

FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA ANIMAL

EXCRECION HEPATICA DE PIGMENTOS BILIARES
EN EL CONEJO:
INTERACCION CON LAS SALES BILIARES

Javier González Gallego

UNIVERSIDAD DE GRANADA

1981



UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS

~~Prov. T. 2-87~~
4/149

DON ENRIQUE F. HITTA VILLAVERDE, PROFESOR --
AGREGADO INTERINO Y SECRETARIO DE LA FACUL-
TAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD DE GRANA-
DA.-

Núm. _____

C E R T I F I C O: Que la presente te-
sis doctoral corresponde a la pre-
sentada en esta Facultad por D. Ja-
vier Gonzalez Gallego que fue cali-
ficada con Sobresaliente "cum laude"
el día 4 de julio de 1.981 por el -
tribunal correspondiente, y que fue
aprobado en Junta de Facultad cele-
brada el día 25 de junio de 1.981,
siendo el título de la tesis: "Excre-
ción hepática de pigmentos biliares
en el conejo: Interacción con las sa-
les biliares".

Y para que conste expido la presente
certificación con el VºBº del Ilmo. Sr.
Decano en Granada a diez de julio de mil
novecientos ochenta y uno.

Vº.Bº.
EL DECANO,

E. Hitta V.



Javier Gallego

L. H. B.

R 55.310

FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA ANIMAL

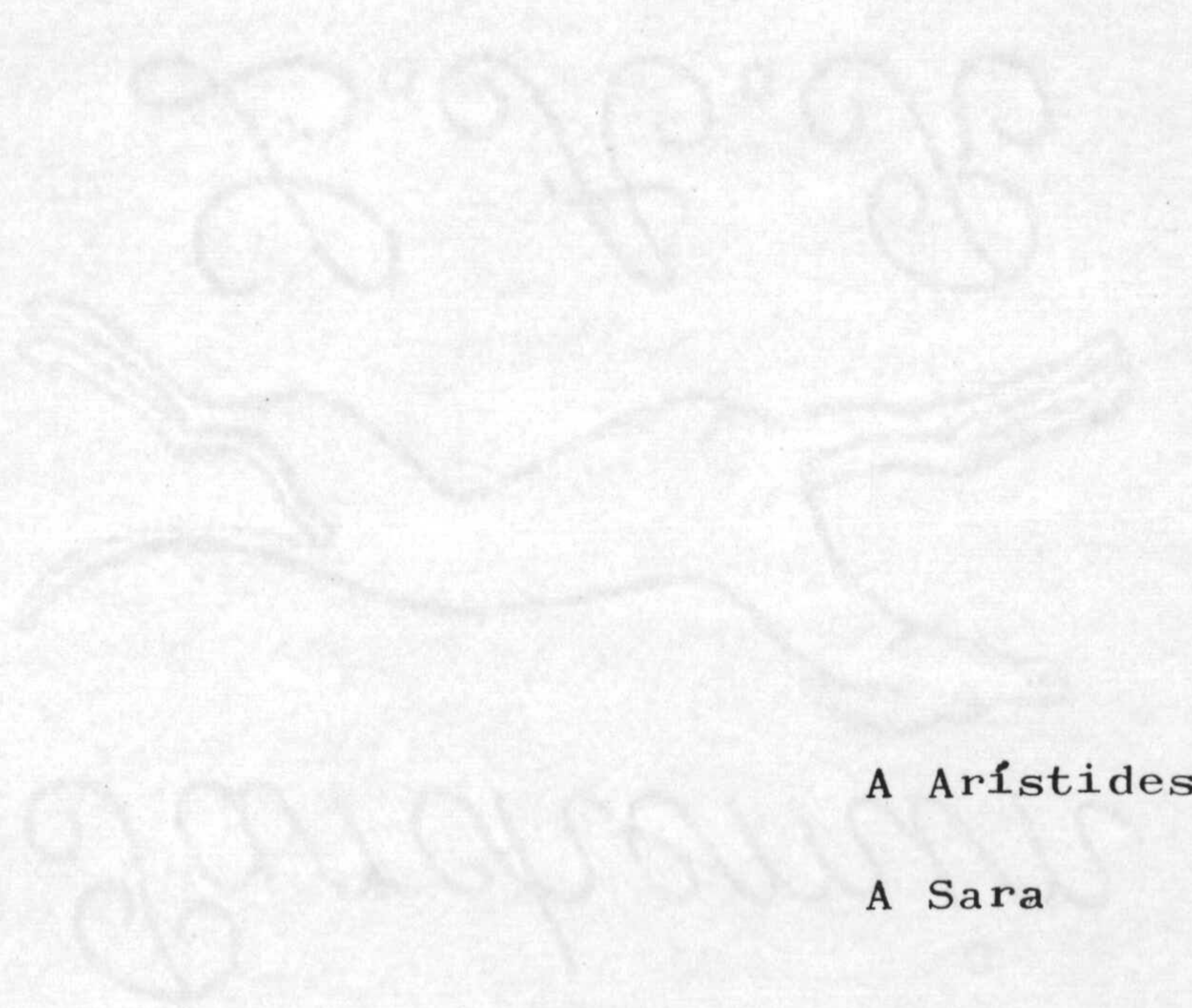
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA	
GRANADA	
Nº Documento	613544780
Nº Copia	915531697

EXCRECION HEPATICA DE PIGMENTOS BILIARES EN EL CONEJO:
INTERACCION CON LAS SALES BILIARES.

Javier González Gallego


UNIVERSIDAD DE GRANADA

1981



A Arístides y Victoria

A Sara



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

A los Prof. Dr. D^a. María A. López Rodríguez y D. Alejandro Esteller Pérez, sus directores, que en todo momento me han ayudado, haciendo posible la realización de la misma.

A Frandy, Pedro y Félix por su desinteresada colaboración.

A los restantes compañeros del Departamento de Fisiología Animal.



- INDICE -

	<u>Página</u>
1.- INTRODUCCION.....	8
2.- INFORMACION BIBLIOGRAFICA.....	11
2.1.- Bases estructurales de la secreción biliar	12
2.2.- Composición de la bilis.....	16
2.2.1.- Agua y electrolitos.....	16
2.2.2.- Sales biliares.....	17
2.2.3.- Pigmentos biliares.....	21
2.3.- Mecanismos de formación de la bilis.....	24
2.3.1.- Fracción canalicular dependiente de las sales biliares.....	24
2.3.2.- Fracción canalicular independiente de las sales biliares.....	26
2.3.3.- Fracción de origen ductular	31
2.4.- Transporte de solutos orgánicos.....	33
2.4.1.- Sales biliares.....	33
2.4.2.- Lípidos biliares.....	35
2.4.3.- Pigmentos biliares.....	36
2.4.3.1.- Transporte plasmático...	36
2.4.3.2.- Captación hepática.....	37
2.4.3.3.- Unión intracelular.....	39
2.4.3.4.- Conjugación.....	41
2.4.3.5.- Excreción canalicular...	43
2.5.- Relación entre la excreción de sales y pigmentos biliares.....	47
3.- MATERIAL Y METODO.....	52
3.1.- Animales.....	53
3.2.- Procedimiento quirúrgico.....	53
3.2.1.- Preoperatorio.....	53
3.2.2.- Operatorio.....	53

	<u>Página</u>
3.3.- Mecánica de los experimentos.....	55
3.4.- Sistemas de registro e infusión.....	55
3.5.- Infusiones.....	56
3.5.1.- Pigmentos biliares.....	56
3.5.2.- Sales biliares.....	56
3.6.- Control postmortem.....	57
3.7.- Métodos analíticos.....	57
3.7.1.- Determinación de bilirrubina.....	57
3.7.2.- Determinación de biliverdina.....	57
3.7.3.- Determinación de sales biliares..	57
3.7.4.- Determinación de lípidos.....	58
3.7.5.- Determinación de cloruro.....	58
3.7.6.- Determinación de sodio y potasio.	59
3.7.7.- Osmolaridad.....	59
3.8.- Tratamiento estadístico.....	59
3.9.- Diseño experimental.....	60
4.- RESULTADOS.....	63
5.- DISCUSION.....	113
5.1.- Excreción de pigmentos biliares en condi- ciones de reposo.....	114
5.2.- Excreción de pigmentos biliares durante la infusión endovenosa de biliverdina....	119
5.3.- Excreción de pigmentos biliares durante la infusión endovenosa de bilirrubina....	122
5.4.- Efecto de la infusión endovenosa de dife- rentes sales biliares sobre la excreción de pigmentos.....	128
6.- CONCLUSIONES.....	137
7.- BIBLIOGRAFIA.....	140



Faint, illegible text or signature.

- INTRODUCCION -



Durante los últimos veinte años, han aparecido gran número de publicaciones acerca de la secreción biliar de diversas especies de mamíferos, incluyendo al hombre. Estos trabajos se enfocan en su gran mayoría a estudiar dos aspectos separados de la fisiología hepatobiliar; por un lado la excreción de pigmentos biliares y por el otro la secreción desde el punto de vista digestivo, es decir los mecanismos de secreción de sales biliares y de electrolitos, así como los fenómenos que regulan dicha secreción. Sin embargo son muy escasos los científicos que han tratado de relacionar ambas líneas de trabajo, lo que, a nuestro entender, ha empobrecido la investigación, y ha dificultado la obtención de conclusiones, ya que en los dos aspectos de la secreción biliar existen puntos comunes y fenómenos complementarios.

En el Departamento Interfacultativo de Fisiología Animal de la Universidad de Granada se trabaja desde hace más de diez años en el segundo enfoque, llevándose a cabo la investigación de forma predominante en el conejo, animal que presenta características hepatobiliares especiales que lo hacen sumamente interesante. Desde el punto de vista de excreción de pigmentos biliares es, así mismo, un animal peculiar, ya que es uno de los escasos mamíferos que excretan más biliverdina que bilirrubina.

La desconexión entre los grupos de trabajo que investigan los aspectos excretores y digestivos de la secreción biliar, la especial fisiología del conejo y nuestra experiencia sobre el comportamiento de dicha secreción digestiva en esta especie, fueron las tres razones que en

un principio nos decidieron a abordar la realización de la presente tesis doctoral. Los objetivos que nos planteamos fueron los siguientes:

1º. Dilucidar los aspectos básicos de la excreción de pigmentos biliares.

2º. Determinar la capacidad máxima del hígado para extraer, transportar y excretar estas sustancias.

3º. Estudiar su relación con la secreción de sales biliares.

Por lo que se refiere a este último punto, también nos planteamos la necesidad de dilucidar la importancia real de la formación de micelas mixtas en la excreción de los pigmentos biliares en condiciones basales y de transporte máximo.

Los resultados obtenidos creemos que justifican plenamente nuestros planteamientos de partida, ya que, no solo se han determinado los puntos de mayor interés de la excreción de pigmentos en condiciones de reposo y la cuantía de sus transportes máximos, sino también, y esto es lo más importante, nuestros datos experimentales nos han permitido elaborar una teoría general que relaciona la capacidad de formación de micelas de diversas sales biliares con la excreción de bilirrubina. Esta teoría tiene la virtud de englobar y poner de acuerdo las opiniones más aceptadas de entre las múltiples anteriormente propuestas.

- INFORMACION BIBLIOGRAFICA -

2.1.- BASES ESTRUCTURALES DE LA SECRECIÓN BILIAR.

La bilis es formada por los hepatocitos, células del parénquima hepático, en cuya superficie pueden distinguirse tres zonas morfológica y funcionalmente diferentes: membrana sinusoidal en contacto con la sangre, superficie intercelular y membrana canalicular o polo secretor del hepatocito. Se trata, por tanto, de células claramente polarizadas (211).

La membrana sinusoidal muestra microvilli irregulares (140) que aumentan la superficie de intercambio y se sitúan en el fluido del espacio de Disse, separado de los sinusoides por células endoteliales, células de Kupffer y lipocitos. Los estudios histoquímicos muestran una débil actividad ATPasica (52), así como la posible existencia de receptores para las sales biliares (1). Su superficie viene a representar un 37% de la superficie total del hepatocito.

La pronunciada fenestración de la superficie sinusoidal, junto con la falta de membrana capilar basal, facilitan en gran medida el intercambio entre hepatocitos y sangre. En el polo sinusoidal se encuentran con frecuencia vacuolas de endo y exocitosis, reflejando el intenso tránsito de sustancias en esta zona.

Las células del parénquima hepático parecen disponerse en un sistema de láminas cribiformes anastomósicas entre las cuales se situarían los canalículos conectados formando un retículo tridimensional. Los canalículos no tienen paredes propias y aparecen como separaciones localizadas

entre la membrana limitante de dos o tres hepatocitos adyacentes que constituyen la membrana canalicular (166). Esta posee una composición distinta a la membrana sinusoidal, con una fuerte actividad ATPasica (31). Se ha sugerido que en animales sanos la membrana es refractaria a la acción detergente de las sales biliares durante los procesos secretores. La presencia de pequeños componentes de la membrana, especialmente enzimas glicoproteicos, en la superficie exterior, sugiere su liberación de la membrana por los ácidos biliares tras la secreción de la bilis en el espacio canalicular (71). Estos datos, junto con los cambios espectaculares experimentados por la membrana canalicular en colestasis experimentales sugieren un importante papel de esta en el proceso secretor.

La pared de los canalículos presenta microvilli canaliculares de distribución no uniforme. En los canalículos centrilobulares, mas pequeños, se extienden por toda la superficie de la membrana; pero en los periportales hay una localización preferente en el borde marginal (204) con una función probablemente específica, ya que no desaparecen en la colestasis al igual que los demás microvilli (204).

Los canalículos estan rodeados por una estrecha zona de citoplasma libre de orgánulos denominada ectoplasma pericanalicular. A este nivel se encuentran microfibrillos que parecen tener un papel en el mantenimiento de los canalículos parcial o totalmente contraídos, dando así un tono al sistema canalicular que facilitaría el flujo de de bilis (151). Su destrucción produce colestasis.

También existen microtúbulos cuya integridad se ha demostrado que es necesaria para la secreción biliar de lecitinas y ácidos biliares (156) y vesículas pericanaliculares que podrían tener un cierto papel en el mecanismo de formación de la bilis (91).

Entre los hepatocitos están los espacios intercelulares, que son extensiones del espacio perisinusoidal de Disse y a cada lado de los canaliculos las membranas de células adyacentes están firmemente unidas por estructuras conocidas como barras terminales (144). De este modo no existe comunicación entre el compartimento sanguíneo y el espacio biliar (197) aunque es posible la existencia de un flujo paracelular entre células en la secreción biliar normal y un incremento de la permeabilidad en dirección canaliculo-sinusoidal cuando la presión intrabiliar está aumentada.

Los canaliculos biliares están cerrados por un extremo, el otro, situado dentro del lóbulo o en su periferia, drena a canales de mayor tamaño, los ductulos biliares, que al unirse forman los ductos (152). Los ductulos y ductos, a diferencia de los canaliculos, tienen un revestimiento epitelial propio con células que presentan un desarrollado aparato de Golgi. Los ductos en los espacios porta poseen un rico suministro de sangre, principalmente arterial (61).

Toda esta especial disposición estructural tiene una serie de importantes implicaciones funcionales. En primer lugar los canaliculos al estar cerrados por un extremo

y con una relación superficie-volumen muy elevada se encuentran muy bien adaptados a funcionar como un sistema de flujo determinado por el gradiente osmótico (56). Por otra parte, en ningún punto de la red canalicular hay condiciones favorables para la filtración hidrostática. Finalmente, las características de las células epiteliales y la abundante vascularización arterial de los ductos en los espacios porta, sugieren que la bilis elaborada por los hepatocitos, podría modificarse a este nivel por procesos de secreción o absorción (201).

2.2.- COMPOSICION DE LA BILIS.

La bilis es una solución con un 90-95% de agua, electrolitos inorgánicos y compuestos orgánicos, que son principalmente pigmentos y sales biliares, colesterol y fosfolípidos.

2.2.1.- Agua y electrolitos.

Los electrolitos se encuentran generalmente en la bilis a concentraciones próximas a los valores plasmáticos (36). Sin embargo, los niveles biliares de sodio, potasio, calcio y bicarbonato pueden ser mayores que en plasma y los de cloruro menores. Este hecho podría ser consecuencia de la formación de micelas con baja actividad osmótica (41) o de diferencias en el potencial eléctrico entre la luz biliar y extracelular o incluso de un transporte activo de iones inorgánicos.

El catión predominante es el sodio, que en bilis de conejo tiene una concentración entre 146 y 160 meq/l. Concentraciones más bajas predominan cuando sustancias como rojo fenol o polietilenglicol, con escasa capacidad formadora de micelas se excretan en bilis (67). La formación de micelas también explicaría que en condiciones fisiológicas, fluctuaciones en la concentración de ácidos biliares se acompañen por fluctuaciones equivalentes en la concentración de sodio (67). Todo esto es aplicable también al potasio.

La concentración de bicarbonato en bilis es a menudo superior a la plasmática, especialmente en conejos, en donde alcanza valores de hasta 50 meq/l. La de cloruro, por

el contrario, resulta similar o incluso inferior a la plasmática.

Resultados de estas variaciones es que el pH de la bilis puede oscilar de 5,9 a 7,8 en especímenes colectados anaerobiamente y analizados rápidamente para evitar pérdidas de CO.

2.2.2.- Sales biliares.

Los ácidos biliares constituyen un grupo de compuestos esteroides sintetizados a partir del colesterol por los hepatocitos. Se denominan ácidos biliares primarios los producidos directamente por la acción de enzimas hepáticos y secundarios los originados por la acción dehidroxilante de las bacterias intestinales sobre los ácidos primarios. Estos últimos son en la mayoría de los mamíferos el ácido cólico ($3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ -trihidroxi 5β colanoico) y el ácido quenodeoxicólico ($3\alpha, 7\alpha$ -dihidroxi 5β colanoico). Entre los secundarios tenemos el ácido deoxicólico ($3\alpha, 12\alpha$ -dihidroxi 5β colanoico) y el ácido litocólico (3α -hidroxi 5β colanoico).

Los mecanismos de formación de los ácidos biliares primarios se han estudiado en diversas especies de mamíferos, obteniéndose información sobre todo del metabolismo del colesterol en ratas fistuladas y homogenados de hígado de rata y ratón (188). El colesterol por acción de una 7α hidroxilasa da 7α hidroxicolesterol, que posteriormente por una serie de transformaciones origina el ácido cólico, a partir del cual se forma el ácido quenodeoxicólico.

Los ácidos biliares en bilis se encuentran conjugados con glicina o taurina, variando la relación entre glicico y tauroconjugados según las diferentes especies. Palmer (148) y otros autores han indicado que el litocólico puede aparecer en forma de ester sulfatado, aunque el hecho de que la molécula sulfatada sea muy polar, determina que su absorción sea escasa en intestino y se elimine totalmente en heces, con lo que disminuye su acción potencialmente tóxica.

Haslewood estudiando diferentes especies de vertebrados ha puesto de manifiesto que existe una gran variedad en cuanto al tipo de ácidos biliares. En el conejo el ácido mayoritario es el glicodeoxicólico, que supone alrededor de un 90% del total, existiendo también pequeñas cantidades de glicocólico, glicoquenodeoxicólico, ursodeoxicólico y litocólico (101). La concentración de glicodeoxicólico en sangre periférica y condiciones de reposo es algo inferior a un mg/100 ml de plasma.

Las moléculas de los ácidos biliares tienen un componente hidrófobo representado por el núcleo esteroide y un componente hidrófilo constituido por los grupos hidroxilo de su cadena lateral. Esta característica es el origen de su capacidad para formar micelas por encima de una concentración micelar crítica (CMC) y una cierta temperatura, denominada temperatura micelar crítica (TMC). Esta última en el caso de las sales biliares está muy por debajo de los 0°C y por tanto carece de interés fisiológico.

Las micelas simples se forman en soluciones con sólo ácidos biliares y su aparición depende del número y po-

sición de los grupos hidroxilo, concentración del ácido biliar, pH, temperatura, naturaleza y concentración de los cationes y grado de conjugación.

La conjugación permite a las sales biliares formar micelas en un rango de pH mucho mayor que las sales libres, y debido a la mayor polaridad de la taurina, sus conjugados presentan valores de CMC ligeramente superiores. Por otro lado, las sales biliares trihidroxiladas tienen una mayor solubilidad acuosa y CMC que las dihidroxiladas, la CMC del taurocolato a 40°C es de 4 mM/l y en el glicodeocolato de sólo 1,2 mM/l con 22 moléculas por micela. Dentro de las formas dihidroxiladas, la CMC es mayor en el quenodeocolato, lo que podría deberse a la posición de los hidroxilo 7 y 12. En general se puede afirmar que la solubilidad en agua de los grupos hidroxilo se potencia cuando dichos grupos se sitúan en íntima proximidad sobre la molécula(41).

El efecto de la temperatura es también de enorme interés, observándose un ligero descenso de la CMC entre 10 y 20°C, un nivel mínimo entre 20 y 30°C y un nuevo incremento a partir de los 40°C a consecuencia del predominio de fuerzas repulsivas (41).

Las micelas mixtas contienen varias especies moleculares de las que al menos una debe ser capaz de formar micelas si está sola en solución. En la bilis las micelas mixtas están constituidas por ácidos biliares, fosfolípidos y colesterol (110). De esta forma se desarrolla un sistema ternario en que la solubilización de dos de los componentes

depende de las proporciones relativas de cada uno de los tres. Así, la composición de la bilis puede representarse por un diagrama ternario en el que se pueden definir zonas micelares en las que se realizaría la solubilización de lecitinas y colesterol.

Las sales biliares, una vez llegadas al intestino se absorben fundamentalmente en el ileon y retornan al hígado para excretarse en bilis, es lo que se denomina circulación enterohepática de las sales biliares. El proceso es un mecanismo activo que se da en ausencia de gradientes electroquímicos, se inhibe por la anoxia y 2,4 dinitrofenol y presenta fenomenos de competencia entre las diferentes sales biliares.

La restricción de la absorción al ileon terminal, permite que las sales biliares permanezcan en la luz intestinal hasta que se haya completado la absorción de triglicéridos y otros lípidos. Sin embargo existen pruebas de que algunas sales biliares dihidroxiladas, conjugadas con glicina, pueden también absorberse por difusión pasiva a nivel de yeyuno y colon (4).

Los ácidos biliares conjugados pasan en proporción de un 99,9% a las ramas de la vena porta, se transportan unidos principalmente a la albúmina (169) y son extraídos por los hepatocitos con enorme eficiencia.

La interrupción de la circulación enterohepática de las sales biliares en el conejo produce una caída apreciable del flujo basal de bilis, como ha sido demostrado

por Esteller (69) en animales anestesiados y Jimenez (112) en no anestesiados. Este efecto se revierte por infusión de bilis en duodeno.

2.2.3.- Pigmentos biliares.

Los pigmentos biliares tienen un origen fundamentalmente hemoglobínico doble. El primero y más importante (80 a 85%) corresponde a la destrucción fisiológica de los hematíes senescentes. Esta destrucción puede llevarse a cabo de dos formas: por captación de los hematíes por las células del sistema retículo-endotelial de hígado y bazo y por lisis intravascular (173). La hemoglobina así liberada es transportada al hígado por la haptoglobina y degradada por los hepatocitos; una fracción no ligada a la haptoglobina se filtra a nivel del riñón, siendo reabsorbida y captada por las células renales.

El segundo nivel se corresponde con la hematopoyesis, originándose bien a partir de hemoglobina excedentaria o por la destrucción inmediata en la médula ósea de una débil proporción de eritroblastos que no llegan a madurar (eritropoyesis ineficaz).

Una pequeña parte de la síntesis de pigmentos es consecuencia de la transformación de diversos constituyentes hemínicos no hemoglobínicos como el citocromo P450 (23). Esta fracción se pone de manifiesto por la incorporación precoz de precursores radiactivos del hemo en la bilirrubina. Esta incorporación, estudiada sobre todo con ácido δ -amino

levulínico, precede al pico que hacia las 24-48 horas traduce la incorporación en la bilirrubina del hemo liberado por eritropoyesis ineficaz (177). Su origen es hepático, ya que persiste en un montaje de hígado aislado perfundido.

La rotura oxidativa inicial del hemo se lleva a cabo por medio de la hemo oxigenasa microsomal (200) con eliminación de una molécula de monóxido de carbono. El resultado es la formación de un pigmento verde, la biliverdina, que posteriormente se transforma por medio de la biliverdin reductasa para dar la bilirrubina.

En mamíferos, en general, la excreción de pigmentos se realiza en forma de bilirrubina. En aves, su síntesis está limitada por la falta de biliverdin reductasa y la producción de bilirrubina en estos casos es extraordinariamente pequeña (132,103), resultando bien sea de pequeñas tasas de actividad de biliverdin reductasa o de mecanismos de reducción de naturaleza desconocida.

La teoría ampliamente aceptada de que los mamíferos herbívoros excretan fundamentalmente biliverdina (217), no parece ser cierta en muchos casos, en que el color verde de la bilis se debería a la presencia de fitoeritrinas derivadas de la clorofila dietaria (199,45).

En el conejo, sin embargo, si parece existir biliverdina. Garay y col. (78) han demostrado por técnicas cromatográficas la existencia de glucuronidos de biliverdina. Por otra parte, Bruss y Cornelius (39), han puesto de manifiesto que no existen variaciones en la relación entre las

excreciones de bilirrubina y biliverdina en dos grupos de animales de los cuales sólo uno recibía clorofila en la dieta.

Los pigmentos biliares parecen no tener un claro papel funcional y uno de los aspectos más confusos es el referente al propósito fisiológico de la reducción de la biliverdina, un producto no tóxico y soluble en agua (45), en bilirrubina potencialmente tóxica e insoluble que requiere una conjugación previa a su excreción.

Una teoría ampliamente difundida supone que la conversión es un prerequisite necesario para una transferencia eficiente de los pigmentos biliares a través de la barrera placentaria durante la gestación, ya que la biliverdina es incapaz de hacerlo. Sin embargo, peces como la perca excretan conjugados de bilirrubina (45) y obviamente no se puede aplicar una razón placentaria a la reducción de la biliverdina en este caso.



2.3.- MECANISMOS DE FORMACION DE LA BILIS.

La formación de bilis es un proceso de gran complejidad en el que hemos de considerar diferentes mecanismos fisiológicos que operan a distintos niveles anatómicos (74,214).

Inicialmente se produce a nivel hepatocitario una bilis canalicular estando implicados al menos dos fenómenos: el transporte activo de sales biliares y la producción de una fracción canalicular independiente de las sales biliares que se relaciona con un transporte de sodio.

Esta bilis canalicular puede modificarse posteriormente a nivel de los conductos por adición de agua o electrolitos desde el epitelio ductular e incluso en ocasiones por medio de una absorción.

En algunas especies resulta también importante el papel ejercido por la vesícula biliar.

2.3.1.- Fracción canalicular dependiente de las sales biliares.

La importancia de las sales biliares en la estimulación de la formación de bilis es conocida desde la observación de Schiff (180) de que la infusión de bilis en duodeno originaba un incremento del flujo biliar en el perro. El camino recorrido desde entonces ha sido bastante largo y ya en 1959, Sperber postuló que el movimiento de agua y electrolitos en bilis sería originado por el efecto osmótico de

las sales biliares (195).

Aunque no se dispone de métodos convencionales para la demostración de este fenómeno, si hay numerosas pruebas de su contribución a la formación de bilis. Así, se ha observado que la concentración de las sales biliares en bilis es unas cien veces superior al plasma. Además, los estudios de Brauer y col. (34,35) en hígado perfundido de rata indican que la presión de secreción biliar es superior a la de perfusión, lo que supondría la existencia de factores no hemodinámicos.

Existen, sin embargo, una serie de hechos que resultan difíciles de explicar por la hipótesis del efecto osmótico (67), aunque si podrían serlo por variaciones en los coeficientes de actividad osmótica. Por ejemplo, el volumen del fluido secretado por una cantidad dada de sales biliares presenta una gran variedad entre especies (155). Por cada mmol de sales biliares, hay 8 ml de bilis en el perro (215), 15 ml en la rata (21) y 30 ml en el conejo (63)

Además, la pendiente en las rectas de regresión entre el flujo biliar y la tasa de secreción de sales biliares, varía con la cantidad de sales biliares infundidas, disminuyendo de manera significativa si se aumenta la tasa de infusión (9).

Finalmente, el dehidrocolato, sal biliar sintética no formadora de micelas, que en parte es metabolizada por los hepatocitos (194), incrementa el flujo biliar más que el taurocolato solo en algunas especies (65), cuando cabría es-

perar que este efecto se diera en todas.

En el caso del conejo, el deoxicolato, tanto libre como conjugado, tiene un efecto colerético mayor que otros ácidos (171,172) como el taurocolato. Este es un buen ejemplo de las dificultades de aplicación de la hipótesis micelar, a no ser que existan propiedades fisicoquímicas especiales en la bilis del conejo (171).

El hecho de que el taurodeoxicolato incremente la concentración de bicarbonato en la bilis del conejo (171), ha llevado a sugerir la posible estimulación de una bomba de bicarbonato, determinante del incremento de flujo. Sin embargo este aumento persiste tras la administración de inhibidores específicos (64).

2.3.2.- Fracción canalicular independiente de las sales biliares.

En todas las especies que hasta el momento han sido estudiadas se ha observado la existencia de una relación lineal entre el flujo de bilis y la tasa de secreción de sales biliares (74,215). Si se extrapola dicha relación a un cero teórico de secreción de sales biliares aparece una intercesión positiva (215,154). Este valor teórico coincide aproximadamente con los obtenidos en preparaciones de hígado aislado en las que no existen niveles detectables de sales biliares (21).

La fracción canalicular independiente de las sales

biliares puede estimarse, como ya hemos indicado, mediante la extrapolación a cero de la relación entre flujo de bilis y tasa de secreción de sales biliares. Por este método la estimación es de 5 μ l/Kg peso corporal/min. en el perro (215), 60 en el conejo (64), 70 en la rata (21) y de 1,5 a 2 en el hombre (154,30). Estos valores representan en todos los casos de un 40 a 70% del flujo espontáneo no estimulado.

La secreción biliar independiente de las sales biliares se ha estudiado también por medio de inyecciones simples de taurocolato marcado, habiéndose obtenido resultados muy parecidos (96).

Aunque el mecanismo por el cual se origina esta secreción aún no está claramente dilucidado, parece ser fundamental el papel del transporte de sodio a nivel canalicular. Los inhibidores de la ATPasa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, que es la enzima responsable del transporte de sodio a través de las membranas, disminuyen el flujo de bilis canalicular en el conejo (64) y en las preparaciones de hígado aislado de rata (29). Las sustancias capaces de aumentar el transporte de sodio, posiblemente a través del AMP_c , como el propio AMP_c , glucagón y teofilina (139,117) aumentan el flujo de bilis canalicular.

Por otra parte en diferentes situaciones experimentales incluyendo la administración de hormonas tiroideas o tiroidectomía (125) o administración de etinil estradiol o fenobarbital, se obtiene una correlación entre la actividad de la ATPasa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ y el flujo de bilis. Incluso la

ouabaina puede tener un efecto colerético atribuible al transporte de sodio transcelular (90).

Curiosamente un reciente estudio en ratas indica que la administración de dosis equimoleculares de espirinolactona y carrenona incrementa fuertemente la fracción del flujo canalicular independiente de las sales biliares con inhibición de la ATPasa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ (192).

En la siguiente tabla se muestran algunos de la amplia variedad de agentes que interfieren con la secreción biliar a este nivel:

INHIBICION			ESTIMULACION		
estrógeno	rata	(93)	AMP _c	perro	(139)
			teofilina	perro	(139)
verde de indocianina	rata	(106)	teofilina	gato	(123)
			glucagón	perro	(117)
bromosulfotaleína	rata	(53)	glucagón	conejo	(113)
			hidrocortisona	perro	(134)
rosa de Bengala	conejo	(54)	fenobarbital	rata	(21)
			fenobarbital	mono	(159)
ouabaina	conejo	(64)	tirosina	rata	(125)
			SC 2644	perro	(85)
taurocolato	rata	(178)	ouabaina	rata	(90)
			dihidroxidibutileter	hamster	(23)
escilareno	rata	(118)	dinitrofenol	perro	(157)
			salicilato	perro	(172)
tauroli-tocolato	hamster	(29)	salicilato	rata	(40)

Además de las acciones farmacológicas también se han obtenido variaciones de la secreción independiente de las sales biliares por shunt porta-cava en ratas (153).

Es interesante indicar que algunas sustancias pueden tener un efecto colerético más bien a través de mecanismos osmóticos y no por incremento de la fracción de secreción independiente de las sales biliares. Es el caso del ácido etacrínico en varias especies (43,60,185) o de la metilumbeliferona en el perro (66).

En el conejo Pugh y Rutishauser (158) han puesto de manifiesto que el 2,4 dinitrofenol y salicilato sódico carecen del efecto colerético que se da en otras especies, posiblemente debido a la falta de inhibición de los mecanismos reabsortivos en el árbol biliar.

En estudios realizados con glucagón, también en conejos, se ha observado que a pesar de existir incrementos significativos en la secreción biliar de AMP_c el flujo biliar permanece inalterado (113).

Las sales biliares pueden afectar la fracción independiente, bien sea actuando sobre el transporte de sodio o reduciendo la actividad osmótica del sodio secretado, con lo que cambiaría la tasa de flujo biliar para una misma secreción de electrolitos.

Las variaciones de estos mecanismos pueden explicar diferentes efectos de las sales biliares sobre la secreción biliar. Así, se ha observado que el taurodeoxicolato no aumenta el flujo de bilis en ratas (171), pero sí en

perros. Dado que el taurodeoxicolato aumenta la secreción de sodio, es posible que en ratas se produzca una disminución de la actividad osmótica.

Las sales biliares monohidroxiladas disminuyen la fracción independiente a dosis bajas, posiblemente por alteraciones estructurales de la membrana canalicular (118, 174). La sulfación del taurolitocolato aumenta su solubilidad y el derivado no disminuye el flujo de bilis (130).

La única forma en la actualidad de determinación cuantitativa del flujo canalicular es la determinación del aclaramiento plasmático de solutos neutros metabólicamente inertes como eritritol o manitol (74). El método se fundamenta en el hecho de que solutos polares no cargados y sujetos a transporte activo entran en la bilis por simple difusión y su tasa de excreción, por consiguiente, depende de la permeabilidad del epitelio y de la tasa de flujo biliar en un locus dado.

Una prueba de la validez de este método es que la coleresis inducida por la secretina, de origen ductular, no afecta a los aclaramientos de eritritol o manitol. En el conejo, debido a la escasa sensibilidad a la secretina, esto no se ha podido confirmar. De todos modos se ha encontrado una relación lineal entre flujo y aclaramiento de eritritol que pasa por el origen (64), lo que permitiría considerar que dicho aclaramiento es aproximadamente igual al flujo canalicular.

2.3.3.- Fracción de origen ductular.

La infusión de secretina produce una coleresis con aumento de los niveles de bicarbonato en bilis sin variaciones en los aclaramientos de eritritol o manitol. La única prueba directa sobre el mecanismo de esta secreción se basa en la medida de potenciales eléctricos en los conductos hepáticos del perro (133). En estos experimentos, la secretina originaba una fuerte negatividad en los potenciales intraluminales, lo que indicaría la existencia de un transporte activo de iones. La composición de esta fracción indica que tendría una osmolaridad ligeramente mayor al fluido extracelular, explicando la ligera hipertonicidad de la bilis en la coleresis secretínica.

Otras hormonas gastrointestinales pueden también actuar a nivel ductular, como es el caso de la colecistoquinina-pancreocimina, gastrina o VIP. Ninguna se ha estudiado tan cuidadosamente como la secretina respecto a su efecto sobre el aclaramiento de eritritol, pero ya que producen efectos similares sobre la concentración de bicarbonato, se supone que también actuarían a nivel de conductos.

En el caso particular del conejo, aunque en un principio se indicó que la secretina carecía de efectos coleréticos (184), estos si pueden existir en cierta medida, como ha sido demostrado por Esteller y col. (70).

El papel de los conductos no solo se relaciona con funciones secretoras sino que también pueden realizar reabsorción de electrolitos, por ejemplo, en perros con

bloqueo colinérgico (214) o monos con resección del antro gástrico e intestino delgado (198).

Su función en la transferencia de constituyentes orgánicos parece ser escasa, excepto tal vez tras obstrucción biliar extrahepática aguda (11). Sin embargo, en rata y hombre se ha demostrado la posibilidad de una reabsorción activa de glucosa (94).

2.4.- TRANSPORTE DE SOLUTOS ORGANICOS.

Los pigmentos biliares, sales biliares y otros aniones orgánicos están altamente concentrados en bilis con respecto a plasma y presentan unas tasas máximas de transporte más o menos definidas.

En grado variable estos solutos están unidos a proteínas circulantes e intracelulares. El efecto de esta unión, ya que la bilis contiene muy baja concentración de proteínas (58,59), es incrementar la diferencia en las concentraciones efectivas entre bilis y plasma y bilis y citoplasma. La tendencia de las sales biliares a formar espontáneamente micelas tiene un efecto opuesto y la concentración efectiva de algunos aniones como bilirrubina o bromosulfoftaleína (27,211) puede también reducirse por asociación a micelas.

2.4.1.- Sales biliares.

La captación hepática de las sales biliares se ha estudiado por la técnica de dilución múltiple de Goresky. La captación es sodio dependiente (57,160) y sigue la cinética de Mikaelis Menten (161).

En hígado de rata la tasa máxima de captación es mayor para colato que para quenodeoxicolato (149) y en perro se obtienen resultados similares (86,87). Estos valores dependen de diferencias entre la unión a la albúmina (168) de las sales biliares y la disminución en hígado intacto de

la concentración sérica de sales biliares durante la transferencia de áreas portales a centrolobulillares (86). La captación es dependiente de la temperatura y se inhibe al sustituir por potasio el sodio extracelular (179).

La captación máxima de sales biliares excede en gran medida la tasa de secreción y durante la infusión de sales biliares la tasa máxima excretoria es el paso límite para la secreción. En situaciones fisiológicas, sin embargo, la tasa de secreción no se aproxima a la máxima capacidad de los sistemas de transporte hepático.

Cuando se infunden dosis fisiológicas de sales biliares en ratas el taurocolato es extraído más eficientemente, seguido por glicocolato, colato, deoxicolato y quenodeoxicolato (104). Estas diferencias podrían deberse a una distinta afinidad por la albúmina o captación celular.

Los mecanismos de transporte intracelular son desconocidos en gran medida. Es posible una saturación y se ha demostrado en el citosol hepático la existencia de una proteína con capacidad para unirse a las sales biliares.

La conjugación no es un paso esencial en la secreción de sales biliares. La eliminación de taurina en perros origina la secreción de ácido cólico no conjugado; sin embargo, la transferencia a bilis de la forma no conjugada es significativamente menor que la de taurocolato en un grupo de control (75).

No se sabe si las sales biliares sulfatadas siguen el mismo camino que las no sulfatadas, aunque se han encon-

trado tasas máximas de secreción semejantes entre sales biliares naturales y sus derivados sulfatados (75).

2.4.2.- Lípidos biliares.

Ya que la bilis es una solución de una sola fase resulta inevitable que la excreción de lípidos insolubles en agua dependa de su incorporación a micelas y por tanto de las sales biliares. Esto ha sido ampliamente confirmado, pero el mecanismo implicado sigue sin estar claramente definido, en parte por las complejas relaciones entre la circulación enterohepática de sales biliares y las tasas de síntesis hepática de colesterol y fosfolípidos y en parte por la dificultad en identificar el origen de los lípidos biliares (138).

Está bien establecido que la secreción de sales biliares es necesaria para la de lecitinas (143). En rata, perro y hombre (98) la relación muestra una meseta a altos niveles de secreción de sales biliares. El dehidrocolato disminuye la excreción biliar de lecitinas (98). La extrapolación a bajas tasas de secreción de sales biliares indica que la secreción de lecitinas desaparece de acuerdo con la hipótesis micelar; en solución acuosa, las micelas de sales biliares aparecen cuando la concentración de sales biliares excede la concentración micelar crítica (104), la hipótesis micelar supone así que la secreción de sales biliares bajo la concentración micelar crítica puede tener lugar sin acompañarse de secreción de lecitinas.

La excreción biliar de colesterol parece depender igualmente de las sales biliares. Se observa una relación lineal entre la secreción de colesterol y lecitinas aunque la extrapolación a cero de la secreción de estas últimas aparentemente indica la existencia de una secreción de colesterol independiente de las lecitinas o incluso de las sales biliares (98). Sin embargo en ratas tratadas con fenobarbital (84) la secreción de colesterol desaparece para una secreción cero de lecitinas de modo que ambas dependerían de las micelas formadas por las sales biliares y estas últimas actuarían sobre un complejo preformado de lecitinas y colesterol (191).

Se ha sugerido que las proteínas de la membrana podrían asociarse a los lípidos biliares (122). De hecho, durante la ultracentrifugación el complejo lecitinas-colesterol de la bilis tiene coeficientes de sedimentación mayores que las micelas mixtas puras de igual composición y al microscopio electrónico aparecen estructuras similares a lipoproteínas (141).

2.4.3.- Pigmentos biliares.

2.4.3.1.- Transporte plasmático.

El transporte plasmático de la bilirrubina se realiza fundamentalmente unida a la albúmina, como ya fué sugerido por Benhold (17) y confirmado posteriormente por otros autores. Se ha demostrado también la posible unión

en pequeña proporción a α y β globulinas (137), así como a glóbulos rojos (12), en este caso a través de los componentes lipídicos de la membrana. La bilirrubina puede además unirse a las plaquetas e incluso bajo ciertas condiciones a los ácidos grasos libres en plasma (127).

Existe un equilibrio de tipo dinámico, de modo que una pequeña fracción de moléculas permanece libre y es de importancia fisiológica considerable al ser la única capaz de atravesar las membranas biológicas. De este modo todas aquellas sustancias capaces de aumentar la relación de bilirrubina libre/bilirrubina unida a proteínas, como sulfonamidas o ácidos grasos no esterificados facilitan la difusión a hígado y otros tejidos, como cerebro o riñón (37). El incremento de la concentración de albúmina plasmática en ratas con hiperbilirrubinemia, origina una transferencia de bilirrubina desde diferentes tejidos a plasma.

2.4.3.2.- Captación hepática.

La estimación de la tasa de captación hepática puede realizarse por análisis de las curvas de desaparición plasmática (163). Utilizando este método, Scharschmid y col. (175) han indicado que la bilirrubina, bromosulfoftaleína y verde de indocianina desarrollan cinéticas de saturación y son mutuamente competitivas en ratas, pero no se encontraron pruebas de competencia entre los aniones mencionados y el glicocolato.

Los datos disponibles, en cualquier caso, indican

que la captación de aniones está mediada por un mecanismo de limitada capacidad que puede tomar materiales unidos a proteínas con gran eficiencia. No se sabe si el proceso es termodinámicamente activo o pasivo, pero los datos de que se dispone en bilirrubina, bromosulfoftaleína y verde de indocianina (175), apoyan la idea de que la captación se produce por difusión facilitada.

El ayuno puede originar situaciones de hiperbilirrubinemia por disminución de la tasa de captación hepática del pigmento. Esto ha sido demostrado por los estudios de Gronwall y col. (92), descartando el posible efecto del incremento en la producción de pigmento, ya que no hay variaciones en la excreción biliar cuando se alcanza el estado estacionario en plasma a las dos o tres horas de iniciado el ayuno.

Las sales biliares pueden influir sobre la captación hepática de aniones como se demuestra por los experimentos de captación in situ. Por ejemplo, la infusión simultánea de taurocolato y bilirrubina no altera los parámetros de la cinética individual de captación hepática, pero el ácido cólico o dehidrocólico (150), deprimen la captación hepática de bromosulfoftaleína (50). Ya que la inhibición de la captación de bromosulfoftaleína por taurocolato en hígado aislado parece ser no competitiva (179), la interacción probablemente no se realiza a nivel de un transportador de membrana.

En un estudio reciente, Gartner y col. (82) han observado que tras la administración en ratas de nafenopina

droga que produce hipertrofia e hiperplasia de los hepatocitos, se reduce significativamente la captación hepática de bromosulfoftaleína sin afectarse la bilirrubina, lo que podría indicar una cierta independencia de los mecanismos de captación entre estos aniones.

2.4.3.3.- Unión intracelular.

La unión intracelular de bilirrubina y otros aniones orgánicos se realiza por dos proteínas del citosol hepático: ligandina o proteína Y y proteína Z. La presencia de estas proteínas fué demostrada por Levi y col. (128) por ultracentrifugación de un homogenado de citosol hepático de rata mezclado con bilirrubina radiactiva y fraccionado por filtración a través de gel. En estas condiciones aparecían dos picos distintos y simétricos, de los cuales el predominante cuantitativamente corresponde a la ligandina.

La ligandina es un dímero idéntico a la glutatión S transferasa que cataliza la conjugación de la bromosulfoftaleína y otras serie de sustratos (95). Representa el 5% de las proteínas del citosol y está también presente en intestino delgado y riñón.

Aparte de su actividad catalítica específica, el papel fisiológico exacto de la ligandina es incierto. Podría facilitar específicamente la presentación de solutos a los enzimas conjugantes o sistemas de transporte canalicular (76). También tiene un papel protector, excluyendo de lugares donde pudieran resultar potencialmente tóxicos

ciertos materiales, por ejemplo in vitro protege la respiración mitocondrial del efecto depresor de la bilirrubina (114). Este efecto no es sin embargo específico ya que también lo ejerce la albúmina sérica,

En cualquier caso las funciones de la ligandina no parecen ser esenciales para el transporte hepático, ya que ciertos tipos de peces concentran la bromosulfoftaleína en bilis y su cantidad de ligandina es escasa o nula (32,33) La ligandina purificada se une a la bilirrubina peor que la albúmina, pero este fenómeno se revierte en el sobrenadante hepático, lo que sugiere que la purificación de la enzima se asocia a una cierta pérdida de especificidad (116).

Se ha llegado a sugerir un papel de la ligandina en la captación de la bilirrubina, en función de una serie de resultados experimentales. Así, pigmentos que compiten in vivo con la captación hepática de la bilirrubina, inhiben la unión a la ligandina in vitro. Por otra parte el fenobarbital aumenta la captación hepática de bilirrubina y la concentración de ligandina y en recién nacidos la concentración de ligandina aumenta simultáneamente a la captación de aniones orgánicos (76).

Una consideración importante es la relativa afinidad del pigmento por las proteínas de ambos compartimentos, albúmina en el exterior y ligandina en el interior. Se ha comprobado que la afinidad es mucho mayor para la albúmina (7) y por tanto la asociación a esta estaría más favorecida a no ser que la concentración de lugares de unión fuera mucho mayor en la ligandina. Todo esto lleva a supo-

ner que habitualmente existe un equilibrio dinámico muy delicado, siendo consistente con el hecho de que la bilirrubina se mueve bidireccionalmente entre plasma e hígado, con una tasa de eflujo que constituye una fracción sustancial del influjo. El coeficiente de eflujo varía inversamente con la concentración de ligandina y el aumento de la captación de bilirrubina en animales tratados con fenobarbital es debido a una disminución del eflujo a consecuencia de la unión intracelular de bilirrubina a ligandina (219).

2.4.3.4.- Conjugación.

Durante el transporte celular los aniones orgánicos destinados a la excreción biliar se conjugan típicamente con grupos polares como el ácido glucurónico o aminoácidos para su eficaz secreción en bilis. No se sabe si en general este hecho refleja una mayor afinidad del sistema de transporte excretor por las formas conjugadas o una tendencia de las formas menos polares a difundir fuera del árbol biliar. En el caso de la bromosulfoftaleína tanto la forma conjugada con glutatión como la no conjugada están concentradas en bilis y los estudios con conjugados demuestran que ambas formas compiten por el mismo transportador teniendo mayor afinidad la conjugada (76).

La bilirrubina en bilis normalmente se conjuga en un 98-99%, principalmente como glucurónido de bilirrubina (24). Se ha demostrado la existencia de otros conjugados pero parecen ser cuantitativamente minoritarios y de significación funcional desconocida.

El proceso se realiza por intermedio de una glucuronil transferasa microsomal que requiere ácido UDP glucurónico como cosustrato. Su importancia en la excreción de bilirrubina se ha inferido sobre todo de su ausencia en el síndrome de Crigler y Najjar (48) en el que existe una severa hiperbilirrubinemia debida interamente a la falta de glucuronil transferasa. Este síndrome tiene una gran similitud con un tipo de ratas mutantes denominadas Gunn en las que los individuos homocigóticos presentan desde el nacimiento hiperbilirrubinemia con ausencia total de actividad glucuronil transferásica (181). Los heterocigotos no son hiperbilirrubinémicos pero en ellos existe una reducción en la actividad de la enzima conjugante y el transporte máximo para la bilirrubina no conjugada está disminuido (165).

El monoglucurónido de bilirrubina puede excretarse directamente en bilis o convertirse en un segundo paso en diglucurónido de bilirrubina. Basándose en estudios de preparaciones de membrana, Jansen y col. (108) han postulado que este segundo paso estaría catalizado por una enzima transesterásica, localizada en la membrana canalicular del hepatocito. Si consideramos el hecho de que el monoglucurónido se excreta normalmente en bilis en pequeña proporción y que esta se incrementa en individuos con el síndrome de Gilbert o Crigler y Najjar (77,82), el sentido de la formación del diglucurónido plantea bastantes problemas. Por ejemplo, en ratas Gunn homocigóticas que carecen de actividad glucuroniltransferásica, la infusión intravenosa del glucurónido produce una excreción del mismo sin alterar (183).

La actividad de la glucuronil transferasa puede incrementarse por múltiples sustancias, especialmente fenobarbital, compuestos halogenados o clofibrato (111). También existen inhibidores exógenos como rifampicina o novobiocina y fundamentalmente endógenos como es el caso de los ácidos grasos o ciertos tipos de esteroides. Así, la ictericia prolongada de la leche materna se debe a un metabolito de la progesterona y la ictericia de Lucey Driscoll tendría un origen similar (5).

2.4.3.5.- Excreción canalicular.

La cinética de eliminación de la bilirrubina y otros aniones sugiere que el transporte biliar de los conjugados es el paso limitante en la secuencia entre plasma y bilis (18,10,115,120).

El sistema de transporte canalicular presenta competencia entre la bilirrubina, bromosulfoftaleína, porfirinas y diferentes agentes colecistográficos, pero no al parecer con las sales biliares. Esto fue puesto de manifiesto gracias al descubrimiento de la oveja mutante Corriedale que presenta alteraciones funcionales y morfológicas semejantes al síndrome de Dubin Johnson en el hombre (218). Estudiando la secreción biliar de distintos aniones orgánicos en ovejas mutantes y normales, se comprobó que la excreción biliar de bilirrubina, ácido iodopanoico o filloeritrinas estaba muy reducida en el mutante, mientras que la de taurocolato que es el anión orgánico prioritario en bilis de oveja no mostraba variaciones (24). Estos es-

tudios sugieren que las sales biliares serían excretadas por un mecanismo diferente al de la bilirrubina y otros aniones orgánicos. Así se podría explicar la observación de que bajo ciertas condiciones como el síndrome de Gilbert, la captación de bilirrubina esté disminuida siendo normal la de sales biliares (24).

A pesar de los fenómenos de competencia existentes entre la bilirrubina y otros aniones orgánicos se ha comprobado bajo diferentes situaciones experimentales y condiciones patológicas la posible existencia de varias vías de excreción diferentes. Así, en perros el tetracloruro de carbono deprime la excreción de bromosulfoftaleína en bilis sin afectar la de bilirrubina endógena (216). El tratamiento con esteroides anabólicos aumenta la retención de bromosulfoftaleína sin producir alteraciones en el metabolismo de la bilirrubina. A este respecto se ha llegado a proponer la existencia de un proceso excretor primario que sería común a bilirrubina y bromosulfoftaleína y de un segundo proceso excretor independiente que solo operaría en ciertas situaciones (44).

El sistema de transporte canalicular puede saturarse, habiéndose estudiado las tasas máximas de excreción en diferentes especies de aves y mamíferos. Los valores en pollo son de 1 $\mu\text{g}/100$ gr peso corporal.min. (131) y de un orden bastante más elevado en mamíferos con 17-24 $\mu\text{g}/100$ gr peso corporal.min. en mono (80), 15 $\mu\text{g}/100$ gr peso corporal.min. en cobaya (79), 45-70 $\mu\text{g}/100$ gr peso corporal.min. en ratas (6) y 47 $\mu\text{g}/100$ gr peso corporal.min. en ovejas (202).

Aunque se ha indicado la posible existencia de un efecto colerético por parte de la bilirrubina (189), la mayoría de los estudios dan excreciones asociadas a un mantenimiento o incluso disminución del flujo de bilis (80,26) que podría deberse al efecto tóxico de las altas concentraciones de bilirrubina existentes durante la excreción máxima (15).

En mamíferos virtualmente toda la bilirrubina en bilis está conjugada. En eslamobranquios se encuentra también bilirrubina no conjugada (32,33) que es aparentemente excretada sin previa conjugación ni hidrolisis. De todos modos pueden existir niveles significativos de bilirrubina no conjugada si se produce una inhibición de la glucuronil transferasa (20) o durante la fototerapia en ratas Gunn (147).

La excreción hepática de bilirrubina parece estar sometida a un control hipofisario y tiroideo, de modo que tanto la hipofisectomía como la tiroidectomía producen un marcado descenso en la excreción de bilirrubina conjugada sin afectar a la conjugación (81). El defecto se compensa tras la administración de hormona del crecimiento o hormonas tiroideas. Los mecanismos implicados en este control son desconocidos, aunque la influencia fundamental sería al parecer la ejercida por el tiroides, pudiendo actuar la hormona del crecimiento sinérgicamente (81).

Varias drogas y productos químicos pueden interferir selectivamente con la fase excretoria del transporte de bilirrubina a través del hígado. Así, Billing y col. (22)

administrando bunamiodol a ratas demostraron una excreción hepática reducida de bilirrubina conjugada. Hargreaves y Late han hecho observaciones similares con novobiocina y otros compuestos (100).

2.5.- RELACION ENTRE LA EXCRECION DE SALES Y PIGMENTOS BILIARES.

Existe una relación aparentemente compleja entre la excreción de sales biliares y el transporte canalicular de bilirrubina y otros aniones orgánicos. Numerosos estudios experimentales muestran que la infusión de sales biliares aumenta la tasa máxima de excreción biliar de bilirrubina (89), bromosulfoftaleína (49,145,166), ácido iopanoico (19, 142) y ampicilina (136).

El fenómeno puede explicarse por un incremento en la relación V_m/K_m del proceso de excreción biliar para el anión considerado. Este hecho, en principio, sería atribuible a la coleresis asociada a las sales biliares, que por dilución permitiría la excreción adicional de los aniones sin exceder un putativo máximo de excreción. Sin embargo, basándose en un análisis cinético del transporte de bromosulfoftaleína en la rata, Forker y Gibson (85) han sugerido que el efecto ejercido por las sales biliares tendría una escasa relación con el flujo biliar per se.

Esto ha sido corroborado por un gran número de trabajos experimentales. Erlinger y Dumont (66) y Barnhart y col. (13), han mostrado independientemente en el perro que mientras la teofilina incrementa el flujo de bilis, no afecta el transporte máximo de la bromosulfoftaleína. En esta situación en incremento de flujo se acompaña de un incremento en el aclaramiento de eritritol; si suponemos que bajo estas circunstancias los ductulos biliares son impermeables al eritritol, podemos inferir que la teofilina ha

disociado el flujo canalicular biliar de su íntima dependencia de la excreción de sales biliares y que consecuentemente los aumentos de flujo producidos por la infusión de taurocolato no son responsables per se del incremento en el transporte de bromosulfoftaleína.

Un fenómeno similar ha sido descrito en el hamster (23), en el que la infusión de dihidroxibutileter produce un aumento del flujo de bilis pero carece de efecto sobre la tasa máxima de excreción de la bromosulfoftaleína. El uso del agente SC2644 en ratas lleva a resultados análogos (85).

Algunos hechos sugieren que la asociación a micelas de las sales biliares incrementa la tasa máxima de excreción por secuestro. Por ejemplo, los experimentos in vitro de Scharschmidt y Schmid por filtración a través de membranas o ultracentrifugación muestran la unión a micelas mixtas de sales biliares, lecitinas y colesterol de diferentes aniones orgánicos como bilirrubina conjugada, bromosulfoftaleína y rosa de Bengala (176).

Otra prueba a favor de esta hipótesis es que el ácido dehidrocólico, no formador de micelas in vitro, a pesar de originar un incremento del flujo biliar disminuye el aclaramiento hepático de la bilirrubina en el hombre (25).

Por otra parte, un aumento en la tasa máxima de excreción no puede ser totalmente explicado por secuestro micelar. Así, Vonk y col. (207) han demostrado por ultracentrifugación una asociación de verde de indocianina, glu-

curónido de fenolftaleína y dibromosulfoftaleína con micelas de taurocolato y a pesar de esta asociación no se daba estimulación de la tasa máxima de excreción en el glucurónido de fenolftaleína. Además, no había sedimentación de los pigmentos con el dehidrocolato, que sin embargo estimulaba la excreción máxima de dibromosulfoftaleína y verde de indocianina, lo que indicaría que no existe paralelismo entre la asociación a micelas in vitro y el efecto de las sales biliares in vivo.

A este respecto en los experimentos de Scharschmidt y Schmid (176) se ha observado una asociación del azul de Evans a micelas a pesar de que este anión no se excreta en bilis. Además, el glicodihidrofusidato, que es un esteroide formador de micelas (42) excretable en bilis, incrementa la secreción lipídica biliar en el hamster y sin embargo no tiene efecto sobre la excreción máxima de bromosulfoftaleína (51).

Soloway y col. (193) han investigado en detalle la hipótesis de que el ácido dehidrocólico se excreta inalterado en bilis y han encontrado que en humanos el material original se secreta en parte como derivados conjugados que participan en la formación de micelas. Resultados semejantes han sido obtenidos por otros autores en diferentes especies con un grado de metabolización variable según los casos (62,99). Sin embargo, Binet y col. (23) han mostrado que en hamster el dehidrocolato o sus metabolitos presentan una escasa tendencia a estimular la secreción de lípidos biliares y a pesar de ello el efecto sobre la excreción máxima de bromosulfoftaleína es muy apreciable. Los

experimentos de Vonk y col. (207) sugieren que los metabolitos del dehidrocolato no sedimentan como micelas en el sistema de ultracentrifugación utilizado por estos autores.

Otra posibilidad para explicar el efecto ejercido por las sales biliares sería la de una interacción alostérica, efecto detergente o cotransporte que facilitase la transferencia del complejo con el transportador a través de la membrana.

Se ha observado que las sales biliares con actividad detergente más baja son los más potentes estimuladores de la excreción biliar de dibromosulfoftaleína (209) lo que se ha comprobado también en estudios con hepatocitos aislados (208). En cuanto a la interacción alostérica propuesta por Forker y Gibson (75), si fuera importante, sería difícil explicar que un flujo igual de sales biliares en bilis en infusiones con taurocolato o dehidrocolato llevara a efectos tan diferentes como se han observado en la excreción biliar de bromosulfoftaleína (209). Aunque no puede descartarse que la facilitación de la disociación del transportador en el canalículo juegue un papel, si consideramos que el transporte canalicular es activo en un sentido clásico, cabría esperar que no se afectara por la concentración canalicular.

El problema de reconciliar estas observaciones es más complicado aún si se considera que en ciertas circunstancias bilirrubina y otros aniones pueden inhibir la excreción de sales biliares o viceversa (8,25). En ratas,

el efecto del taurocolato sobre la relación entre bromosulfoftaleína libre y su tasa de excreción biliar es aumentar la V_m y K_m aparentes, sugiriendo que además de la aceleración del transporte de bromosulfoftaleína el taurocolato tiene un efecto inhibitor (75).

Cornelius y col. (47) han puesto de manifiesto que la unión de bromosulfoftaleína a membranas de hígado de rata se inhibe competitivamente por algunos aniones orgánicos pero no por taurocolato o bilirrubina y más recientemente se ha observado en la misma especie una inhibición de la unión del taurocolato por la bromosulfoftaleína pero no por el verde de indocianina (1). Es pues importante recalcar que no es posible una generalización en todos los casos de los efectos sobre los distintos tipos de aniones orgánicos.

- MATERIAL Y METODO -

3.1.- ANIMALES.

Para la realización de este trabajo se han empleado un total de 66 conejos, *Oryctolagus cuniculus*, de raza castellana, de ambos sexos y peso comprendido entre 1,7 y 2,3 kilogramos, procedentes del Servicio de Animales de Laboratorio de la Universidad de Granada.

3.2.- PROCEDIMIENTO QUIRURGICO.

3.2.1.- Preoperatorio.

La alimentación básica consistió en un pienso comercial para conejos. El período de ayuno previo a la intervención se estandarizó retirando el pienso veinticuatro horas antes, aunque siempre se dejó libre acceso al agua.

3.2.2.- Operatorio.

Los animales fueron anestesiados por vía endovenosa a través de una cánula plástica (Braúnula Nr 0) situada en la vena marginal de la oreja.

Como inductor de la anestesia se empleó benzodiazepina (Valium NR) a dosis de 0,25 mg/Kg peso corporal. La anestesia se llevó a cabo con pentobarbital sódico (Nembutal NR) a dosis de 20 mg/Kg peso corporal, controlando su profundidad mediante los reflejos plantar y óculo-parpebral.

Una vez anestesiado, el animal se fijaba en la me-

sa de quirófano, provista de una manta eléctrica para mantener constante la temperatura corporal. Después del pelado y afeitado del campo operatorio se iniciaba la operación propiamente dicha. En primer lugar se realizaba la disección de vena y arteria femoral, introduciéndose en ellas dos catéteres que se llevaban hasta vena cava posterior y aorta abdominal respectivamente. El cateter situado en la vena femoral se utilizó para la administración de las diferentes infusiones; en aquellos casos en que se realizaban infusiones simultáneas se procedía a cateterizar la vena femoral de la otra pata. El cateter de la arteria femoral se empleó para la toma de muestras de sangre y registro de presión arterial.

En todos los animales se practicaba traqueotomía de rutina, aunque no fué necesaria en ningún caso la respiración artificial.

Trás laparotomía ventral media se disecaba el colédoco con extrema precaución dada la proximidad de pequeños vasos sanguíneos y trás realizar una incisión en pico de flauta a unos diez milímetros de la entrada en duodeno se introducía una cánula de polivinilo.

El conducto cístico era ligado para exclusión de la vesícula biliar, realizándose también una ligadura a nivel de piloro procurando respetar la irrigación de la zona. En todos los casos se procedía a la canulación de la vejiga de la orina y en los experimentos con reingreso de bilis al duodeno se introducía una cánula a unos cinco centímetros del esfinter pilórico.

3.3.- MECANICA DE LOS EXPERIMENTOS.

Trás un período de equilibrio de unos treinta minutos se iniciaba la recogida de muestras de bilis a intervalos de veinte minutos en tubos previamente tarados que eran inmediatamente pesados para la determinación del flujo de bilis.

Tanto las cánulas como los tubos permanecían durante todo el curso de los experimentos protegidos de la luz por una envoltura de aluminio para evitar la fotodescomposición de los pigmentos biliares (146). Los tubos asimismo se mantenían en un baño de hielo.

Las muestras eran rápidamente congeladas a -4°C y el análisis de pigmentos biliares se realizaba dentro de las veinticuatro horas posteriores.

Durante todo el curso de los experimentos la temperatura se mantuvo a un nivel constante entre 38 y 39°C .

3.4.- SISTEMAS DE REGISTRO E INFUSION.

Para el registro de presión arterial se utilizó un polígrafo (Harvard Packar) de cuatro canales. A uno de ellos se conectó un transductor para presión unido a su vez a la cánula de la arteria femoral. Las conexiones se realizaron con tubos de polivinilo escasamente deformables y todo el circuito se mantenía lleno de una solución anticoagulante (heparina al 0,04%).

Para la infusión de las sustancias a ensayar se utilizó una bomba peristáltica (Peristaltic Pump, model 603) de seis canales con tubos siliconados a los que se conectaron dos tubos de polivinilo. El extremo de uno de ellos se introducía en el matraz con la sustancia a ensayar y el otro se conectaba al cateter de la vena femoral. La velocidad de infusión se seleccionó por una escala incorporada a la bomba que fijaba las revoluciones por minuto; para más seguridad y exactitud los tubos fueron previamente calibrados a diferentes velocidades.

3.5.- INFUSIONES.

3.5.1.- Pigmentos biliares.

Soluciones acuosas de biliverdina y bilirrubina (Sigma) preparadas el mismo día del estudio por disolución en agua destilada alcalinizada con unas gotas de NaOH, a pH 8. Las soluciones se mantuvieron protegidas de la luz durante todo el período de infusión.

3.5.2.- Sales biliares.

Se utilizaron glicodeoxicolato sódico, taurocolato sódico y dehidrocolato sódico (Sigma). Las soluciones se preparaban en cloruro sódico 0,9% y tampón fosfato 0,1M añadiendo un 4% de albúmina bovina (Fraction V. Sigma) para evitar posibles efectos hemolíticos.

3.6.- CONTROL POSTMORTEM.

Una vez finalizados los ensayos, los animales eran sacrificados por exanguinación a través de la vena femoral y se aislaba hígado y vena porta. Tras colocar en esta última un cateter, se lavaba con solución salina para eliminar toda la sangre secuestrada y se realizaba una fijación de fragmentos de hígado para su ulterior estudio histológico. Las células hepáticas aparecieron generalmente con aspecto normal, aunque el citoplasma a veces se presentaba escasamente teñido y granular. Los canalículos ocasionalmente dilatados.

3.7.- METODOS ANALITICOS.

3.7.1.- Determinación de bilirrubina.

Por el método colorimétrico de Malloy y Evelyn (135). Las determinaciones se realizaron tanto en bilis como suero.

3.7.2.- Determinación de biliverdina.

Por el método colorimétrico de Larson y col.(124) también en bilis y suero.

3.7.3.- Determinación de sales biliares.

Dado que en el conejo el glicodeoxicolato sódico supone más del 90% de las sales biliares presentes en bilis, hemos determinado deoxicolato por el método de Levin y col. (129) considerandolo equivalente a sales biliares totales.

En los casos en que se realizaron infusiones de taurocolato sódico, se determinaron colatos por el método de Irvin y col. (107).

En las infusiones de dehidrocolato sódico, este se determinó por el método de Bartos (16), específico para 3-ceto esteroides.

Previamente a la determinación de las sales biliares se realizó una eliminación de los pigmentos y lípidos biliares (129).

3.7.4.- Determinación de lípidos.

Se determinaron lípidos totales (102) en un extracto lipídico biliar obtenido por el método de Folch (73).

3.7.5.- Determinación de cloruro.

Por volumetría potenciométrica con nitrato de plata 0,01 N previamente valorado, empleando un electrodo de plata Radiometer P-4011 y otro de sulfato mercurioso Radiometer K-601, conectados a un potenciómetro Radiometer pH-METER-26. La reacción en medio sulfúrico (1,5 N).

3.7.6.- Determinación de sodio y potasio.

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

3.7.7.- Osmolaridad.

Por descenso del punto de congelación en un osmómetro automático "OSMETTE S." Precision Systems Inc.

3.8.- TRATAMIENTO ESTADISTICO

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

3.9.- DISEÑO EXPERIMENTAL.

3.9.1.- Excreción de pigmentos biliares en condiciones de reposo.

3.9.1.1.- Con reingreso de bilis al duodeno (circulación enterohepática mantenida). (B).

3.9.1.2.- Sin reingreso de bilis al duodeno (circulación enterohepática interrumpida). (BI).

3.9.2.- Excreción de pigmentos biliares durante la infusión endovenosa de biliverdina.

3.9.2.1.- Infusión de biliverdina a dosis de 0,04 mg/Kg peso corporal/min. (BV1).

3.9.2.2.- Infusión de biliverdina a dosis de 0,08 mg/Kg peso corporal/min. (BV2).

3.9.2.3.- Infusión de biliverdina a dosis de 0,45 mg/Kg peso corporal/min. (BV3).

3.9.2.4.- Infusión de biliverdina a dosis de 0,60 mg/Kg peso corporal/min. (BV4).

3.9.3.- Excreción de pigmentos biliares durante la infusión endovenosa de bilirrubina.

3.9.3.1.- Infusión de bilirrubina a dosis de 0,04 mg/Kg peso corporal/min. (BR1).

3.9.3.2.- Infusión de bilirrubina a dosis de 0,08 mg/Kg

peso corporal/min. (BR2).

3.9.3.3.- Infusión de bilirrubina a dosis de 0,45 mg/Kg peso corporal/min. (BR3).

3.9.3.4.- Infusión de bilirrubina a dosis de 0,60 mg/Kg peso corporal/min. (BR4).

3.9.4.- Efecto de la infusión endovenosa de diferentes sales biliares sobre la excreción de pigmentos biliares.

3.9.4.1.- En condiciones de reposo.

3.9.4.1.1.- Infusión de glicodeoxicolato sódico a dosis crecientes de 0,25 - 0,50 - 0,75 y 1,00 mg/Kg peso corporal/min. (SB1).

3.9.4.1.2.- Infusión de taurocolato sódico a dosis crecientes de 0,25 - 0,50 - 0,75 y 1,00 mg/Kg peso corporal/min. (SB2).

3.9.4.1.3.- Infusión de dehidrocolato sódico a dosis crecientes de 0,25 - 0,50 - 0,75 y 1,00 mg/Kg peso corporal /min. (SB3).

3.9.4.2.- En condiciones de excreción máxima de bilirrubina.

3.9.4.2.1.- Infusión de bilirrubina a dosis de 0,60 mg/Kg peso corporal/min. y glicodeoxicolato

sódico a dosis de 0,85 mg/Kg peso corporal/
min. (BRS1).

3.9.4.2.2.- Infusión de bilirrubina a dosis de 0,60 mg/
Kg peso corporal/min. y taurocolato sódico
a dosis de 0,85 mg/Kg peso corporal/min.
(BRS2).

3.9.4.2.3.- Infusión de bilirrubina a dosis de 0,60 mg/
Kg peso corporal/min. y dehidrocolato sódico
a dosis de 0,85 mg/Kg peso corporal/min.
(BRS3).



- RESULTADOS -

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

ABREVIATURAS UTILIZADAS

- m - muestra.
- Br - bilirrubina.
- Bv - biliverdina.
- SB - sales biliares.
- Cl - cloruro.
- Na - sodio.
- K - potasio.
- LT - lípidos totales.

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

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	ul/Kg/min.	mg/100ml			mEq/l			mg/100ml
1	92,6± 6,2	5,6±0,8	7,5±0,5	5,2±0,6	88±2	149± 7	3,0±0,2	34±1
2	94,8± 8,1	5,1±0,8	7,2±1,0	4,8±0,5	86±3	162± 5	3,3±0,1	31±2
3	90,3± 7,8	5,2±0,7	7,4±0,8	4,7±0,4	89±2	158± 6	3,3±0,1	32±2
4	97,8± 7,9	4,9±0,7	6,0±0,4	4,3±0,4	89±4	155± 3	2,7±0,5	33±4
5	96,3±10,4	4,5±0,8	5,1±0,5	3,9±0,5	90±5	151± 8	3,4±0,3	34±3
6	91,0± 9,0	3,7±0,6	5,0±0,4	4,0±0,4	95±2	164± 6	3,7±0,3	34±3
7	93,0± 8,6	3,7±0,5	5,2±0,3	3,8±0,4	96±3	149± 8	3,4±0,4	36±4
8	87,0± 8,0	3,5± 0,5	5,3±0,5	4,2±0,4	90±3	153± 5	3,3±0,4	33±3
9	94,6±10,8	3,3±0,6	4,7±0,5	3,9±0,4	93±4	152±10	3,7±0,4	33±2
10	79,5±11,8	3,1±0,6	5,1±0,7	4,5±0,4	94±3	137± 5	3,3±0,5	32±1
11	90,3±10,4	3,5±0,7	4,8±0,5	4,5±0,4	95±2	147± 7	3,3±0,4	30±1
12	109,3±14,3	3,9±0,9	5,0±0,4	4,6±0,2	96±3	152± 6	3,4±0,4	32±3
13	84,7± 9,2	3,0±0,8	4,9±0,2	4,3±0,2	94±3	143±10	3,4±0,4	30±1
14	84,0± 7,9	3,1±0,6	4,9±0,4	4,4±0,4	91±3	143±10	3,5±0,5	32±2
15	83,8±7,7	3,1±0,6	4,7±0,4	4,2±0,2	92±3	143± 8	3,4±0,3	29±1

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μg/Kg/min.			μEq/Kg/min.			μg/Kg/min.
1	5,2±0,7	6,9±0,7	0,48±0,07	8,2±0,5	13,8±1,4	0,28±0,02	31,5±2,6
2	4,8±0,6	6,9±1,1	0,45±0,07	8,2±0,8	15,4±1,6	0,31±0,03	29,9±1,5
3	4,5±0,4	6,6±0,8	0,42±0,05	8,1±0,7	14,9±2,1	0,29±0,02	28,6±2,6
4	4,7±0,5	5,9±0,5	0,42±0,05	8,8±0,8	15,1±1,0	0,31±0,02	31,9±3,3
5	4,1±0,4	5,1±0,7	0,38±0,06	8,9±1,1	14,7±2,3	0,34±0,07	33,0±5,4
6	3,5±0,3	4,5±0,5	0,37±0,06	8,7±0,9	15,0±1,9	0,34±0,06	30,8±3,8
7	3,7±0,3	4,9±0,6	0,36±0,06	8,0±1,0	14,1±2,0	0,33±0,07	32,3±2,4
8	2,8±0,2	4,6±0,6	0,40±0,07	8,0±0,6	13,8±1,5	0,33±0,06	28,7±3,4
9	2,9±0,2	4,7±0,9	0,36±0,04	8,8±1,3	13,3±2,5	0,36±0,05	30,5±2,7
10	2,2±0,2	3,9±0,6	0,34±0,04	7,4±1,0	10,8±1,6	0,27±0,06	27,9±3,4
11	2,8±0,2	4,4±0,7	0,40±0,04	8,8±0,8	12,2±2,1	0,31±0,06	26,2±4,6
12	3,1±0,4	4,5±0,6	0,40±0,04	8,2±0,9	13,6±2,2	0,30±0,04	27,1±4,1
13	2,5±0,3	4,2±0,5	0,36±0,03	7,9±0,7	12,2±1,6	0,29±0,04	26,3±3,7
14	2,5±0,3	4,2±0,6	0,36±0,03	8,1±0,7	12,1±1,5	0,30±0,05	26,5±3,6
15	2,5±0,3	4,0±0,5	0,35±0,02	7,7±0,6	12,5±1,4	0,28±0,04	24,0±2,0

Producción

N = 5

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

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μl/Kg/min.	mg/100ml			mEq/l			mg/100ml
1	94,2±12,8	7,1±1,2	8,3±1,2	5,0±0,6	91±2	155±3	4,1±0,3	33±1
2	87,2±7,6	5,9±1,0	6,5±1,3	4,7±0,5	95±2	160±3	4,2±0,3	30±2
3	76,5±8,9	5,4±0,7	6,1±1,2	4,8±0,7	96±2	158±4	4,2±0,2	29±2
4	73,4±6,7	4,8±0,7	5,9±1,3	4,5±0,9	99±2	160±8	4,0±0,4	32±2
5	73,2±6,4	4,4±0,7	5,6±1,3	4,6±0,8	93±3	153±3	4,1±0,3	33±2
6	70,4±8,4	3,8±0,6	5,4±1,3	4,6±0,8	95±3	157±5	4,0±0,3	33±2
7	67,6±5,2	3,2±0,4	5,4±1,5	4,5±0,9	94±3	149±5	3,8±0,2	30±1
8	63,3±5,6	3,4±0,5	4,8±1,2	4,5±0,9	94±3	155±6	4,0±0,2	31±2
9	56,1±6,7	3,6±0,4	4,9±1,2	4,2±0,8	90±2	155±7	4,2±0,2	30±3
10	61,8±6,7	3,2±0,5	5,1±1,3	4,0±0,6	92±3	142±7	4,0±0,4	30±2
11	52,4±6,2	3,5±0,6	5,5±2,2	3,7±0,7	93±2	152±6	4,3±0,2	30±3
12	48,7±3,6	3,6±0,6	5,5±1,5	3,6±0,6	93±2	152±7	4,4±0,1	29±2
13	48,8±3,3	3,3±0,6	5,8±1,3	3,6±0,6	90±3	151±5	4,2±0,2	27±1
14	44,8±3,5	3,3±0,6	5,7±1,7	4,0±0,7	90±4	144±5	4,5±0,3	31±2
15	42,0±5,2	3,3±0,6	5,5±1,5	3,9±0,7	92±4	153±5	4,5±0,4	27±2

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μg/Kg/min.			μEq/Kg/min.			μg/Kg/min.
1	6,5±1,4	7,4±0,7	0,48±0,09	9,2±1,1	14,8±2,2	0,40±0,08	31,1±4,2
2	5,2±0,7	5,5±0,6	0,41±0,06	8,3±0,7	14,0±1,4	0,38±0,05	26,3±2,7
3	4,1±0,7	4,3±0,5	0,37±0,06	7,5±0,8	10,9±2,2	0,32±0,05	22,4±2,9
4	3,5±0,5	4,3±0,7	0,33±0,07	6,0±1,6	11,9±2,2	0,30±0,05	23,6±3,0
5	3,2±0,6	3,8±0,8	0,32±0,06	6,6±0,6	10,9±1,1	0,29±0,04	23,5±3,5
6	2,8±0,6	3,6±0,7	0,32±0,06	6,7±0,9	11,2±1,7	0,29±0,06	23,6±4,1
7	2,6±0,4	3,6±0,9	0,30±0,06	6,4±0,5	10,0±1,3	0,26±0,03	20,6±2,2
8	2,2±0,4	3,1±0,9	0,29±0,06	6,0±0,6	10,0±1,1	0,27±0,04	20,0±2,2
9	2,2±0,5	2,8±0,8	0,24±0,05	5,0±0,6	8,6±1,0	0,24±0,04	16,6±2,4
10	2,0±0,4	3,1±0,9	0,24±0,04	5,8±0,7	8,7±1,1	0,23±0,03	18,1±1,1
11	1,9±0,4	3,0±0,9	0,20±0,09	4,9±0,6	7,9±2,2	0,23±0,03	15,4±2,2
12	1,9±0,4	2,8±0,9	0,17±0,03	4,5±0,4	7,4±0,5	0,21±0,02	14,0±1,1
13	1,6±0,3	2,8±0,7	0,17±0,03	4,4±0,4	7,5±0,6	0,21±0,02	13,2±0,8
14	1,5±0,3	2,5±0,7	0,18±0,03	4,1±0,5	6,5±0,7	0,21±0,03	13,8±2,2
15	1,5±0,3	2,3±0,5	0,17±0,03	4,1±0,5	6,8±0,7	0,20±0,03	12,0±1,4

Producción

N = 5

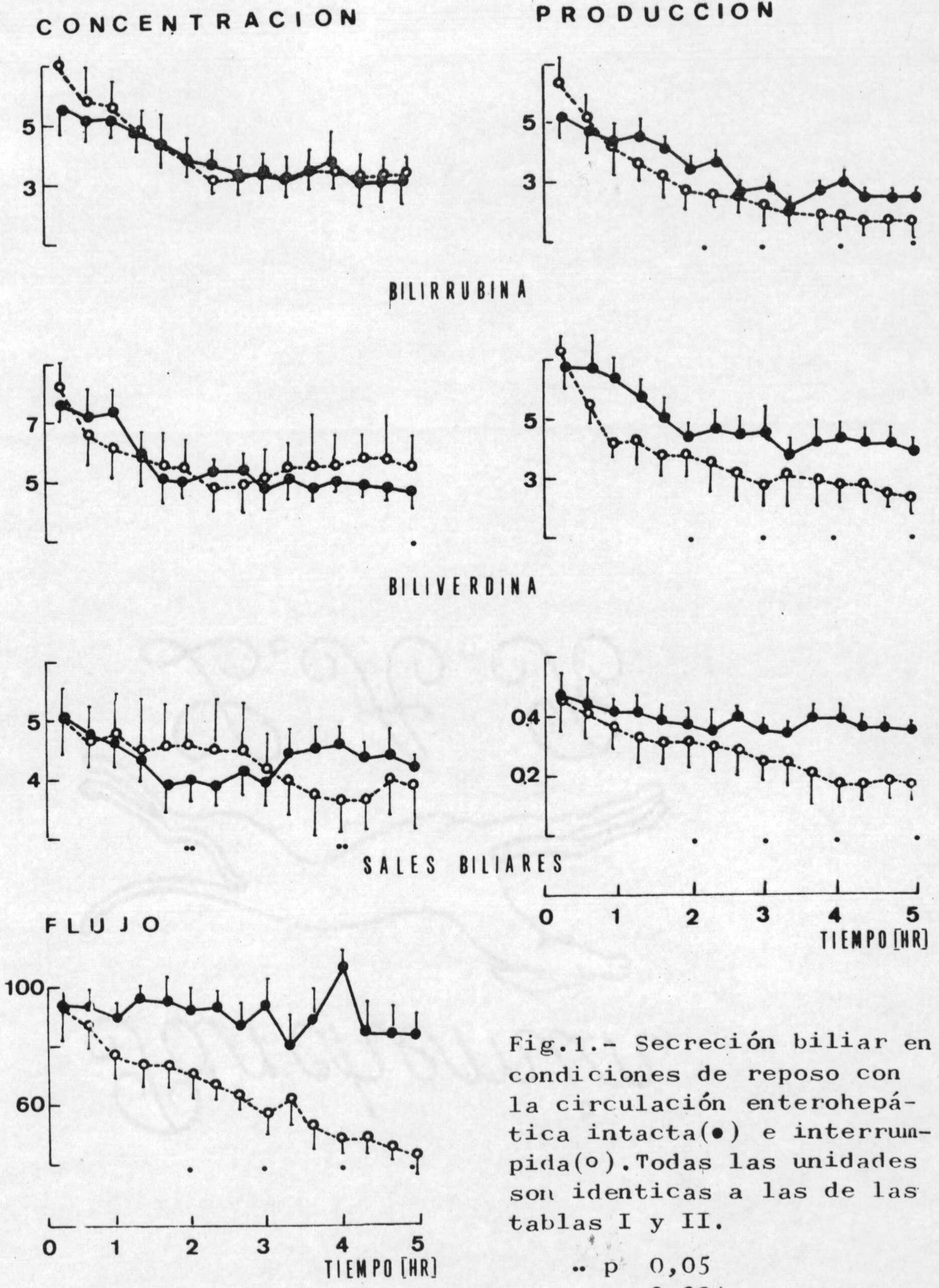
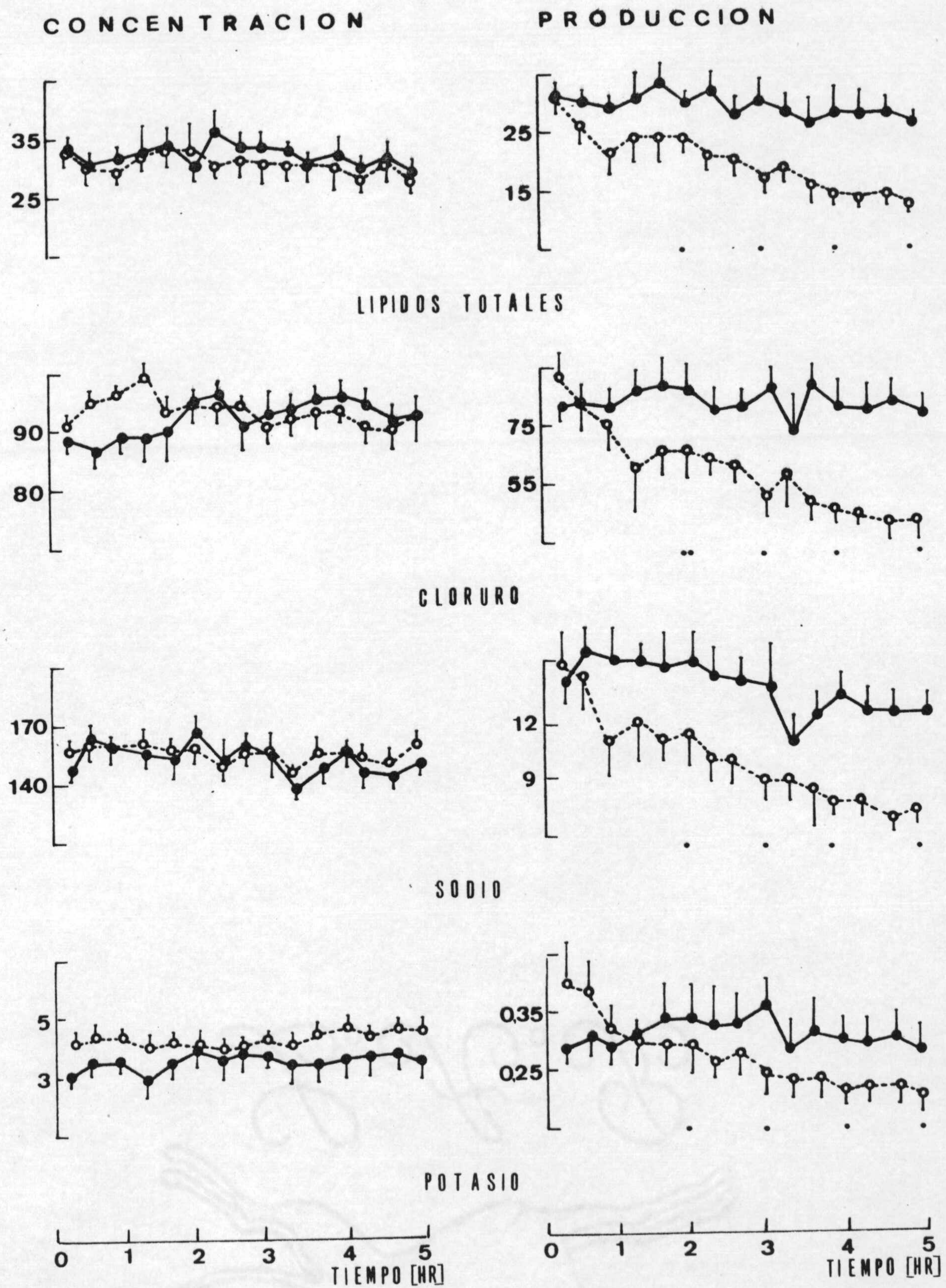


Fig.1.- Secreción biliar en condiciones de reposo con la circulación enterohepática intacta(●) e interrumpida(o). Todas las unidades son idénticas a las de las tablas I y II.

.. p 0,05
 • p 0,001

N₁ = 5 N₂ = 5



N₁ = 5 N₂ = 5

Fig. 1.- Continuación.

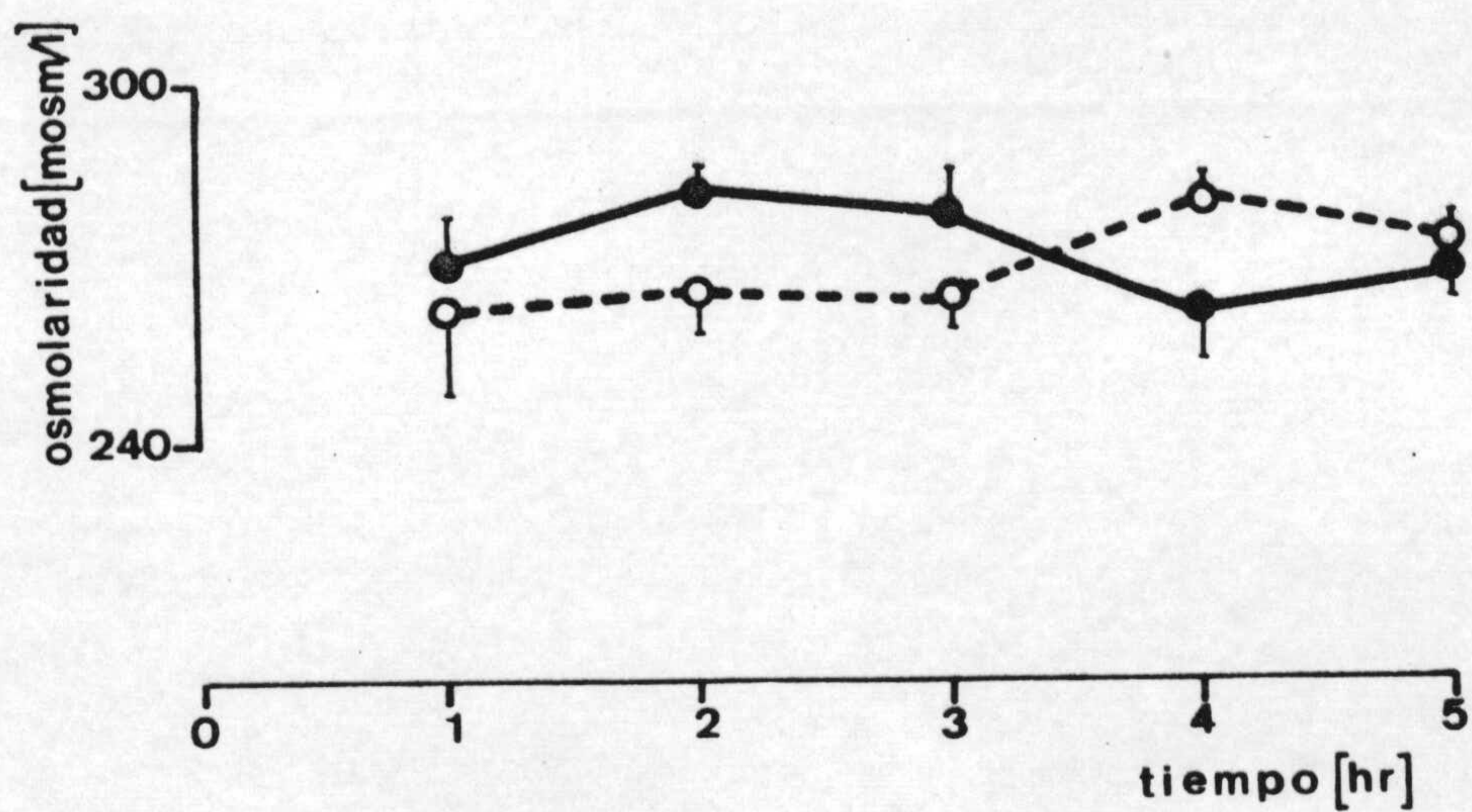


Fig.2.- Osmolaridad de la bilis en condiciones de reposo con circulación enterohepática intacta (●) e interrumpida (○).

Tabla III.- Experimentos del tipo BV1.- Infusión de biliverdina a dosis de 0,04 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ l/Kg/min.	mg/100ml			mEq/l			mg/100ml
1	97,0 \pm 11,3	4,9 \pm 1,1	4,9 \pm 1,0	5,6 \pm 0,8	86 \pm 3	161 \pm 1	3,9 \pm 0,4	35 \pm 2
2	94,0 \pm 3,9	4,5 \pm 0,9	5,2 \pm 0,8	5,7 \pm 0,8	87 \pm 3	151 \pm 11	3,8 \pm 0,7	33 \pm 1
3	85,3 \pm 3,2	4,0 \pm 0,7	4,7 \pm 1,0	5,3 \pm 0,5	87 \pm 4	147 \pm 12	4,0 \pm 0,5	31 \pm 3
4	79,7 \pm 2,5	5,9 \pm 1,0	10,4 \pm 3,6	5,3 \pm 0,5	87 \pm 3	171 \pm 7	4,7 \pm 0,2	35 \pm ?
5	76,9 \pm 3,1	10,4 \pm 1,1	27,8 \pm 5,7	5,1 \pm 0,4	90 \pm 2	165 \pm 4	4,4 \pm 0,3	35 \pm 3
6	70,3 \pm 3,6	12,9 \pm 1,3	35,8 \pm 4,7	4,8 \pm 0,6	93 \pm 2	171 \pm 10	4,7 \pm 0,1	34 \pm 4
7	67,4 \pm 4,1	15,5 \pm 2,0	37,6 \pm 5,7	5,1 \pm 0,4	89 \pm 3	162 \pm 2	4,8 \pm 0,3	37 \pm 5
8	65,9 \pm 2,1	14,0 \pm 1,9	35,2 \pm 4,1	4,7 \pm 0,3	85 \pm 2	163 \pm 1	4,9 \pm 0,3	37 \pm 4
9	62,1 \pm 3,5	15,0 \pm 1,8	41,0 \pm 4,0	4,9 \pm 0,4	87 \pm 3	169 \pm 10	5,0 \pm 0,2	34 \pm 3

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ g/Kg/min.	μ Eq/Kg/min.			μ g/Kg/min.		
1	4,4 \pm 0,6	4,7 \pm 1,1	0,52 \pm 0,03	8,4 \pm 1,1	15,6 \pm 1,9	0,39 \pm 0,08	33,8 \pm 4,9
2	4,1 \pm 0,7	4,8 \pm 0,7	0,53 \pm 0,07	8,2 \pm 0,4	14,3 \pm 1,9	0,36 \pm 0,07	30,4 \pm 2,4
3	3,3 \pm 0,6	4,0 \pm 0,8	0,46 \pm 0,05	7,4 \pm 0,3	12,5 \pm 1,1	0,35 \pm 0,04	25,9 \pm 2,1
4	4,6 \pm 0,7	7,4 \pm 2,6	0,42 \pm 0,04	7,0 \pm 0,4	13,6 \pm 0,9	0,37 \pm 0,02	27,3 \pm 1,3
5	8,0 \pm 1,1	20,9 \pm 3,6	0,39 \pm 0,04	6,9 \pm 0,4	12,6 \pm 0,5	0,34 \pm 0,02	26,8 \pm 3,4
6	9,1 \pm 1,0	24,9 \pm 3,0	0,37 \pm 0,04	6,5 \pm 0,4	12,0 \pm 1,0	0,33 \pm 0,01	24,1 \pm 3,0
7	9,9 \pm 1,5	23,3 \pm 2,7	0,37 \pm 0,04	5,4 \pm 0,3	10,3 \pm 0,6	0,32 \pm 0,01	23,5 \pm 3,9
8	9,3 \pm 1,5	23,1 \pm 2,5	0,36 \pm 0,05	5,6 \pm 0,2	10,8 \pm 0,3	0,32 \pm 0,01	24,5 \pm 2,3
9	9,4 \pm 1,2	25,4 \pm 2,1	0,35 \pm 0,04	5,5 \pm 0,4	10,5 \pm 1,0	0,31 \pm 0,02	20,8 \pm 2,0

Producción

N = 4

→ Infusión de biliverdina. Muestras 4 a 9.

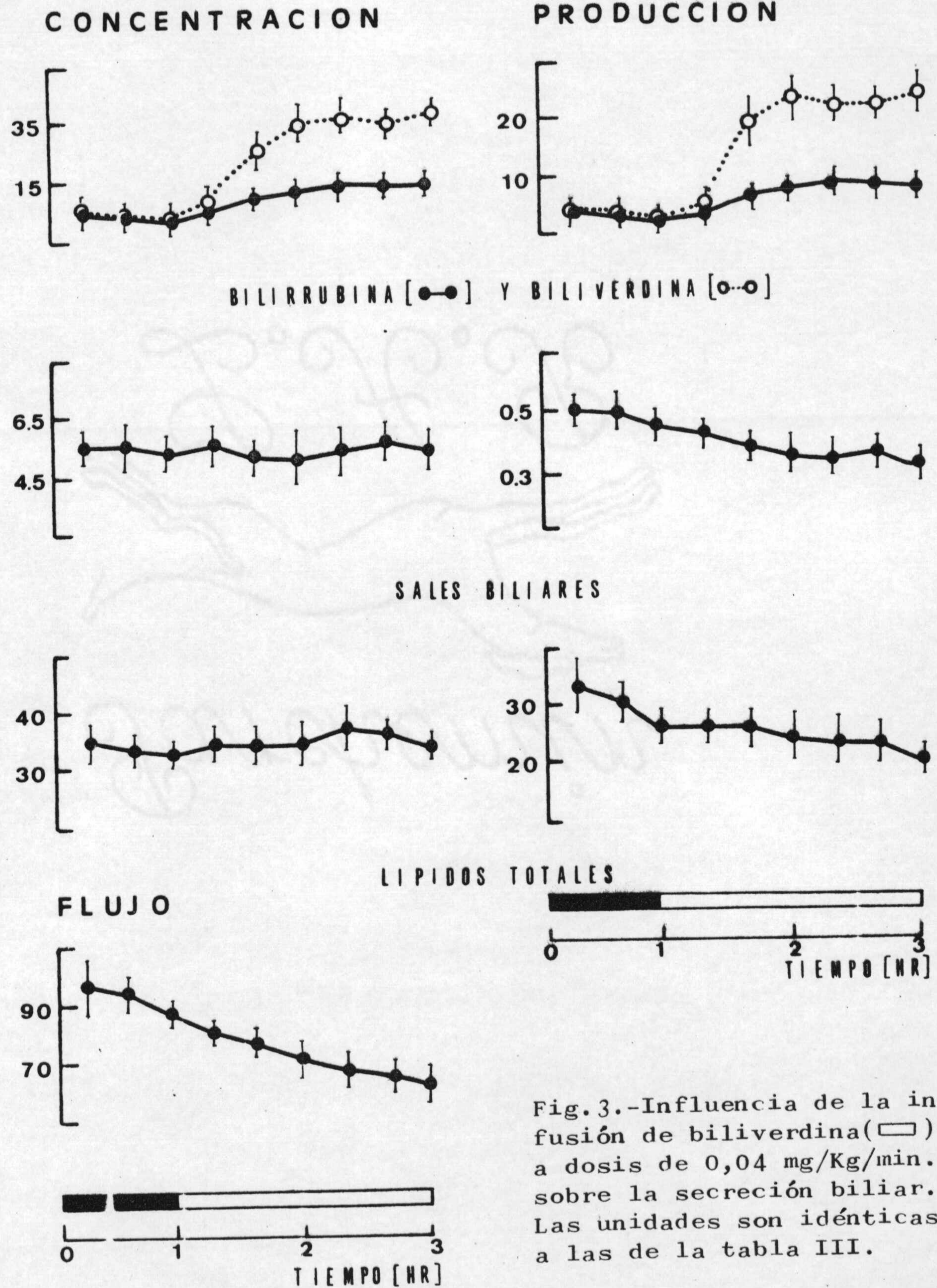


Fig.3.-Influencia de la infusión de biliverdina(□) a dosis de 0,04 mg/Kg/min. sobre la secreción biliar. Las unidades son idénticas a las de la tabla III.

Tabla IV.- Experimentos del tipo BV2. Infusión de biliverdina a dosis de 0,08 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ l/Kg/min.	mg/100ml		mEq/l			mg/100ml	
1	93,0 \pm 7,6	6,5 \pm 1,3	10,9 \pm 3,0	5,5 \pm 0,9	85 \pm 2	138 \pm 9	3,1 \pm 0,4	31 \pm 1
2	91,3 \pm 9,7	6,1 \pm 1,6	8,6 \pm 2,4	5,2 \pm 0,6	92 \pm 2	151 \pm 10	3,4 \pm 0,5	30 \pm 1
3	85,1 \pm 7,2	5,4 \pm 1,7	7,7 \pm 2,1	5,0 \pm 0,9	91 \pm 1	154 \pm 8	3,2 \pm 0,4	31 \pm 2
4	86,4 \pm 9,7	6,9 \pm 1,8	18,3 \pm 4,1	4,5 \pm 0,4	93 \pm 3	145 \pm 8	3,0 \pm 0,4	26 \pm 3
5	80,7 \pm 8,7	13,3 \pm 2,8	49,6 \pm 6,8	3,9 \pm 0,4	92 \pm 5	147 \pm 13	3,2 \pm 0,4	27 \pm 2
6	70,4 \pm 6,2	15,9 \pm 2,9	62,2 \pm 6,1	4,2 \pm 1,0	87 \pm 3	152 \pm 4	3,5 \pm 0,3	26 \pm 3
7	67,3 \pm 7,4	17,1 \pm 3,0	63,2 \pm 6,1	3,9 \pm 0,9	89 \pm 3	158 \pm 6	3,6 \pm 0,4	27 \pm 4
8	66,0 \pm 7,8	17,0 \pm 3,2	64,1 \pm 5,5	4,0 \pm 0,9	88 \pm 1	149 \pm 2	3,4 \pm 0,3	26 \pm 3
9	61,9 \pm 5,5	17,9 \pm 4,3	66,7 \pm 6,4	3,8 \pm 0,8	86 \pm 2	155 \pm 3	3,4 \pm 0,2	26 \pm 3

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ g/Kg/min.		μ Eq/Kg/min.			μ g/Kg/min.	
1	5,7 \pm 1,0	9,5 \pm 1,8	0,50 \pm 0,08	7,9 \pm 0,5	12,9 \pm 1,5	0,29 \pm 0,04	29,9 \pm 2,3
2	5,1 \pm 0,9	7,2 \pm 1,4	0,47 \pm 0,08	8,3 \pm 0,7	13,9 \pm 2,1	0,32 \pm 0,07	27,3 \pm 2,0
3	4,2 \pm 1,2	6,2 \pm 1,5	0,42 \pm 0,07	8,0 \pm 0,6	13,1 \pm 1,3	0,28 \pm 0,04	28,1 \pm 2,0
4	5,5 \pm 1,0	15,4 \pm 3,3	0,38 \pm 0,04	8,0 \pm 1,0	12,4 \pm 1,9	0,25 \pm 0,03	21,8 \pm 0,9
5	10,0 \pm 1,5	38,4 \pm 0,8	0,32 \pm 0,05	7,4 \pm 0,7	11,9 \pm 0,7	0,25 \pm 0,03	21,5 \pm 1,6
6	10,7 \pm 1,3	42,8 \pm 2,4	0,30 \pm 0,07	6,1 \pm 0,3	10,6 \pm 1,0	0,25 \pm 0,03	18,0 \pm 2,9
7	10,9 \pm 1,1	41,3 \pm 2,1	0,27 \pm 0,07	5,9 \pm 0,5	10,7 \pm 1,0	0,24 \pm 0,03	17,8 \pm 3,3
8	11,5 \pm 1,2	41,0 \pm 1,5	0,27 \pm 0,07	5,8 \pm 0,6	9,8 \pm 1,2	0,22 \pm 0,03	17,5 \pm 4,0
9	11,5 \pm 2,0	40,3 \pm 1,5	0,24 \pm 0,06	5,3 \pm 0,4	9,5 \pm 0,9	0,21 \pm 0,03	15,8 \pm 2,3

Producción

N = 4

→ Infusión de biliverdina. Muestras 4 a 9.

Tabla V.- Experimentos del tipo BV3. Infusión de biliverdina a dosis de 0,45 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ l/Kg/min.	mg/100ml		mEq/l			mg/100ml	
1	105,0 \pm 19,8	6,8 \pm 2,6	11,5 \pm 1,9	4,5 \pm 0,4	86 \pm 5	155 \pm 7	3,6 \pm 0,2	30 \pm 3
2	102,5 \pm 18,8	5,8 \pm 2,4	8,5 \pm 1,9	4,1 \pm 0,4	93 \pm 6	146 \pm 7	4,1 \pm 0,2	32 \pm 1
3	97,8 \pm 17,4	5,9 \pm 1,9	9,1 \pm 2,1	5,2 \pm 0,9	90 \pm 6	141 \pm 8	3,6 \pm 0,3	29 \pm 2
4	95,6 \pm 20,0	10,0 \pm 2,2	99,4 \pm 37,4	4,8 \pm 1,0	88 \pm 5	144 \pm 10	3,4 \pm 0,3	29 \pm 5
5	81,4 \pm 16,2	22,6 \pm 4,5	358,0 \pm 60,2	4,7 \pm 0,9	90 \pm 6	148 \pm 7	3,6 \pm 0,3	27 \pm 4
6	75,3 \pm 14,6	36,9 \pm 4,8	392,7 \pm 69,6	4,3 \pm 0,8	86 \pm 2	144 \pm 9	3,4 \pm 0,4	31 \pm 2
7	72,7 \pm 15,5	49,0 \pm 7,5	372,1 \pm 62,3	4,5 \pm 1,1	90 \pm 6	158 \pm 10	4,0 \pm 0,5	30 \pm 2
8	71,4 \pm 14,2	51,2 \pm 10,2	374,5 \pm 65,1	4,2 \pm 1,0	91 \pm 4	153 \pm 14	3,9 \pm 0,3	27 \pm 4
9	67,5 \pm 12,7	57,1 \pm 10,2	386,2 \pm 60,6	4,0 \pm 1,0	93 \pm 2	151 \pm 10	3,5 \pm 0,4	29 \pm 3

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ g/Kg/min.		μ Eq/Kg/min.			μ g/Kg/min.	
1	5,6 \pm 1,1	10,9 \pm 0,8	0,48 \pm 0,12	8,8 \pm 1,4	16,0 \pm 0,2	0,38 \pm 0,09	31,6 \pm 6,3
2	4,6 \pm 1,4	8,2 \pm 1,3	0,42 \pm 0,09	9,3 \pm 1,6	14,7 \pm 2,3	0,43 \pm 0,10	32,6 \pm 6,2
3	4,9 \pm 1,2	8,6 \pm 2,4	0,49 \pm 0,11	8,4 \pm 1,0	13,4 \pm 1,8	0,35 \pm 0,07	28,3 \pm 5,1
4	8,7 \pm 2,1	102,1 \pm 36,3	0,42 \pm 0,09	8,2 \pm 1,4	13,3 \pm 2,3	0,32 \pm 0,06	26,2 \pm 4,9
5	17,4 \pm 3,1	262,2 \pm 8,2	0,36 \pm 0,07	7,1 \pm 1,1	11,8 \pm 1,9	0,30 \pm 0,06	21,0 \pm 3,6
6	26,7 \pm 5,5	265,4 \pm 7,3	0,30 \pm 0,06	6,8 \pm 1,3	10,6 \pm 1,8	0,25 \pm 0,06	22,4 \pm 3,8
7	31,5 \pm 2,4	242,6 \pm 14,8	0,29 \pm 0,08	6,2 \pm 0,8	11,0 \pm 1,7	0,28 \pm 0,06	18,8 \pm 3,4
8	32,8 \pm 4,0	240,4 \pm 8,8	0,28 \pm 0,08	6,4 \pm 1,2	9,8 \pm 1,3	0,23 \pm 0,04	18,8 \pm 3,4
9	36,6 \pm 3,8	238,4 \pm 13,0	0,26 \pm 0,08	6,2 \pm 1,1	9,8 \pm 1,3	0,23 \pm 0,04	18,7 \pm 3,0

Producción

N = 4

→ Infusión de biliverdina. Muestras 4 a 9.

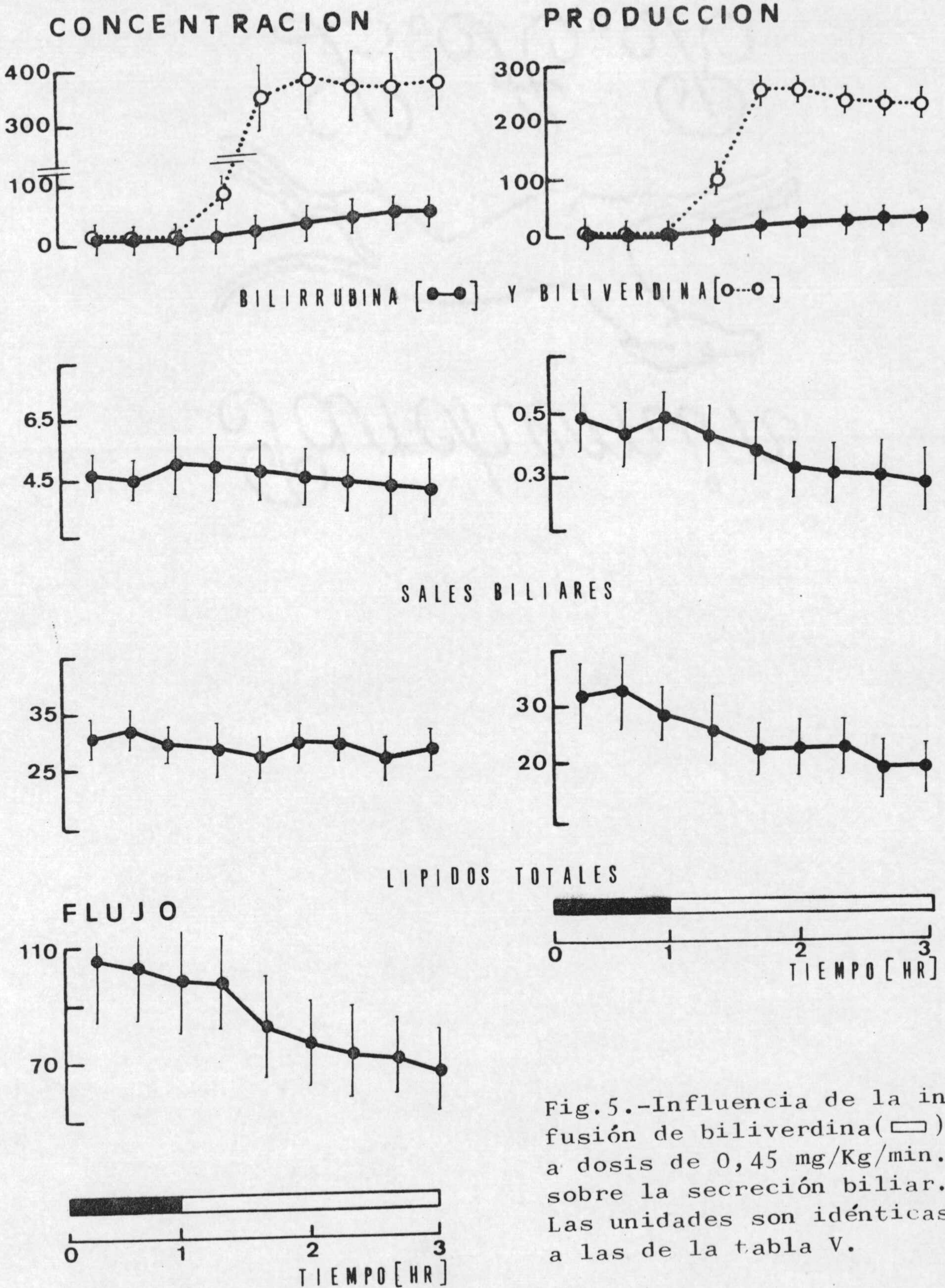


Fig.5.-Influencia de la infusión de biliverdina(□) a dosis de 0,45 mg/Kg/min. sobre la secreción biliar. Las unidades son idénticas a las de la tabla V.

N = 4

Tabla VI.- Experimentos del tipo BV4. Infusión de biliverdina a dosis de 0,60 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	$\mu\text{g/Kg/min.}$	mg/100ml		mEq/l			mg/100ml	
1	89,5 \pm 11,7	6,0 \pm 2,4	7,8 \pm 2,7	4,9 \pm 0,7	87 \pm 6	149 \pm 11	3,0 \pm 0,1	31 \pm 3
2	98,3 \pm 11,5	6,5 \pm 3,0	6,9 \pm 2,5	4,5 \pm 0,7	85 \pm 8	137 \pm 11	2,9 \pm 0,1	31 \pm 4
3	97,4 \pm 8,9	5,5 \pm 2,7	7,0 \pm 1,8	4,0 \pm 0,7	86 \pm 9	163 \pm 15	3,6 \pm 0,4	32 \pm 6
4	85,4 \pm 7,6	16,1 \pm 4,2	132,0 \pm 14,4	4,2 \pm 0,9	88 \pm 4	152 \pm 12	3,4 \pm 0,3	29 \pm 2
5	82,9 \pm 10,1	30,3 \pm 8,4	350,6 \pm 62,4	3,9 \pm 0,7	86 \pm 6	150 \pm 15	3,3 \pm 0,4	27 \pm 5
6	72,5 \pm 7,2	42,6 \pm 14,1	436,2 \pm 56,2	3,9 \pm 0,4	87 \pm 7	154 \pm 9	3,3 \pm 0,4	25 \pm 3
7	70,5 \pm 7,1	45,2 \pm 8,8	467,4 \pm 60,1	4,1 \pm 0,6	87 \pm 6	165 \pm 7	3,9 \pm 0,5	29 \pm 2
8	70,7 \pm 9,2	59,0 \pm 11,6	425,7 \pm 56,7	3,9 \pm 0,6	86 \pm 4	157 \pm 13	3,2 \pm 0,3	27 \pm 2
9	65,8 \pm 9,0	69,6 \pm 13,7	428,9 \pm 51,5	3,8 \pm 0,5	89 \pm 7	160 \pm 9	3,4 \pm 0,2	28 \pm 3

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	$\mu\text{g/Kg/min.}$		$\mu\text{Eq/Kg/min.}$			$\mu\text{g/Kg/min.}$	
1	5,4 \pm 1,5	6,0 \pm 1,4	0,43 \pm 0,06	7,8 \pm 1,2	12,9 \pm 0,8	0,27 \pm 0,02	27,0 \pm 2,7
2	5,3 \pm 1,7	5,9 \pm 1,6	0,42 \pm 0,07	8,4 \pm 1,4	13,6 \pm 2,0	0,31 \pm 0,01	29,1 \pm 3,5
3	4,6 \pm 1,8	6,4 \pm 1,3	0,35 \pm 0,05	8,5 \pm 1,5	15,4 \pm 0,9	0,34 \pm 0,02	29,4 \pm 4,3
4	13,2 \pm 2,9	115,4 \pm 14,5	0,35 \pm 0,07	7,6 \pm 1,0	12,8 \pm 0,7	0,28 \pm 0,01	23,8 \pm 0,3
5	24,0 \pm 5,3	301,0 \pm 21,4	0,31 \pm 0,04	7,2 \pm 1,3	12,2 \pm 1,4	0,27 \pm 0,02	21,4 \pm 2,9
6	30,0 \pm 8,9	306,4 \pm 21,7	0,27 \pm 0,04	6,3 \pm 1,0	11,0 \pm 0,7	0,24 \pm 0,01	18,4 \pm 3,6
7	30,9 \pm 4,9	317,4 \pm 31,2	0,26 \pm 0,05	6,2 \pm 1,0	11,5 \pm 0,6	0,27 \pm 0,01	20,1 \pm 1,1
8	37,6 \pm 5,1	287,6 \pm 16,6	0,27 \pm 0,05	6,1 \pm 1,4	10,7 \pm 0,5	0,22 \pm 0,02	19,1 \pm 2,2
9	43,8 \pm 5,2	272,2 \pm 21,6	0,26 \pm 0,05	6,0 \pm 1,4	10,4 \pm 0,9	0,22 \pm 0,02	18,1 \pm 1,5

Producción

N = 4

→ Infusión de biliverdina. Muestras 4 a 9.

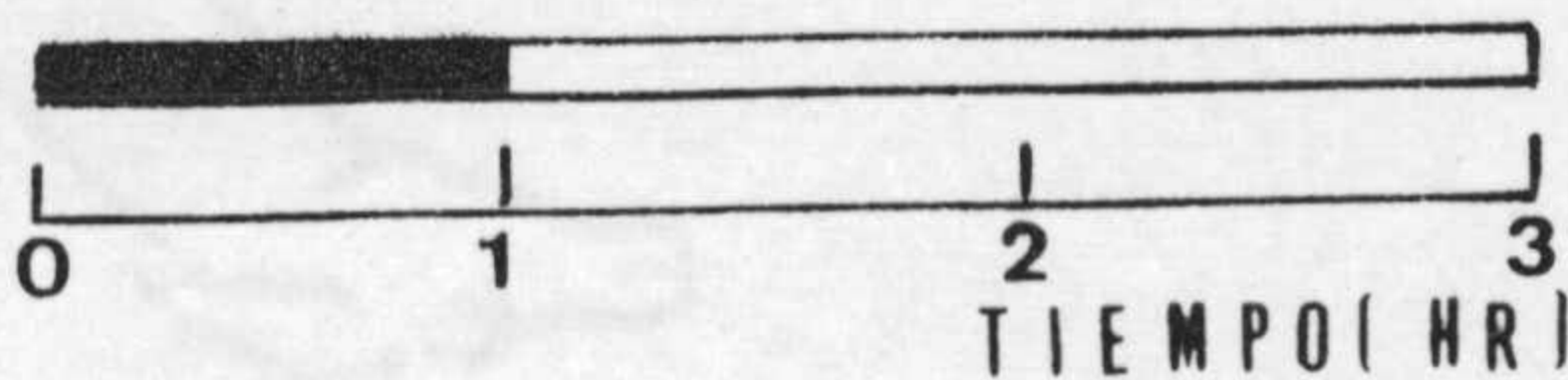
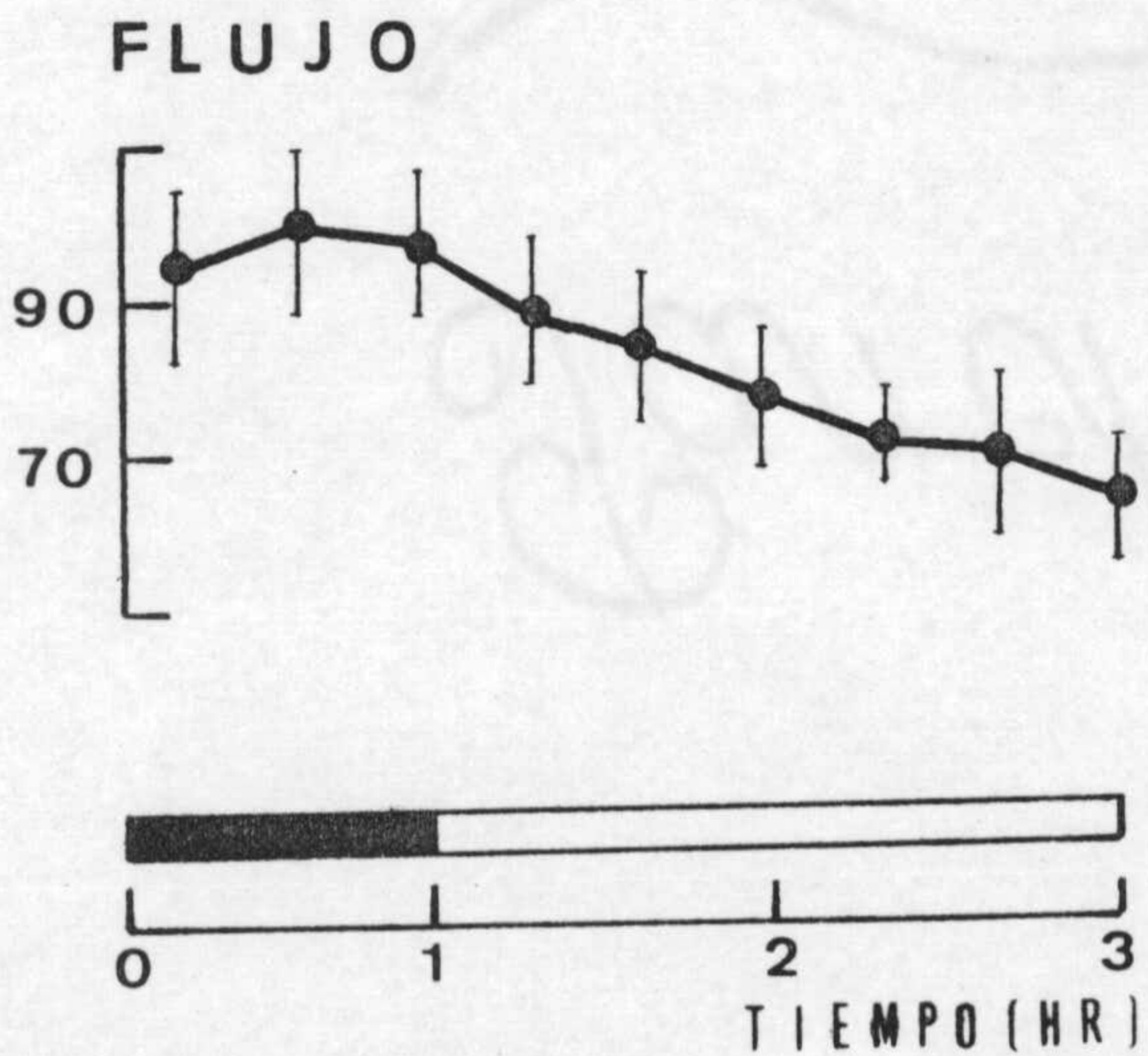
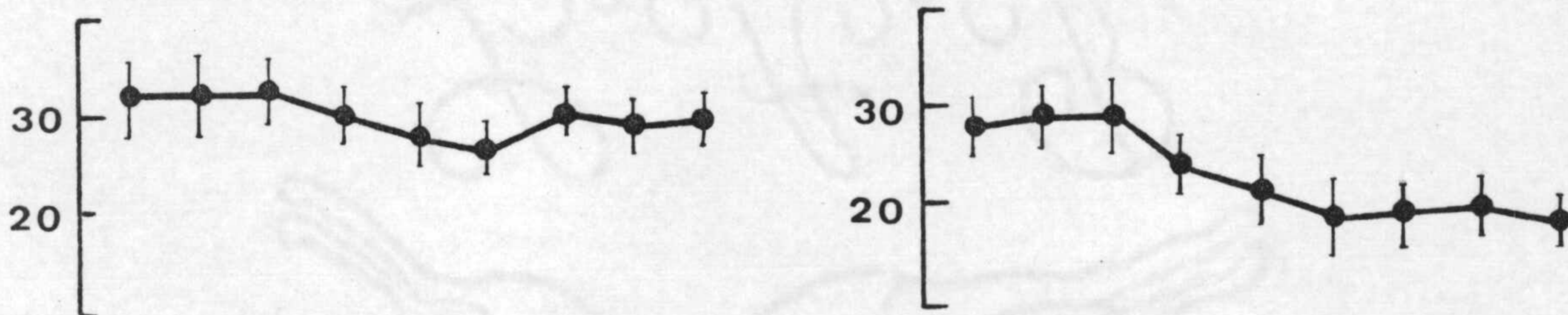
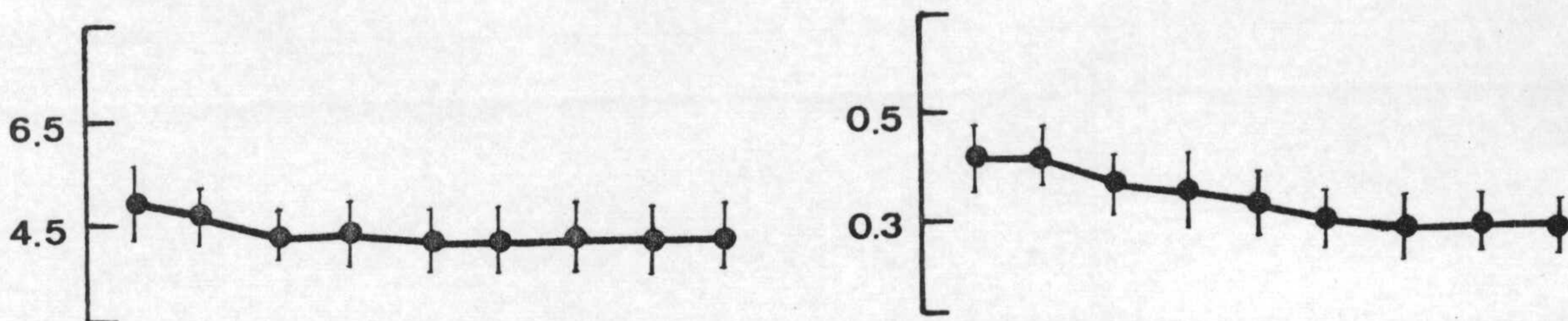
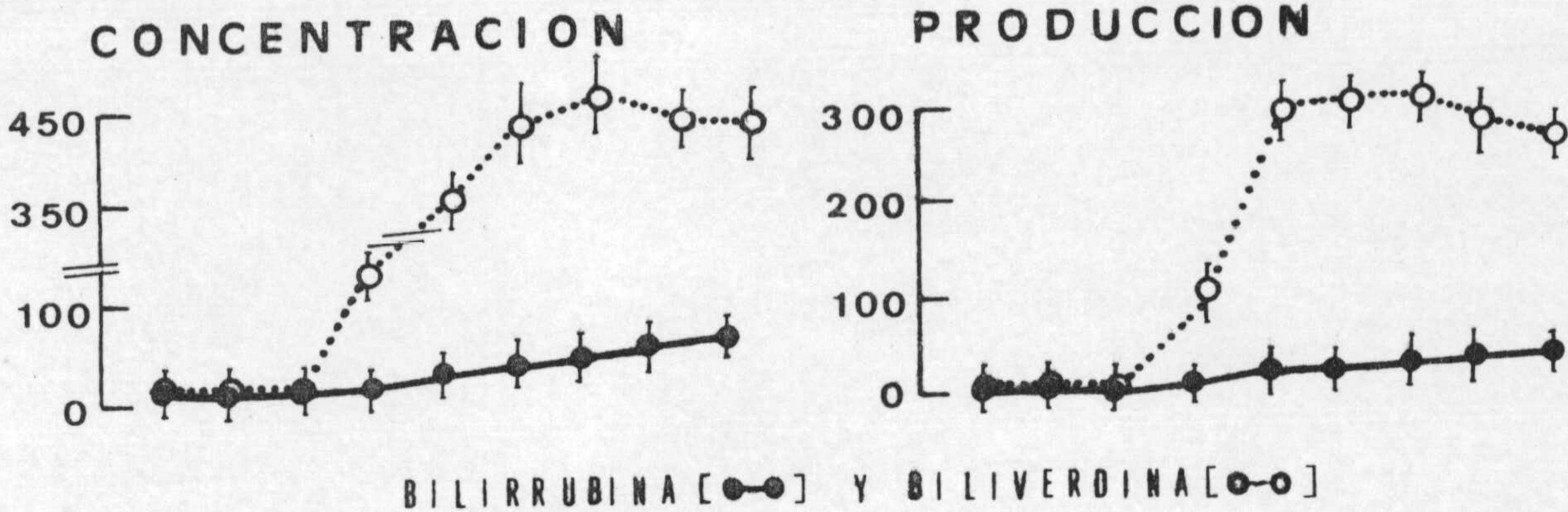


Fig.6.-Influencia de la infusión de biliverdina(□) a dosis de 0,60 mg/Kg/min. sobre la secreción biliar. Las unidades son idénticas a las de la tabla VI.

N = 4

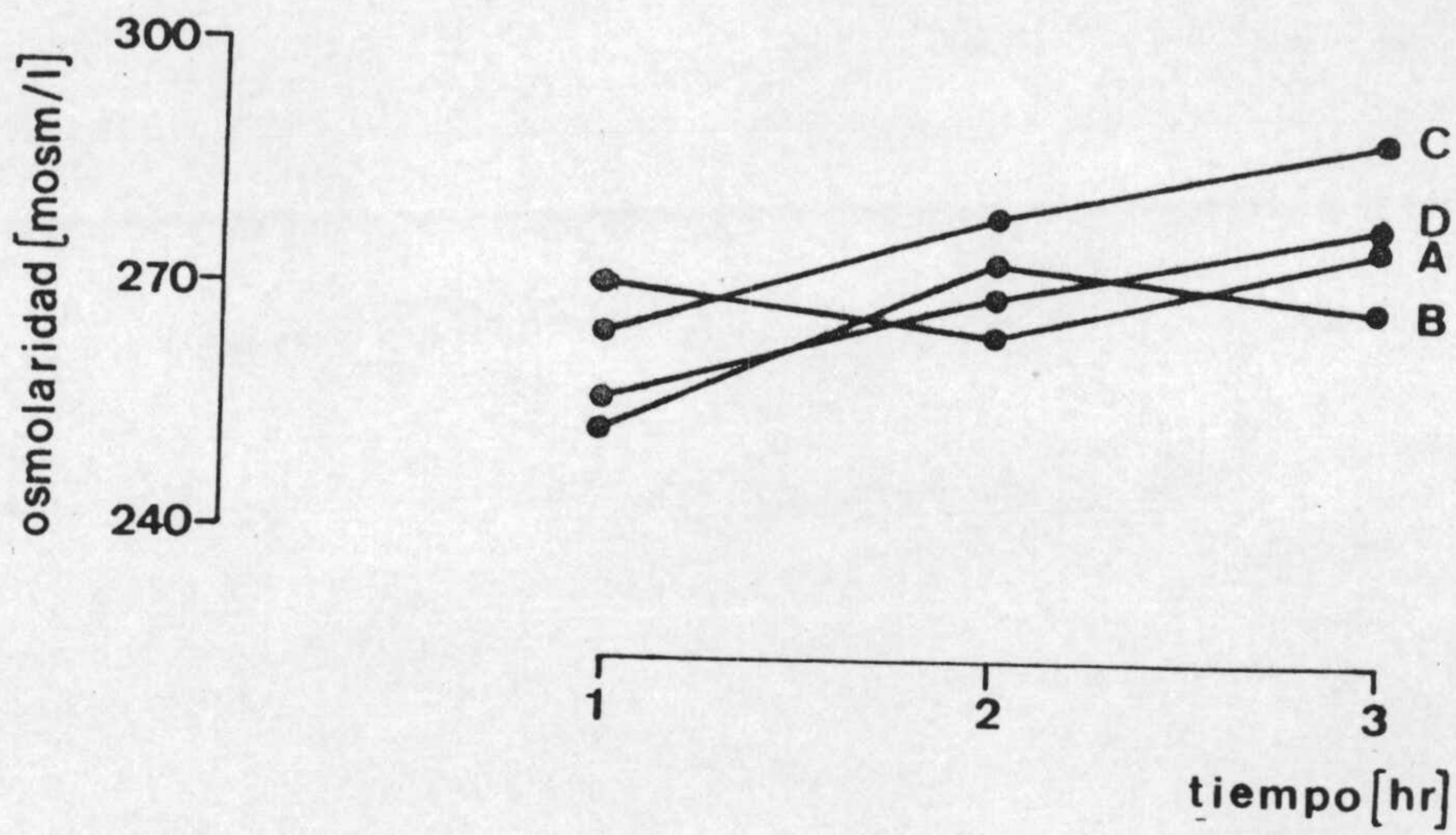


Fig.7.- Influencia de la infusión de biliverdina a dosis de 0,04(A),0,08(B),0,45(C) y 0,60 mg/Kg/min.(D) sobre la osmolaridad de la bilis
| comienzo de la infusión.

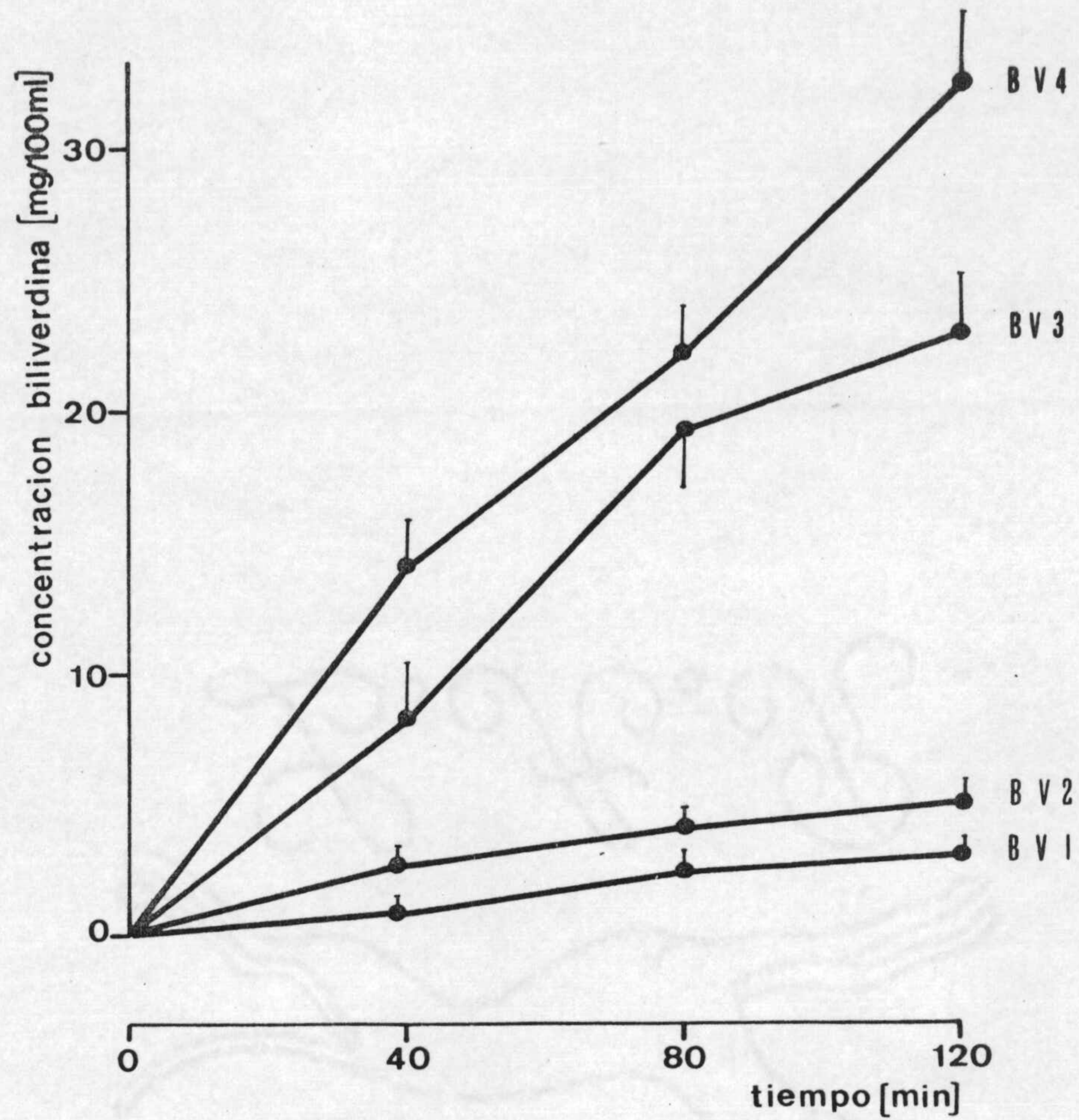


Fig.8.- Niveles séricos de biliverdina durante la infusión de la misma a dosis de 0,04(BV1), 0,08(BV2),0,45(BV3) y 0,60 mg/Kg/min.(BV4).

Tabla VII.- Experimentos del tipo BR1. Infusión de bilirrubina a dosis de 0,04 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	Lt
	μ l/Kg/min.	mg/100ml			mEq/l			mg/100ml
1	90,2 \pm 15,0	7,5 \pm 2,4	12,0 \pm 3,2	5,4 \pm 1,1	95 \pm 2	150 \pm 5	3,1 \pm 0,5	32 \pm 2
2	86,3 \pm 12,7	7,4 \pm 2,3	11,0 \pm 2,9	4,9 \pm 1,1	101 \pm 10	143 \pm 18	3,0 \pm 0,4	34 \pm 1
3	81,0 \pm 11,9	6,7 \pm 2,2	9,2 \pm 2,8	5,0 \pm 1,2	98 \pm 7	145 \pm 14	3,0 \pm 0,4	36 \pm 1
4	90,0 \pm 19,8	9,4 \pm 2,6	8,4 \pm 2,5	4,6 \pm 0,9	93 \pm 6	148 \pm 12	3,0 \pm 0,3	33 \pm 2
5	81,6 \pm 13,1	27,7 \pm 4,4	7,2 \pm 2,1	4,8 \pm 1,1	98 \pm 9	149 \pm 10	3,0 \pm 0,3	33 \pm 2
6	70,4 \pm 13,0	40,8 \pm 7,4	7,7 \pm 2,1	4,3 \pm 0,9	94 \pm 6	147 \pm 10	3,5 \pm 0,4	35 \pm 2
7	66,4 \pm 10,0	40,8 \pm 5,5	8,0 \pm 2,0	4,2 \pm 1,3	94 \pm 6	148 \pm 11	3,1 \pm 0,5	33 \pm 3
8	67,1 \pm 10,7	40,7 \pm 5,6	7,7 \pm 2,2	3,6 \pm 1,1	86 \pm 5	133 \pm 8	3,0 \pm 0,5	33 \pm 2
9	62,1 \pm 9,1	44,3 \pm 6,2	8,2 \pm 2,0	3,9 \pm 1,0	90 \pm 6	151 \pm 10	3,6 \pm 0,5	32 \pm 2

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	Lt
	μ g/Kg/min.	μ Eq/Kg/min.			μ g/Kg/min.		
1	5,7 \pm 1,0	9,4 \pm 1,0	0,50 \pm 0,12	8,4 \pm 1,1	12,5 \pm 1,5	0,26 \pm 0,03	30,5 \pm 6,2
2	5,6 \pm 1,0	8,5 \pm 1,0	0,43 \pm 0,11	8,4 \pm 0,8	11,8 \pm 1,4	0,23 \pm 0,01	28,9 \pm 4,0
3	4,6 \pm 0,9	6,5 \pm 1,0	0,40 \pm 0,11	7,8 \pm 1,1	11,7 \pm 1,7	0,24 \pm 0,03	28,8 \pm 4,1
4	7,3 \pm 1,2	6,3 \pm 0,8	0,40 \pm 0,09	8,1 \pm 1,3	12,7 \pm 2,0	0,20 \pm 0,04	29,8 \pm 6,3
5	21,0 \pm 1,0	5,1 \pm 0,9	0,37 \pm 0,08	7,8 \pm 0,9	11,9 \pm 1,6	0,24 \pm 0,03	27,3 \pm 5,6
6	25,9 \pm 0,6	4,7 \pm 0,5	0,29 \pm 0,07	6,4 \pm 0,9	10,2 \pm 1,6	0,23 \pm 0,02	24,2 \pm 4,2
7	25,7 \pm 1,8	4,8 \pm 0,6	0,27 \pm 0,07	6,2 \pm 0,9	9,8 \pm 1,5	0,20 \pm 0,02	21,7 \pm 3,6
8	25,6 \pm 0,9	4,5 \pm 0,7	0,24 \pm 0,07	5,7 \pm 0,7	8,8 \pm 1,3	0,19 \pm 0,02	21,9 \pm 3,1
9	25,9 \pm 0,8	4,6 \pm 0,5	0,24 \pm 0,06	5,3 \pm 0,5	9,2 \pm 1,0	0,21 \pm 0,02	19,0 \pm 2,4

Producción

N = 4

-> Infusión de bilirrubina. Muestras 4 a 9.

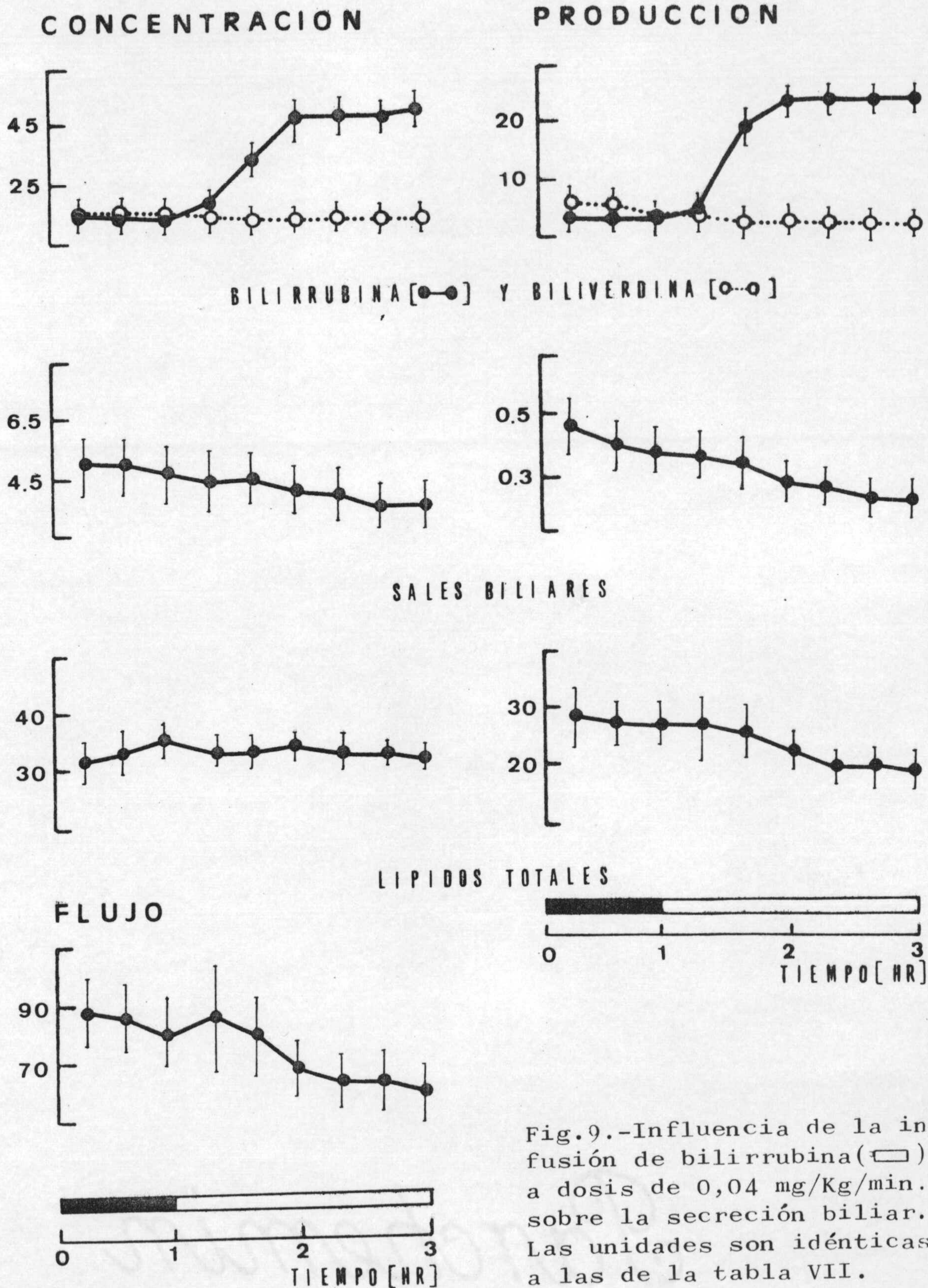


Fig.9.-Influencia de la infusión de bilirrubina(□) a dosis de 0,04 mg/Kg/min. sobre la secreción biliar. Las unidades son idénticas a las de la tabla VII.

N = 4

Tabla VIII.- Experimentos del tipo BR2. Infusión de bilirrubina a dosis de 0,08 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, Concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ l/Kg/min.	mg/100ml			mEq/l			mg/100ml
1	76,2 \pm 8,5	8,9 \pm 0,8	13,9 \pm 0,9	6,7 \pm 1,4	91 \pm 2	154 \pm 4	3,5 \pm 0,3	33 \pm 2
2	70,9 \pm 8,1	9,4 \pm 1,0	14,6 \pm 1,1	6,7 \pm 0,9	96 \pm 2	161 \pm 6	3,8 \pm 0,3	32 \pm 3
3	72,9 \pm 6,2	8,7 \pm 1,8	12,3 \pm 1,0	5,8 \pm 1,0	96 \pm 1	156 \pm 9	3,7 \pm 0,3	29 \pm 1
4	66,8 \pm 6,8	22,1 \pm 5,6	11,7 \pm 1,4	5,1 \pm 1,0	103 \pm 5	158 \pm 7	3,3 \pm 0,4	22 \pm 4
5	57,2 \pm 6,0	55,3 \pm 10,5	11,9 \pm 2,3	5,5 \pm 1,4	93 \pm 4	167 \pm 2	3,7 \pm 0,2	30 \pm 3
6	57,2 \pm 3,6	73,0 \pm 6,0	11,0 \pm 1,5	5,3 \pm 1,3	90 \pm 2	157 \pm 10	3,5 \pm 0,2	27 \pm 4
7	53,9 \pm 5,6	83,4 \pm 9,3	12,6 \pm 0,8	5,4 \pm 1,6	91 \pm 4	159 \pm 9	4,0 \pm 0,3	28 \pm 3
8	51,9 \pm 4,0	84,0 \pm 9,2	11,2 \pm 1,2	5,2 \pm 1,2	91 \pm 4	166 \pm 10	4,0 \pm 0,2	29 \pm 3
9	49,6 \pm 4,6	86,9 \pm 9,0	11,9 \pm 1,3	5,3 \pm 1,4	92 \pm 2	159 \pm 11	4,0 \pm 0,3	30 \pm 3

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ g/Kg/min.			μ Eq/Kg/min.			μ g/Kg/min.
1	6,7 \pm 0,6	10,3 \pm 0,6	0,42 \pm 0,10	6,9 \pm 0,8	11,6 \pm 1,0	0,30 \pm 0,01	24,0 \pm 3,0
2	6,5 \pm 0,5	10,4 \pm 1,3	0,48 \pm 0,09	6,8 \pm 0,8	11,4 \pm 1,4	0,27 \pm 0,03	22,6 \pm 2,5
3	6,1 \pm 0,9	8,8 \pm 0,6	0,44 \pm 0,10	7,0 \pm 0,6	11,5 \pm 1,5	0,26 \pm 0,03	21,0 \pm 2,1
4	14,5 \pm 3,3	7,6 \pm 0,7	0,34 \pm 0,07	6,8 \pm 0,4	10,6 \pm 1,3	0,22 \pm 0,04	14,3 \pm 2,5
5	31,2 \pm 4,6	6,5 \pm 0,7	0,33 \pm 0,09	5,3 \pm 0,4	9,6 \pm 0,8	0,21 \pm 0,01	16,7 \pm 2,0
6	41,2 \pm 1,7	6,1 \pm 0,6	0,31 \pm 0,08	5,1 \pm 0,3	9,0 \pm 0,8	0,21 \pm 0,01	15,3 \pm 2,4
7	43,4 \pm 1,2	6,7 \pm 0,5	0,28 \pm 0,06	4,8 \pm 0,4	8,6 \pm 1,0	0,21 \pm 0,03	15,4 \pm 2,0
8	42,6 \pm 2,0	5,7 \pm 0,4	0,27 \pm 0,06	4,7 \pm 0,3	8,1 \pm 0,7	0,20 \pm 0,01	15,2 \pm 1,0
9	41,9 \pm 0,9	5,9 \pm 0,4	0,29 \pm 0,06	4,0 \pm 0,4	7,8 \pm 0,8	0,10 \pm 0,01	14,6 \pm 1,0

Producción

N = 4

- Infusión de bilirrubina. Muestras 4 a 9.

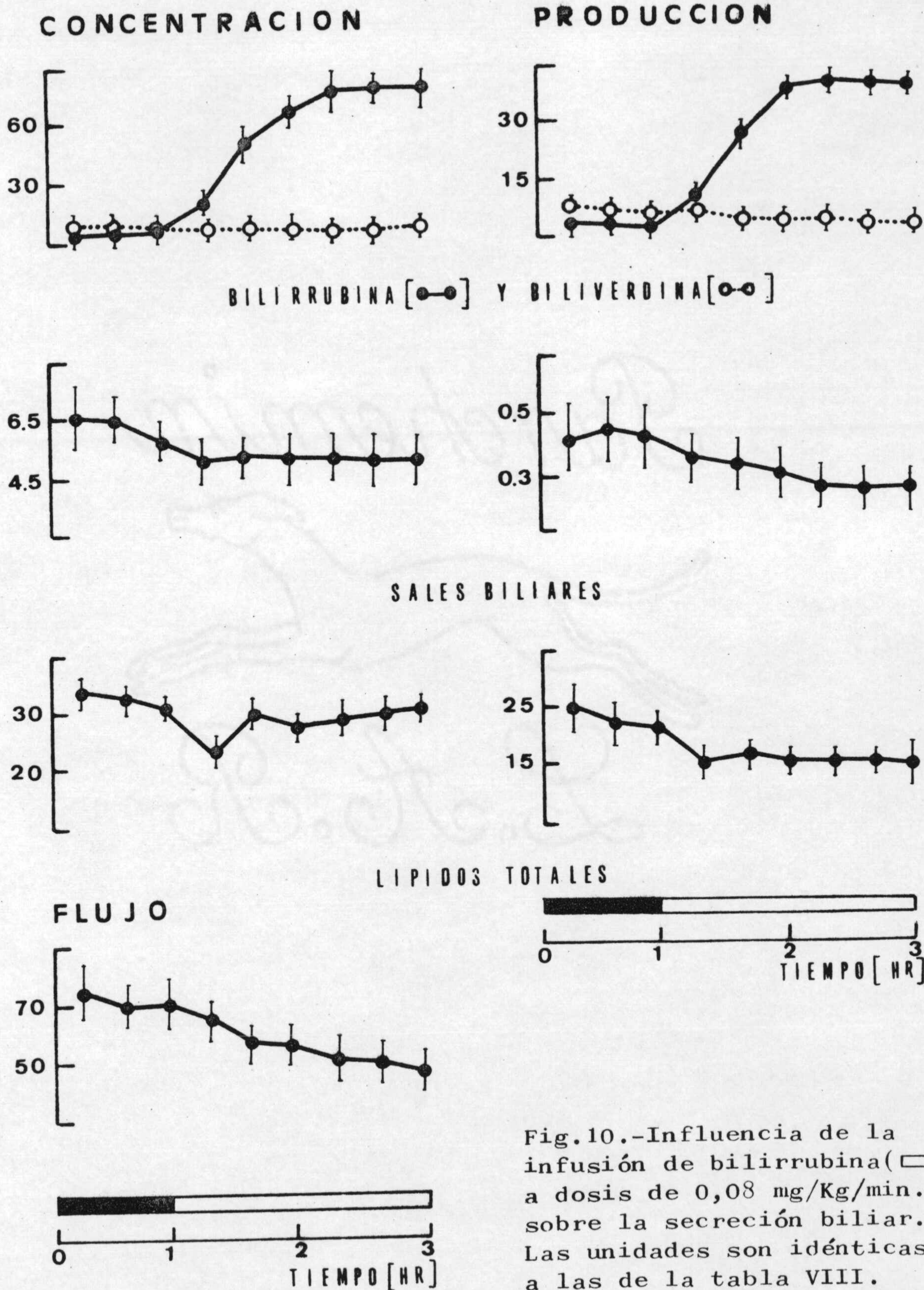


Fig.10.-Influencia de la infusión de bilirrubina(□) a dosis de 0,08 mg/Kg/min. sobre la secreción biliar. Las unidades son idénticas a las de la tabla VIII.

N = 4

Tabla IX.- Experimentos del tipo BR3. Infusión de bilirrubina a dosis de 0,45 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ l/Kg/min.	mg/100ml		mEq/l			mg/100ml	
1	107,7 \pm 5,8	9,0 \pm 1,1	10,7 \pm 1,0	4,5 \pm 0,4	78 \pm 5	149 \pm 10	3,1 \pm 0,2	26 \pm 2
2	113,0 \pm 7,6	7,5 \pm 1,0	9,5 \pm 0,6	4,1 \pm 0,6	86 \pm 6	158 \pm 6	3,3 \pm 0,1	26 \pm 2
3	104,8 \pm 10,3	6,0 \pm 1,0	6,8 \pm 0,2	3,9 \pm 0,5	88 \pm 9	159 \pm 4	3,3 \pm 0,1	18 \pm 1
4	97,4 \pm 7,4	114,7 \pm 17,6	6,3 \pm 0,7	3,4 \pm 0,4	86 \pm 7	158 \pm 8	3,1 \pm 0,3	18 \pm 1
5	85,5 \pm 10,4	325,3 \pm 33,9	9,3 \pm 1,8	2,9 \pm 0,6	90 \pm 3	147 \pm 10	3,0 \pm 0,3	23 \pm 1
6	86,0 \pm 7,5	351,7 \pm 39,4	9,4 \pm 2,7	3,0 \pm 0,1	88 \pm 6	153 \pm 10	3,0 \pm 0,2	25 \pm 1
7	72,3 \pm 6,0	400,4 \pm 27,2	10,6 \pm 2,0	3,1 \pm 0,4	95 \pm 5	150 \pm 10	3,4 \pm 0,2	27 \pm 1
8	63,8 \pm 5,2	415,0 \pm 42,1	9,7 \pm 2,5	3,4 \pm 0,2	90 \pm 1	150 \pm 9	3,6 \pm 0,2	24 \pm 1
9	58,7 \pm 4,1	435,0 \pm 24,2	10,4 \pm 2,2	3,5 \pm 0,3	90 \pm 3	145 \pm 8	3,8 \pm 0,3	26 \pm 2

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ g/Kg/min.		μ Eq/Kg/min.			μ g/Kg/min.	
1	9,6 \pm 0,9	11,5 \pm 1,0	0,49 \pm 0,05	8,3 \pm 0,1	16,0 \pm 1,2	0,33 \pm 0,01	28,3 \pm 1,9
2	8,4 \pm 0,9	10,8 \pm 1,2	0,45 \pm 0,04	11,8 \pm 2,5	17,7 \pm 0,7	0,33 \pm 0,02	29,0 \pm 3,3
3	6,0 \pm 0,7	7,1 \pm 0,7	0,38 \pm 0,04	9,3 \pm 0,4	16,6 \pm 1,5	0,35 \pm 0,03	19,1 \pm 2,8
4	96,3 \pm 17,4	6,3 \pm 1,0	0,33 \pm 0,02	8,2 \pm 0,1	15,2 \pm 0,7	0,30 \pm 0,02	17,1 \pm 1,6
5	267,7 \pm 8,1	7,7 \pm 1,4	0,23 \pm 0,03	7,9 \pm 0,9	12,5 \pm 1,6	0,26 \pm 0,04	19,6 \pm 2,0
6	294,4 \pm 11,5	8,4 \pm 2,9	0,26 \pm 0,02	7,5 \pm 0,4	11,8 \pm 0,8	0,26 \pm 0,02	21,7 \pm 2,0
7	284,6 \pm 4,1	6,1 \pm 0,8	0,25 \pm 0,01	6,8 \pm 0,5	10,7 \pm 1,0	0,24 \pm 0,01	19,6 \pm 2,3
8	259,8 \pm 15,0	6,1 \pm 1,5	0,22 \pm 0,02	5,8 \pm 0,5	9,4 \pm 0,3	0,23 \pm 0,01	15,4 \pm 1,6
9	254,4 \pm 9,3	6,1 \pm 1,3	0,20 \pm 0,02	5,3 \pm 0,5	8,5 \pm 0,3	0,22 \pm 0,01	15,0 \pm 1,6

Producción

N = 4

-- Infusión de bilirrubina. Muestras 4 a 9.

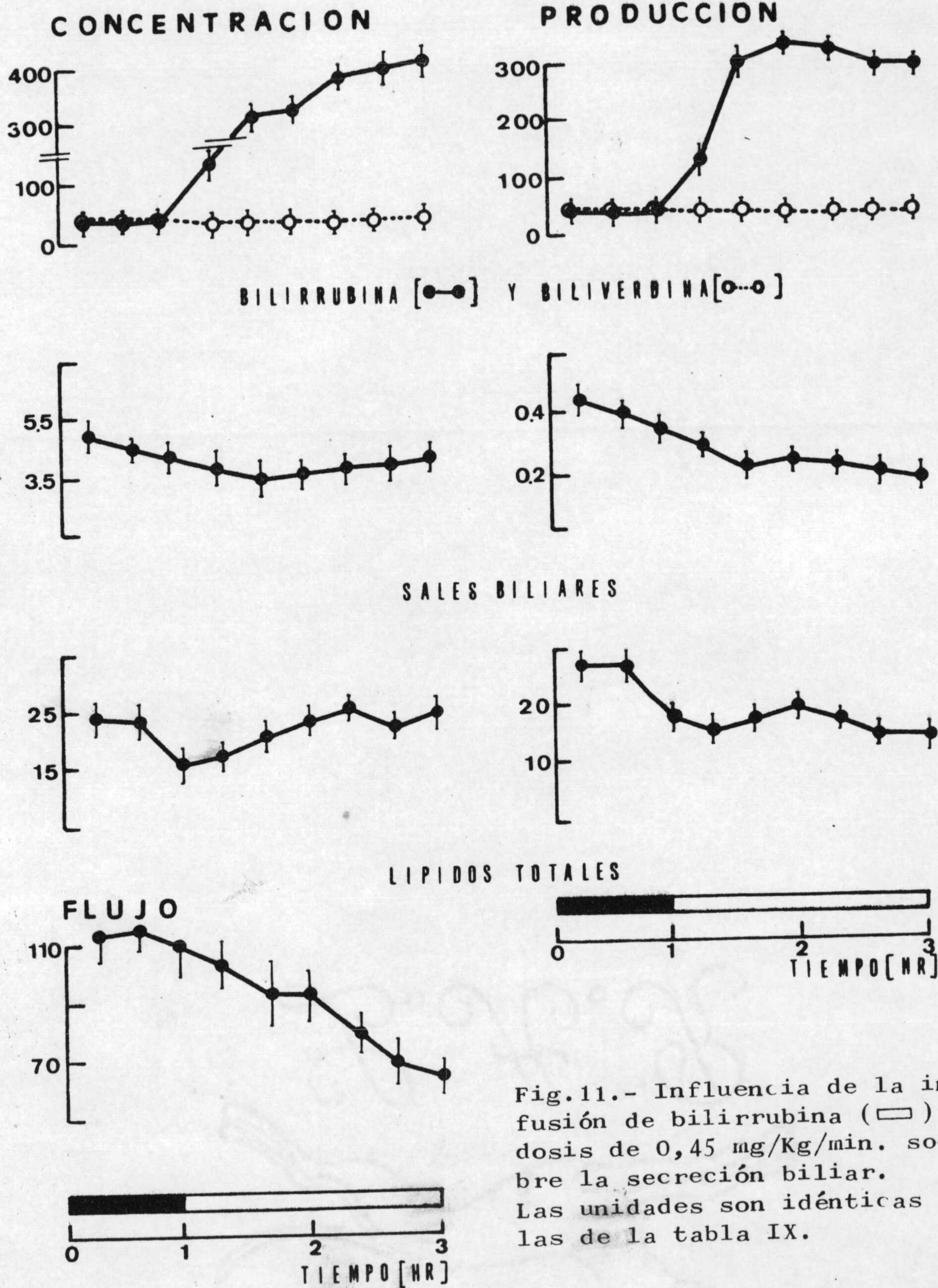


Fig.11.- Influencia de la infusión de bilirrubina (□) a dosis de 0,45 mg/Kg/min. sobre la secreción biliar. Las unidades son idénticas a las de la tabla IX.

Tabla X.- Experimentos del tipo BR4. Infusión de bilirrubina a dosis de 0,60 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios \pm E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ l/Kg/min.	mg/100ml			mEq/l			mg/100ml
1	92,8 \pm 5,0	6,8 \pm 1,3	8,6 \pm 0,4	5,0 \pm 0,3	79 \pm 3	158 \pm 11	3,1 \pm 0,3	39 \pm 7
2	93,6 \pm 8,1	6,4 \pm 0,8	7,8 \pm 0,3	5,3 \pm 0,4	83 \pm 2	161 \pm 9	3,0 \pm 0,4	36 \pm 6
3	95,4 \pm 8,4	4,9 \pm 0,9	7,1 \pm 0,6	4,7 \pm 0,6	81 \pm 4	156 \pm 11	3,3 \pm 0,4	33 \pm 7
4	87,3 \pm 7,8	93,9 \pm 17,0	5,5 \pm 0,9	4,2 \pm 0,7	87 \pm 2	168 \pm 5	3,6 \pm 0,2	31 \pm 3
5	68,7 \pm 7,4	376,2 \pm 44,8	6,9 \pm 2,4	3,9 \pm 0,3	91 \pm 2	180 \pm 3	3,5 \pm 0,2	29 \pm 2
6	63,9 \pm 6,2	483,1 \pm 32,8	8,6 \pm 1,6	4,2 \pm 0,4	90 \pm 2	178 \pm 1	3,9 \pm 0,3	27 \pm 3
7	58,4 \pm 4,5	533,1 \pm 36,3	9,3 \pm 2,3	4,0 \pm 0,3	83 \pm 6	180 \pm 4	4,0 \pm 0,5	30 \pm 2
8	55,4 \pm 6,4	560,3 \pm 46,8	10,0 \pm 2,1	4,3 \pm 0,5	85 \pm 2	163 \pm 2	4,0 \pm 0,2	34 \pm 3
9	51,0 \pm 5,8	547,4 \pm 51,2	9,7 \pm 2,0	4,0 \pm 0,5	86 \pm 2	170 \pm 4	4,1 \pm 0,2	31 \pm 2

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μ g/Kg/min.	μ Eq/Kg/min.				μ g/Kg/min.	
1	6,3 \pm 1,2	7,9 \pm 0,6	0,46 \pm 0,05	7,3 \pm 0,2	14,7 \pm 1,4	0,31 \pm 0,02	40,4 \pm 4,2
2	6,1 \pm 1,2	7,3 \pm 0,9	0,49 \pm 0,02	7,7 \pm 0,4	15,1 \pm 1,4	0,28 \pm 0,04	32,7 \pm 4,2
3	4,8 \pm 1,3	6,6 \pm 0,2	0,44 \pm 0,03	7,6 \pm 0,2	14,6 \pm 0,2	0,30 \pm 0,03	30,6 \pm 5,8
4	79,9 \pm 14,0	4,9 \pm 0,9	0,36 \pm 0,05	7,5 \pm 0,5	14,7 \pm 2,0	0,32 \pm 0,03	24,9 \pm 3,8
5	296,9 \pm 9,8	5,2 \pm 1,4	0,31 \pm 0,04	7,4 \pm 0,8	14,8 \pm 1,6	0,29 \pm 0,04	23,2 \pm 0,2
6	325,0 \pm 14,4	5,5 \pm 0,9	0,28 \pm 0,02	6,2 \pm 0,7	13,5 \pm 1,6	0,27 \pm 0,03	19,8 \pm 2,6
7	309,8 \pm 8,6	5,2 \pm 1,1	0,23 \pm 0,02	4,9 \pm 0,4	10,6 \pm 0,6	0,23 \pm 0,02	17,6 \pm 1,8
8	301,6 \pm 7,4	5,2 \pm 0,7	0,24 \pm 0,01	4,7 \pm 0,4	9,1 \pm 1,0	0,22 \pm 0,02	18,7 \pm 2,7
9	277,0 \pm 12,8	4,6 \pm 0,6	0,20 \pm 0,02	4,4 \pm 0,5	8,7 \pm 1,1	0,20 \pm 0,03	15,8 \pm 2,5

Producción

N = 4

- Infusión de bilirrubina. Muestras 4 a 9.

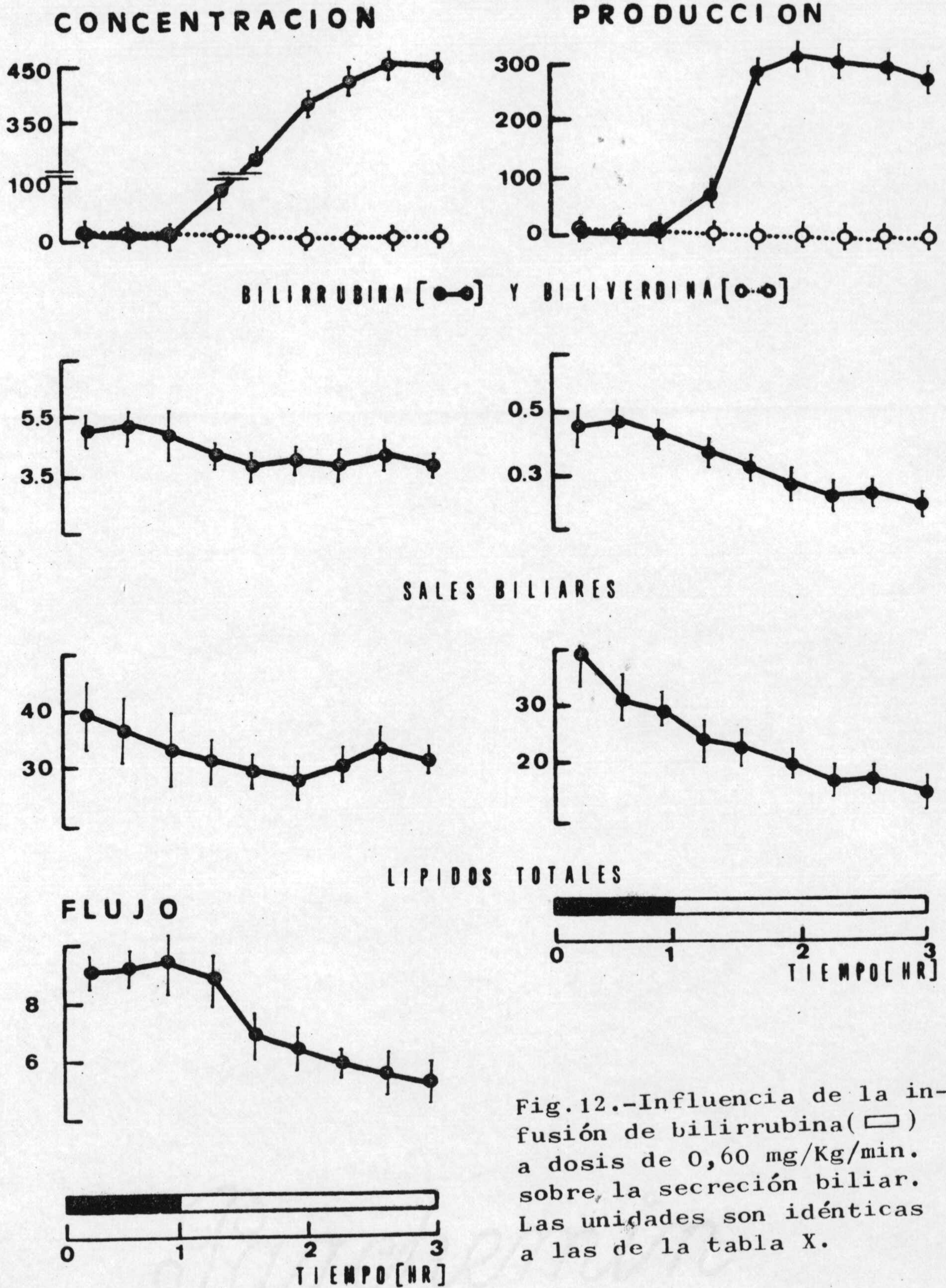


Fig.12.-Influencia de la infusión de bilirrubina(□) a dosis de 0,60 mg/Kg/min. sobre la secreción biliar. Las unidades son idénticas a las de la tabla X.

N = 4

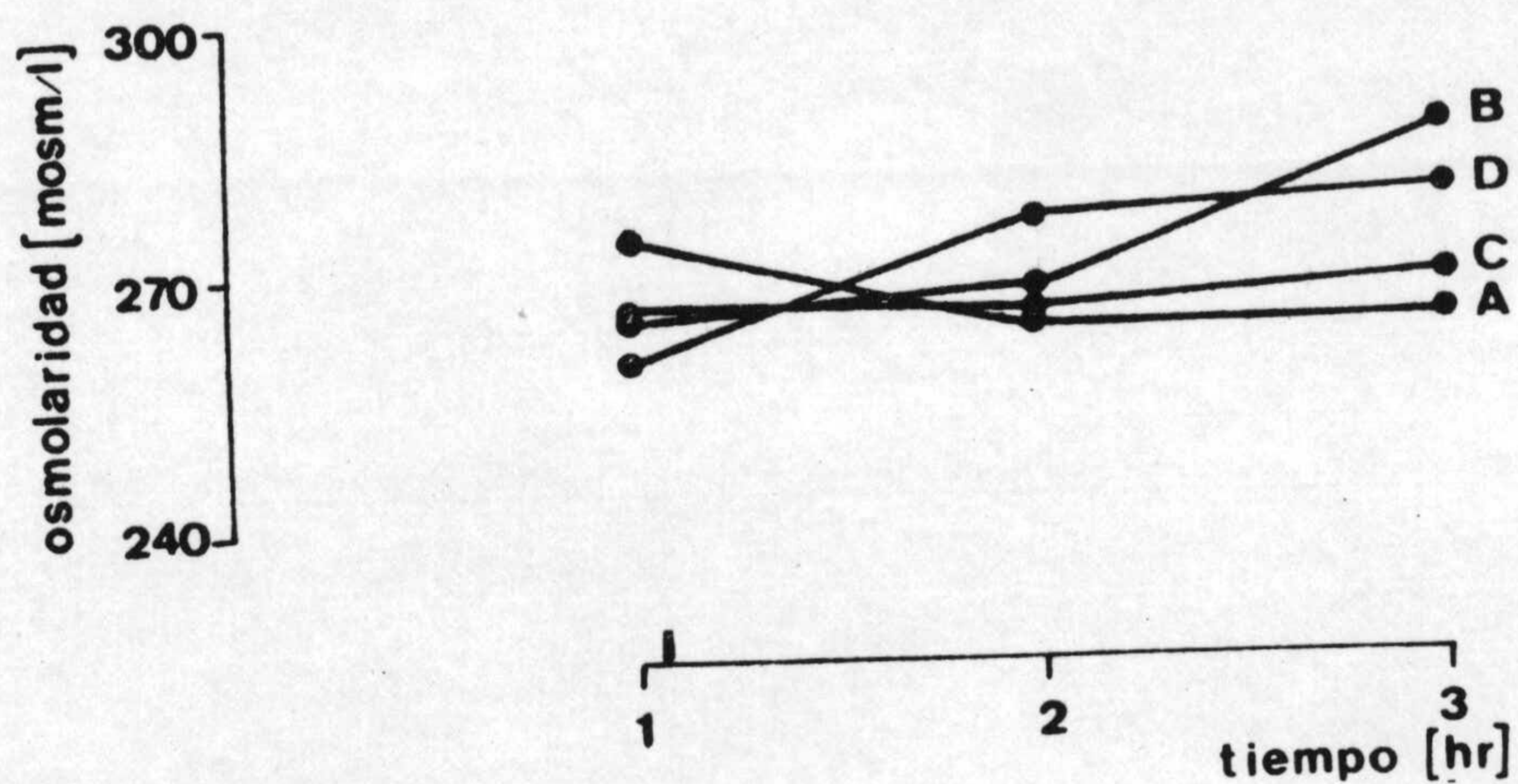


Fig.13.- Influencia de la infusión de bilirrubina a dosis de 0,04 (A), 0,08 (B), 0,45 (C) y 0,60 mg/Kg/min. (D) sobre la osmolaridad de la bilis.

! comienzo de la infusión.

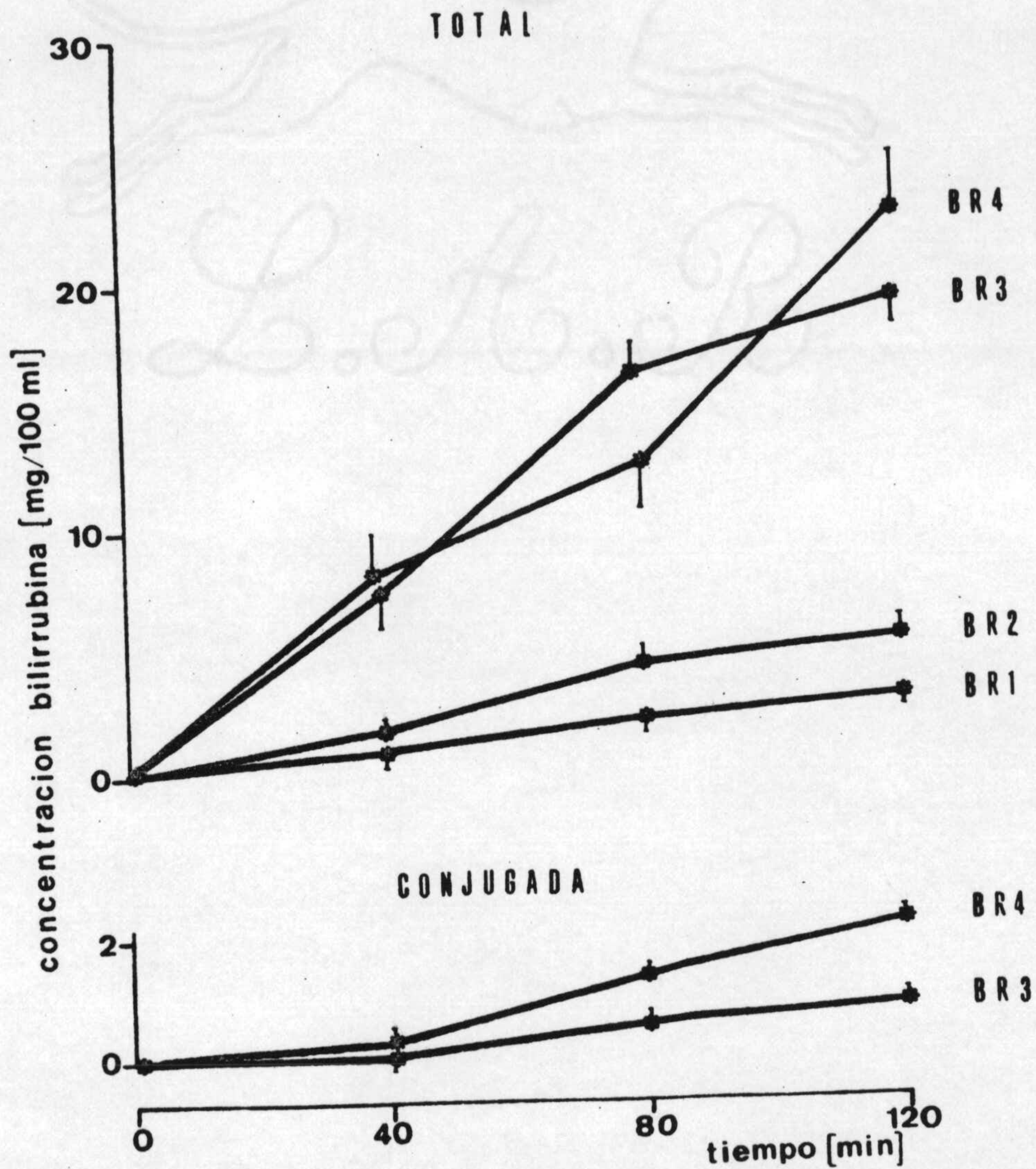


Fig.14.-Niveles séricos de bilirrubina total y conjugada durante la infusión de bilirrubina a dosis de 0,04(BR1),0,08(BR2),0,45(BR3) y 0,60 mg/Kg/min. (BR4).

Tabla XI.- Experimentos del tipo SB1. Infusión de glicodeoxicolato sódico a dosis de 0,25, 0,50, 0,75 y 1,00 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios±E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μl/Kg/min.	mg/100ml		mEq/l			mg/100ml	
1	101,4±14,4	5,7±0,9	9,3±1,4	5,0±0,8	91±6	158±11	3,6±0,3	28±3
2	103,5± 4,5	5,9±1,0	8,0±1,4	3,8±0,2	87±4	136±14	3,0±0,2	25±2
3	100,8±13,1	5,1±0,5	6,5±0,8	3,4±0,4	85±7	136±16	3,0±0,2	26±2
4	92,2± 5,6	4,5±0,5	6,5±0,6	4,4±0,4	96±4	159± 5	3,8±0,1	27±5
5	92,8± 4,9	4,1±0,3	5,4±0,8	6,0±0,5	97±1	100± 6	3,6±0,1	33±2
6	94,8± 5,7	6,3±1,0	6,1±1,5	6,8±0,5	95±1	160± 9	3,6±0,2	38±2
7	92,9± 2,3	7,4±1,6	6,3±0,9	7,2±0,5	91±1	160±10	3,6±0,1	39±10
8	100,7± 6,1	8,3±1,8	6,1±1,2	8,5±0,5	91±2	161±11	3,7±0,3	41±8
9	113,1± 6,6	10,5±2,4	6,3±0,5	10,2±0,7	91±4	163± 7	4,0±0,1	44±7
10	128,0± 9,6	10,5±1,6	6,3±0,8	11,5±0,8	86±7	165±10	4,2±0,1	46±7
11	138,1±13,2	11,4±1,4	5,6±1,1	12,4±0,9	88±7	170± 4	4,1±0,1	49±5

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μg/Kg/min.		μEq/Kg/min.			μg/Kg/min.	
1	5,5±0,5	8,9±0,5	0,41±0,04	9,3±1,7	14,5±1,3	0,36±0,04	27,7±2,7
2	6,0±0,7	8,1±1,1	0,38±0,03	9,0±0,6	14,0±1,1	0,31±0,02	25,4±2,1
3	5,0±0,4	6,5±1,1	0,30±0,05	8,4±1,0	13,1±0,9	0,29±0,02	25,1±2,2
4	4,1±0,2	5,9±0,3	0,40±0,02	8,9±0,8	14,8±0,7	0,35±0,02	24,6±4,0
5	3,8±0,2	5,0±0,7	0,55±0,03	9,0±0,5	14,8±0,9	0,33±0,03	30,5±5,5
6	5,8±0,7	5,6±1,0	0,60±0,03	9,0±0,6	15,2±1,1	0,34±0,02	30,1±7,7
7	6,7±3	5,2±0,5	0,66±0,02	8,4±0,4	14,8±0,7	0,33±0,02	35,1±7,6
8	8,3±1,7	6,0±1,0	0,82±0,05	9,1±0,5	16,0±1,4	0,38±0,04	40,7±7,2
9	11,7±2,4	7,2±0,2	1,14±0,03	10,2±0,7	18,3±1,5	0,45±0,03	48,0±5,4
10	12,4±1,8	8,1±1,1	1,45±0,10	10,9±1,0	20,9±1,4	0,53±0,02	56,6±4,6
11	15,4±1,6	7,6±1,6	1,68±0,10	12,1±1,6	23,4±2,3	0,57±0,06	65,9±1,4

Producción

N = 4

- Infusión a dosis de 0,25 mg/Kg/min.
- Infusión a dosis de 0,50 mg/Kg/min.
- ⇒ Infusión a dosis de 0,75 mg/Kg/min.
- ⇨ Infusión a dosis de 1,00 mg/Kg/min.

- Muestras 4 y 5.
- Muestras 6 y 7.
- Muestras 8 y 9.
- Muestras 10 y 11.

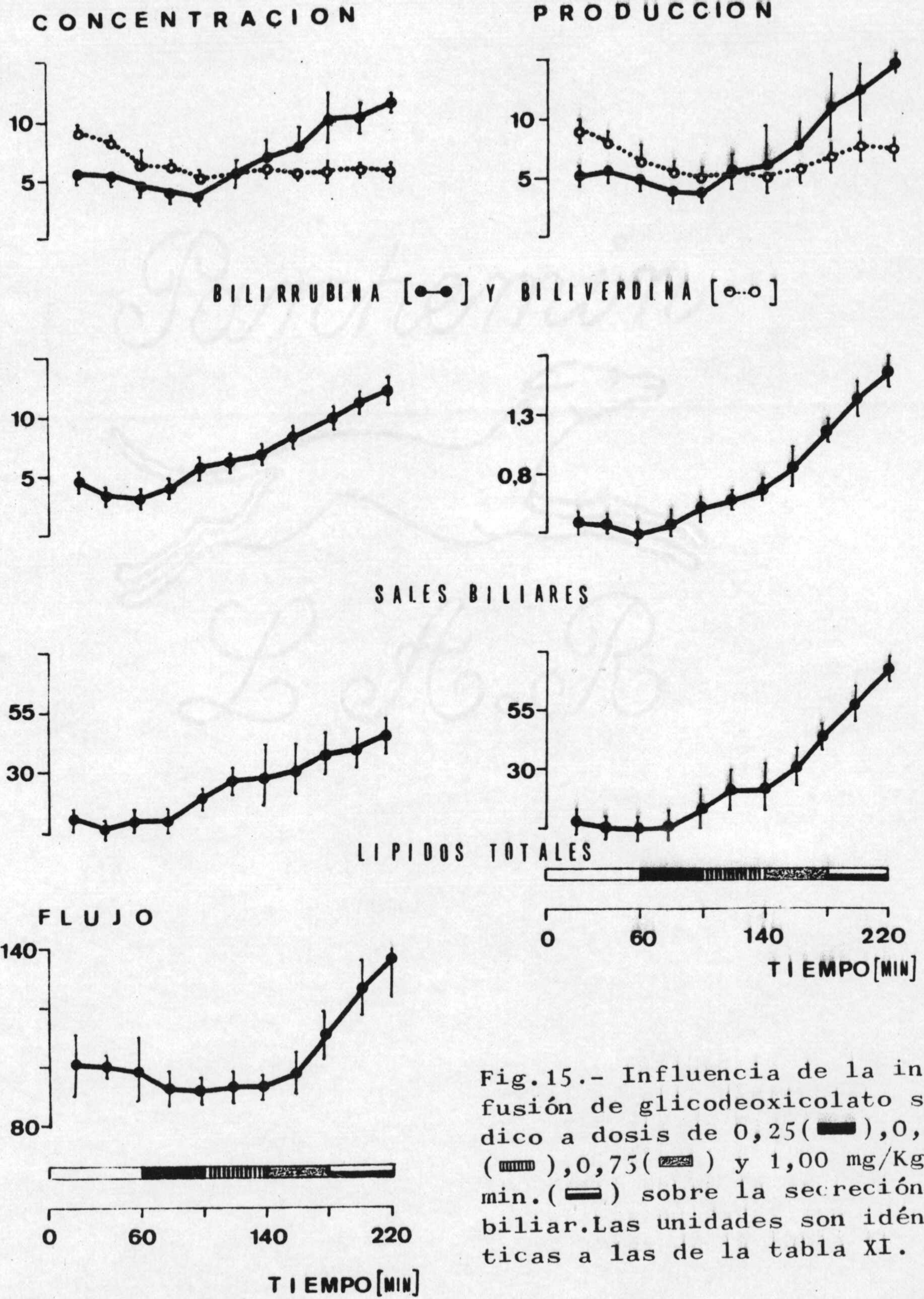


Fig.15.- Influencia de la infusión de glicodeoxicolato sódico a dosis de 0,25 (■), 0,50 (▨), 0,75 (▩) y 1,00 mg/Kg/min. (▧) sobre la secreción biliar. Las unidades son idénticas a las de la tabla XI.

Tabla XII.- Experimentos del tipo SB2. Infusión de taurocolato sódico a dosis de 0,25, 0,50, 0,75 y 1,00 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios±E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μl/Kg/min.	mg/100ml		mEq/l			mg/100ml	
1	99,7±10,9	3,1±0,4	5,4±1,1	3,9±0,2	93±2	146±4	3,7±0,4	28±1
2	104,6±17,9	3,1±0,1	5,1±1,6	3,5±0,1	90±8	139±13	3,5±0,5	21±2
3	97,5±14,9	3,0±0,2	4,7±1,0	3,6±0,5	85±9	138±9	3,4±0,3	19±2
4	99,2±16,5	3,4±0,3	4,1±0,9	3,2±0,4	93±7	141±8	3,5±0,4	22±2
5	95,2±13,7	3,2±0,6	4,1±0,9	4,6±0,5	101±3	152±6	3,6±0,4	23±2
6	99,7±15,2	2,2±0,5	5,3±1,3	4,8±0,3	94±5	151±5	3,7±0,4	26±2
7	98,8±17,0	3,3±0,7	3,8±0,9	5,1±0,4	93±3	152±8	3,6±0,4	28±2
8	104,5±16,4	2,9±0,6	3,6±0,9	7,8±0,9	95±3	159±4	3,9±0,4	26±2
9	110,1±14,4	2,6±0,4	4,2±0,6	9,8±2,0	90±4	156±7	3,8±0,4	26±2
10	114,0±15,4	3,4±1,0	3,9±0,8	11,9±2,2	91±2	161±4	3,9±0,4	30±3
11	118,2±15,2	3,7±1,0	4,0±0,5	14,8±2,5	90±2	165±5	4,1±0,3	33±1

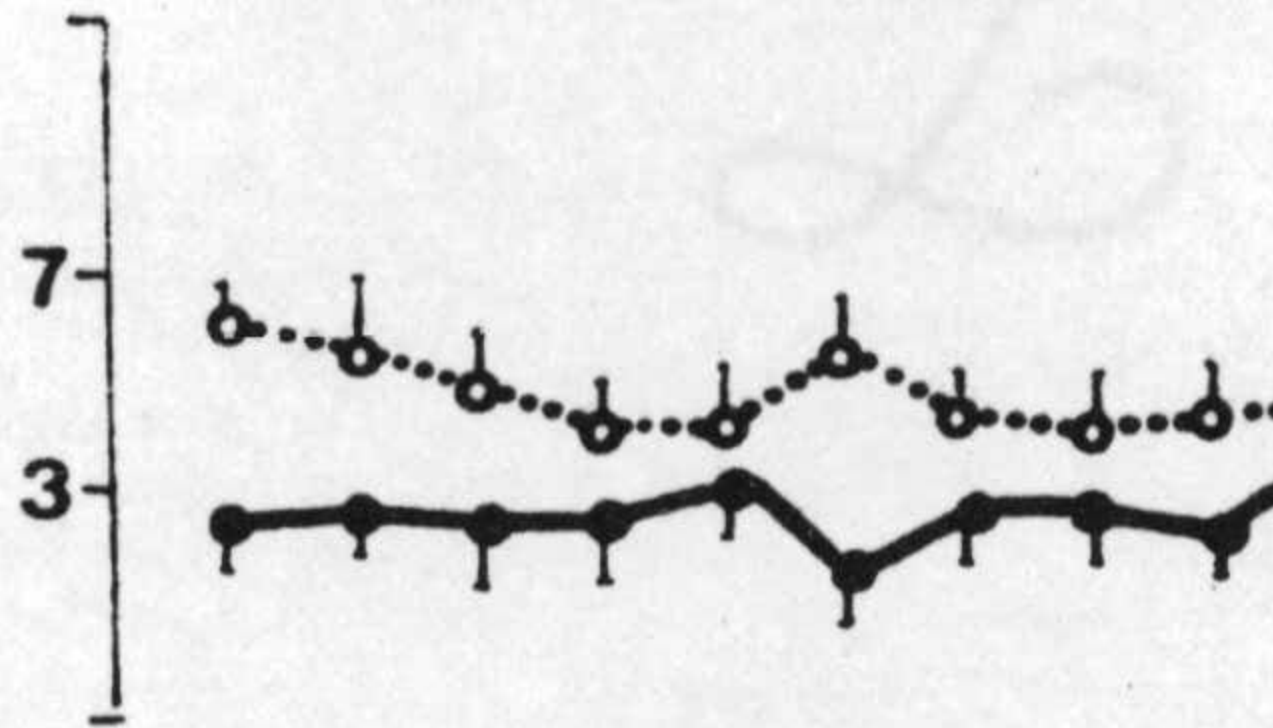
Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μg/Kg/min.		μEq/Kg/min.			μg/Kg/min.	
1	3,0±0,1	5,5±1,5	0,38±0,02	9,2±0,8	14,5±1,5	0,36±0,05	29,4±4,6
2	3,3±0,6	5,8±2,5	0,37±0,06	9,2±1,5	14,5±3,0	0,36±0,08	22,3±4,1
3	2,8±0,2	4,8±1,6	0,33±0,02	8,0±0,8	13,3±1,9	0,33±0,04	17,8±1,1
4	3,2±0,5	4,2±1,4	0,32±0,01	9,6±1,5	13,8±2,2	0,34±0,06	21,0±3,1
5	3,0±0,7	3,6±0,7	0,39±0,05	9,6±1,1	14,3±1,7	0,32±0,03	21,8±3,7
6	2,1±0,3	3,5±1,0	0,46±0,04	9,2±1,1	15,0±2,2	0,37±0,07	25,6±2,0
7	3,1±0,8	3,7±1,3	0,48±0,04	9,3±1,8	14,7±1,9	0,35±0,05	26,7±3,4
8	3,0±0,6	3,7±1,1	0,76±0,05	9,8±1,3	16,7±2,6	0,40±0,08	26,7±2,4
9	2,7±0,3	4,4±0,5	1,04±0,17	9,7±1,1	16,9±1,7	0,42±0,08	28,1±3,1
10	3,9±1,2	4,3±0,7	1,28±0,11	10,3±1,2	18,4±2,7	0,45±0,09	33,2±1,8
11	4,0±0,5	4,6±0,4	1,50±0,07	10,6±1,2	19,3±2,1	0,49±0,09	38,4±4,2

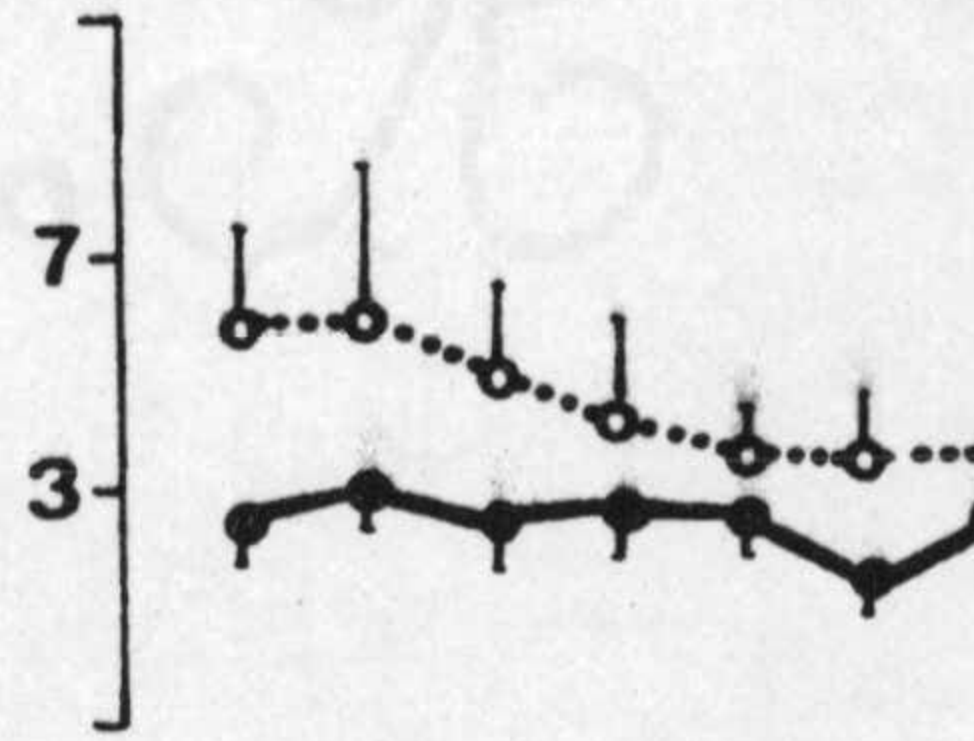
Producción

N = 4 → Infusión a dosis de 0,25 mg/Kg/min. Muestras 4 y 5.
 ⇨ Infusión a dosis de 0,50 mg/Kg/min. Muestras 6 y 7.
 ⇩ Infusión a dosis de 0,75 mg/Kg/min. Muestras 8 y 9.
 ⇨ Infusión a dosis de 1,00 mg/Kg/min. Muestras 10 y 11.

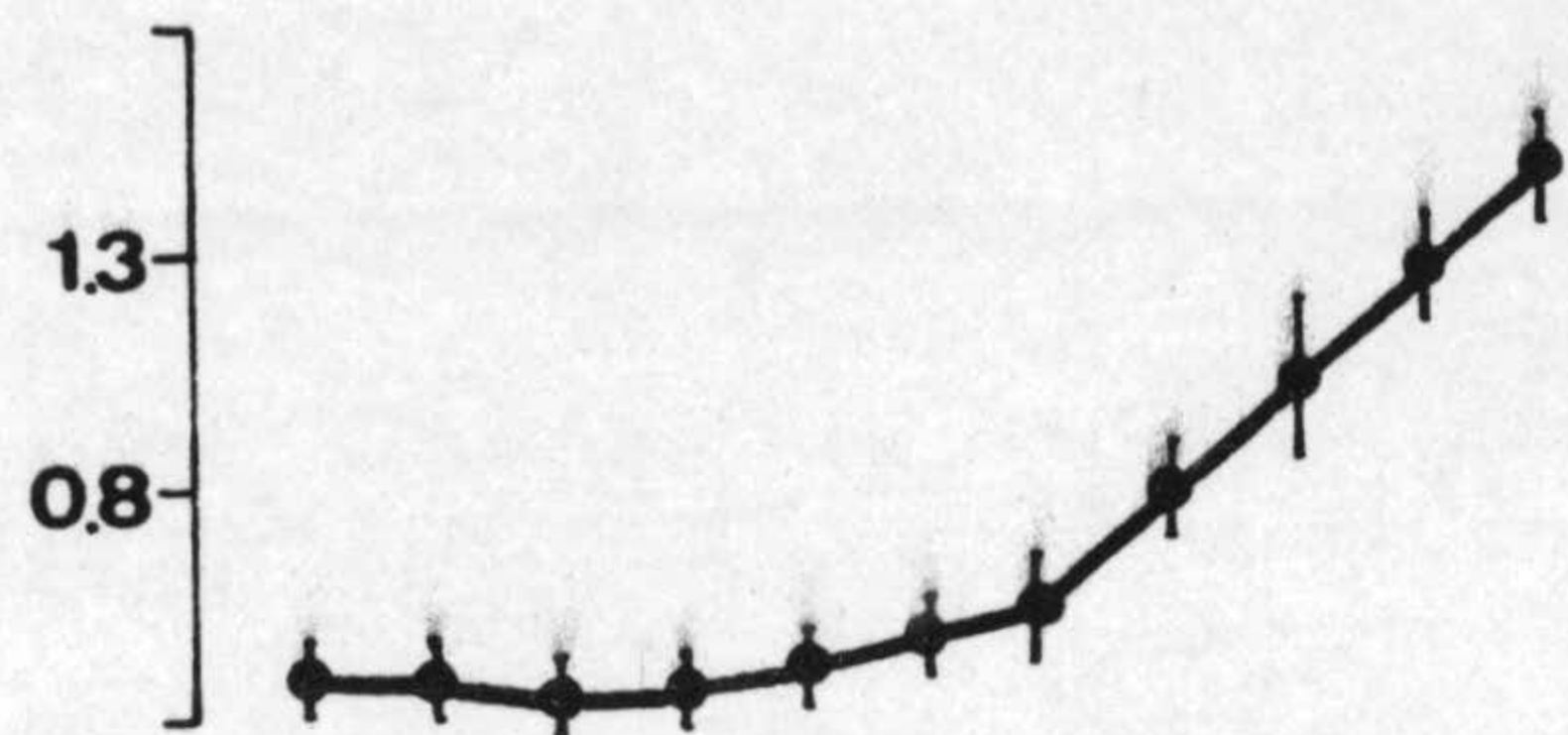
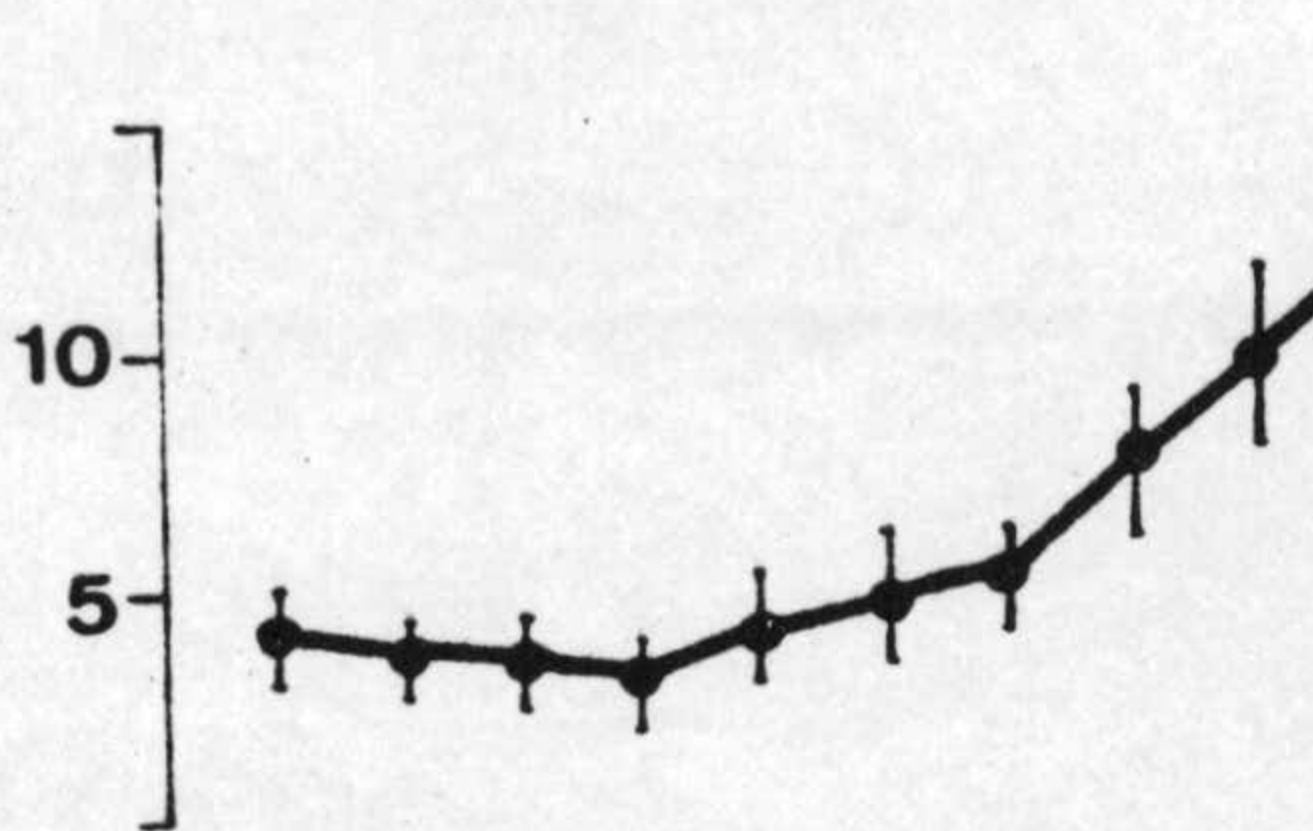
CONCENTRACION



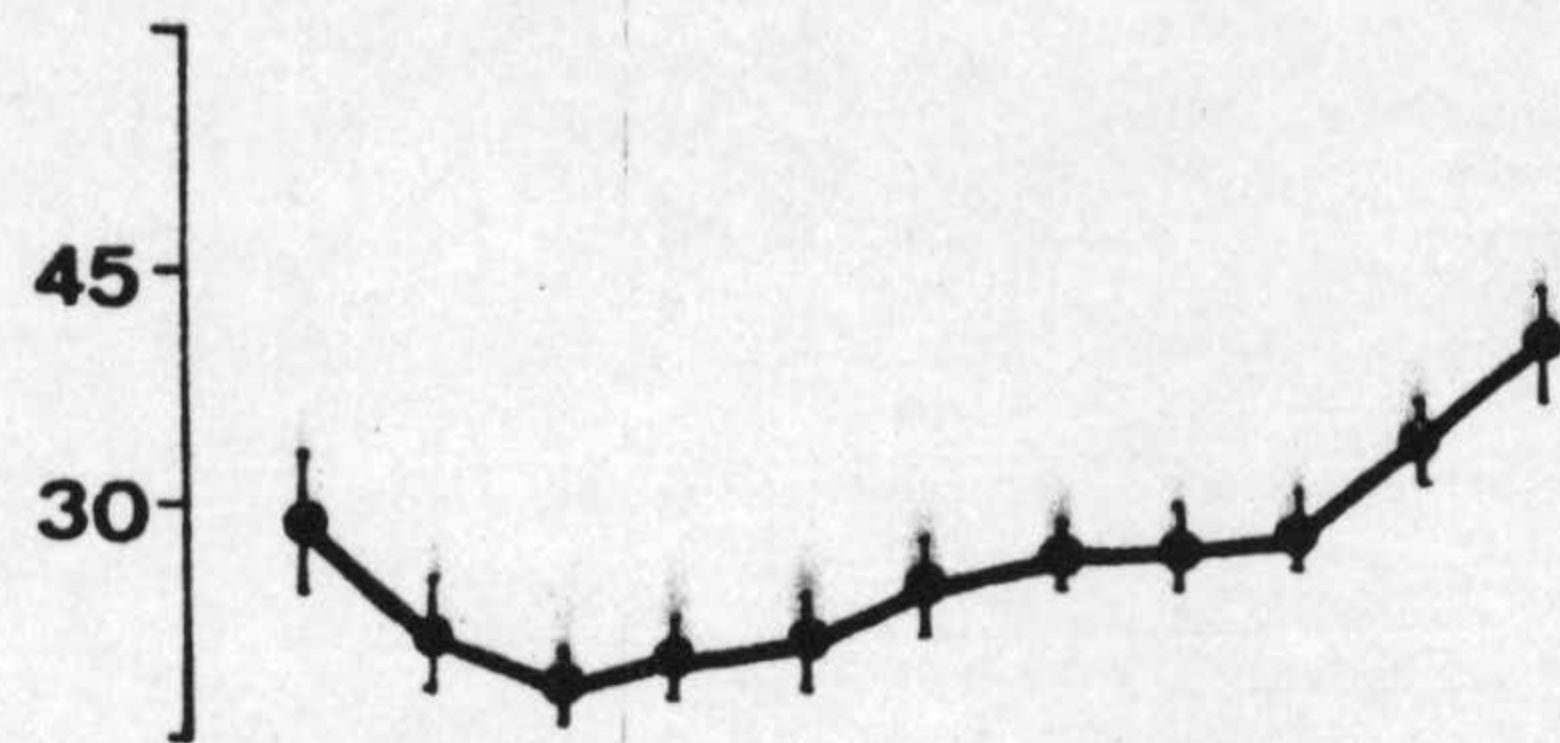
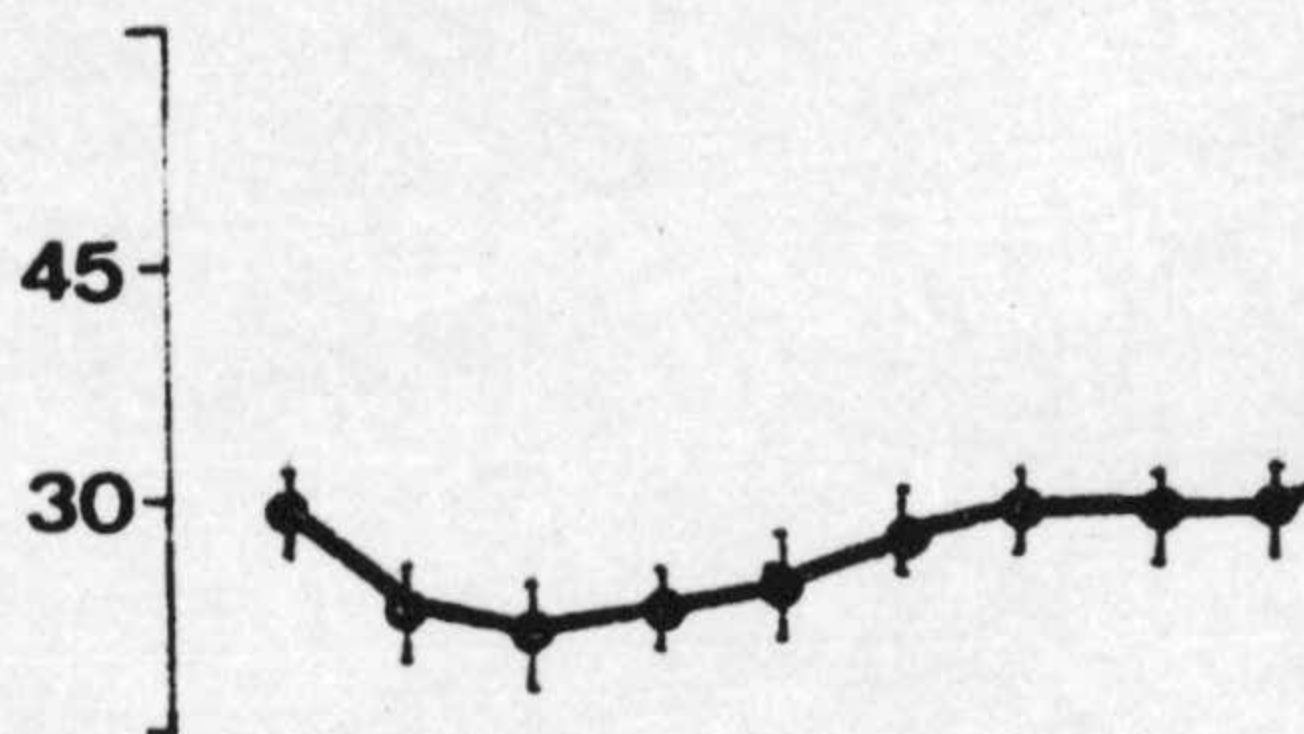
PRODUCCION



BILIRRUBINA [●-●] Y BILIVERDINA [○-○]



SALES BILIARES



LIPIDOS TOTALES

FLUJO

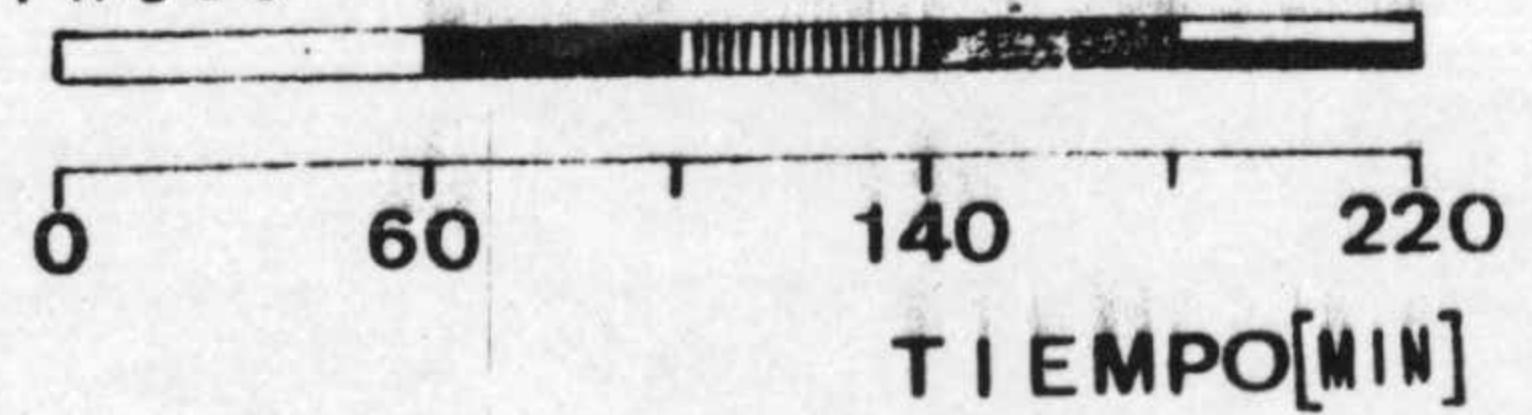
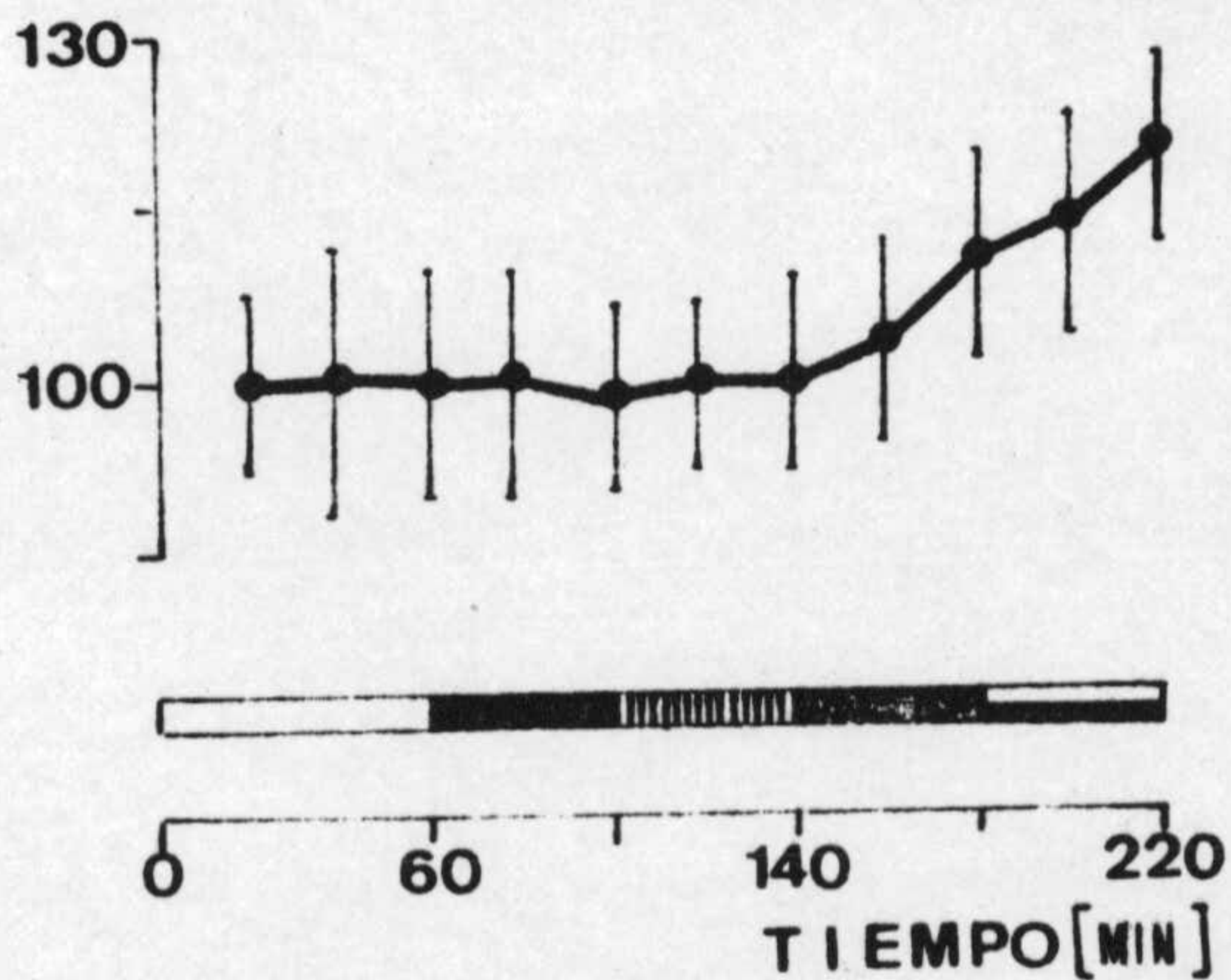


Fig.16.-Influencia de la infusión de taurocolato sódico a dosis de 0,25 (■), 0,50 (▨), 0,75 (▩) y 1,00 mg/Kg/min. (▬) sobre la secreción biliar. Las unidades son idénticas a las de la tabla XII.

N = 4

Tabla XIII.- Experimentos del tipo SB3. Infusión de dehidrocolato sódico a dosis de 0,25, 0,50, 0,75 y 1,00 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios±E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μl/Kg/min.	mg/100ml			mEq/l			mg/100ml
1	92,7±14,5	4,6±1,9	10,8±2,0	4,6±0,1	78±6	141±10	2,7±0,2	25±2
2	84,9±10,5	4,1±1,4	10,3±1,1	4,3±0,3	85±2	155±3	3,0±0,2	29±1
3	82,9±14,7	4,4±1,7	8,5±1,8	3,7±0,4	81±5	143±11	2,8±0,3	24±1
4	87,8±12,9	3,3±1,4	6,3±1,1	3,4±0,1	81±3	149±7	2,8±0,1	25±2
5	97,0±9,2	2,7±1,0	5,3±1,0	3,4±0,2	81±3	147±4	2,8±0,1	23±3
6	100,1±7,6	2,5±1,0	4,1±0,4	3,5±0,2	79±5	154±8	3,0±0,2	24±3
7	102,0±6,2	2,7±1,0	4,1±0,9	3,4±0,2	80±3	155±7	3,0±0,1	24±3
8	109,2±2,5	2,0±0,7	3,6±0,7	3,3±0,3	83±9	162±10	3,2±0,2	22±3
9	112,6±4,6	2,0±0,7	2,7±0,4	3,5±0,4	75±4	143±5	3,0±0,3	23±2
10	129,5±5,2	1,9±0,7	2,5±0,3	3,8±0,2	72±3	145±5	3,1±0,3	20±2
11	133,3±4,9	1,7±0,7	2,5±0,3	4,4±0,3	72±2	143±5	3,1±0,3	19±3

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	μg/Kg/min.			μEq/Kg/min.			μg/Kg/min.
1	4,3±1,5	9,5±1,7	0,43±0,08	7,0±0,8	12,8±1,5	0,25±0,02	24,3±3,0
2	3,4±1,2	8,5±1,2	0,37±0,07	7,3±1,0	13,2±1,8	0,26±0,03	24,3±3,5
3	3,2±1,1	6,2±0,6	0,29±0,03	6,5±0,8	11,7±1,5	0,22±0,02	20,0±3,9
4	2,8±1,2	5,7±0,5	0,30±0,03	7,1±1,0	13,2±2,2	0,26±0,03	22,7±3,3
5	2,6±1,2	4,9±0,6	0,32±0,01	7,9±0,8	14,3±1,5	0,28±0,02	22,9±3,8
6	2,5±1,1	4,1±0,3	0,36±0,02	7,9±0,6	15,4±1,2	0,28±0,01	24,2±4,1
7	2,5±1,0	4,2±0,9	0,34±0,03	8,1±0,6	15,9±1,6	0,33±0,02	25,0±3,6
8	2,2±0,8	3,9±0,8	0,36±0,02	9,1±0,9	17,8±1,3	0,33±0,02	24,5±3,6
9	2,3±0,8	3,1±0,5	0,39±0,03	8,5±0,4	15,8±0,9	0,34±0,03	26,1±2,9
10	2,4±0,9	3,3±0,5	0,46±0,03	9,0±0,5	18,4±1,1	0,39±0,03	25,2±3,8
11	2,3±0,8	3,3±0,3	0,55±0,03	9,7±0,6	19,2±1,1	0,41±0,03	25,5±3,8

Producción

N = 4

- Infusión a dosis de 0,25 mg/Kg/min. Muestras 4 y 5.
- ↔ Infusión a dosis de 0,50 mg/Kg/min. Muestras 6 y 7.
- ≡ Infusión a dosis de 0,75 mg/Kg/min. Muestras 8 y 9.
- ≡≡ Infusión a dosis de 1,00 mg/Kg/min. Muestras 10 y 11.

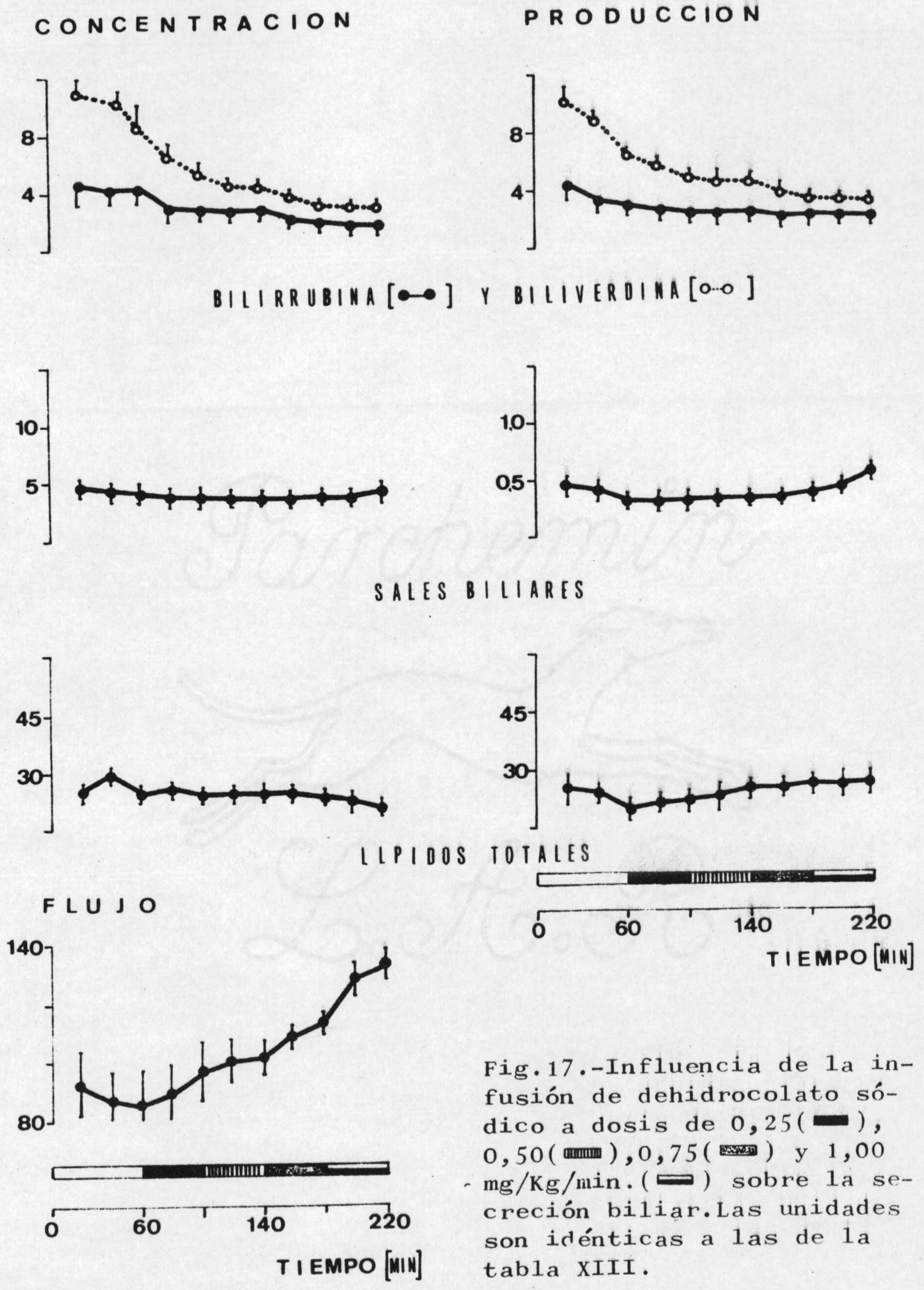


Fig.17.-Influencia de la infusión de dehidrocolato sódico a dosis de 0,25(—), 0,50(.....), 0,75(---) y 1,00 mg/Kg/min.(-·-) sobre la secreción biliar. Las unidades son idénticas a las de la tabla XIII.

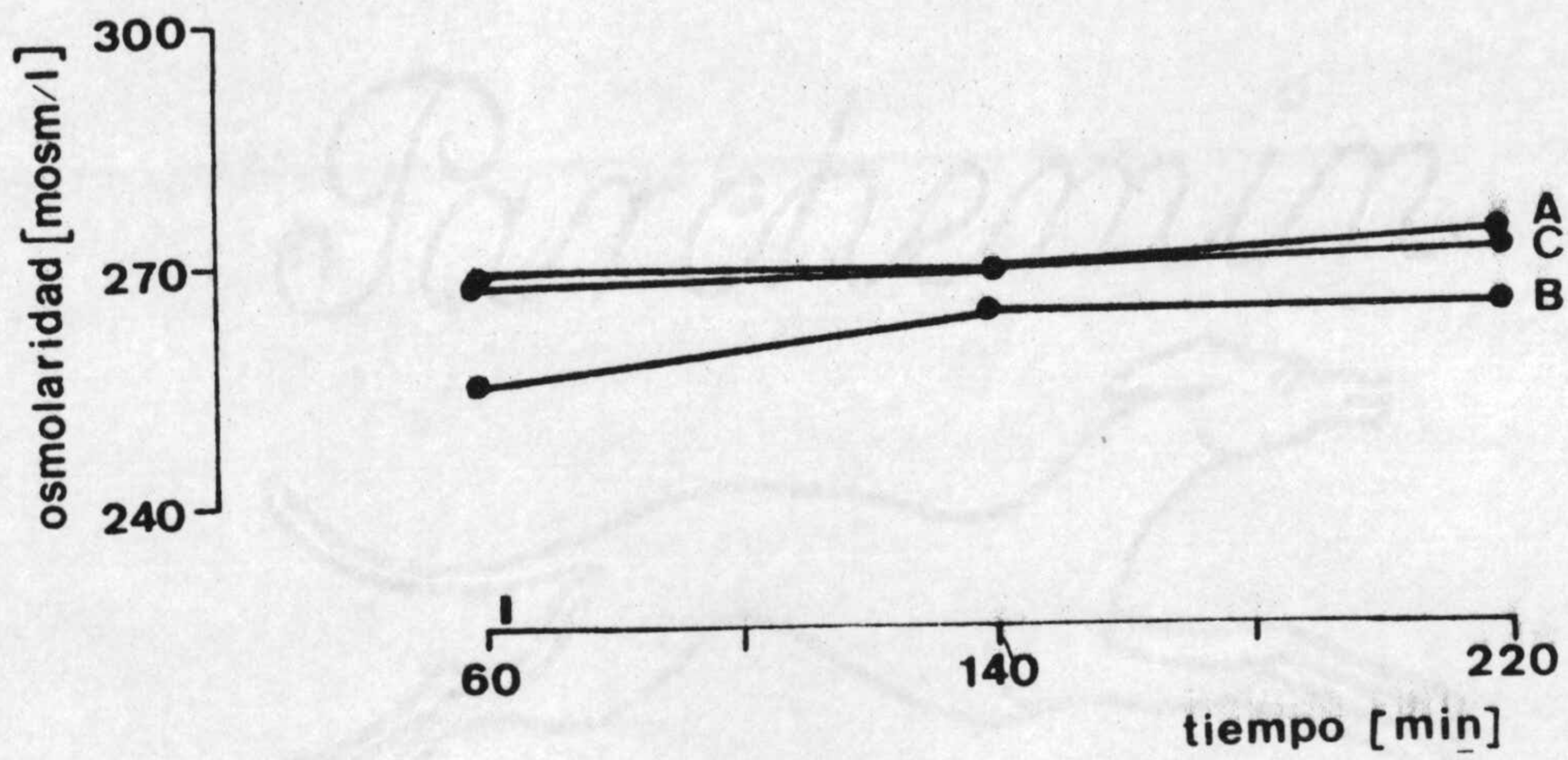


Fig.18.-Influencia de la infusión de glicodeoxicolato(A),taurocolato(B) y dehidrocolato(C) a dosis de 0,25-1,00 mg/Kg/min. sobre la osmolaridad de la bilis

| comienzo de la infusión

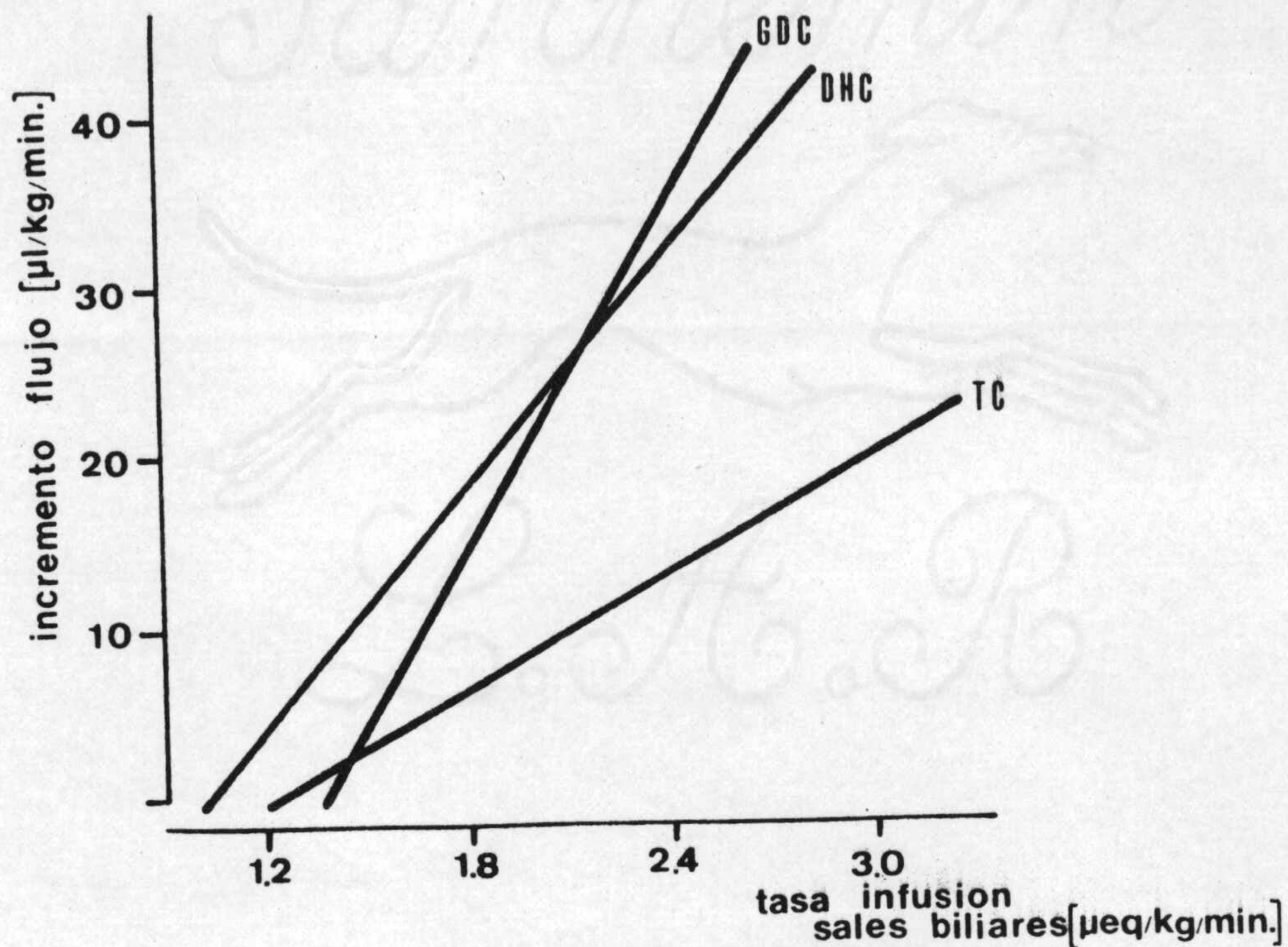


Fig.19.- Efecto colerético de la infusión de glicodeoxicolato(GDC),taurocolato(TC) y dehidrocolato(DHC).

GDC	$y = 30,9x - 40,0$	$r = 0,899$	$p < 0,001$
TC	$y = 13,4x - 15,0$	$r = 0,876$	$p < 0,001$
DHC	$y = 21,5x - 18,6$	$r = 0,684$	$p < 0,01$

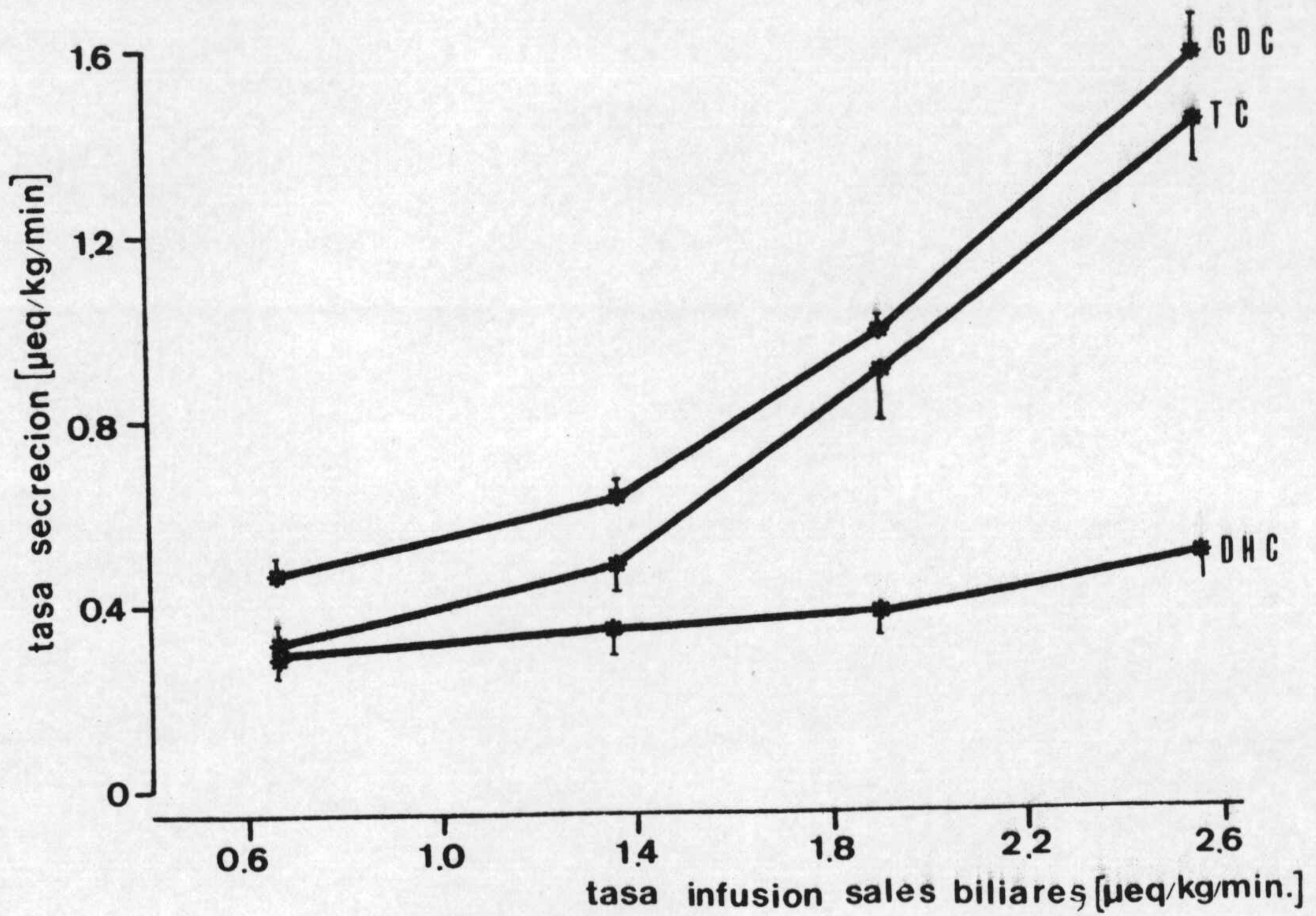


Fig.20.-Efecto de la infusión de glicodeoxicolato (GDC) sobre la tasa de secreción del mismo; de la infusión de taurocolato (TC) sobre la de glicodeoxicolato+taurocolato y de la infusión de dehidrocolato (DHC) sobre la de glicodeoxicolato+dehidrocolato.

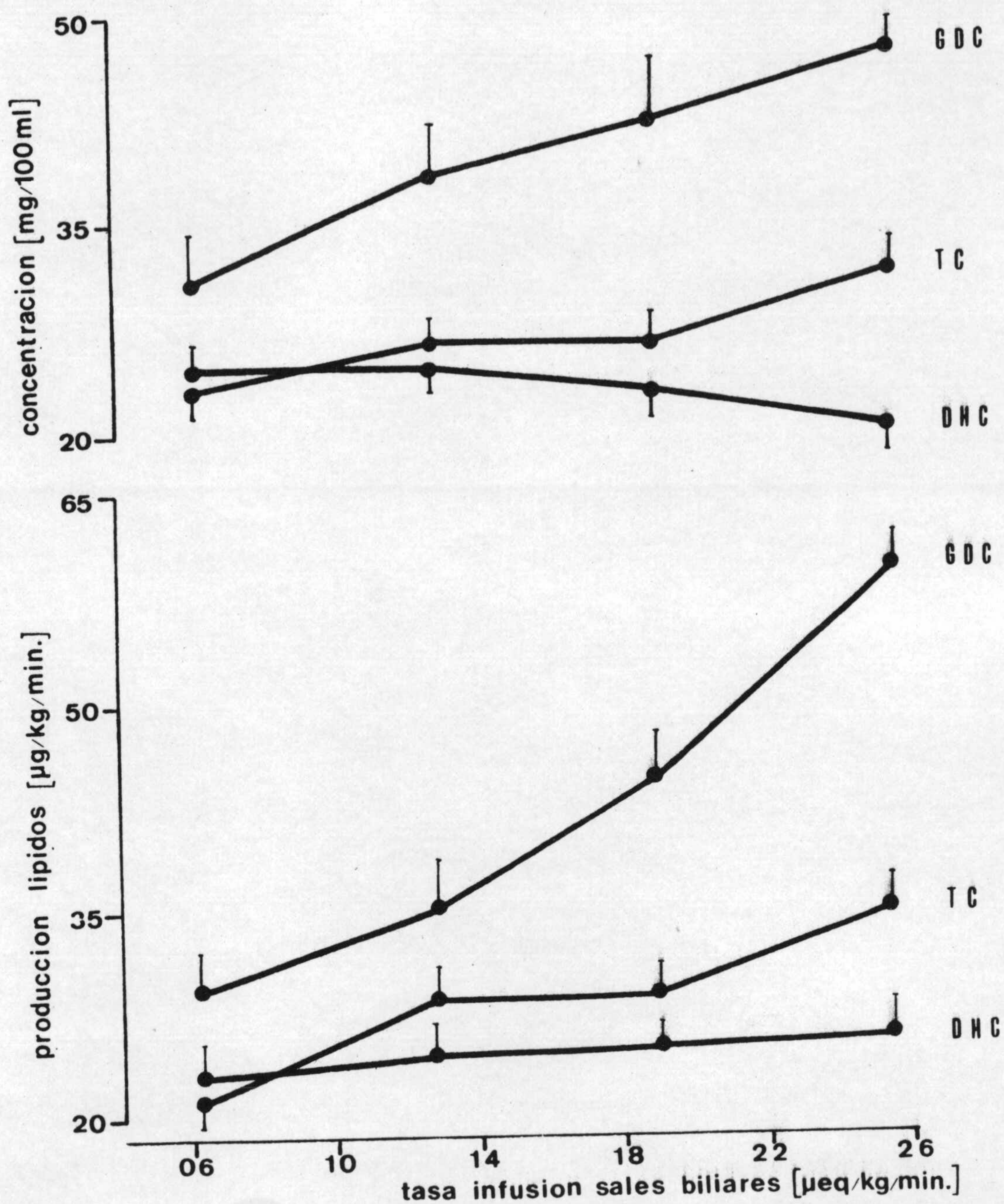


Fig.21.-Efecto de la infusión de glicodeoxicolato(GDC), taurocolato(TC) y dehidrocolato(DHC) sobre la concentración y producción en bilis de lípidos totales.

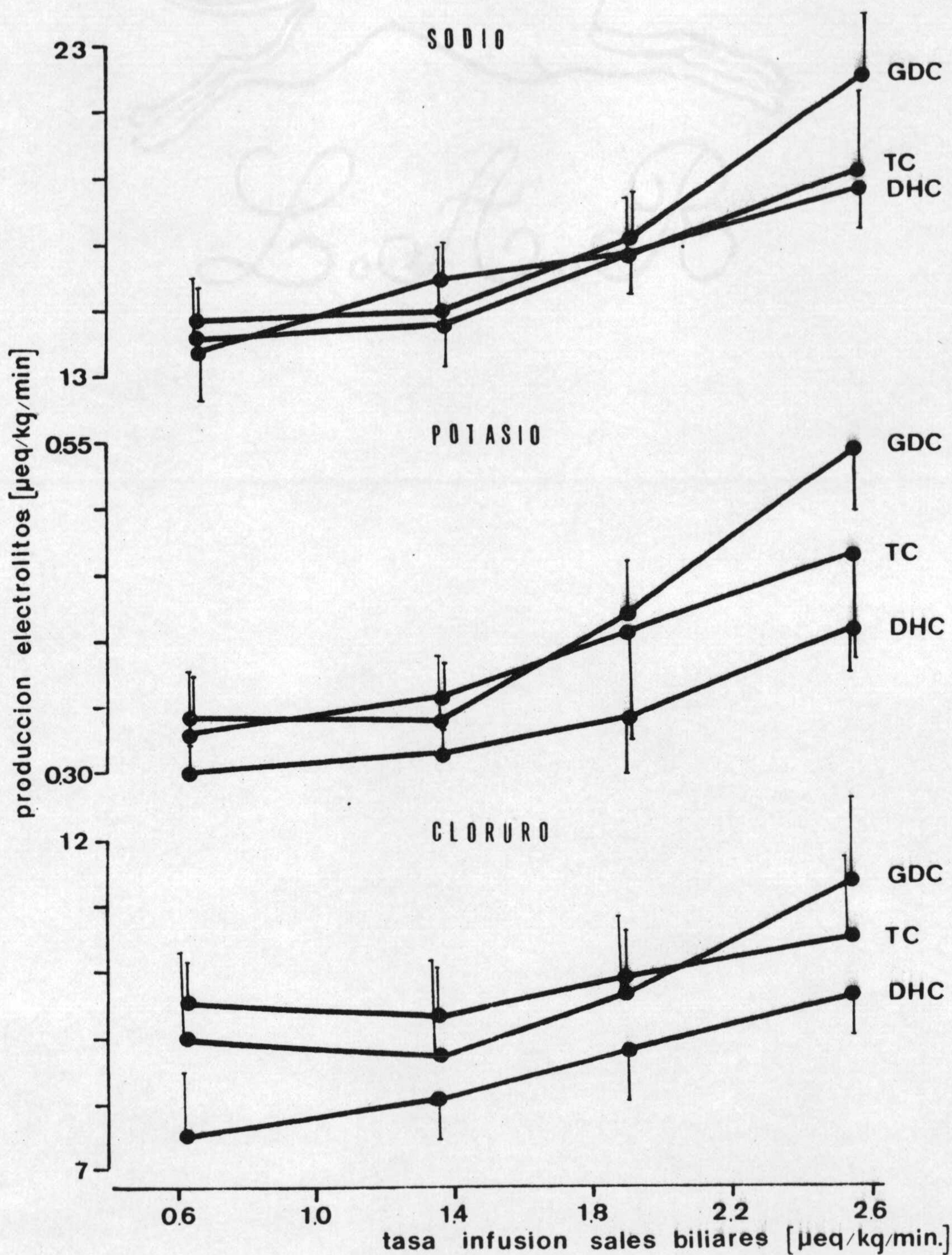


Fig.22.-Efecto de la infusión de glicodeoxicolato(GDC), taurocolato(TC) y dehidrocolato(DHC) sobre la producción biliar de sodio,potasio y cloruro.

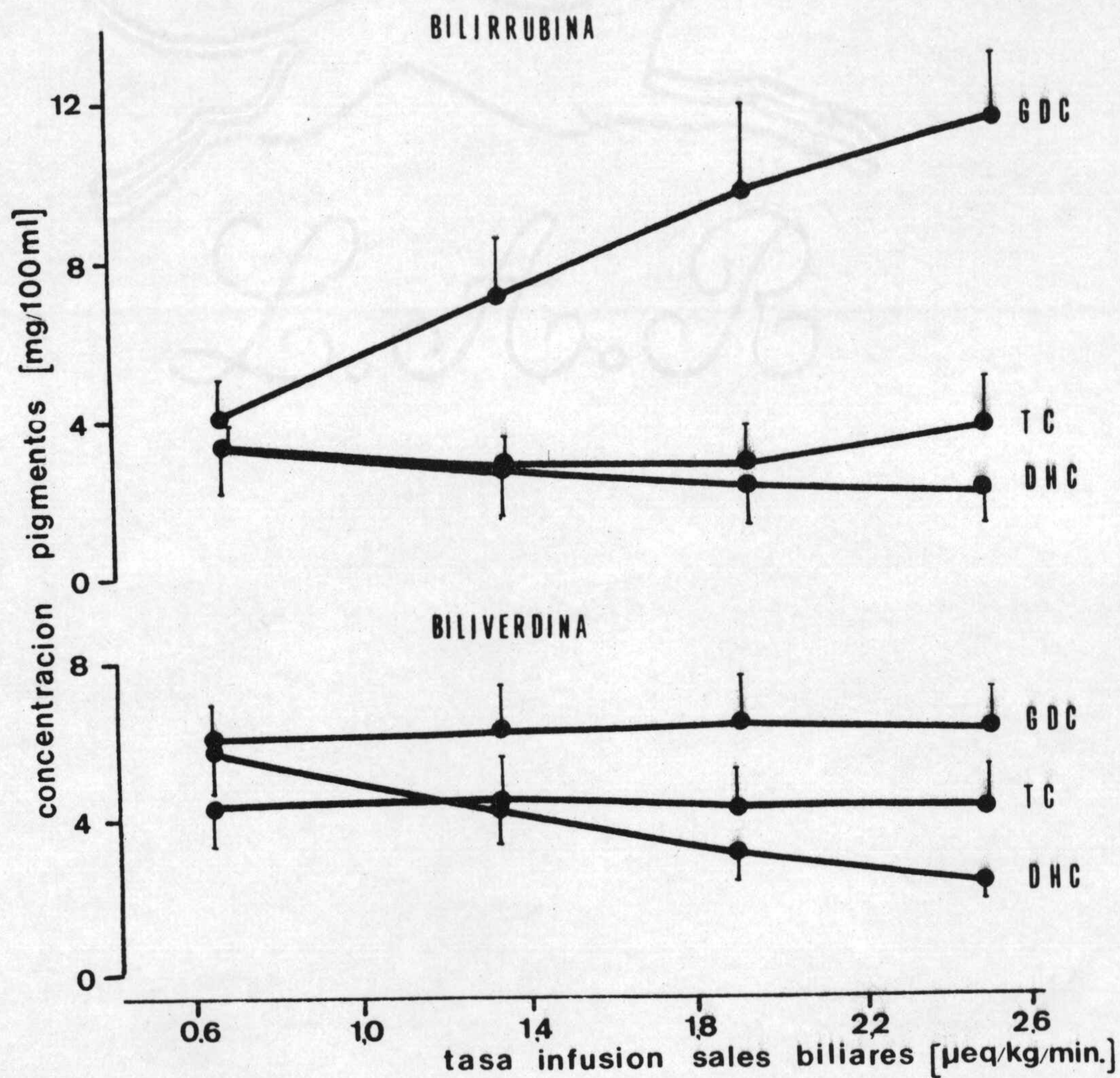


Fig.23.-Efecto de la infusión de glicodeoxicolato(GDC), taurocolato(TC) y dehidrocolato(DHC) sobre la concentración de bilirrubina y biliverdina en bilis.

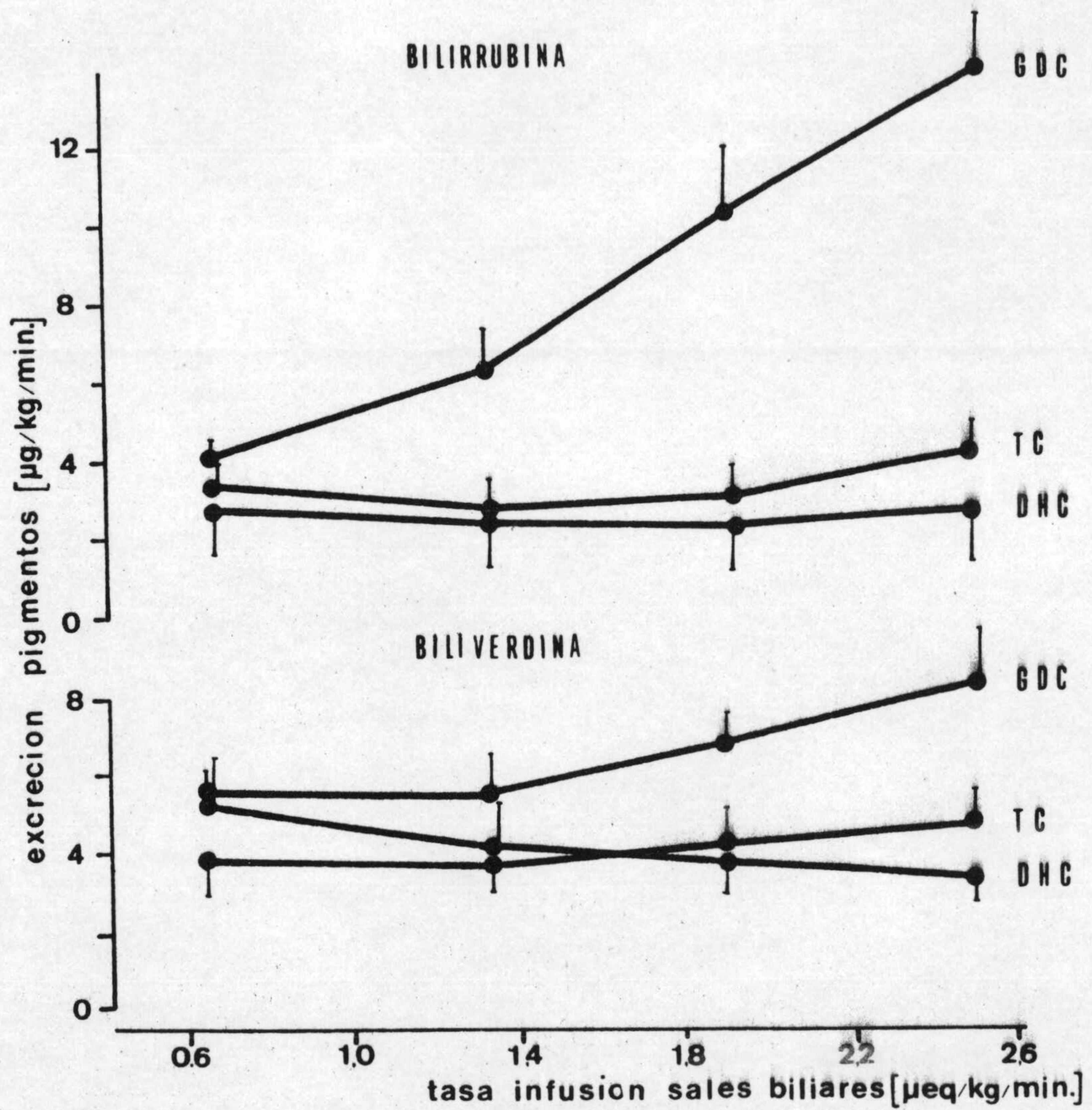


Fig.24.- Efecto de la infusión de glicodeoxicolato(GDC), taurocolato(TC) y dehidrocolato(DHC) sobre la excreción de bilirrubina y biliverdina en bilis.

Tabla XIV.- Experimentos del tipo BRS1. Infusión de bilirrubina a dosis de 0,60 mg/Kg peso corporal/min. y glicodeoxicolato sódico a dosis de 0,85 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios±E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	ul/Kg/min.	mg/100ml			mEq/l			mg/100ml
1	88,2± 8,9	7,4± 2,0	10,7±1,9	4,2±0,2	86±1	153±6	2,9±0,3	28±3
2	89,0± 2,5	7,2± 2,3	7,2±0,7	4,3±0,2	87±3	146±3	2,8±0,1	29±3
3	88,1±10,4	6,7± 2,4	7,1±1,1	4,2±0,6	88±0	142±6	2,8±0,2	28±5
4	79,1± 9,1	113,0±14,7	7,3±0,9	3,5±0,4	89±3	151±6	2,9±0,3	28±4
5	76,7±10,6	437,9±56,6	10,0±1,6	3,2±0,5	94±5	165±3	3,3±0,2	25±2
6	66,3± 6,6	487,5±26,8	12,3±2,8	3,2±0,6	92±4	168±2	3,5±0,2	26±1
7	81,5±12,6	468,5±34,5	12,9±1,7	5,7±0,9	87±3	164±5	3,7±0,3	33±1
8	90,0±12,3	473,5±40,5	11,7±1,9	9,8±0,5	86±3	161±9	3,7±0,4	38±2
9	90,9±12,0	484,0±34,6	12,6±2,0	10,3±0,6	84±2	163±8	3,9±0,2	40±1

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	ug/Kg/min.			uEq/Kg/min.			ug/Kg/min.
1	5,8± 1,4	9,2±1,4	0,42±0,06	7,6±0,6	13,3±0,8	0,25±0,02	24,5±3,4
2	6,1± 1,6	6,3±0,5	0,40±0,04	7,8±1,2	12,9±1,3	0,25±0,02	26,0±5,6
3	5,4± 1,5	6,0±0,3	0,35±0,02	7,8±0,9	12,4±1,1	0,24±0,01	24,9±5,7
4	93,1±22,0	5,6±0,4	0,27±0,03	7,0±0,6	11,8±0,9	0,22±0,01	21,7±3,3
5	318,2± 4,1	7,3±0,9	0,24±0,04	7,3±1,3	12,6±1,7	0,25±0,02	18,8±1,2
6	310,5±12,7	7,7±1,4	0,20±0,03	8,0±2,5	11,1±1,2	0,23±0,02	17,2±1,7
7	369,4±32,4	10,0±1,0	0,50±0,14	7,0±0,9	13,2±1,7	0,29±0,03	26,9±4,6
8	403,8±18,7	10,0±0,8	0,86±0,09	7,7±1,1	14,2±1,2	0,32±0,02	33,6±3,4
9	426,6±34,6	10,9±1,1	0,92±0,09	7,7±1,1	14,6±1,4	0,35±0,03	36,5±5,4

Producción

N = 4

→ Infusión de bilirrubina. Muestras 4 a 9.

⇒ Infusión de glicodeoxicolato. Muestras 7 a 9.

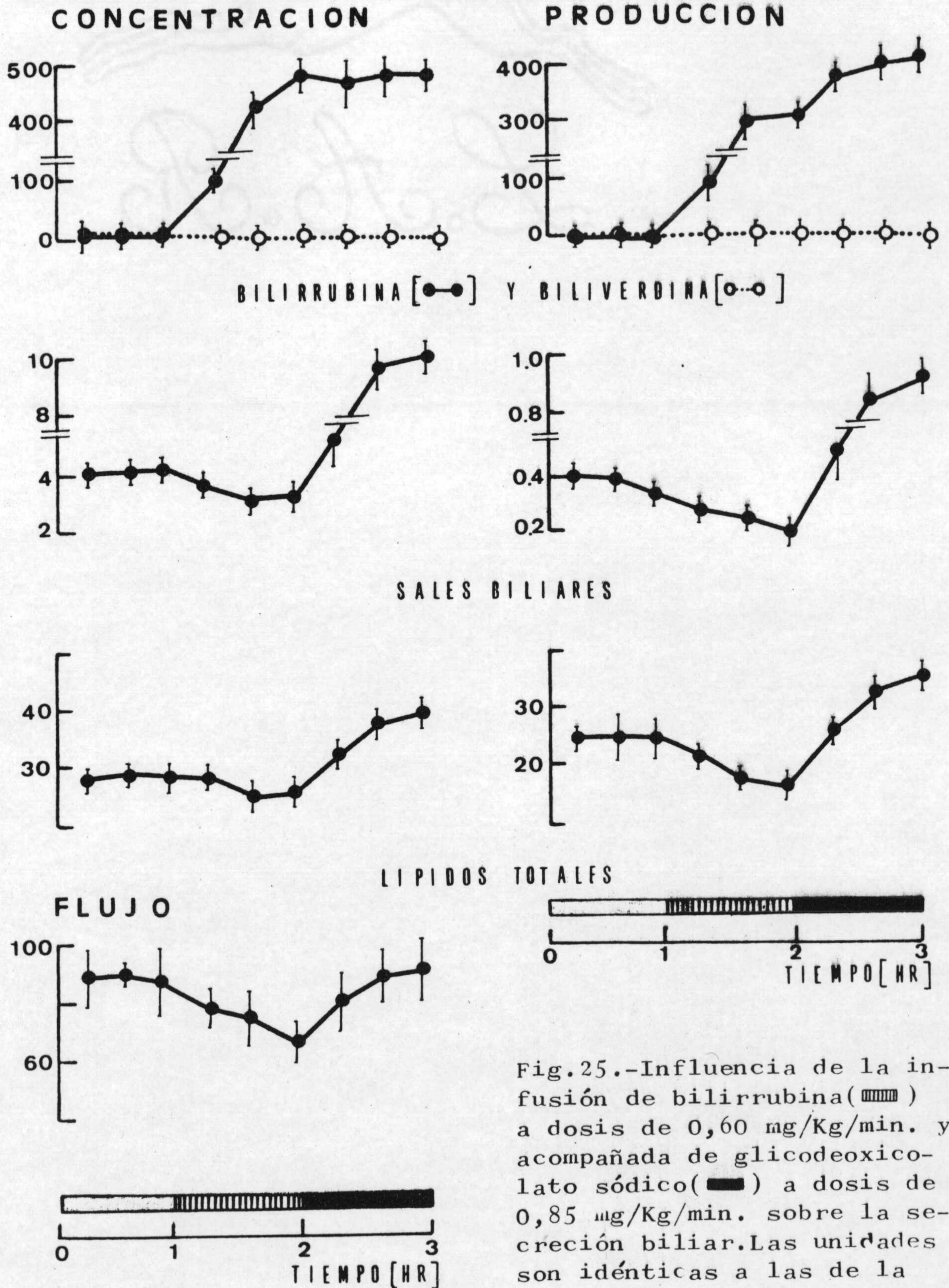


Fig.25.-Influencia de la infusión de bilirrubina(▨) a dosis de 0,60 mg/Kg/min. y acompañada de glicodeoxicolato sódico(■) a dosis de 0,85 mg/Kg/min. sobre la secreción biliar.Las unidades son idénticas a las de la tabla XIV.

Tabla XV.- Experimentos del tipo BRS2. Infusión de bilirrubina a dosis de 0,60 mg/Kg peso corporal/min. y taurocolato sódico a dosis de 0,85 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios±E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	ul/kg/min.	mg/100ml			mEq/l			mg/100ml
1	106,5±6,0	4,4± 1,1	8,2±1,6	4,8±0,4	92±2	153± 7	3,5±0,2	25±1
2	91,6±5,4	3,9± 1,4	7,7±1,6	4,8±0,6	87±4	159± 7	3,7±0,1	22±2
3	91,3±5,7	3,1± 0,7	7,4±1,5	4,0±0,3	92±7	142±10	3,5±0,2	22±3
4	82,3±3,0	115,8±12,9	7,0±1,1	3,8±0,6	101±6	158± 4	3,6±0,1	23±3
5	72,8±4,7	372,5±8,5	8,0±1,5	3,3±0,4	99±5	155±12	3,4±0,3	25±3
6	62,9±2,8	526,4±12,3	8,0±1,9	3,1±0,6	98±5	152±11	3,5±0,3	25±5
7	67,5±2,6	502,8± 7,8	9,8±1,3	7,8±0,6	112±18	169± 5	3,6±0,4	27±4
8	78,4±2,4	512,2±20,1	7,6±0,9	13,3±0,5	91±8	169± 4	4,1±0,2	30±3
9	79,4±1,4	513,1±27,0	8,5±1,0	13,3±0,6	94±4	165±2	4,0±0,2	29±4

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	ug/Kg/min.			uEq/Kg/min.			ug/Kg/min.
1	4,7± 1,3	8,7±1,7	0,52±0,06	9,8±0,5	16,5±1,4	0,38±0,03	26,0±1,4
2	3,6± 1,4	6,8±1,3	0,43±0,02	8,0±0,5	14,4±0,5	0,34±0,02	20,0±2,3
3	2,8± 0,5	6,5±1,6	0,37±0,02	8,4±0,5	13,5±1,2	0,32±0,03	20,2±3,3
4	96,5±11,8	5,3±0,8	0,31±0,04	8,3±0,5	10,1±2,9	0,29±0,02	18,9±2,7
5	323,2±15,9	5,8±1,3	0,24±0,02	7,3±0,6	11,3±1,1	0,25±0,03	18,3±2,3
6	341,6± 8,2	6,2±1,6	0,19±0,03	6,2±0,4	9,6±0,9	0,22±0,02	15,8±2,9
7	352,0±12,9	6,7±1,2	0,51±0,05	6,3±0,5	11,4±0,3	0,24±0,02	17,9±2,7
8	404,2± 7,6	7,1±1,2	1,04±0,04	7,1±0,6	13,2±0,3	0,32±0,01	23,1±2,1
9	406,4±14,1	6,8±0,8	1,06±0,04	7,4±0,3	13,2±0,3	0,31±0,01	23,1±3,5

Producción

N = 4

--Infusión de bilirrubina. Muestras 4 a 9.
 ==Infusión de taurocolato. Muestras 7 a 9

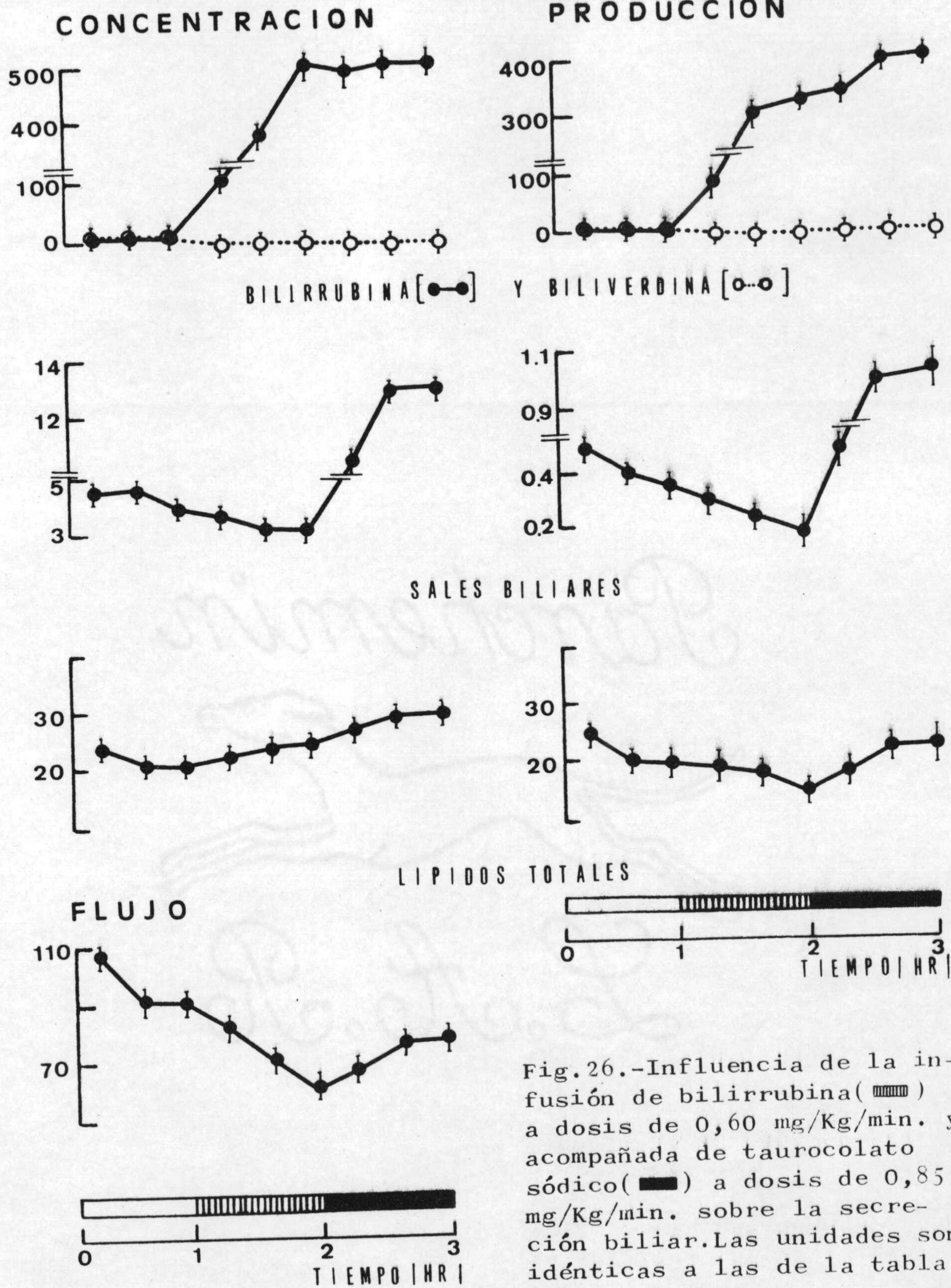


Fig.26.-Influencia de la infusión de bilirrubina (▨) a dosis de 0,60 mg/Kg/min. y acompañada de taurocolato sódico (■) a dosis de 0,85 mg/Kg/min. sobre la secreción biliar. Las unidades son idénticas a las de la tabla XV.

N = 4

Tabla XVI.- Experimentos del tipo BRS3. Infusión de bilirrubina a dosis de 0,60 mg/Kg peso corporal/min. y dehidrocolato sódico a dosis de 0,85 mg/Kg peso corporal/min. Valores medios±E.E.M. de flujo, concentración y producción de bilirrubina, biliverdina, sales biliares, cloruro, sodio, potasio y lípidos totales.

m	Flujo	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	ul/Kg/min.	mg/100ml			mEq/l			mg/100ml
1	102,9±8,4	5,6± 0,9	8,3±1,0	5,0±0,4	87±7	148±5	2,9±0,3	25±2
2	106,9±7,2	5,2± 0,7	7,0±1,8	5,0±0,9	86±11	131±13	3,0±0,2	25±2
3	103,9±10,0	3,9± 0,3	4,2±1,6	3,9±0,6	91±4	138±4	3,1±0,4	23±5
4	98,8±7,2	74,5±13,8	6,4±1,0	3,8±0,8	91±7	140±14	2,9±0,4	20±3
5	87,1±6,4	353,5±29,8	7,0±0,8	3,9±0,4	96±2	152±7	3,2±0,2	21±3
6	83,1±6,4	402,9±34,9	9,8±2,2	3,8±0,4	101±3	169±6	3,5±0,2	22±3
7	89,5±8,6	421,5±38,6	9,6±2,0	4,1±0,4	97±3	167±6	3,3±0,3	24±2
8	99,8±9,4	439,0±26,7	9,0±1,4	5,0±0,5	93±2	173±5	3,7±0,1	24±3
9	101,3±9,2	427,4±32,5	9,2±2,3	5,4±0,4	90±3	170±6	3,8±0,1	23±3

Concentración

m	Br	Bv	SB	Cl	Na	K	LT
	ug/Kg/min.			uEq/Kg/min.			ug/Kg/min
1	5,9± 1,3	8,2±0,7	0,50±0,01	8,8±0,5	15,4±1,5	0,30±0,04	25,3±2,3
2	5,5± 0,8	6,2±1,0	0,51±0,07	9,0±0,9	13,8±1,2	0,32±0,03	26,4±2,5
3	4,1± 0,6	5,2±0,8	0,37±0,04	9,4±0,6	14,3±1,3	0,32±0,05	23,1±5,3
4	75,2±17,9	6,2±0,7	0,37±0,06	8,9±0,7	14,0±2,1	0,30±0,06	19,6±2,4
5	303,4±12,2	7,0±1,5	0,33±0,02	8,4±0,7	13,3±1,5	0,28±0,04	18,4±3,0
6	331,6±18,0	8,2±1,1	0,31±0,02	8,4±0,6	14,0±1,0	0,29±0,02	17,9±2,5
7	365,4±13,0	8,1±1,3	0,37±0,02	9,4±1,4	14,9±1,9	0,29±0,02	21,2±1,1
8	431,7±19,9	8,7±0,9	0,49±0,05	9,2±0,8	16,1±1,7	0,37±0,04	23,1±2,4
9	424,5± 8,8	8,7±1,5	0,54±0,05	9,1±0,8	17,3±1,8	0,39±0,03	24,1±1,0

Producción

N = 4

→ Infusión de bilirrubina. Muestras 4 a 9.

⇒ Infusión de dehidrocolato. Muestras 7 a 9.

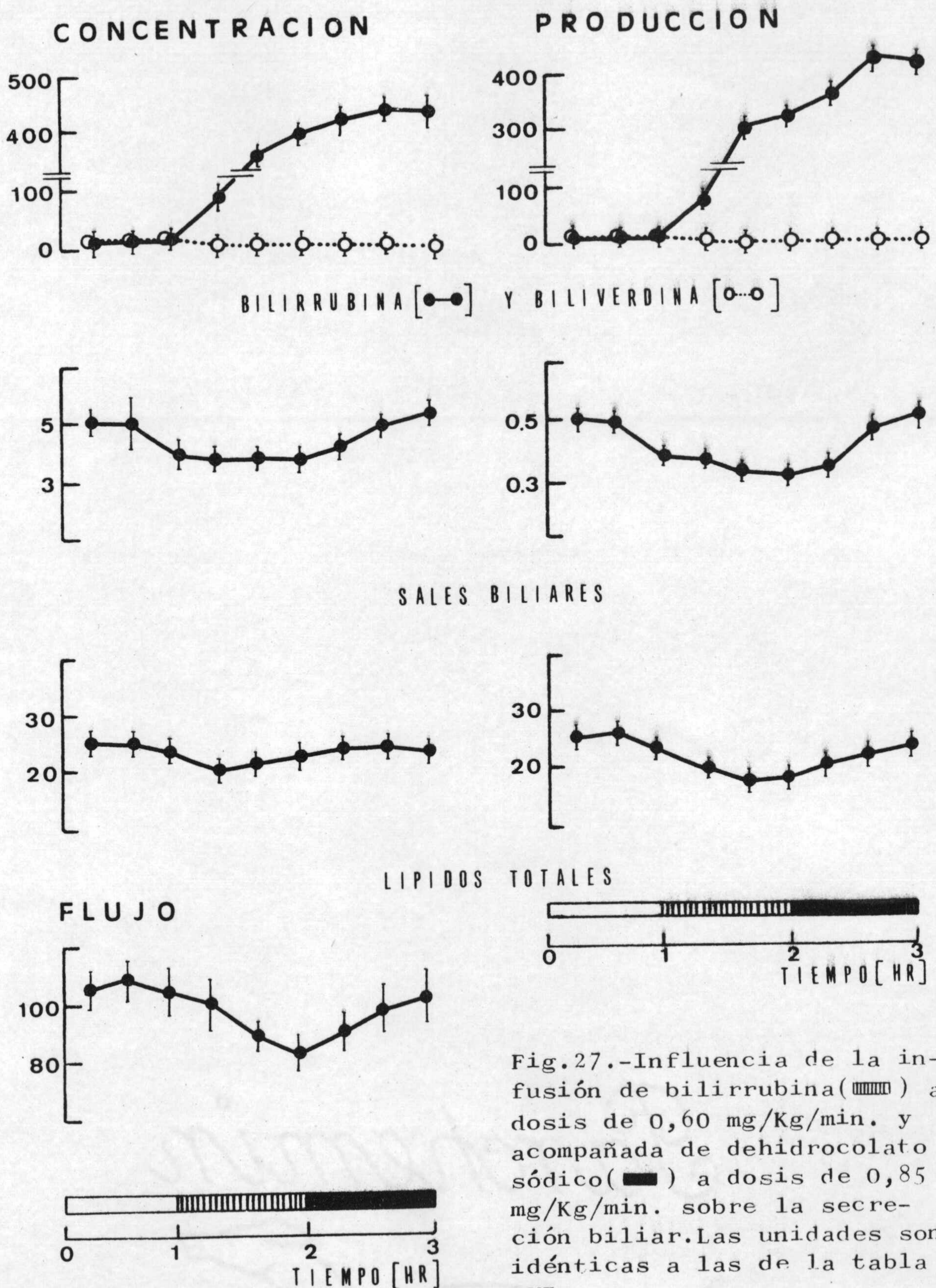


Fig.27.-Influencia de la infusión de bilirrubina(▨) a dosis de 0,60 mg/Kg/min. y acompañada de dehidrocolato sódico(■) a dosis de 0,85 mg/Kg/min. sobre la secreción biliar.Las unidades son idénticas a las de la tabla XVI.

N = 4

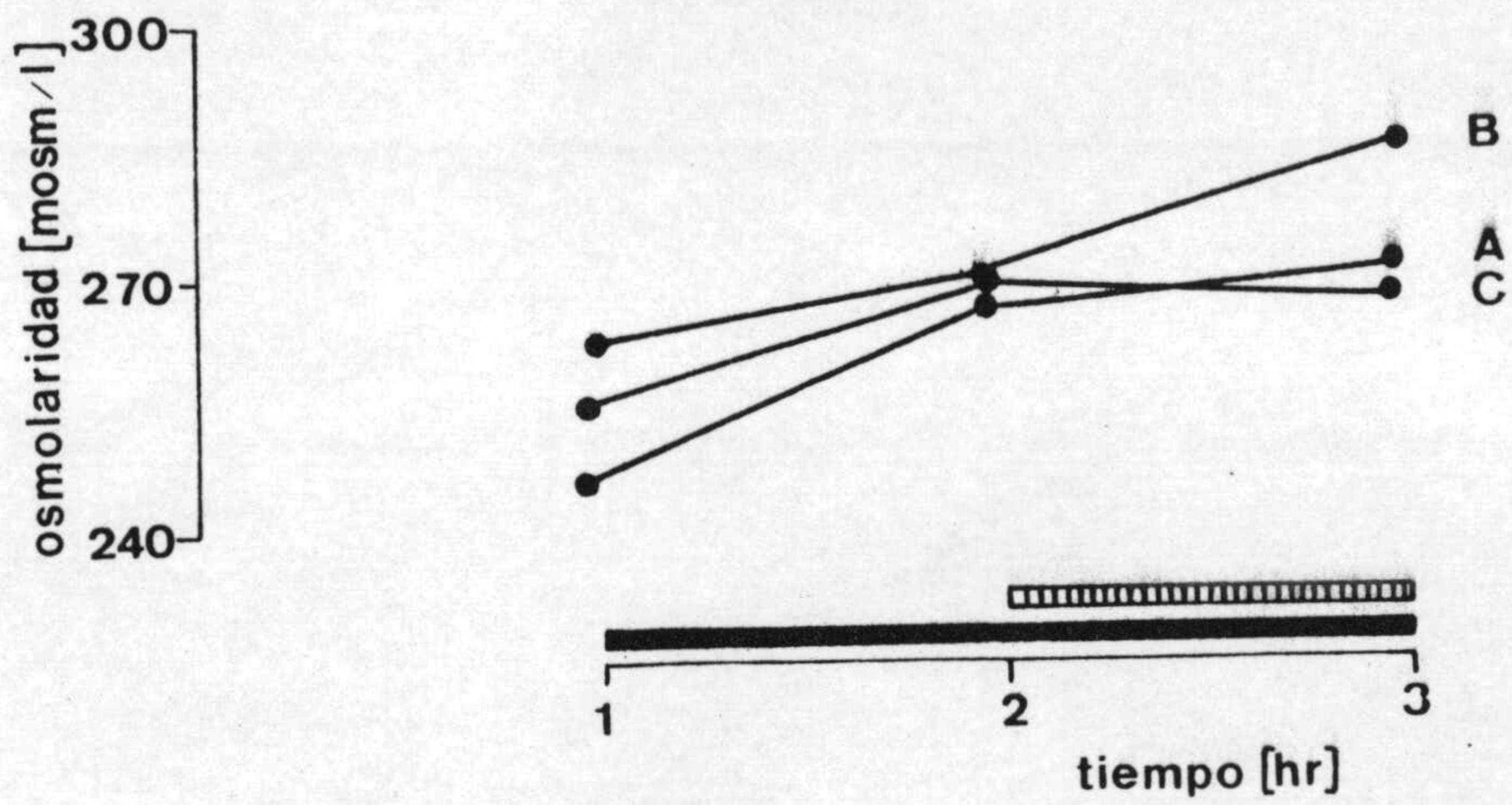


Fig.28.-Influencia de la infusión de bilirrubina a dosis de 0,60 mg/Kg/min. y acompañada de glicodeoxicolato(A),taurocolato(B) y dehidrocolato(C) sobre la osmolaridad de la bilis.
infusión de bilirrubina. —
infusión de sal biliar. ▨

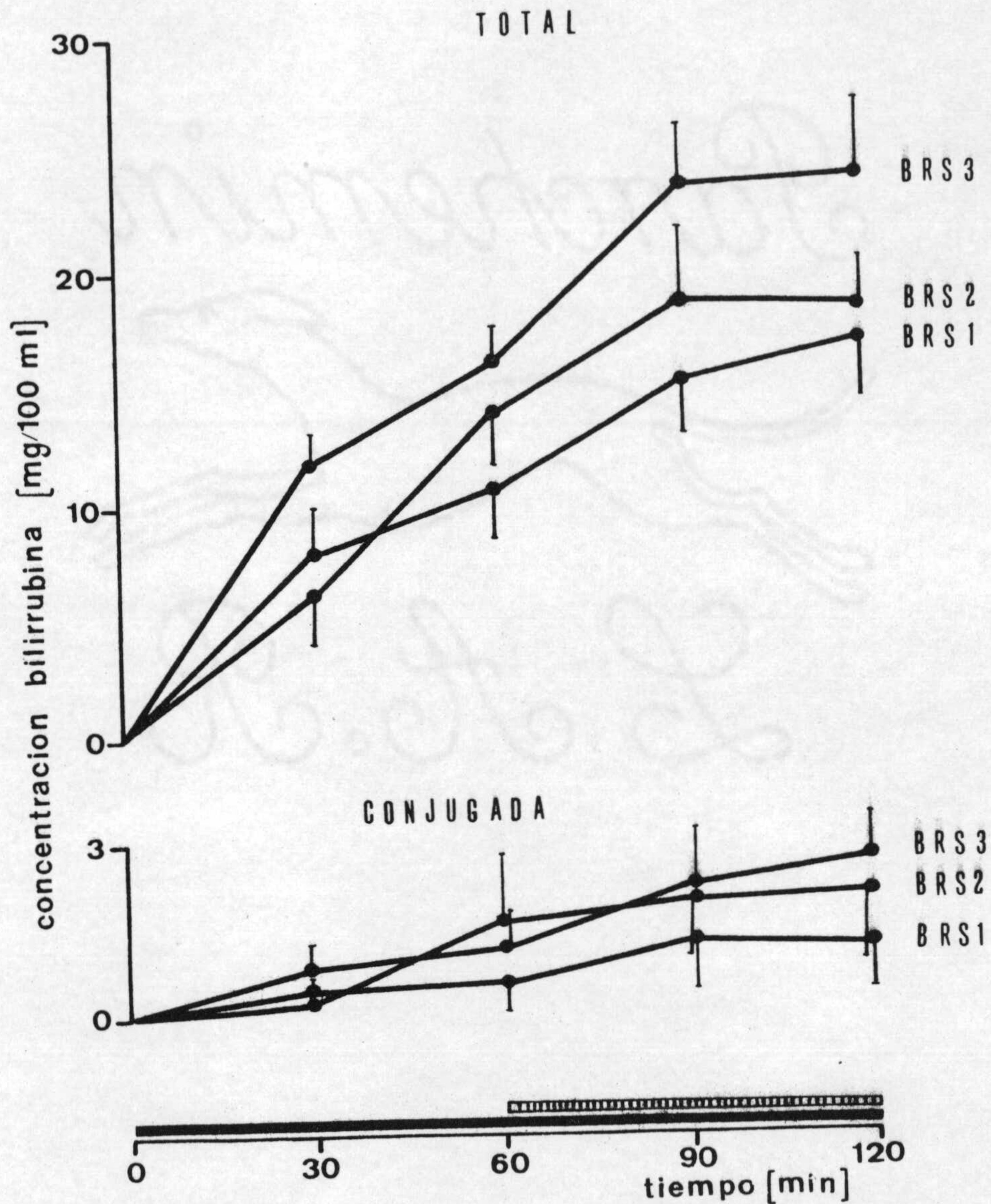


Fig.29.- Niveles séricos de bilirrubina durante la infusión de la misma a dosis de 0,60 mg/Kg/min. sola y acompañada de glicodeoxicolato (BRS1), taurocolato (BRS2) o dehidrocolato (BRS3) a dosis de 0,85 mg/Kg/min.

infusión de bilirrubina. —
infusión de sal biliar. ▨

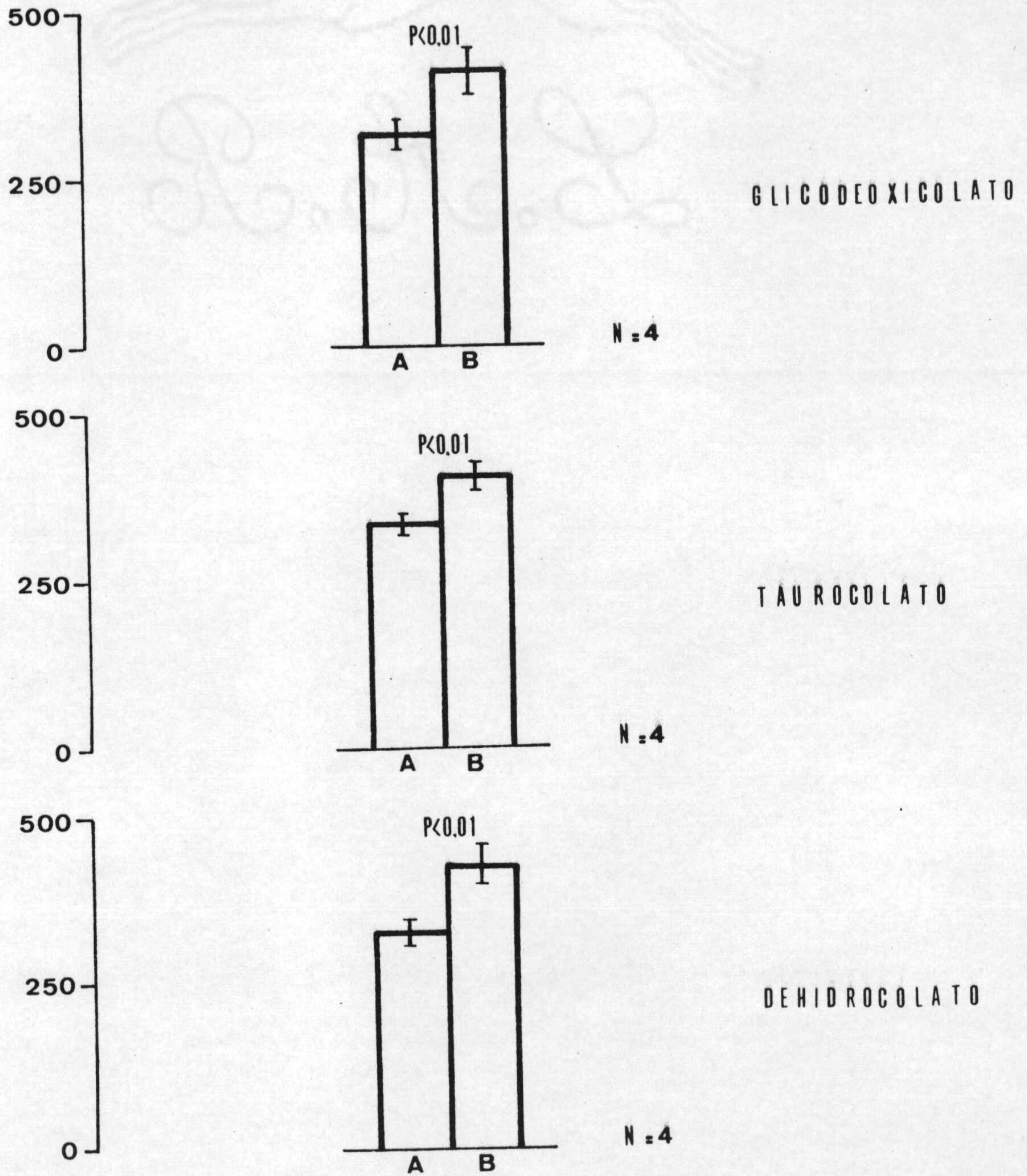


Fig. 30.-Trasporte máximo de bilirrubina(A) y efecto sobre el mismo de la infusión de sales biliares(B) a dosis de 0,85 mg/Kg/min.

- DISCUSSION -

5.1.- Excreción de pigmentos biliares en condiciones de reposo con circulación enterohepática intacta o interrumpida.

En nuestras condiciones experimentales, en conejos anestesiados con pentobarbital sódico, con el conducto cístico y el píloro ligados, iniciando los ensayos treinta minutos después de la canulación del colédoco y con reingreso de bilis al duodeno, el flujo de secreción biliar (valores medios de cinco animales durante cinco horas) está entre 79,5 y 109,3 ul/Kg peso corporal/min. (Tabla I). Este valor es sensiblemente superior al encontrado por Esteller (69) en conejos anestesiados con etil uretano, con idéntica preparación quirúrgica, y mucho más elevado que el obtenido, también en nuestro Departamento por Jimenez (112) en conejos no anestesiados con fístula biliar crónica. Considerables diferencias en función del anestésico utilizado han sido ya indicadas por otros autores en la misma especie (64,121,184).

La concentración de sales biliares en la bilis (Tabla I) es inferior a la descrita por otros investigadores (69,112,119,170,184,186), pero todos ellos obtienen flujos menores que los nuestros, por lo que la producción de sales biliares se mantiene dentro de unos rangos muy estrechos.

Las concentraciones de electrolitos inorgánicos: cloruro, sodio y potasio (Tabla I) son similares a las bibliográficas (64,121,170).

Por lo que se refiere a los pigmentos, que constituyen el objeto de la presente memoria, encontramos concentraciones apreciables, no solo de bilirrubina, sino también, e incluso más altas de biliverdina (Tabla I). Nuestros datos son sensiblemente coincidentes con los publicados en fecha muy reciente por Bruss y Cornelius (39) y confirman consideraciones previas de Garay y col. (78), en ambos casos en el conejo, así como los resultados de Royer y col. en la rata (167) y Comline en el caballo (46). Este hecho, común a la mayoría de vertebrados, pero insólito en mamíferos (45), puede responder a una característica peculiar de estas especies; no obstante, no se puede desechar por completo la posibilidad, apuntada por otros autores (45) de una interferencia de sustancias derivadas de la clorofila alimentaria en el método de análisis de la biliverdina, si bien dicha posibilidad nos parece remota por las siguientes razones:

a) La presencia de biliverdina en conejos alimentados con dietas exentas de clorofila (39).

b) El hecho de que los pigmentos derivados de la clorofila presentan una absorbancia máxima a una longitud de onda muy diferente de la correspondiente a la biliverdina (38).

Por otra parte se han determinado lípidos totales en la bilis (Tabla I), dado el interés de dichos datos para cualquier discusión relacionada con la formación de micelas y en vista del escasísimo contenido en colesterol de la bilis del conejo (121). En conjunto la concentración de lípi-

dos resulta ser inferior a la de otros mamíferos (33,84,219) y posiblemente relacionada con la escasa concentración de sales biliares existente en esta especie.

Todo lo expuesto anteriormente es válido a lo largo de los ensayos (cinco horas) para todos los parámetros estudiados: flujo, sales biliares, lípidos totales y electrólitos inorgánicos (Tabla I, fig. 1) con la única excepción de los pigmentos biliares, para los cuales se observa un descenso progresivo de concentración (Tabla I, fig. 1) existiendo diferencias significativas entre la primera hora y las tres últimas ($p < 0,001$). Esta situación es en principio sorprendente y no ha sido descrita de forma explícita hasta ahora para ninguna especie de mamíferos. Teóricamente cabrían dos explicaciones para una caída en la concentración de pigmentos biliares:

a) Una hipotética reducción de la absorción intestinal de dichos pigmentos, en el caso de que existiera una real circulación enterohepática de los mismos, cosa que, aunque no ha sido desechada, parece improbable desde el punto de vista funcional.

b) Un efecto negativo del anestésico sobre la formación y/o excreción hepática de los pigmentos biliares

Pero lo más probable, en nuestra opinión, y después de observar cuidadosamente nuestros resultados experimentales, es que no se pueda hablar de una auténtica caída en la concentración de pigmentos, sino que más bien dicha concentración se encuentre artificialmente aumentada en las primeras muestras, lo que podría deberse al trauma

quirúrgico, que produciría un cierto grado de hemolisis, lo que podría verse reforzado por la liberación al torrente circulatorio de la sangre rica en hematíes procedente del bazo y otros depósitos, a consecuencia de la situación de stress inducida por la manipulación experimental.

Cuando no se reingresa bilis al duodeno (circulación enterohepática interrumpida), el flujo de bilis desciende progresivamente (Tabla II, fig. 1) existiendo diferencias estadísticamente significativas frente a los animales control a partir de la segunda hora ($p < 0,001$), lo que, de forma general, confirma las observaciones anteriores en nuestro Departamento, tanto en conejos anestesiados con uretano (69), como no anestesiados (112). En consecuencia se aprecia un descenso de las producciones de todos los componentes de la bilis analizados.

En relación con los pigmentos biliares es necesario resaltar que los cambios de concentración son, en todo momento, paralelos a los anteriormente comentados para los animales con reingreso de bilis al duodeno (Fig. 1); ello nos permite descartar definitivamente la hipótesis de posibles variaciones en la reabsorción de los pigmentos biliares como una posible causa de una menor excreción de los mismos.

A la vista de los resultados experimentales, todos los ensayos posteriores, en los que la excreción de pigmentos es el objetivo prioritario, se han llevado a cabo sin reingreso de bilis.

Por último, de los ensayos realizados en condicio-

nes de reposo, tanto con circulación enterohepática mantenida como interrumpida, debemos deducir que los cambios experimentados por los pigmentos biliares son aparentemente independientes de las variaciones en la producción de sales biliares y electrolitos inorgánicos (Tablas I y II, fig. 1) y de la osmolaridad (Fig. 2) y en todo caso no son consecuencia de las variaciones en el flujo de bilis.

5.2.- Excreción de pigmentos biliares durante la infusión endovenosa de biliverdina.

La infusión de biliverdina a cuatro dosis diferentes, dos de ellas bajas (0,04 y 0,08 mg/Kg peso corporal/min.) (Tablas III y IV, fig. 3 y 4) y dos altas (0,45 y 0,60 mg/Kg peso corporal/min.) (Tablas V y VI, fig. 5 y 6) no ocasiona en ningún caso modificaciones en la evolución temporal del flujo de bilis, es decir, que dicho pigmento no presenta aparentemente ningún efecto colerético, como había sido descrito para otros aniones orgánicos que probablemente comparten la misma ruta de excreción, concretamente la bromosulfoftaleína a dosis bajas (196). En la osmolaridad de la bilis se aprecian cambios ligeros y no significativos (Fig. 7) pero siempre con una tendencia a aumentar, lo que es totalmente coherente con lo anteriormente expuesto.

No existen variaciones en la concentración de electrolitos inorgánicos (Tablas III, IV, V y VI) aunque obviamente las producciones descienden concomitantemente con el flujo. Igualmente el patrón de sales biliares y lípidos totales (Tablas III, IV, V y VI, fig. 3, 4, 5 y 6) es exactamente superponible al descrito en situación análoga sin infusión de biliverdina (Tabla II, fig. 1).

La biliverdina infundida se recupera en bilis como tal a porcentajes que oscilan alrededor del 50% como se aprecia en el siguiente cuadro resumen:

CUADRO I

Infusión	Rec. como Biliverd.	Rec. como Bilirrub.	Recuperac. total
0,04 mg/Kg/min.	46,3	13,5	59,8
0,08 mg/Kg/min.	44,2	13,6	57,8
0,45 mg/Kg/min.	54,3	5,6	59,8
0,60 mg/Kg/min.	48,8	4,9	53,7

El transporte máximo parece alcanzarse para una dosis comprendida entre la tercera y la cuarta de las empleadas por nosotros. En efecto la infusión de las dosis bajas resulta en una excreción que acaba por estabilizarse a valores estrictamente correlacionados con las dosis infundidas (Tablas III y IV, fig. 3 y 4) y sin cambios apreciables en los niveles séricos (Fig. 8). Por el contrario, para las dosis altas se encuentra una meseta clara en la excreción (Tablas V y VI, fig. 5 y 6) sin diferencias significativas entre ambos ensayos y las concentraciones séricas aumentan de forma llamativa y prácticamente lineal (Fig. 8), siendo el incremento notablemente superior para la dosis más alta.

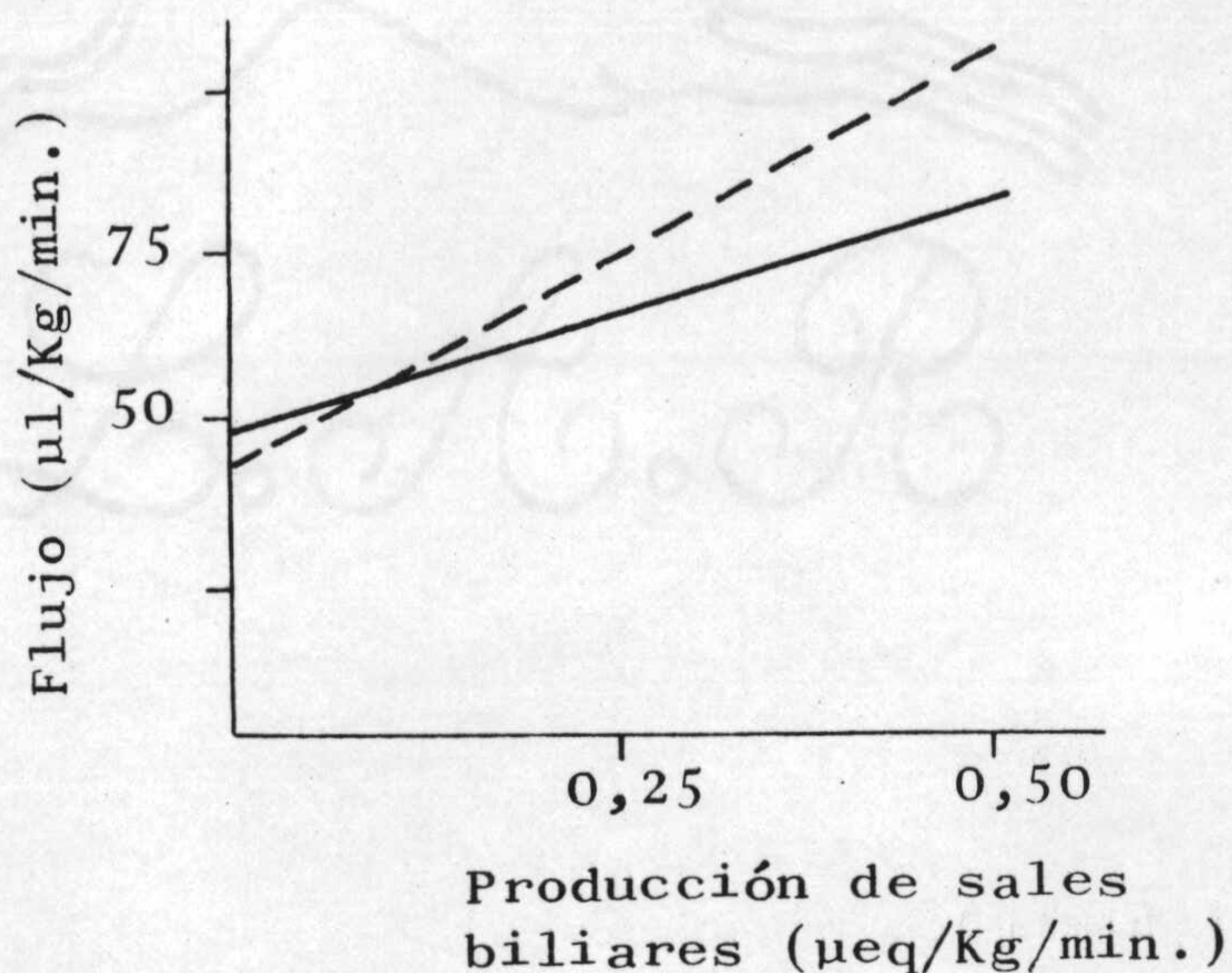
Sin embargo, el transporte máximo para la biliverdina es difícil de establecer con rigor, entre otras razones porque parte del pigmento se excreta previa transformación en bilirrubina (Cuadro I), recuperándose aproximadamente un 13% de la biliverdina infundida, en esta forma en los experimentos realizados a dosis bajas, lo que indicaría la existencia de una apreciable actividad de biliverdin reductasa

en el conejo. Cuando se infunden dosis altas, la excreción total de bilirrubina se eleva, pero el porcentaje recuperado como tal desciende hasta un 5%, lo que parece sugerir una cierta saturación del sistema enzimático.

5.3.- Excreción de pigmentos biliares durante la infusión endovenosa de bilirrubina.

La influencia de la infusión endovenosa de bilirrubina es exactamente la misma que acabamos de describir para la biliverdina sobre los distintos parámetros estudiados (Tablas VII, VIII, IX y X, fig. 9, 10, 11 y 12) con las excepciones del flujo y la concentración de ambos pigmentos. Por lo que se refiere al flujo, ocurre que, con las dos dosis altas de bilirrubina (0,45 y 0,60 mg/Kg peso corporal/min.) el descenso es significativamente mayor que en los controles ($p < 0,001$) (Tablas IX y X, fig. 11 y 12). Sobre este punto hay acuerdo en la mayor parte de los estudios publicados, según los cuales, al infundir bilirrubina no hay cambios en el flujo de bilis o bien dicho flujo disminuye, caso por ejemplo de la rata (26) o el mono(80). Estamos de acuerdo con la interpretación de Barnhart y Upson (15) en el sentido de que es muy improbable que la caída de flujo se deba a una interferencia negativa de la bilirrubina con la capacidad colerética de las sales biliares; más aún, la pendiente de la recta de regresión obtenida al representar en ordenadas flujo de bilis y en abcisas producción de sales biliares (Fig. 32) aumenta conforme lo hace la dosis de bilirrubina, y esto es igualmente cierto para la biliverdina (Fig. 31) lo que nos habla de una mayor capacidad de arrastre osmótico por mol de sal biliar.

FIG. 31.- Efecto de la infusión de biliverdina sobre la fracción independiente de las sales biliares (F.I.S.B.).



Infusión 0,04 mg/Kg/min.

Infusión 0,60 mg/Kg/min.

$$y = 60,4x + 47,0$$

$$y = 113,4x + 42,3$$

$$\bar{y} = 69,7$$

$$\bar{y} = 74,2$$

$$r = 0,5259 \quad p < 0,02$$

$$r = 0,6678 \quad p < 0,001$$

$$\text{F.I.S.B.} = 47 \mu\text{l/Kg/min.}$$

$$\text{F.I.S.B.} = 42 \mu\text{l/Kg/min.}$$

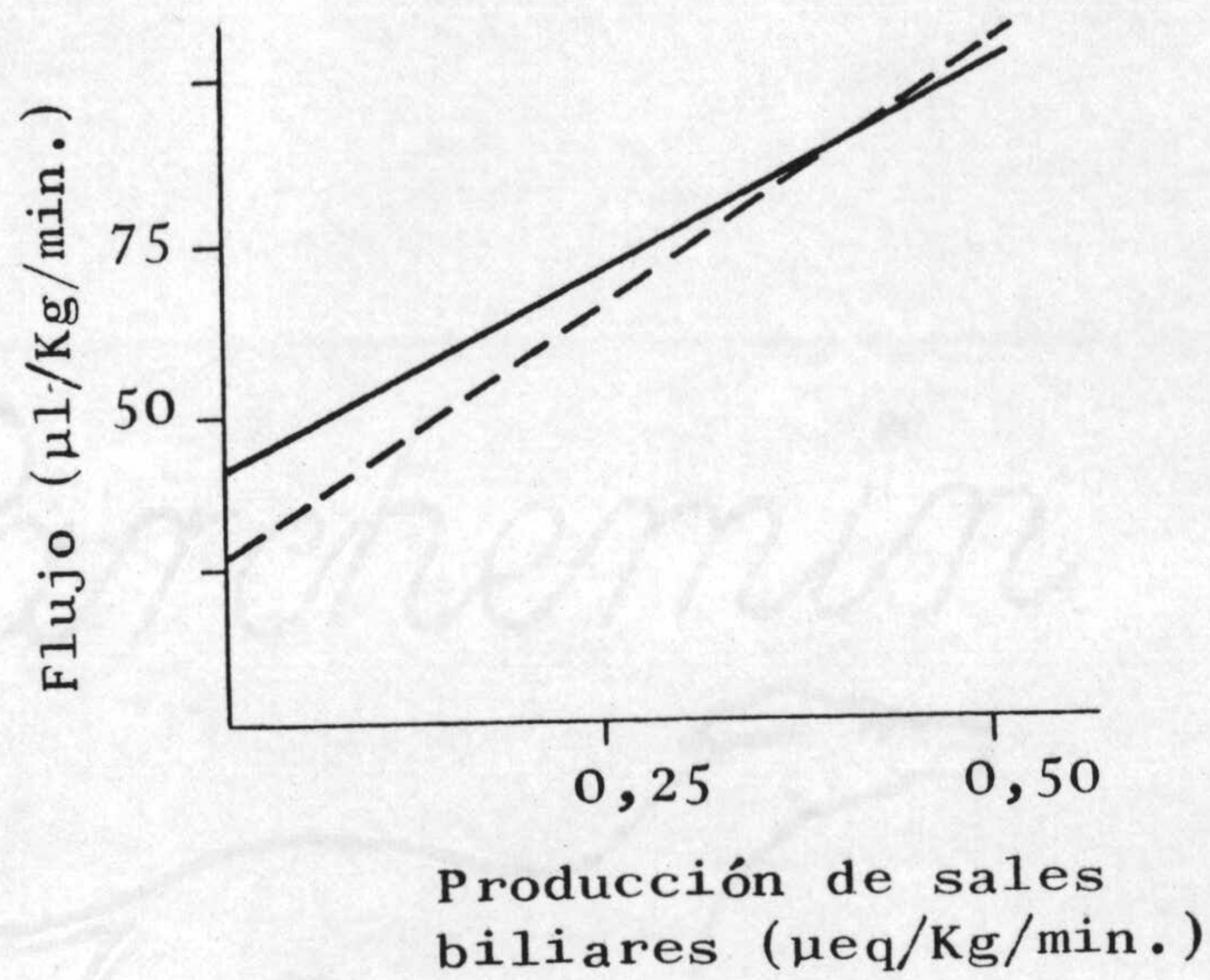
$$\text{Independencia} = 67,3\%$$

$$\text{Independencia} = 56,6\%$$

BV1 (—)

BV4 (---)

FIG. 32.- Efecto de la infusión de bilirrubina sobre la fracción independiente de las sales biliares (F.I.S.B.).



Infusión 0,04 mg/Kg/min.

$$y = 113,9x + 38,4$$

$$\bar{y} = 72,7$$

$$r = 0,6462 \quad p < 0,001$$

$$\text{F.I.S.B.} = 38 \mu\text{l/Kg/min.}$$

$$\text{Independencia} = 53,6\%$$

BR1 (—)

Infusión 0,60 mg/Kg/min.

$$y = 154,0x + 25,7$$

$$\bar{y} = 68,1$$

$$r = 0,6271 \quad p < 0,001$$

$$\text{F.I.S.B.} = 26 \mu\text{l/Kg/min.}$$

$$\text{Independencia} = 38,2\%$$

BR4 (- - -)

En cambio, la fracción de la secreción biliar independiente de las sales biliares, tanto en valores absolutos como relativos, se encuentra reducida cuando se infunde bilirrubina a dosis altas (Fig. 32), lo que apoya la idea, sugerida con anterioridad (114) de que la bilirrubina puede llegar a interferir con el metabolismo energético de los hepatocitos.

En el caso de la biliverdina, el incremento de la capacidad osmótica de las sales biliares y la reducción de la fracción independiente de las mismas parecen contrarrestarse mutuamente y por ello no varía el flujo de bilis.

La recuperación porcentual en bilis de la bilirrubina es del mismo orden que la comentada para la biliverdina (Cuadro II).

CUADRO II

Infusión	Rec. como biliverd.	Rec. como bilirrub.	Recuperac. total
0,04 mg/Kg/min.	9,5	53,5	63,0
0,08 mg/Kg/min.	8,6	45,9	54,5
0,45 mg/Kg/min.	1,1	59,7	60,8
0,60 mg/Kg/min.	0,7	49,8	50,5

Por otra parte, la administración de bilirrubina hace que aparezca en bilis mayor cantidad de biliverdina, y así, para las dosis bajas, alrededor de un 9% de la bilirrubina se recupera como biliverdina. De todos modos este efec-

to es cuantitativamente poco importante y mucho menos aún para las dosis altas de bilirrubina (Cuadro II).

Una situación muy similar ha sido descrita por Bruss y Cornelius (39) también en el conejo; dichos autores lo atribuyen a una posible oxidación parcial de la bilirrubina a biliverdina o bien a un efecto de la primera sobre los mecanismos de transporte de la segunda, aunque, en nuestra opinión, cabe aún otra explicación, consistente en una inhibición del paso de biliverdina a bilirrubina ocasionada por acumulación del producto final de la reacción.

El transporte máximo de bilirrubina se alcanza para la dosis de 0,45 mg/Kg peso corporal/min. (tercera de las empleadas). Dicha afirmación se basa en los siguientes hechos:

a) A esa dosis aparece un nivel máximo de excreción de bilirrubina en bilis (Tabla IX, fig. 11) no superado por la dosis más alta (Tabla X, fig. 12).

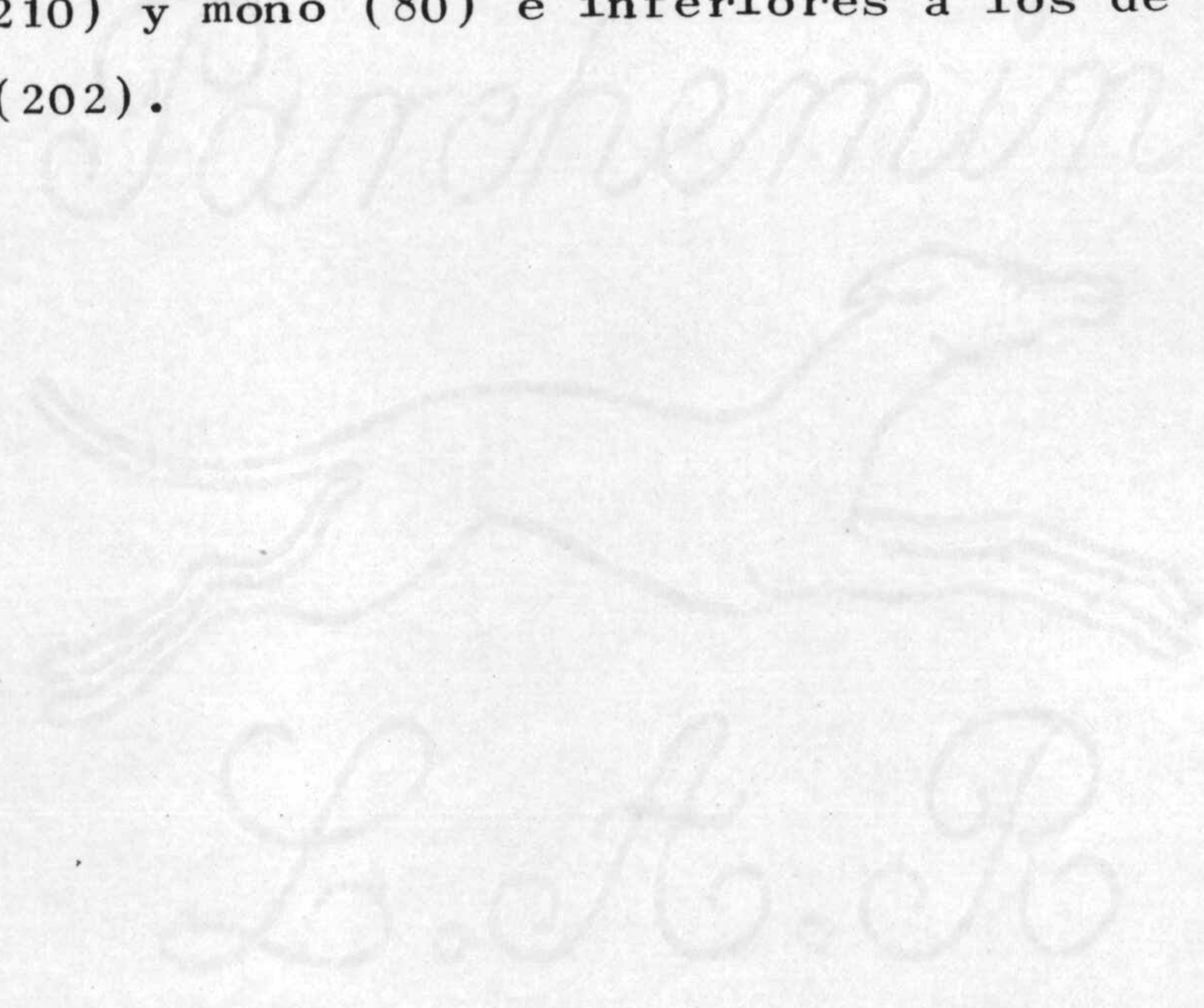
b) Esta meseta de excreción biliar se acompaña de un aumento drástico de los niveles séricos de bilirrubina total (Fig. 14).

c) Para esta dosis aparece por primera vez bilirrubina conjugada en suero, lo que obviamente indica un reflujo de pigmento desde el hígado a la sangre.

Finalmente el hecho de que solo en la cuarta dosis (Cuadro II) la recuperación porcentual total de la bilirrubina infundida disminuye, si bien no contradice las ob-

servaciones anteriores, podría indicar que a la dosis de 0,45 mg/Kg peso corporal/min., el mecanismo de transporte no está totalmente saturado.

Cuantitativamente no hay diferencias significativas en el transporte máximo de los dos pigmentos biliares, lo que sugiere fuertemente un mecanismo común a ambos. No existen en la bibliografía datos acerca de este tema en el conejo, ni en otros mamíferos para la biliverdina. En cuanto a la bilirrubina nuestros resultados de transporte máximo son superiores a los publicados para cobaya (210) y mono (80) e inferiores a los de rata (211) y oveja (202).



5.4.- Efecto de la infusión endovenosa de diferentes sales biliares sobre la excreción de pigmentos.

5.4.1.- En condiciones de reposo.

Para conocer el efecto de distintas sales biliares sobre la excreción de pigmentos se han realizado infusiones a dosis crecientes de:

1) Glicodeoxicolato sódico, que según varios autores (112,182) constituye el 90% de las sales biliares presentes en la bilis del conejo y tiene una gran tendencia a la formación de micelas.

2) Taurocolato sódico, con variable capacidad colerética según la especie e inferior siempre al glicodeoxicolato en cuanto a la formación de micelas (170).

3) Dehidrocolato sódico, sal biliar sintética altamente colerética (65) pero incapaz, al menos "in vitro" de formar micelas.

En el primer caso se determinó en la bilis deoxicolato, en el segundo deoxicolato y colato y en el tercero deoxicolato y dehidrocolato, pues comprobamos que el colato estaba ausente.

Como se puede apreciar en la figura 19 el efecto colerético del glicodeoxicolato y del dehidrocolato no es muy diferente, como había sido ya descrito para el conejo (65); a dosis de infusión intermedias ambas sales se com-

portan de forma muy similar, para dosis bajas (0,6-1,2 meq/Kg peso corporal/min.) la acción colerética es más patente para el dehidrocolato, lo que hace que la pendiente de la recta de regresión sea más alta para el glicodeoxicolato (30,9 ml/meq sal biliar infundida) que para el dehidrocolato (21,5 ml/meq). En cambio el taurocolato presenta un efecto colerético menos marcado que ninguno de los anteriores (13,4 ml/meq), lo que constituye una peculiaridad del conejo y confirma las observaciones de Rutishauser y Stone (170). Estamos totalmente de acuerdo con la interpretación de Erlinger y col. (65) en el sentido de que resulta muy improbable que la capacidad de formación de micelas por parte de las sales biliares sea responsable de la acción colerética.

Con objeto de profundizar en los fenómenos que ocasionan a nivel hepático las distintas sales biliares estudiadas por nosotros, hemos analizado en primer lugar la tasa de secreción de las mismas cuando cada una de ellas se infunde a dosis crecientes (Fig. 20). El glicodeoxicolato y el taurocolato muestran un comportamiento similar y la recuperación de ambos es aproximadamente de un 50%; por el contrario la recuperación del dehidrocolato es mucho menor, solo 1/8 del infundido, lo que indica que parte del mismo se ha metabolizado a derivados con capacidad colerética, distintos de colato y deoxicolato y que no han sido determinados; ello coincide con datos bibliográficos en otras especies (23,62).

En relación con los electrolitos analizados (Fig. 22), los resultados indican que sus producciones aumentan

cuando se infunden sales biliares, sin que haya diferencias claras en función del tipo de sal biliar empleada.

Como parámetro del que se pudiera inferir el grado de formación de micelas hemos utilizado los lípidos totales en bilis. En la figura 21 se puede observar que el glicodeoxicolato produce un gran incremento en la excreción de lípidos, que no se debe exclusivamente al efecto colerético ya que también hay un aumento en la concentración. La situación es similar, aunque la influencia resulta menos marcada, en el caso del taurocolato; ello es coherente con las observaciones bibliográficas sobre la distinta capacidad de formación de micelas de ambas sales biliares (170). En cuanto al dehidrocolato o sus derivados, el fenómeno es netamente diferente, ya que si bien la producción de lípidos se mantiene (Fig. 21) la concentración desciende; por tanto, no solo se confirma que el dehidrocolato "in vivo" en el conejo es prácticamente incapaz de formar micelas, sino que se puede deducir que sus derivados metabólicos también lo son.

De todo lo expuesto acerca de los datos de flujo, electrolitos y lípidos al infundir estas tres sales biliares se llega a la conclusión, de acuerdo con lo insinuado por otros autores (65,170), de que sus capacidades de arrastre osmótico y de formación de micelas son totalmente independientes.

Los mecanismos de excreción de los pigmentos biliares representan un punto conflictivo, acerca del cual existe una considerable polémica. Una teoría relativamente

moderna defendida por muchos autores (25,89,176) pero atacada por otros tantos (26,51,207), que se conoce como teoría micelar, postula la existencia de algún tipo de unión entre las micelas y los pigmentos biliares que facilitaría el transporte y por tanto la excreción de estos últimos. Los resultados encontrados por nosotros en los ensayos que estamos comentando, parecen apoyar esta teoría; así, el gli-codeoxicolato, con máxima capacidad de agregación micelar ocasiona un marcadísimo incremento en la concentración (Tabla XI, fig. 15 y 23) y excreción (Tabla XI, fig. 15 y 24) de bilirrubina en bilis, así como, aunque menos intenso, en la excreción de biliverdina (Tabla XI, fig. 15 y 24). El taurocolato, con capacidad intermedia induce un efecto menor (Tabla XII, fig. 16, 23 y 24), pero aún considerable si se compara con la caída en la excreción de pigmentos que ocurre en ausencia de infusión. Finalmente el dehidrocolato incapaz de formar micelas, no favorece en absoluto la excreción de pigmentos biliares (Tabla XIII, fig. 17, 23 y 24).

5.4.2.- En condiciones de transporte máximo de bilirrubina.

Cuando cada una de las sales biliares se infunde sobre una administración previa y continuada de bilirrubina a dosis suficientes para alcanzar el transporte máximo, se aprecia que la excreción del pigmento está clara y significativamente aumentada ($p < 0,001$) (Tablas XIV, XV y XVI, fig. 25, 26, 27 y 30). El incremento máximo corresponde al glicodeoxicolato (Tabla XIV, fig. 25) y el mínimo al taurocolato (Tabla XV, fig. 26), aunque no existen diferencias significativas.

Esto contrasta con los resultados obtenidos en condiciones basales, sin infusión de bilirrubina, en los que el dehidrocolato no tenía efecto sobre la excreción del pigmento. En cambio los datos de lípidos totales son sensiblemente similares en ambos grupos de ensayos, es decir, que la capacidad de formación de micelas aparentemente no ha variado y continua estando de acuerdo con los datos bibliográficos (65,170). Por lo tanto, la influencia de las sales biliares sobre la excreción de bilirrubina en condiciones de transporte máximo, no puede explicarse totalmente sobre la base de la teoría micelar y hay que admitir un efecto de otro tipo.

Esto es especialmente patente en el caso del dehidrocolato (Tabla XVI, fig. 27 y 30) que no forma micelas y, sin embargo, afecta al transporte máximo de bilirrubina. Dado que el incremento de flujo es el mismo, no parece tratarse de un simple proceso de arrastre. De nuestros datos,

por otra parte, no se puede deducir con seguridad que haya cambios en la fracción independiente de las sales biliares, aunque ello no parece improbable ya que la concentración de sodio se eleva netamente (Tabla XVI).

En cuanto al glicodeoxicolato (Tabla XIV, fig. 25) los resultados obtenidos no son incompatibles con la explicación a través de una interacción micelar; no obstante, las concentraciones de lípidos no aumentan tan marcadamente en este caso, a pesar de que la excreción de pigmentos está estimulada, por lo que cabe que intervenga además del micelar algún otro mecanismo.

En el caso del taurocolato, los resultados son menos nítidos, aunque se podría argumentar igual que para el glicodeoxicolato, si atendemos a la producción de lípidos (Tabla XV, fig. 26).

En conjunto nuestros ensayos no permiten definir inequívocamente cual es la contribución cuantitativa de los distintos procesos implicados en la interacción entre sales biliares y transporte de bilirrubina. Ahora bien, de las varias hipótesis generales sobre mecanismos de secreción biliar que han sido formuladas por distintos autores, hay algunas que encajan mejor con nuestros resultados experimentales y que vamos a comentar brevemente a continuación.

La acción de las sales biliares aumentando la fluidez de las membranas podría evidentemente facilitar la excreción de pigmentos biliares; esta acción de acuerdo con los datos de Slater y col. (190), es más intensa para el deoxicolato, lo que coincidiría con el efecto más acusado

de esta sal biliar, tanto en condiciones basales como en situación de transporte máximo. No hemos encontrado en la bibliografía información acerca de este punto para el dehidrocolato, pero su diferente comportamiento en una y otra situación sugiere que los cambios en la fluidez de membrana, si bien pueden explicar la coleresis es muy improbable que se relacionen con la excreción de pigmentos.

Es posible, como ya hemos comentado, que la fracción independiente de las sales biliares juegue algún papel complementario en la excreción de pigmentos, al menos en los ensayos con dehidrocolato. Sin embargo hasta el momento carecemos de bases experimentales sólidas para afirmar o rechazar tal hipótesis.

En cuanto a la teoría micelar, creemos que ya ha sido suficientemente discutida y que la intervención de este mecanismo es clara, sobre todo en los experimentos realizados con glicodeoxicolato.

Es bien conocido que la masa funcional del hígado es relativamente baja, existiendo un gran número de hepatocitos quiescentes. Desde el punto de vista de la secreción biliar, este hecho también se cumple, manteniéndose un claro gradiente funcional, con un máximo en las zonas portaes y un mínimo en las centrilobulares. Este fenómeno está especialmente establecido para las sales biliares, lo que se explica por su mayor concentración en las zonas de aferencia venosa.

Por otra parte, los trabajos de Leyden y col. (126) indican que no solo hay diferencias cuantitativas

sino también cualitativas en el fisiologismo hepatocelular. Así, se ha sugerido que en los hepatocitos periportales la secreción biliar es claramente dependiente del transporte de las sales biliares, mientras en los centrilobulares la dependencia es mucho menos evidente, probablemente por la superposición de otros mecanismos de secreción y excreción de diversos electrolitos inorgánicos y aniones orgánicos.

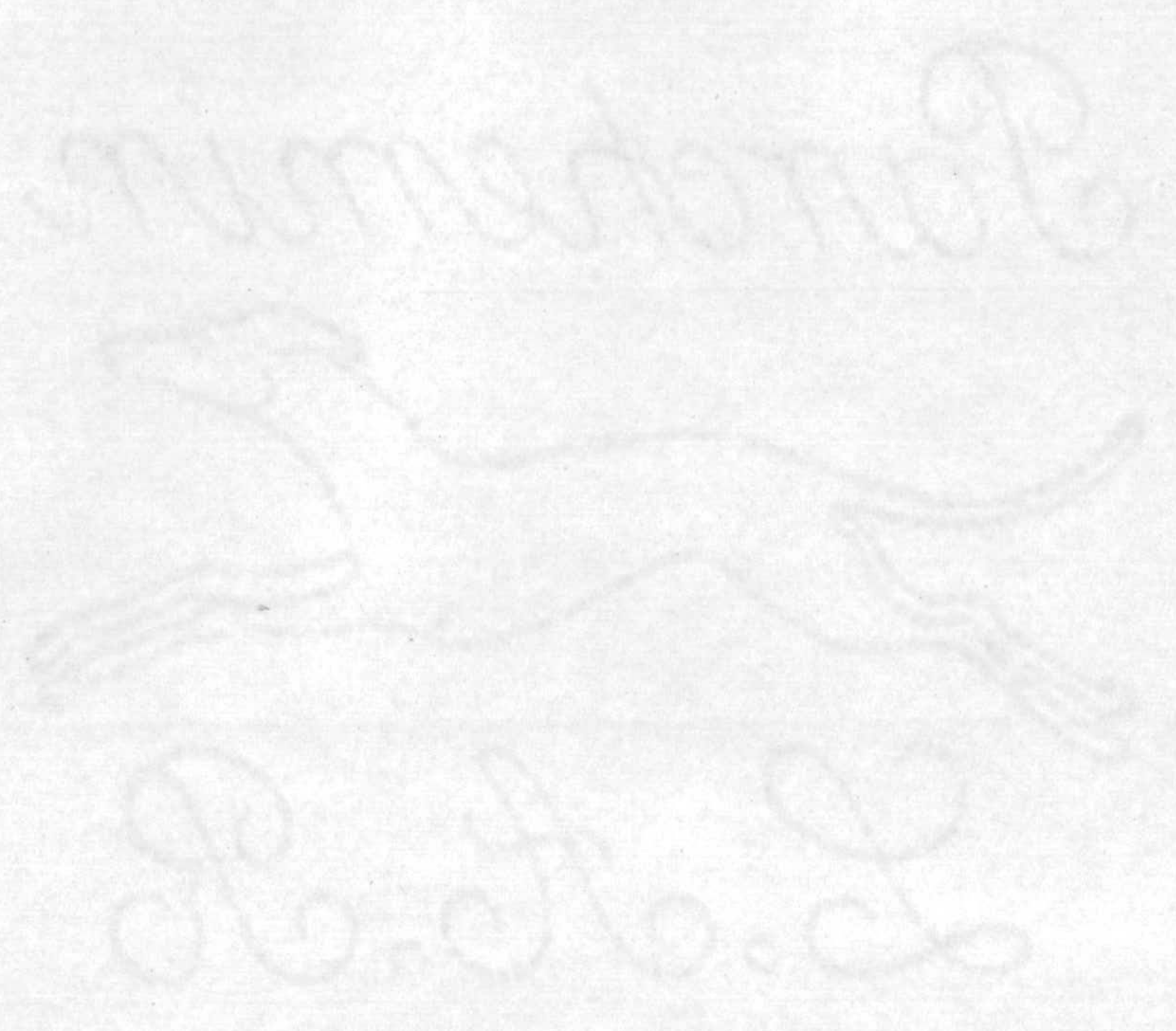
Estas consideraciones generales nos permiten introducir por último una hipótesis de trabajo, que no solo está de acuerdo con nuestros datos experimentales, sino que también soslaya las contradicciones entre algunas de las teorías expresadas por otros investigadores.

En el último bloque de ensayos, la infusión conjunta de bilirrubina y sales biliares es evidente que obliga al hígado a trabajar a unos niveles muy alejados de los basales, y presumiblemente próximos a los máximos teóricos, por lo menos en cuanto a pigmentos se refiere. Por tanto, la principal diferencia con los ensayos en que solo se infundían sales biliares consistiría en la entrada en actividad de los hepatocitos centrilobulares. Así, a los fenómenos de excreción de pigmentos ligados a la formación de micelas, claros en el caso del glicodeoxicolato, y quizás taurocolato, habría que superponerles los que no se relacionan con la formación de agregados micelares, con lo que la dependencia entre ambos hechos (excreción de pigmentos y agregación micelar) se difumina. En el caso del dehidrocolato, su capacidad de incrementar la tasa máxima de excreción y su ineficacia para activar la excreción endógena del pigmento, junto con la falta de relación de am-

bas situaciones con cambios en la excreción de lípidos totales, también es coherente con activaciones en los mecanismos específicos de los hepatocitos centrilobulares.

Esta hipótesis, que evidentemente necesita ulterior apoyo experimental, tiene la ventaja de conciliar la teoría micelar con aquellas otras que se oponen a la misma.

Por lo que se refiere a la excreción de biliverdina, nuestros resultados indican que tiende a ser mayor en los experimentos realizados con infusión de bilirrubina y sales biliares, siguiendo una evolución más o menos paralela a la de la propia bilirrubina y siendo las diferencias especialmente marcadas cuando se infunde dehidrocolato (Tabla XVI, fig. 27), claras para el glicodeoxicolato (Tabla XIV, fig. 25) y casi despreciables en el caso del taurocolato (Tabla XV, fig. 26). Todo ello globalmente apoya de forma muy sugestiva la hipótesis de trabajo anterior.



- CONCLUSIONES -

CONCLUSION 1ª.- En el conejo, la excreción de pigmentos biliares se realiza en gran parte en forma de biliverdina, lo que diferencia a esta especie del patrón general en mamíferos, y la acerca al de otros vertebrados.

CONCLUSION 2ª.- En condiciones de reposo no existe relación de la excreción de pigmentos biliares con la de sales biliares, ni tampoco con el flujo de bilis; en consecuencia, no se aprecia influencia del reingreso de bilis al duodeno.

CONCLUSION 3ª.- La biliverdina y la bilirrubina se excretan como tales, de forma fisiológica, y por vías específicas; sin embargo existen aspectos limitantes comunes en el proceso de excreción, dada la coincidencia cuantitativa en el transporte máximo de los dos pigmentos.

CONCLUSION 4ª.- Ambos pigmentos biliares carecen de efecto colerético en nuestras condiciones experimentales, aunque aumentan la capacidad de arrastre osmótico de las sales biliares.

CONCLUSION 5ª.- El dehidrocolato sódico en el conejo, "in vivo", es incapaz de formar micelas; el glicodeoxicolato presenta una mayor capacidad en este sentido que el taurocolato.

CONCLUSION 6ª.- Al menos para las tres sales biliares ensayadas, la actividad micelar no guarda relación con la coleresis que producen.

CONCLUSION 7^a.- La captación y arrastre de pigmentos biliares por las micelas puede explicar la excreción de aquellos en condiciones de reposo; por el contrario, cuando se alcanza el transporte máximo de bilirrubina es preciso aceptar la intervención, cuantitativamente importante, de otros mecanismos.

Antiquarium



L. A. L.

- 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.-Aharonian,H.S.,Balabaud,C.H.,Gumuccio,J.J. (1975). Intrahepatic compartmentation of taurocholate in the rat. *Gastroenterology.* 69,809
- 3.-Alpert,S.,Moshar,M.,Shanske,A.,Arias,I.M. (1969). Multiplicity of hepatic excretory mechanisms for organic anions. *J.Gen.Physiol.* 53,238
- 4.-Angelin,B.,Einarsson,K.,Hellstron,K. (1976). Evidence for the absorption of bile acids in the proximal small intestine of normo and hyperlipidaemic subjects. *Gut.* 17,240
- 5.-Arias,I.M.,London,I.M. (1958). Studies of glucuronide synthesis and glucuronyl transferase in liver and serum. *J.Clin.Invest.* 37,875
- 6.-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
- 7.-Arias,I.M. (1972). Transfer of bilirubin from blood to bile. *Sem.Hematol.* 9,55
- 8.-Bailey,D.G.,Johnson,G.E. (1975). Multiple hepatic excretory mechanisms for organic anions. A study with succinyl sulfathiazole and taurocholate in rats. *Can.J.Physiol.Pharmacol.* 53,97
- 9.-Balabaud,C.H.,Kronk,C.,Gumuccio,J.J. (1975). The bile salt non dependent fraction of canalicular bile water in the rat. *Gastroenterology.* 69,805
- 10.-Barber Riley,G.,Goetzee,A.E.,Richards,T.G.,Thomson,J.Y. (1961). The transfer of bromosulphthalein from plasma to the bile in man. *Clin.Sci.* 20,149
- 11.-Barber Riley,G. (1963) Rat biliary tree during short periods of obstruction of common duct. *Am.J.Physiol.* 205,127
- 12.-Barnhart,J.L.,Clarenburg,R. (1973). Binding of bilirubin to erythrocytes. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 142,1101
- 13.-Barnhart,J.L.,Ritt,D.,Ware,A.,Combes,B. (1973). A comparison of the effects of taurocholate and teophylline on bromosulphthalein excretion in dogs. In *The Liver.Quanti-*

- tative Aspects of Structure and Function. Ed.G.Paumgartner and R.Preisig. Karger Basel. p.315
- 14.-Barnhart,J.L.,Combes,B. (1974). Effect of teophylline on hepatic excretory function. *Am.J.Physiol.* 227,194
 - 15.-Barnhart,J.L.,Upson,D.W. (1979). Bile flow and electrolyte composition of bile associated with maximum bilirubin excretion in sheep. *Can.J.Physiol.Pharmacol.* 57,710
 - 16.-Bartos,J. (1959). Sur l'analyse colorimetrique des 3 ceto steroides a l'aide du 2,6 ditert butil p-cresol. *Ann Pharm.Fr.* 17,141
 - 17.-Benhold,H. (1932). Uber die Vehikelfunction der Serum-eiweisskörper. *Ergebn.Inn.Med.Kinderleilkd.* 42,273
 - 18.-Berk,P.D.,Howe,R.W.,Bloomer,J.R.,Berlin,N.I. (1969). Studies of bilirubin kinetics in normal adults. *J.Clin. Invest.* 48,2176
 - 19.-Berk,R.N.,Goldberger,L.E.,Loeb,P.M. (1974). The role of bile salts in the hepatic excretion of iopanoic acid. *Invest.Radiol.* 9,7
 - 20.-Berthelot,P.,Fauvert,R. (1967). L'excretion de bilirrubine non conjuguée dans le bile du rat. Modification de cette excretion par la novobiocine. *Rev.Fr.Et.Clin.Biol.* 12,702
 - 21.-Berthelot,P.,Erlinger,S.,Dhumeaux,D.,Freaux,A.M. (1970). Mechanism of phenobarbital induced hypercholeresis in rat. *Am.J.Physiol.* 219,809
 - 22.-Billing,B.H.,Maggiore,Q.,Carter,M.A. (1963). Hepatic transport of bilirubin. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 111,319
 - 23.-Binet,S.,Delage,Y.,Erlinger,S. (1979). Influence of tauro cholate,taurochenodeoxycholate and taurodehydrocholate on bromosulphthalein transport into bile. *Am.J. Physiol.* 5,E10
 - 24.-Bissell,D.M. (1975). Formation and elimination of bilirubin. *Gastroenterology.* 69,519
 - 25.-Bloomer,J.R.,Boyer,J.L.,Klatskin,G. (1973). Inhibition of bilirubin excretion in man during dehydrocholate choleresis. *Gastroenterology.* 65,929
 - 26.-Bloomer,J.R.,Zaccaria,J. (1976). Effect of graded bili-

- rubin loads on bilirubin transport by perfused rat liver. *Am.J.Physiol.* 230,736
- 27.-Bouchier,I.,Cooperband,S.R. (1967). Isolation and characterization of a macromolecular aggregate associated with bilirubin. *Clin.Chim.Acta.* 15,291
- 28.-Bouchier,I.,Cooperband,S.R. (1967). Sephadex filtration of a macromolecular aggregate associated with bilirubin. *Clin.Chim.Acta.* 15,303
- 29.-Boyer,J.L.,Klatskin,G. (1970). Canalicular bile flow and bile secretory pressure:evidence for a non bile salt dependent fraction in the isolated perfused rat liver. *Gastroenterology.* 59,853
- 30.-Boyer,J.L.,Bloomer,J.R. (1974). Canalicular bile secretion in man.Studies utilizing the biliary clearance of C mannitol. *J.Clin.Invest.* 54,773
- 31.-Boyer,J.L.,Reno,D. (1975). Properties of Na⁺- K⁺ activated ATPase in rat liver plasma membrane enriched with bile canaliculi. *Biochim.Biophys.Acta.* 401,59
- 32.-Boyer,J.L.,Schwarz,J.,Smith,N. (1976). Biliary secretion in slamobranchs.I.Bile collection and composition. *Am.J.Physiol.* 230,970
- 33.-Boyer,J.L.,Schwarz,J.,Smith,N. (1976). Biliary secretion in slamobranchs.II.Hepatic uptake and biliary excretion og organic anions. *Am.J.Physiol.* 230,974
- 34.-Brauer,R.W.,Pessotti,R.L.,Pizzilato,A. (1951). Isolated rat liver preparation. Bile production and other basic properties. *Proc.Soc.Expl.Biol.Med.* 78,174
- 35.-Brauer,R.W.,Leong,G.F.,Holloway,R.J. (1954). Mechanisms of bile secretion. Effect of perfusion pressure and temperature on bile secretion pressure and bile flow. *Am.J.Physiol.* 177,103
- 36.-Brauer,R.W. (1959). Mechanisms of bile secretion. *JAMA.* 169,1462
- 37.-Brodersen,R. (1974). Competitive binding of bilirubin and drugs to human serum albumin studied by enzymatic oxidation. *J.Clin.Invest.* 45,678
- 38.-Brown,J.M.M.,Rimington,C.,Sawyer,B.C. (1963). Studies

- on biliary excretion in the rabbit. Relation between the chemical structure of certain natural or synthetic pentacyclic triterpenes and their icterogenic activities. Proc. Roy. Soc. London. 157, 473
- 39.-Bruss, M.L., Cornelius, C.C. (1980). Effect of exogenous bilirubin on biliary excretion of biliverdin and bilirubin in rabbits. Fed. Proc. 39, 283
- 40.-Butter, H.S., Coldwell, B.B., Thones, B.H. (1973). The effect of salicylate on the biliary excretion of ¹⁴C bishydroxy coumarin in rat. Br. J. Pharmac. 48, 278
- 41.-Carey, M.C., Small, D.M. (1972). Micelle formation by bile salts. Physical-chemical and thermodynamic considerations. Arch. Intern. Med. 130, 508
- 42.-Carey, M.C., Small, D.M. (1973). Solution properties of taurine and glycine conjugates of fusidic acid and its derivatives. Biochim. Biophys. Acta. 306, 51
- 43.-Chenderovitch, J., Raizman, A., Infante, R. (1975). Mechanism of ethacrynic induced choleresis in the rat. Am. J. Phys. 229, 1180
- 44.-Cherenburg, R., Kao, C.C. (1973). Shared and separated pathways for biliary excretion of bilirubin and bromosulphatalein in rats. Am. J. Physiol. 225, 192
- 45.-Colleran, E., O'Carra, P. (1977). In Chemistry and Physiology of Bile Pigments. Ed. P.D. Berk. and N.I. Berlini. Bethesda, National Institutes of Health. p.69
- 46.-Comline, R. (1976). Comunicación personal.
- 47.-Cornelius, C.E., Ben Ezrar, J., Arias, I.M. (1967). Binding of bromosulphatalein and other organic anions by isolated hepatic cell plasma membranes in vitro. Proc. Soc. Expl. Biol. Med. 124, 665
- 48.-Crigler, J.F., Najjar, V.A. (1952). Congenital familial non hemolytic jaundice with kernicterus. Pediatrics. 10, 169
- 49.-Czok, G., Schulze, P.J., Meyer, H. (1975). Hepatic uptake and biliary excretion of unconjugated and conjugated bromosulphatalein in the rat under the influence of cholic and dehydrocholic acid. Digestion. 12, 275
- 50.-Delage, Y., Erlinger, S., Duval, M., Benhamou, J.P. (1975). In-

- fluence of dehydrocholate and taurocholate on bromo-sulphtalein uptake, storage and excretion in the dog. Gut. 16, 105
- 51.-Delage, Y., Dumont, M., Erlinger, S. (1976). Effect of glycodihydrofusidate on bromosulphtalein transport maximum in hamster. Am.J.Physiol. 231, 1875
- 52.-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. p.97
- 53.-Dhumeaux, D.P., Berthelot, P., Preaux, A. (1970). A critical study of the concept of maximal biliary transport of bromosulphtalein in the Wistar rat. Rev.Eur.Etud.Clin. Biol. 15, 279
- 54.-Dhumeaux, D.P., Erlinger, S., Benhamou, J.P., Fauvert, R. (1970). Effects of rose bengal on bile secretion in the rabbit. Inhibition of a bile salt independent fraction. Gut. 11, 134
- 55.-Dumont, m., Erlinger, S. (1973). Influence of hydrocortisone on bile formation in the rat. Biol.Gastroenterol. 6, 197
- 56.-Diamond, J.M., Bossert, W.H. (1968). Functional consequences of ultrastructural geometry in "backwards" fluid transporting epithelia. J.Cell.Biol. 37, 691
- 57.-Dietmaier, A., Gasser, R., Graf, J., Peterlik, M. (1975). Sodium dependent transport of bile acids in the isolated perfused rat liver. Digestion. 12, 273
- 58.-Dive, C., Heremans, J.F. (1975). Nature and origin of the proteins of bile. I. A comparative analysis of serum and bile protein in man. J.Clin.Invest. 4, 235
- 59.-Dive, C., Nadalini, R., Vaerman, J.P., Heremans, J.F. (1975). Origin and nature of the proteins of bile. II. A comparative analysis of serum, hepatic lymph and bile proteins in the dog. Eur.J.Clin.Invest. 4, 241
- 60.-Egger, G., Kutz, K., Preisig, R. (1972). Taurocholate dependence of ethacrynic acid choleresis. Digestion. 6, 273
- 61.-Elias, H., Petty, D. (1953). Terminal distribution of the hepatic artery. Anat.Rec. 116, 9
- 62.-Engelkin, L.R., Gronwall, R., Anwer, M.S. (1980). Effect of

- dehydrocholic, chenodeoxycholic and taurocholic acids on the secretion of bilirubin. *Am.J.Vet.Res.* 41,355
- 63.-Erlinger,S.,Dhumeaux,D.,Benhamou,J.P. (1969). La secretion biliaire du lapin. Preuves en faveur d'une importante fraction independente des sals biliars. *Rev.Fr. Et.Clin.Biol.* 14,144
- 64.-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
- 65.-Erlinger,S.,Dumont,M.,Berthelot,P.,Dhumeaux,D. (1971). Comparison of the choleric effects of dehydrocholate and glycodeoxycholate in the rabbit. *Digestion.* 4,144
- 66.-Erlinger,s.,Dumont,M. (1973). Influence of canalicular bile flow on bromosulphalein transport maximum in bile. In *The Liver. Quantitative Aspects of Structure and Function.* ED. G.Paumgartner and R.Preisig. Basel,Karger p. 306
- 67.-Erlinger,S.,Dhumeaux,D. (1974). Mechanisms and control of secretion of bile water and electrolytes. *Gastroenterology.* 66,281
- 68.-Erlinger,S.,Bienfait,D.,Poupon,R.,Dumont,M.,Duval,M. (1975). Effect of Lysine acetylsalicylate on biliary lipid secretion in dogs. *J.Clin.Sci.Mol.Med.* 49,253
- 69.-Esteller,A. (1974). La secreción biliar en el conejo. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- 70.-Esteller,A.,Lopez,M.A.,Murillo,A. (1977). The effect of secretin and cholecystokin-pancreozymin on the secretion of bile in the anesthetized rabbit. *Quart.J.Exp. Physiol.* 62,353
- 71.-Evans,W.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
- 72.-Fevery,j,Blanckaert,N.,Heirwegh,K.P.M. (1977). Unconjugated bilirubin and an increased proportion of bilirubin monoconjugates in the bile of patients with Gilbert's syndrome and Crigler Najjar disease. *J.Clin.Invest.* 60,970

- 73.-Folch,J.,Lees,M.,Sloane Stanley,G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of lipides from animal tissues. *J.Biol.Chem.* 226,497
- 74.-Forker,E.L. (1967). Two sites of bile formation as determined by mannitol and erythritol clearance in the guinea pig. *J.Clin.Invest.* 46,118
- 75.-Forker,E.L.,Gibson,G. (1973). Interaction between bromo-sulphtalein and taurocholate. In *The Liver. Quantitative Aspects of Structure and Function.* Ed. G.paumgartner and R.Preisig. Karger,Basel. p.326
- 76.-Forker,E.L. (1977). Mechanisms of hepatic bile formation. *Ann.Rev.Physiol.* 39,323
- 77.-Foster,M.G.,Hooper,C.W.,Whipple,G.H. (1919). Metabolism of bile acids.III.Administration by stomach of bile,bile acids,taurine and cholic acid to show the influence upon bile acid elimination. *J.Biol.Chem.* 38,379
- 78.-Garay,E.R.,Noir,B.,Royer,M. (1965). Biliverdin pigments in green biles. *Biochim. Biophys.Acta.* 100,411
- 79.-Gartner,L.M.,Arias,I.M. (1969). The transfer of bilirubin from blood to bile in the neonatal guinea pig. *Am.J.Physiol.* 200,1091
- 80.-Gartner,L.M.,Lane,D.L.,Cornelius,C.E. (1971). Bilirubin transport by liver in adult *Macaca mulatta*. *Am.J.Physiol.* 220,1528
- 81.-Gartner,L.M.,Arias,I.M. (1972). Hormonal control of hepatic bilirubin transport and conjugation. *Am.J.Physiol.* 222,1091
- 82.-Gartner,L.M.,Levine,W.J.,Wolkoff,A.V. (1980). Evidence for independent hepatic uptake mechanisms for bromosulph talein and bilirubin. *Gastroenterology.* 79,1019
- 83.-Gerolami,A.,Crotte,C.,Montet,J.C.,Vigne,J.C.,Grangier,M. Mule,A. (1972). Metabolisme de l'acide dehydrocolique. Etude chromatografique des ses derivés dans la bile.Etude in vitro de leur capacité a former des micelles mixtes. *Biol.Gastroenterol.* 5,265
- 84.-Gerolami,A.,Crotte,C.,Mule,A. (1973). Mecanisme de la secretion biliare des lipides au cours de la lithiase experimentale de la souris. *Biol.Gastroenterol.* 6,337

- 85.-Gibson,G.E.,Forker,E.L. (1974). Canalicular bile flow and bromosulphthalein transport maximum. The effect of a bile salt independent choleretic, SC2644. Gastroenterology. 66,1046
- 86.-Glasinovic,J.C.,Dumont,M.,Duval,M. (1975). Hepatocellular uptake of taurocholate in the dog. J.Clin.Invest. 55,419
- 87.-Glasinovic,J.C.,Dumont,M.,Duval,M.,Erlinger,S. (1975). Hepatocellular uptake of bile acids in the dog. Evidence for a common transport system. An indicator dilution study. Gastroenterology. 69,973
- 88.-Gollan,J.L.,Huang,S.N.,Billiing,B. (1975). Prolonged survival in three brothers with severe type 2 Crigle Najjar syndrome. Ultrastructure and metabolic studies. Gastroenterology. 68,1543
- 89.-Goresky,C.A.,Haddad,H.H.,Kluger,W.S. (1974). The enhancement of maximal bilirubin excretion with taurocholate induced increments in bile flow. Can.J.Physiol.Pharmacol. 52,389
- 90.-Graf,J.,Peterlik,M. (1976). Ouabain mediated sodium uptake and bile formation by isolated perfused rat liver. Am.J.Physiol. 230,876
- 91.-Graf,J. (1976). General Discussion. In The Hepatobiliary System. Ed. W.Taylor. Plenum Press. New York and London. p.299
- 92.-Gronwall,R.,Engelkin,L.R.,Noonan,N. (1980). Direct measurement of biliary bilirubin excretion in ponies during fasting. Am.J.Vet.Res. 41,125
- 93.-Gumuccio,J.J.,Valdivieso,V.D. (1971). Studies on the mechanism of ethnylestradiol impairment of bile flow and bile salt excretion in the rat. Gastroenterology. 61,339
- 94.-Guzelian,P.,Boyer,J.L. (1974). Glucose reabsorption from bile. Evidence for a biliohepatic circulation. J.Clin. Invest. 53,526
- 95.-Habig,W.H.,Pabst,M.J.,Fleischner,G.,Gatmaitan,Z.,Arias,I.M.,Jakoby,W.B. (1974). Identity of glutathione S transferase B with ligandin, a major binding protein of liver Proc.Nath.Acad.Sci.USA. 71,3879

- 96.-Hacki,W.,Paumgartner,G. (1972). Studies on bile formation:a new simple and rapid method for determination of bile salt independent fraction. *Digestion*. 61,279
- 97.-Hardison,W.J.,Norman,J.C. (1968). Electrolyte composition of the secretin fraction of bile from the perfused pig liver. *Am.J.Physiol*. 214,785
- 98.-Hardison,W.J.,Apter,J.J. (1972). Micellar theory of biliary cholesterol excretion. *Am.J.Physiol*. 222,61
- 99.-Hardison,W.J. (1973). Metabolism of sodium dehydrocholate by the rat liver. Its effect on micelle formation in bile. *J.Lab.Clin.Med*. 77,811
- 100.-Hargreaves,T.,Late,G.H. (1963). Inhibitory aspects of bile secretion. *Nature*. 200,1172
- 101.-Haslewood,G.A.D. (1968). Evolution and bile salts. In *Handbook of Physiology. Section 6. Volume V. American Physiological Society. Washington. p.2387*
- 102.-Henry,R.J. (1964). *Clinical Chemistry. Harper and Row Publ. p.838*
- 103.-Himes,J.A.,Cornelius,C.E. (1974). Biliverdin and bilirubin excretion in the turkey. *Cornell.Vet*. 65,374
- 104.-Hofmann,A.F.,Small,D.M. (1967). Detergent properties of bile salts. Correlation with physiological functions. *Am.Rev.Med*. 18,333
- 105.-Hofmann,N.E.,Iser,J.H.,Smallwood,R.A. (1975). Hepatic bile acid transport. Effect of conjugation and position of hydroxyl group. *Am.J.Physiol*. 229,298
- 106.-Horak,W.,Grabner,G.,Paumgartner,G. (1973). Inhibition of bile salt independent bile formation by indocyanine green. *Gastroenterology*. 64,1005
- 107.-Irwin,J.L.,Johnston,C.G.,Kopala,J. (1944). A photometric method for the determination of cholates in bile and blood. *J.Biol.Chem*. 153,439
- 108.-Jansen,P.L.M.,Chowdury,J.R.,Fischberg,E.G. (1977). Enzymatic conversion of bilirubin monoglucuronide to diglucuronide by rat liver plasma membranes. *J.Biol.Chem*. 252,2710
- 109.-Javitt,N.B.,Emerman,S. (1968). Effect of sodium taurolithocholate on bile flow and bile acid excretion. *J. Clin.Invest*. 47,1002

- 110.-Javitt,B. (1976). Hepatic bile formation. *New.Eng.J. Med.* 295,1464
- 111.-Jean,F.,Foliot,A.,Celier,C.H.,Housset,E.,Etienne,J.P. (1979). Influence of clofibrate on hepatic transport of bilirubin and bromosulphthalein in rats. *Bioch.Bioph. Res.Com.* 86,1154
- 112.-Jimenez,R. (1979). Secreción biliar en conejos no anestesiados. Influencia de la circulación enterohepática y respuesta a la comida. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- 113.-Kaminsky,D.L.,Brown,B.H.,Deshpande,Y.G. (1980). Effect of glucagon on bile cyclic AMP secretion. *Am.J.Physiol.* 238,G119
- 114.-Kamisaka,K.,Gatmaitan,Z.,Moore,C.L.,Arias,I.M. (1975). Ligandin reverses bilirubin inhibition of liver respiration in vitro. *Pediat.Res.* 9,903
- 115.-Kelman Sraer,J.,Erlinger,S.,Peignoux,M.,Benhamou,J.P. (1973). Influence of dehydrocholate on hepatic uptake and biliary excretion of rose bengal in the rabbit. *Biomed.Exp.* 19,415
- 116.-Ketterer,B.,Tipping,E.,Beale,D.,Meuwissen,J. (1976). Ligandin, glutathione and carcinogen binding. In *Glutathione: Metabolism and Function*. Ed. I.M.Arias and W.Jakoby. New York,Raven. p.175
- 117.-Khedis,A.,Dumont,M.,Duval,M.,Erlinger,S. (1974). Influence of glucagon on canalicular bile production in the dog. *Biomedicine.* 21,176
- 118.-King,J.F.,Schoenfield,J.L. (1971). Cholestasis induced by taurocholate in isolated hamster liver. *J.Clin.Invest.* 50,2305
- 119.-Kirchmayer,S. (1972). Effect of cholecystokin-pancreozymin and secretin on volume, composition and enzymatic activity of hepatic bile in rabbits. *Gut.* 13,709
- 120.-Klaasen,C.D.,Plaa,G.L. (1967). Species variation in metabolism, storage and excretion of bromosulphthalein. *Am.J.Physiol.* 213,1322
- 121.-Klaasen,C.D. (1974). Bile flow and composition during bile acid depletion and administration. *Can.J.Pharmacol.* 52,334
- 122.-Lafont,H.,Lairon,D.,Domingo,N.,Pautrat,G.,Hauton,J.C.

- (1974). Does a lecithin polypeptide association in bile originates from membrane structural submits?. *Biochimie.* 56,465
- 123.-Larsen, J.A., Krarup, N., Thomsen, O.O. (1979). Effect of glucagon, dibutyryl cyclic AMP and teophyline on bile production in the cat. *Acta. Physiol. Scand.* 106,23
- 124.-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
- 125.-Layden, T.J., Boyer, J.L. (1976). The effect of thyroid hormone on bile salt independent bile flow and Na -k ATPase activity in liver plasma membranes enriched in bile canaliculi. *J. Clin. Invest.* 57,1009
- 126.-Layden, T.J., Boyer, J.L. (1978). Recruitment of central lobular hepatocytes for bile acid dependent bile secretion. In *Biological Effects of Bile Acids*. Ed. G. Paumgartner. University Park Press, Baltimore. p.19
- 127.-Lee, K.S., Gartner, L.M. (1973). Plasma bilirubin transport and free fatty acids. *Gastroenterology.* 65,557
- 128.-Levi, A.J., Gatmaitan, Z., Arias, I.M. (1969). Two hepatic cytoplasmic fractions Y and Z and their possible role in the hepatic uptake of bilirubin, bromosulphthalein and other organic anions. *J. Clin. Invest.* 48,2156
- 129.-Levin, S.J., Johnston, C.G., Boyle, A.J. (1961). Spectrophotometric determination of several bile acids as conjugates. *Anal. Chem.* 33,1407
- 130.-Liersch, M., Czygan, P., Stichl, A. (1975). Studies on hepatic uptake and secretion of bile salt sulfates by the isolated perfused rat liver. *Digestion.* 12,326
- 131.-Lin, G.L., Himes, A., Cornelius, C.E. (1974). Bilirubin and biliverdin excretion by the chicken. *Am. J. Physiol.* 226,881
- 132.-Lind, G.W., Gronwall, R. R., Cornelius, C.E. (1967). Bile pigments in the chicken. *Res. Vet. Sci.* 3,280
- 133.-London, C.D., Diamond, J.M., Brooks, F.P. (1968). Electrical potential differences in the biliary tree. *Biochim. Biophys. Acta.* 150,509
- 134.-Macarol, V., Morris, T.Q., Beker, K.J., Bradley, S.E. (1970).

- Hydrocortisone choleresis in the dog. *J.Clin.Invest.* 49,1714
- 135.-Malloy,H.T.,Evelyn,K.A. (1937). The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J.Biol. Chem.* 119,481
- 136.-Mandiola,S.,Johnson,B.L.,Winters,R.E.,Longmire,W.P. (1972). Biliary excretion of ampicilin in the anesthetized dog. I.Effect of serum ampicilin cocentration, taurocholate infusion rate, biliary secretion pressure and secretin infusion. *Surgery.* 71,664
- 137.-Maurer,H.M.,Caul,J. (1972). Influence of bilirubin on human platelets. *Pediat Res.* 6,133
- 138.-Montet,J.C.,Gerolami,A. (1978). Intrahepatic metabolism and secretion of biliary lipids. *Digestion.* 17,346
- 139.-Morris,T.Q. (1972). Choloretic responses to cyclic AMP and teophylline in the dog. *Gastroenterology.* 63,187
- 140.-Motta,P.,Porter,K.R. (1974). Structure of rat liver sinusoids and associate tissue spaces as revealed by scanning electron microscopy. *Cell.Tissue.Res.* 148,111
- 141.-Nalbone,G.,Lafont,H.,Domingo,N.,Lairon,D.,Pautrat,G.,Hauton,J.C. (1973). Ultramicroscopic study of the bile lipoprotein complex. *Biochimie.* 54,529
- 142.-Nelson,J.A.,Staubus,A.E.,Riegelman,S. (1975). Saturation kinetics of iopanoate in the dog. *Invest.Radiol.* 10,371
- 143.-Nilsson,S.,Schersten,T. (1970). Influence of bile acids on the synthesis of biliary phospholipids in man. *Eur. J.Clin.Invest.* 1,109
- 144.-Novikoff,A.B.,Essner,E. (1960). The liver cell,some new approaches to its study. *Am.J.Med.* 29,102
- 145.-O'Maille,E.R.L.,Richards,T.G.,Short,A.H. (1966). Factors determining the maximal rate of organic anion secretion by the liver and further evidence on the hepatic site of action of the hormone secretin. *J.Physiol.* 186,424
- 146.-Ostrow,J.D.,Branham,R.V. (1970). Photodescomposition of bilirubin and biliverdin in vitro. *Gastroenterology.* 58,15
- 147.-Ostrow,J.D. (1971). Photocatabolism of labelled bilirubin-

- bin in the congenitally jaundiced Gunn rat. *J.Clin.Invest.* 50,707
- 148.-Palmer,R.H. (1967). The formation of bile acid sulfates
A new pathway of bile acid metabolism in humans. *Proc.
Natl.Acad.Sci.USA.* 58,1047
- 149.-Paumgartner,G.,Reichen,J. (1974). Influence of chemical
structure on hepatic uptake of bile salts. *Gastroente-
rology.* 67,810
- 150.-Paumgartner,G.,Reichen,J. (1975). Separate carrier me-
diated transport systems for the hepatocellular uptake
of bilirubin and bile acids. *Digestion.* 12,236
- 151.-Philips,M.J.,Oda,M.,Mak,E.,Steiner,J.W. (1976). Fine
structure of the biliary tree. In *The Hepatobiliary
System.* Ed. W.Taylor. Plenum Press, New York and Lon-
don. p.245
- 152.-Popper,H.,Schaffner,F. (1957). *Liver Structure and
Function.* McGraw Hill, New York. p.103
- 153.-Preisig,R.,Cooper,H.L.,Wheeler,H.O. (1962). The rela-
tionship between taurocholate secretion rate and bile
production in the unanesthetized dog during cholinergic
blockade and secretin administration. *J.Clin.Invest.*
41,1152
- 154.-Prandi,D.,Dumont,M.,Erlinger,S. (1974). Influence of
portacaval shunt on bile formation in the rat. *Eur.J.
Clin.Invest.* 4,197
- 155.-Prandi,D.,Erlinger,S.,Glasinovic,J.C.,Dumont,M. (1975).
Canalicular bile production in man. *Eur.J.Clin.Invest.*
5,1
- 156.-Prugh,M.F.,Gregory,D.H.,Vlahcevic,Z.R.,Swell,L. (1976).
Role of the microtubular Golgi network in the hepatoce-
llular transport of biliary lipids. *Hepatofalk.* VI,143
- 157.-Pugh,P.M.,Stone,S.L. (1968). The effect of 2,4 DNP and
related compounds on bile secretion. *J.Physiol.* 198,39
- 158.-Pugh,P.M.,Rutishauser,S.C.B. (1978). Comparative ef-
fects of 2,4 DNP and sodium salicylate on bile secre-
tion in the dog, cat, rabbit and guinea pig. *Gen.Pharm-
mac.* 9,119
- 159.-Redinger,S.M.,Small,D.M. (1973). Primate biliary phy-

- siology. VII. The effect of phenobarbital upon bile salts synthesis and pool size, biliary lipid secretion and bile composition. *J.Clin.Invest.* 52,161
- 160.-Reichen,J.,Paumgartner,G. (1975). Sodium dependence of hepatocellular uptake. Evidence for carrier mediated transport. *Digestion.* 12,273
- 161.-Reichen,J.,Paumgartner,G. (1975). Kinetics of taurocholate uptake by the perfused rat liver. *Gastroenterology.* 68,132
- 162.-Reichen,J.,Paumgartner,G. (1976). Definition of Na -K ATPase dependent bile formation in the rat. *Digestion.* 14,486
- 163.-Richards,T.G.,Tindall,V.R.,Young,A. (1959). A modification of the bromosulphthalein liver function test to predict the dye content of the liver and bile. *Clin.Sci.* 18,449
- 164.-Ritt,D.J.,Combes,B. (1967). Enhancement of apparent excretory maximum of bromosulphthalein by taurocholate and dehydrocholate. *J.Clin.Invest.* 46,1108
- 165.-Robinson,S.H.,Yannoni,C.,Nagasawa,S. (1971). Bilirubin excretion in rats with normal and impaired bilirubin conjugation: effect of phenobarbital. *J.Clin.Invest.* 50,2606
- 166.-Rouiller,C. (1956). Les canalicules biliares. Etude au microscope electronique. *Acta.Anat.* 26,94
- 167.-Royer,M.,Garay,E.R.,Argarich,T. (1962). Action of biliverdin on biliary elimination of bilirubin and biliverdin. *Acta.Physiol.Latinoam.* 12,84
- 168.-Rudman,D.,Kendall,F.E. (1957). Bile acid content of human serum. II. The binding of cholanic acid by human plasma proteins. *J.Clin.Invest.* 36,538
- 169.-Rutishauser,S.C.B. (1980). An analysis of the choleric effect of infusions of sodium cholate in the guinea pig. *Quart.J.Exp.Physiol.* 65,37
- 170.-Rutishauser,S.C.B.,Stone,L. (1975). Aspects of bile secretion in the rabbit. *J.Physiol.* 245,567
- 171.-Rutishauser,S.C.B.,Stone,L. (1975). Comparative effects of sodium taurodeoxycholate and sodium taurocholate on

- bile secretion in the rat, dog and rabbit. *J. Physiol.* 245, 583.
- 172.-Rutishauser, S.C.B., Stone, L. (1975). The effect of sodium salicylate on bile secretion in the dog. *J. Physiol.* 245, 549
- 173.-Schacter, B.A., Yoda, B., Israels, L.G. (1976). Human spleen heme oxygenase in normal, hemolytic and other pathological states. *Annls. Clin. Res.* 8, Suppl. 17, 28
- 174.-Schaffner, F., Javitt, N.B. (1966). Morfologic changes in hamster liver during intrahepatic cholestasis induced by taurolithocholate. *Lab. Invest.* 15, 1783
- 175.-Scharschmidt, B.F., Waggoner, J.G., Berk, P.D. (1975). Hepatic organic anions uptake in the rat. *J. Clin. Invest.* 56, 1280
- 176.-Scharschmidt, B.F., Schmid, R. (1977). The micellar sink. *Gastroenterology.* 72, 1182
- 177.-Schawrtz, S., Ibrahim, G., Watson, C.J. (1964). The contribution of nonhemoglobin hemes to the early labelling of bile bilirubin. *J. Lab. Clin. Med.* 64, 1003
- 178.-Schawrtz, H.P., Herz, R., Sauter, K., Paumgartner, G. (1973). Taurocholate induced anticholeresis in rat. *Eur. J. Clin. Invest.* 3, 268
- 179.-Schawrtz, L.R., Burr, R., Schwenk, M., Pfaff, E., Geim, H. (1975) Uptake of taurocholic acid into isolated rat liver cells. *Eur. J. Biochem.* 55, 617
- 180.- Schiff, M. (1870). Bericht über einige Versuchsreihen I Gallenbildung abhängig der Aufsaugung der Gallenstoffe. *Pflügers. Arch. ges. Physiol.* 3, 598
- 181.-Schmid, R., Axelrod, J., Hammaker, L. (1958). Congenital jaundice in rats due to a defect in glucuronide formation. *J. Clin. Invest.* 37, 1123
- 182.-Schmid, R., McDonagh, A.F. (1975). The enzymatic formation of bilirubin. *Annls. Acad. Sci.* 244, 533
- 183.-Schmid, M.D. (1978). Bilirubin metabolism: state of the art. *Gastroenterology.* 74, 1307
- 184.-Schratcher, T. (1965). Electrolyte composition and control of biliary secretion in the cat and rabbit. In *The Biliary System*. Ed. W. Taylor. Oxford, Blackwell. p. 519

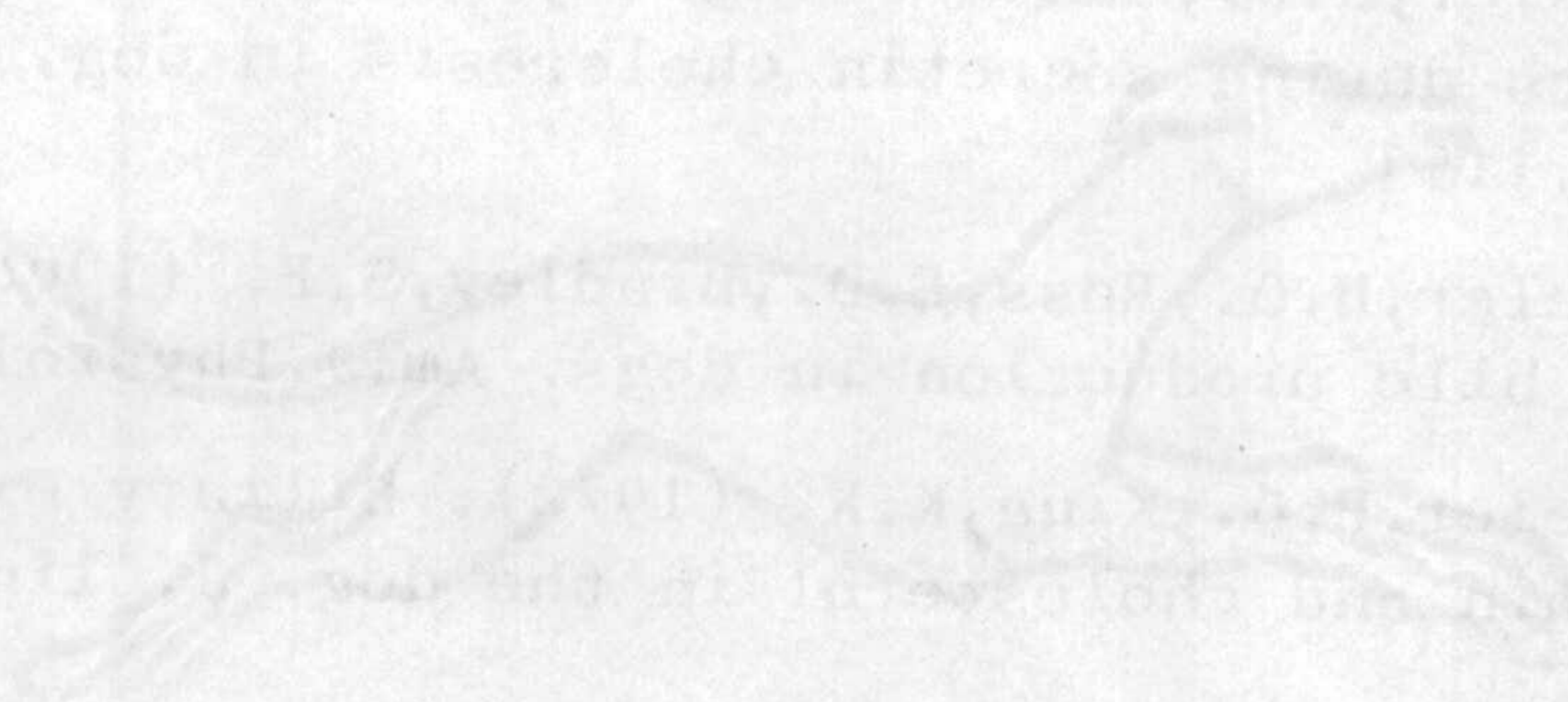
- 185.-Shaw,H.,Caple,I.,Heath,T. (1972). Effect of ethacrynic acid on bile formation in sheep, dogs, rats, guinea pigs and rabbits. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 182,27
- 186.-Shaw,H.,Heath,T. (1974). Regulation of bile formation in rabbits and guinea pigs. *Q.J.Expl.Physiol.* 59,93
- 187.-Shaw,H.,Heath,T. (1975). Bile salt and bile formation in rats, rabbits and guinea pigs. *Com.Biochem.Physiol.* 50,615
- 188.-Shefer,S.,Nicolan,G.,Mosbach,E.H. (1975). Isotope derivative assay of microsomal cholesterol 7 hydroxylase. *J.Lipid.Res.* 16,92
- 189.-Shull,S.D.,Wagner,C.I.,Trotman,B.W.,Soloway,R.D. (1977). Factors affecting bilirubin excretion in patients with cholesterol or pigments gallstones. *Gastroenterology.* 72,625
- 190.-Slater,T.F.,Ingall,A.,Le Page,R.N.,Lott,K.A. (1978). Effects of bile acids and related substances on membrane fluidity of bile canaliculi-enriched membrane fractions from rat liver. In *Biological Effects of Bile Acids*. Ed. G.Paumgartner. University Park Press, Baltimore. p.19
- 191.-Small,D.M. (1970). The formation of gallstones. *Adv. Med.* 16,243
- 192.-Smaller,M.,Crawford,S.,Miner,P.B. (1980). Disociation of bile salt independent bile flow and hepatic $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase activity induced by spirinolactone and carrenone. *Gastroenterology.* 79,1055
- 193.-Soloway,R.D.,Hofman,A.F.,Thomas,P.J.,Schoenfield,L.J.,Klein,P.D. (1973). Dehydrocholic acid: hepatic metabolism and effect on biliary flow and biliary lipid secretion in man. *J.Clin.Invest.* 52,715
- 194.-Soloway,R.D.,Powell,K.M.,Senior,J.R.,Brooks,F.P. (1973) Interrelationship of bile salts, phospholipids and cholesterol in bile during manipulation of the enterohepatic circulation in the conscious dog. *Gastroenterology.* 64,1156
- 195.-Sperber,I. (1959). Secretion of organic anions in the formation of urine and bile. *Pharmacol.Rev.* 11,109
- 196.-Sperber,I. (1965). Biliary secretion of organic anions and its influence on bile flow. In *The Biliary System.*

Ed. W. Taylor. Oxford, Blackwell. p.457

- 197.-Steiner, J.W., Carruthers, J.S. (1961). Studies on the fine tree. The morphology of normal bile canaliculi, bile preductules and bile ductules. *Am.J.Pathol.* 38, 639
- 198.-Strasberg, S.M., Ilson, R.G., Siminovitch, K.A., Brenner, D., Palaheimo, J.E. (1975). Analysis of the components of bile flow in the Rhesus monkey. *Am.J.Physiol.* 228, 115
- 199.-Tenhunen, R. (1965). Studies on bilirubin and its metabolism. *Annls.Med.Exp.Biol.Fenniae.* 43, Suppl.6, 1
- 200.-Tenhunen, R., Marver, H.S., Schmid, R. (1969). Microsomal heme oxygenase. Characterization of the enzyme. *J. Biol.Chem.* 244, 6388
- 201.-Theiler, K. (1963). Do bile ducts act solely as biliary channels?. *Ger.Med.Mon.* 8, 202
- 202.-Upton, D.W., Gronwall, R.R., Cornelius, C.E. (1970). Maximal hepatic excretion of bilirubin in sheep. *Proc. Soc.Exp.Med.* 134, 9
- 203.-Verschure, J.C.M., Mynlieff, P.P. (1956). The dominating macromolecular complex of human gallbladder bile. *Clin.Chim.Acta.* 1, 154
- 204.-Vial, J.D., Simon, F.R., Mackinnon, A.M. (1976). Effect of bile duct ligation on the ultrastructural morphology of hepatocytes. *Gastroenterology.* 70, 85
- 205.-Vonk, R.J., Veen, H.V.D., Prop, G., Meyer, D.K.F. (1974). The influence of taurocholate and dehydrocholate choleresis on plasma disappearance and biliary excretion of indocyanine green in the rat. *Naunyn.Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.* 282, 401
- 206.-Vonk, R.J., Jekel, P.A., Meyer, D.K.F. (1975). Influence of bile salts administration and biliary micelle formation on the biliary elimination of organic anions. *Digestion.* 12, 258
- 207.-Vonk, R.J., Jekel, P.A., Meyer, D.K.F. (1975). Choleresis and hepatic transport mechanisms. II. Influence of bile salt choleresis and biliary micelle binding on biliary excretion of various organic anions. *Naunyn.Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.* 290, 375
- 208.-Vonk, R.J., Jekel, P.A., Meyer, D.K.F., Hardnk, H.J. (1978) Transport of drugs in isolated hepatocytes. The influence of bile salts. *Biochem.Pharmacol.* 27, 397

- 209.-Vonk, R. J., Danhof, M., Coenraads, T., Van Doorn, A. B. D., Kaulmans, K., Scaf, A. H. J., Meyer, D. K. F. (1979). Influence of bile salts on hepatic transport of bromosulphthalein. *Am. J. Physiol.* 6, E524
- 210.-Ware, A. J., Carey, M. C., Combes, B. (1976). Solution properties of bromosulphthalein compound alone and in association with sodium taurocholate. *J. Lab. Clin. Med.* 87, 443
- 211.-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
- 212.-Wheeler, H. O., Ramos, O. L. (1960). Determinants of the flow and composition of bile in the unanesthetized dog during constant infusions of sodium taurocholate. *J. Clin. Invest.* 39, 161
- 213.-Wheeler, H. O., Mancusi Ungaro, P. L. (1966). Role of bile ducts during secretin choleresis in dog. *Am. J. Physiol.* 210, 1153
- 214.-Wheeler, H. O., Ross, E. D., Bradley, S. E. (1968). Canalicular bile production in dogs. *Am. J. Physiol.* 214, 866
- 215.-Wheeler, H. O., King, K. K. (1972). Biliary excretion of lecithin and cholesterol in the dog. *J. Clin. Invest.* 51, 1337
- 216.-Wirtz, C. W., Cantarow, A., Snape, W. J., Debserone, B. (1951). Bile volume and excretion of pigment and bromosulphthalein in dogs receiving carbon tetrachloride. *Am. J. Physiol.* 165, 680
- 217.-With, T. K. (1968). *Bile Pigments*. Academic Press, New York.
- 218.-Wolkoff, A. W., Wolpert, E., Pascasio, F. (1974). Inheritance of the Dubin Johnson syndrome. *Gastroenterology.* 67, 838
- 219.-Wolkoff, A. W., Goresky, C. A., Selling, J., Gatmaitan, Z., Arias, I. M. (1979). Role of ligandin in transfer of bilirubin from plasma into liver. *Am. J. Physiol.* 236, E648

Parthenon



Biblioteca Universitaria de Granada



01066296