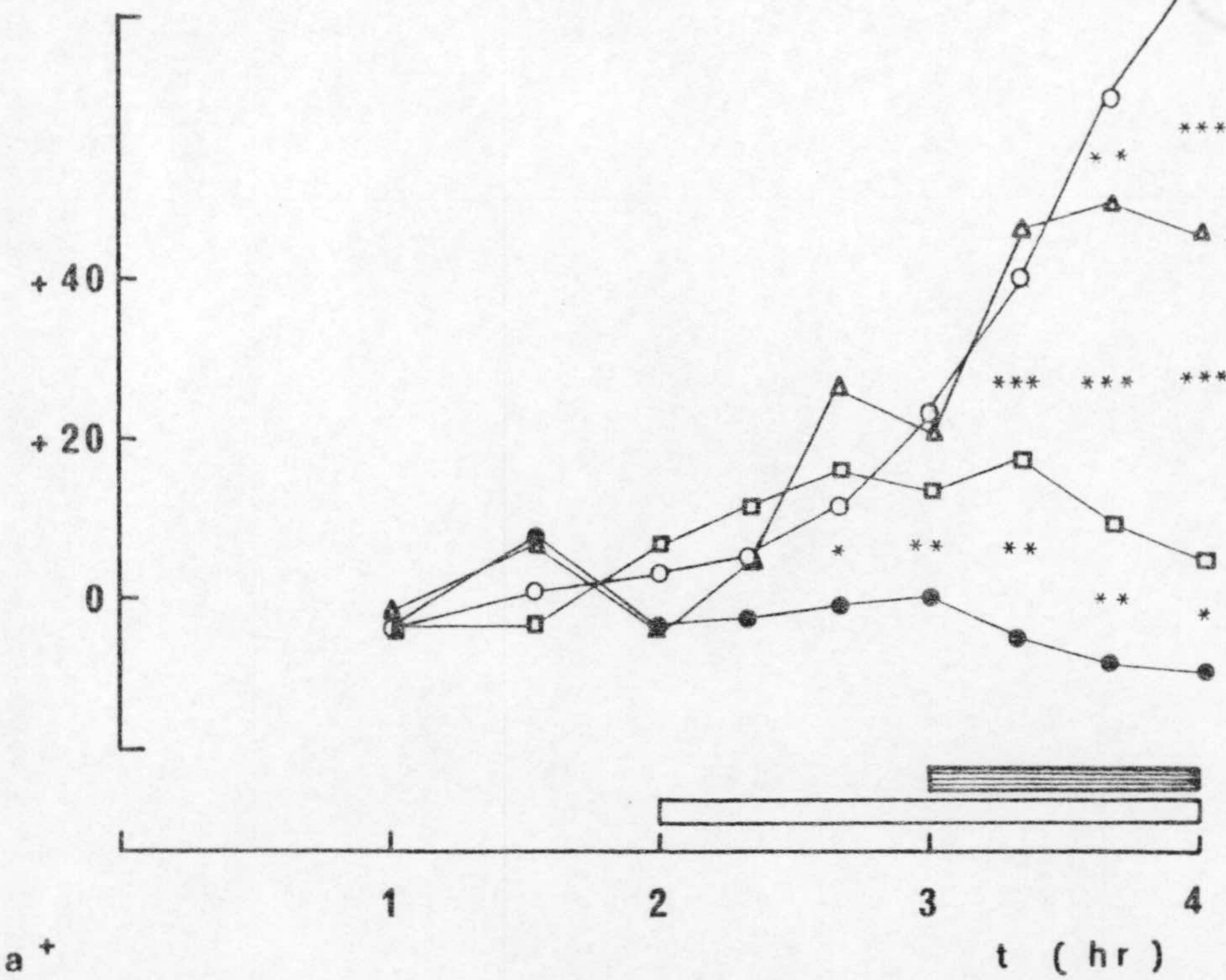


Fig. 3b.

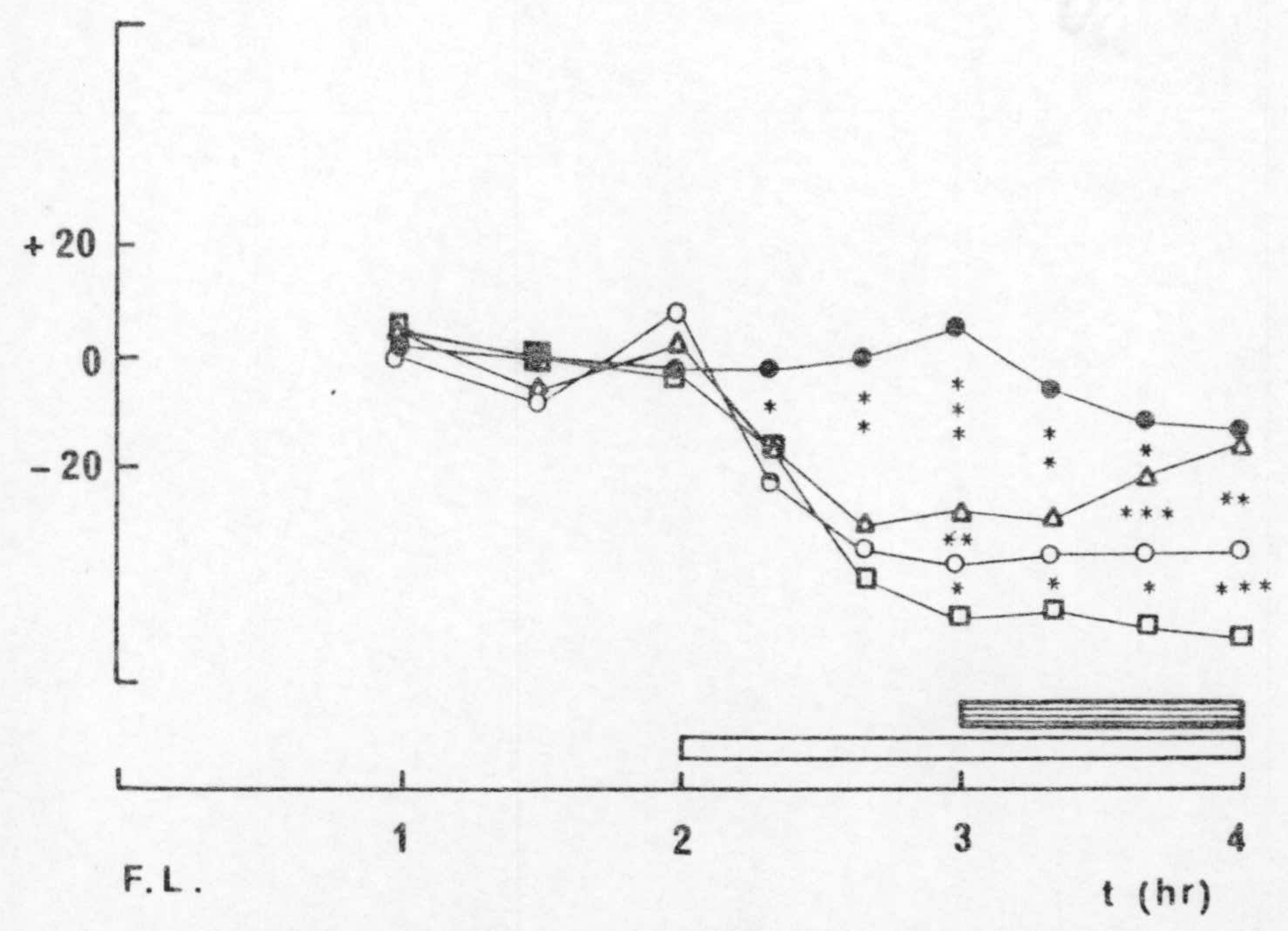
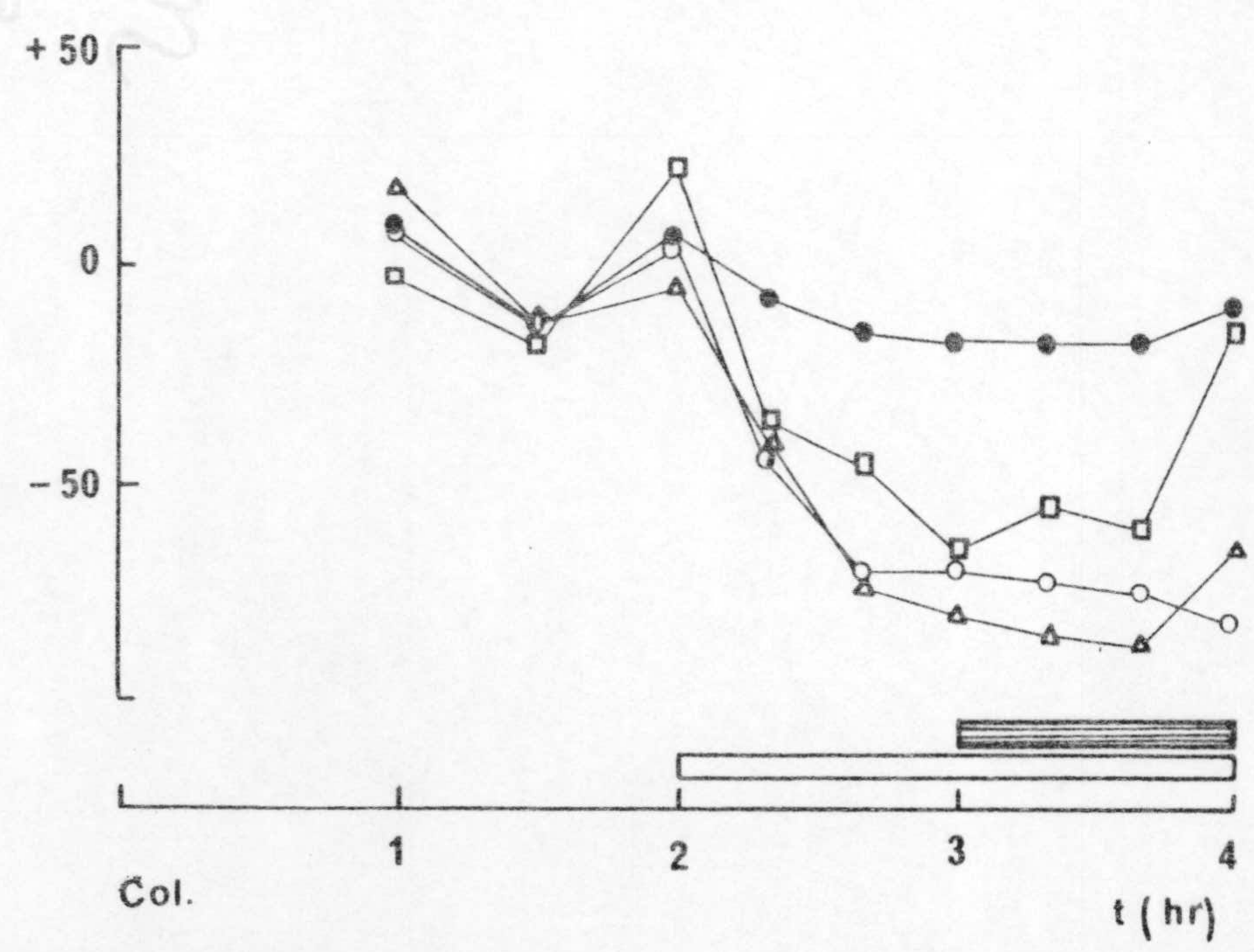
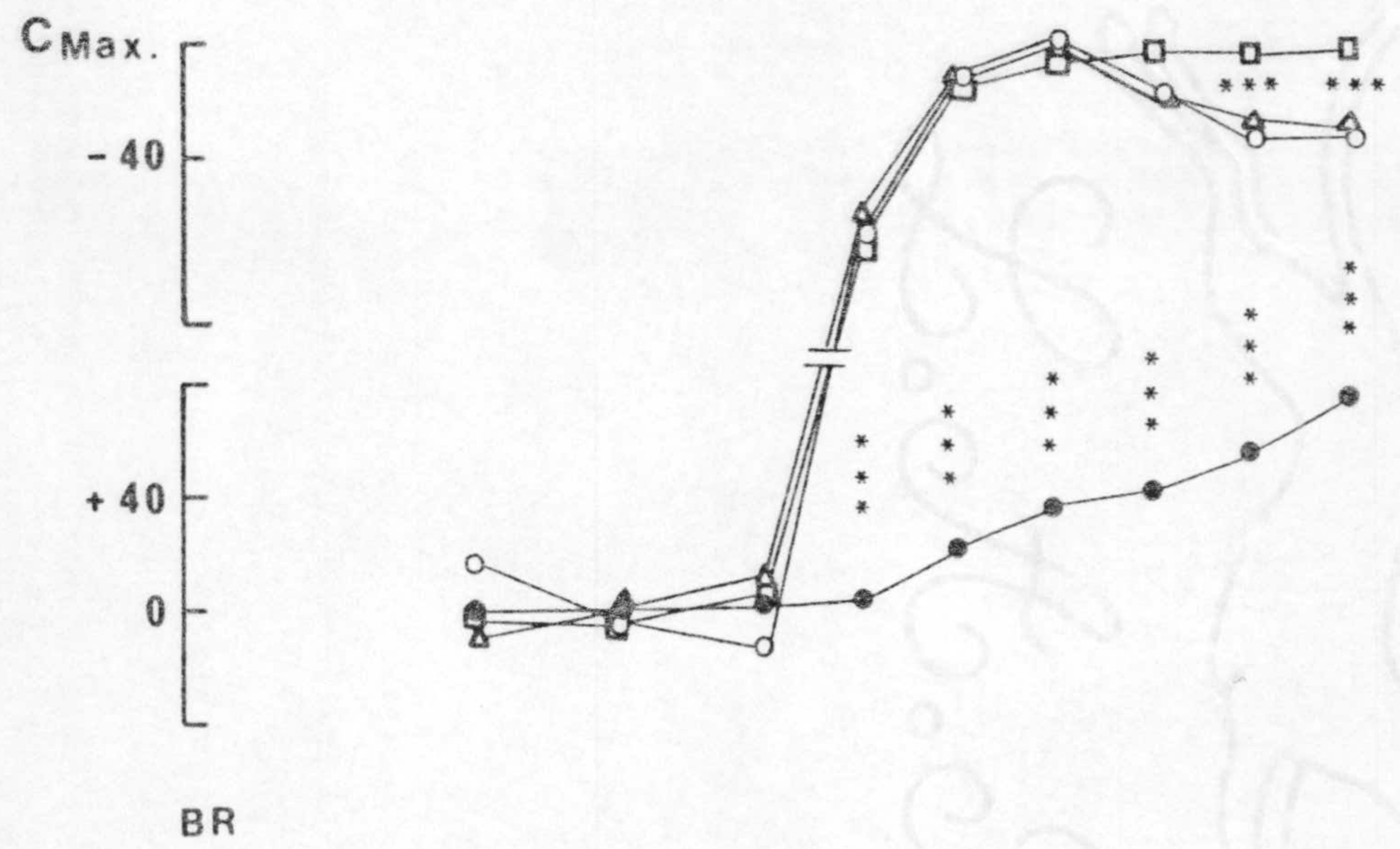
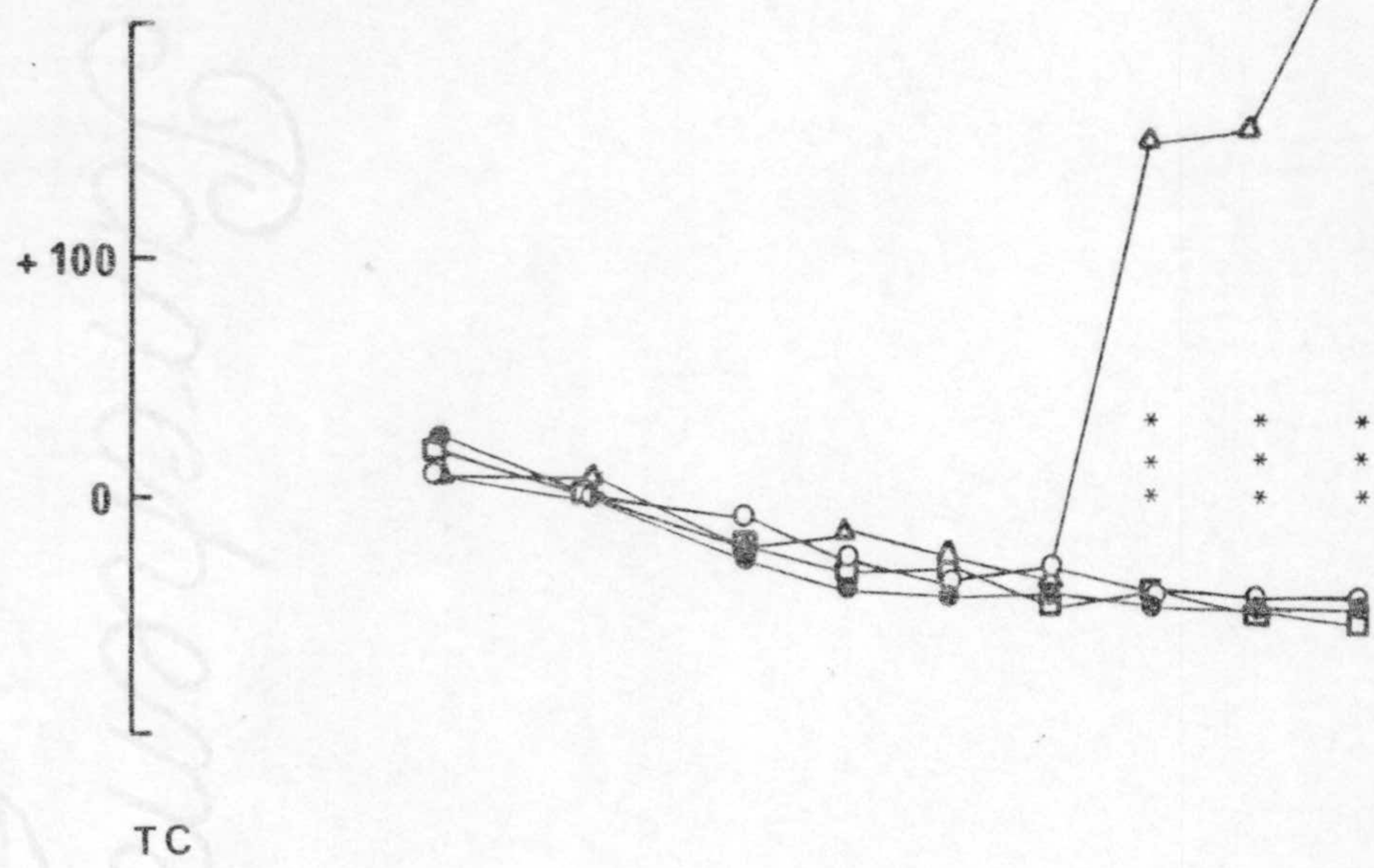


Fig. 3c. - CONCENTRATION.

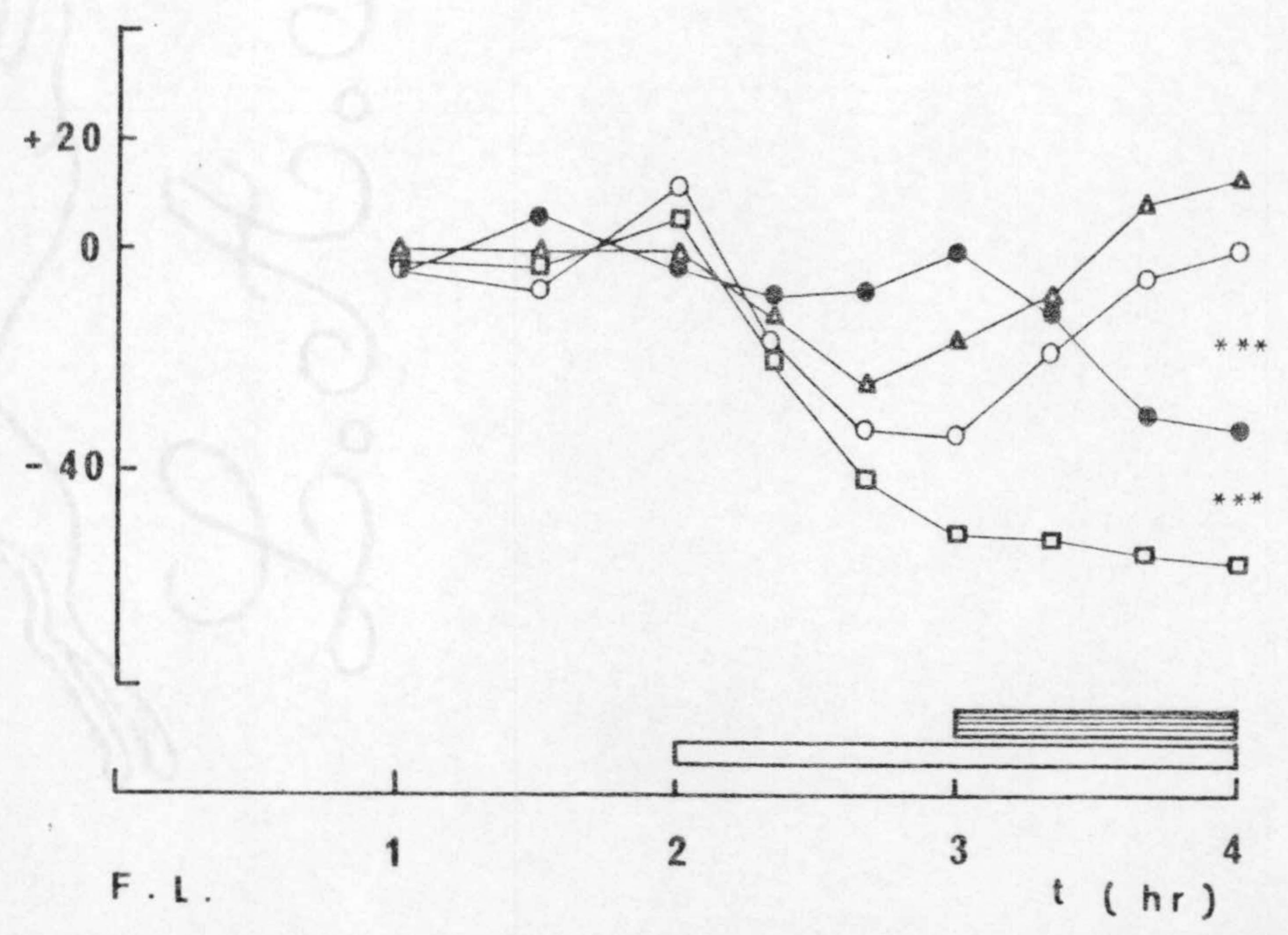
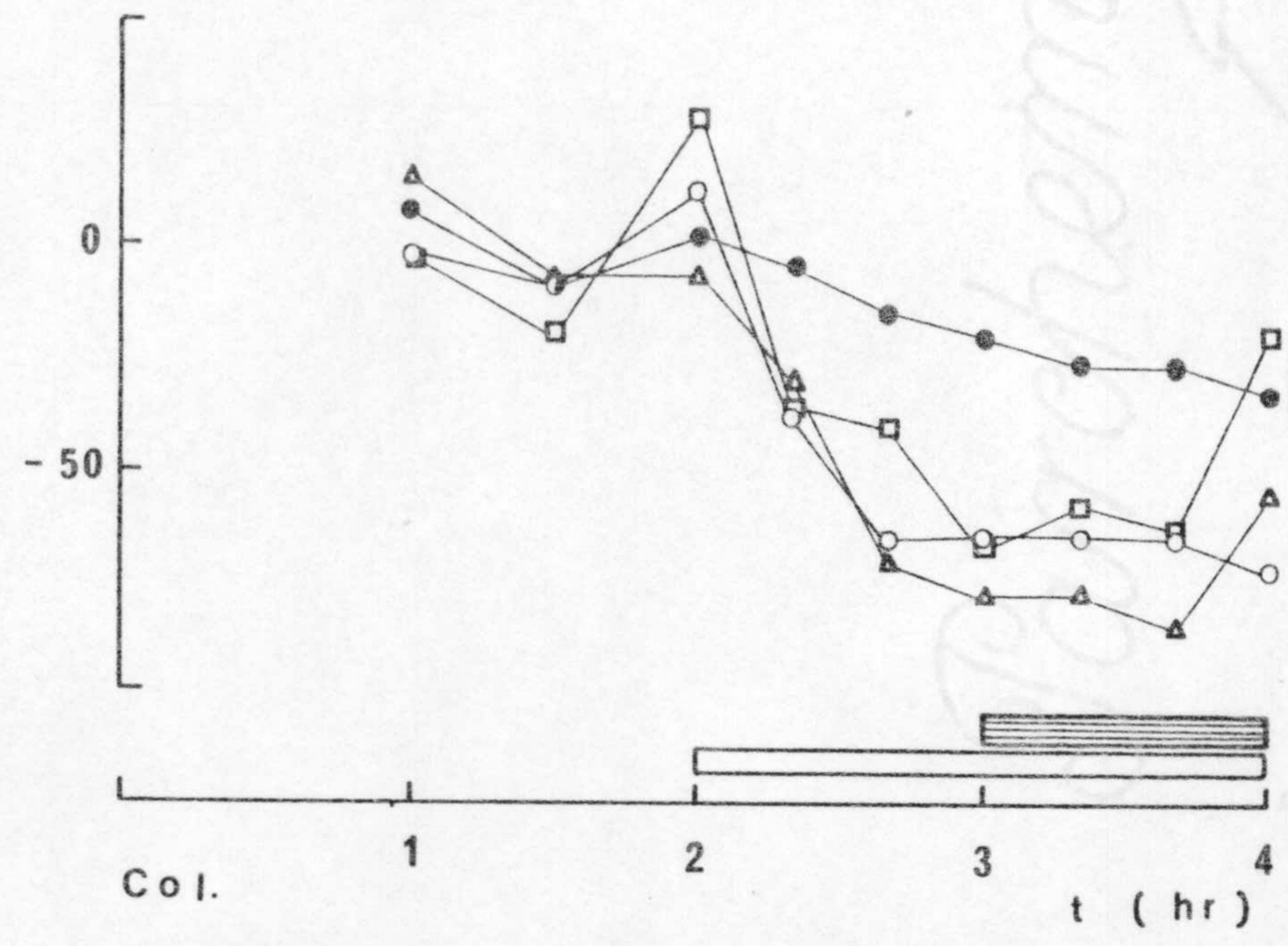
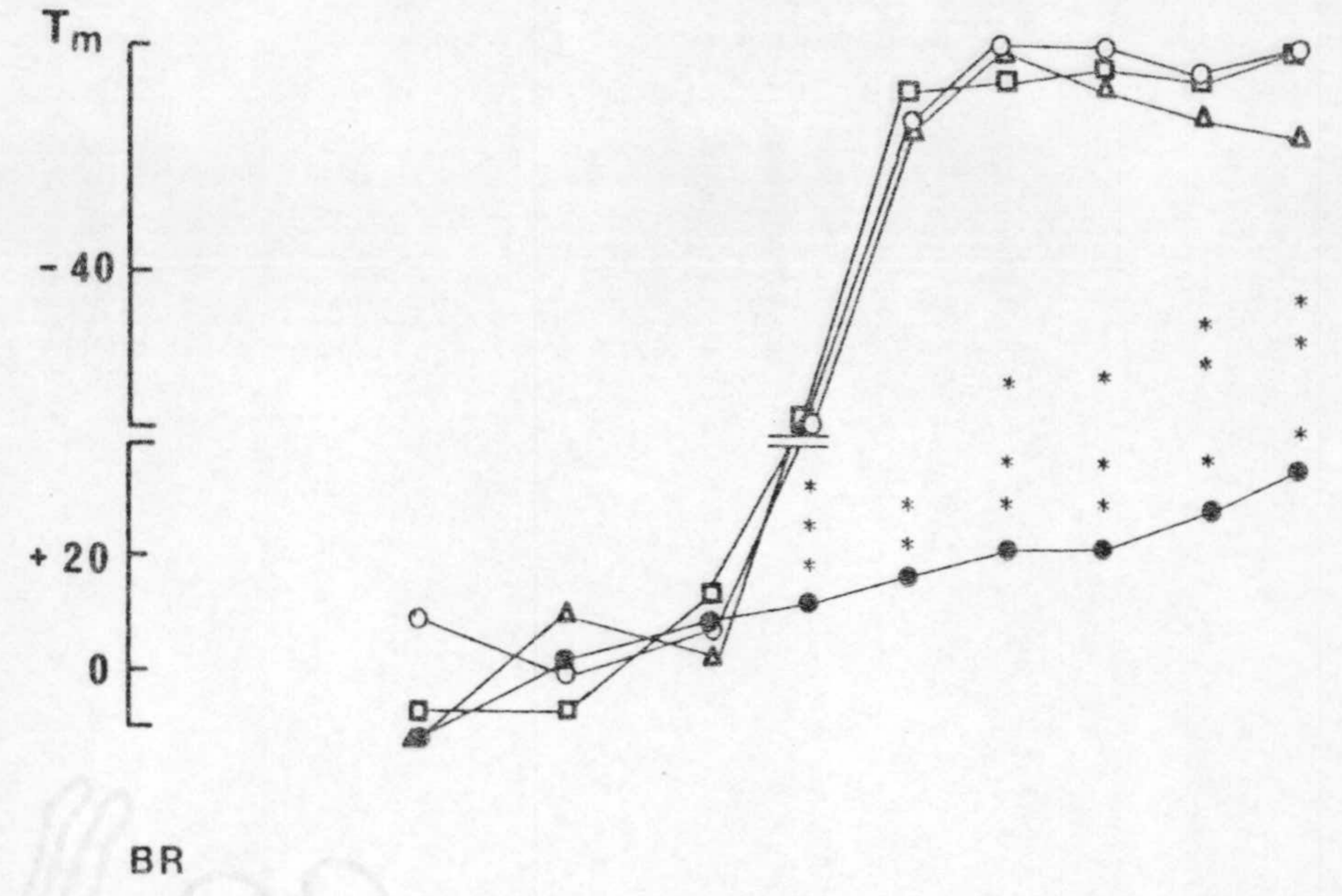
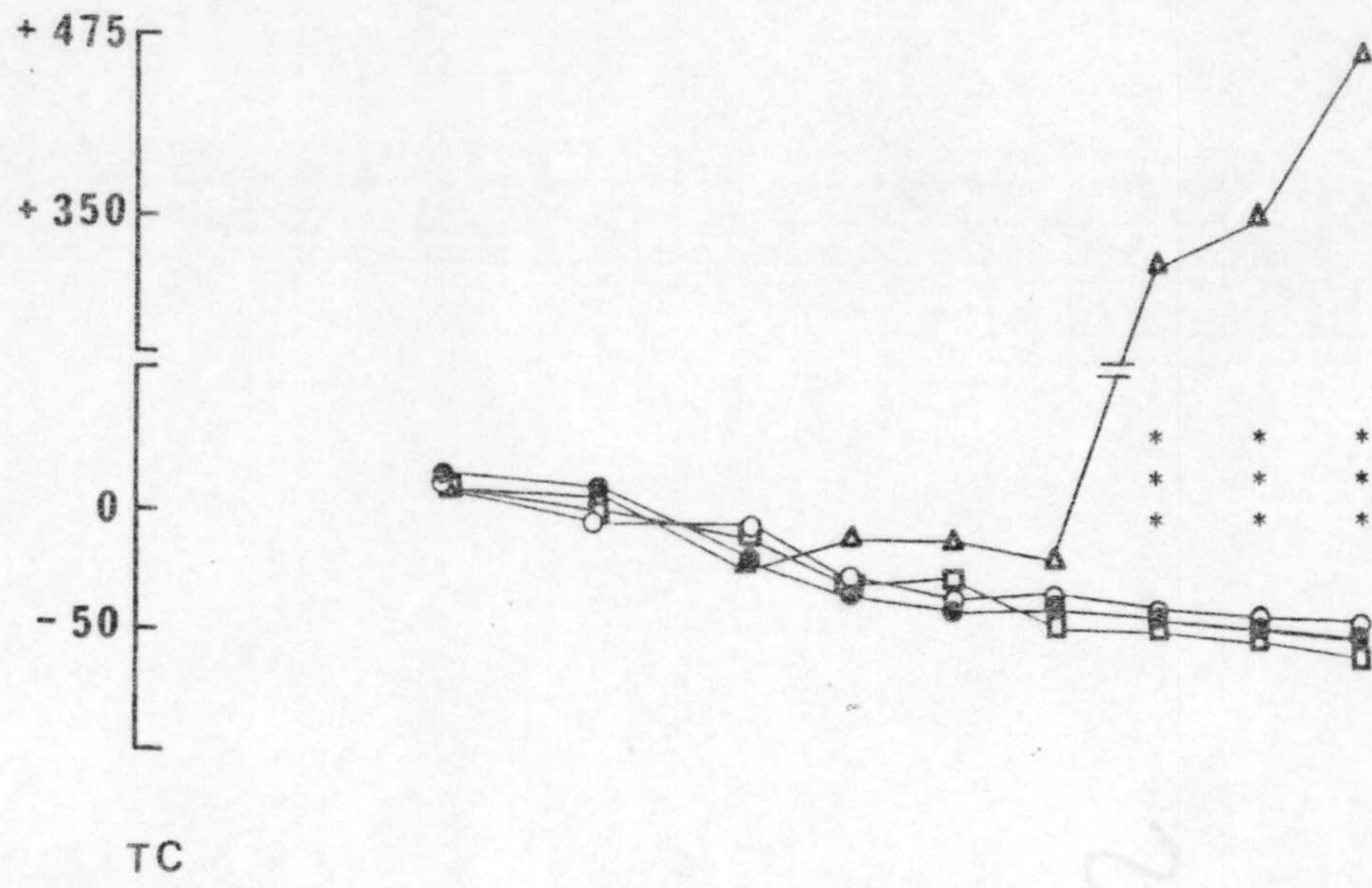


Fig. 3d. - PRODUCCION.

Fig. 4.- Comparación de las variaciones porcentuales de diferentes parámetros a lo largo de los experimentos TC (●), TC + BR (○). Durante la infusión de bilirrubina la concentración y producción de la misma están referidas a la concentración máxima del bloque experimental y a la Tm media obtenida para rata , respectivamente.

4a. Flujo.

4b. Concentración y producción de Na^+ y K^+ .

4c. Concentración de taurocolato , bilirrubina, colesterol y fosfolípidos.

4d. Producción de taurocolato , bilirrubina , colesterol y fosfolípidos.

Nivel de significación para los puntos entre los que se sitúan los asteriscos , obtenido a partir de los valores absolutos :

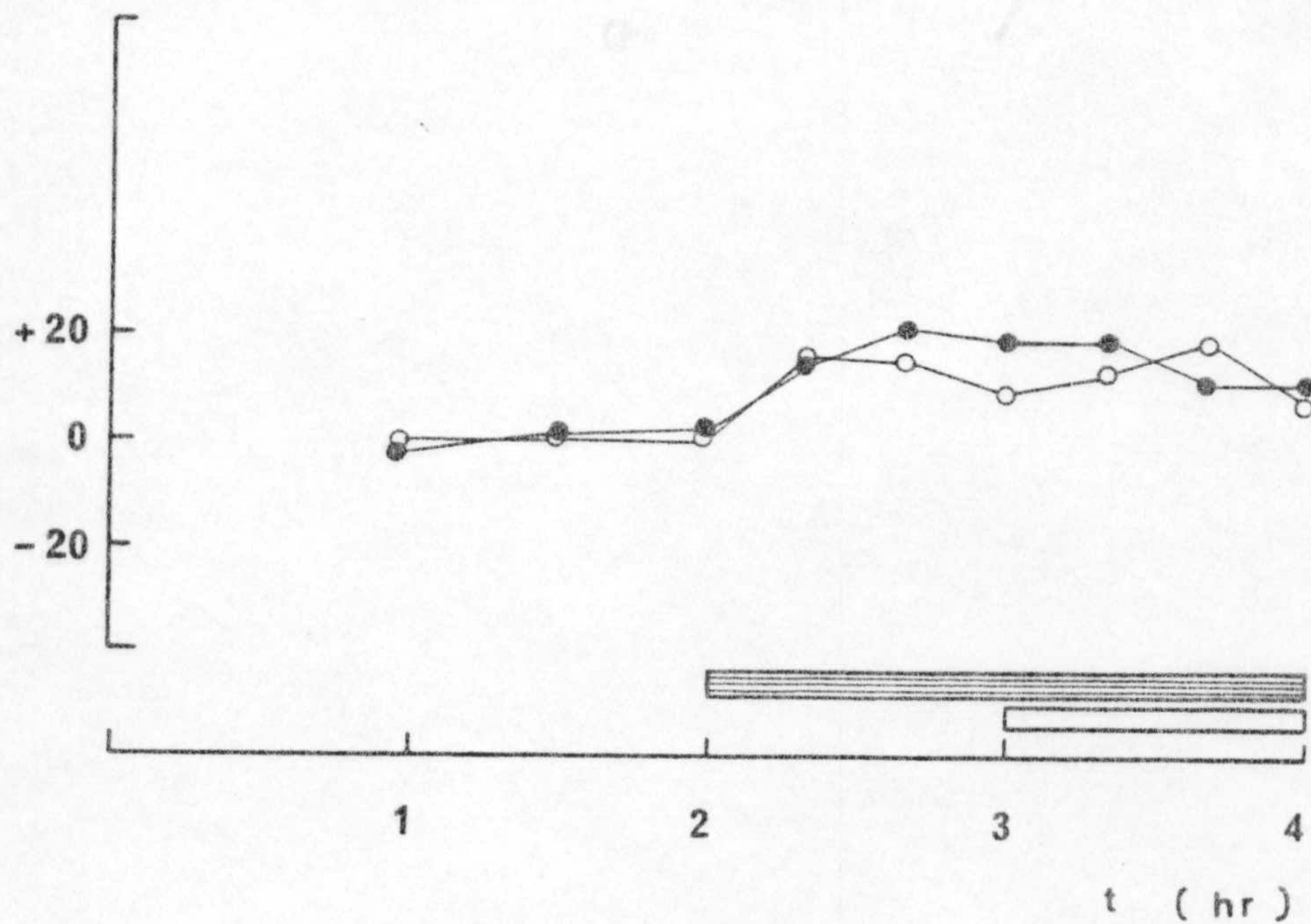
$p < 0,05$ *

$p < 0,01$ **

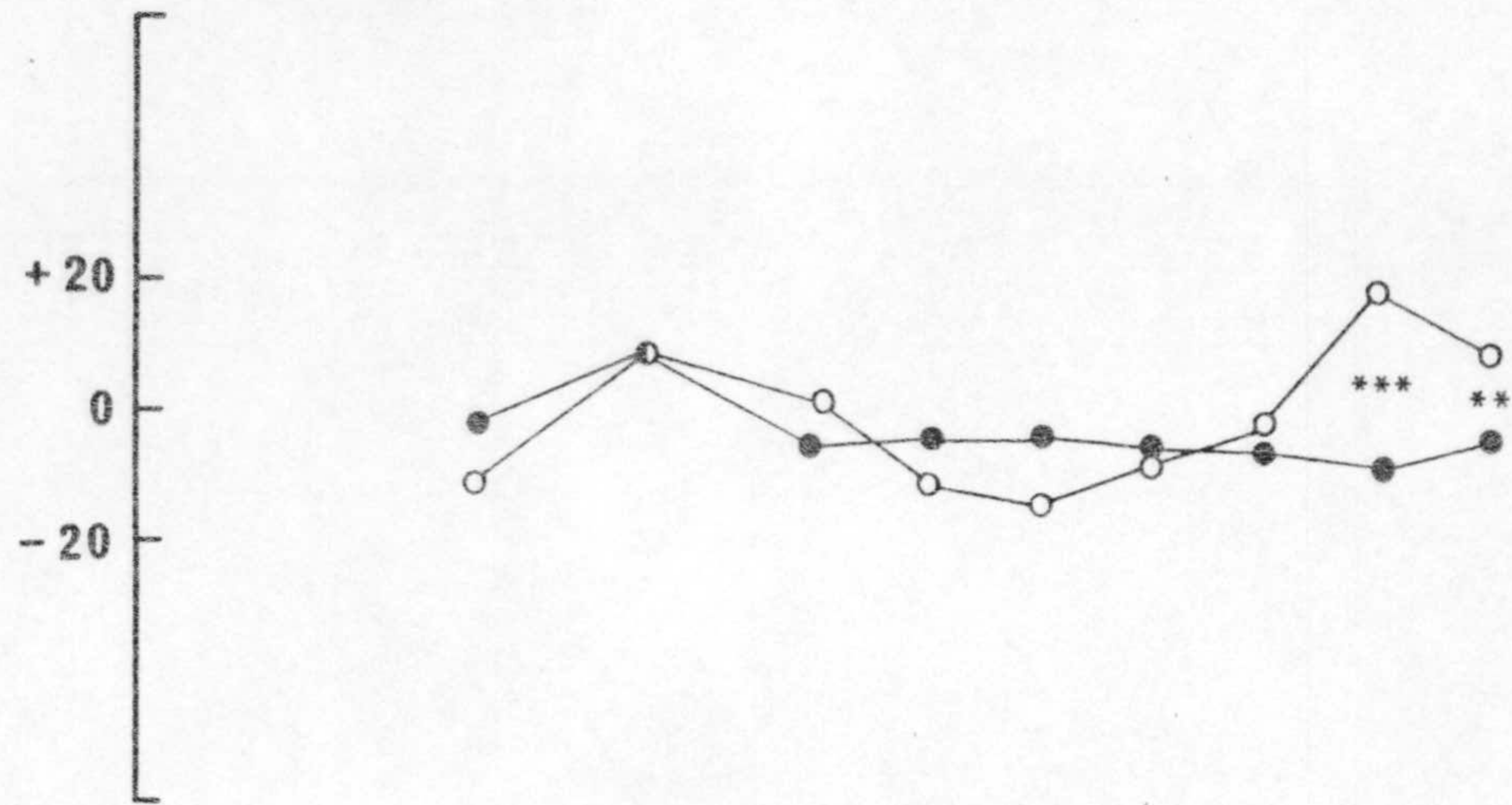
$p < 0,001$ ***

▨ Infusión de taurocolato; □ Infusión de bilirrubina

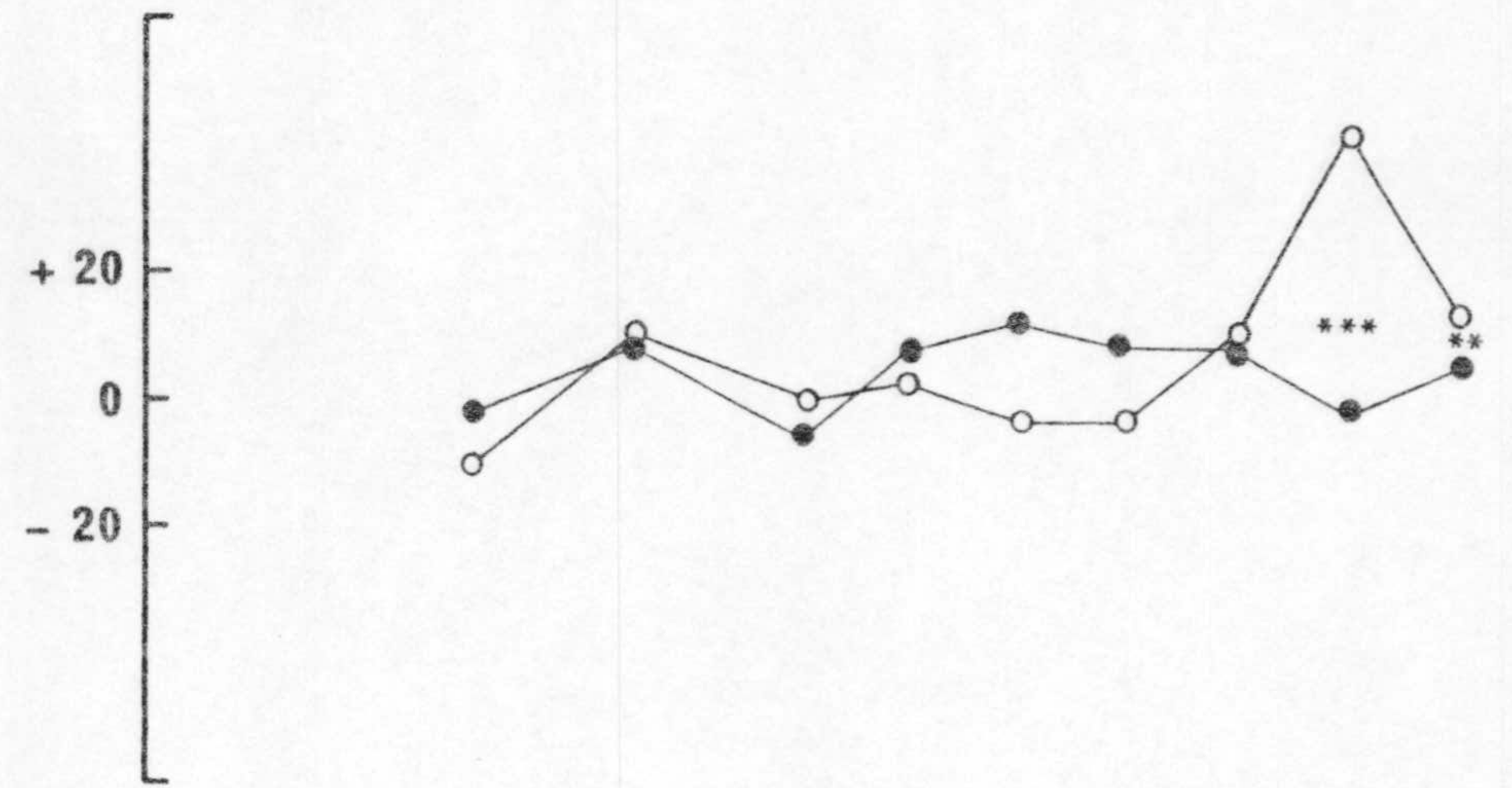
Fig. 4a.- FLUJO.



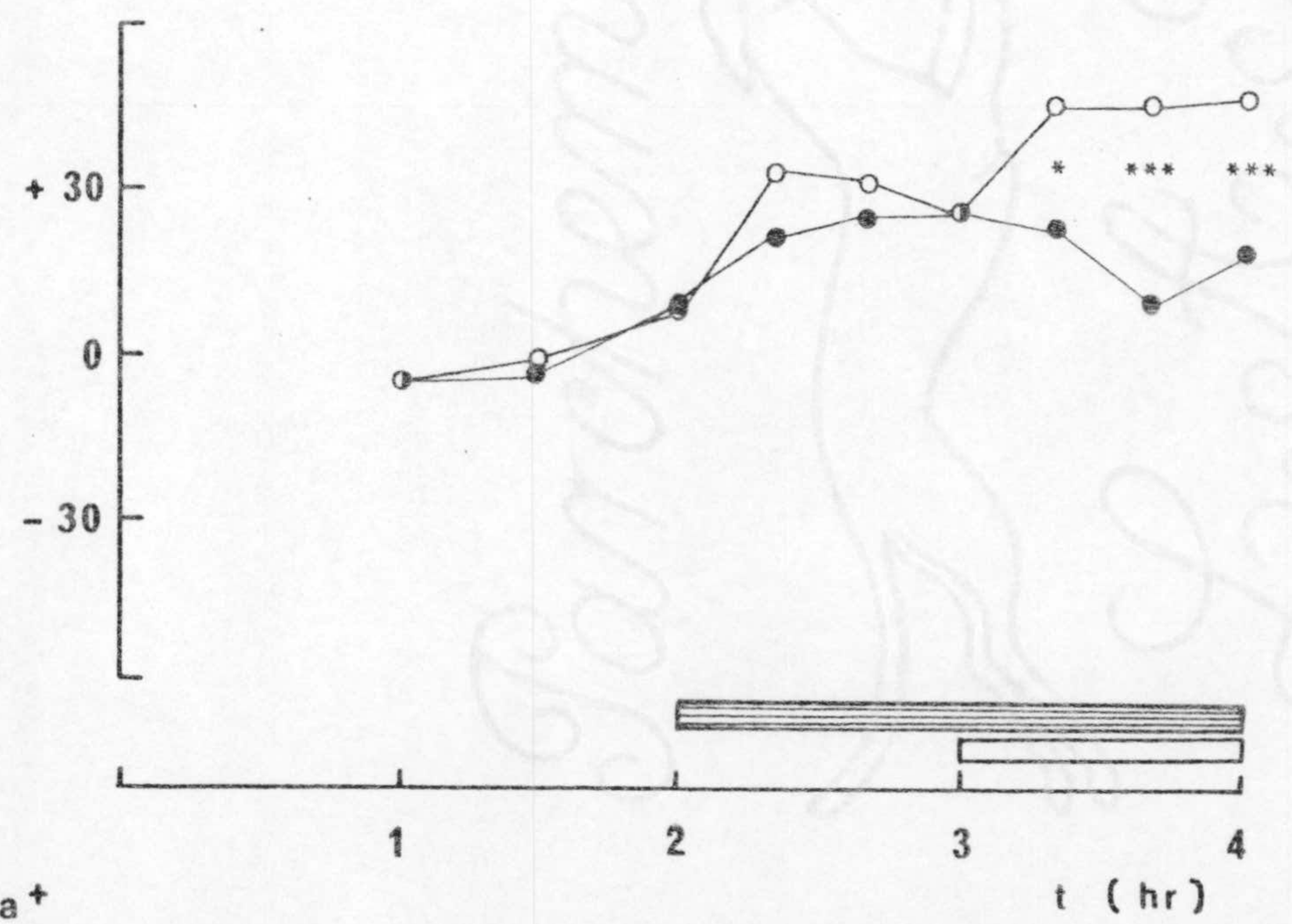
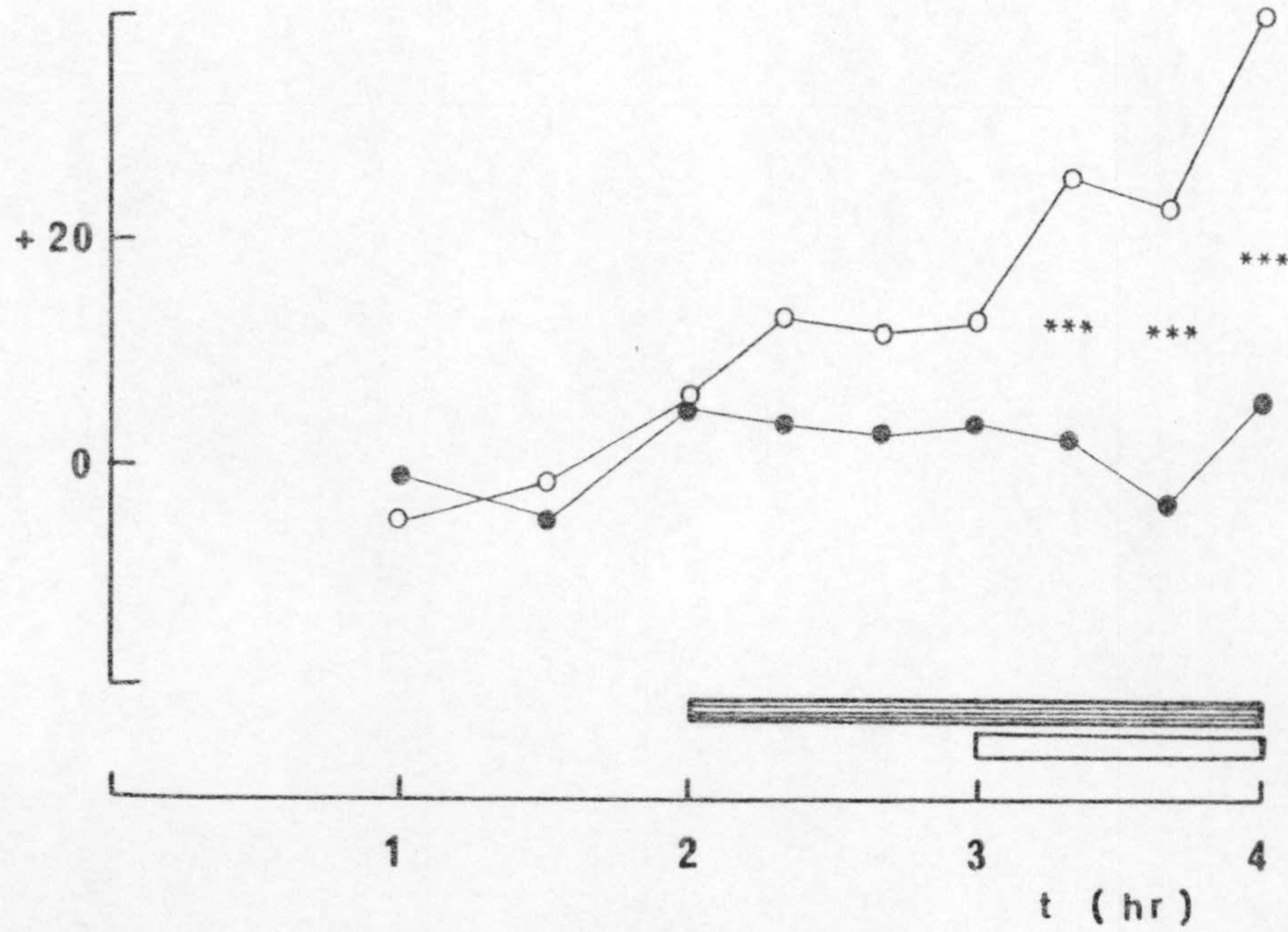
CONCENTRACION



PRODUCCION

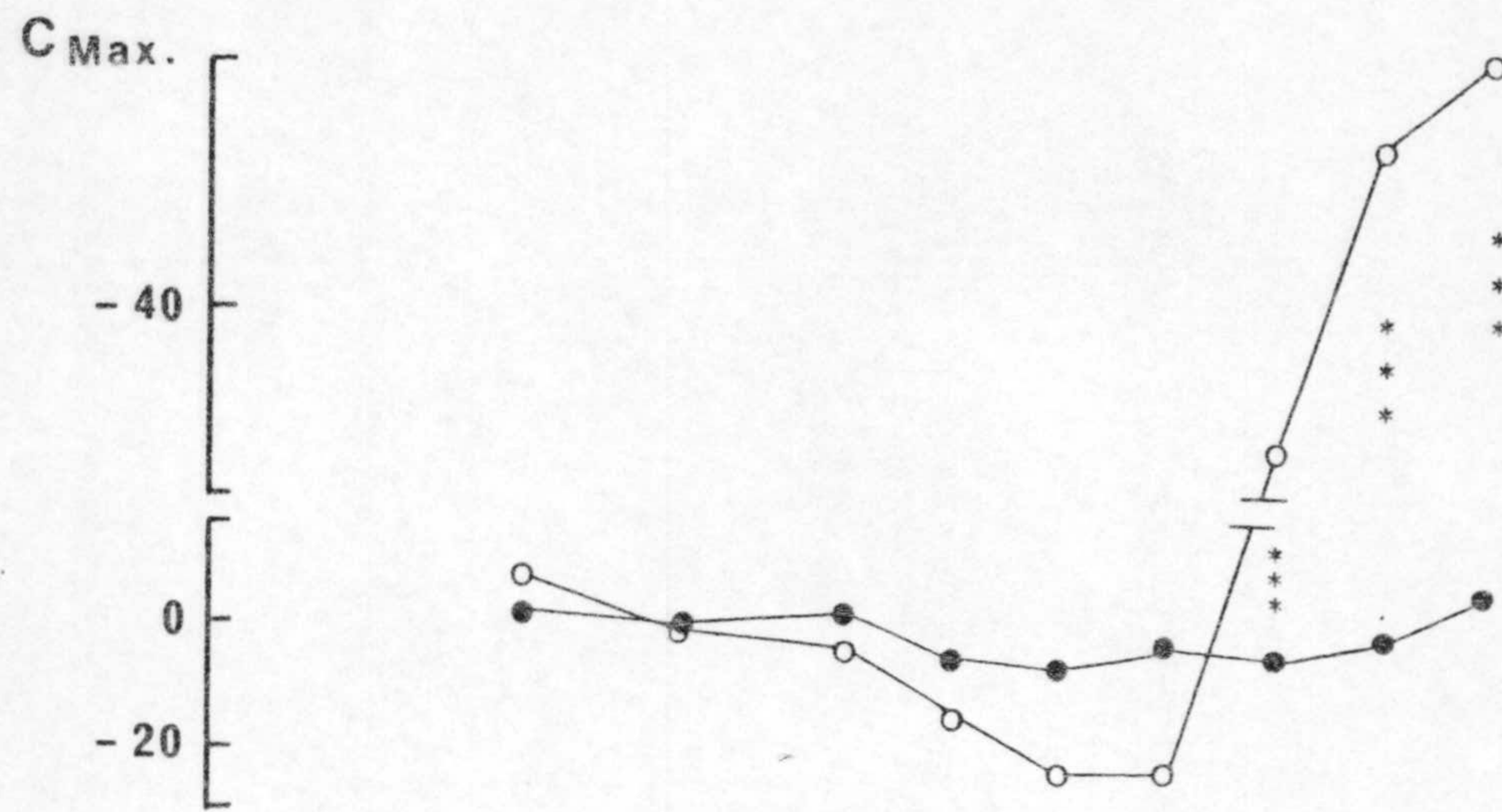
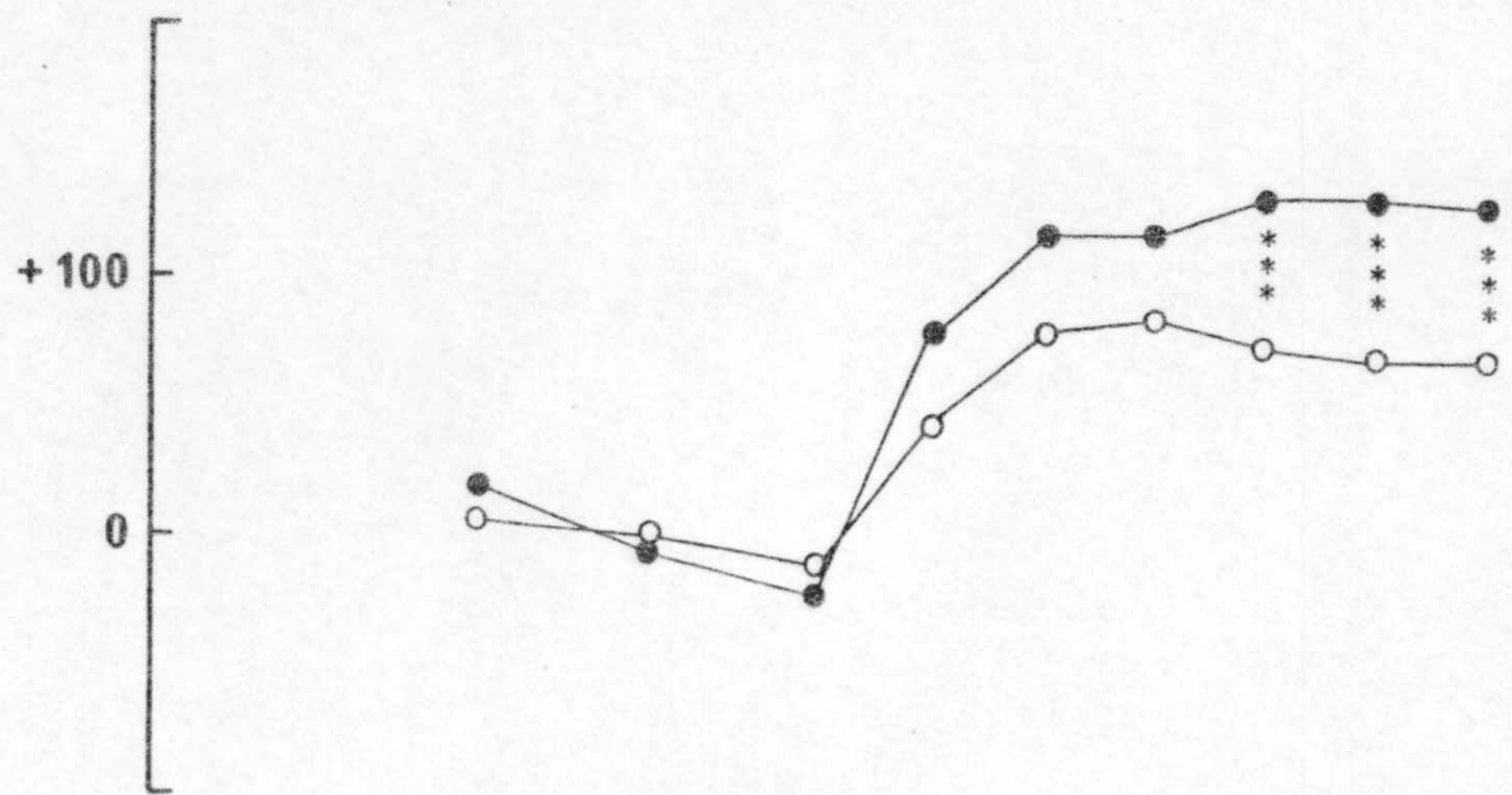


K⁺



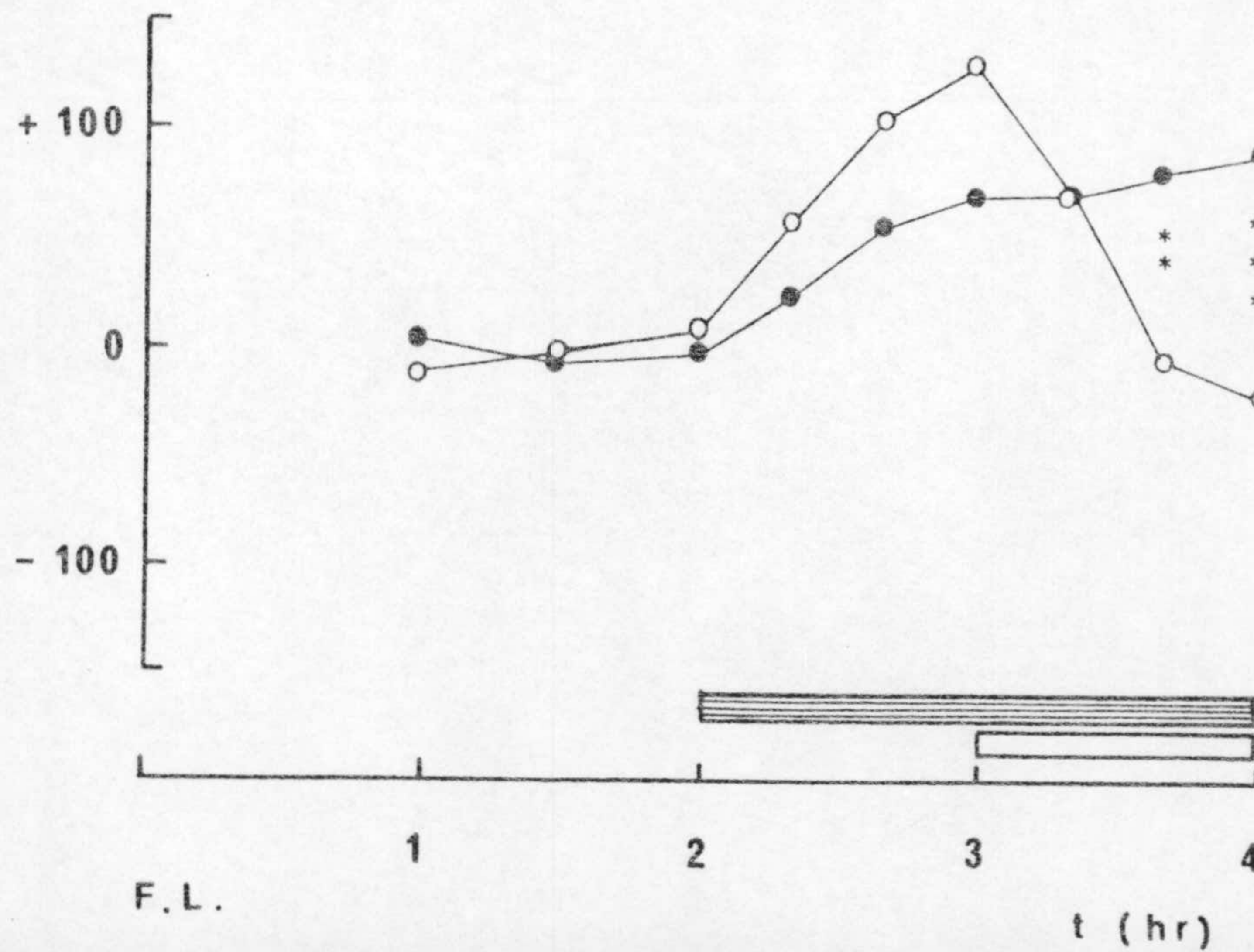
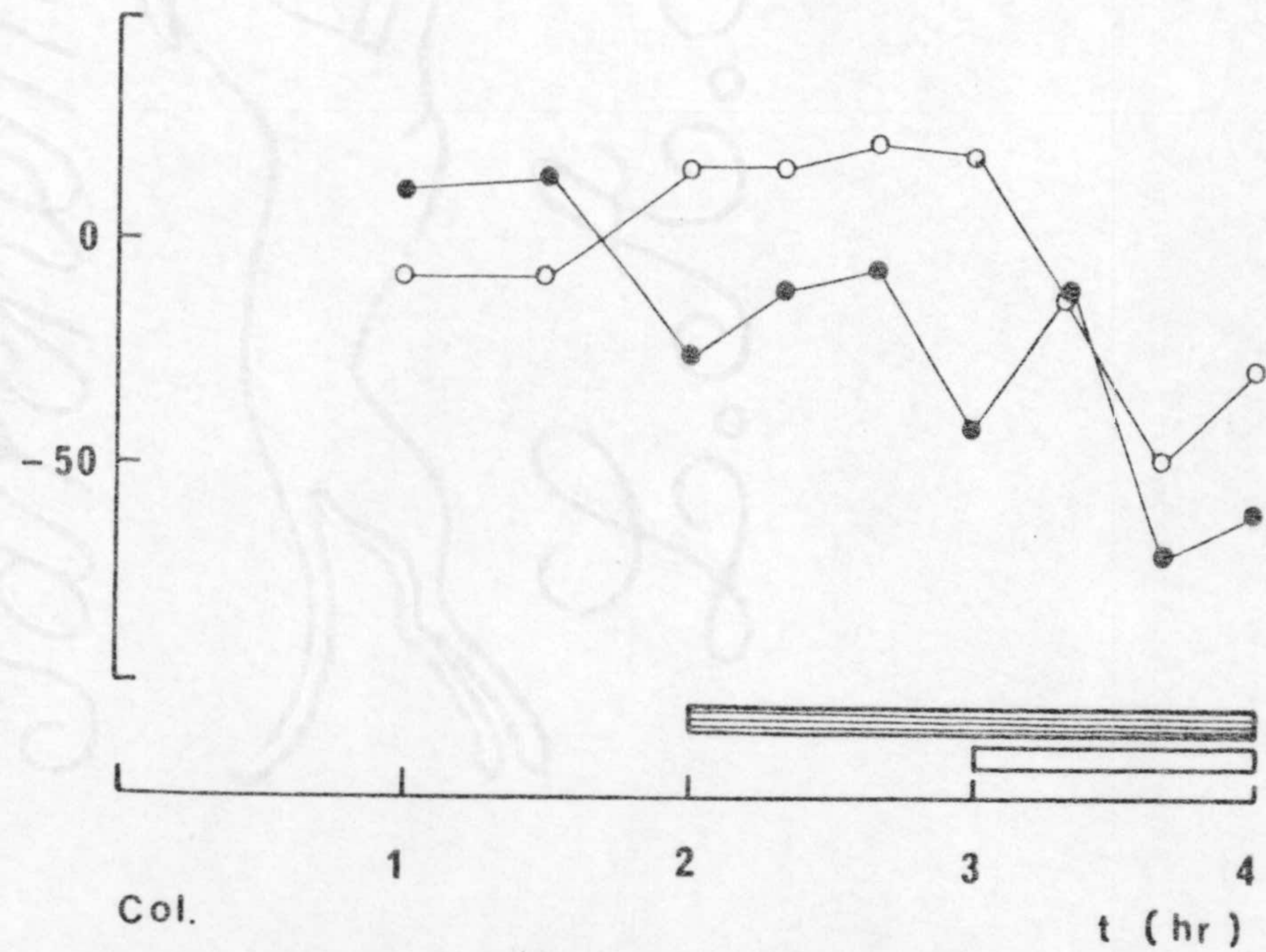
Na⁺

Fig. 4b.



TC

BR



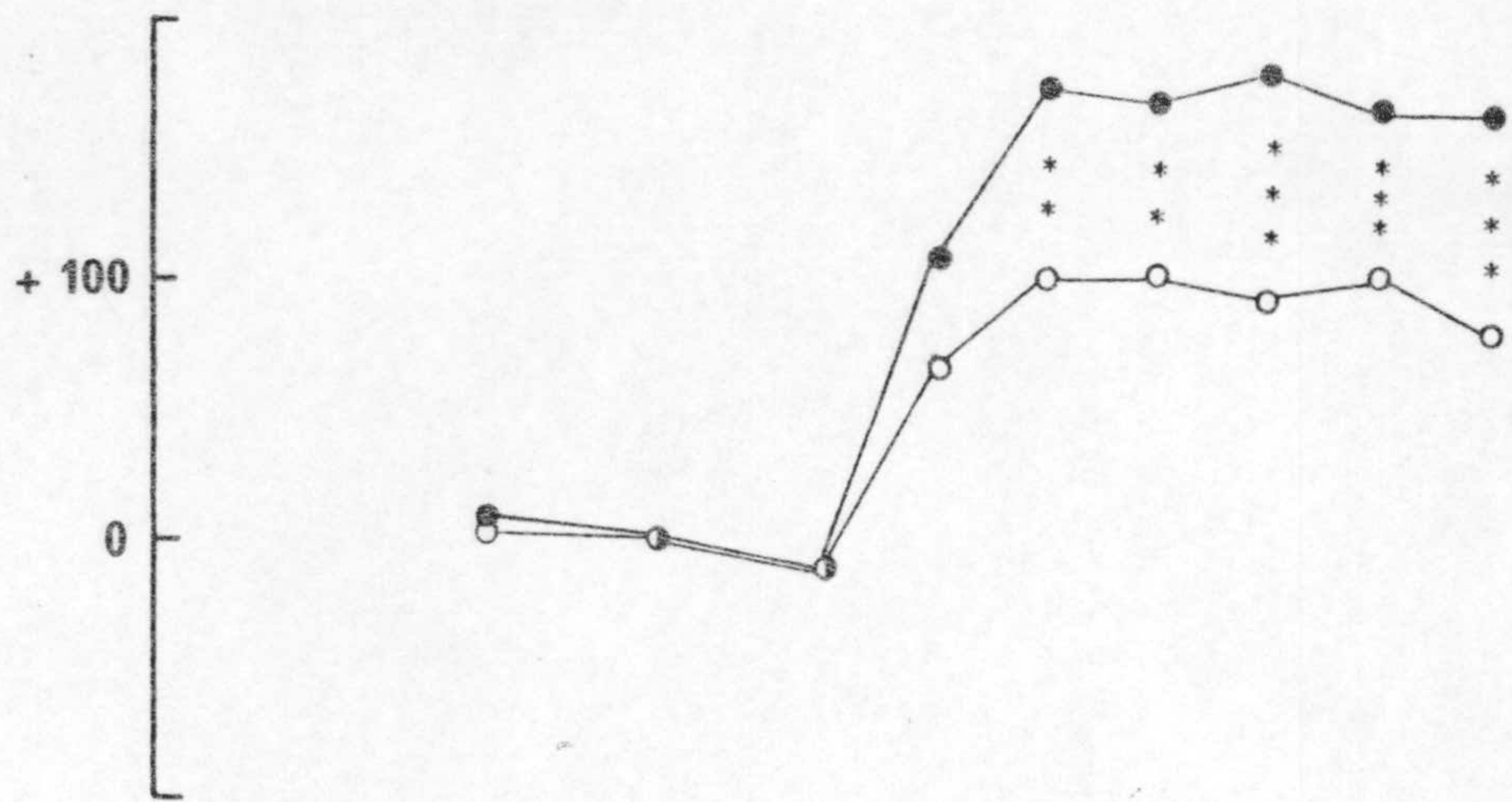
Col.

F.L.

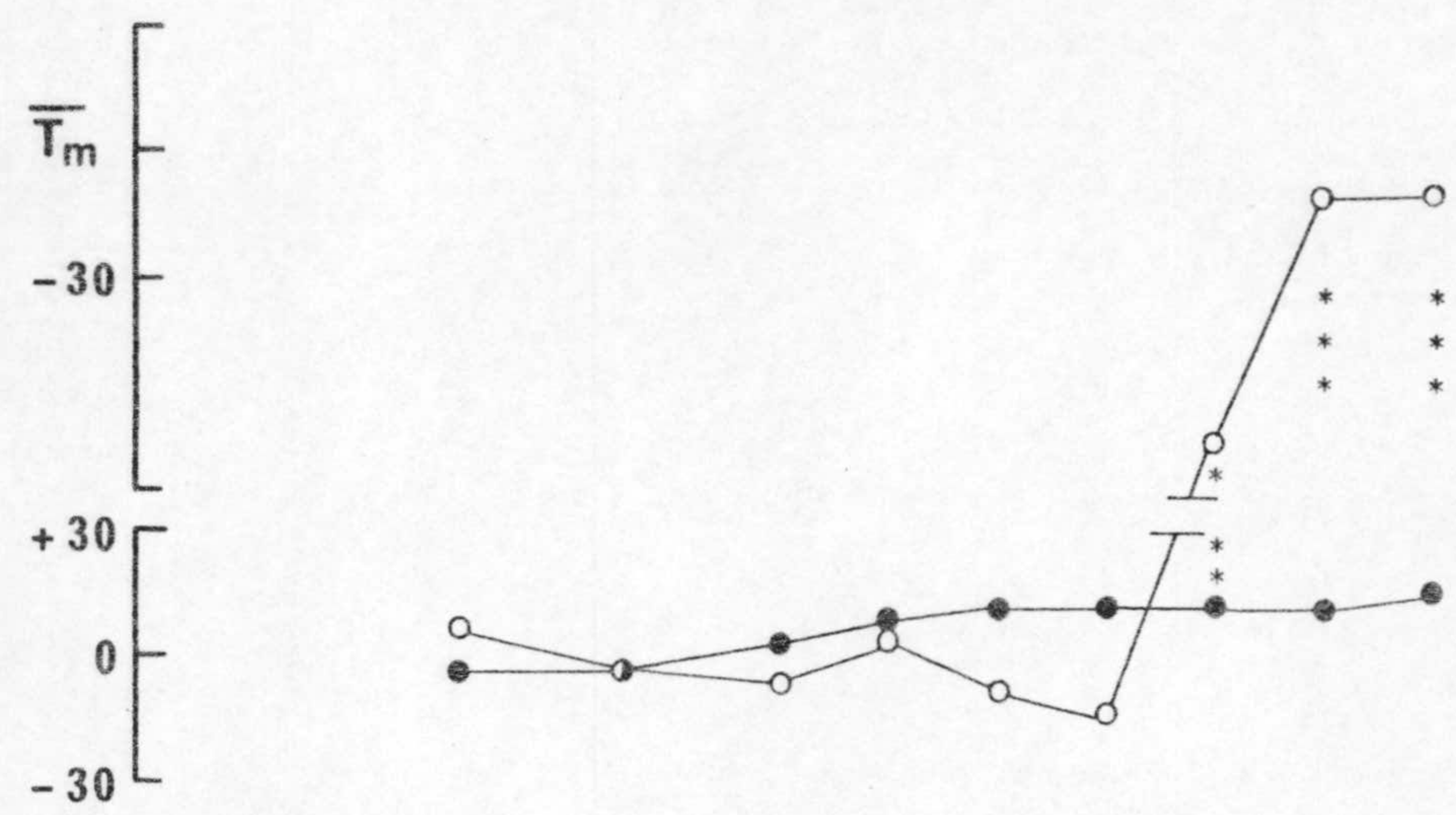
t (hr)

t (hr)

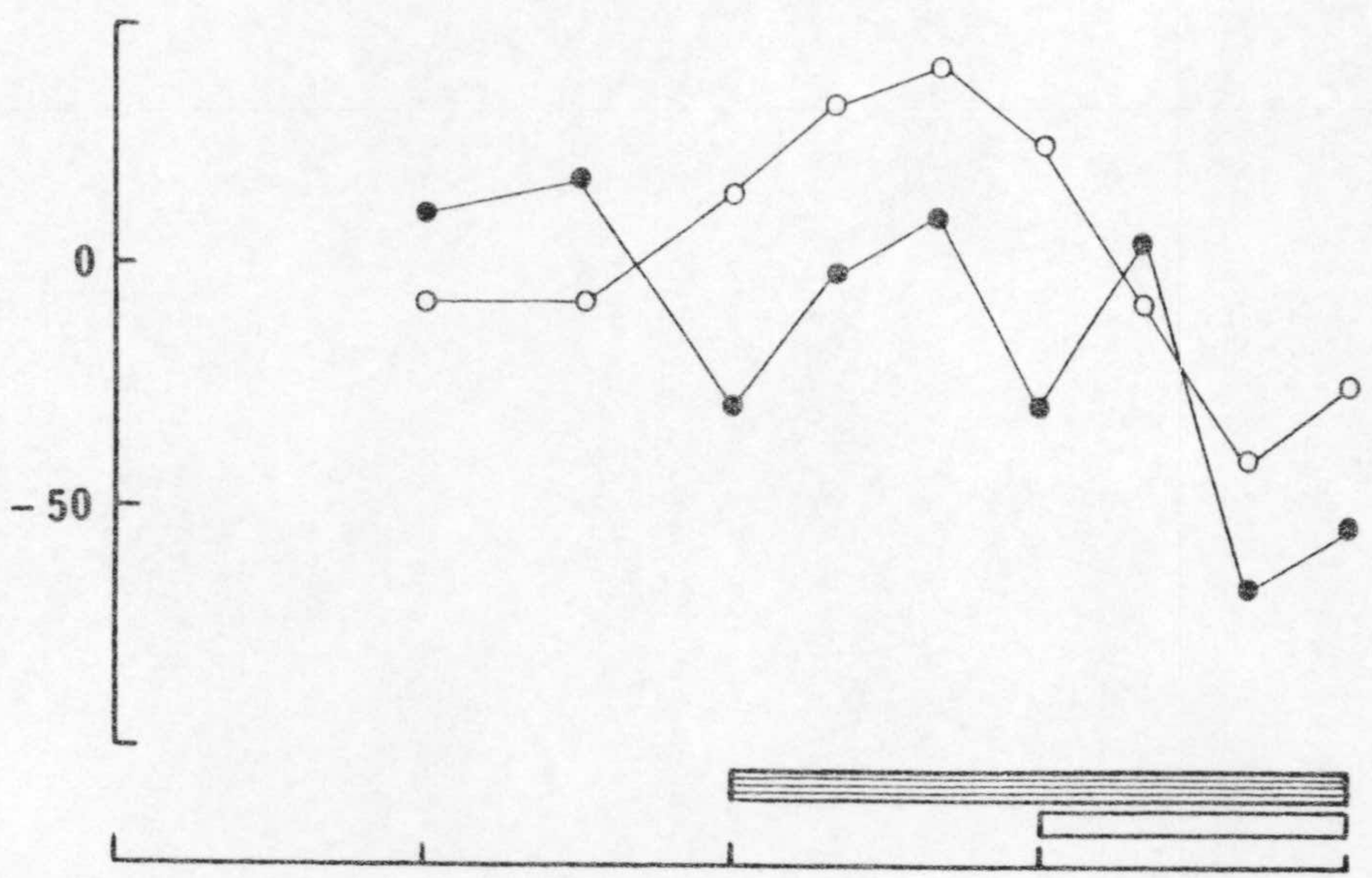
Fig. 4c.- CONCENTRACION.



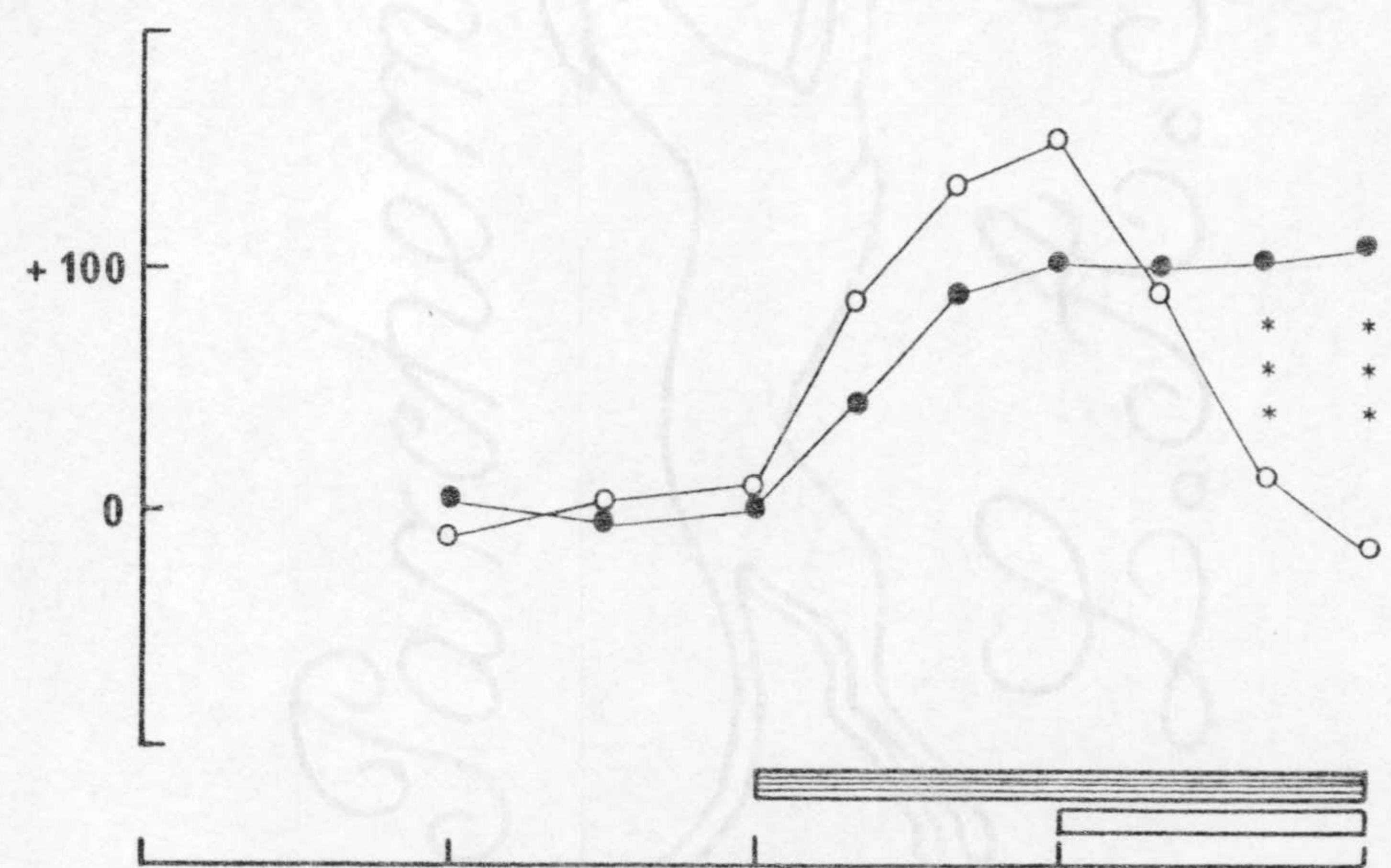
TC



BR



Col.



F.L.

Fig. 4d.- PRODUCTION.

Fig. 5.- Comparación de las variaciones porcentuales de diferentes parámetros a lo largo de los experimentos DHC (○), DHC + BR (●). Durante la infusión de bilirrubina las variaciones de esta en concentración y producción se refirieron a la concentración máxima del bloque experimental y a la Tm media obtenida para rata, respectivamente .

5a. Flujo.

5b. Concentración y Producción de Na^+ y K^+ .

5c. Concentración de taurocolato , bilirrubina, colesterol y fosfolípidos.

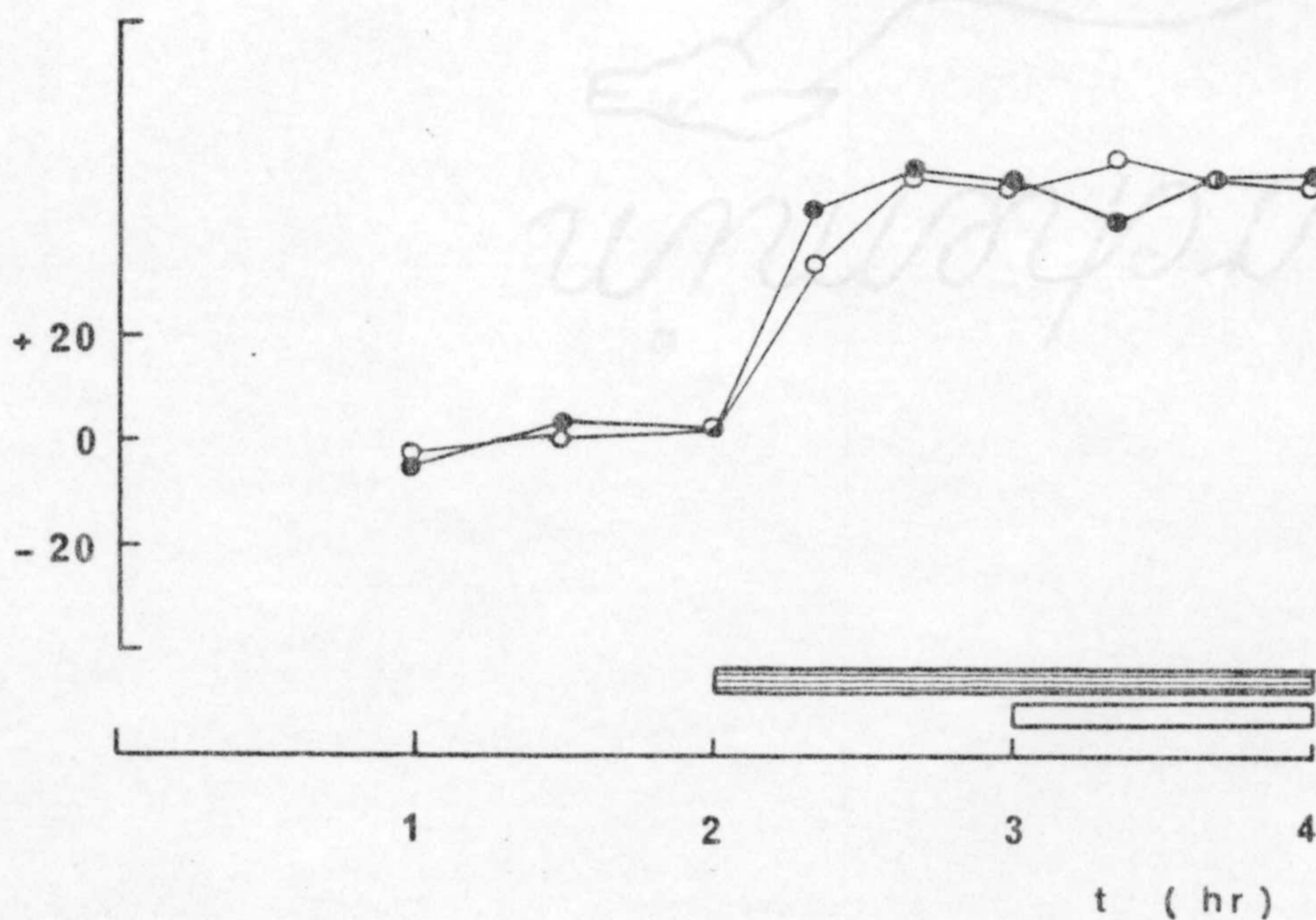
5d. Producción de taurocolato , bilirrubina , colesterol y fosfolípidos.

Nivel de significación para los puntos entre los que se sitúan los asteriscos , obtenido a partir de los valores absolutos :

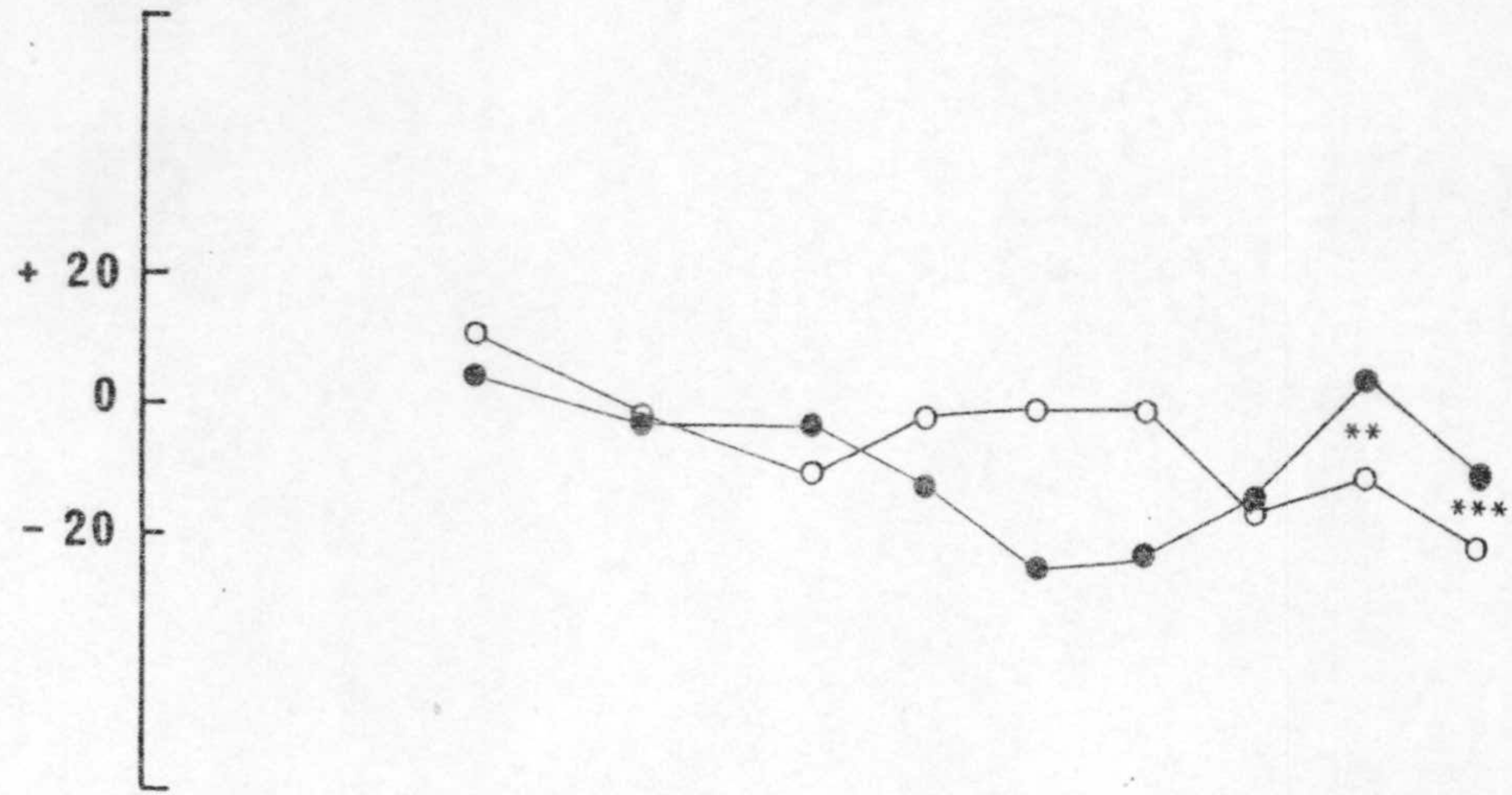
$p < 0,05$ *
 $p < 0,01$ **
 $p < 0,001$ ***

▨ Infusión de dehidrocolato; □ Infusión de bilirrubina.

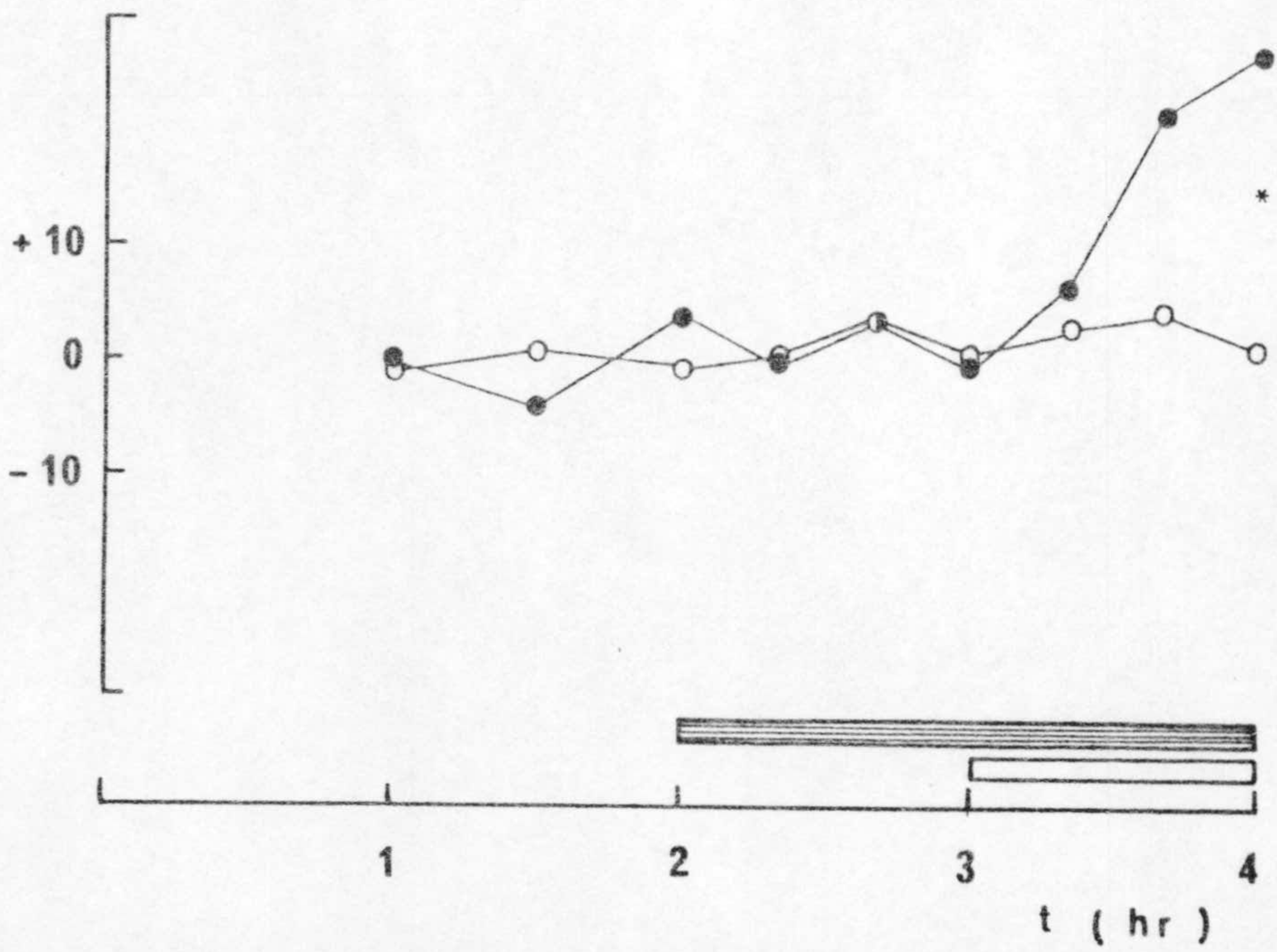
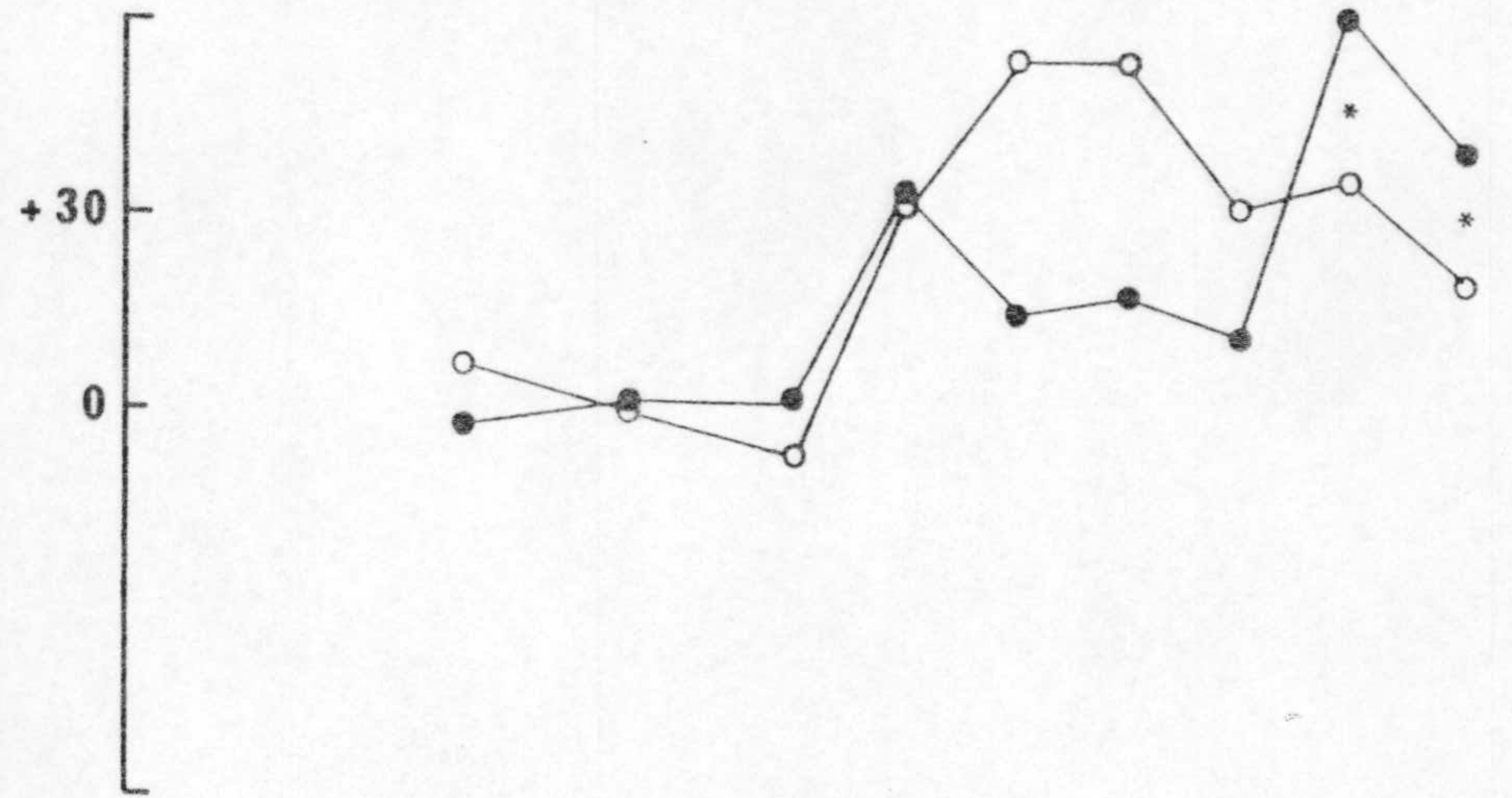
Fig. 5a.- FLUJO.



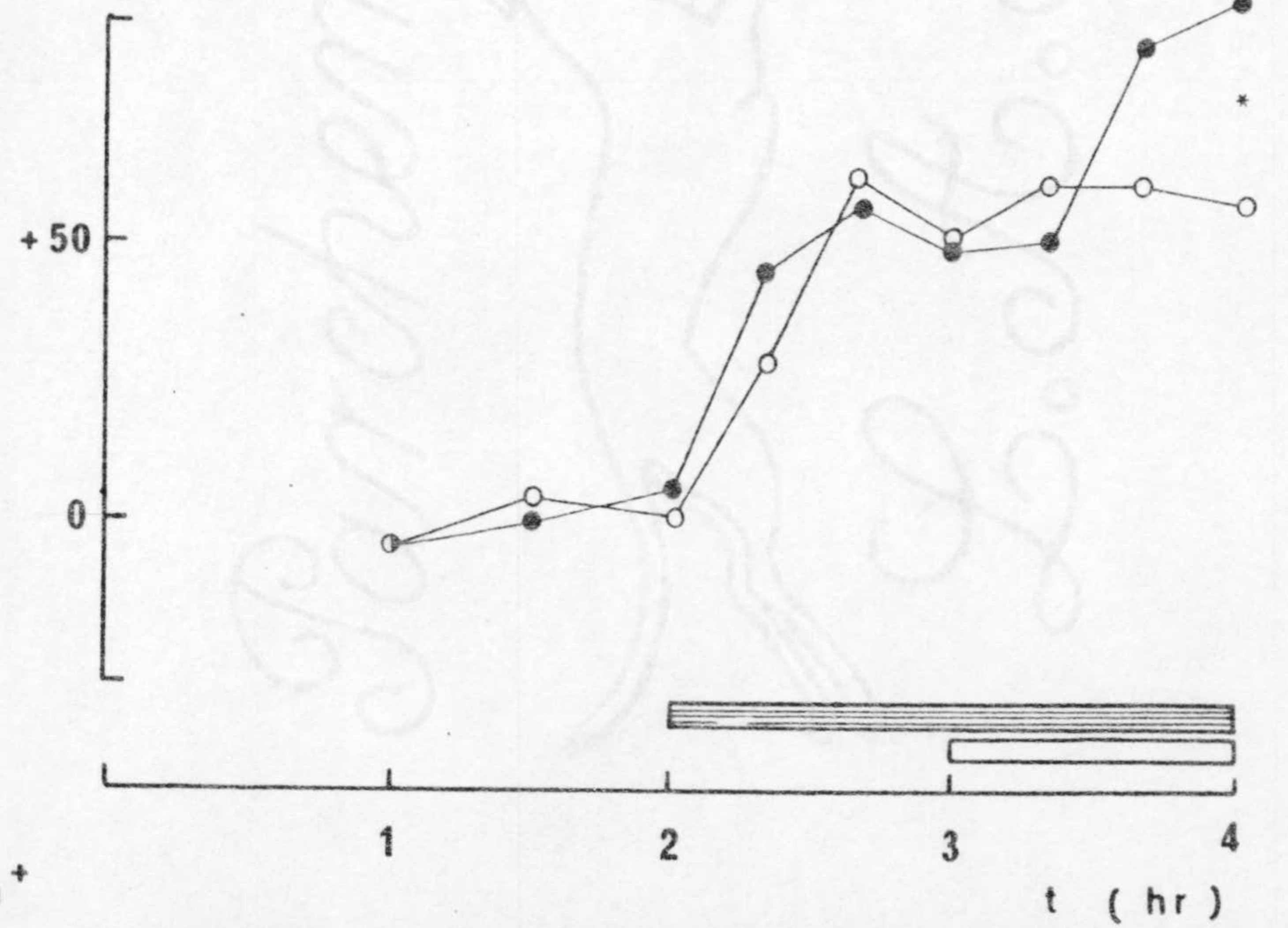
CONCENTRACION



PRODUCCION

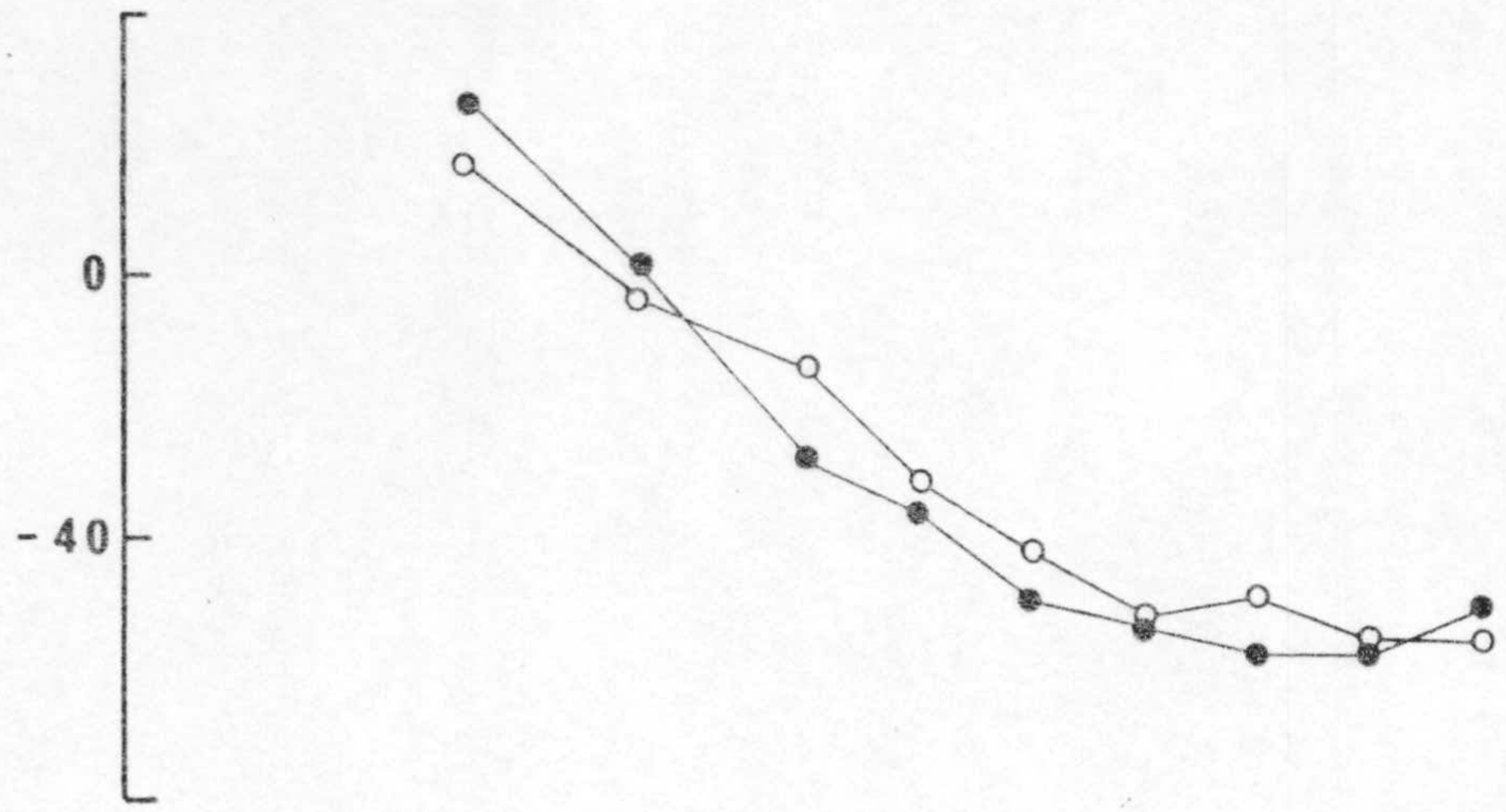


K⁺

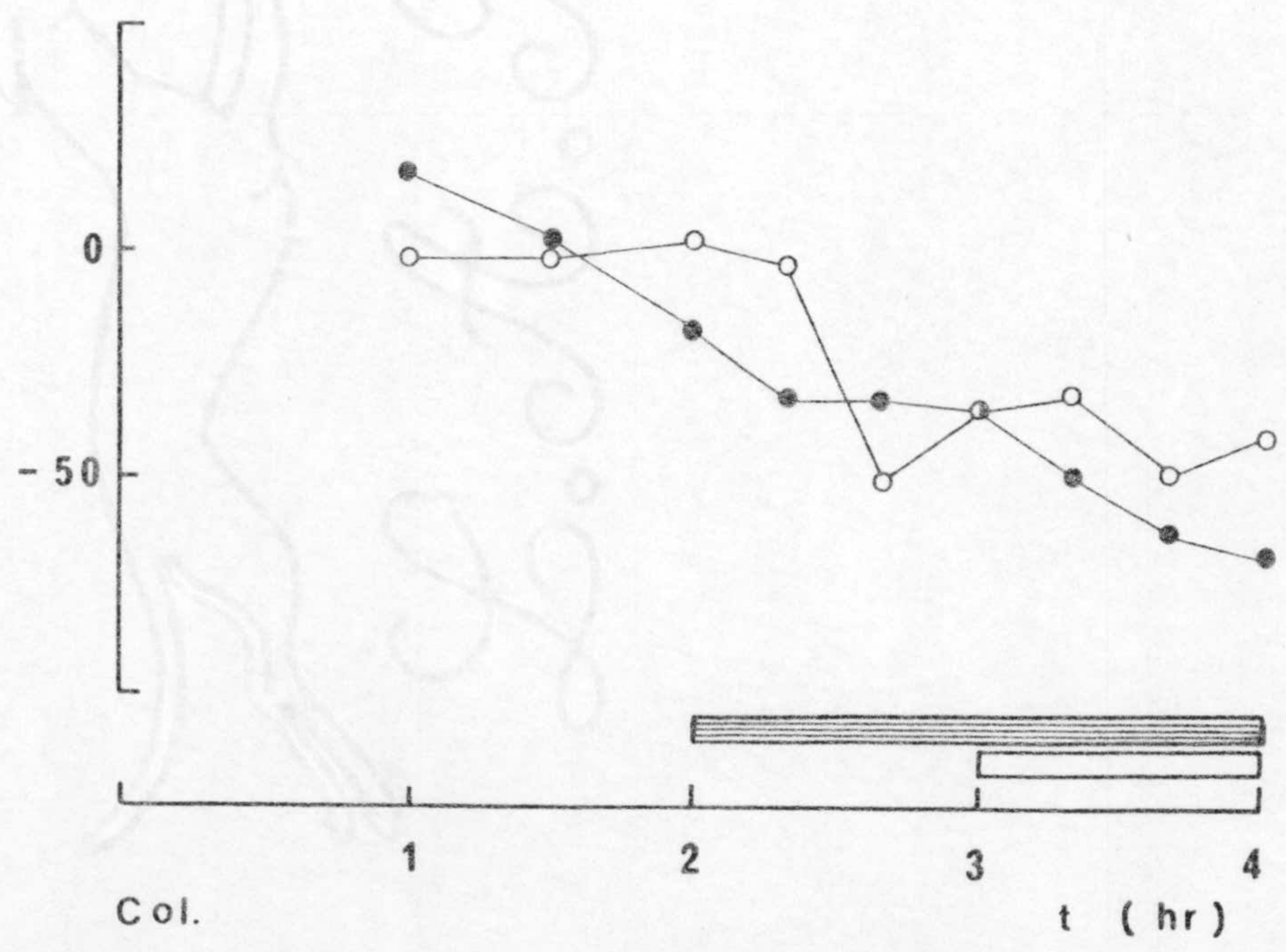


Na⁺

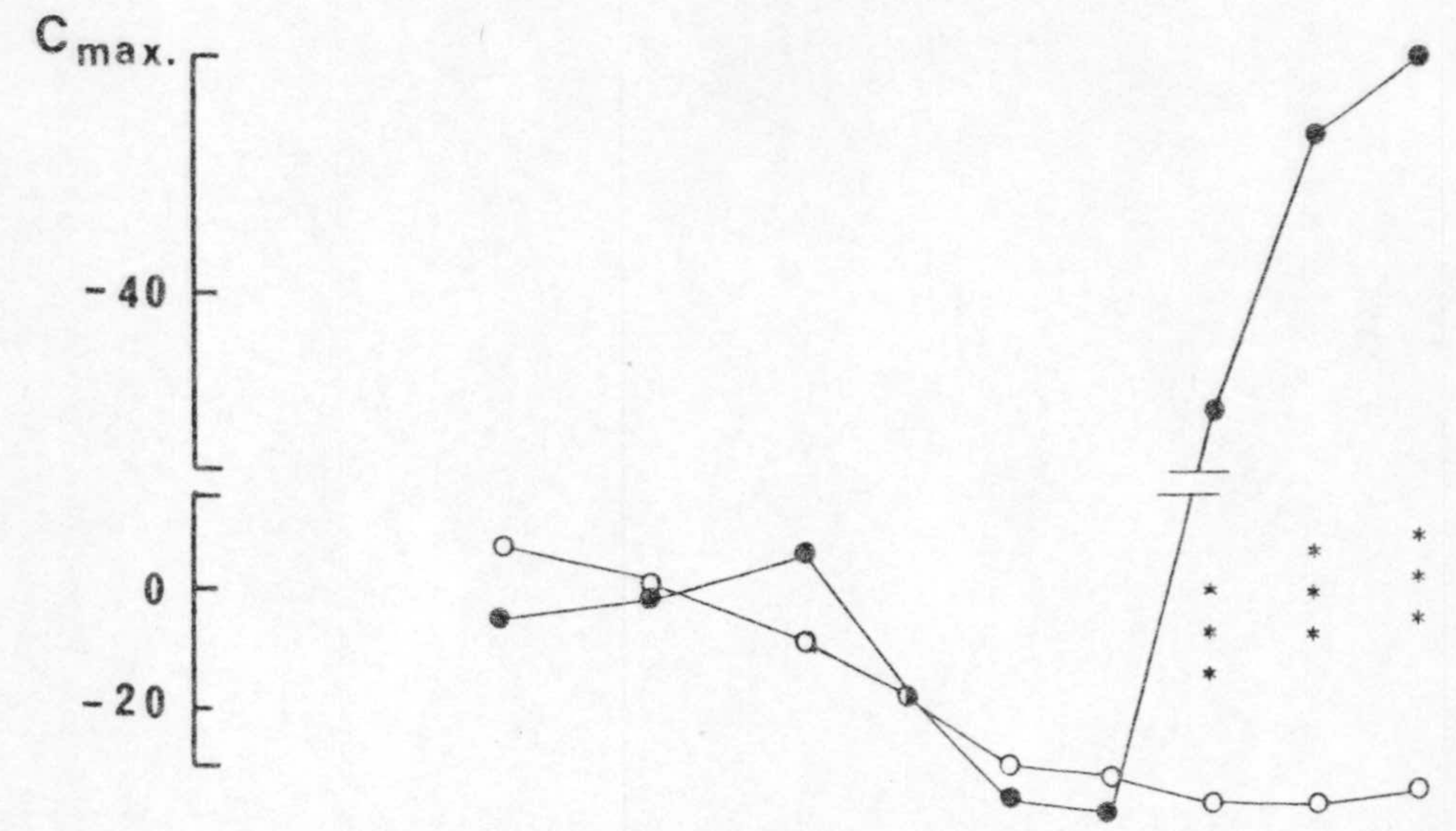
Fig. 5b.



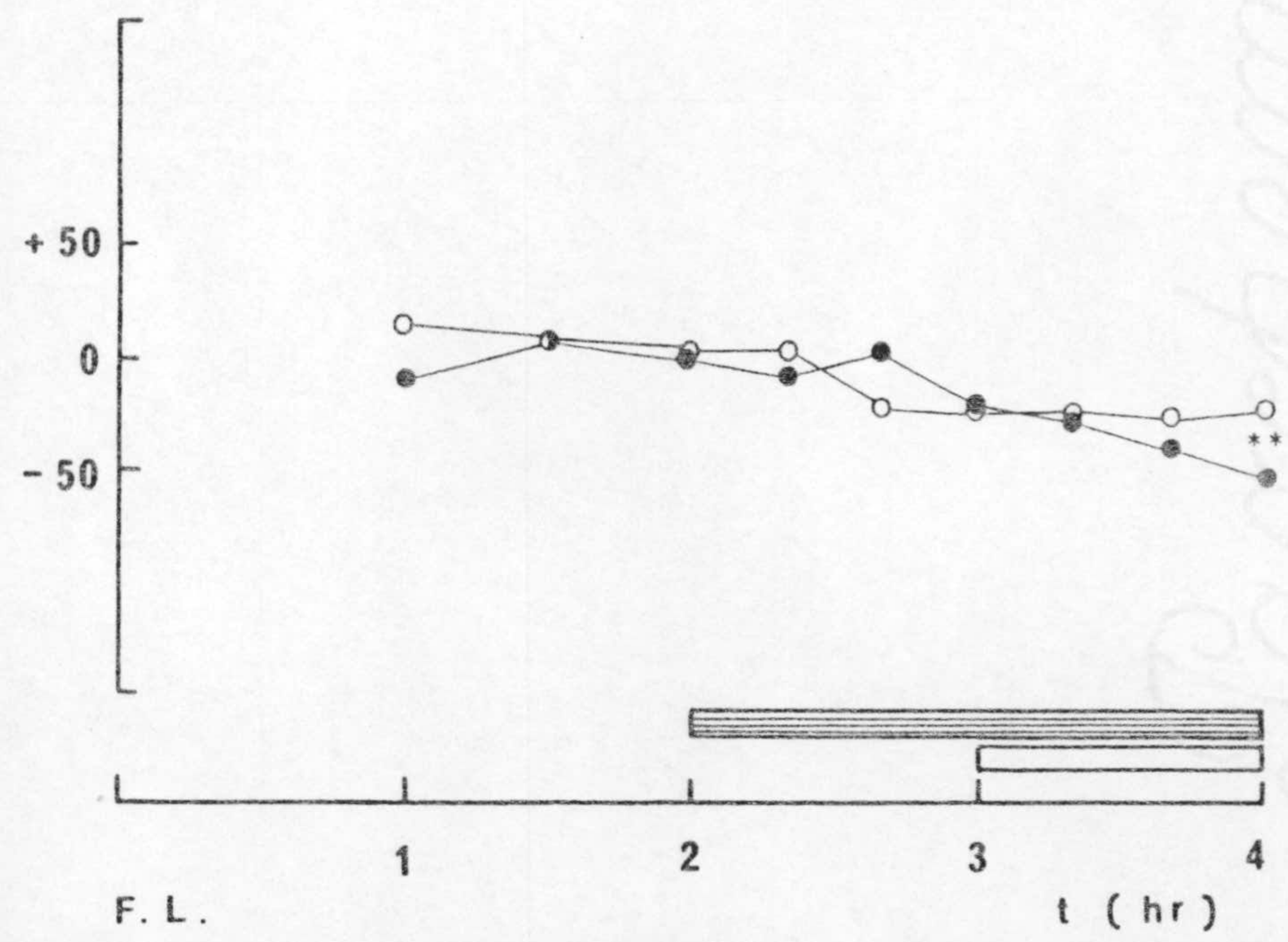
TC



Col.

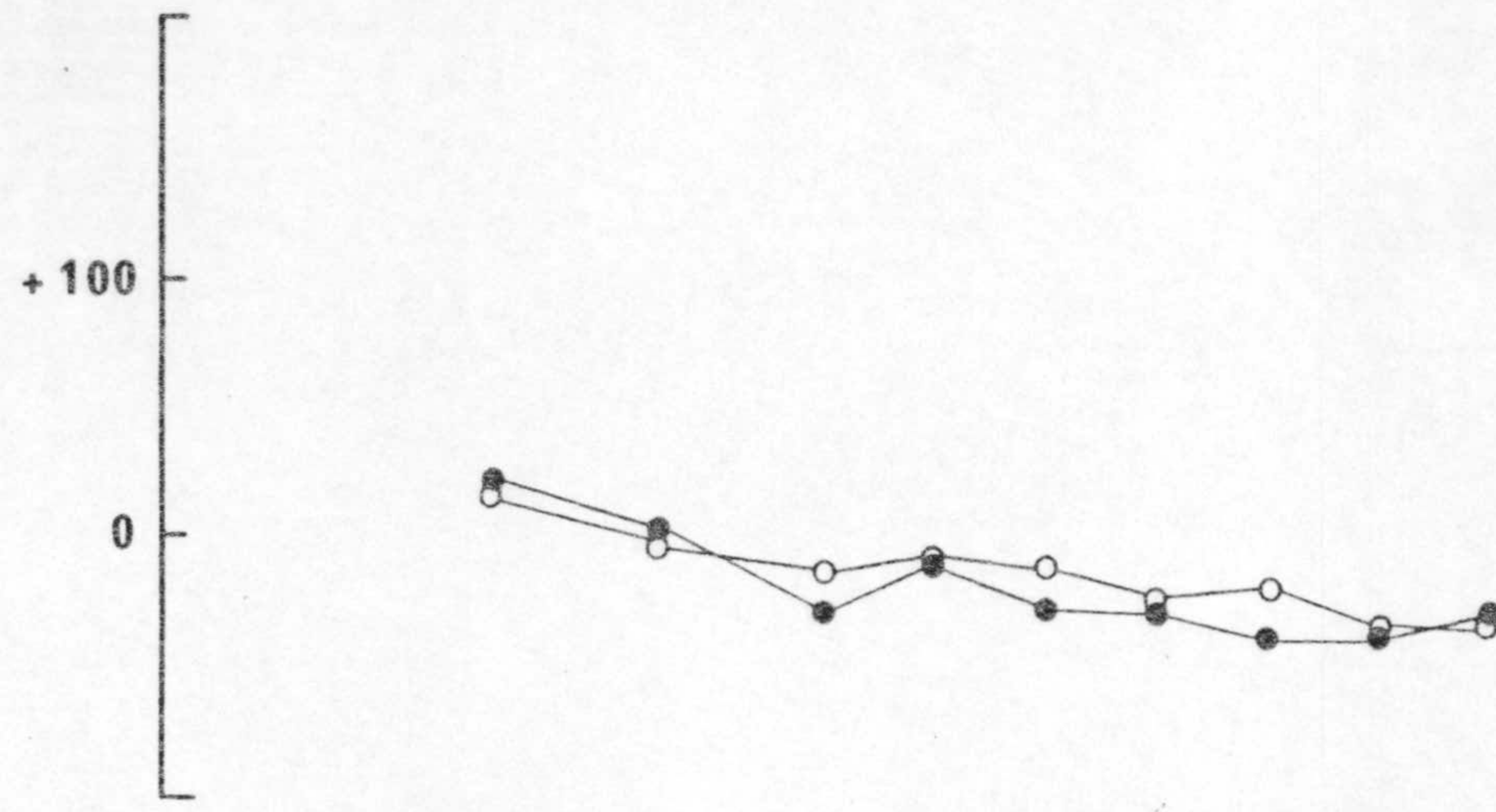


BR

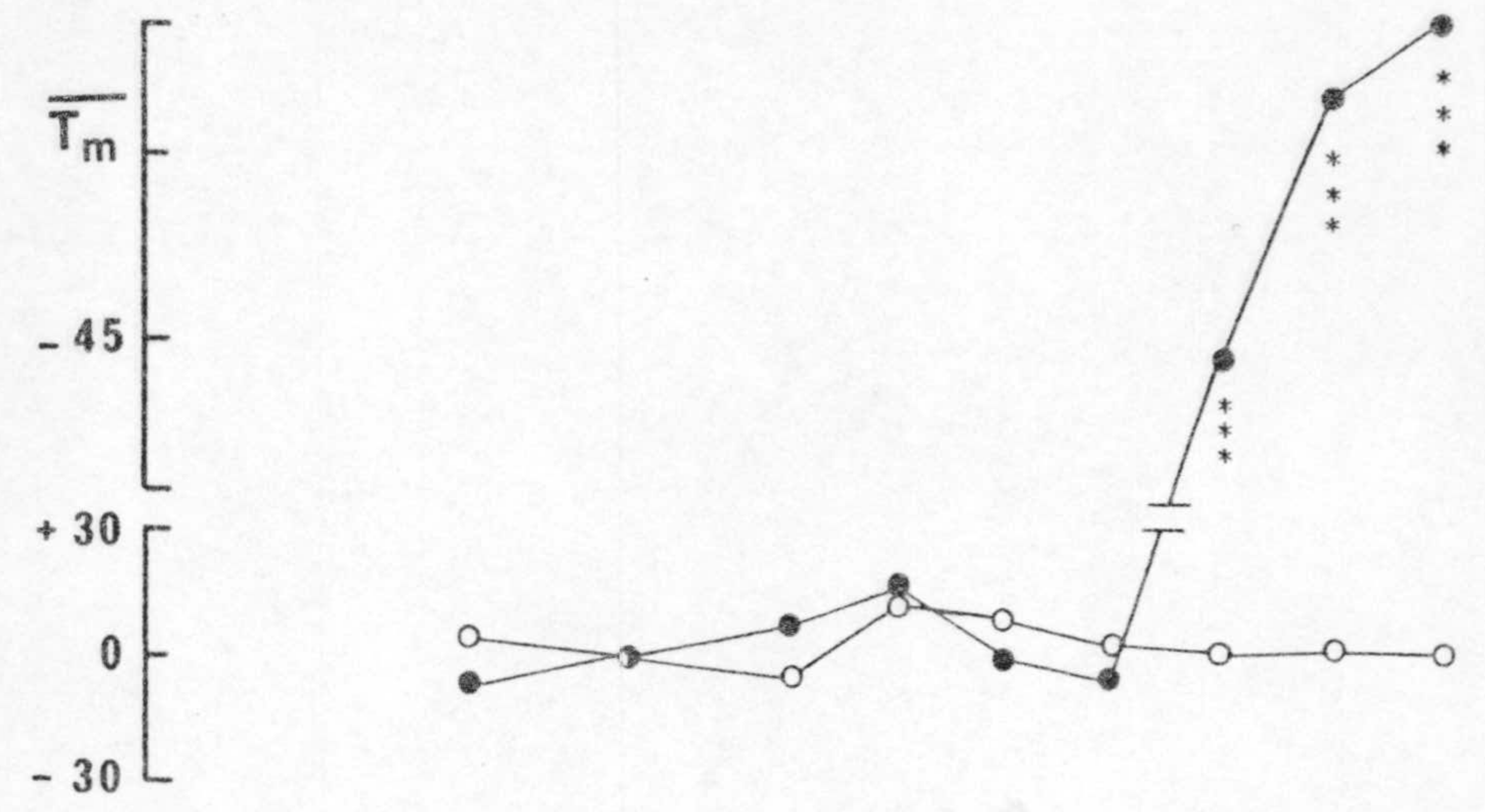


F. L.

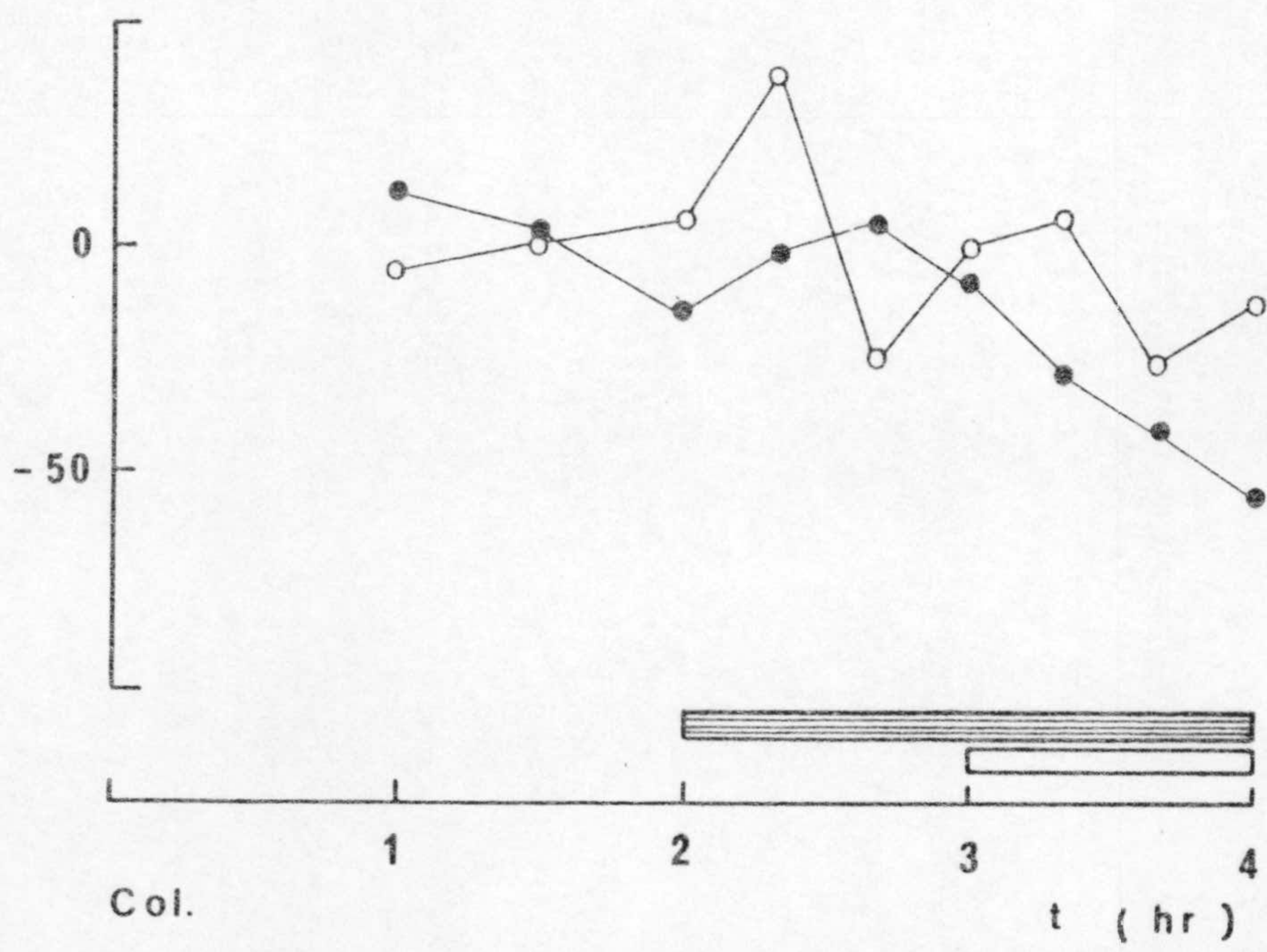
Fig. 5c. - CONCENTRACION.



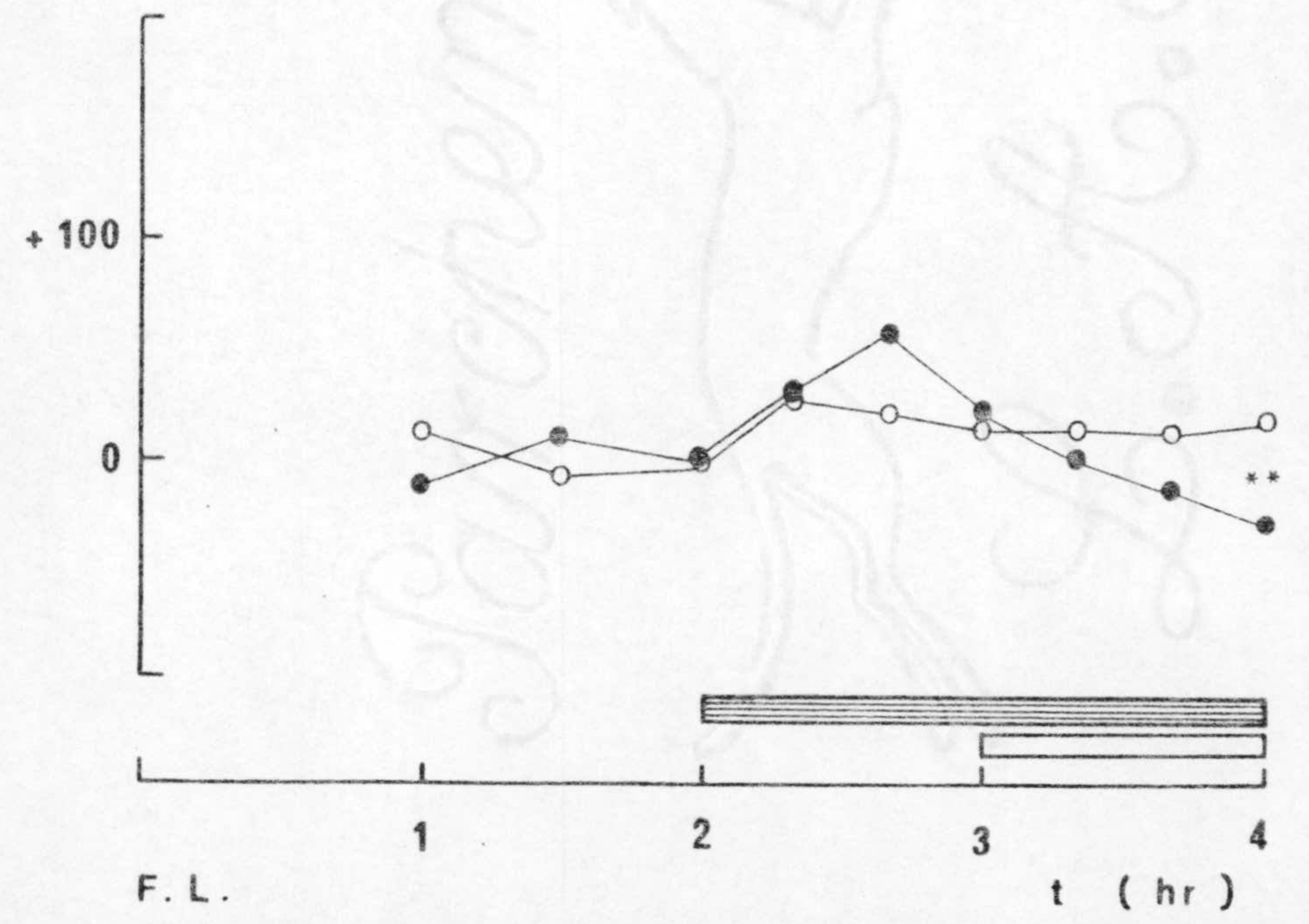
TC



BR



Col.



F.L.

Fig. 5d. - PRODUCTION.

Fig. 6.- Comparación de las variaciones porcentuales de varios parámetros a lo largo de los experimentos TC + BR (\blacktriangle), DHC + BR (\circ). Durante la infusión de bilirrubina las variaciones de ésta en concentración y producción se refirieron a la concentración máxima del bloque experimental y a la Tm media obtenida para rata, respectivamente.

6a. Flujo.

6b. Concentración y Producción de Na^+ y K^+ .

6c. Concentración de taurocolato, bilirrubina, colesterol y fosfolípidos.

6d. Producción de taurocolato, bilirrubina, colesterol y fosfolípidos.

Nivel de significación para los puntos entre los que se sitúan los asteriscos, obtenido a partir de los valores absolutos :

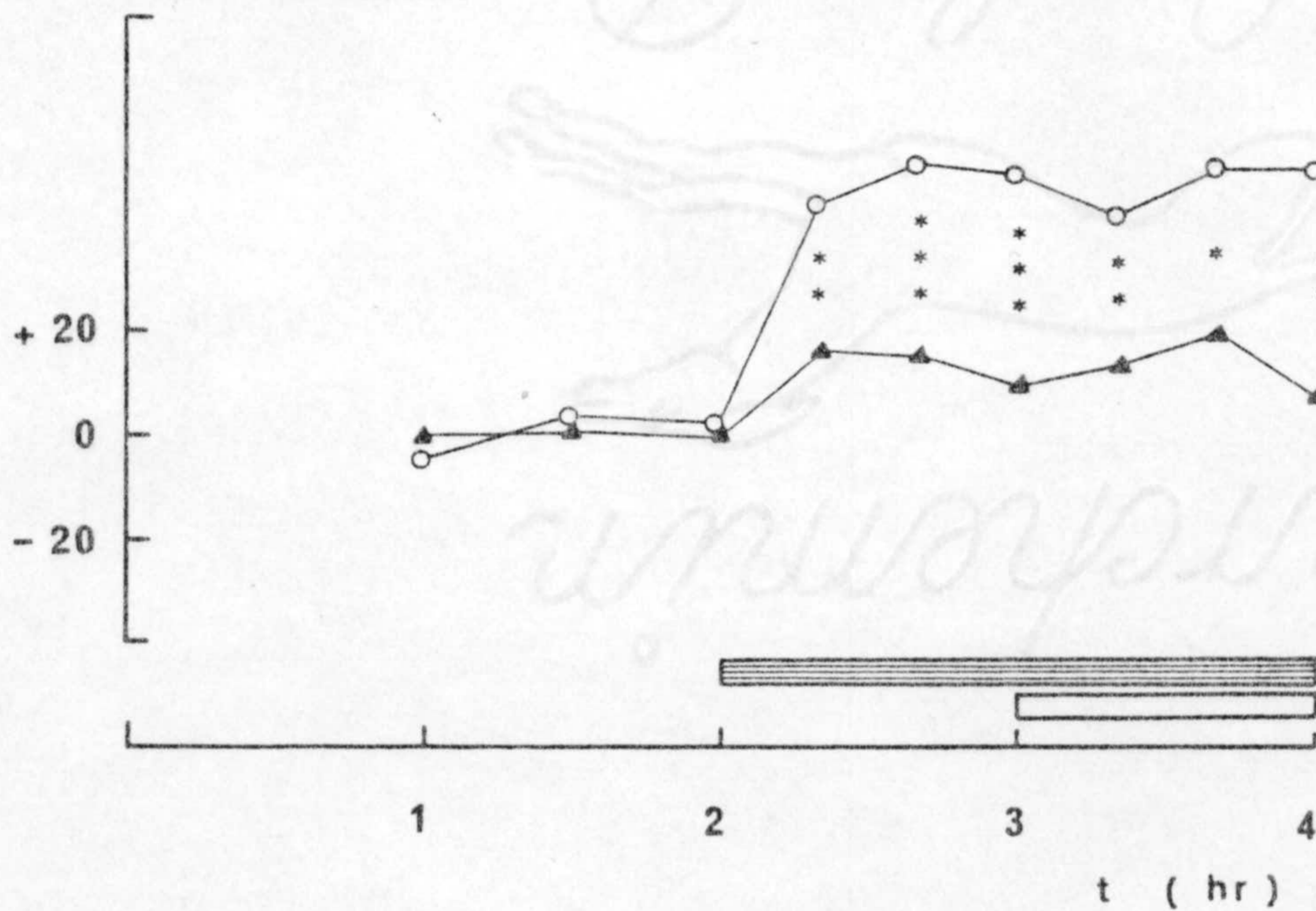
$p < 0,05$ *

$p < 0,01$ **

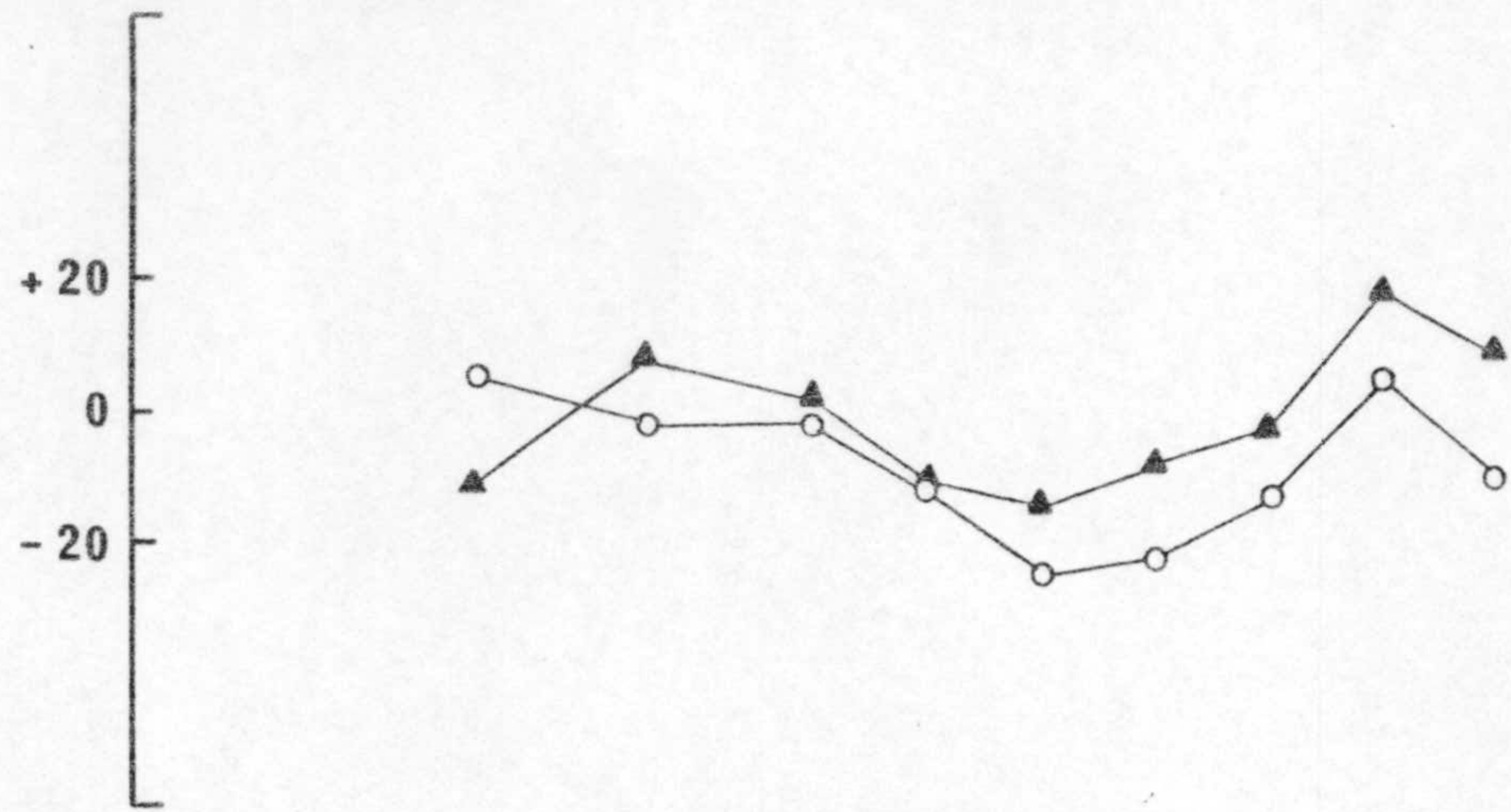
$p < 0,001$ ***

▨ Infusión de sal biliar; □ Infusión de bilirrubina.

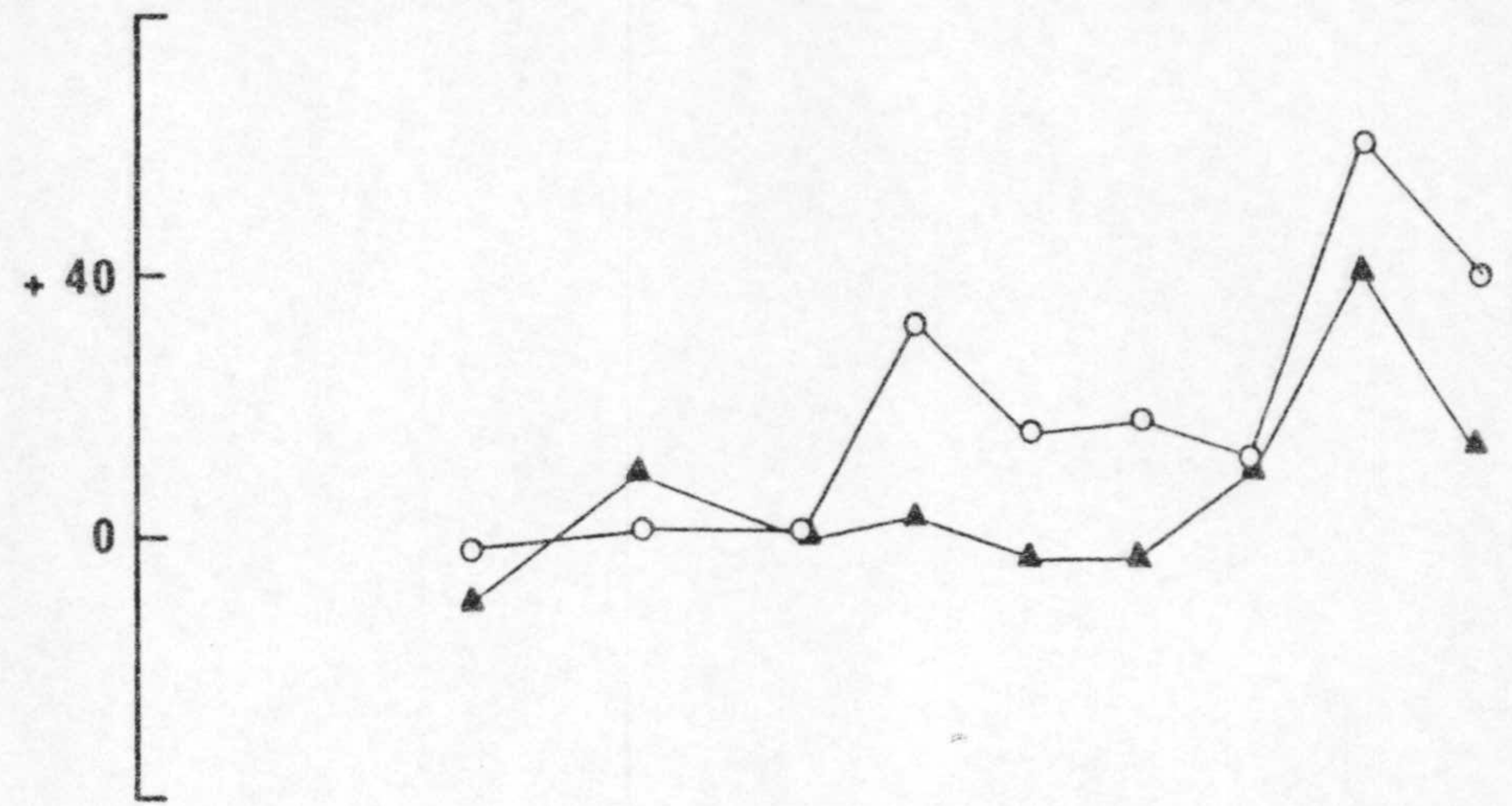
Fig.6a.- FLUJO.



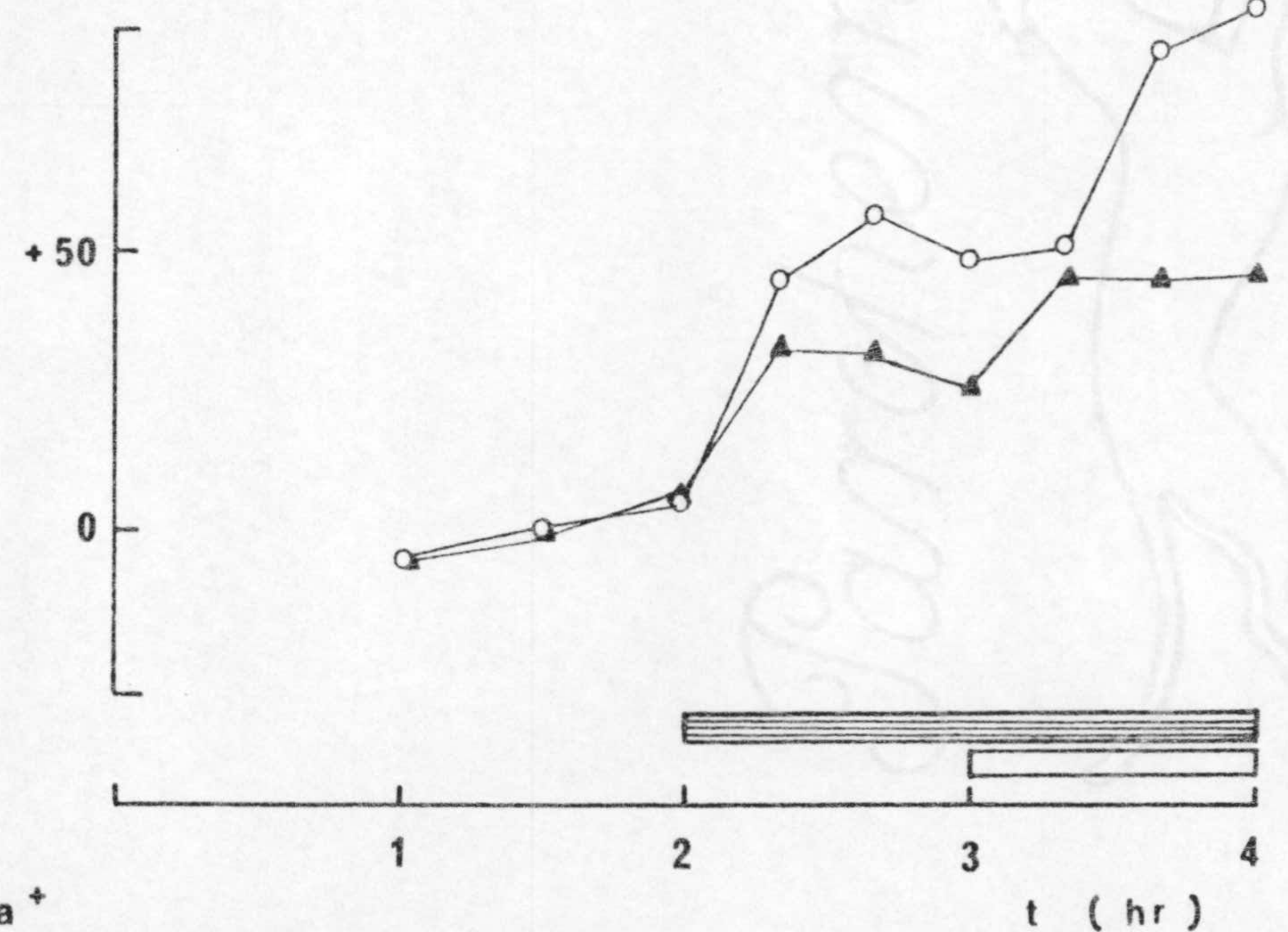
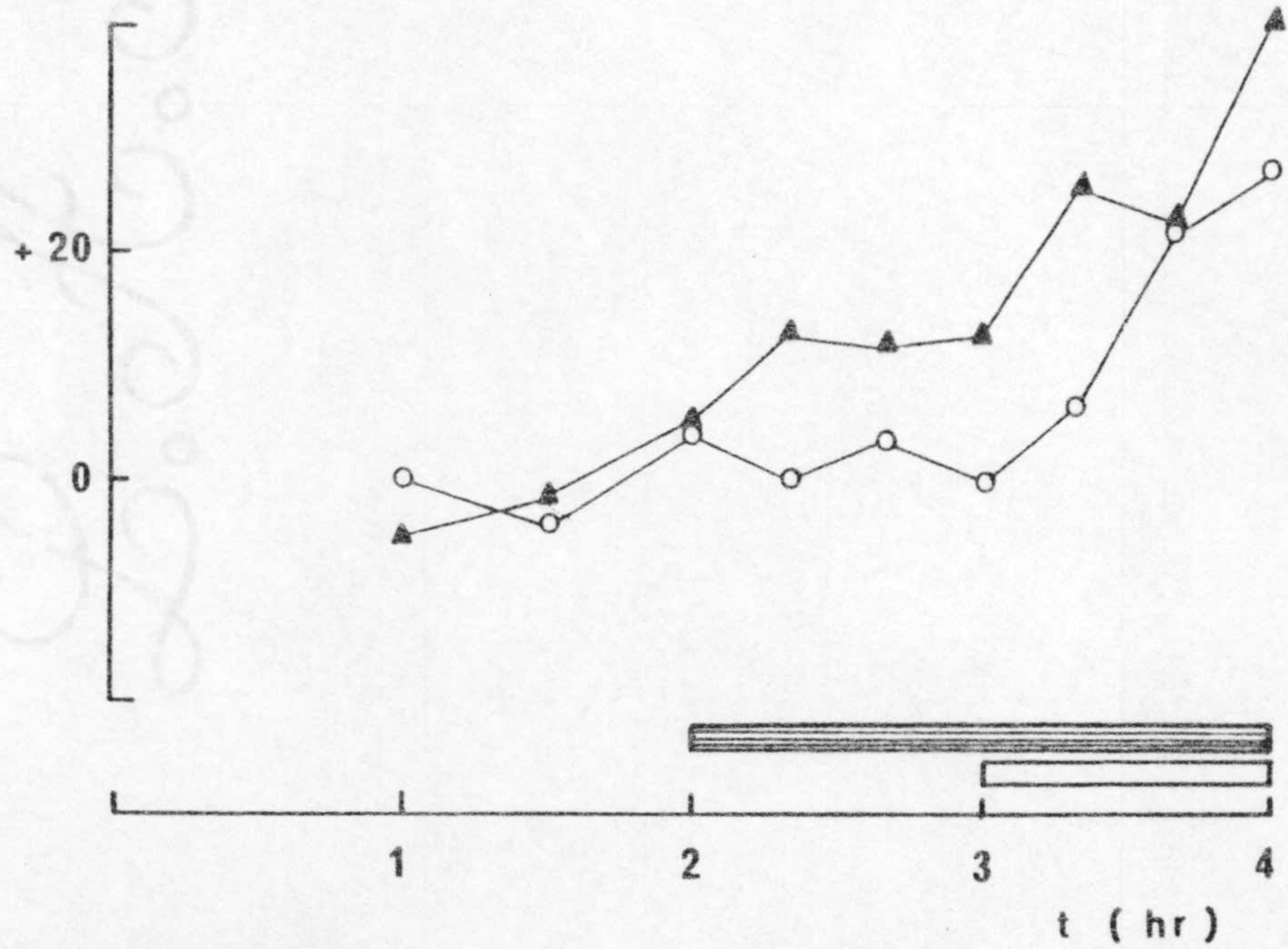
CONCENTRACION



PRODUCCION



K⁺



Na⁺

Fig. 6b.

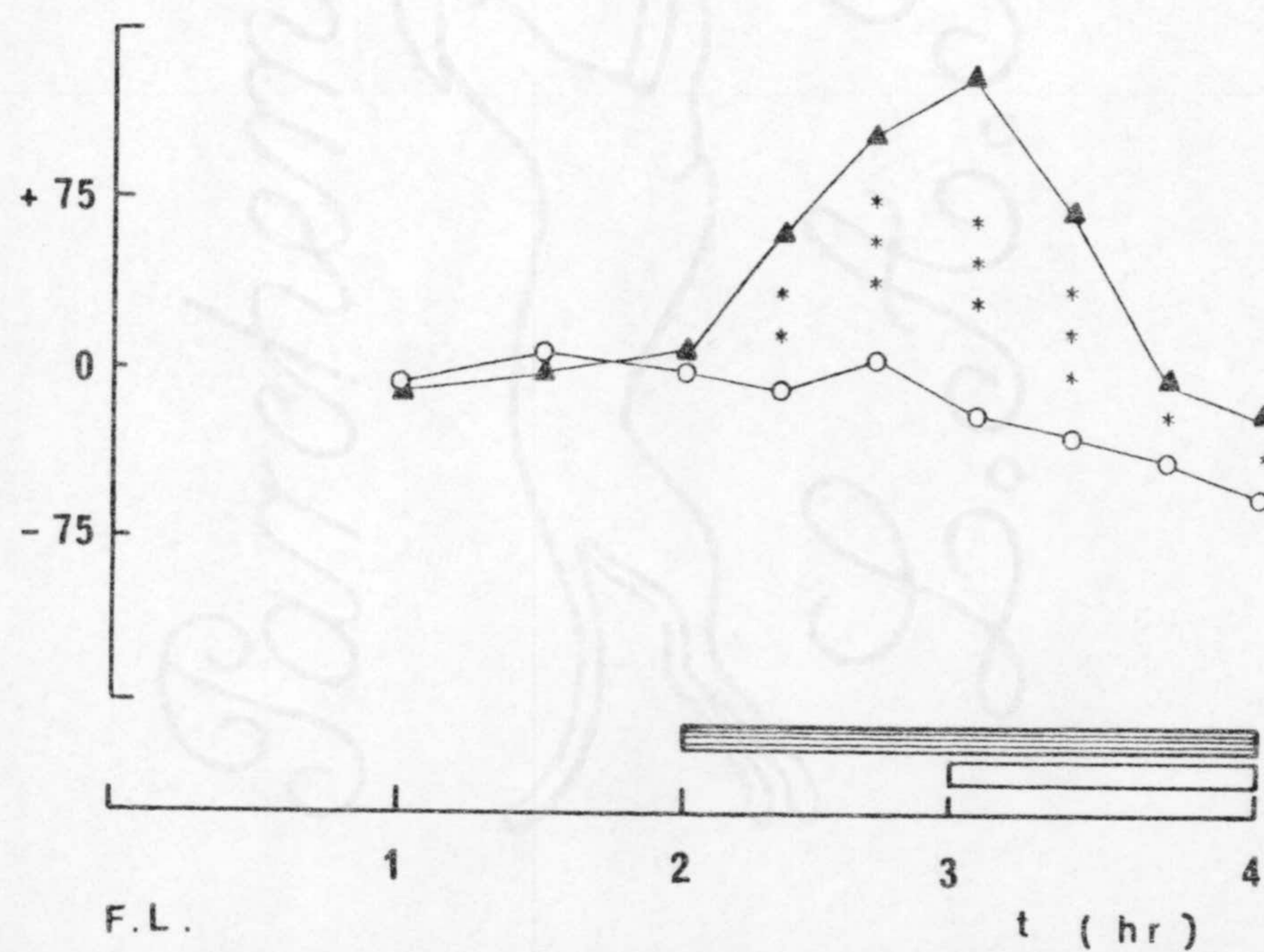
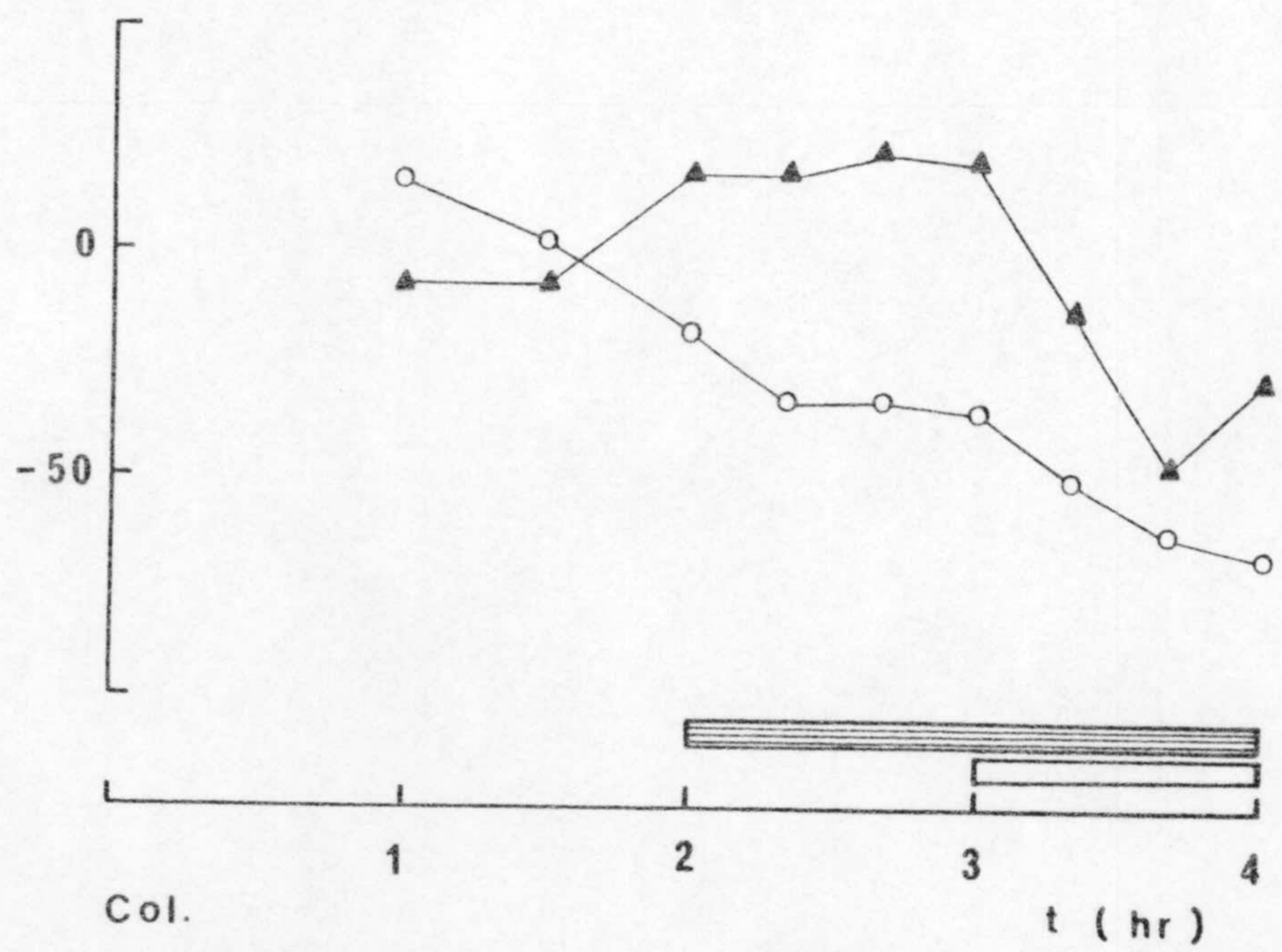
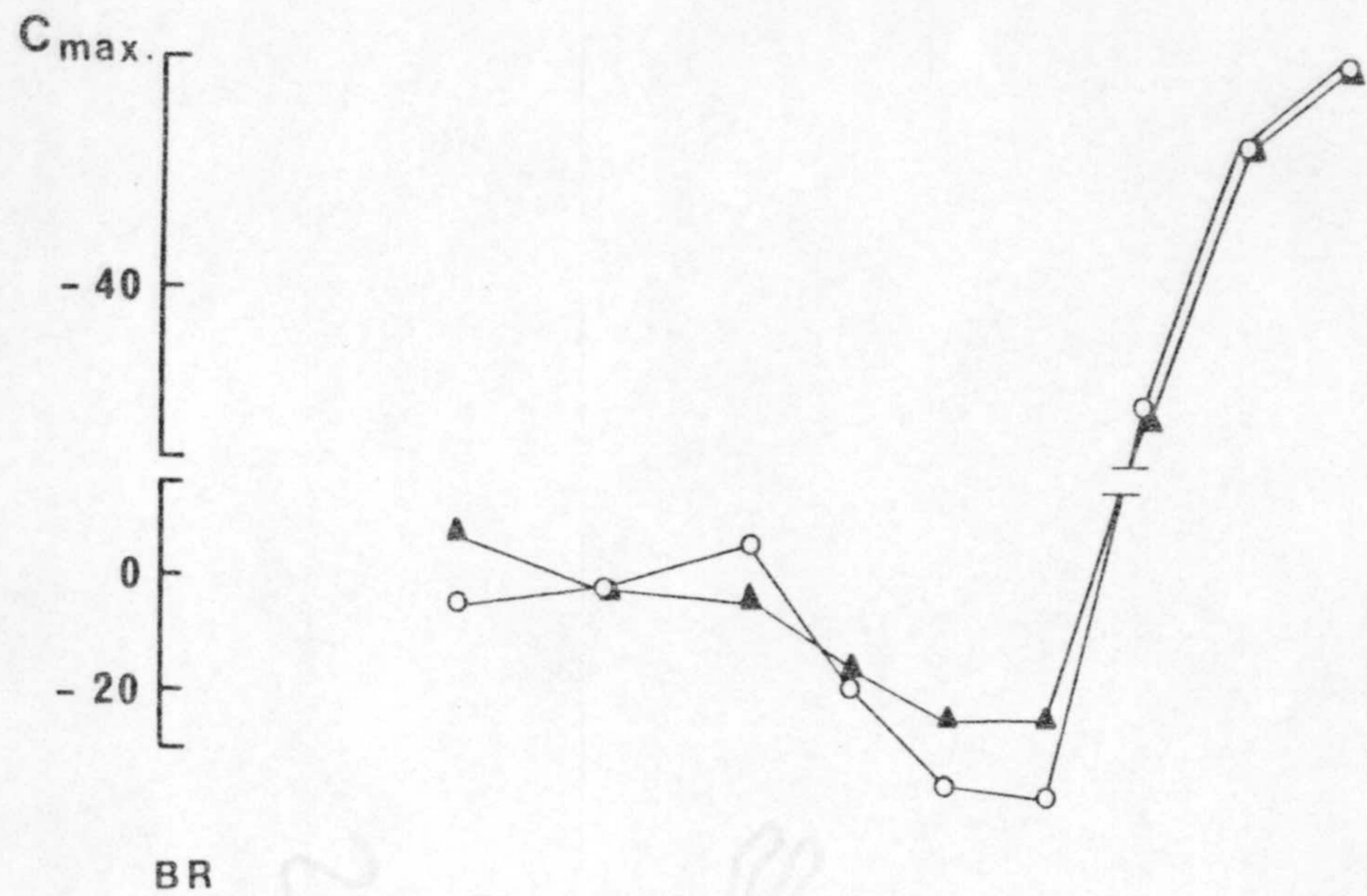
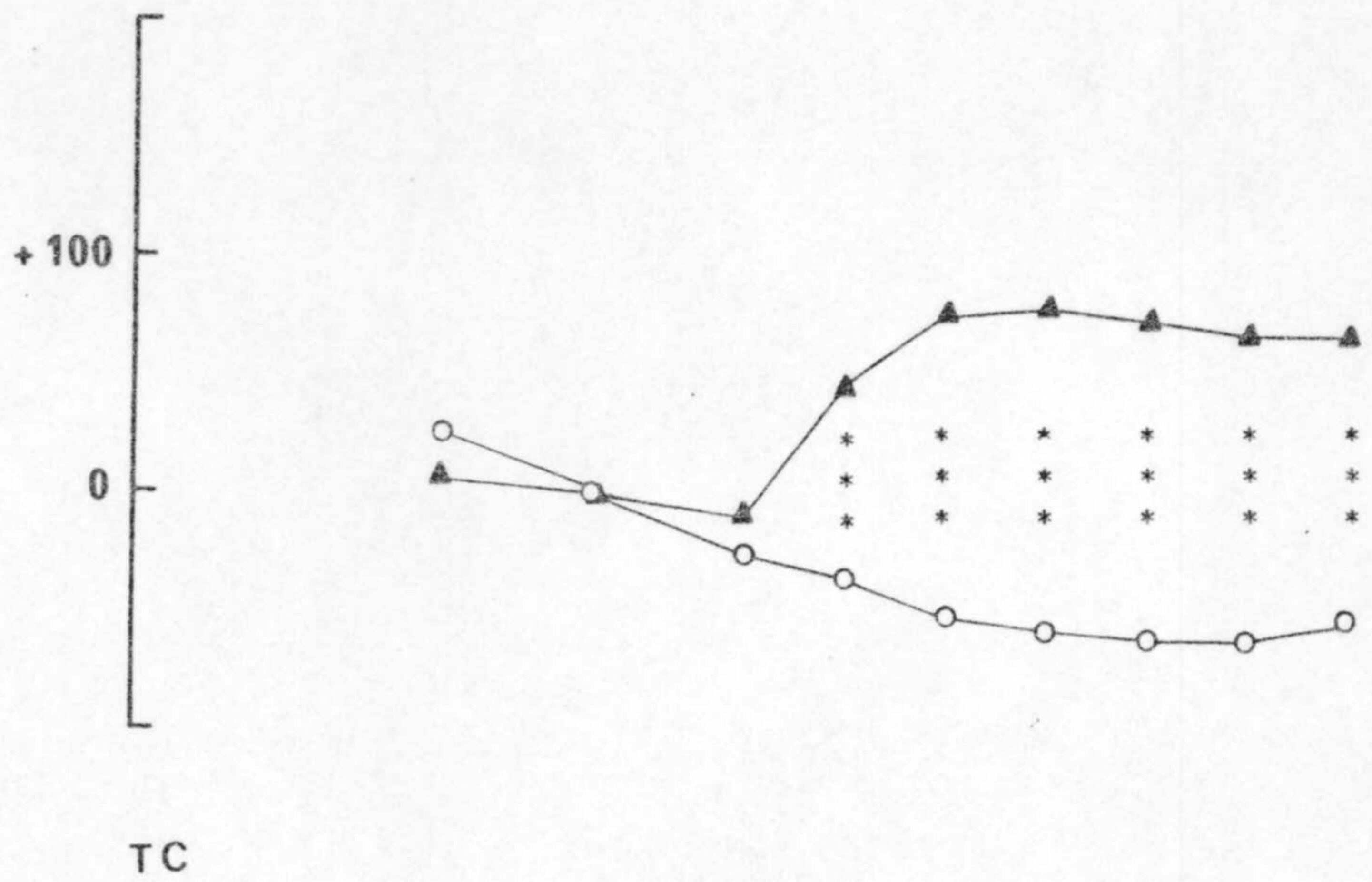


Fig. 6c. - CONCENTRACION.

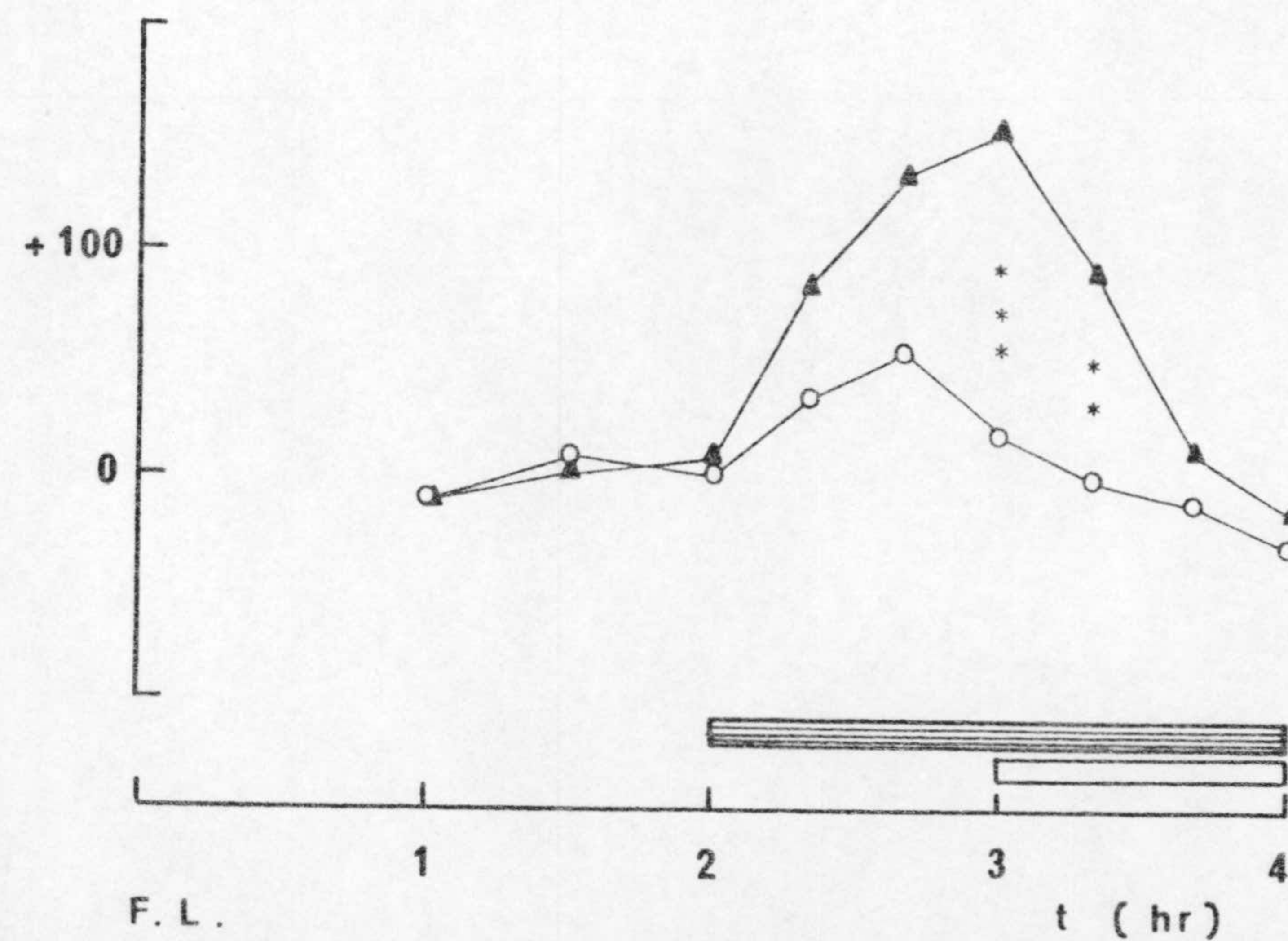
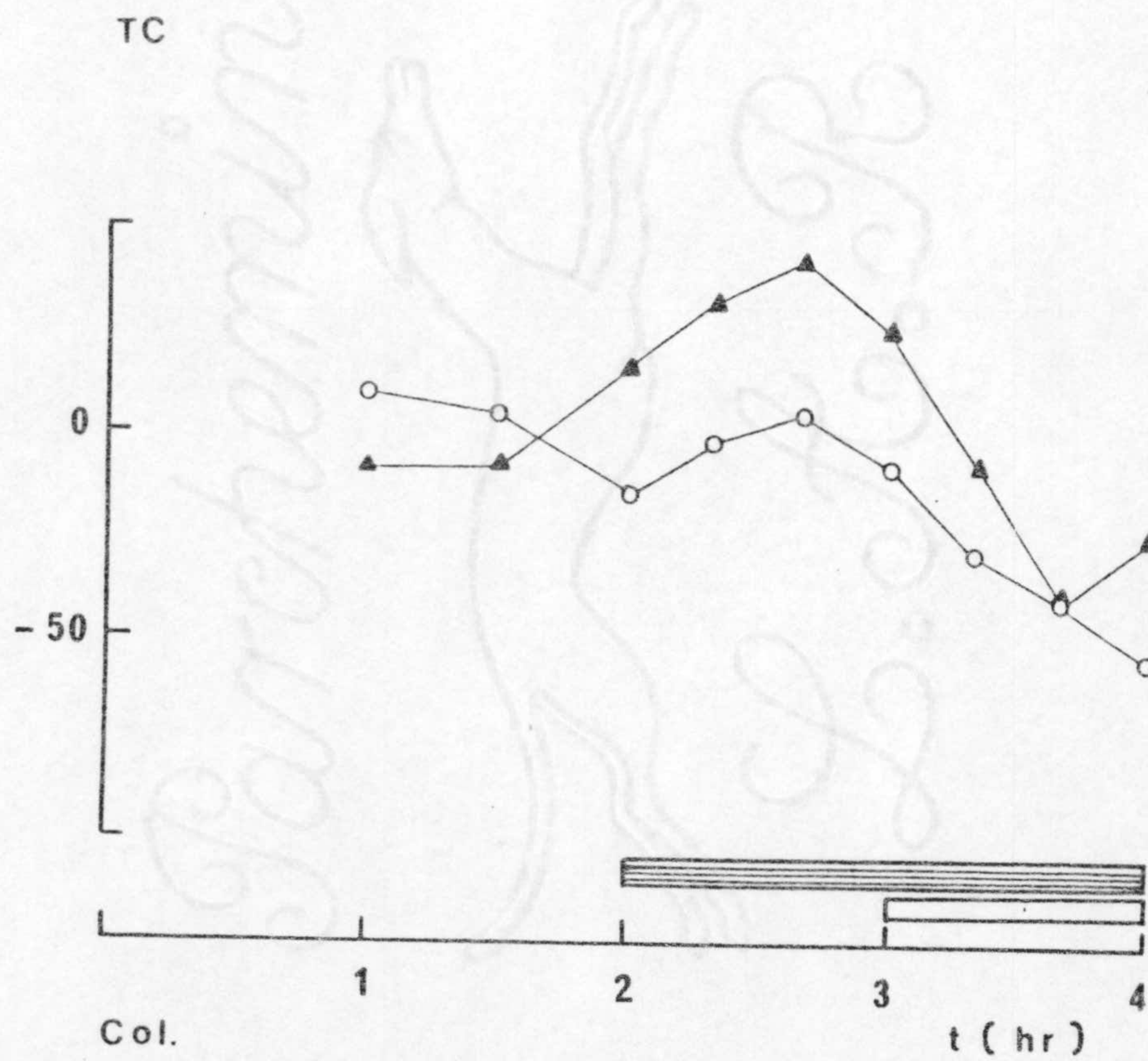
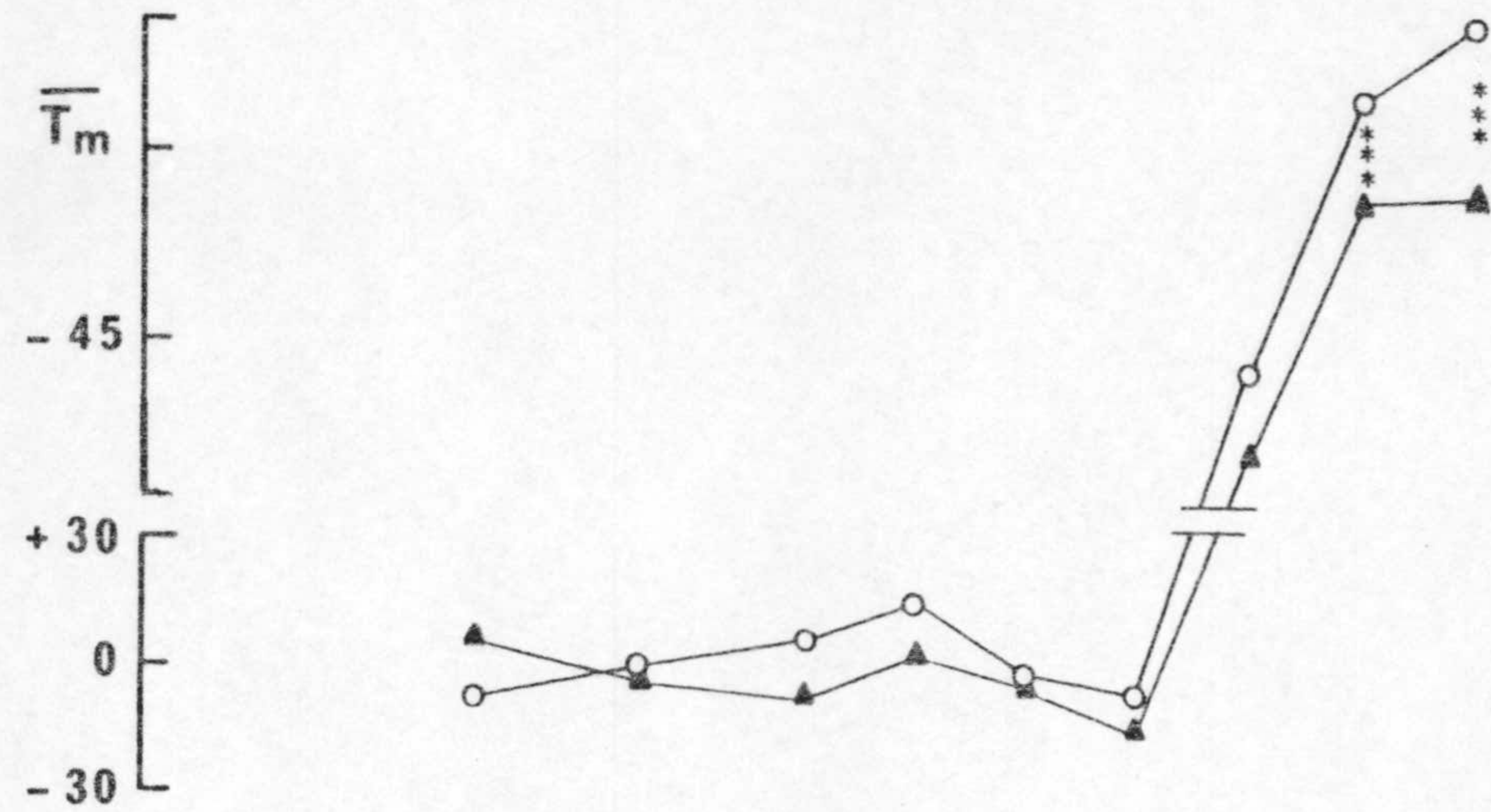
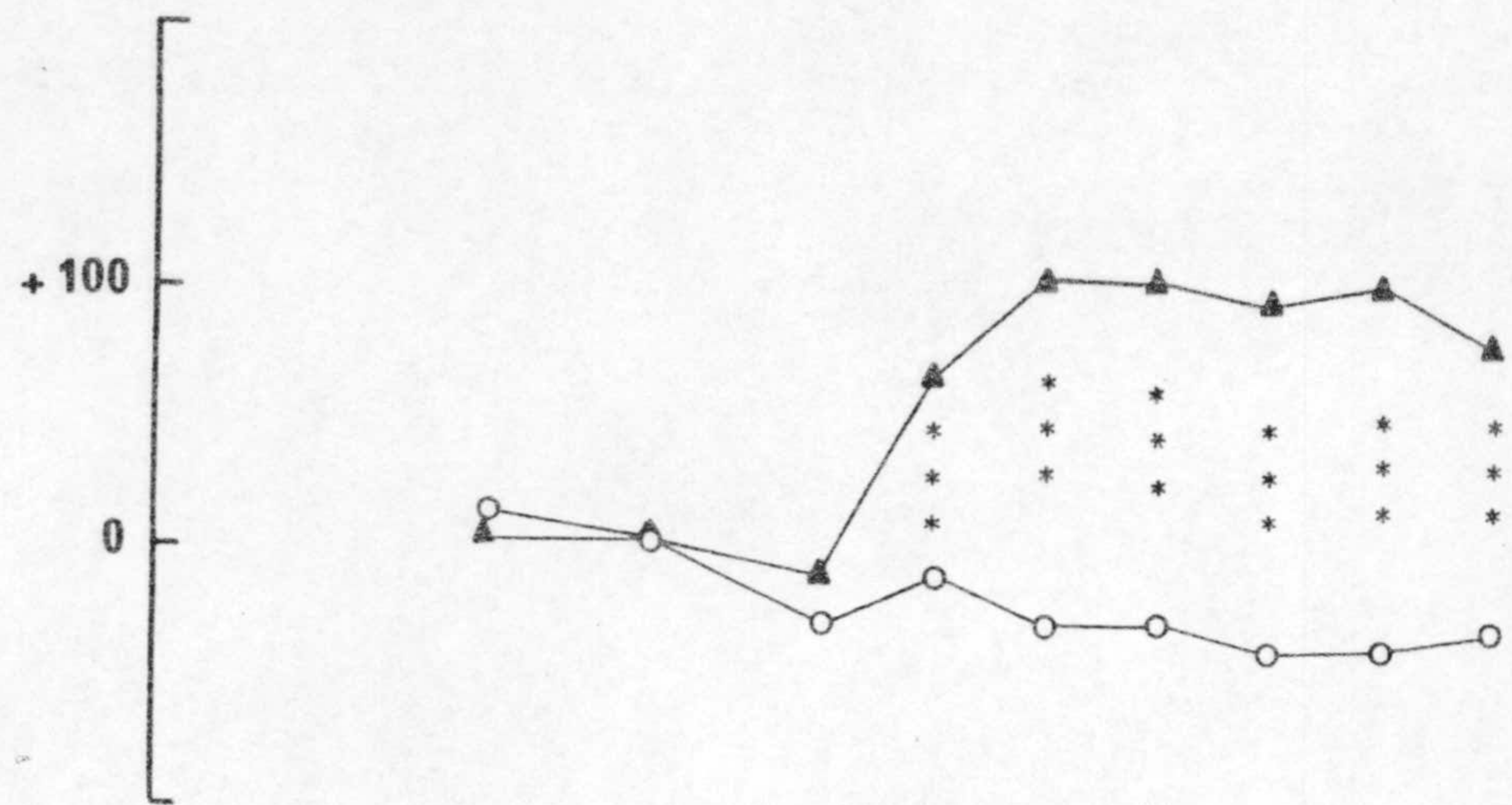


Fig. 6d. - PRODUCTION.

Fig.8.- Representación ortográfica de las relaciones tridimensionales entre : FLUJO - PRODUCCION de Na^+ - PRODUCCION de TC o DHC , para los experimentos BISS , BR , TC y DHC .
Nivel de significación para la regresión lineal de cada dos parámetros : $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,001$ (***) .

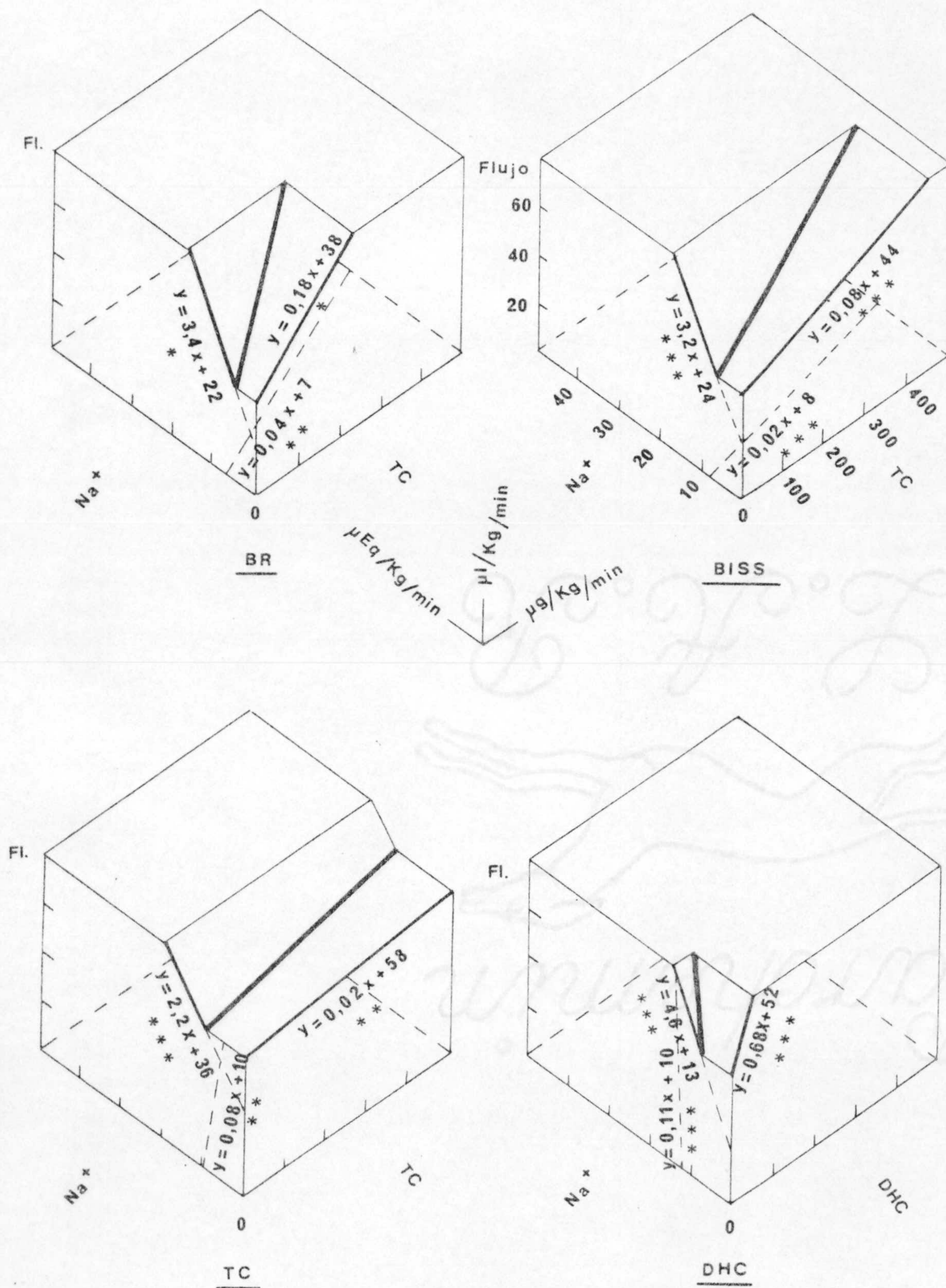


Fig. 9.- Variaciones de la concentración y producción de cloruro durante los experimentos ICDHC . Se representa valor medio y error estandar de la media.

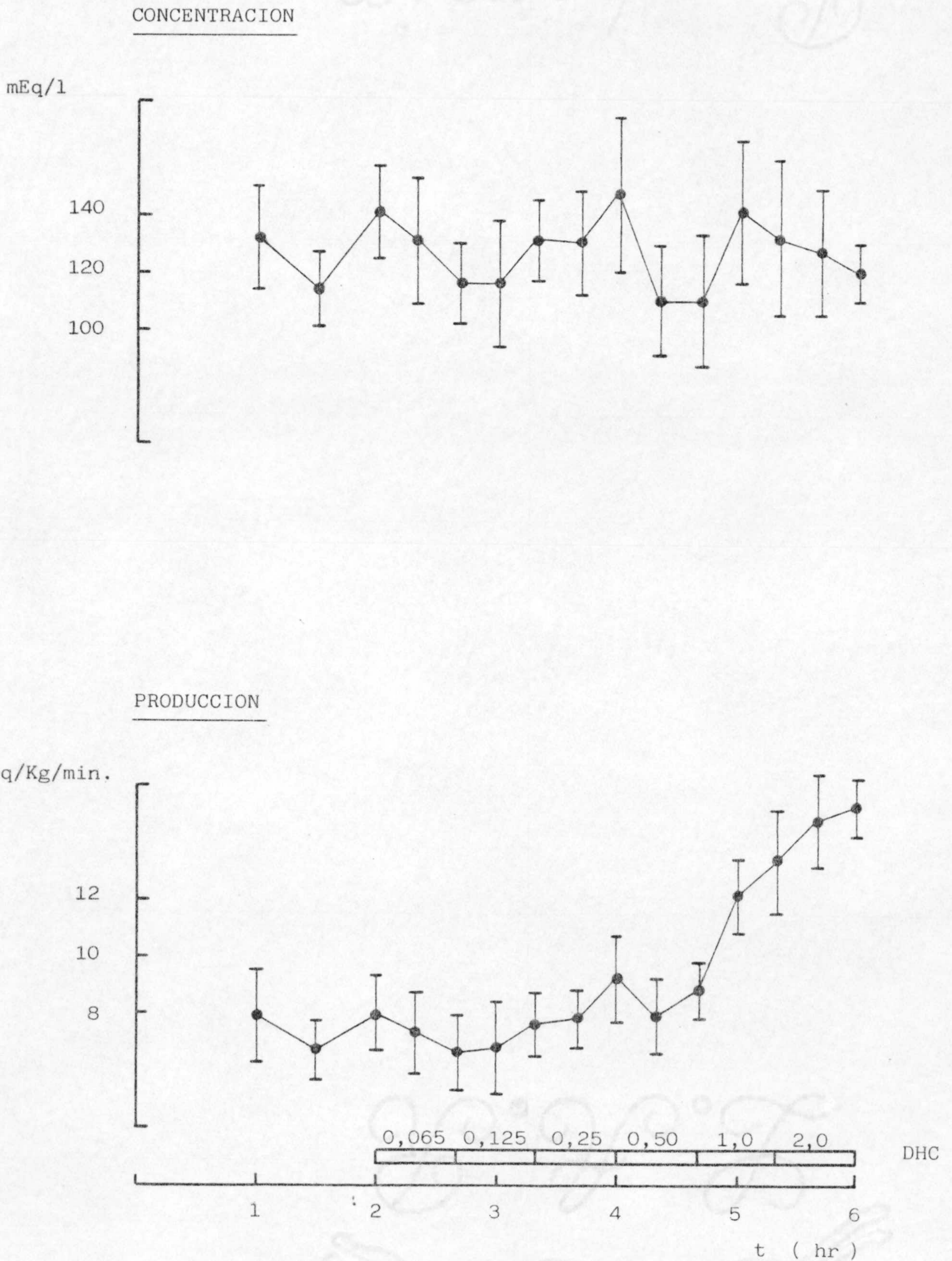


Fig. 101.- Variaciones de la concentración y producción de cloruro durante los experimentos DHC .
Se representa valor medio y error estandar de la media .

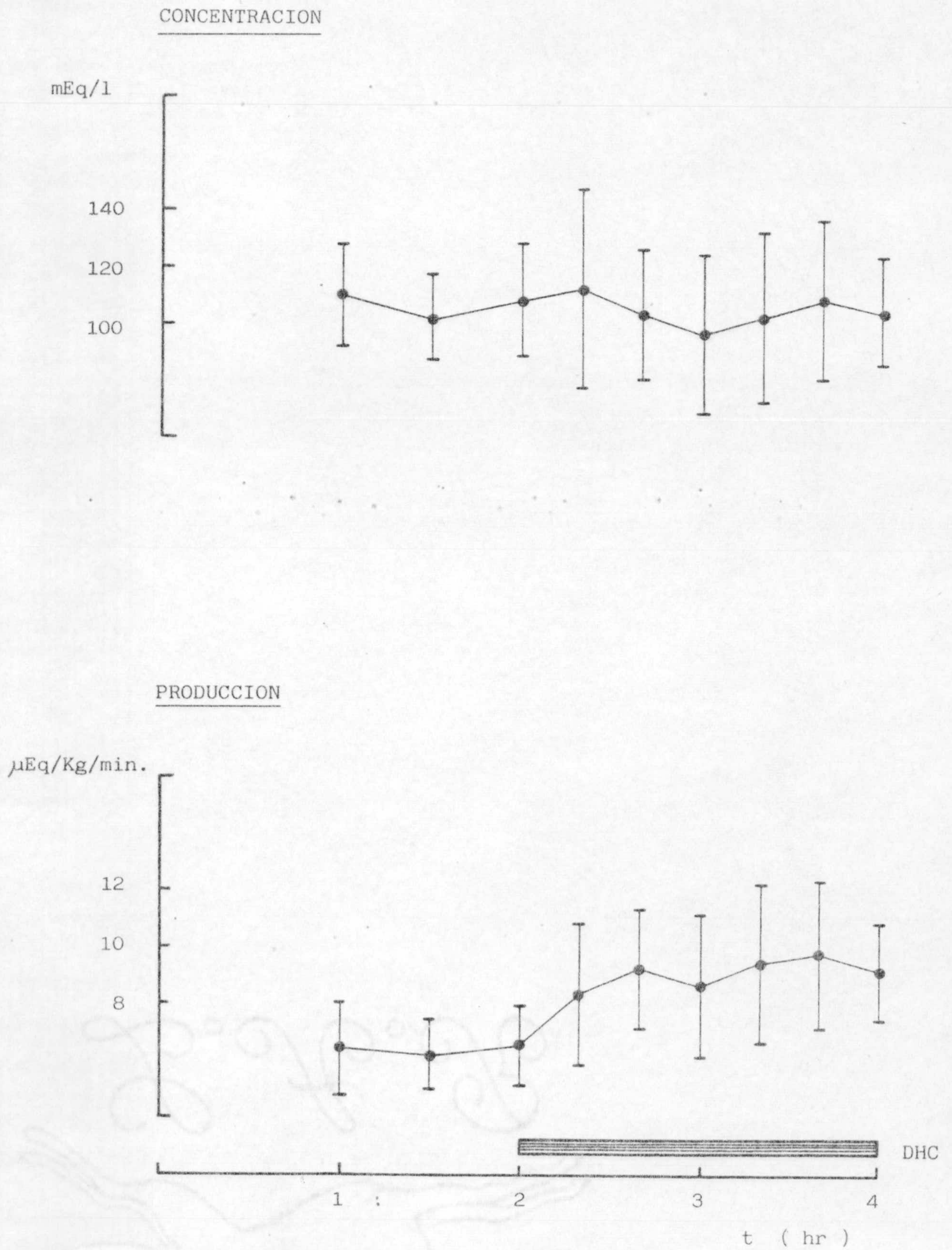


Fig. 11.- Variaciones de la concentración y producción de cloruro durante los experimentos BR + DHC. Se representa valor medio y error estandar de la media.

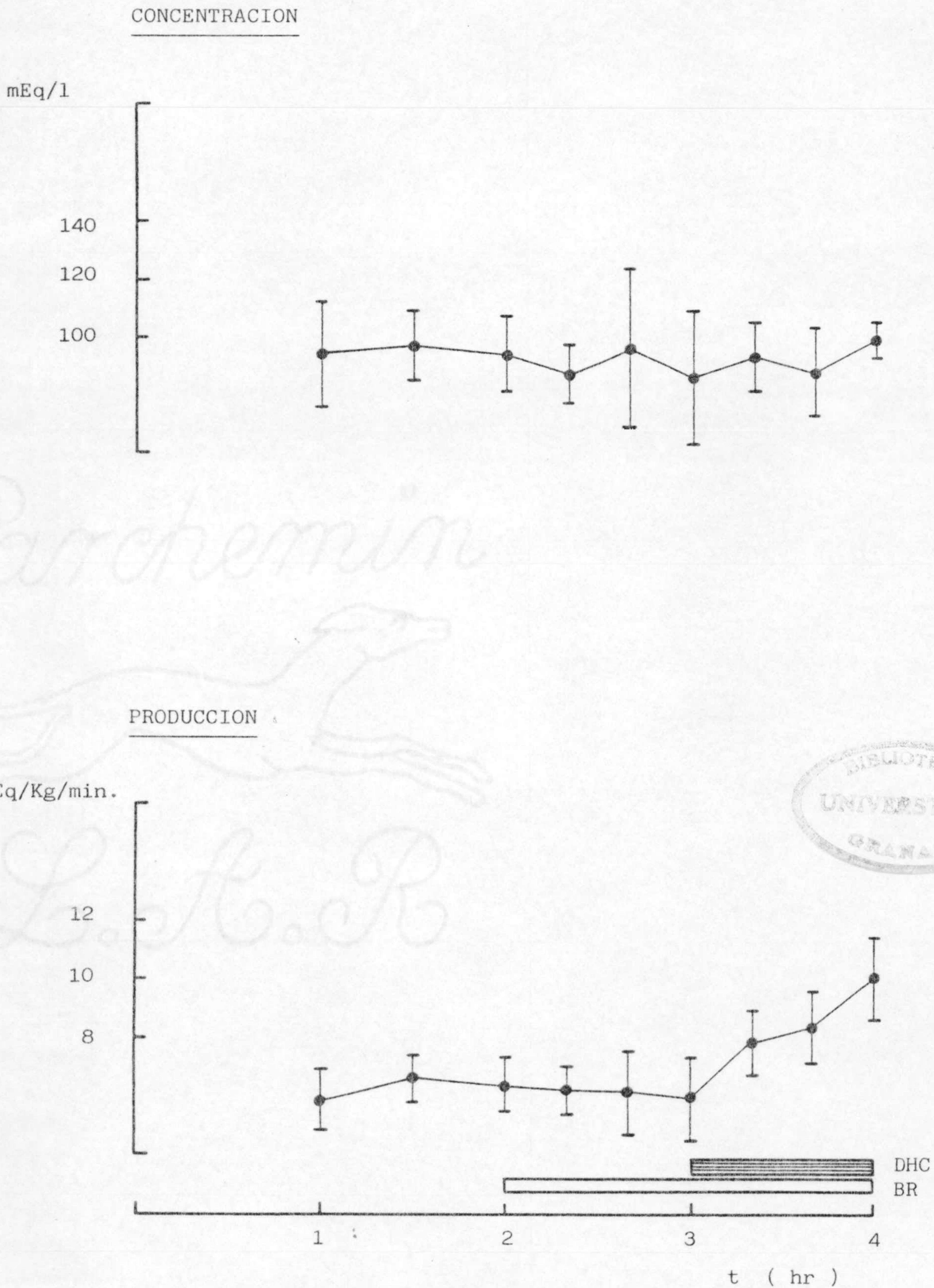
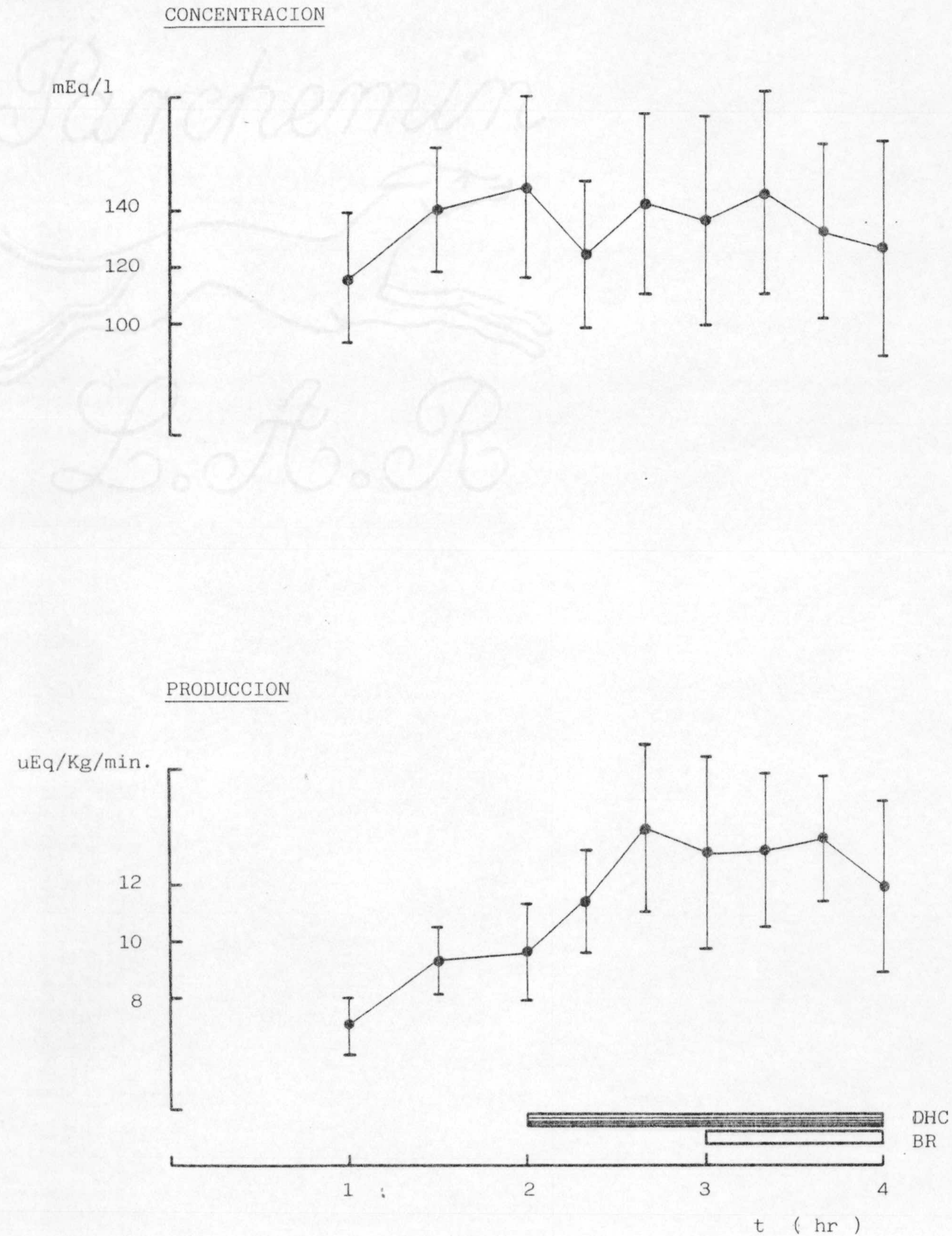


Fig. 12.- Variaciones de la concentración y producción de cloruro durante los experimentos DHC + BR. Se representa valor medio y error estandar de la media.



L. H. B.

Parchemin

DISCUSSION



L. H. B.

5.1.- DEL EFECTO DE LA INTERRUPCION DE LA CIRCULACION ENTERO - HEPATICA

En este apartado se discutirán los resultados obtenidos en los experimentos BISS recogidos en las Tabas I y Ib .

El flujo basal de bilis (muestra 1) , (Tabla Ia) es muy similar a los descritos en la bibliografía para esta especie , en condiciones experimentales idénticas a las nuestras , (85 , 101 , 135 , 139) , con la única excepción de los valores más bajos descritos por KLAASSEN (86) .

A lo largo de los experimentos la coleresis va disminuyendo de forma continua y progresiva , sin que se observe una estabilización clara de la misma (Tabla Ia , Fig. 1a) . Así entre la primera y la última hora se aprecia una caída porcentual del 30% , (Fig. 1a) , decremento mayor que el indicado por otros autores (86) .

La bilis recogida durante la primera media hora experimental tiene unas concentraciones de electrolitos inorgánicos (Tabla Ia) que reproducen las bibliográficas (85 , 86) .

Las concentraciones de sodio y potasio sufren pequeñas fluctuaciones temporales , de tal manera que no se aprecian diferencias entre el principio y el final de los ensayos (Fig. 1b) . La concentración de cloruro aumenta claramente (Tabla Ia) , sin embargo y debido a la magnitud de las oscilaciones interindividuales , la diferencia entre las concentraciones de la primera y la última muestra no es significativa .

Las producciones de sodio y potasio caen a lo largo de los ensayos , un 30% y un 40% respectivamente , mientras que las de cloruro se mantienen (Tabla Ib) (Fig. 1b) . La correlación más clara entre las producciones de los electrolitos y el flujo se da para el sodio ($p = 3.2x + 24$; $p < 0.001$) (Fig. 8) .

La concentración de taurocolato en la bilis de reposo (Tabla Ia) coincide con la descrita por KLAASSEN (86) , concentración que decrece a lo largo de los ensayos hasta un 70% (Fig. 1a) en lo que nuevamente concordamos con el citado autor .

El descenso en la concentración del taurocólico es brusca en los pri

meros 90 minutos y suave y progresivo a continuación , hasta el punto que durante la última hora se aprecia una estabilización (Fig. 1c) . Como era de esperar la secreción de taurocolato se deprime durante los ensayos, más rápidamente al principio , obteniéndose caídas del 75% (Fig. 1d) - (Tabla Ib) . Hay que señalar que el descenso en la producción de taurocolato , relacionado con la interrupción de la CEH , sería más brusco si no fuera por la activación que sufren los procesos de síntesis endógena de dicho compuesto en los hepatocitos . En cualquier caso , la menor llegada de sales biliares al hígado via porta provoca una drástica caída en sus concentraciones sinusoidales y otra , algo menor , en las intrahepatocitarias .

Entre el flujo y la producción de taurocólico también se aprecia una buena correlación lineal ($y = 0.08 x + 44$; $p < 0.001$; Fig.8) . No obstante no pensamos que esto sea suficiente para proponer una dependencia estrecha de la coleresis con la secreción de sales biliares como se ha sugerido repetidamente . Más bien nuestros resultados parecen indicar que esta relación , aunque probable , no es directa . Así , las sales biliares ven claramente reducida su secreción antes de que aparezcan las caídas en la coleresis y por otra parte el decremento porcentual global del flujo es menor que el de la producción de taurocólico , lo que nos está indicando la existencia de algún factor colerético que frena el descenso que el flujo experimentaría de ser las sales biliares las únicas responsables de la coleresis .

Tanto la concentración (Tabla Ia , Fig. 1c) como la producción (Tabla Ib , Fig. 1d) de fosfolípidos , que en principio concuerdan con las bibliográficas (143) , sufren caídas cuantitativas similares a las de taurocolato , lo que confirma lo descrito por otros (67) existiendo una correlación entre las producciones de ambos compuestos ($p < 0.001$) . Al igual que ocurría entre el flujo y la producción de sales biliares , la evolución de las producciones de fosfolípidos y sales biliares no sigue un modelo idéntico , ya que la caída en la excreción de los primeros es anterior . Sin embargo en este caso si creemos que existe una relación causa - efecto directa , ya que el decremento cuantitativo es muy parecido y ya que la desincronización que se aprecia entre ambas caídas es coherente con el papel detergente que se achaca al taurocólico y su consiguiente arrastre fosfolípídico ; por tanto , tan solo después de que las concentraciones de taurocólico disminuyan se podrá observar algo parecido en la de fosfolípidos .

En terminos generales se puede aceptar que los datos de colesterol - (Tabla Ia , Ib) (Fig.1c , 1d) muestran que la excreción de este compuesto es similar a la de fosfolípidos , aunque nuestros resultados a este respecto no son totalmente fiables por la metodología seguida en la recogida de las muestras para su análisis (Ver método) .

Los valores basales de concentración (Tabla Ia) y producción (Tabla Ib) de bilirrubina coinciden de forma global con los bibliográficos (113 , 139) . La evolución que sufren ambos parámetros , subidas claras y progresivas (Fig. 1c , 1d) , es asimismo concordante con lo descrito por KLAASSEN (86) para esta especie . Por el contrario en el conejo se han reseñado caídas en la excreción del pigmento al drenar la bilis al exterior (62 , 75) . Otro hecho que diferencia a ambas especies es que en la rata no hemos detectado nunca la presencia de biliverdina en la bilis , mientras que en el conejo no solo la hay en cantidades importantes (62) , sino que incluso puede llegar a ser el pigmento mayoritario (75) .

Del estudio de los resultados de excreción de bilirrubina en los experimentos tipo BISS se deducen dos conclusiones importantes : la excreción de bilirrubina endógena no está relacionada en absoluto con la coleseresis y no depende de la formación de micelas mixtas en la bilis , ya que aumenta cuando caen las excreciones de sales biliares y fosfolípidos .

En principio , se podría pensar que la subida en la excreción de bilirrubina está relacionada con una hemolisis consecuente al trauma quirúrgico o debida a artefactos experimentales . Podemos desechar totalmente esta idea ya que los valores del hematocrito , de la bilirrubinemia y de la glucemia permanecieron constantes durante las seis horas del ensayo . En este punto , adelantamos dos hipótesis para explicar los cambios descritos en la excreción del pigmento .

1ª Las sales biliares endógenas inhiben el transporte intrahepatocitario , la conjugación y/o la excreción de la bilirrubina .

2ª La menor concentración sinusoidal e intrahepatocitaria de sales biliares activa o potencia fenómenos facilitadores de la excreción del pigmento .

Al estudiar las modificaciones que sufre la secreción biliar tras -

la interrupción de la circulación enterohepática hay que recordar que una maniobra experimental de este tipo en definitiva el único efecto inmediato que ocasiona es la no llegada al hígado, vía porta, de aquellos componentes de la bilis que se reabsorben en el intestino y que son las sales biliares, los electrolitos y en menor proporción los fosfolípidos y el colesterol. Ahora bien la sangre de los sinusoides es una mezcla de la que llega por porta y de la que llega por la arteria hepática, por lo que la superficie sinusoidal de los hepatocitos la novedad de que detectan es una brusca caída en la concentración de sales biliares, ya que el aporte arterial contrarresta totalmente la menor llegada portal de electrolitos por lo menos a corto plazo y palió parcialmente los menores niveles portales de colesterol y fosfolípidos. En definitiva, es correcto pensar que son las sales biliares, o mejor dicho su ausencia en los sinusoides, las responsables originales de las modificaciones observadas en la secreción biliar.

No obstante es preciso tener en cuenta que lo que acabamos de describir es lo que ocurre en la membrana basolateral y por tanto estrictamente solo se puede hablar de fenómenos de entrada de compuestos sanguíneos en los hepatocitos, modificados por la ausencia de sales biliares. A todo esto se le encadenan los procesos de transporte, almacenamiento, síntesis intrahepatocitaria, conjugación y por último secreción o excreción a canalículo. Al final será esta salida de sustancias a los canalículos la que, dependiendo de los gradientes osmóticos que genere, modulará la coleresis.

De los resultados expuestos es evidente que de todos los solutos analizados es el catión sodio el que muestra una relación directa más estrecha y constante con el flujo. Además su abundancia y alto coeficiente osmótico justifican que se le considere como candidato a responsable fundamental de la coleresis. Esto no quiere decir que sea el único y de hecho, el estudio de las rectas de regresión que relacionan flujo y producción de sodio (Fig. 8) nos indica que para una secreción teórica nula de este catión, el flujo de bilis sería de $24 \mu\text{l}/\text{Kg min}$. Este flujo no ligado al sodio podría adjudicarse en principio al resto de los solutos osmóticos de la bilis.

Ahora bien, ¿porqué al interrumpirse la circulación enterohepática

cae la secreción de sodio? . Siguiendo las teorías clásicas, podría pensarse que la menor salida de taurocólico al canalículo arrastra menos sodio como par catiónico . No obstante la secreción de taurocólico cae desde 0.50 hasta 0.12 $\mu\text{Eq/Kg min}$, mientras que la sodio lo hace desde 9.70 a 6.70 $\mu\text{Eq/Kg min}$. Es decir que la relación es 1/8, muy alta para ser explicada en base a fenómenos de interacción anión - catión . Todo lo más , se podría aceptar que esta explicación es válida para 1/8 de la caída en la coleresis .

Otra explicación usualmente utilizada en la bibliografía achaca a los fenómenos micelares los cambios en la coleresis . No creemos que sea aplicable en nuestro caso ya que , aunque efectivamente la concentración de sales biliares cae mucho en los canalículos , no lo hace por debajo de la concentración micelar crítica y de hecho el estudio de las correlaciones lineales flujo - producción de sodio en diversas condiciones experimentales - - (Fig. 8) nos da un valor muy constante en la capacidad osmótica del sodio , es decir en la pendiente de las rectas de regresión . Más aún , de influir de alguna manera , la menor formación de micelas a lo que llevaría es a un aumento de flujo al quedar más sodio libre en los canalículos . Todo lo expuesto nos permite descalificar totalmente a los fenómenos micelares como causa rectora de la coleresis , por lo menos en las condiciones de los experimentos BISS .

En tercer lugar podríamos postular una disminución en los valores netos de paso de sodio a través de los hepatocitos , vía transcelular , y/o a través de la vía paracelular . Lo primero sería posible si el gradiente de sodio creado por las ATPasas sinusoidales Na - K dependientes no se desarrollara al variar algún factor de membrana (3) . Es decir que la actividad de las ATPasas disminuyera , al caer las concentraciones de sales biliares en los hepatocitos a través de cambios en la permeabilidad o la fluidez de la membrana . En el segundo caso lo único que hace falta aceptar es una disminución en la permeabilidad de la vía paracelular lo que impediría la utilización del gradiente de sodio creado por las ATPasas basolaterales (7) . La caída en la permeabilidad tendría como origen la menor concentración sinusoidal de sales. En ninguno de los dos casos se necesita una relación sales biliares / sodio 1/1 y ambos son perfectamente compatibles con relaciones 1/8 ya que las sales biliares pueden substituirse , desde el punto de vista de carga por el cloruro y la bilirrubina .

Después del sodio , son las sales biliares las que tienen una relación más clara con la coleresis . De hecho su salida a los canalículos es probable que sea un factor importante para originar flujo de bilis . Del estu-

dio de las clásicas rectas de regresión que relacionan flujo y producción de sales biliares (Fig. 8) se desprende que la fracción del primero que es independiente del segundo es de $44 \mu\text{l}/\text{Kg min}$, es decir un 60% de la coleresis basal total . Estos valores aunque coinciden con los bibliográficos también es cierto que han sido puestos en duda recientemente en la rata (Fig. 8) . En cualquier caso la pequeña concentración de taurocólico y su menor coeficiente osmótico minimizan su papel con fuerza rectora directa de flujo . No obstante y como hemos indicado anteriormente , las sales biliares junto con los otros solutos de la bilis tienen que cooperar con el sodio en la creación de los pozos osmóticos responsables de la coleresis .

por último si se estudia con atención la discusión precedente se deduce cual es para nosotros el auténtico papel del taurocólico en la regulación del flujo de bilis en estas condiciones experimentales . Su acción más importante la realiza en la cara sinusoidal modificando la actividad de las ATPasas , el transporte acoplado de sodio y/o la permeabilidad paracelular , así , aunque las sales biliares no sean responsables directas de la coleresis , papel que atribuimos fundamentalmente al sodio , no hay duda de que si son las inductoras de todas las modificaciones observadas en la secreción biliar al interrumpir el reciclaje entero hepático .

5.2 DEL EFECTO DE LAS INFUSIONES CRECIENTES DE TAUROCOLICO O DEHIDROCOLICO.

En este apartado se discutirán los resultados obtenidos en los experimentos ICTC , e ICDHC , recogidos en las Tablas II y III respectivamente .

La infusión intravenosa de dosis crecientes de taurocolato afecta claramente al flujo por lo menos con las dos últimas (Tabla IIa) , aunque el aumento es ya significativo ($p < 0.005$) con la dosis de 0.50 mg/Kg min . - (Fig. 1a) . La subida porcentual global es del 40% (Fig. 1a) . Estos resultados están en contradicción con los reportados por KLAASSEN , que no encuentran efecto colérico de esta sal biliar en la rata (86) . El dehidrocolato induce aumentos más claros del flujo , (Tabla IIIa) siendo el cambio porcentual global del 107% (Fig. 1a) . Por tanto y para dosis coleréticas iguales , el dehidrocolato duplica el efecto positivo del taurocolato sobre el flujo .

Las concentraciones de sodio y potasio no varían , ni durante los experimentos ICTC (Tabla IIa) , ni en los ICDHC (Tabla IIIa) , guardando las producciones de los dos cationes , en ambos casos , una estrecha correlación lineal con el flujo ; que en el caso del sodio (Tablas IIb y IIIb , - - Fig. 1b) alcanzan una significación máxima ($p < 0.001$) . Estos resultados confirman la hipótesis , emitida al comentar los resultados de los ensayos BISS , de que la coleresis está directamente gobernada por la salida de sodio al canalículo .

Los cambios que experimenta la concentración de cloruro son de difícil discusión . Cuando se infunde taurocólico a dosis crecientes , caen claramente los niveles del anión (Tabla IIa) , si lo que infunde es dehidrocolato las fluctuaciones son irrelevantes (Tabla IIIa) , mientras que en los experimentos BISS los niveles de cloruro aumentaban netamente (Tabla Ia) . El problema se complica aún más si tenemos en cuenta que las concentraciones iniciales de cloruro en los experimentos ICTC e ICDHC son más elevadas que las correspondientes de los ensayos BISS . En este punto hay que recordar lo indicado anteriormente acerca de la gran dispersión de los resultados analíticos de este anión . En los ensayos ICTC se observa que la infusión de taurocólico no modifica la producción de cloruro (Tabla IIb) , algo similar a lo que ocurría en los BISS (Tabla Ib) , por lo que pensamos que en ambos casos puede tratarse de cambios pasivos que reflejan los del flujo . Sin embargo al infundir dehidrocolato la producción del anión se duplica (Tabla IIIb) - - (Fig. 9) . Este hecho puede explicarse en base a un aumento en la permeabi-

lidad paracelular , generalmente baja para los aniones (24) , causada - por el dehidrocolato (97) .

Como era de esperar , la infusión de taurocolato aumenta significativamente su concentración en bilis ya a dosis de 0.25 mg/Kg min , (Tabla IIIa) siendo este aumento del 368% para infusiones de 2.0 mg/kg min (Fig. 1c) . Cualitativamente la producción de la sal se incrementa de forma similar (Tabla IIIb) , aunque cuantitativamente el aumento es mayor , - 450% , (Fig. 1d) . Del estudio de los cambios de flujo y de producción de taurocolato , durante los ensayos ICTC , se desprende que aunque hay un nexo claro entre ambos parámetros , no parece probable que exista - una relación causa - efecto entre ellos , por lo menos inmediata , ya que los aumentos en la producción de la sal biliar son ya significativos para dosis que no son coleréticas .

Los valores de concentración y producción de dehidrocolato obtenidos - durante la infusión de esta sal sintética (Tablas IIIa y IIIb), nos permiten extraer varias conclusiones que , en términos generales , confirman datos bibliográficos . En primer lugar comprueban que el dehidrocolato - se metaboliza rápidamente a otras moléculas , tipo sal biliar , pues sus subidas en bilis no se corresponden , ni de lejos , con las que se darían si no hubiera cambios estructurales . En segundo lugar se aprecia que - aunque la concentración de taurócolico desciende (Tabla IIIa) , la caida es menor que la observada en los ensayos BISS (Fig. 1c) , a pesar de que el flujo aumenta claramente . Más aún , la producción de taurocolato no cae (Tabla IIIb) diferenciándose significativamente de lo que ocurría en los experimentos BISS (Fig. 1d) . Estos hechos se pueden explicar si aceptamos , como se ha descrito (119) que parte del dehidrocolato se metaboliza a taurocolato en la rata , y/o que la primera afecta positivamente la síntesis y/o secreción de la segunda .

Durante la infusión de taurocolato , la concentración de fosfolípidos se incrementa netamente (Tabla IIa) y por supuesto también lo hace la producción (Tabla IIb) . Estos cambios se diferecian significativamente de los observados en los ensayos BISS (Fig. 1c y 1d) ; ésto - es también cierto para aquellas dosis de taurocolato que aumentan su - concentración y producción sin alterar la coleresis , lo que confirma la interpretación dada por otros (44) de que el taurocolato determina

la excreción fosfolipídica por medio de su acción de arrastre detergente .

Cuando lo que se infunde es dehidrocolato , el panorama cambia por completo , ya que las concentraciones de fosfolípidos bajan (Tabla IIIa) y las producciones suben (Tabla IIIb) . Si comparamos esto con lo que ocurría en los experimentos BISS observamos que la caída en concentración es similar , distinguiéndose ambas claramente de lo que ocurre en los ensayos ICTC (Fig. 1c) , mientras que las producciones tienen una evolución intermedia entre ambos (Fig. 1d) . Estos hechos se podrían explicar nuevamente si parte del dehidrocolato se metabolizara a taurocolato (119) . Por otra parte estos resultados indican que el poder de arrastre detergente del dehidrocolato , o sus metabolitos , es menor que el de taurocolato y/o que los fenómenos micelares también juegan un papel en estos sucesos , ya que el taurocolato , con gran capacidad para formar micelas activa de forma máxima la concentración de fosfolípidos , mientras que el dehidrocolato , o sus derivados , tan solo lo hacen de forma ligera .

Las concentraciones de colesterol caen de forma similar durante las infusiones de taurocolato (Tabla IIa) o dehidrocolato (Tabla IIIa) y las producciones lo hacen más marcadamente en el primer caso (Tabla IIb) que en el segundo (Tabla IIIb) (Fig. 1d) . Estos hechos son paradójicos ya que las modificaciones deberían ser positivas en ambos casos y paralelas a las de los fosfolípidos , y no solo son negativas , sino que lo son más en el caso del taurocolato que del dehidrocolato . En su conjunto y a pesar de la escasa bondad de nuestros datos de colesterol (ver método) , estos resultados indican que este compuesto no sufre la acción detergente , lo que no es muy extraño , pero que además su excreción no está ligada a la formación de micelas lo que es más anómalo ya que éstas están normalmente formadas por sales biliares , fosfolípidos y colesterol .

En cualquier caso , la aparición de micelas , con o sin colesterol , parece evidente , no solo por los datos descritos para la excreción de fosfolípidos durante los ensayos ICTC e ICDHC , sino también por la menor pendiente de las rectas de regresión que relacionan flujo y producción de sodio (Fig. 8) , durante la infusión de taurocolato que la calculada en los ensayos BISS . Es decir que en los experimentos ICTC la capacidad osmótica del sodio disminuye por el secuestro del catión en el interior de las micelas mixtas . En el mismo sentido hay que resaltar -

que durante la infusión de dehidrocolato la pendiente aumenta lo que nuevamente apoya el papel del fenómeno micelar .

En la bilis , la concentración de bilirrubina permanece más o menos constante, tanto durante la infusión de taurocolato (Tabla IIa) como de dehidrocolato (Tabla IIIa) , diferenciándose en ambos casos de lo que ocurre en los ensayos BISS (Fig. 1c) . No obstante en los tres bloques experimentales aumenta la excreción del pigmento , alcanzándose incrementos porcentuales similares (Fig. 1d) , si bien los niveles máximos de excreción son menores , en términos cuantitativos , durante la infusión de taurocolato (Tabla IIb) o dehidrocolato (Tabla IIIb) .

Estos resultados son claramente paradójicos , pues la infusión de una sal formadora de micelas y mayoritaria en la rata tiene el mismo efecto en la excreción de la bilirrubina que la interrupción de la circulación heterohepática y ambas maniobras afectan la excreción del pigmento de igual manera que la infusión de una sal sintética no formadora de micelas .

La primera conclusión es obvia , contra lo que han postulado otros autores (132) , la excreción de bilirrubina endógena en la rata no está ligada a la formación de micelas .

En el apartado 5.1. de esta discusión adelantábamos dos hipótesis para explicar el efecto de la interrupción de la circulación heterohepática sobre la excreción de bilirrubina . Primera , que las sales biliares inhiben los fenómenos de excreción del pigmento , o segunda que la caída en la concentración de sales biliares desencadena un fenómeno facilitador de dicha excreción .

Nuestros resultados nos permiten descartar la primera de ellas ya que una alta concentración de sales biliares no resulta en una inhibición de la excreción como sería de esperar . En cuanto a la segunda aunque no explica los resultados obtenidos en los ensayos ICTC e ICDHC si puede coexistir con otras . Es posible que la caída en los niveles de sales biliares en los hepatocitos permita a la bilirrubina ocupar los lugares de unión de los transportadores de sales biliares con lo que su excreción se vería favorecida en los ensayos BISS , mientras que en los ensayos con infusión creciente de sales biliares lo que se desea un fenómeno de reclutamiento progresivo de hepatocitos centrilobulares al aumentar la

carga de sales biliares (64) , lo que también llevaría a una excreción del pigmento más intensa al activarse más receptores del mismo .

Existen otras explicaciones posibles , complementarias o alternativas , de la del reclutamiento .

1º La mayor llegada de sales biliares a los hepatocitos modificaría la estructura de la membrana sinusoidal lo que podría activar a las ATPasas sinusoidales , aumentaría el gradiente de sodio y la captación acoplada sodio - bilirrubina mejoraría .

2º La concentración de sales biliares más alta favorece la excreción del pigmento a favor del gradiente eléctrico generado por la mayor excreción de sodio al canalículo .

5.3. DEL EFECTO DE LAS INFUSIONES DE TAUROCOLICO O DEHIDROCOLICO A DOSIS CONSTANTES .

En este apartado se discutirán los resultados obtenidos en los experimentos TC y DHC , recogidos en las Tablas IV y V respectivamente .

El efecto de las infusiones constantes de taurocolato y dehidrocolato sobre el flujo es similar al observado en los ensayos ICTC e ICDHC , siendo los cambios más claros y consistentes , obteniéndose con ambas sales biliares una meseta en la secreción biliar (Tabla IVa y Va) , (Fig. 2a) . En cuanto a las variaciones en las concentraciones (Tablas IVa , Va) y producciones (Tablas IVb , Vb) (Fig. 2d) de sodio y potasio son también comparables a las observadas en los experimentos ICTC e ICDHC . Por tanto , las explicaciones expuestas al discutir la evolución de los citados parámetros en aquellos ensayos, siguen siendo válidas para estos .

Nuevamente se puede apreciar la relación existente entre la capacidad de una u otra sal biliar para formar micelas y la intensidad de la fuerza osmótica del sodio (Fig. 8) . Así , cuando se infunde taurocolato la recta de regresión que relaciona flujo y producción de sodio responde a la siguiente ecuación : $y = 2.2 x + 36$; si lo que se infunde es dehidrocolato : $y = 4.6 x + 13$. Es evidente que al infundir la sal sintética a la capacidad de arrastre osmótico del sodio es mayor ($4.6 \mu\text{l} / \mu\text{Eq Na}$) que cuando se infunde taurocolato ($2.2 \mu\text{l} / \mu\text{Eq Na}$) , lo que es coherente con la diferente habilidad de ambas sales para formar micelas .

Al igual que en los experimentos ICDHC se detecta una subida en la producción de cloruros cuando se infunden dehidrocolato (Fig. 10) , hecho que no se da con el taurocolato (Tabla IVb) . Existe una relación lineal altamente significativa entre la producción de cloruros (y_i) y de dehidrocolato (x_i) ($y = 0.08 x + 6.4$; $p < 0.001$) . Este fenómeno ya adelantamos que se podría deber a un aumento de la permeabilidad para celular inducido por el dehidrocolato . Si además recordamos , lo ya indicado , que durante la infusión de la sal sintética el sodio no queda secuestrado en las micelas comprendemos que el exceso de cargas positivas favorezca , por via paracelular o transcelular , la excreción del cloruro.

Las variaciones en la concentración y producción de las sales bi -

liares durante la infusión de taurocolato o dehidrocolato (Tabla IVa , - IVb , Va y Vb) (Fig. 2c y 2d) confirman en términos generales las obtenidas en los experimentos ICTC ICDHC respectivamente . No obstante existe una diferencia ligera entre los resultados de los experimentos con infusión creciente o constante . Al infundirse dehidrocolato de forma creciente observamos que la producción de taurocolato era mayor que la detectada en los ensayos BISS (Fig. 1d) , lo que achacamos a la conversión de parte del dehidrocolato en taurocolato y/o a la activación por el primero de la síntesis del segundo . La infusión de dehidrocolato a dosis constantes no permite diferenciar la producción de taurocolato de la observada en los experimentos BISS (Fig. 2d) . Es posible que a esta dosis más baja, el dehidrocolato no induzca ninguno de los fenómenos comentados o bien que no sea capaz de reclutar hepatocitos quiescentes (62 , 64) .

De hecho aunque los cambios en la concentración y la producción de fosfolípidos en los ensayos TC (Tabla IVa , IVb) o DHC (Tabla Va , Vb) son coherentes con los obtenidos en los ICTC o ICDHC respectivamente ; las caídas en las concentraciones son similares a las observadas en los experimentos BISS (Fig. 2c) y las producciones son significativamente menores (Fig. 2d) .

La pendiente de la recta de regresión que relaciona flujo y producción de sales biliares (Fig. 8) es mayor cuando se infunde dehidrocolato (0.68) que taurocolato (0.02) como era de esperar por la capacidad colerética de ambos compuestos . Ahora bien , la fracción del flujo independiente de las sales biliares aumenta en ambos casos (52 y 58 $\mu\text{l}/\text{Kg min}$) con respecto a la determinada en los experimentos BISS (44 $\mu\text{l}/\text{Kg min}$) , lo que refuerza nuestra hipótesis de que es la estimulación de la excreción de sodio y no la de sales biliares la responsable directa de la hipercoleresis , o dicho de otra manera , que el flujo es más dependiente de la fuerza osmótica del sodio que de la de las sales biliares . Esto resta interés a representar el flujo frente a la producción de sales biliares como ya ha sido indicado , por otras razones , para la rata (8 , 129) .

Por último el hecho de que la fracción independiente del sodio disminuya (24 a 13 $\mu\text{l}/\text{Kg min}$) cuando se infunde dehidrocolato y aumente (24 a 36 $\mu\text{l}/\text{Kg min}$) al infundir taurocolato (Fig. 8) , representa otra prueba adicional que refuerza nuestra hipótesis .

Las diferencias más llamativas que se aprecian entre los resultados de los experimentos TC y DHC con los de sus correspondientes ICTC e ICDHC se refieren a la excreción de bilirrubina . Mientras la infusión creciente de ambas sales biliares favorece la excreción del pigmento (Tabla IIb , IIIb) , a dosis constante no la modifican (Tabla IVb y Vb) y de hecho con respecto a lo que ocurre en los ensayos BISS la disminuyen (Fig. 2d), por lo que podemos incluso hablar en este caso de un efecto negativo de las sales biliares sobre la excreción de pigmentos .

Estos resultados aparentemente paradójicos se pueden explicar de la siguiente manera : el efecto facilitador que la interrupción de la circulación enterohepática tiene sobre la excreción de la bilirrubina desaparece al infundir taurocolico o dehidrocólico a dosis elevadas y constantes , pero éstas no son lo suficientemente altas como para poner en marcha los fenómenos de reclutamiento de hepatocitos ni para que se activen los receptores de bilirrubina como habíamos postulado en los experimentos ICTC e ICDHC . Por último es posible que exista un tercer receptor común para la bilirrubina y las sales biliares lo que explicaría la ligera inhibición observada en los ensayos TC y DHC . Esta inhibición está enmascarada y sobrepasada en los ICTC e ICDHC al desencadenarse los fenómenos de reclutamiento y la activación de los receptores de bilirrubina. Este receptor común podría tener una afinidad mayor por el taurocolato que por el dehidrocolato como comentaremos posteriormente .

Los resultados de excreción de bilirrubina durante la infusión de taurocolato o dehidrocolato a dosis constante , confirman la hipótesis de que dicha excreción no está ligada a la formación de micelas , por lo menos para la excreción de pigmento endógeno .

5.4. DEL EFECTO DE LA INFUSION DE BILIRRUBINA .

En este apartado se discutirán los resultados obtenidos en los experimentos BR , recogidos en la Tabla VI . Las variaciones de la bilirrubina total y conjugada en plasma se representan en la Fig. 7 .

La infusión endovenosa de bilirrubina a dosis de 1.5 mg /Kg min provoca un aumento en su excreción biliar , hasta que se alcanza un máximo en el cual se estabiliza (Tabla VI) (Fig. 3d) . Dado que el plato de excreción del pigmento se consigue cuando la bilirrubina total y conjugada siguen subiendo de forma constante en plasma (Fig. 7) , podemos hablar de un transporte máximo para dicho compuesto , que para nosotros alcanza a los 650 $\mu\text{g}/\text{Kg min}$ este valor es ligeramente inferior que el calculado por KLAASSSEN (89) (820 $\mu\text{g}/\text{Kg min}$) superior al indicado por STEEMBERGEN (139) (489 $\mu\text{g}/\text{Kg min}$) ambos en ratas Wistar . Diferencias intraespecíficas aun mayores se han dado para el T_m de la bilirrubina en otras especies (62) .

La infusión de bilirrubina no afecta la coleresis (Tabla VI) que no se diferencia de la determinada en los experimentos BISS (Fig. 3a) . Sin embargo la concentración y la producción de sodio y potasio si se diferencian significativamente en uno y en otro caso (Fig. 3b) ya que los experimentos BR ambos parámetros aumentan para los dos electrolitos (Tabla VI) . La relación flujo producción de sodio no es tan estrecha ($p < 0.05$) como la determinada en los experimentos BISS , ICTC , ICDHC , TC o DHC . A primera vista esto nos indica que o bien en condiciones de transporte máximo el sodio ya no es el único responsable osmótico del flujo o bien que parte del sodio segregado pierde su capacidad osmótica al ser englobado en los agregados moleculares que forma la bilirrubina al alcanzar su T_m (13) . Esta última posibilidad que explicaría el aumento en la producción de sodio sin otro consecuente del flujo , pierde fuerza al estudiar las ecuaciones de las rectas de regresión flujo - producción de sodio de los experimentos BISS ($y=3.2 x + 24$) y BR ($y = 3.4 x + 22$) (Fig. 8) , ya que la pendiente es muy parecida en ambos casos ; por tanto parece poco probable que el sodio se englobe en los agregados moleculares.

Ni la concentración ni la producción de taurocolato se modifican durante la infusión de bilirrubina (Tabla VI) que siguen evoluciones si

milares a las observadas en los experimentos BISS (Fig. 3c y 3d) . De esto se puede deducir que la bilirrubina exógena , a niveles suficientes para alcanzar el T_m , no afecta ni la síntesis ni la excreción endógena de dicho compuesto . Del estudio de las rectas de regresión que relacionan el flujo y la producción de taurocolato se deduce que aunque la significación no es tan buena ($p < 0.05$) en este caso como en los experimentos BISS ($p < 0.001$) (Fig. 8) , la coleresis es más dependiente de la secreción de sales biliares en los primeros . Esta aseveración se apoya en la mayor pendiente que pasa de 0.08 a 0.18 y la menor fracción del flujo independiente de las sales biliares que se modifican de 44 a 38 (Fig. 8) .

Como ya había sido indicado por APSTEIN (4) , la infusión de bilirrubina provoca una marcada caída en la excreción de fosfolípidos y colesterol (Tabla VI) . La evolución de la concentración (Fig. 3c) y la producción (Fig. 3d) de ambos compuestos se diferencia significativamente de la que experimentan en los ensayos BISS , lo que es especialmente cierto para los fosfolípidos . Estos hechos pueden explicarse por el efecto protector que la unión del pigmento a las membranas ejerce frente a la acción detergente de las sales biliares , como se ha demostrado en eritrocitos (10) . También podría colaborar en la inhibición de la excreción de fosfolípidos observada , la competencia de la bilirrubina y estos compuestos por la formación de micelas . En cualquier caso , el hecho cierto es que existe una estrecha correlación inversa ($p < 0.001$) entre la excreción de bilirrubina y la de fosfolípidos .

La menor excreción de fosfolípidos nos ayuda por otra parte a comprender la mayor actividad osmótica que muestran las sales biliares en estas condiciones . Un efecto similar ha sido descrito por GONZALEZ en el conejo (62) .

Por último hay que constatar que ni siquiera en las condiciones de estos experimentos se detectan cantidades apreciables de biliverdina . Esto diferencia marcadamente a la rata del conejo , en el que se pueden determinar concentraciones de biliverdina tan altas como las de bilirrubina ya en condiciones basales (62) . En esa especie , cuando se infunden dosis de bilirrubina que permiten alcanzar el T_m , los niveles de biliverdina aumentan claramente , lo que es interpretado por GONZALEZ (62) como una inhibición de la actividad biliverdin - reductasa o la activación del paso inverso , bilirrubina a biliverdina.

5.5. DEL EFECTO DE LA INFUSION DE TAUROCOLATO O DEHIDROCOLATO EN CONDICIONES DE TRANSPORTE MAXIMO DE BILIRRUBINA.

En este apartado se discutirán los resultados obtenidos en los experimentos BR + TC y BR + DHC , recogidos en las Tablas VII y VIII respectivamente . Las variaciones de la bilirrubina total y conjugada en plasma se representan en la figura 7 y los cambios en la concentración y producción de cloruro durante los ensayos BR + DHC en la figura 11 .

Antes de estudiar los posibles efectos que la infusión de taurocolato o dehidrocolato ejercen sobre el transporte máximo de bilirrubina , - tenemos que señalar que en contra de lo indicado al comentar los experimentos tipo BR , en este caso (y refiriéndonos solo a las muestras 5 , 6 y 7 que son comparables a las respectivas de aquellos ensayos) , si se aprecia una ligera hipercoleresis al inundir el pigmento en los ensayos BR + TC (Tabla VII) . Esta hipercoleresis también es aparente para los experimentos BR + DHC si comparamos las variaciones porcentuales de flujo de los mismos con las obtenidas en los ensayos BR y BISS (Fig. 3a) . Podríamos pensar que estos cambios de flujo están relacionados con una mayor salida de sodio osmóticamente activo al canalículo (13) como parece indicar la producción más elevada de sodio en éstos (Fig. 3b) . - No obstante en los ensayos BR también aumentaba la producción de sodio - (Fig. 3b) y sin embargo no había hipercoleresis . Al discutir los experimentos BR indicábamos que era posible que el sodio se englobara en las micelas que forma la bilirrubina y por eso perdiera actividad osmótica , lo que explicaría la falta de hipercoleresis . Ya entonces indicamos que esta explicación no era muy plausible ya que la pendiente de la recta de regresión que relaciona flujo y producción de sodio no variaba . Ahora podemos desechar con más fuerza la teoría osmótica ya que aunque la concentración y producción de fosfolípidos caen en los tres ensayos BR , BR + TC y BR + DHC (Fig. 3c y 3d) , esta caída es máxima en los BR y mínima en los BR + TC en contra de lo esperado si la explicación del englobamiento de sodio en las micelas fuera cierta . Por tanto de los resultados de flujo , sodio y fosfolípidos de las muestras 5 , 6 y 7 de los ensayos BR , BR + TC y BR + DHC no podemos concluir con certeza si el pigmento es colerético en la rata o no .

Por lo demás la infusión previa de bilirrubina en los experimentos BR + TC y BR + DHC causa los mismos cambios que los observados en los -

ensayos BR en la concentración y producción de taurocolato , colesterol y bilirrubina (Fig. 3c y 3d) . En el caso del pigmento podemos seguir afirmando que estamos en su Tm no solo porque el valor de excreción es comparable al logrado en los ensayos BR (Fig. 3d) , sino también porque tanto la bilirrubinemia conjugada como la total crecen en plasma durante este periodo (Fig. 7) .

Al igual que ocurría en los experimentos TC y DHC , la infusión de una u otra sal biliar provoca hipercoleresis en condiciones de transporte máximo de bilirrubina (Tabla VII y VIII) . Sin embargo en aquellos experimentos el dehidrocolato inducía aumentos de flujo del 51% y el taurocolato del 15% (Fig. 2a) , mientras que ahora las subidas están más igualadas , un 40% para el taurocolato y un 52% para el dehidrocolato - (Fig. 3a) . Por tanto la diferencia radica en una mayor capacidad colerética del taurocolato en los ensayos BR + TC .

En contradicción con lo expuesto por APSTEIN para ratas a las que se les infunden dosis de sales biliares similares a las nuestras (4) , hemos encontrado que tanto el dehidrocolato como el taurocolato recuperan los valores de excreción de fosfolípidos , aunque más el segundo que el primero (Fig. 3c y 3d) . Nuevamente hay que achacar la leve recuperación inducida por la sal sintética a la pequeña cantidad que se transforma en taurocolato . De todas formas , en estos ensayos , la diferente excreción de fosfolípidos con una u otra sal biliar no está tan desequilibrada a favor del taurocolato como lo estaba en los ensayos TC y DHC . Este hecho podía explicarse si aceptamos que la bilirrubina protege a las membranas celulares de la acción detergente de las sales biliares , acción que es mayor en el caso del taurocolato que en el del dehidrocolato (105) , por lo que el efecto protector tiende a igualar la excreción de fosfolípidos evocada por ambas sales biliares .

De hecho la excreción máxima de fosfolípidos observada en los ensayos BR + TC (Tabla VII) es mucho menor que la detectada en los experimentos TC (Tabla IV) , mientras que es muy parecida en los BR + DHC (Tabla VIII) y en los DHC (Tabla V) .

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto podemos sugerir que el cambio en la capacidad colerética del taurocolato observado al superponer su infusión a otra de bilirrubina y el hecho , que la coleresis -

lograda con esta sal biliar sea ahora más parecida a la conseguida con de hidrocolato se debe a la menor formación de micelas en este caso . Es decir que la capacidad de arrastre osmótico de los componentes de la bilis es más parecida en los ensayos BR + TC o BR + DHC que lo era en los TC o DHC .

Algo similar a lo expuesto para la excreción de fosfolípidos se observa para el sodio y el potasio . Es decir , la excreción de ambos cationes no es tan diferente en los ensayos BR + TC y BR + DHC (Fig. 3b) como lo era en los TC y DHC (Fig. 2b) . Cuando se infunde taurocolato en condiciones de transporte máximo de bilirrubina se detecta un aumento claro en la secreción de sodio y potasio con respecto a lo que ocurría cuando se infundía la sal biliar sola . Los cambios en la excreción de los dos cationes son similares en los ensayos BR + DHC y en los DHC . - Por tanto la mejor coleresis lograda por el taurocolato superpuesto a la infusión de bilirrubina puede estar ligada a la mayor excreción de sodio en estas circunstancias .

Esta hipótesis no invalida la expuesta al hablar de la formación de micelas pues de hecho pueden ser complementarias . En efecto , una menor formación de micelas y una excreción de sodio aumentada explican perfectamente la notable mejoría de la capacidad colerética del taurocolato al infundirlo en condiciones de T_m de bilirrubina .

En contradicción con lo observado en otras especies , perro (64) , conejo (63) , la infusión de taurocolato (Tabla VII) o dehidrocolato (Tabla VIII) no mejora el transporte máximo de bilirrubina (Fig. 3d) . Estos resultados se oponen al papel solubilizador de bilirrubina encontrado por WOSIEWITZ y SCHROEBLER (152) para las sales biliares . Tanto el taurocolato (Tabla VII) como el dehidrocolato (Tabla VIII) inducen un efecto de dilución y así la concentración de bilirrubina en la bilis disminuye (Fig. 3c) . Sin embargo , mientras que el dehidrocolato no modifica ni positiva ni negativamente al T_m del pigmento , el taurocolato lo disminuye significativamente por lo menos en la muestra 10 (Fig. 3d) . Aunque como hemos dicho anteriormente , la bilirrubina en altas concentraciones protege a las membranas celulares del efecto detergente de los ácidos biliares , (efecto protector que es más patente en el caso de los compuestos formadores de micelas al ser su capacidad de arrastre mayor) , también es claro que la modificación en la membrana celu

lar inducida por el taurocolato es mayor que la provocada por el dehidrocolato (105) . En ambos casos la interferencia esperada de las sales biliares con la estructura de la membrana puede ser suficiente para que en la rata la infusión de dehidrocolato no favorezca el Tm de la bilirrubina y la de taurocolato lo afecte negativamente . Todos estos datos apoyan la hipótesis que postula una interferencia entre sales biliares y sistemas de transporte de la membrana canalicular o sinusoidal explicada más a través de una acción detergente inespecífica que por medio de efectos específicos de cada sal biliar .

En condiciones de Tm de bilirrubina , tanto durante la infusión de taurocolato como de dehidrocolato se sigue observando una subida en las concentraciones plasmáticas de bilirrubina total y conjugada similar a la de los ensayos BR (Fig. 7) . Ahora bien cuando lo que se infunde es dehidrocolato se aprecia una elevación más brusca en la concentración de bilirrubina conjugada que la detectada en los experimentos BR o BR + TC . Esto sugiere que la salida a sangre del glucurónido de bilirrubina se acelera , lo que puede deberse a una competencia entre la sal sintética y el pigmento por los lugares de fijación intrahepatocitarios , como se ha descrito para el dehidrocolato y la BSP en el hombre (9) .

Por último la bilirrubina no parece alterar el efecto favorecedor que ejerce el dehidrocolato sobre la secreción de cloruros , probablemente aumentando la permeabilidad de la vía paracelular , ya que la producción de cloruros encontrada en los experimentos BR + DHC (Fig. 11) , es similar a la detectada en los ensayos DHC (Fig. 10) .

5.6. DEL EFECTO DE LA INFUSIÓN DE BILIRRUBINA EN CONDICIONES DE SECRECIÓN SUBMAXIMA DE SALES BILIARES .

En este apartado se discutirán los resultados obtenidos en los experimentos TC + BR y DHC + BR , recogidos en las Tablas IX y X respectivamente . Los cambios en la concentración y producción de cloruro durante los ensayos DHC + BR se representan en la Fig. 12 .

La infusión de bilirrubina superpuesta a otra de taurocolato (Tabla IX) o dehidrocolato (Tabla X) , no mejora la respuesta colerética que se obtenía con la infusión de una u otra sal biliar por si solas (Fig. 4a y 5a) . El incremento de flujo logrado con el taurocolato es nuevamente menor que el inducido por dehidrocolato , (Fig. 6a) y en este caso , la bilirrubina no consigue equilibrar la actividad colerética de ambas sales como lo hacía en el caso de la infusión previa del pigmento . Volveremos más tarde sobre estos fenómenos .

Los valores de concentración y de producción de sodio y potasio se elevan durante la administración de bilirrubina , tanto en los ensayos TC + BR (Tabla IX) (Fig. 4b) como en los DHC + BR (Tabla X) (Fig. 5b) . Aunque no existen diferencias significativas entre los incrementos de la producción de sodio logrados con taurocólico o dehidrocólico y bilirrubina son más aparentes en el caso de la sal sintética (Fig. 6b) y están mejor correlacionados con el efecto colerético de la misma .

Cuando comparábamos los experimentos BR con los BISS , indicábamos que la infusión del pigmento no afectaba ni negativa ni positivamente a la concentración (Fig. 3c) ni a la producción de taurocólico (Fig. 3d) , por lo que sugeríamos que en estas condiciones no había competencia entre la secreción de ambos compuestos . Sin embargo al comparar los ensayos TC con los TC + BR es evidente que el pigmento exógeno afecta negativamente tanto a la concentración (Fig. 4c) como a la producción de la sal biliar (Fig. 4d) , es posible pues que a tasas de secreción máxima de pigmento y de taurocólico , si exista una competencia entre los mecanismos de secreción de las dos sustancias (62) . Ahora bien los valores de secreción de taurocólico previos a la infusión de bilirrubina ya se diferenciaban significativamente de los obtenidos en los ensayos TC (Fig. 4d) lo que nos hace pensar que probablemente se trata más de un artefacto experimental que de una auténtica interferencia . Esta con

clusión está reforzada por el hecho de que es en los experimentos BR + TC cuando se obtienen las mayores tasas de secreción de taurocolato (Fig. 3d) .

La infusión de bilirrubina anula el potente efecto estimulador del taurocolato sobre la excreción de fosfolípidos (Fig. 4d) y el suave del dehidrocolato (Fig. 5d) . Durante las dos últimas muestras la excreción de fosfolípidos es muy parecida en los experimentos TC + BR y DHC + BR . Este fenómeno ya fue discutido en los ensayos BR , es decir cuando los niveles de taurocolato eran los endógenos . Entonces indicábamos que podía darse una competencia entre bilirrubina y fosfolípidos para unirse a las micelas mixtas , que la BR restaba fuerza detergente a las sales biliares con lo cual el pool de fosfolípidos se preservaba o que la bilirrubina protegía a las membranas y así la sal biliar no arrastraba fosfolípidos . Ahora , aunque mantenemos las tres explicaciones , le quitamos importancia a la primera , porque si se tratara de un fenómeno de competencia por las micelas , éste sería débil cuando se infunde taurocolato pues en estas condiciones habría exceso de las mismas y más claro cuando se infunde dehidrocolato . Ahora bien si se trata de un efecto de protección este sería independiente de la fuerza detergente de las sales biliares y de hecho con ambas la excreción de fosfolípidos cae hasta niveles comparables (Fig. 6d) .

La fuerza colerética del dehidrocolato hemos indicado repetidamente que es mayor que la del taurocolato lo que achacábamos a que con la sal natural aumenta la formación de micelas y se engloba más sodio por lo que el arrastre osmótico gobernado por este catión disminuye . Ahora bien en los ensayos BR + TC , la coleresis inducida por taurocolato se parece a la desencadenada por la sal sintética . La explicación que adelantábamos era que en estas condiciones se daba un aumento menor en la excreción fosfolipídica y por tanto al englobarse menos sodio en las micelas mejoraba el arrastre osmótico . Sin embargo en los experimentos TC + BR en los que sucede algo similar , no se incrementa la potencia colerética del taurocolato como sería de esperar . No obstante se puede arguir que aunque la producción de sodio aumenta de forma similar en los ensayos BR + TC y en los TC + BR , la concentración lo hace mucho más en los últimos , por lo que es probable que en este caso y a pesar de la caída en los niveles fosfolipídicos los valores de sodio activo en los canalículos sea menor .

La infusión de bilirrubina no interfiere con el efecto estimulador que ejerce el dehidrocolato sobre la secreción de cloruros . Es decir que el aumento en la permeabilidad de la vía paracelular que postulamos para el dehidrocolato se presenta por igual en los ensayos DHC (Fig. 10), BR + DHC (Fig. 11) y DHC + BR (Fig. 12) .

Por último se constata que la infusión de bilirrubina superpuesta a otra de taurocolato no consigue alcanzar valores de T_m tan elevados (Tabla IXb) como los determinados en los experimentos BR (Tabla VIb), mientras que si se superponen a otra de dehidrocolato el valor del T_m (Tabla Xb) es superior al detectado en los ensayos BR (Tabla IVb) . Estos hechos son coherentes con el efecto negativo suave que tiene la infusión de taurocolato sobre el T_m de la bilirrubina (Tabla VIIb) y la falta de efecto de la infusión de dehidrocolato sobre el mismo parámetro (Tabla VIIIb) . Por tanto no solo podemos seguir postulando que el taurocólico altera negativamente la excreción del pigmento probablemente por su acción modificadora de la integridad de la membrana sino también volver a sugerir la posibilidad ya comentada de que exista un tercer receptor de membrana común para el pigmento y las sales biliares pero con mayor afinidad para el taurocolato que para el dehidrocolato .



CONCLUSIONES

CONCLUSION 1ª.- La disminución de flujo que sigue a la interrupción de la circulación enterohepática se debe a la caída en los niveles de sales biliares sinusoidales e intrahepatocitarias . Este hecho provoca una menor salida de las mismas y de sodio a los canalículos , lo que resta in tensidad a los pozos osmóticos y por consiguiente disminuye la coleresis . Desde el punto de vista osmótico el fenómeno es mucho más dependiente del sodio que de las sales biliares .

CONCLUSION 2ª.- El taurocolato ejerce en la rata una clara acción co lerética contra lo indicado por otros autores . Este efecto es sin embargo de dos a tres veces menor que el conseguido con dosis equivalentes de dehidrocolato . La diferente respuesta colerética no solo se debe a la peculiar actividad osmótica de cada una de ellas sino también a su distinta capacidad para formar micelas que a su vez modifica los niveles de sodio canalicular osmoticamente activo .

CONCLUSION 3ª.- La excreción de bilirrubina endógena mejora tras la interrupción de la circulación enterohepática y no se afecta apreciablemente durante la infusión de taurocolato o dehidrocolato . La menor concentra ción sinusoidal e intrahepatocitaria de sales biliares activa fenómenos fa cilitadores de la excreción del pigmento ya que no se trata de la desaparición de procesos inhibidores . Por otra parte es evidente que la excreción endógena no depende en absoluto de los procesos de formación de micelas o de la intensidad de la coleresis .

CONCLUSION 4ª.- La excreción de fosfolípidos está intimamente goberna da por los niveles de sales biliares y muestra una estrecha correlación - directa con la capacidad micelar del taurocolato o dehidrocolato .

CONCLUSION 5ª.- Los altos niveles de bilirrubina exógena deprimen la excreción de fosfolípidos incluso cuando ésta se potencie por la infusión previa de taurocolato o dehidrocolato . Este efecto depresor se puede explicar por la acción protectora de las membranas hepatocitarias que realiza el pigmento al unirse a las mismas .

CONCLUSION 6ª.- La infusión de dehidrocolato mejora la secreción de cloruros en todas las condiciones experimentales en las que se administró este compuesto . La mayor producción de cloruro es el resultado del aumento de la permeabilidad de la vía paracelular y de la presencia de más sodio osmoticamente activo en los canalículos debido a la baja capacidad micelar

de esta sal xenobiótica .

CONCLUSION 7ª.- La administración de taurocolato o dehidrocolato no modifica significativamente la excreción máxima de bilirrubina en contra de lo indicado por otros autores para diferentes especies . De hecho el taurocolato ejerce un suave efecto inhibitor que se puede achacar a su capacidad de modificar inespecíficamente la integridad de las membranas hepatocitarias .

CONCLUSION 8ª.- En condiciones de transporte máximo de bilirrubina , la infusión de dehidrocolato eleva significativamente la cantidad de bilirrubina conjugada en plasma , lo que nos indica que su salida a sinusoides está favorecida . Este fenómeno puede deberse a la aparición de competencia entre sal sintética y pigmento por los lugares de fijación intrahepatocitarios como se ha descrito para el dehidrocolato y la bromosulfoftaleína .

CONCLUSION GENERAL .- La intensidad relativa de los procesos que , a distintos niveles intervienen en la formación de bilis en la rata , está regulada fundamentalmente por la cantidad de sales biliares y por las peculiares propiedades fisicoquímicas de las mismas .

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.- AFIFI , F. (1981). Diminution of bile flow and of liver uptake and biliary excretion of bromosulphthalein by aldosterone. Tohokn. J. Exp. Med. 135 : 139 - 147.
- 3.- ANWER , M.S. , HEGNER , D. (1978). Effect of Na⁺ on bile acid uptake by isolated rat hepatocytes; Evidence for a heterogeneous system . Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 359 : 181 - 192.
- 4.- APSTEIN , M.D. , ROSENBERG , D. , ROBINS , S.J. (1979). Effect of organic anions on micellar lipid excretion . Gastroenterology 76 (5) : 2.
- 5.- 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.
- 6.- ASHWORTH , C.T. , SANDERS , E. (1960). Anatomic pathways of bile formation. Am. J. Pathol. 37 : 343 - 355.
- 7.- BAKER , A.L. , WOOD , R.A.B. , MOOSSA , A.R. , BOYER , J.L. (1979). Sodium taurocholate modifies the bile acid-independent fraction of canalicular bile flow in the rhesus monkey . J. Clin. Invest. 64 : 312 - 320.
- 8.- BALABAUD , C. , KRON , K.A. , GUMUCIO , J.J. (1977). The assessment of the bile salt-nondependent fraction of canalicular bile water in the rat. J. Lab. Clin. Med. 89 (2) : 393.
- 9.- BAR-MEIR , S. , LEVY , R. , HALPERIN , Z. , LEVY-GIGI , G. , GILAT , T. (1982). Impairment of bromosulphthalein clearance by bile salt administration in normal volunteers and patients with Dubin-Johnson syndrome . Israel J. of Medical Sciences 18 : 211.

- 10.- BARNHART , J.L. , CLARENBURG , R. (1973). Binding of bilirubin to erithrocytes . Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 142 : 1101.
- 11.- BARNHAT , J.L. , COMBES , B. (1974). Effect of teophylline on hepatic excretory function . Am. J. Physiol. 227 (1) : 194.
- 12.- BARNHART , J.L. , COMBES , B. (1978). Erythitol and mannitol clearances with taurocholate and secretin induced choleresis. Am. J. Physiol. 234 : E146 -E156.
- 13.- BARNHART , J.L. , UPSON , D.W. (1979). Bile flow an electrolyte composition of bile associated with maximun bilirubin excretion in sheep. Can. J. Physiol. Pharmacol. 57 : 710.
- 14.+ BARTOS , M.J. (1959). Sur l'analyse colorimétrique des 3-cétos téroïdes à l'aide du 2,6-diterbutyl p-cresol. Annales Pharm. Franç. 17 : 141.
- 15.- BERGSTROM , S. , DANIELSSON , H. (1958). On the regulation of bile acid formation in the rat liver. Acta. Physiol. Scand. 43 :1 -7.
- 16.- BERTHELOT , P. , ERLINGER , S. , DHUMEAUX , D. , PREAUX , A.M. (1970). Mechanism of phenobarbital-induced hypercholeresis in the rat ./Am. J. Physiol. 219 (3) : 809 - 813.
- 17.- BINET , S. , DELAGE , Y. , ERLINGER , S. (1979). Influence of taurocholate, taurochenodeoxycholate and taurodehydrocholate on bromosulphthalein transport into bile . Am. J. Physiol. 15 : E10
- 18.- BLITZER ,B.L. , BOYER , J.L. (1978). Cytochemical localization of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in the rat hepatocyte . J. Clin. Invest. 62 : 1104 -1108.
- 19.- BLITZER , B.L. , BOYER , J.L. (1982). Cellular mechanisms of bile formation . Gastroenterology. 82 : 346 -357.

- 20.- BLITZER , B.L. , RATOOSH , S.L. (1980). Na^+ -dependent amino acid uptake inhibits hepatic taurocholate uptake : a possible mechanism of amino acid-induced cholestasis. Gastroenterology 79 : 1005 .
- 21.- BLOVIN , A. , BOLENDE , R.P. , WEIBEL , E.R. (1977). Distribution of membranes between hepatocytes and nonhepatocytes in the rat liver parenchyma. J. Cell. Biol. 72 : 441 - 455.
- 22.- BOYER , J.L. (1971). Canalicular bile formation in the isolated perfused rat liver. Am. J. Physiol. 221 (4) : 1156 - 1163.
- 23.- BOYER , J.L. , RENO , D. (1975). Properties of Na^+ - K^+ activate ATPase in rat liver plasma membrane enriched with bile canaliculi. Biochim. Biophys. Acta 401 : 59.
- 24.- BOYER , J.L. , SCHEIG , R.L. , KLATSKIN , G. (1970). The effect of sodium taurocholate on the hepatic metabolism of bromosulphthalein sodium (BSP). The role of bile flow. J. Clin. Invest. 49 : 206.
- 25.- BRADLEY , S.E. , HERZ , R. (1978). Permsselectivity of biliary canalicular membrane in rats : Clearance probe analysis. Am. J. Physiol. 235 : E570 - E576.
- 26.- CAREY , M.C. , SMALL , M.D. (1972). Micelle formation by bile salts. Arch. Intern. Med. 130 : 506 - 527.
- 27.- CARRILLO , M.C. , MONTI , J.A. , RODRIGUEZ , J.V. , RODRIGUEZ GARAY E. (1981). Bile flow and sulphobromophthalein biliary excretion in aflatoxin-treated rats. IRCS Medical Science 9 : 1156 - 1157.
- 28.- CHENDEROVITCH , J. (1971). Transport d'eau et d'electrolytes dans le cholédoque du lapin " in vivo ". Rev. Europ. Clin. et Biol. XVI : 591 - 595.

- 29.- CLARENBURG , R. , CHI+CHOU KAO (1973). Shared and separate pathways for biliary excretion of bilirubin and BSP in rats.
Am. J. Physiol. 225 (1) : 192 - 200.
- 30.- CLARET , M. , MAZET , J.L. (1972). Ionic fluxes and permeabilities of cell membranes in rat liver. J. Physiol. London 223 : 279-295.
- 31.- COOPER , B. , EAKINS , N.N. , SLATER , T.F. (1976). The effect of various anesthetic techniques on the flow rate , constituents and enzymic composition of rat bile. Biochem. Pharmacol. 25 : 1711 - 1718.
- 32.- DELAGE , Y. , ERLINGER , S. , DUVAL , M. , BENHAMOU , J.P. (1975). Influence of dehydrocholate and taurocholate on bromsulphthalein uptake , storage and excretion in the dog. Gut 16 : 105 - 108.
- 33.- DESMET , V.J. (1972). Morfologic and histochemical aspects of cholestasis. In Progress in Liver Diseases IV. Ed. H. Popper and F. Schaffner. Grune and Stratton. New York. pag. 97.
- 34.- DESMET , V.J. (1977). Anatomy I : Hepatocyte-canalculus. In Liver and Bile . Ed. Bianchi L. , Gerok , W. , Sickinger , K. , MTP Press , Lancaster . pag. 3 - 31.
- 35.- DHUMEAUX , D. , BERTHELOT , P. , PREAUX , A.M. , ERLINGER , S. FAUVERT , R. (1970). A critical study of the concept of maximal biliary transport of sulphobromophthalein (BSP) in the Wistar rat. Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol. XV : 279 - 286.
- 36.- DIAMOND , J.M. (1978). Channels in epithelial cell membranes and junctions. Feed. Proc. 37 : 2639 - 2644.
- 37.- DIAMOND , J.M. , BOSSERT , W.H. (1968). Functional consequences of ultrastructural geometry in " backwards " fluid transporting epithelia. J. Cell. Biol. 37 : 691.

- 38.- DOWLING , B.H. , MACK , E. , SMALL , D.M. (1971). Biliary lipid secretion and composition after acute and chronic interruption of the enterohepatic circulation in the rhesus monkey. J. Clin. Invest. 50 : 1917.
- 39.- DUBIN , M. , MAURICE , M. , FELDMANN , G. , ERLINGER , S. (1978). Phalloidin-induced cholestasis in the rat : relation to changes in microfilaments. Gastroenterology 75 : 450 - 455.
- 40.- DUFFY , M.C. , BLITZER , R.L. , BOYER , J.L. (1981). Direct determination of the driving forces for taurocholate (TC) uptake into liver plasma membranes (LPM) vesicles. Hepatology 1 : 507
- 41.- DUMONT , M. , ERLINGER , S. (1977). Decrease in cholesterol and phospholipid secretion into bile induced by cholephilic dyes in hamsters. Gastro. Clin. Biol. 1 (11) : 891 - 896.
- 42.- DUMONT , M. , UCHMAN , S. , ERLINGER , S. (1980). Hypercholeresis induced by ursodeoxycholic acid and 7-ketolithocholic acid in the rat . Possible role of bicarbonate transport. Gastroenterology 79 : 82 - 89.
- 43.- ELIAS , H. (1949). A reexamination of the structure of the mammalian liver. II. The hepatic lobule and its relation to the vascular and biliary systems. Am. J. Anat. 85 : 379 - 456.
- 44.- ELIAS , E. , HRUBAN , Z. , WADE , J.B. , BOYER , J.L. (1980). Phalloidin-induced cholestasis : a microfilaments-mediated change in junctional complex permeability. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77 : 2229 - 2233.
- 45.- ENGELKING , L.R. , GRONWALL , R. , ANWER , M.S. (1980). Effect of dehydrocholic acid on the excretion of bilirubin. Am. J. Vet. Res. 41 (3) : 355.

- 46.- ERLINGER , S. (1981). Hepatocyte bile secretion : current views and controversias. *Hepatology* 1 (4) : 352 - 359.
- 47.- ERLINGER , S. (1982). Cholérèse et cholestase. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 6 : 500 - 508.
- 48.- ERLINGER , S. , DHUMEAUX , D. (1974). Mechanisms and control of secretion bile water and electrolytes. *Gastroenterology* 66 (2) : 281 - 304.
- 49.- 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 - 422.
- 50.- ERLINGER , S. , DUMONT , M. (1973). Influence of canalicular bile flow on sulphobromophtalein transport maximum in bile in the dog. *The Liver . Quantitative Aspects of Structure and Function.* Ed. Paumgartner and Preisig . S. Karger. Basel. pag. 306.
- 51.- ERLINGER , S. , DUMONT , M. , DHUMEAUX , D. , BENHAMOU , J.P. (1969). Bile secretion in rabbit . Evidence for a large hepatocytic bile-salt independent fraction. *Gastroenterology* 56 : 1213.
- 52.- ERLINGER , S. , DUMONT , M. , BENHAMOU , J.P. (1979). Effect de l'ouabaine sur la secretion biliaire du lapin. *Rev. Franc. Etudes Clin. Biol.* 14 : 1007 - 1009.
- 53.- ESTELLER , A. (1975). La secreción biliar en el conejo . Tesis Doctoral . Universidad de Granada.
- 54.- ESTELLER , A. , JIMENEZ , R. , LOPEZ , M.A. (1981). Biliary secretion in conscious rabbits : Role of enterohepatic circulation of bile salts and the gall bladder. *Quartely J. of Exp. Physiol.* 66 : 349 - 357.

- 55.- 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. Quaterly J. Exp. Physiol. 66 : 359 - 366.
- 56.- EVANS , H. , KREMMER , T. , CULVENOR , J.G. (1976). Role of membranes in bile formation. Comparison of the composition of bile and a liver bile-canalicular plasma membrane subfraction. Biochem. J. 154 : 589 - 595.
- 57.- FORKER , E.L. (1969). The effect of estrogen on bile formation in the rat. J. Clin. Invest. 48 : 654 - 663.
- 58.- FORKER , E.L. (1977). Mechanisms of hepatic bile formation . Ann. Rev. Physiol. 39 : 323.
- 59.- FRENCH , S.W. , DAVIES , R.L. (1975). Ultrastructural localization of actin-like filaments in rat hepatocytes. Gastroenterology 68 : 765 - 774.
- 60.- FUKUMOTO , Y. , OKITA , K. , ANDO , K. , TAKEMOTO , T. (1982). Influence of colchicine on bile secretion. Hepatology 2 (1) : 160.
- 61.- GARTNER , V. , LEVINE , N.G. , WOLKOFF , A.W. (1980). Evidence for independent hepatic uptake mechanisms for BSP and bilirubin. Gastroenterology 79 (5) : 1010.
- 62.- GIBSON , G.E. , FORKER , E.L. (1974). Canalicular bile flow and bromosulfophthalein transport maximum : The effect of bile salt-independent choleric SC-2644.
- 63.- GONZALEZ , J. (1981). Excreción hepática de pigmentos biliares en el conejo ; Interacción con las sales biliares. Tesis Doctoral . Universidad de Granada.

- 64.- GORESKY , C.A. , BACH , G.G. , NADEU , B.E. (1973). On the uptake of materials by the intact liver - The transport and net removal of galactose. J. Clin. Invest. 52 : 991 - 1009.
- 65.- GORESKY , C.A. , HADDAD , H.H. , KLUGER , W.S. , NADEAU , B.E. , BACH , G.G. (1974). The enhancement of maximal bilirubin excretion with taurocholate-induced increments in bile flow. Can. J. Physiol. Pharmacol. 52 : 389.
- 66.- GRAF , J. (1976). Some aspects of the role of cyclic AMP and calcium in bile formation : Studies in the isolated perfused rat liver. In Stimulus-Secretion Coupling in the Gastrointestinal Tract . Ed. R.M. Case and H. Goebell. University Park Press . Baltimore. pag. 148.
- 67.- GRAF , J. , PETERLIK , M. , (1976). Ouabain-mediated sodium uptake and bile formation by isolated perfused rat liver. Am. J. Physiol. 230 : 876 - 885.
- 68.- GREGORY , D.H. , VLAHCEVIC , Z.R. , PRUG , M.F. , SWELL , L. (1978). Mechanism of secretion of biliary lipids : Role of a microtubular system in hepatocellular transport of biliary lipids in the rat. Gastroenterology 74 : 93 - 100.
- 69.- GUMUCIO , J.J. , BALABAUD , C. , GRAY , R.H. , KLINE , A.J. (1975). Study of the stimulation of bile salt non-dependent fraction of canalicular bile water (BSNDF) by phenobarbital. Gastroenterology 68 (4) : 1077.
- 70.- GUMUCIO , J.J. , BALABAUD , C. , MILLER , D.L. , DEMASON , L.J. APPELMAN , H.D. , STOECKER , T.J. , FRANZBLAU , D.R. (1978). Bile secretion and liver cell heterogeneity in the rat . J. Lab. Clin. Med. 91 (2) : 350 - 362.
- 71.- GUMUCIO , J.J. , VALDIVIESO , V.D. (1971). Studies on the mechanism of the ethynil-estradiol impairment of bile flow and bile salt excretion in the rat. Gastroenterology 61 : 339 - 344.



- 72.- HARDISON , W.G.M. , APTER , J.T. (1972). Micellar theory of biliary cholesterol excretion. Am. J. Physiol. 222 (1) : 61.
- 73.- HARDISON , W.G.M. , HATOFF , D.E. , MIYAI , K. , WEINER , R.G. (1981). Nature of bile acid maximum secretory rate in the rat. Am. J. Physiol. 241 : G337 - G343.
- 74.- HARDISON , W.G.M. , WOOD , C.A. (1978). Importance of bicarbonate in bile salt independent fraction of bile flow. Am. J. Physiol. 235 : E158 - E164.
- 75.- HELLER , P. , VAN DER KLOOT , (1974). Transmembrane potentials in guinea-pig hepatocytes. J. Physiol. London 234 : 577 - 598.
- 76.- HIDALGO , F. (1981). Excreción hepática de pigmentos biliares en el conejo : interacción con las sales biliares. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- 77.- HIROM , P.C. , HUGHES , D. , MILLBURN , D. (1976). Bile and urine as complementary pathways for the excretion of foreign compounds. Xenobiotica 6 : 55 -64.
- 78.- IGA , T. , KLAASSEN , C.D. (1982). Hepatic extraction of bile acids in rats. Biochem. Pharmacol. 31 (2) : 205 - 209.
- 79.- IGA , T. , KLAASSEN , C.D. (1982). Uptake of bile acids by isolated rat hepatocytes. Biochem. Pharmacol. 31 (2) : 211 - 216.
- 80.- IRWIN , J.L. , JHONSTON , C.G. , KOPALA , J. (1944). A photometric method for the determination of cholates in bile and blood. J. Biol. Chem. 153 : 439.
- 81.- JIMENEZ , R. (1979). Secreción biliar en conejos no anestesiados: Influencia de la circulación enterohepática y respuesta a la comida. Tesis Doctoral . Universidad de Granada.

- 82.- JONES , A.L. , HRADEK , G.T. , RENSTON , R.H. , WONG KY ,
KARLAGANIS , G. , PAUMGARTNER , G. (1980). Autoradiographic evi-
dence for hepatic lobular concentration gradient of bile acid deri-
vative. Am. J. Physiol. 238 : G233 - G237.
- 83.- JONES , A.L. , SHMUCKER , D.L. , RENSTON , R.H. , MURAKAMI , T.
(1980). The architecture of bile secretion ; A morphological
perspective of physiology. Digestive Diseases Sci. 25 (8) : 609.
- 84.- KITANI , K. , KANAI , S. (1981). Biliary transport maximum of
tauroursodeoxycholate is twice as high that of taurocholate in rat.
Life Sciences 29 : 269 - 275.
- 85.- KITANI , K. , KANAI , S. (1981). Tauroursodeoxycholate prevents
taurocholate induced cholestasis. Life Sciences 30 : 515 - 523.
- 86.- KLAASSEN , C.D. (1971). Does bile acid secretion determine cana-
licular bile production in rats ? . Am. J. Physiol. 220 (3) : 667-673.
- 87.- KLAASSEN , C.D. (1974). Bile flow and composition during bile
acid depletion and administration. Can. J. Physiol. Pharmacol.
52 : 334 - 348.
- 88.- KLAASSEN , C.D. (1975). Biliary excretion of xenobiotics. CRC
Crit. Rev. Toxicol. 4 : 1 - 30.
- 89.- KLAASSEN , C.D. , PLAA , G.L. (1968). Studies on the mechanism
of phenobarbital-enhanced sulfobromophthalein disappearance.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 161 (2) : 361 - 366.
- 90.- KLAASSEN , C.D. , ROBERTS , J.R. , PLAA G.L. (1969). Maximal bi-
liary excretion of bilirubin and BSP during various rates of infu-
sion in rats of different weights and strains. Toxicology and
Applied Pharmacology 15 : 143 - 151.

- 91.- KLOS , C. , PAUMGARTNER , G. , REICHEN , J. (1979). Cation-anion gap and choleric properties of rat bile. Am. J. Physiol. 236 (4) : E434 - E440.
- 92.- LAFONT , H. , LAIRON , D. , DOMINGO , N. , PAUTRAT , G. , HAUTON , J. Does a lecithin:polypeptide association in bile originates from membrane structural submits ? Biochimie 56 : 465.
- 93.- LAPERCHE , Y. , PREAUX , A.M. , BERTHELOT , P. (1981). Two systems are involved in the sulbromophthalein uptake by rat liver cells : One is shared with bile salts. Biochem. Pharmacol. 30 (11) : 1333 - 1336.
- 94.- 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.
- 95.- LATHAM , P.S. , KASHGARIAN , M. (1979). The ultrastructural localization of transport ATPase in the rat liver at non-bile canalicular plasma membranes. Gastroenterology 76 : 988 - 996.
- 96.- LAYDEN , T.J. , BOYER , J.L. (1976). The effect of thyroid hormone on bile salt-independent bile flow and $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase activity in liver plasma membranes enriched in bile canaliculi. J. Clin. Invest. 57 : 1009 - 1018.
- 97.- LAYDEN , T.J. , BOYER , J.L. (1978). Influence of bile acids on bile canalicular membrane morphology and the lobular gradient in canalicular size. Lab. Invest. 39 : 110 - 119.
- 98.- LAYDEN , T.J. , ELIAS , E. , BOYER , J.L. (1978). Bile formation in the rat . The role of the paracellular shunt pathway. J. Clin. Invest. 62 : 1375 - 1385.
- 99.- LEVIN , S.J. , JOHNSTON , C.G. , BOYLE , A.J. (1961). Spectrophotometric determination of several bile acids as conjugates - Extraction with ethyl acetate. Anal. Chem. 33 : 1407.

- 100.- LINDBLAD , L. , SCHERSTEN , T. (1976). Influence of cholic and chenodeoxycholic acid on canalicular bile flow in man. Gastroenterology 70 : 1121 - 1124.
- 101.- LUPIANI , M.J. , ZAMORA , S. , ESTELLER , A. , LOPEZ , M.A. (1979). Effects of hypothermia on some aspects of biliary secretion in anaesthetized rabbits and rats. Comp. Biochem. Physiol. 64A : 185 - 189.
- 102.- MACKINNON , M. , KOHLER , M. (1980). The effect of overnight biliary drainage on the hepatic excretion of bromosulphophtalein. Ajebak 58 : 415 - 419 .
- 103.- MAHU , J.L. , DUVALDESTIN , P. , DHUMEAUX , D. , BERTHELOT , P. (1977). Biliary transport of cholephilic dyes : Evidence for two different pathways. Am. J. Physiol. 232 : E445 - E450.
- 104.- MALLOY , H.T. , EVELYN , K.A. (1937). The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol. Chem. 199 : 480 - 490.
- 105.- MARTENSSON , E.M. (1963). Investigation of factors affecting the Liebermann-Burchard cholesterol reaction. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 15 : 164.
- 106.- MARTIN ; G.P. , MARRIOTT , C. (1981). Membrane damage by bile salts : The protective function of phospholipids. J. Phar. Pharmacol. 31 : 754 - 759.
- 107.- MEYERS , W.C. , HANKS , J.B. , JONES , R.S. (1979). Insulin and glucagon choleresis during normoglycemia. Surgical Forum XXX : 398 - 400.
- 108.- MONTET , J.C. , MONTET , A.M. , GEROLAMI , A. , HAUTON , J.C. (1975). Effect of 3-acetoxy fusidate on the biliary secretion of lipids in the rat. Biol. Gastroenterol. 8 : 53 - 62.

- 109.- MOTTA , P. , FUMAGALLI , G. (1975). Structure of rat bile canaliculi as revealed by scanning electron microscopy. Anat. Rec. 182 : 499 - 514.
- 110.- MOTTA , P. , PORTER , K.R. (1974). Structure of rat liver sinusoids and associated tissue spaces as revealed by scanning electron microscopy. Cell. Tissue Res. 148 : 111.
- 111.- NICHOLSON , G.L. (1976). Transmembrane control of the receptors on normal and tumor cells. I . Cytoplasmatic influence over cell surface components. Biochem. Biophys. Acta 457 : 57 - 108.
- 112.- NILSSON , S. , SCHERSTEN , T. (1970). Influence of bile acids on the synthesis of biliary phospholipids in man. Europ. J. Clin. Invest. 1 : 109 - 111.
- 113.- OHKUMA , S. , KURIYAMA , K. (1982). Uptake of cholic acid by freshly isolated rat hepatocytes : Presence of a common carrier for bile acid transports. Steroids 39 : 7 - 19.
- 114.- OKOLICSANYI , L. , LIRUSSI , F. , NASSUATO , G. , ORLANDO , R. , NACCARATO , R. , DALBRUNO , G. (1978). Interference between the biliary excretion of chenodeoxycholic acid and bilirubin in rats. Ital. J. Gastroenterol. 10 : 20 - 21.
- 115.- OLINGER , E.J. , HERCKER , E.S. , OSTROW , J.D. (1978). Role of microtubules in bile acid transport in isolated rat hepatocytes. Gastroenterology 74 : 1073.
- 116.- OLINGER , E. , MALHAM , L. (1979). Interaction of microtubules with microfilaments in the regulation of bile acid efflux in isolated rat hepatocytes. Gastroenterology 76 : 1294.
- 117.- O'MAILLE , E.R.L. (1980). The influence of micelle formation on bile salt secretion. J. Physiol. London 302 : 107 - 120.

- 118.- ORCI , L. , LE MARCHAND , Y. , SING , A. (1973). Role of micro-tubules in lipoprotein secretion by the liver. Nature 244 : 30 - 32.
- 119.- OSTROW , J.D. , BRANHAM , R.V. (1970). Photodescomposition of bilirubin and biliverdin " in vitro ". Gastroenterology 58 : 15.
- 120.- OSTROW , J.D. , SZCZEPANIK , P. , HERCKER , E.S. (1979). Excretion of bile acids (B.A.) and biliary lipids during infusion of taurodehydrocholate (TDHC) in rat. Gastroenterology 76 : 1294.
- 121.- 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. Pharmak. 270 : 98 - 101.
- 122.- PAUMGARTNER , G. , REICHEN , J. (1976). Kinetics of hepatic uptake of unconjugated bilirubin. Clin. Sci. Molec. Med. 51 : 169 - 176.
- 123.- PHILLIPS , M.J. , ODA , M. , MAK , E. , FISHER , M.H. , JEEJEEBHOY , K. (1975). Microfilament dysfunction as a possible cause of intrahepatic cholestasis. Gastroenterology 69 : 48 - 58.
- 124.- PRANDI , D. , ERLINGER , S. , GLASINOVIC , J.C. , DUMONT , M. (1975). Canalicular bile production in man. Europ. J. Clin. Invest. 5 : 1.
- 125.- RAPPAPORT , A.M. (1973). The microcirculation hepatic unit. Microvasc. Res. 6 : 212 - 228.
- 126.- RAPPAPORT , A.M. , BOROWY , A.J. , LOUGHEED , V.M. (1954). Sub-division of hexagonal liver lobules into a structural and functional unit : Role in hepatic physiology and pathology. Anat. Rec. 119 : 11 - 34.
- 127.- REICHEN , J. , BERMAN , M.D. (1978). The role of microfilaments and microtubules in bile salt uptake by isolated rat hepatocytes. Gastroenterology 74 : 1167.

- 128.- REICHEN , J. , PAUMGARTNER , G. (1980). Excretory function of the liver and biliary tract physiology. I . International Review of Physiology. Vol.21. Ed. N.B. Javitt . University Park Press . Baltimore . pag. 103.
- 129.- RUSSEL , J.Q. , KLAASSEN , C.D. (1973). Biliary excretion of cardiac glycosides. J. Pharm. Exp. Ther. 116 : 455 - 462.
- 130.- RUTISHAUSER , S.C.B. , STONE , S.L. (1975). Comparative effects of sodium taurocholate on bile secretion in the rat , dog and rabbit. J. Physiol. London 245 : 583 - 598. .
- 131.- SANCHEZ , A. , GONZALEZ , C. , POLO , L. , GONZALEZ DEL CASTILLO , E. Directs spectrophotometric micro-determination of chloride ion in biological fluids as chromyl chloride. Analyst. 102.: 963.- 966. (1977)
- 132.- SCHARSCHMIDT , B.F. , SCHMID , R. (1977). The micellar sink . Gastroenterology 72 : 1182.
- 133.- SCHERSTEN , T. , NILSSON , S. , CAHLIN , E. (1971). Relationship between the biliary excretion of bile acids and the excretion of water , lecithin and cholesterol in man. Europ. J. Clin. Invest. 1 : 242 - 247.
- 134.- SCHWARTZ , A. , LINDENMAYER , G.E. , ALLEN , J.C. (1975). The sodium-potassium adenosine triphosphatase : Pharmacological and biochemical aspects. Pharmacol. Rev. 27 : 3 - 134.
- 135.- SHAFFER , E.A. , PRESHAW , R.M. (1981). Effects of sulfobromophthalein excretion on biliary lipid secretion in humans and dogs. Am. J. Physiol. 240 : G85 - G89.
- 136.- SHAW , H.M. , HEATH , T.J. (1975). Bile salts and bile formation in rats , rabbits and guinea-pigs. Comp. Biochem. Physiol. 50A : 615 - 619.

- 137.- SMALL , D.M. (1970). The formation of gallstone .
Adv. Med. 16 : 243.
- 138.- SMITH , R.L. , (1973). The excretory function of bile. Ed.
Chapman and Hall . London .
- 139.- SPERBER , I. (1965). Biliary secretion of organic anions and its
influence on bile flow . In The Biliary System. Ed. W.Taylor .
Oxford . Blackwell. pag. 457.
- 140.- STEENBERGEN , W.V. , FEVERY , J. (1982). Maximal biliary secre-
tion of bilirubin in the anaesthetized rat : Dependence on UDP-glu-
curonosyltransferase activity. Clinical Science 62 : 521 - 528.
- 141.- STEINER , J.W. , CARRUTHERS , J.S. (1961). Studies on the fine
structure of the biliary tree . I . The morphology of normal bile
canaliculi , preductules (ducts of Herring) and bile ductules.
Am. J. Pathol. 38 : 639 - 661.
- 142.- STERNLIEB , I. (1972). Functional implications of human portal
and bile ductular ultrastructure. Gastroenterology 63 : 321 - 327.
- 143.- THISTLE , J.L. , LARUSSO , N.F. , HOFMANN , A.F. , TURCOTTE , J. ,
CARLSON , G.L. , OTT , B.J. (1982). Differing effects of ursode-
oxycholic or chenodeoxycholic acid on biliary cholesterol satura-
tion and bile acid metabolism in man. Dig. Dis. Sci. 27 : 161 - 168.
- 144.- UCHIDA , K. , NOMURA , Y. , TAKEUCHI , N. (1980). Effects of cho-
lic acid , chenodeoxycholic acid and their related bile acids on
cholesterol , phospholipid and bile acid levels in serum , liver
and feces of rats. J. Biochem. 87 : 187 - 194.
- 145.- VIAL , J.D. , SIMON , F.R. , MACKINNON , A.M. (1976). Effect of
bile duct ligation on the ultrastructural morphology of hepatocytes.
Gastroenterology 70 : 85.

- 146.- WANNAGAT , F.J. , ADLER , R.D. OCKNER , R.K. (1978). Bile acid-induced increase in bile acid-independent flow and plasma membrane $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, ATPase activity in rat liver. J. Clin. Invest. 61 : 298.
- 147.- 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.
- 148.- WHEELER , H.O. (1968). Water and electrolytes in bile . In Handbook of Physiology . The Alimentary Canal . Ed. American Physiological Society . Washington D.C. pag. 2401.
- 149.- WHEELER , H.O. , KING , K.K. (1972). Biliary excretion of lecithin and cholesterol in the dog. J. Clin. Invest. 51 : 1337.
- 150.- WILLIAMS , J.A. , WITHROW , C.D. , WOODBURY , D.M. (1971). Effects of ouabain and diphenylhydantoin on transmembrane potential , intracellular electrolytes and cell pH of rat muscle and liver " in vivo ". J. Physiol. London 212 : 101 - 115.
- 151.- WOLKOFF , A.W. , GORESKY , C.A. , SELLIN , J. , GATMAITAN , Z. , ARIAS , I.M. (1979). Role of ligandin in transfer of bilirubin from plasma into liver. Am. J. Physiol. 236 : E648.
- 152.- WONDERGEM , R. (1981). Transmembrane potential of rat hepatocytes in primary monolayer culture. Am. J. Physiol. 241 : C209 - C214.
- 153.- WOSIEWITZ U. , SCHROEBLER , S. (1979). Solubilisation of unconjugated bilirubin by bile salts. Experimentia 35 : 717 - 718.
- 154.- YEE , H.Y. (1978). An evaluation of acid digestion methods for amniotic fluid phospholipids. Microchem. J. 23 : 426 - 432.

Parchemin