

N° d'ordre

50.376

1958

10

50376

1958

10

T H E S E S

présentées à la

FACULTE DES SCIENCES

de l'Université de Lille

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

par

Jacques VANLERENBERGHE

Maître de Conférences

à la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lille

Première Thèse

Etude de l'intervention de quelques  
facteurs enzymatiques dans la cholérèse  
(recherches sur le foie de rat perfusé)

Deuxième Thèse

Propositions données par la Faculté

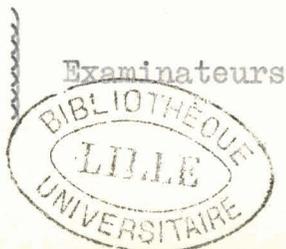
soutenues le 5 décembre 1958 devant la Commission d'Examen:

MM. H. Heim de Balsac Président

R. Defretin

J. Montreuil

P. Combemale



Il nous est particulièrement agréable de dédier ce travail à notre Maître, Monsieur le Professeur Combemale, qui nous a accueilli dans son Laboratoire il y a 17 ans. Son soutien constant, sa compréhension totale nous ont donné les moyens de mener à bien cette étude. Qu'il soit assuré de notre reconnaissance et de notre respectueux dévouement.

Monsieur le Professeur Bizard a bien voulu discuter avec nous l'interprétation de certains faits expérimentaux tandis que les Professeurs Biserte et Osteux et le Professeur Agrégé Clay nous guidaient en Biochimie et en Histologie. Messieurs Guerrin, Milbled, Robelet nous ont apporté leur concours dans la partie physiologique de ce travail.

Nous tenons à les remercier tous de leur aide précieuse.

INTRODUCTION.

-----

C'est en 1954 que nous avons abordé, avec notre maître G. BIZARD, l'étude de la cholérèse et des cholérétiques. Il nous est vite apparu que la littérature comportait une somme considérable de documents, même si l'on éliminait systématiquement tous les renseignements obtenus en clinique humaine et les recherches faites sur les propriétés des drogues végétales mal définies chimiquement.

Près d'un millier de références bibliographiques étaient réunies et analysées dans un rapport présenté en 1956 à l'Association des Physiologistes de Langue Française. Il ressortait de notre étude qu'une large part d'inconnue persistait dans nos connaissances sur la cholérèse mais que 2 mécanismes devaient intervenir dans la formation de la bile = une filtration passive et une sécrétion active.

Des arguments multiples sont apportés à l'appui de ces deux hypothèses. Retenons par exemple, que la bile peut être émise sous une pression supérieure à la pression porte ( foie perfusé ), ce qui ne peut s'expliquer que par une part sécrétoire. Par contre certains colorants sont éliminés par la bile sans concentration ce qui est faveur d'un processus physique de filtration.

Nous avons pensé qu'il était possible de reprendre l'étude des mécanismes de la cholérèse en utilisant une voie différente de celles suivies jusqu'à ce jour. En effet une sécrétion active correspond à un travail, ce qui consomme de l'énergie dont l'origine

est certainement chimique. Les différents métabolismes étant sous la dépendance de facteurs enzymatiques, la détermination de ceux-ci devrait apporter quelques éclaircissements sur le problème de la formation de la bile.

Nous nous sommes proposés de réunir dans ce travail quelques résultats expérimentaux concernant les systèmes diastasiques qui interviennent dans la cholérése.

A - RAPPEL DE DONNEES EXPERIMENTALES SUR LES MECANISMES

de la CHOLERESE.

-----

L'ensemble des recherches sur le mécanisme de la cholérese peut être divisé en 2 groupes. Le premier groupe comprend l'étude de l'influence des facteurs circulatoire, oxygène, température et système nerveux sur la formation de la bile. Dans le second groupe on trouve les renseignements fournis lors de l'élimination biliaire des colorants par l'organisme entier ou par le foie perfusé.

I - FACTEURS INTERVENANT DANS LA SECRETION BILIAIRE:

I - Action de l'oxygène.

De nombreux auteurs ont étudié la teneur en oxygène du sang de l'artère hépatique, des veines porte et sus hépatiques. En règle générale le sang sus hépatique est moins oxygéné que les sangs porte et artère hépatique, ce qui traduit une consommation d'oxygène par le foie. Mais il est à noter que la saturation des sangs veineux est très variable d'une expérience à l'autre, ce qui correspond à une fluctuation permanente des apports oxygénés veineux et artériels. De toute façon il est impossible d'établir un parallèle entre la quantité de bile formée et le bilan physiologique de l'oxygène. On est obligé d'avoir recours à des méthodes indirectes d'étude.

L'hypoxie réalisée par dépression barométrique ou par inhalation d'un mélange gazeux approprié entraîne une diminution volumétrique plus ou moins marquée de la sécrétion biliaire. (TANTURI et IVY 1938, ENGSTRAND 1949, CHARDON, NEVERRE et JEANNOEL 1949, HANZON 1952, HOUDAS 1956. La bile émise dans ces conditions est plus concentrée en bilirubine et en acides biliaires ( GLIKSON et RUBEL 1940 ). Enfin l'anoxie retarde l'élimination biliaire de la Bromo<sup>sulfone</sup> phtaleïne ( ENGSTRAND ) et de l'uranine ( HANZON ).

L'anoxie cytotoxique par K C N ( HOBBER et TITAJEW 1930 ) modifie considérablement l'élimination biliaire de certains colorants par le foie de grenouille perfusé. Normalement le bleu patent V et l'érioglaucine sont environ 1.000 fois plus concentrés dans la bile que dans le perfusat. En présence de K C N le bleu patent n'est pas éliminé et l'érioglaucine est à même concentration dans la bile et dans le perfusat.

## 2 - Influence de la circulation.

De multiples déterminations du débit sanguin transhépatique ont été effectuées. Les résultats les plus valables ont été obtenus avec le thermostromuhr de REIN par GRAB, JANSEN et REIN ( 1929 ) SCHWIEGK ( 1932 ), HERRICK, MANN, ESSEX et BALDES ( 1934 ), SOSKIN, ESSEX, HERRICK et MANN ( 1938 ), GRINDLAY, HERRICK et MANN ( 1941 ), GRODINS, OSBORNE, IVY et GOLDMANN ( 1941 ). Le débit sanguin global à travers le foie est aux environs de 1,75 litre/Heure/Kg chez le chien mais l'apport respectif de la veine porte et de l'artère hépatique est très variable et il existe une sorte de balancement entre les deux circulations. Il n'y a donc pas indépendance fonctionnelle, entre

la grande circulation et la système porte, et ceci est confirmé par l'existence de nombreuses anastomoses intrahépatiques entre les 2 groupes de vaisseaux.

Il est d'ailleurs bien établi que la ligature de l'artère hépatique ou la ligature progressive de la veine porte permettent le maintien de la sécrétion biliaire. De même la perfusion du foie par l'artère hépatique ( HERMANN, JOURDAN et SEDALLIAN 1938 ) ou par la seule veine porte ( BRAUER<sup>1</sup> et <sup>PESSOTTI</sup> PIZZOLATO 1951 ) autorise une cholérèse prolongée.

TANFURI et IVY ( 1938 ) ont étudié, chez l'animal entier (Chien) les rapports existants entre le débit sanguin et la sécrétion biliaire. L'augmentation du débit transhépatique favorise la formation de bile à condition qu'il ne s'ensuit pas une compression mécanique des canalicules biliaires par les voies sanguines. Les auteurs constatent encore que lorsque la pression artérielle est très basse ( inférieure à 40 mm de Hg ) le déhydrocholate présente encore une activité cholérétique.

BRAUER, LEONG et HOLLOWAY ( 1954 ) en utilisant la technique du foie de rat perfusé par la veine porte, ont démontré que la sécrétion biliaire dépendait beaucoup plus du débit sanguin que de la pression sanguine. Mais BRAUER note également qu'à partir d'un certain seuil de débit sanguin ( 30 ml/min ) la sécrétion biliaire n'est guère modifiée par l'accroissement de la circulation.

### 3 - Action de la température.

La sécrétion biliaire varie avec la température, augmentant lorsque la température s'élève, diminuant quand la température baisse. Les résultats chiffrés les plus précis sont fournis par KALOW (1950 )

sur le rat anesthésié à l'urétane<sup>h</sup>. La cholérèse augmente lorsque la température passe de 28 à 40° puis diminue si la température s'élève plus haut. Le  $Q_{IO}$  est en moyenne de 2,15 pour 10 expériences avec des valeurs extrêmes de 1,54 et 3,25.

L'école d'IVY a rattaché cette influence de la température sur la cholérèse à une action sur le débit sanguin intrahépatique, en ce basant sur les constatations de SCHWIEGK : l'hyperthermie détermine une augmentation de l'irrigation du foie.

BRAUER et PESSOTTI ont retrouvé, sur le foie de rat perfusé l'influence de la température sur la formation de la bile, mais ces auteurs notent qu'entre 32 et 40° le débit sanguin diminue alors que la cholérèse augmente.

Enfin on peut retenir que l'hypothermie réduit l'élimination de l'uranine ( HANZON 1952 ) et de la B.S.P. ( BROKAW et PENRODI 1949 )

#### 4 - Facteurs nerveux.

Il est possible de stimuler la cholérèse par excitation du bout périphérique du pneumogastrique ( TANTURI et IVY 1938; GOFFIN 1948 ). Les distensions gastrique ou intestinale donnent des modifications minimes de la cholérèse soit dans le sens de l'augmentation, soit en diminution ( HERMANN et MORIN 1934, BIZARD et BOULET 1934, WARKENTIN et coll. 1942 ).

La majorité des auteurs ne reconnaissent pas au système nerveux une action excito sécrétoire directe et estiment que son influence se fait par l'intermédiaire de phénomènes vaso moteurs.

## II - L'ELIMINATION BILIAIRE DES COLORANTS.

### I - Organisme entier.

C'est ABEL et ROWNTREE qui ont montré en 1909 que certaines phtaleïnes halogénées ( phénoltétrachlorophtaleïne ) sont éliminées principalement par la bile. Le rose Bengale utilisé par FIESSINGER s'élimine plus rapidement que le corps précédent et sa fluorescence a permis des études histochimiques ( MENDELOFF 1949 ).

La B.S.P. ( phénoltétrabromophtaléïne disulfonate de sodium ) est la substance la plus utilisée actuellement, tant chez l'homme que chez l'animal, lorsque l'on explore l'élimination biliaire des colorants. Des doses intraveineuses de 2 à 5 mg par kg sont récupérées presque intégralement dans la bile en moins de 3 heures ( CANTAROW chez le chien ). Il est d'ailleurs d'observation courante que la disparition de la B.S.P. du sang se fait beaucoup plus rapidement, ce qui a conduit CANTAROW à reconnaître un mécanisme double dans l'élimination de la B.S.P. une captation extra sanguine puis une excrétion biliaire progressive.

Si on substitue à l'injection massive, l'infusion continue de B.S.P. on observe un phénomène nouveau. En effet si au bout d'un certain temps il se produit un état d'équilibre entre injection et élimination ( BRADLEY et coll. 1945 ), on constate en début d'expérience que l'élimination est de loin inférieure à la B.S.P. injectée, ce qui traduit un stockage du colorant.

Des recherches complémentaires de BRAUER avec une B.S.P. marquée par <sup>35</sup>S ont permis de préciser que le stockage temporaire se faisait principalement dans le foie et accessoirement dans le reste de l'organisme.

Parmi les travaux effectués avec des colorants fluorescents retenons les études de HANZON avec l'uranine. L'élimination de cette

substance se fait en deux temps comme pour la B.S.P. mais en outre HANZON montre que le transit et le stockage se font dans les cellules hépatiques proprement dites et non dans les espaces intercellulaires comme VON MOLLENDORF l'avait admis. Il semble aussi que les régions centrolobulaires sont plus actives que les cellules de la périphérie du lobule.

## 2 - Foie perfusé.

Le foie perfusé de grenouille a permis à HOBER et coll. d'étudier l'élimination biliaire de nombreux colorants. HOBER et TITAJEW ( 1930 ) distinguent trois groupes de substances.

a) les colorants acides et diffusibles tels le bleu de bromo phénol et l'érythrosine; on peut les trouver à une concentration environ 1.000 fois plus grande dans la bile que dans le perfusé

b) les colorants basiques comme le rouge neutre et l'irisamine G sont également concentrés dans la bile mais nettement moins que les colorants du 1er groupe, le rapport de concentration étant de 100 environ.

c) enfin les colorants colloïdaux non diffusibles ne sont pratiquement pas concentrés dans la bile.

Lorsque 2 colorants sont utilisés simultanément ( HOBER 1939 ) on observe, en général, une concentration des 2 substances. Le plus souvent un colorant est plus concentré que l'autre pendant toute l'expérience, mais il peut se produire une modification et même une inversion du rapport des concentrations. Le phénomène n'est pas en relation avec la diffusibilité des colorants dans la gélatine et semble lié, au moins partiellement, à l'adsorbabilité des produits.

Il existe donc une véritable compétition vis à vis d'un mécanisme unique d'élimination.

Avec la technique de perfusion du foie de rat, BRAUER, PESSOTTI et PIZZOLATO ( 1951 ) retrouvent l'élimination biliaire de la B.S.P. avec concentration de l'ordre de 200 à 800.

### 3 - Rôle des cellules de KÜPPFER.

#### a) Cas des colorants colloïdaux.

Les cellules de KÜPPFER du foie de grenouille perfusé ( HOBER et TITAJEW ) ne fixent des colorants colloïdaux tels que le bleu trypan et le bleu R soluble qu'à condition que le perfusat contienne du sérum sanguin. Par contre les colorants non colloïdaux sont éliminés avec concentration même dans les perfusions au Ringer pur.

#### b) Cas des colorants non colloïdaux.

Il est indiscutable que le blocage du système réticulo endothélial par le bleu trypan ou l'encre de Chine diminue l'excrétion biliaire de la B.S.P. tandis que le taux sanguin de ce colorant reste élevé. ( CANTAROW et WIRTS 1943, SHORE et ZILVERSMIT 1954 ). Ces résultats servent d'ailleurs de support à la théorie de la captation suivie de l'excrétion biliaire des colorants.

Cependant HOBER et TITAJEW constatent que l'encre de Chine ne modifie pas l'élimination biliaire des colorants non colloïdaux par le foie de grenouille perfusé. BRAUER et PESSOTTI montrent que l'encre de Chine n'empêche pas la captation de la B.S.P. par des coupes de foie et pensent qu'in vivo l'encre de Chine agit en perturbant la circulation capillaire. De plus KREBS et BRAUER ( 1949 ) observent sur des coupes de foie que la B.S.P. marquée par <sup>35</sup>S se fixe directe-

ment dans les cellules hépatiques et non pas dans les cellules de KÜPPFER.

Ces dernières constatations sont en accord avec les résultats de MENDELOFF ( 1949 ) et de HANZON ( 1952 ) qui observent respectivement que la fluorescence du rose bengale ou de l'uranine apparaît seulement dans les cellules hépatiques et non dans les KÜPPFER.

Enfin SHORE et ZILVERSMIT ( 1954 ) montrent que chez le chien l'encre de Chine n'empêche pas la captation de l'or colloïdal tandis que l'excrétion de la B.S.P. est alors très perturbée.

### III - INTERPRETATION DES DONNEES PRECEDENTES = MECANISMES DE LA CHOLERESE.

#### I - La filtration.

A l'appui du mécanisme de filtration on peut retenir que l'élimination biliaire de certains colorants se fait sans concentration et que la bile est à peu près isotonique au sang ( $\Delta = 0,54$ ). L'influence du débit sanguin hépatique sur le débit biliaire évoque également le phénomène de filtration.

Les travaux anatomiques et histologiques les plus récents ( PAVEL et TEITEL-BERNARD 1948, ELIAS 1949, GRAFFLIN et BAGLEY 1952, EDLUND et HANZON 1953, ROUILLER 1954 ) permettent d'affirmer que les notions classiques sont périmées. De toute évidence il n'y a pas obligatoirement de cellule glandulaire interposée entre capillaires sanguins et canalicule biliaire. Il existe au moins des contacts directs entre ces 2 formations et peut-être même des communications entre ces cavités. La filtration est donc possible sur le plan

structural.

## 2 - La sécrétion.

L'élimination biliaire de colorants, avec concentration, ne peut s'expliquer que par une sécrétion active ou par une filtration suivie de résorption d'eau. Cette seconde hypothèse ne semble pas suffisante pour expliquer les très hautes concentrations de l'ordre de 1.000 observées avec les colorants du 1er groupe de HOBBER.

Par contre l'hypothèse de la sécrétion active est celle qui s'accorde le mieux avec cette concentration et avec le fait que la bile peut-être émise sous une pression supérieure à la pression portale de perfusion ( BRAUER, LEONG et HOLLOWAY 1954 ). L'influence de l'anoxie et celle de la température sur la cholérèse sont également en faveur d'un phénomène sécrétoire.

Il est toutefois à noter que les agressions expérimentales connues ne font que réduire la cholérèse et qu'aucune d'entre elles ne tarit complètement la sécrétion biliaire.

## 3 - Capacité sécrétoire maximum.

Il a été démontré, pour certains corps, qu'il existe une limite à la possibilité de concentration dans la bile, ce qui marque la saturation du processus biliaire d'excrétion.

HANZON a montré que la bilirubine exogène ne pouvait être éliminé dans la bile à une concentration supérieure à 1.500 mg pour 100 tandis que la B.S.P. biliaire ne dépasse pas le taux de  $9,3 \pm 0,9$  g par l ( BRAUER et PESSOTTI 1950 ) lorsque le colorant est infusé de façon continué dans le perfusat.

Par contre un tel plafond d'élimination n'est pas retrouvé par HANZON pour l'uranine; la concentration biliaire de cette substance

augmente en même temps que la quantité injectée dans le sang, sans qu'une limite supérieure puisse être atteinte. Il est à noter que l'uranine, contrairement à la bilirubine et à la B.S.P. détermine une augmentation de la cholérèse, ce qui explique peut-être la différence des résultats obtenus avec ces deux groupes de substances.

#### 4 - Compétition sécrétoire.

Lorsque deux substances sont présentées simultanément à l'élimination biliaire il se produit une véritable compétition vis à vis d'un mécanisme à efficacité limitée. La compétition sécrétoire est connue pour l'association B.S.P.-bilirubine ( DRAGSTEDT et Mills 1937 -CANTAROW et coll. 1948 ). B.S.P. - Rose Bengale ( MENDELOFF et coll. 1949 - BRADLEY 1948 ). Bilirubine - Rose Bengale ( SNAPP, GUTMAN, LI et IVY 1947 ), mais c'est l'élimination de l'ensemble bilirubine-uranine ( HANZON ) qui a donné lieu aux constatations les plus intéressantes. En effet, la fluorescence de l'uranine a permis de suivre le devenir de ce colorant dans le parenchyme hépatique. Il apparaît qu'aux doses moyennes de bilirubine l'uranine pénètre normalement dans les cellules glandulaires et y est concentrée, tandis que <sup>le</sup> passage dans les canalicules biliaires est retardé. Les doses fortes de bilirubine perturbent en outre le stade cellulaire de l'uranine en retardant la captation du colorant.

Le mécanisme intime de la compétition sécrétoire entre certaines substances n'est pas encore élucidé et des hypothèses ont pu seulement être avancées; le rôle de la diffusibilité est peu probable puisque l'uranine plus diffusible que la bilirubine n'est pas excrétée de façon préférentielle. L'intervention de l'adsorbabilité

ou du mode de liaison avec les protéines plasmatiques ou cellulaires a été évoqué sans pouvoir être démontré.

L'ensemble des travaux brièvement rapportés ci-dessus permet de retenir comme vraisemblable la coexistence d'un mécanisme de sécrétion active et d'un processus de filtration physique. La notion de clearance biliaire, bien que beaucoup moins précise que celle de clearance rénale ne permet pas d'éliminer de façon formelle un processus de résorption de l'eau et de certains électrolytes.

## B - RAPPEL DE DONNEES CLASSIQUES SUR L'EQUIPEMENT

### ENZYMATIQUE DU FOIE

---

Si la plupart des organes contiennent plusieurs diastases, c'est le foie qui est le plus largement pourvu en systèmes enzymatiques. Il n'est guère possible de passer en revue tous ces enzymes, dont certains n'interviennent que dans des métabolismes très particuliers, et nous avons choisi d'étudier avec quelques détails ceux dont le rôle semble prépondérant, à l'heure actuelle.

Par contre, faire la somme de ce qui a été mis en évidence chez le rat expose à un bilan par défaut. Il nous a semblé plus logique, dans ce bref rappel, de grouper les enzymes principaux du foie, quelques soient les espèces où l'enzyme a été découvert. Nous nous sommes pour cela largement inspiré des livres de J.B. SUMNER et K. MYRBACH et des monographies de L. ARVY, en ayant exceptionnellement recours aux travaux originaux qui dépassent largement le cadre d'une étude avant tout physiologique.

#### A - ENZYMES DE CLIVAGE.

##### I - PEPTIDASES.

Le foie contient un certain nombre de peptidases. Pour les endopeptidases, on peut décrire une cathepsine A ( active sur le peptide de synthèse, carbobenzoxy L glutamyltyrosine ). Elle est localisée principalement au niveau des mitochondries. Il existe également une cathepsine B ( active in vitro sur la benzoyl-L-argininamide ) qui est également répartie entre les mitochondries et le liquide surnageant d'un homogénat de foie. Parmi les exopeptidases spécifiques, signalons la carboxypeptidase dont la majeure partie ( 80 à 90 pour 100 ) se retrouve au niveau des mitochondries. Par contre, une glycylglycine dipeptidase, et une triglycinepeptidase sont entièrement retrouvées dans le liquide surnageant d'un homogénat de foie de rat.

Le glutathion, abondant dans le foie ( 170 mg pour 100 g ) trouve dans ce tissu des enzymes capables de le modifier et en particulier une réductase qui assure le passage de la forme oxydé à la forme réduite. L'hydrolyse du glutathion conduisant à la cystéinylglycine se fait uniquement au niveau du rein du rat mais le stade suivant de la dégradation, aboutissant à la cystéine se fait au niveau du foie. L'enzyme responsable de cette dernière réaction est activé par Mg et a un pH optimum d'action de 8,5 à 9.

## II - HISTIDASE et UROCANASE.

Ces enzymes dégradent soit l'histidine, soit l'acide urocanique par l'ouverture du noyau imidazole. Ils sont localisés uniquement dans le foie des vertébrés.

L'inhibition est obtenue par les métaux lourds ( Ca, Cd, Zn ) les cyanures, les acides cétoniques. Une inhibition par compétition

s'observe avec l'imidazole et l'histamine.

L'histidase conduit à la formation de l'acide glutamique et pourrait, de ce fait, avoir un rôle métabolique.

### III - AMYLASE.

Les amylases forment un groupe très complexe d'enzymes qui sont capables de dégrader en particulier les glycogènes pour donner naissance à des dextrines et à du maltose.

L'amylase hépatique est du type  $\alpha$  dont le pH optimum d'action est 6,9. Elle libère d'abord des  $\alpha$ dextrines ( 8 molécules de glucose environ ) puis du maltose.

Les chlorures et les iodures sont activateurs alors que les fluorures sont inhibiteurs.

### IV - ALDOLASE OU ZYMOHEXASE.

L'aldolase permet la réaction réversible :  
fructose I-6 diphosphate  $\rightleftharpoons$  aldehyde phosphoglycérique + phosphodihydrox<sup>x</sup>acétone.

Elle assure donc le passage des hexoses aux trioses. C'est un enzyme qui est surtout abondant dans le muscle strié mais que l'on trouve également dans le foie du rat.

Les inhibiteurs sont variables selon l'origine biologique de l'aldolase, mais ce sont surtout des métaux qui ont cette action = Cuivre, Argent, Zinc.

L'aldolase se trouve dans toute la cellule hépatique et 40 pour 100 environ de l'activité est localisée dans le noyau.

## V - $\beta$ -GLUCURONIDASES

Il s'agit d'un groupe très complexe d'enzymes capables de dégrader les glucuronides naturels ou synthétiques en libérant l'acide D-glucuronique et un aglycone. Chez les mammifères l'enzyme est abondant dans le foie, la rate et les glandes endocrines.

Les activateurs connus sont peu nombreux et représentés surtout par le chlorure de sodium, le sulfate de magnésium, les dérivés du menthol. L'inhibition peut être obtenue par les sels de mercure, les citrates, de nombreux acides organiques (et en particulier les mono-alcools dicarboxyliques), la colchicine. L'acide désoxyribonucléique est inhibiteur ou activateur selon le pH.

La localisation intra cellulaire de l'enzyme n'est pas totalement précisée et on sait seulement que l'activité se situe dans des corpuscules intra-cytoplasmiques sans que l'on puisse assurer qu'il s'agit du chondriome. En ce qui concerne le foie du rat l'activité  $\beta$ -glucuronidasique est faible à la naissance, passe par un maximum vers le 25ème jour pour se stabiliser ensuite à un niveau légèrement inférieur.

La  $\beta$ -glucuronidase intervient surtout dans les processus de détoxication hépatique du chloroforme, du phosphore, etc. Son intervention dans le métabolisme hormonal (oestrogènes) est probable.

## VI - GROUPE DES ESTERASES CARBOXYLIQUES

Toutes ces estérases permettent l'hydrolyse des esters des acides gras, avec libération de l'acide et de l'alcool; elles interviennent également pour favoriser la réaction inverse. Ce groupe est relativement mal connu et en particulier on ignore encore si

ces enzymes sont spécifiques ou ont un large spectre d'action.

Les histo-enzymologistes distinguent les estérases ésérino sensibles et les estérases insensibles à l'ésérine

#### ESTERASES ESERINO SENSIBLES OU CHOLINESTERASES.

Le substrat est représenté par les esters de la choline et l'enzyme le plus représentatif du sous groupe est l'acétylcholine estérase. La pseudo cholinestérase ne semble pas devoir être distinguée de l'acétylcholinestérase vraie puisque toutes deux agissent sur l'acétylcholine et que seule leur provenance biologique les sépare. Il existe cependant plusieurs cholinestérases puisque divers substrats sont hydrolysés plus ou moins rapidement par ces enzymes; c'est ainsi que l'on connaît une benzoylcholinestérase, une acétylsalicyl cholinestérase, etc...

L'acétylcholinestérase est activée par certains ions ( calcium, magnésium ) et par quelques acides aminés ( alanine, proline etc....). L'inhibition de l'enzyme est obtenue par de très nombreux corps au premier rang desquels il convient de placer l'ésérine; d'autres alcaloïdes sont très actifs et en particulier la déhydroergotamine et les curares. Les gaz de combat organo phosphorés inhibent de façon irréversible les cholinestérases.

Le foie est largement en rapport avec l'acétylcholinestérase. Il fut longtemps considéré comme l'organe formateur de la cholinestérase phasmatique, étant donné la chute de l'activité enzymatique qui accompagne les insuffisances hépatiques et les ictères; cette fonction serait plus liée au système réticulo endothélial qu'au parenchyme glandulaire. Le foie n'est peut-être qu'un organe de stockage car un homogénat de foie de souris abandonné à la température

ordinaire voit son activité cholinestérasique augmenter de façon sensible en quelques heures.

Au stade cellulaire l'enzyme est principalement trouvé dans les microsomes, le reste de l'activité se partageant entre mitochondries et noyaux.

Le rôle majeur de l'enzyme se joue dans la transmission de l'influx nerveux. La richesse du foie en cholinestérase a fait supposer l'intervention de cette diastase dans le métabolisme cellulaire; l'action se ferait peut-être par l'intermédiaire de la perméabilité cellulaire.

#### ESTERASES CARBOXYLIQUES ESERINO RESISTANTES.

##### I - Les lipases.

Les substrats de ces enzymes sont des esters du glycérol, la partie acide gras possédant au moins 12 atomes de carbone. Il existe certainement plusieurs lipases distinctes car les pH optimum d'action ainsi que les inhibiteurs varient selon l'origine biologique de l'enzyme. La différenciation physiologique des lipases est cependant encore en cours car les substrats utilisés ne se retrouvent pas dans l'organisme.

De nombreux activateurs des lipases ont été décrits. Parmi eux les sels biliaires méritent une place particulière car ils agissent sans doute en modifiant la structure du substrat ( rôle émulsifiant ). Les inhibiteurs se trouvent dans toutes les classes chimiques = halogènes, ions métalliques ( Cu ), alcools, aldéhydes, cétones, phénols, alcaloïdes.

Les lipases existent en quantité modérée dans le foie de rat; elles semblent diffuses dans tout le cytoplasme.

2 - Estérases non spécifiques ou aliestérases simples.

L'action est analogue à celle des lipases mais elle s'exerce sur des esters dont le composant acide contient moins de 8 C. Ces enzymes sont beaucoup plus abondants dans le foie que ne le sont les lipases. La distinction peut se faire par la sensibilité plus grande des aliestérases à certains inhibiteurs tel le fluorure de sodium; il est à noter que les sels biliaires sont inhibiteurs des aliestérases alors qu'ils favorisaient l'action des lipases.

Au niveau du foie les aliestérases simples sont fixés sur des corpuscules qui siègent au voisinage des canalicules biliaires, corpuscules qui ne semblent pas être des microsomes.

VII - GROUPE DES PHOSPHATASES.

Les phosphatases sont des enzymes qui favorisent la libération de restes phosphate  $\text{P O}_4^{4-}$  à partir d'esters phosphoriques par un processus d'hydrolyse. Il en existe un grand nombre qui agissent sur des substrats plus ou moins complexes.

PHOSPHATASES ALCALINES ainsi appelées parce que leur p H optimum d'action se situe au dessus de 7.

I - Phosphatase non spécifique ou phosphomonoestérase alcaline.

C'est un enzyme très largement répandu chez les vertébrés puisqu'on en trouve dans tout l'organisme à l'exclusion des parois vasculaires et du cartilage hyalin. Il existe dans le foie mais à dose moindre que dans les os et le rein; le foie tumoral est particulièrement riche en enzyme. Cette phosphatase hydrolyse les acides phosphoglycérique et phosphopyruvique; un substrat de choix est le  $\beta$  glycérophosphate. Elle pourrait également permettre le transfert

de  $P O^4$  --- d'une molécule sur une autre et donc jouer le rôle d'un phosphokinase.

Les activateurs sont principalement représentés par des ions divalents : Zn, Co, Ni, Fe et surtout Mg, mais l'origine biologique de l'enzyme est un facteur important de la sensibilité vis à vis de ces métaux.

Les inhibiteurs les plus importants sont les cyanures, les phosphates, les arsénates, l'hydrogène sulfuré, les fluorures, les sels de beryllium, la cystéine et les acides biliaires.

Au stade cellulaire, l'enzyme est peu abondant dans les noyaux et les mitochondries tandis que l'appareil de Golgi et les microsomes en sont largement pourvus.

## 2 - Phosphatases spécifiques.

### a - Adénosine triphosphatase ou apyrase.

Elle catalyse la réaction :



Certaines ATPase peuvent également dégrader l'ADP ; il semble que cette action plus large ne soit pas obtenue avec les enzymes animaux.

Le glutathion est activateur, au moins pour les préparations d'enzymes qui ne sont pas très purifiées. L'inhibition est obtenue par des sels d'argent, de cuivre, de mercure et de magnésium.

La localisation cellulaire est variable selon le tissu considéré. Au niveau du foie de rat, l'adénosine triphosphatase se trouve dans les mitochondries ( 75 pour 100 de l'activité ) et dans le noyau ( 10 à 20 pour 100 de l'activité ).

b - 5 Nucléotidase.

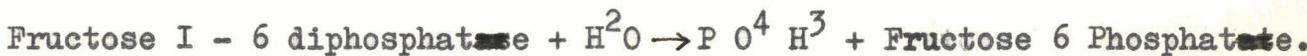
Très largement répandu chez le rat, cet enzyme dégrade électivement les nucléotides estérifiés en 5 par l'acide phosphorique et en particulier l'adénosine -5- phosphate.

L'activation peut être obtenue par Mg, Ca, Mn et Co tandis que Ni et Zn sont des inhibiteurs puissants.

La localisation intracellulaire est mal précisée et la richesse des noyaux en enzyme est contestée.

c - FRUCTOSE I - 6 - diphosphatase.

C'est un enzyme qui permet la réaction suivante :



L'action se fait donc en sens inverse de celle de la phosphohexokinase et ne fait pas intervenir A.D.P. ou A.T.P.

Magnésium et manganèse sont nécessaire à l'activité de l'enzyme dont le pH optimum est entre 9,3 et 9,5. L'inhibition est obtenue par quelques métaux ( Co, Ni, Cu, Zn ) et par les fluorures.

LES PHOSPHATASES ACIDES.

I - Phosphatase non spécifique ou phosphomono estérase acide.

Son activité est analogue à la phosphomonoestérase alcaline, mais avec un pH optimum d'action aux environs de 5. Le foie est avec la prostate l'un des organes les plus riches en cette diastase.

L'activation est obtenue par l'acide ascorbique, l'acide lactique, certaines cétones et surtout par les ions citrates. L'inhibition est assurée par les fluorures, les sels de mercure, de cuivre, de fer. Le cyanure et les ions Mg sont inactifs.

La phosphomono estérase acide est surtout située dans le cyto-

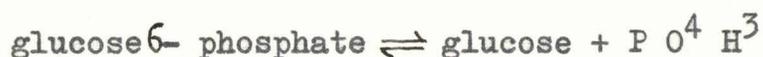
plasme cellulaire et particulièrement dans le chondrione tandis que les noyaux contiennent moins de 5 pour 100 de l'activité globale.

On peut distinguer de l'enzyme décrit ci dessus et qui est aussi connue sous le nom de phosphatase II, une phosphatase III, abondante dans le foie et qui n'est pas inhibée par les ions Mg ++.

## 2 - Phosphates spécifiques.

### Hexose monophosphatase ou glucose 6 - phosphatase.

Particulièrement abondante dans le foie et le rein de rat cet enzyme catalyse la réaction.



à un pH optimum de 6 environ.

Cet enzyme n'est pas modifié par Mg et Ca mais il est inhibé par le fluorure de sodium, les iodures, les sels de mercure. L'action de la cortisone est nulle in vitro, mais in vivo elle renforce l'activité de l'enzyme hépatique. On note encore une inhibition par la phloridzine de l'enzyme des tubules rénaux isolés.

Au niveau du foie il semble que presque toute l'activité glucose 6 phosphatase soit localisée dans les microsomes.

Une glucose I phosphatase a également été décrite; elle serait inhibée par les fluorures.

## VIII - GLUTAMINASE.

La glutaminase est trouvée dans la plupart des tissus animaux mais le rein et le foie sont les deux sources principales de l'enzyme. Pour KREBS ( 1951 ) il existe 2 glutaminases dont l'une ( glutaminase II ) prédominante au niveau du foie a un pH optimum d'action compris

entre 7 et 8.

La glutaminase hydrolyse la fonction amide de la L $\beta$ glutamine pour donner l'acide correspondant et ne touche pas la fonction amine. On obtient donc une amine de l'acide L glutamique. En ce qui concerne l'enzyme extrait du foie de rat l'isoglutamine est un meilleur substrat que la glutamine.

L'inhibition de la glutaminase II est obtenue par le cyanure mais non par l'acide glutamique.

On a pu également montrer que les extraits de foie de rat sont capables d'hydrolyser d'autres amides aliphatiques, en particulier la propionamide, mais il s'agit là de substrats non physiologiques.

Le rôle des amidases hépatiques n'a pas été précisé jusqu'à présent mais il est certain que la teneur du foie en amidase est notablement modifiée dans les processus tumoraux.

#### IX - ARGINASE.

Enzyme hautement spécifique, l'arginase est très abondante au niveau du foie, de tous les mammifères. Elle assure la dégradation de la L arginine et donne naissance à de l'ornithine et à de l'urée.

L'activité de l'arginase est augmentée par la cystéine, le glutathion, certains métaux ( Co, Mn, Ni, Fe<sup>++</sup> ); les métaux lourds et les cyanures sont les inhibiteurs les plus puissants.

Au stade cellulaire, l'arginase se trouve aussi bien dans le cytoplasme que dans le noyau.

#### X - PHOSPHORYLASES.

Ces enzymes catalysent la réaction réversible

glycogène + acide phosphorique  $\rightleftharpoons$  glucose I phosphate.

On en trouve principalement dans le foie et le muscle. Son rôle dans le métabolisme glucidique et dans la fonction glycogénique du foie est considérable.

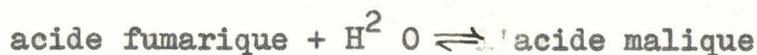
La réaction est sous la dépendance du glucagon qui déplace l'état d'équilibre, en favorisant la destruction du glycogène; cet effet n'est observé que sur cellules intactes et ne se produit pas dans les homogénats.

L'enzyme est activé par les petits polylosides<sup>ho</sup>, les réducteurs, l'acide adénylique. L'inhibition est obtenue par le glucose, la phloridzine, le  $\beta$  glycérophosphate de sodium,

Au stade cellulaire 30 pour 100 environ de l'activité siège dans la noyau.

#### XI - FUMARASE.

La fumarase qui est abondante dans le foie des vertébrés catalyse la réaction réversible

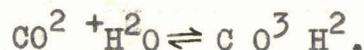


jusqu'à obtention d'un état d'équilibre pour 30 pour 100 d'acide fumarique.

L'enzyme est inhibé, partiellement par l'acide monoiodacétique et très fortement par les phosphates.

#### XII - L'ANHYDRASE CARBONIQUE.

Découverte par ROUGHTON dans les globules rouges cet enzyme catalyse la réaction.



Cette réaction peut également être accélérée par des corps minéraux ce qui fait que la description d'activateurs de l'anhydrase carbonique est soumise à discussion. Parmi les nombreux inhibiteurs il convient de retenir les halogènes, les métaux lourds, les cyanures et surtout certains sulfamides comme le sulfamilamide et l'acétazolamide.

L'enzyme existe dans le foie mais en quantité nettement moins élevée que dans le sang, l'estomac et le rein. Les tumeurs hépatiques malignes (hépatomes) sont deux fois plus pauvre en anhydrase carbonique que le foie de rat normal.

La carboanhydrase joue un rôle important dans le fonctionnement physiologique d'organes aussi différents que le rein, le pancréas et l'estomac. Son intervention dans les fonctions hépatiques ne parait pas avoir été explorée.

### XIII - DECARBOXYLASES DES ACIDES AMINES.

Il s'agit d'un groupe d'enzymes plus ou moins spécifiques capables d'assurer la décarboxylation de quelques acides aminés. Le groupement prosthétique de plusieurs de ces enzymes est un pyridoxal-phosphate.

Les décarboxylases des acides aminés se trouvent dans le foie et les reins. Les substrats sont l'histidine, la tyrosine, la dihydroxyphényl alanine, le tryptophane, la cystéine et la phénylalanine. La plupart de ces enzymes sont inhibés par les cyanures.

Une place particulière doit être faite à la décarboxylase de l'acide cystéique qui mène à la taurine et que l'on trouve uniquement

dans le foie

cystéine  $\longrightarrow$  acide cystéique

acide cystéique  $\longrightarrow$  taurine.

Il est permis de penser que cette dernière diastase joue un certain rôle dans la fonction biliaire bien qu'elle n'ait pas été retrouvé dans le foie de chat et de lapin dont les biles contiennent quand même du taurocholate.

## B - ENZYMES DE TRANSFERT.

### I - GROUPE DES ENZYMES D'OXYDO REDUCTION.

#### 1 - LES AMINOXYDASES.

Ces enzymes dégradent les amines par le processus de la désamination oxydative, en donnant naissance à une aldéhyde et de l'ammoniac

##### a - Les Monoaminoxydases.

Elles attaquent les monoamines et sont trouvées surtout dans le foie et le rein. L'inhibition est obtenue par les amidines, les guanidines, la phénylhydrazine. Ce sont les mitochondries qui supportent la majeure partie de l'activité de cet enzyme ( environ les 2 tiers ).

##### b - Les Diaminoxydases.

Ces enzymes dégradent les diamines et en particulier l'histamine, d'ou le nom d'histaminase qui leur est aussi donné. Il est possible qu'il existe en fait 2 enzymes distincts, l'histaminase qui ouvrirait le noyau imidazol de l'histamine et la diaminoxydase qui le détacherait le  $NH_2$  de la chaîne latérale de l'histamine.

L'activation de l'enzyme n'est guère obtenue que par les

oestrogènes naturels tandis que l'inhibition est le fait des amidines, des guanidines, de l'aneurine, de la thiourée, des corticoïdes, des androgènes, du calcium, du citrate.

Les diaminoxydases sont fixées aux mitochondries, au moins dans le foie du lapin. Il est d'ailleurs à noter que pour un même organe l'activité est très variable selon l'espèce. Le foie de rat est en particulier très pauvre en histaminase.

Les aminoxydases interviennent principalement dans les phénomènes de détoxication par le foie et le rein, en permettant la dégradation des composés aminés. L'attaque possible des aminés sympathomimétiques du type de l'adrénaline permet d'entrevoir le rôle de ces enzymes dans la régulation de la pression artérielle.

## 2 - CYTOCHROME OXYDASE.

Cet enzyme catalyse la réoxydation du cytochrome réduit aux dépens de l'oxygène moléculaire. Chez le rat l'enzyme est en quantités sensiblement égales dans le foie et le cerveau, mais les organes les plus riches sont le coeur et le rein.

L'oxyde de carbone est un puissant inhibiteur de la cytochrome oxydase, par compétition avec l'oxygène. L'inhibition est également obtenue avec l'azide de sodium, les quinones, les cyanures, le nitrate phénylmercurique.

La localisation intracellulaire de l'enzyme des mammifères ne semble pas connue mais on sait que chez des animaux très inférieurs, tels les ciliés, la cytochrome oxydase se trouve dans des granules qui seraient les homologues des mitochondries.

## 3 - LA SUCCINODESHYDROGENASE.

Cet enzyme très répandu permet la transformation de l'acide succinique en acide fumarique et joue le rôle d'accepteur d'hydrogène. Elle catalyse le transport de l'hydrogène de l'acide succinique aux cytochromes.

La succideshydrogénase est inhibée<sup>no</sup> par de très nombreux facteurs parmi lesquels on peut retenir les diacides homologues inférieurs de l'acide succinique, tel l'acide malonique qui agit d'une façon spécifique, le cyanure de potassium, le fluorure de sodium et les sels de mercure ( en particulier par les corps plus ou moins complexes appartenant au groupe des diurétiques mercuriels ).

La succinodeshydrogénase est mise en évidence au niveau des mitochondries et de l'organe de Golgi. Dans le foie ce sont les espaces portes qui sont les plus riches en enzyme; coeur et rein ont une activité succinodeshydrogénasique plus élevée que celle du foie.

L'activité de l'enzyme est conditionnée par la présence de groupe thiol ( - SH ).

#### 4 - DESHYDROGENASE DE L'ACIDE LACTIQUE.

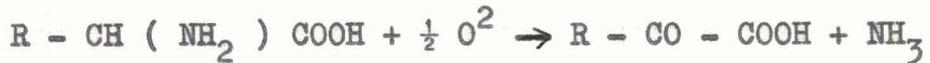
Cet enzyme permet le passage de l'acide lactique à l'acide pyruvique en catalysant la réaction.



L'enzyme est abondant dans le foie, mais moins que dans les muscles striés et la muqueuse intestinale.

#### 5 - L ACIDAMINO DESHYDROGENASES.

Ces enzymes dégradent les acides aminés et les transforment en acides selon la réaction.



Il existe une deshydrogénase non spécifique, capable de désaminer oxydativement 13 L amino acides ( selon Green ) et en outre plusieurs deshydrogénases spécifiques, celles de la phénylalanine, du tryptophane, de l'acide L glutamique, de la cystéine, de la L proline.

Les inhibiteurs sont variables selon l'enzyme considéré, mais en général les substances réagissant avec les groupes S H - diminuent l'activité des deshydrogénases des acides aminés L.

Boullanger et Osteux ( 1956 ) ont signalé la présence dans le foie de dindon ( MELEAGRIS GALLOPAVO ) d'une L aminoacide deshydrogénase qui désamine oxydativement et d'une façon spécifique les acides diamminés tels que l'ornithine, la lysine, l'histamine, substrats qui jusqu'à alors ne semblaient pas participer aux réactions de désamination dans les tissus animaux.

#### 6 - GLUCOSE DESHYDROGENASE.

Le foie de porc contient une glucose deshydrogénase qui catalyse la réaction

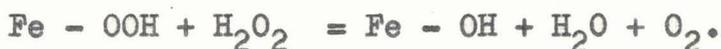


Parmi les voies oxydatives du catabolisme des glucides, il faut également signaler l'existence d'une glucose - 6 - phosphate deshydrogénase qui permet la transformation du glucose - 6 phosphate en acide phospho - 6 - gluconique en présence de CoII ( T P N ). L'enzyme a été trouvé dans des hématies. Mais la présence dans le foie ( ainsi que dans le cerveau et le myocarde ) d'un système enzymatique catalysant l'oxydation de l'acide phospho - 6 - gluconique est en faveur de la participation de cette dégradation oxydative du glucose dans les tissus animaux.

## 7 - CATALASES.

Ce sont des enzymes qui protègent les cellules en décomposant l'eau oxygénée qui peut apparaître lorsque l'eau se combine avec de l'oxygène moléculaire. Le peroxyde d'hydrogène se transforme en H<sup>2</sup>O et oxygène.

Il existe plusieurs catalases que l'on distingue par leur activité, leur solubilité, leur point isoélectrique; toutes contiennent du fer et leur action s'explique par un mécanisme du type

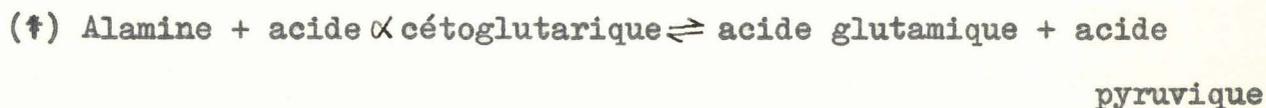


Les catalases sont inhibées par les cyanures, les azides, les fluorures et les sulfures.

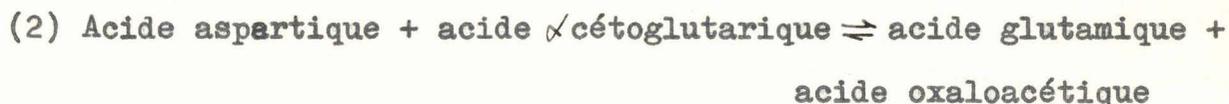
## II - AUTRES REACTIONS DE TRANSFERT.

### I - LES TRANSAMINASES.

Ces enzymes permettent le transfert d'un groupe aminé d'une molécule organique sur une autre. Il existe au moins 2 transaminases correspondant aux réactions:



( transaminase glutamique alamine )



( transaminase glutamique aspartique )

Des transaminases particulières interviennent dans les réactions acides  $\alpha$  cétoniques / amides des acides aminés dicarboxyliques et - acides cétoniques / acides aminés monocarboxyliques.

Les transaminases sont très abondantes dans le foie et dans le myocarde. Au niveau du foie c'est la transaminase glutamique alanine ( encore appelée glutamique pyruvique ) qui prédomine. On sait par ailleurs qu'une activité transaminasique est retrouvée dans la bile à un taux pouvant être 100 fois supérieur à celui du sang.

Les transaminases sont activées par certains ions métalliques (  $Fe^{++}$ ,  $Mg^{++}$  ), les androgènes, la cortisone, les moutardes à l'azote. L'inhibition est obtenue par les métaux lourds, les cyanures, les quinones, l'isoniazide et les sulfamides hypoglycémiantes.

Les transaminases jouent un rôle métabolique important, en assurant les interrelations entre les grands métabolismes.

## 2 - HEXOKINASES.

C'est dans la levure que MEYERHOF découvrit en 1927 une diastase, l'héxokinase qui catalyse la réaction



Ce n'est qu'une dizaine d'années plus tard que l'enzyme fut mise en évidence dans l'organisme des mammifères. Le foie est une source importante d'hexokinase, au même titre que le rein et le cœur. Il existerait au moins 2 hexokinases: glucokinase et fructokinase agissant soit sur le glucose soit sur le fructose.

Les ions Mg sont indispensables à l'activité de l'enzyme. L'inhibition est obtenue avec des extraits antéhypophysaire et surréniaux.

L'insuline lève l'inhibition de l'antéhypophyse et c'est l'équilibre précis entre l'action et l'insuline et des hormones hypophysaires que dépend essentiellement la régulation de la glycémie.

3 - TRANSMETHYLASES.

Les transméthylases ( ou méthylphérasés ) sont des enzymes capables d'assurer le transfert d'un radical méthyl d'une molécule organique à une autre. Les principales transméthylases hépatiques d déterminent les réactions suivantes.

Type de transfert	Donneur de CH <sub>3</sub>	Accepteur de CH <sub>3</sub>	Produit obtenu
de N à S	choline	homocysteïne	méthionine
de S à N	méthionine	acide guanido acétique	créatine
		amide Nicotinique	méthyl nicotinamide
		éthanolamine	choline
de N à N	choline	acide guanido acétique	créatine
	méthylxanthine		créatine

Ces transméthylases jouent donc un rôle essentiel dans le synthèse de la choline et indirectement dans la synthèse des phospholipides : c'est à cet ensemble de réactions que l'on doit rattacher le rôle de facteur lipotrope dévolu à la méthionine.

C - ENZYMES D'ISOMERISATION.

I - PHOSPHOHEXOISOMERASE.

Cet enzyme assure la réaction réversible

Glucose - 6 - phosphate      fructose - 6 - phosphate.

A l'état d'équilibre, le mélange contient 70 pour 100 d'ester de Neuberg et 30 pour 100 de glucose - 6 - phosphate.

La phosphohexose isomérase est mal connue et n'existe pas de façon certaine dans le parenchyme hépatique.

## II - PHOSPHOGLUCOMUTASE.

La phosphoglucomutase permet le passage du glucose 1 phosphate au glucose - 6 - phosphate. La réaction serait cependant plus complexe et nécessiterait la présence de glucose I - 6 diphosphate. La phosphoglucomutase est particulièrement abondante dans le muscle du squelette mais on en trouve dans le foie en quantité non négligeable.

L'enzyme est actif en présence d'ions  $Mg^{++}$ ,  $Mn^{++}$  et  $Co^{++}$ .

Le fluorure de sodium est l'inhibiteur le plus puissant.

## DONNEES GENERALES SUR LES ENZYMES HEPATIQUES.

Les quelques enzymes dont nous venons de rapporter les principales propriétés biologiques jouent au niveau du foie des rôles divers. Certains interviennent dans les processus de détoxication tels les glycuronidases et les aminoxydases. D'autres vont permettre la glycolyse et par conséquent avoir un rôle métabolique; c'est le cas des phosphatases, de la phosphorylase, des hexokinases, de l'aldolase dont l'intervention est essentielle pour l'obtention d'énergie sécrétoire d'origine chimique.

L'équipement enzymatique du foie est sous la dépendance du régime alimentaire. LIGHTBODY et KLEINMAN ( 1939 ) ont; les premiers,

montré que la carence protéique détermine une diminution notable de l'arginase hépatique. Des travaux multiples effectués depuis lors ont confirmé ces résultats et permis de voir que presque tous les systèmes enzymatiques sont déprimés dans le jeune protéique, alors que les protides hépatiques sont eux aussi diminués. Il est intéressant de noter que la fonction biliaire est également sous la dépendance de l'alimentation, le jeûne entraînant une réduction importante de la quantité de bile émise, même si l'on fournit à l'animal de l'eau à volonté ( BALTACEANO et VASILIU 1936 ).

C - JUSTIFICATION DES RECHERCHES.

-----

A notre connaissance aucune étude systématique de l'influence d'inhibiteurs enzymatiques sur la cholérèse n'a été faite; seuls HOBBER et TITAJEW ( 1930 ) ont recherché l'action de KCN sur l'élimination de colorants par le foie de grenouille perfusé. Il nous a semblé qu'il pouvait être intéressant de transposer au mammifère les recherches de HOBBER avec le cyanure et d'étendre ces travaux en utilisant des inhibiteurs enzymatiques variés. On pouvait ainsi espérer perturber le métabolisme hépatique et par cela même modifier la cholérèse.

Un premier problème se posait: le choix de l'animal d'expérience. Le lapin et le cobaye ont été fort peu utilisés et la plupart des auteurs emploient soit le chien, soit le rat. Le chien présente l'avantage d'une émission importante de bile, ce qui permet sur des échantillons de 15 minutes d'étudier la qualité de la bile; mais ces animaux sont actuellement difficiles à se procurer en nombre suffisant pour des essais systématiques. Le rat est facile à obtenir en souche pure; sa cholérèse est bien connue et à condition d'utiliser des échantillons de 30 minutes et des microméthodes, la qualité de la bile peut-être explorée.

Le second problème à résoudre était celui de la méthode expérimentale. Beaucoup d'inhibiteurs enzymatiques sont toxiques aux doses actives: c'est le cas par exemple du cyanure de potassium et de l'aci-

de monoïdacétique; d'autre, tels la méréalluride et les organo mercu-  
riels sont captés pour la plus grande part par le rein et ne peuvent  
ainsi agir au niveau du parenchyme hépatique. On était alors amené à  
étudier la fonction biliaire du foie perfusé. Cette méthode permet  
d'amener au foie l'inhibiteur que l'on veut employer sans avoir à  
craindre d'intoxication de l'organisme; on évite par cela même de  
pertuber, de façon incontrôlée la circulation sanguine transhépa-  
tique et l'oxygénation du sang, ce qui, nous l'avons vu, peut avoir  
une grande influence sur la cholérèse.

De nombreux auteurs ont déjà utilisé des techniques de perfusion  
de foie. A notre avis il faut abandonner tous les procédés dans  
lesquels le foie reste dans la cavité abdominale; parce que le con-  
trôle de la circulation sanguine ne peut alors être effectif.  
N'a-t-on pu montrer ( POPPER, JEFFERSON, WULKAN et NECHELES 1955 )  
que chez le chien la ligature de l'artère hépatique suivie dans un  
second temps de l'occlusion progressive de la veine porte est compa-  
tible avec une cholérèse sensiblement normale; la vascularisation  
est alors assurée seulement par des artères phréniques et des artério-  
les du hile hépatique.

La perfusion du foie isolé, complètement séparé de l'organisme,  
a été réalisée principalement dans des études sur le métabolisme  
hépatique. Dans la plupart de ces travaux, utilisant le foie de chien  
ou de lapin, les auteurs n'ont pas noté la formation de bile; il  
semble d'ailleurs que le foie de chien a une fonction biliaire parti-  
culièrement déprimée, en perfusion. Par contre le foie de rat perfusé  
continu à émettre de la bile pendant plusieurs heures. La technique

a été précisée par BRAUER et ses collaborateurs dès 1950; on peut utiliser comme perfusat du sang dilué sans modifier les résultats, ce qui facilite grandement l'expérimentation. L'inconvénient majeur, de cette préparation, sur le plan théorique, est l'impossibilité de perfuser l'artère hépatique en raison de sa petite taille; on est amené à assurer la vascularisation par la seule veine porte ce qui ne semble guère intervenir sur la fonction biliaire (voir la discussion page 6: Influence de la circulation ). Nous nous sommes ralliés à cette technique et nous avons pu retrouver sur cette préparation les constantes sécrétoires rapportées par BRAUER.

Il nous a semblé qu'une exploration systématique de la fonction biliaire pouvait être réalisée en étudiant d'abord le volume et la qualité de la bile ( extrait sec - bilirubine ) émise par un foie de rat perfusé. Le pouvoir de concentration du foie a été déterminé avec un colorant = la brome sulfone phtaleïne. Ces deux explorations ont été faites d'abord sur des foies perfusés normalement, permettant de constituer des séries témoins servant de références. Ensuite il fut ajouté au perfusat divers inhibiteurs enzymatiques et les résultats obtenus sont interprétés par rapport aux témoins.

Enfin nous avons recherché l'influence des inhibiteurs enzymatiques sur la cholérèse provoquée par le déhydrocholate de sodium. Cette substance qui a une action brève mais constante sur la cholérèse appartient au groupe des hydrocholérétiques; elle accroît l'élimination de l'eau, des électrolytes et de la créatinine. ( COOK, LAWLER et GREEN 1954 ), corps dont l'excrétion relèverait d'un simple mécanisme de filtration. Il pouvait être intéressant de

voir si cette action hydrocholérétique du déhydrocholate de sodium était modifié par des inhibiteurs enzymatiques.

Tous les auteurs qui ont utilisé le foie de rat perfusé reconnaissent que cette préparation fournit moins de bile que le foie de l'animal intact mais n'ont pas cherché une explication à ce phénomène. On peut, bien entendu rappeler que la perfusion ne se fait que par la veine porte, que le perfusé ne se renouvelle pas ce qui amène son épuisement en substances cholérétiques physiologiques tels les acides biliaires. Il semble toutefois que le problème soit nettement plus complexe car LUNDSGAARD ( 1950 ) a pu montrer que le foie de chat perfusé ne métabolise pas les hydrates de carbone, alors que l'adjonction au circuit de perfusion d'une patte postérieure rétablit une consommation du glucose par le foie.

Des explorations dans l'ordre enzymatique étaient justifiées; elles ont cherché à comparer la teneur en quelques diastases de broyats provenant du foie d'un animal juste sacrifié et de broyats provenant d'un foie préalablement perfusé pendant 90 minutes.

1<sup>ère</sup> PARTIE

ETUDE COMPAREE DE QUELQUES ENZYMES

DU FOIE PERFUSE ET DU FOIE DE L'ANIMAL INTACT.

---

Nous avons vu que le foie contient de nombreux enzymes dont le rôle biochimique a été précisé. Si l'on élimine les diastases qui jouent un rôle dans la détoxification de substances étrangères à l'organisme, il reste un grand nombre d'enzymes dont le rôle physiologique est inconnu. En particulier aucune relation n'a été établie entre l'équipement enzymatique et la fonction biliaire et aucun rapport n'apparaît clairement, si l'on excepte la deshydrogénase de l'acide L cyteïque qui conduit à la taurine.

Nous avons pensé que la part sécrétoire de la cholérèse devait puiser l'énergie nécessaire dans le métabolisme glucidique plutôt que dans la dégradation des lipides, tout comme le muscle trouve son aliment fondamental dans les glucides. C'est pourquoi nous avons voulu rechercher si la teneur du foie perfusé en enzymes intervenant dans la glycolyse était différente de celle du foie provenant d'un animal intact. Nous avons choisi 6 enzymes qui couvrent une part importante de l'utilisation du glucose = amylase qui assure le passage du glycogène au maltose, aldolase qui permet le passage des hexoses au trioses, fructose 1 - 6 diphosphatase et glucose 6 phosphatase qui reflètent l'activité phosphatasique du foie, succino deshydrogénase et cytochrome - C - oxydase qui interviennent dans le cycle de KREBS. L'anhydrase carbonique n'a pas été dosée puisque nous avons pu montrer qu'elle ne jouait aucun rôle dans la cholérèse ( voir 2° partie ).

Enfin nous ne rapporterons pas les résultats obtenus dans la détermination de la choline estérase. Nous avons pu noter que le foie perfusé était plus riche en cet enzyme que le foie normal, mais cette constatation perd tout intérêt lorsque l'on sait qu'un foie abandonné à la température du laboratoire s'enrichit en cholinestérase. ( STAMSTADT 1956 d'après ARVY 1958 ).

#### METHODES GENERALES.

Tous les dosages ont été faits sur des homogénats de foie, à des concentrations variables selon les déterminations.

Sous le terme de " foie normal" nous désignerons les résultats obtenus avec un homogénat de foie provenant d'un animal, non à jeun, sacrifié par saignée ( décapitation ). Sous le nom de " foie perfusé" nous rapportons les valeurs de dosage faits sur homogénat d'un foie perfusé pendant 90 minutes avec la technique décrite plus bas ( voir page 63 ). Dans tous les cas il s'agit de rats de souche Wistar.

Dans les 2 cas ( foie perfusé ou foie normal ) l'organe sitôt prélevé est congelé à  $- 20^{\circ}$ . Le lendemain le foie est transformé en homogénat et les dosages sont alors effectués. Cette méthode de congélation brutale respecte la plupart des enzymes; de toute façon nous n'avons pas recherché, en soi, la teneur rigoureuse en diastase, mais seulement comparé des foies normal ou perfusé; la technique de congélation étant la même dans les deux cas, les résultats peuvent être valablement confrontés. Cependant, pour la fructose 1 - 6 diphosphatase, particulièrement fragile, les dosages ont été faits sitôt les prélèvements.

DOSAGE DE L' $\alpha$  AMYLASE

Nous avons utilisé la technique récente de PAGET et DELAISSE ( 1958 ) de dosage de l'amylase sérique en la transposant sans difficulté majeure au sérum sanguin à l'homogénat de foie.

Le principal du dosage est très simple : l'enzyme hydrolyse l'amidon purifié en faisant apparaître des corps réducteurs (maltose) que l'on dose, après défécation ferro-cyano-zincique, par la méthode classique de BAUDOUIN et LEWIN.

L'unité enzymatique de l' $\alpha$  amylase sera représentée par la quantité de sucre réducteur libérée par un gramme de foie frais à partir de l'amidon, ces sucres étant exprimés arbitrairement en mg de glucose.

La masse d'amidon mise en jeu est telle, qu'elle surmonte de beaucoup les quantités variables de glycogène apportées par l'homogénat utilisé, et que l'hydrolyse des substrats ( amidon et glycogène) ne dépassera pas 5 pour 100 du total. D'autre part une série d'essais témoins permettra de défalquer du dosage final la part réductrice jouée par le glycogène qui peut échapper à la défécation ferro-cyano-zincique.

REACTIFS NECESSAIRES :

I - SOLUTION AMIDONNEE PHOSPHATEE :

- Faire 100 ml d'empois à 3 pour 100 dans l'eau, d'amidon très pur
- Faire la solution tamponnée suivante :

Phosphate monopotassique	0,345 g
Phosphate disodique	1,924 g
Fluorure de sodium	0,050 g
Eau bi-distillée pour faire	100 ml

- Mélanger les deux solutions, pour obtenir une solution d'amidon

à 1,5 pour 100. Cette solution est de très bonne conservation.

2 - REACTIFS DE DEFECATION.

- Solution A =

Ferro-cyanure de potassium anhydre	150 g
Eau bi-distillée	1.000 ml

- Solution B =

Acétate de zinc anhydre	112 g
Eau bi-distillée	1.000 ml

3 - Solution iodomercurielle de BAUDOUIN et LEWIN et enfin des solutions de soude N, d'acide sulfurique N, d'iode N/100 et d'hyposulfite de sodium N/100.

MODE OPERATOIRE.

Le parenchyme hépatique est dilacéré rapidement au broyeur de FISCHER; 1 gramme de purée est exactement et très rapidement pesé, transvasé quantitativement dans un homogénéiseur de POTTER, et additionné de 9 ml d'eau bi-distillée glacée.

L'homogénéisation est opérée en 45 secondes dans la glace et l'homogénat ( au 1/10 ) utilisé immédiatement.

Les dosages sont effectués en double ou en triple, et pour alléger la présentation nous ne donnerons que le protocole opératoire d'une seule expérimentation.

Dans des essais préalables nous avons observé que l'enzyme hépatique était assez rapidement saturé et que pour obtenir des résultats valables il ne fallait pas, dans nos conditions opératoires, compte tenu de la concentration finale en amidon, mettre en jeu plus de 50 mg de parenchyme frais. Au delà de cette valeur les activités amylasiques ne sont plus proportionnelles à la teneur en tissu.

A		B	
Solution amidonnée	5 ml	Eau bi-distillée	5 ml
Porter 5 minutes au bain-marie à 37,5°			

HOMOGENAT AU 1/10

0,5 ml		0,5 ml
Agiter 30 minutes dans le thermostat à 37,5°.		

Au bout de ce temps, plonger les deux tubes dix minutes dans la glace pilée. Les transvaser dans deux éprouvettes graduées à 30 ml, rincer chaque tube avec quelques ml d'eau bi-distillée, ajouter dans chaque éprouvette et dans l'ordre :

Solution défécante A	0,25 ml
Solution défécante B	0,50 ml
H <sub>2</sub> O bi-distillée q.s	30 ml

Filtrer et prélever 15 ml de chaque filtrat que l'on porte dans deux tubes de Violette.

- Ajouter dans chacun :

Solution iodo mercurielle	2 ml
Na ON N	2 ml

- Porter au bain-marie bouillant exactement trois minutes.

- Refroidir, ajouter à chaque tube :

SO <sup>4</sup> H <sup>2</sup> N	4 ml
Iode N/100	10 ml

Agiter vivement et titrer l'excès d'iode par l'hyposulfite de sodium N/100.

Soit n le chiffre de burette en ml du dosage en présence d'amidon ( A ), et n' en son absence ( B ).

Un ml d'iode N/100 correspond à 0,4 mg de glucose, d'où :

$(n' - n) \times 0,4 = \text{mg de glucose dans la prise, et dans les conditions opératoires où n'interviennent que 25 mg de tissu :}$

$(n' - n) \times 16 = \text{mg de sucre réducteur exprimés en glucose hydrolysés par 1 gramme de foie frais, représentant le nombre d'unités d'\(\alpha\)-amylase hépatique par g.}$

Résultats	n'	n	( n' - n )	( n' - n ) × 16
Foie normal				
Dosage N° 1	8,5	4,2	4,3	68,8
Dosage N° 2	9,1	4,4	4,7	75,2
Foie perfusé				
R.39 le 5-6-58	9,7	6,7	3,0	48,0
R;148 le 3-7-58	9,0	5,9	3,1	49,6

Les résultats sont très homogènes <sup>dans</sup>/chaque groupe expérimental et l'activité amylasique du foie perfusé ne représente que 70 pour 100 environ de celle du foie normal.

#### DOSAGE DE L'ALDOLASE.

L'aldolase qui représente environ 10 pour 100 des protéines solubles du muscle a été obtenue sous forme cristalline dès 1943 par WARBURG et coll., en 1948 par CORI et coll.

En 1949, SIBLEY et LEHNINGER décrivent une méthode de dosage de l'aldolase tissulaire qu'ils appliquent à différents tissus animaux et

e

en particuliers aux organes du rat.

C'est leur technique que nous avons suivie; elle nous a donné entière satisfaction dans le sujet que nous suivons, c'est à dire pour comparer la richesse en aldolase du foie intact de rat et du foie perfusé.

Le principe est le suivant:

Le fructose I - 6 diphosphate est incubé en milieu tamponné avec l'homogénat de foie en présence d'hydrazine qui " piège " les triose-phosphates formés, les empêchant ainsi de subir une dégradation ultérieure en bloquant le processus métabolique au seul stade de l'action aldolasique. Après incubation, la réaction est arrêtée par addition d'acide trichloracétique qui en même temps permet de se débarrasser des protéines solubles et des restes cellulaires. Une partie mesurée du filtrat est alors alcalinisée et traitée par la 2 - 4 - dinitro phénylhydrazine qui fait apparaître une coloration caractéristique dont la maximum d'absorption se situe à 540 m $\mu$ , coloration propre aux hydrazones des trioses. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration enzymatique. Nos recherches sur le foie normal et le foie perfusé nous ont donné, comme nous l'exposerons, exactement les mêmes résultats quand à cette teneur en aldolase. Aussi n'avons nous pas trouvé nécessaire de transformer nos résultats spectrophométriques en unités absolues d'aldolase comme l'ont fait SIBLEY et LEHNINGER. Nous donnons simplement nos résultats de transmission 1/16 dans les dosages de l'aldolase du foie normal et du foie perfusé.

#### REACTIFS.

1) - SOLUTION DE FRUCTOSE - I - 6 - DIPHOSPHATE : 0,05 M à pH 8,6

obtenue par dissolution du sel monopotassique de l'ester. De la soude diluée est ajoutée jusqu'à pH 8,6, qui est le pH optimum d'action de l'aldolase.

2) - SOLUTION D'HYDRAZINE : 0,56 M à pH 8,6

réalisée à partir de sulfate d'hydrazine pur, solution très acide que l'on amène, en respectant la molarité, par la soude à 20 pour 100 à pH 8,6.

3) - TAMPON " TRIS " : 0,1 M de pH 8,6

Préparer une solution 0,2 M de tris ( hydrométhyl<sup>xy</sup> ) amino-méthane à 24,2 gr pour 1.000 ml.

A 100 ml de cette solution; ajouter 24,4 ml de solution 0,2 M d'acide chlorhydrique, et compléter à 200 ml. Le pH est de 8,6.

4) - SOLUTION DE 2,4 DINITROPHENYLHYDRAZINE :

à 1 pour 1.000 dans H Cl 2 N .

5) - SOLUTION DE SOUDE : 0,75 N.

6) - SOLUTION D'ACIDE TRICHLORACETIQUE : à 10 pour 100 (poids/volume).

#### MODE OPERATOIRE.

Les foies sont homogénéisés comme il a été dit, et étant donné la richesse et l'activité de l'aldolase, on utilise une suspension homogène de foie broyé, dans l'eau bi distillée glacée, contenant 2 pour 100 de tissu frais.

Pour chaque expériences nous avons réalisé une série de trois essais portant sur des volumes différents d'homogénat. Chaque essai comporte lui même deux déterminations; dans la première l'enzyme agit sur le substrat, tandis que dans la seconde l'enzyme incubé n'est mis en présence de l'hexose diphosphate qu'après addition d'acide trichloracétique qui empêche son action. La deuxième détermination

servira de " blanc " pour la mesure de transmission optique de son couple.

La disposition d'une expérience est la suivante: dans six tubes cylindriques mesurer dans l'ordre:

Homogénat à 2 pour 100	0,5	0,5	0,75	0,75	1	1
" Tris "	1	1	1	1	1	1
Hydrazine	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Hexose diphosphate	0	0,25	0	0,25	0	0,25
Eau bi distillée	0,5	0,5	0,25	0,25	0	0

Porter 30 minutes à 37,5°.

Ajouter ensuite dans chaque tube 2 ml de solution d'acide trichloracétique.

Agiter.

Enfin ajouter 0,25 ml de la solution d'hexose diphosphate dans les trois tubes qui n'en ont pas reçu préalablement. Filtrer.

Dans six autres tubes gradués à 10 ml, mesurer 0,20 ml de chaque filtrat, y verser 1 ml de NaOH 0,75 N et laisser reposer 10 minutes à la température de la pièce; ajouter ensuite 1 ml de la solution chlorhydrique de 2 - 4 diniphenyhydrayne et porter les tubes 10 minutes à 37,5°. Enfin compléter les volumes à 10 ml par de la soude 0,75 N et faites les lectures au spectrophotomètre dix minutes après l'addition de la soude. Les mesures se font à 540 m $\mu$  en utilisant dans chacun des trois couples, le premier liquide pour amener au

moyen des fentes optiques l'intensité lumineuse à une valeur telle que le spot du galvanomètre soit sur la division 100. On lit alors la transmission  $I$  à travers le liquide correspondant et on prend le pourcentage de transmission  $\frac{I}{I_0} \times 100$ .

Nous avons porté dans le tableau suivant nos résultats chiffrés par colonne, représentant les dosages faits à partir des prises de 0,5, 0,75, 1 ml d'homogénats. On peut constater la parfaite correspondance des résultats, dont la valeur de la méthode.

PRISE D'HOMOGENAT=	0,5	0,75	1,0
	Pour 100 de transmission.		
Foies normaux			
1 24.3.58	40	31	22
2 14.3.58	42	30	19,5
Foies perfusés			
R.125 17.4.58	41	30	21
R.139 5.6.58	40	31	19

Il apparaît clairement qu'après 90 minutes de perfusion le foie contient autant d'aldolase que le foie normal

DOSAGE DE LA GLUCOSE - 6 - PHOSPHATASE.

Le dosage est réalisé en incubant le glucose - 6 - phosphate avec l'homogénat tissulaire et en dosant le phosphate minéral libéré.

REACTIFS.

1 - SOLUTION DE GLUCOSE - 6 - PHOSPHATE 0,1 M.

mettre en suspension 260 mg de sel de baryum, de l'ester d dans 2 ml d'eau et dissoudre en ajoutant le minimum de solution de HCl N -. Ajouter 72 mg de sulfate neutre de sodium anhydre pour éliminer le baryum. Centrifuger et compléter le volume du liquide à 5 ml.

2 - TAMPON MALEIQUE.

dissoudre 116 mg d'acide maléique dans quelques ml d'eau bi distillée, amener à pH 6,5 par addition de Na OH et compléter à 10 ml.

3 - REACTIF POUR LE DOSAGE COLORIMETRIQUE DE L'ION ORTHOPHOSPHORIQUE.

a) - Solution acide :

Acide sulfurique pur ( d= 1,83 )	3 volumes.
Acide perchlorique pur ( d= 1,61 )	2 volumes.

b) - Solution de molybdate d'ammonium.

à 8,3 g pour 100.

c) - Réactif d'Allen.

Amidol ( 2-4 diaminophénol )	2 g.
Sulfite de sodium anhydre	40 g.
Eau bi distillée	200 ml.

MODE OPERATOIRE.

On réalise, comme nous l'avons déjà décrit un homogénat de foie à 5p.100 ( 1 g + 19 ml d'eau ) et à 2,5p. 100 ( 0,5 g + 19,5 ml d'eau, ou le précédent dilué au demi ). Dans quatre tubes à centrifuger coniques on dispose :

	1	2	3	4
G - 6 - P	0,1	0,1	0,1	0,1
Tampon maléique	0,3	0,3	0,3	0,3
Homogénat 5 pour 100	0,1	-	0,1	-
II Homogénat 2,5 pour 100	-	0,1	-	0,1

Les tubes 1 et 2 qui servent à doser le phosphate préformé, sont immédiatement additionnés de 1 ml d'acide trichloracétique à 10 pour 100 et mis dans la glace.

Les tubes 3 et 4 sont portés 15 minutes dans un bain-marie à 37,5°, puis on mesure dans chacun 1 ml d'acide trichloracétique, on porte 10 minutes dans la glace, et on verse dans chacun des quatre tubes 1 ml d'eau bi distillée. On centrifuge et on décante les liquides clairs surnageants; on en prélève 1ml sur lequel on dose les ions orthophosphoriques par la méthode céruléo-molybdique classique que nous résumons très brièvement :

A la prise d'essai on ajoute 0,5 ml de la solution sulfurique perchlorique, puis 10 ml d'eau bi distillée, 1 ml de la solution de molybdate et 2 ml de réactif d'Allen. On complète à 15 ml. Après 10 minutes on mesure à l'électrophotomètre de Meunier ( écran rouge, cuve de 1 cm ), l'intensité de la coloration bleue obtenue que l'on compare à une courbe étalon. Les résultats sont traduit en mg de phosphore ortho-phosphorique libérés par gramme de foie de rat.

EXEMPLE DE DOSAGE.

Glucose - 6 - Phosphatase d'un foie de rat ( normal ) - 25-2-1958.

N° des tubes	1	2	3	4
P en fragment de la prise.	5,9	4,8	19,6	11,9

P libéré par homogénat à 5 pour 100 :

$$19,6 - 5,9 = 13,7 \mu\text{g.}$$

P libéré par 1 gr de foie :

$$13,7 \times \frac{2,5 \times 10 \times 20}{1.000} = 6,85 \text{ mg}$$

P libéré par homogénat à 2,5 pour 100 :

$$11,9 - 4,8 = 7,1 \mu\text{g.}$$

P libéré par 1 gr de foie :

$$7,1 \times \frac{2,5 \times 10 \times 40}{1.000} = 7,1 \text{ mg}$$

On voit que les résultats sont très concordants.

### RESULTATS.

EXPERIENCES	P en mg/gr foie à partir de l'homogénat	
	5 pour 100	2,5 pour 100
Foie normal		
31.1.58	7,20	7,0
20.2.58	6,85	7,1
25.2.58	7,05	6,7
Foie perfusé		
R.105 13.2.58	6,5	6,5
R.107 20.2.58	6,9	6,3
R.115 13.3.58	7,5	8,3

On peut remarquer la parfaite concordance des résultats ce qui traduit une activité identique du foie normal ( valeur moyenne des

6 détermination : 7 mg de phosphore par g de foie frais ) et du foie perfusé ( 6,98 mg ).

#### DOSAGE DE LA FRUCTOSE 1 - 6 DIPHOSPHATASE.

Le dosage de la fructose 1 - 6 diphosphatase relève des mêmes principes que celui de la glucose 6 - phosphatase. Nous exprimerons les résultats en mg de phosphore minéral libéré du fructose 1 - 6 diphosphate ou ester de HARDEN et YOUNG par gramme de foie dans les conditions expérimentales décrites.

#### REACTIFS.

- 1) - Solution 0,05 M de fructose 1 - 6 diphosphate, sous forme de sel monopotassique à pH 7,4.
- 2) - Tampon boraté 0,05 M pH 9,5.
- 3) - Solution 0,05 M de  $SO_4$  Mg.
- 4) - Solution 0,005 M de  $Cl_2$  Mn.
- 5) - Solution 0,05 M de cystéine, amené à pH 9,5 par addition de Na OH . ( Ne se conserve pas plus de 10 heures ).

#### MODE OPERATOIRE.

La nécessité d'opérer l'incubation à pH 9,5, oblige d'amener l'homogénat tissulaire à ce pH. Nous avons procédé de la façon suivante. Un gramme de purée tissulaire hépatique est broyée une minute à l'homogénéiseur de POTTER avec 9 ml d'eau bi distillée glacée en maintenant l'homogénéiseur dans un bac de glace pilée.

Très rapidement on ajoute à l'homogénat de la soude à 10 pour 100 goutte à goutte et en agitant fortement après chaque addition. En opérant sous contrôle électrométrique on amène la suspension tissulaire à pH 9,5; on complète à 20 ml et on utilise immédiatement l'homogénat pour le dosage de la phosphatase.

Pour ce faire on emploie quatre tubes à centrifuger coniques

	1	2	3	4
Hexose diphosphate	0,1	0,1	0,1	0,1
Tampon boraté	0,4	0,4	0,4	0,4
SO <sub>4</sub> Mg	0,1	0,1	0,1	0,1
Cl <sub>2</sub> Mn	0,1	0,1	0,1	0,1
Ac. trichloracétique 0,1 M	1	1	-	-
Homogénat 5 pour 100	0,2	0,1	0,2	0,1
Eau bi-distillée	-	0,1	-	0,1
Cystéine	0,1	0,1	0,1	0,1

On porte les tubes 3 et 4, 20 minutes à 37,5°, puis on y ajoute 1 ml d'acide trichloracétique. On refroidit dans la glace et on centrifuge les quatre tubes. Le dosage du phosphore minéral est effectué sur une prise d'essai des liquides clairs surnageants.

### RESULTATS

Expériences	P en mg/g de foie à partir d'une prise d'homogénat de	
Foie normal	0,20 ml	0,10 ml
14.4.58	2,6	2,5
5.9.58	4,8	4,9
Foie perfusé		
R120 - 27.3.58	3,1	3,0
R125 - 17.4.58	4,3	4,6

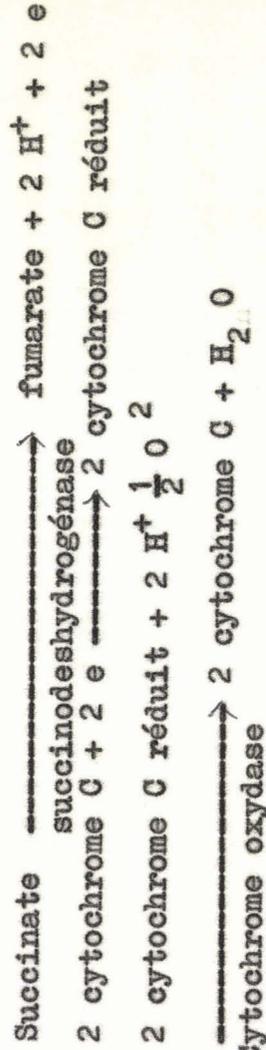
La teneur du foie en fructose 1-6 diphosphatase est donc du même ordre de grandeur dans les deux séries d'expériences, mais il existe des différences notables d'un animal à un autre.

DOSAGE DE LA SUCCINODESHYDROGENASE ET DE

LA CYTOCHROME OXYDASE.

L'activité enzymatique a été déterminée par la méthode de SCHNEIDER et POTTER, reprise récemment par J.W. HOLLEMAN. (1958).

Les réactions mises en jeu sont du type suivant/



Pour le dosage de la cytochrome oxydase on utilise comme substrat l'acide ascorbique. Dans les deux déterminations on aboutit à une consommation d'oxygène moliculaire provenant de l'enceinte gazeuse.

Les essais sont effectués en fioles manométriques de Warburg suivant les dispositions suivantes :

Désignation des fioles.	A	B	C	D	E	F
Tampon phosphate 0,1 M pH 7,4	1	1	1	1	1	1
Succinate de sodium 0,5 M pH 7,4	0,3	0,3	0,3	-	-	-
Ascorbate de sodium 0,114 M pH 7,0	-	-	-	0,3	0,3	0,3
Cytochrome c1 $\times 10^{-4}$ M	0,4	0,4	-	-	-	-
Cytochrome 2,4 $\times 10^{-4}$ M	-	-	1	1	1	1
Cl <sub>2</sub> Ca 4.10 <sup>-3</sup> M	0,3	0,3	0,3	-	-	-
Cl <sub>3</sub> Al 4.10 <sup>-3</sup> M	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

Homogénat de foie de rat dans l'eau à 1 pour 100

" " à 5 pour 100

Eau bi distillée ( pour compléter les volumes à 3 ml)

Fioles de Warburg classique dont on n'utilise pas l'anse latérale ( 0,2 ml NaOH 2 N dans la cuvette centrale; atmosphère: air; équilibre 10 minutes avant le début de l'expérience ).

( ) Le cytochrome C nous a été gracieusement fourni par les laboratoires DEBAT.

ACTIVITE SUCCINODESHYDRASIQUE.

Des essais préalables ont montré qu'en l'absence de succinate la consommation en oxygène des fioles A, B et C était négligeable. L'activité succinodeshydrasique est représentée par le nombre de  $\text{mm}^3$  d'oxygène consommé par 10 mg de tissu frais en 20 minutes en présence de cytochrome surajouté. ( $Q_{O_2}$ )

Si nous représentons par A et B les consommations moyennes des quatre périodes de dix minutes, nous aurons:

$$Q_{O_2} = 2B = 4A = \frac{4A + 2B}{2}.$$

ACTIVITE CYTOCHROME-OXYDASIQUE.

Pour éliminer la consommation d'oxygène produite par l'auto-oxydation du substrat, ( l'acide ascorbique ) nous opérons avec les trois dernières fioles D, E et F qui contiennent respectivement 1, 1,5 et 2 mg de tissu frais et nous extrapolons à l'absence de tissu en soustrayant de la mesure moyenne de la première, les incréments des mesures des deux suivantes :

$$\text{auto-oxydation} = D - ( E - D ) - ( F - E )$$

Cette valeur est alors soustraite de toutes les moyennes des fioles D, E et F et on calcule alors comme précédemment les  $Q_{O_2}$  de chaque fiole, soit le chiffre de  $\text{mm}^3$  d'oxygène consommé en 20 minutes par 10 mg de tissu frais.

Les résultats d'une expérience type sont rapportés ci dessus :

Moyennes de la consommation d'oxygène, exprimée en  $\text{mm}^3$ , de quatre périodes consécutives de 10 minutes:

A	B	C	D	E	F
18	36	6	28	40	54

ACTIVITE SUCCINODESHYDROGENASIQUE.

$$QO^2 = 2B = 4 A = 72.$$

ACTIVITE CYTOCHROME OXYDASIQUE.

$$\text{auto oxydation} = D - ( E - D ) - ( F - E ) = 2$$

$$\begin{aligned} QO^2 &= ( D - 2 ) \times 10 \times 2 = 520 \\ &= ( E - 2 ) \times \frac{10 \times 2}{1,5} = 507 \\ &= ( F - 2 ) \times 5 \times 2 = 520 \end{aligned}$$

Valeur moyenne 515.

RESULTATS.

Expérience	Activité succinodeshydro- génasique	Activité cyto- chrome oxydasique
Foie normal		
30.1.58	72	520
25.2.58	68	560
28.2.58	67	360
Moyennes	69	480
Foie perfusé		
R.99 30.1.58	67	370
R.112 6. 3.58	87	410
R.115 13.3.58	74	430
Moyennes	76	403

Nos résultats sont voisins de ceux de SCHNEIDER et POTTER : 87,7 pour la succinodeshydrogénase ( valeurs limites 76,8 et 101 ) et 392 pour la cytochrome oxydase foie normal. ( 281 - 518 ).

Nos dosages comparatifs ne font pas apparaitre de différences appréciables entre foie normal et foie perfusé en ce qui concerne l'activité succinodeshydrogénasique. L'activité cytochrome oxyda-

sique du foie perfusé est inférieure de près de 20 pour 100 à celle des foies normaux utilisés comme références, mais reste dans les limites des valeurs physiologiques.

TABLEAU RECAPITULATIF DES DOSAGES ENZYMATIQUES

	Foie normal	Foie perfusé	Bile émise en 90 min. par le foie perfusé en $\mu$ l
Amylase	68,8	48,0	280
	75,2	49,6	160
Aldolase	40	41	420
	42	40	280
Glucose - 6 - phosphatase	7	6,5	345
	7,1	6,3	660
	6,7	8,3	340
Fructose 1 - 6 diphosphatase	2,5	3,0	565
	4,9	4,6	330
Succinodeshy- drogénase	72	67	395
	68	87	330
	67	74	340
Cytochrome oxydase	520	370	395
	560	410	330
	360	430	340

En résumé, foie normal et foie perfusé se comportent de façon

identique en ce qui concernent les activités aldolasique, glucose 6 phosphatasique, fructose 1 - 6 diphosphatasique, succinodeshydrogénasique. La teneur du foie perfusé en cytochrome oxydase est plus basse que celle du foie normal, mais reste dans les limites physiologiques. L' $\alpha$  amylase par contre est nettement moins abondant dans le foie perfusé que dans le foie normal.

2<sup>ème</sup> PARTIE

---

ACTION DE QUELQUES INHIBITEURS ENZYMATIQUES

SUR LA CHOLERESE DU FOIE PERFUSE.

---

A - METHODES EXPERIMENTALES.

I - TECHNIQUE DE LA PERFUSION DU FOIE DE RAT.

VALIDITE DE LA METHODE.

C'est à R.W.BRAUER et à ses collaborateurs ( 1951 ) que revient le mérite d'avoir mis au point une technique de perfusion du foie de rat. Ces auteurs ont précisé la technique opératoire et surtout défini la composition du milieu de perfusion.

Nous nous sommes très largement inspirés de la méthode préconisée par BRAUER et nous utilisons la technique que nous allons décrire ci-dessous.

1 - L'APPAREILLAGE.

La figure I schématise la disposition générale du circuit sanguin. Les différents récipients sont en verre et leur réunion est assurée par des tubes de polyéthylène.

L'oxygénateur est du type à film liquide. Il est totalement immergé dans un bac rempli d'eau distillée dont la température est maintenue constante au 1/10 de degré au moyen d'un thermomètre à contact.

Le réservoir supérieur, à niveau constant est entouré d'une jaquette thermostatique alimentée par l'eau du bac, grâce à une pompe de circulation. Le perfusé est amené de l'oxygénateur au réservoir

supérieur par une pompe de Dale Schuster type vertical qui est également totalement immergée dans le bac d'eau, cette partie du circuit comporte un filtre à sang ( filtre à transfusion sanguine ).

L'oxygénateur est surplombé par un entonnoir qui supporte une plaque de pléxiglass destinée à recevoir le foie isolé. L'entonnoir comporte une tubulure latérale qui est reliée au trop plein du réservoir supérieur.

L'oxygénateur est alimenté par de l'oxygène pur humidifié par barbotage en bulles très fines dans de l'eau distillée.

En Février 1958 nous avons inclus dans le circuit un débitmètre du type rotamètre électrique. Cet appareil est inséré sur le tube qui va du réservoir à la veine porte et par conséquent mesure le sang qui entre dans le foie. On en trouvera la description en annexe.

## 2 - LE MILIEU DE PERFUSION.

Le milieu nutritif est constitué par du sang de rat dilué.

Il comprend :

Sang de rat (1)	25 ml ( avec héparine)
Albumine bovine (2)	3 g
Glucose	180 mg
Na Cl	542 mg
K Cl	25,2 mg
Ca Cl <sub>2</sub>	7,2 mg
H Na CO <sub>3</sub>	37,5 mg
Eau bi distillée	60 ml
PO <sup>4</sup> H Na <sup>2</sup> M/10	4 ml
PO <sup>4</sup> H <sup>2</sup> K M/10	1 ml

---

(1) Obtenu par saignée de 3 animaux anesthésiée au mébubarbital, (39 mg par Kg intrapéritonéal).

(2) Albumine pour milieu de Dubost-Poviet. Amsterdam.

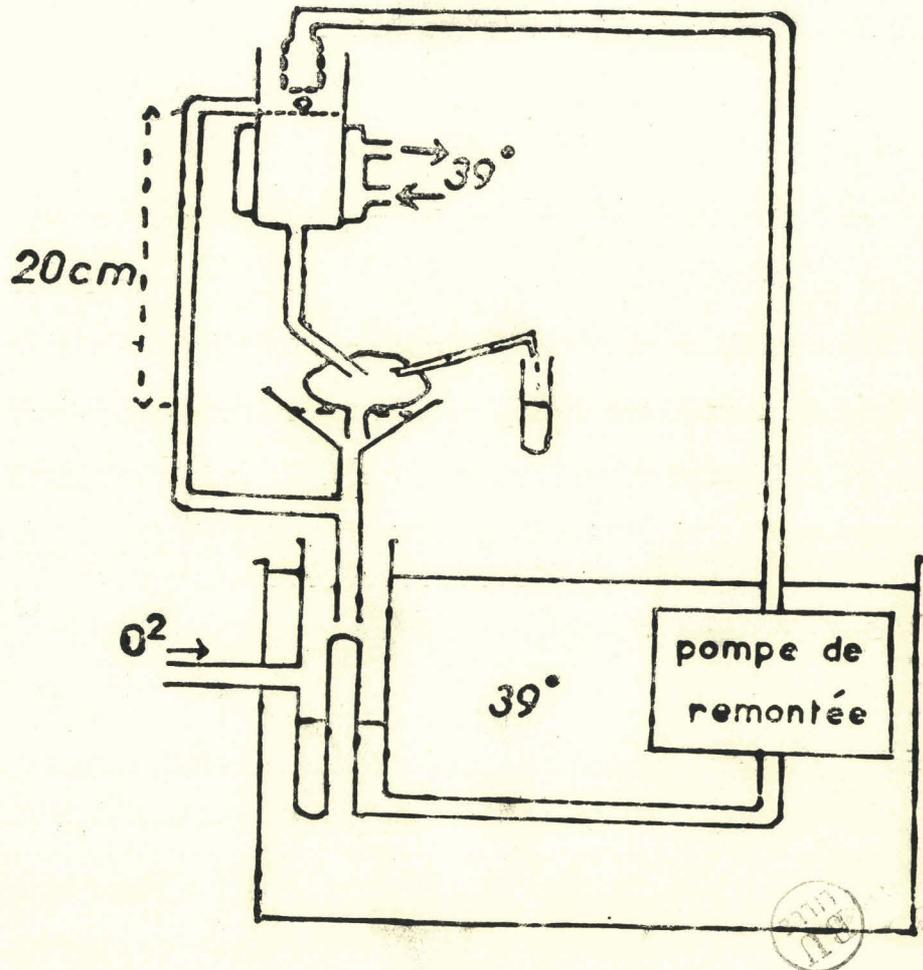


Fig. 1. - Schéma de la perfusion du foie de rat isolé

On dispose ainsi de 90 ml de perfusat ce qui suffit à faire fonctionner notre appareil. Il n'est pas infusé de solution au cours de l'expérience contrairement à ce que fait BRAUER. De plus, étant donné que nous réalisons des expériences de courtes durée ( moins de 4 heures ) nous n'ajoutons pas au perfusat d'antibiotique.

Avant chaque mise en service il est indispensable de rincer l'appareil avec une solution antimousse (1), ou d'ajouter un peu de ce même silicone au perfusat.

### 3 - PREPARATION DE L'ANIMAL.

Toute l'expérimentation est réalisée avec des rats Wistar mâles de poids supérieur à 250 g.

L'animal est anesthésié par injection intrapéritonéale de mébubarbital (2) à raison de 39 mg par kg. Il est attaché sur le dos sur une table chauffante. Une incision médiane du pubis au sternum, avec 2 incisions de décharges latérales permettent d'aborder facilement le foie. Deux minutes après injection intraveineuse de 2 mg d'héparine on commence à libérer le foie.

Pour cela il faut d'abord sectionner aux ciseaux quelques adhérences péritonéales puis couper entre deux ligatures des vaisseaux qui se rendent à la grosse tubérosité de l'estomac. On libère l'oesophage et les vaisseaux périoesophagiens et on sectionne ces formations.

On se dirige alors vers le hile du foie. On dégage le cholédoque dans son trajet pancréatique et on cathétérise avec un tube de polyéthylène ( Dubernard N°0 (3) ou Clay Adam P E 50 (4). La veine porte est

- 
- (1) Emulsion AFI Saint-Gobain.
  - (2) Pentobarbital vétérinaire Abbot.
  - (3) Diamètres intérieur 0,5 mm, extérieur 1 mm.
  - (4) Diamètres intérieur 0,58 mm, Extérieur 0,965 mm.

libérée; après ligature d'un collatérale provenant de l'estomac on lie son bout intestinal et on introduit vers le hile du foie un cathéter en polyéthylène ( Clay Adam P E 200 (1) ou P E 205 (2).

L'incision de laparatomie est alors prolongé sur le thorax par sternotomie médiane. Le diaphragme est sectionné à ras des insertions costales. On libère la veine cave inférieure dans son trajet intrathoracique ( c'est cette veine qui reçoit les veines sus hépatiques ). On pose une ligature du coté cardiaque et on insère en direction du foie un cathéter en polyéthylène (Clay Adam P E 200 ou P E 205)

Quelques coups de ciseaux suffisent alors pour libérer totalement le foie du reste de l'organisme.

La préparation doit être menée assez rapidement pour que le foie ne soit pas privé de circulation pendant trop longtemps.

L'arrêt circulatoire dure généralement de 2 minutes 30 à 4 minutes et ne dépasse jamais 5 minutes.

#### 4 - LA SECRETION DE BILE PAR LE FOIE PERFUSE.

La méthode de perfusion de foie de rat trouve se justification dans le fait que la préparation secrète régulièrement de la bile et se comporte de façon analogue à un foie en place.

##### a - Quantite de bile.

R.W. BRAUER, R.L. PESSOTTI et P. PIZZOLATO (1951) ont, des premiers, comparé la sécrétion biliaire de l'animal entier et celle du foie perfusé.

Ces auteurs ont d'abord montré que le foie perfusé secrétait abondamment pendant 2 à 3 heures puis que la sécrétion se stabilisait à un niveau plus bas pendant 5 à 12 heures.

---

(1) Diamètre intérieur 1,40 mm, Extérieur 1,90 mm.  
(2) Diamètre intérieur 1,57 mm, Extérieur 2,08 mm.

Il existe toutefois des différences notables entre les billes de rat entier ou de foie perfusé.

		foie isolé	foie in situ
Débit biliaire $\mu\text{l}/\text{min}$	mâle	$6,4 \pm 0,60$	$17,3 \pm 1,5$
	femelle	$5,1 \pm 0,54$	$12, \pm 6,$
Extrait sec g/100ml	mâle	$2,7 \pm 0,2$	$3,2 \pm 0,33$
	femelle	$5,2 \pm 0,3$	$5,2 \pm 0,29$

D'après BRAUER, PESSOTTI et PIZZOLATO 1951.

( valeurs en période de stabilité ).

Des différences du même ordre de grandeurs ont été retrouvées par E.D. ROBBINS, S. BURTON, J. GOERKE et M. FRIEDMAN ( 1953 ). qui utilisent également une technique voisine de celle de BRAUER. Ces auteurs observent, sur leur foie perfusé des débits biliaires moyens d'environ 4 ml par minute.

Notre expérimentation nous a permis d'obtenir des résultats analogues. Sur nos 10 expériences témoins le débit biliaire moyen est de 4,7 ml par minute ( moyenne calculée sur la sécrétion de 3 heures ) tandis que l'extrait sec a une valeur de 2,88 g pour 100 ml ( moyenne de 6 échantillons de 30 minutes ).

De façon approximative on peut dire que la bile émise par un foie perfusé est deux à trois fois moins abondante que celle secrétée par l'animal entier. En ce qui concerne les extraits sec, la différence, de même sens, n'est que de 25 pour 100.

#### B - Elimination de la Brome sulfone phtaleïne.

L'adjonction au perfusat de 2,2 mg de B.S?P. par 100 ml de

perfusat ( dose unique ) à permis à BRAUER de retrouver la B.S.P. à un taux maximum de 500 mg par 100 ml dans la bile. Avec une dose de B.S.P. identique ( 2 mg pour 90 ml de perfusat nous avons obtenu des concentrations biliaire de 300 à 550 mg par 100 ml.

Chez l'animal entier l'injection intraveineuse de 1 mg de B.S.P. chez des rats pesant 180 à 200 g nous a permis de retrouver le colorant à la dose de 93 à 174 mg pour 100 ml de bile.

L'élimination de la B.S.P., avec concentration, ne peut être comparée avec précision dans les deux cas précédents car on ignore le mode de répartition du colorant dans l'organisme après injection intraveineuse. Si l'on tient compte d'une répartition quasi instantanée et homogène dans tous les tissus de l'animal intact, on arrive à un rapport de concentration de l'ordre de 350, alors que la valeur correspondante est d'environ 250 avec le foie perfusé.

BRAUER et coll. ( 1951 ) ont par ailleurs montré que les cellules de Küppfer du foie perfusé pouvaient capter l'Encre de Chine et que dans ces conditions l'extraction de la B.S.P. plasmatique était retardée. Ce comportement est identique à celui du foie de l'animal intact.

#### c - Action des Cholérétiques.

R.W. BRAUER et R.L. PESSOTTI ( 1952 ) ont montré que le foie perfusé répond à l'administration de déhydrocholate de sodium par une augmentation de la cholérèse.

Avec 2 mg de ce même cholérétique pour 90 ml de perfusât, nous avons constaté une augmentation de la cholérèse de 60 pour 100 environ, mesurée sur des échantillons de 30 minutes. L'extrait sec de la bile ne subit pas de modification notable après adjonction du

cholérétique.

A titre comparatif nous avons recherché l'action de 50 mg par kg de déhydrocholate de sodium, injecté par voie intraveineuse chez le rat. Le premier échantillon de 30 minutes après injection est environ le double des échantillons précédant l'administration du produit.

d - Débit sanguin transhépatique.

R.W. BRAUER, G.F. LEONG et R.J.HOLLOWAY ( 1953 ) ont fait une étude détaillée du débit sanguin à travers le foie perfusé. La comparaison de leurs résultats avec ceux de E.L. DOBSON et HARDIN B. JONES ( 1951 ) sur le rat intact permet d'affirmer que le foie perfusé est dans un état de vaso dilatation importante puisque, à pression égale, le débit sanguin du foie perfusé est environ 4 fois plus grand que celui de rat entier.

Il est vraisemblable que cette vaso dilatation est due à un manque d'apport par le perfusat d'un constituant du sang d'origine tissulaire. En effet l'adjonction au perfusat de sang frais hépariné permet d'obtenir une réduction temporaire du débit sanguin. De toute façon cette expérience montre que les vaisseaux sanguins intrahépatiques possèdent encore la propriété de vaso motricité; un effet analogue est d'ailleurs obtenu avec l'adrénaline et la nor-adrénaline ( BRAUER, LEONG et PESSOTTI 1953 ).

BRAUER, LEONG et HOLLOWAY ont également recherché l'influence du débit sanguin transhépatique sur la cholérese. Leurs constatations sont très importantes pour permettre l'interprétation de certains résultats que nous présenterons ci dessous. Ces auteurs ont fait varier le débit transhépatique en modifiant la pression de perfusion; ils constatent alors que ce débit n'influe pratiquement pas sur la cholé-

rése tant qu'il reste supérieur à 25 ou 30 ml par minute. En dessous de 30 ml/min cholérèse et débit sanguin sont au contraire étroitement liés et varient dans le même sens.

Ces constatations de BRAUER et coll. n'ont cependant pas une valeur absolue; elles s'appliquent sans aucun doute à un moment donné de la perfusion mais ne sont pas valables pour toute la durée de la perfusion, parce que la valeur fonctionnelle du parenchyme se dégrade progressivement. Nous avons en effet recherché sur 10 expériences témoins l'évolution du débit sanguin et celle de la cholérèse. ( Tableau I).

Tableau I ( Valeurs moyennes de 10 témoins).

N° des échantillons successifs	Quantité de bile µl par 30 min.	Débit sanguin ml par min.
1° de 0 à 30 min.	166	30
2° de 30 à 60 min.	183	38
3° de 60 à 90 min.	172	41
4° de 90 à 120 min.	132	41
5° de 120 à 150 min.	104	40
6° de 150 à 180 min.	90	39

On constate alors que si le débit sanguin est sensiblement constant des échantillons 2 à 6 il y a quand même une diminution importante du volume de la bile émise. Nous croyons donc prudent de tenir compte, dans les discussions de résultats, de la valeur du débit sanguin. En règle générale nous estimons ne pas devoir retenir les réductions minimales de la cholérèse qui s'accompagnent ou non d'une diminution du débit sanguin transhépatique. Par contre, lorsque la

cholérése s'effondre et que le débit sanguin se modifie peu, la discussion est ouverte et les valeurs limites de 30 ml par min. avancées par BRAUER peuvent être utilisée pour interpréter les résultats.

Par ailleurs nous avons constaté qu'il n'existe aucune relation entre le débit sanguin transhépatique et le cholérése, lorsque l'on examine chaque expérience individuellement. La figure II objective ce fait en ce qui concerne l'échantillon N°2 de 20 expériences témoins.

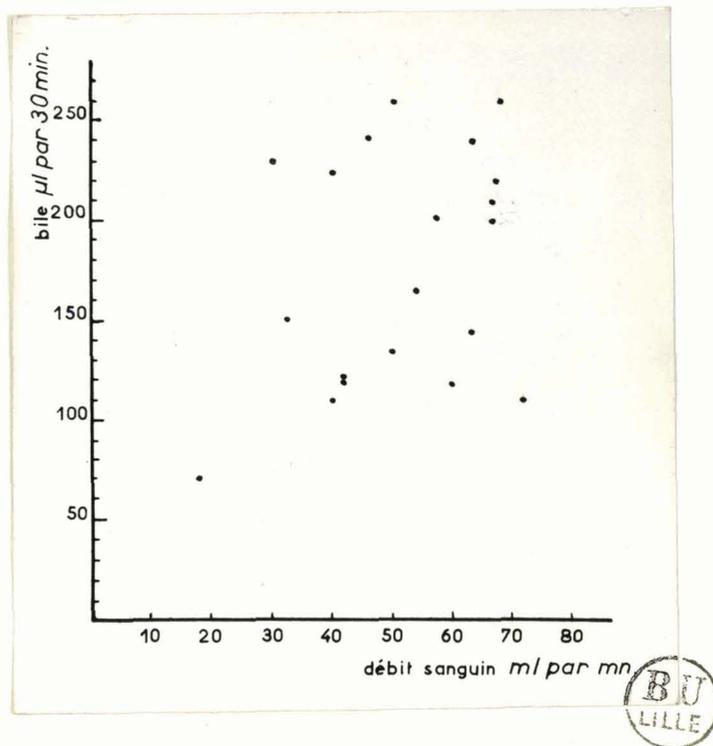


Figure II

Relation débit sanguin - débit biliaire pour échantillon N°2 (30<sup>ième</sup> à 60<sup>ième</sup> minutes) dans 20 expériences.

De plus nous avons recherché s'il existait une relation simple entre le poids de l'animal donneur de foie et la quantité de bile secrétée par 30 minutes. La figure III donne le diagramme des points correspondant au 2° échantillon de 30 minutes pour 20 expériences. Il apparait clairement que la dispersion est totale puisque par

exemple un rat de 300 g a donné 260  $\mu$ l de bile et un autre de même poids 110  $\mu$ l. Cette dernière quantité ( 110  $\mu$ l ) a été également obtenue chez un animal de 250 g seulement.

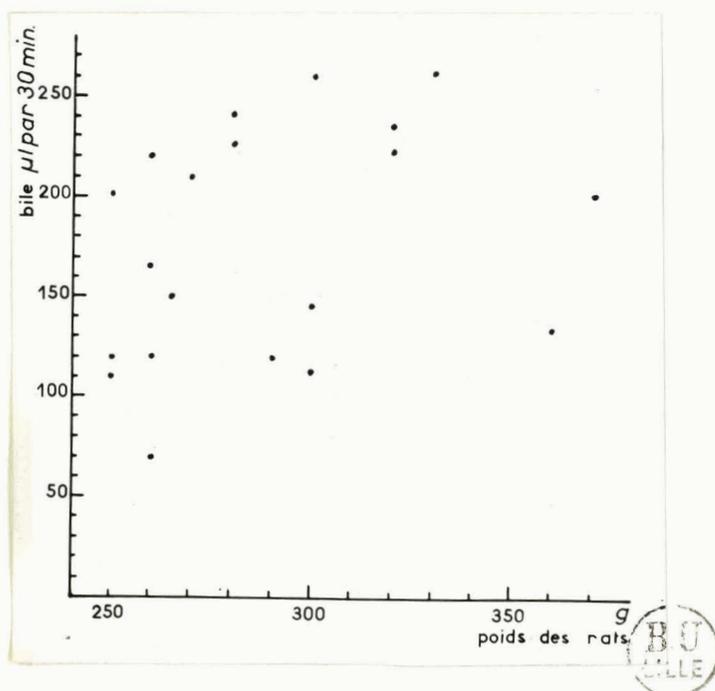


Figure III

Relation débit biliaire - poids du rat pour l'échantillon N°2.  
( Les 20 expériences utilisées sont les mêmes que celles de la figure II).

Enfin si l'on construit un diagramme débit sanguin transhépatique/poids du rat, (fig IV) on s'aperçoit que le groupage des points est à peine meilleur que dans les figures II et III et qu'il persiste une dispersion importante.

Au total il semble que connaissant le poids du rat, on ne peut pas prévoir la valeur approchée du débit sanguin transhépatique ni celle du débit biliaire. C'est une raison pour laquelle tout essai d'un produit doit comporter l'examen préalable de la cholérèse sur

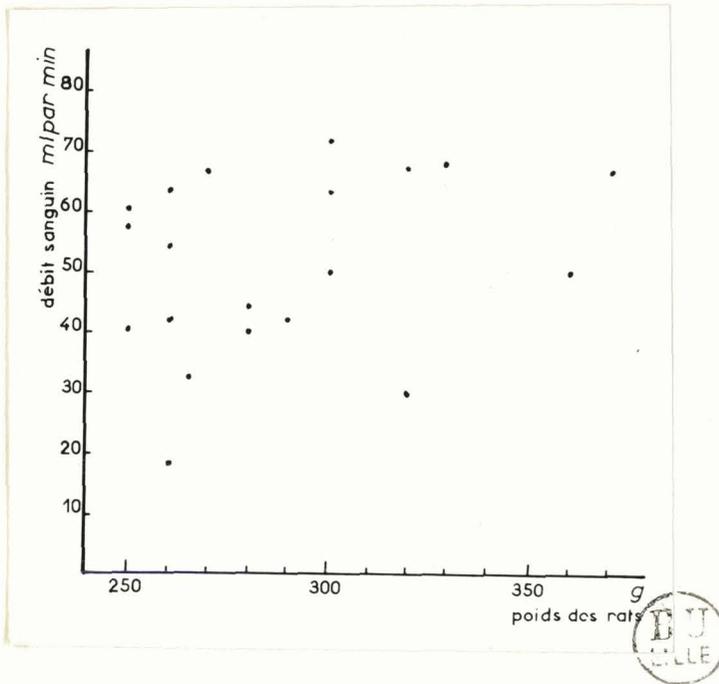


Figure IV

Relation débit sanguin - poids du rat pour l'échantillon N°2.  
( mêmes expériences que dans les figures II et III ).

2 échantillons de 30 minutes.

c - Le rôle de l'anesthésie.

Tous les animaux qui sont utilisés dans une perfusion sont anesthésiés au mébubarbital, substance qui comme tous les barbituriques est réputée toxique par le foie, où se fait la dégradation majeure des dérivés de la malonylurée. On pouvait se demander si ce mode d'anesthésie influait sur la fonction biliaire; aussi avons nous étudié comparativement la cholérèse d'un foie provenant d'un animal anesthésié au mébubarbital ( avec même anesthésie pour les donneurs de sang ) avec celle d'un foie provenant d'un animal anesthésié au carba-  
mate d'éthyle ( avec même anesthésie pour les donneurs de sang ).

Les sécrétions sont au départ sensiblement égales (Tableau II), ce qui permet seulement de dire que le mébubarbital ne touche pas la cellule hépatique plus que le carbonate d'éthyle. Il est possible qu'en absence d'anesthésie les résultats soient différents mais cette technique serait trop complexe à mettre en oeuvre car elle ne pourrait guère être réalisée que sous curare et respiration artificielle.

Tableau II.

Action de l'anesthésie sur la cholérase ( Témoins ).

Cholérase en $\mu$ l/30 min.	0, à 30 min.	30 à 60 min.	1 <sup>ère</sup> heure
Anesthésie uréthane ( moy. de 12 exp.)	170	172	342
Anesthésie mébubarbital ( moy. de 10 exp.)	166	183	349

De plus sur 9 préparations réalisées avec le carbonate d'éthyle nous avons testé l'action d'un barbiturique ( mébubarbital, méthitural, penthiobarbital ) à la dose de 5 mg pour 90 ml de perfusat. Les valeurs moyennes de sécrétion groupées dans le tableau III montrent que les barbituriques ne perturbent pas de façon appréciable la cholérase.

Les quelques critères fonctionnels que nous avons passés en revue permettent d'affirmer que le foie perfusé a conservé les propriétés essentielles du foie in situ, en ce qui concerne la fonction biliaire et aussi bien celles du parenchyme glandulaire et celles des cellules de Küppfer que celles de réactivité vaso motrice. L'emploi de

la technique du foie de rat perfusé est donc légitime pour l'étude de la cholérèse, si l'on se base sur le fonctionnement de l'organe.

Tableau III.

N° échantillon (valeurs en $\mu$ l)	1	2	3	4	5	6	Sécrétion des 3 heures.
Témoins (moy. de 10 exp.)	166	183	172	132	104	90	847
Action d'un barbiturique (moy. de 9 exp.)	169	177	159	141	130	111	887

( Les barbituriques sont ajoutés entre les échantillons 2 et 3, chaque échantillon correspond à la sécrétion de 30 minutes ).

Des examens anatomo-pathologiques systématiques permettent d'ailleurs d'observer peu d'altérations du foie. Lorsqu'aucune substance étrangère n'a été ajoutée au perfusé l'étude histologique montre un foie sensiblement normal, avec parfois un peu d'oédème ou quelques hémorragies intertitielles. Nous n'avons jamais constaté dans ces conditions de dégénérescence vacuolaire ni de nécrose cellulaire en plein parenchyme; lorsque ces lésions existent, elles sont toujours discrètes et localisées en quelques petites plages corticales

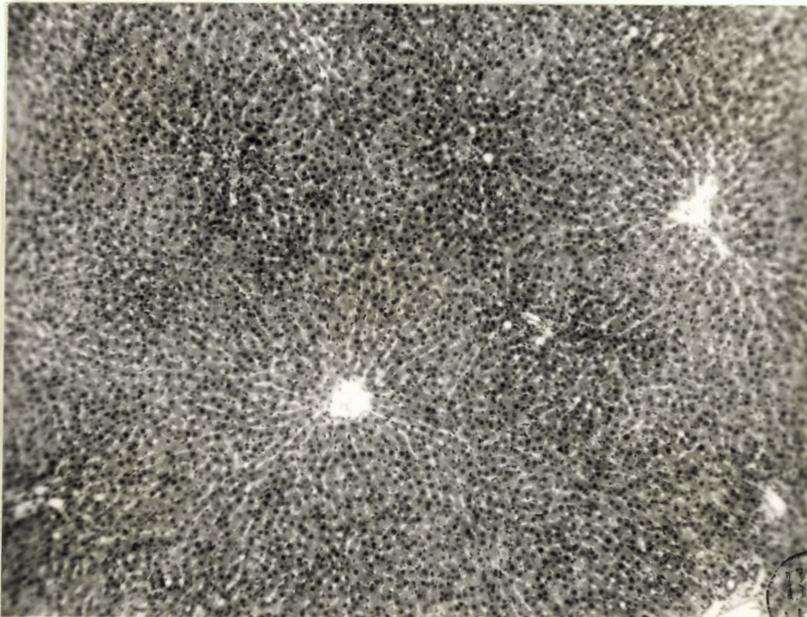


Fig. V - Aspect entièrement normal du foie. Remarquer la conservation parfaite de l'architecture lobulaire et l'intégrité des éléments cellulaires.

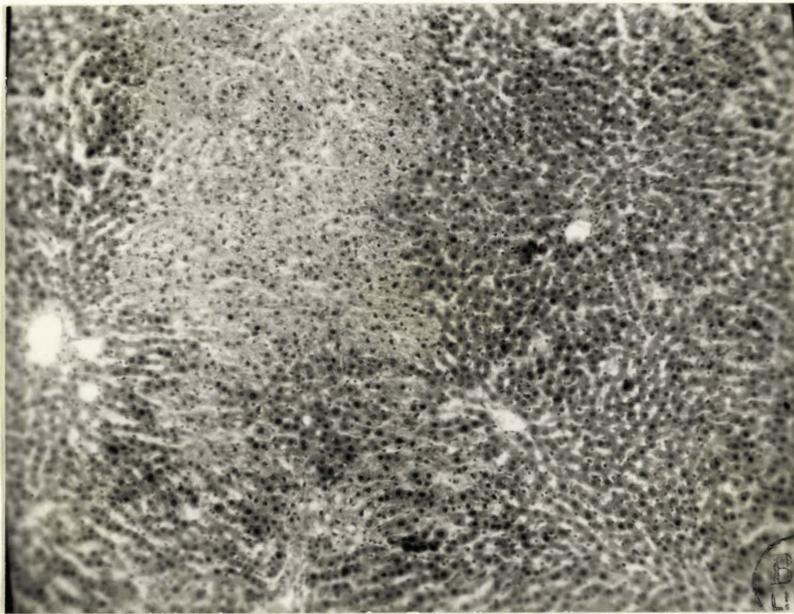


Fig. VI - Aspect d'une plage de cytolysse corticale. Dans cette zone la structure trabéculaire a disparu. Ne sont visibles que des noyaux cellulaires.

### DUREE DE SECRETION.

BRAUER et coll. ont pu observer des survies du foie, avec sécrétion de bile pendant 25 heures; ROBBINS et coll. utilisent une durée moyenne de perfusion de 7 heures 25 minutes avec 3 heures 40 minutes et 11 heures 40 minutes comme valeurs extrêmes.

La perfusion la plus longue que nous avons réalisé a duré 5 heures ( R.18 le 5.12.56 ). Dans plusieurs expériences il nous est apparu qu'à partir de la quatrième heure le débit biliaire diminuait de façon sensible ce qui n'était pas une condition favorable à l'étude de corps qui, en principe, devaient réduire la cholérèse. Comme par ailleurs il n'est guère possible d'utiliser successivement 2 inhibiteurs enzymatiques sur une même préparation, nous avons le plus souvent limité volontairement à 3 heures la durée de nos perfusions, en étudiant à chaque fois une seule substance inhibitrice.

C'est d'ailleurs cette durée de la survie du foie qui est, dans nos expériences, le moins en accord avec les possibilités de la technique exposée par BRAUER. Nous pensons, sans pouvoir le démontrer que la qualité de l'albumine utilisée dans le perfusat intervient. Il nous a été impossible d'utiliser de l'albumine cristallisée identique à celle qu'emploient BRAUER et ROBBINS en raison du prix élevé de cette substance et nous nous sommes contentés d'une albumine simplement putifiée.

## II - METHODES DE DOSAGES DANS LA BILE.

### 1 - L'EXTRAIT SEC.

L'extrait sec est obtenu par une dessiccation sous vide, ( en présence de  $\text{CaCl}_2$  ) de 100 microlitres de bile ( dans des verres de

montre ). Les pesées avant et après évaporation sont faites au 1/50 de mg.

## 2 - LA BILIRUBINE.

Etant donné les faibles quantités de bile dont nous disposons, nous avons pensé souhaitable d'éviter toute manipulation chimique. C'est pourquoi nous avons utilisé la détermination colorimétrique directe de la bilirubine plutôt que la diazoreaction.

Nous avons employé un spectrophotomètre JOBIN et YVON, avec cuves de verre de 10 mm de trajet optique et lampe à filament de tungstène.

20 microlitres de bile sont ajoutés à 3 ml d'eau et passés immédiatement au spectrophotomètre.

Il n'est pas possible de déterminer le taux de bilirubine par mesure en un seul point car il nous est apparu que le maximum d'absorption variait au cours d'une même expérience. Aussi pour chaque échantillon il est établi une courbe d'absorption dans la gamme éléctive de la bilirubine ( 3.700 à 4.800 Å ). Dix huit points sont déterminés: 4.800, 4.700, 4.650, 4.600, 4.500, 4.400, 4.350, 4.300, 4.250, 4.200, 4.150, 4.100, 3.900, 3.800, 3.750, et, 3.700 Å.

Une grandeur variant dans le même sens que le taux de bilirubine est donné par la somme des densités optiques aux dix huit points précités. La concentration en bilirubine est obtenue en reportant cette grandeur sur une courbe d'étalonnage tracée en utilisant une solution de bilirubine pure dans de la soude N/100.

## 3 - LA BROME SULFONE PTHALEINE.

La brome pthaléine est dosée par mesure de la densité optique à 5.800 Å de la bile diluée au 1/751 par de la soude centinormale

( cuves verre 10 mm ), en se référant à une courbe étalon établie dans les mêmes conditions.

### III - LE DEROULEMENT DES EXPERIENCES.

Toutes les expériences rapportées ci-après ont été menées selon un même plan général.

Après avoir inséré le foie dans le circuit de perfusion on attend quelques minutes pour que la circulation sanguine soit satisfaisante, puis on commence à recueillir la bile.

Chaque échantillon de bile correspond à la sécrétion de 30 minutes. On note le volume de chaque échantillon et on détermine l'extrait sec et le taux de bilirubine. Le plus souvent nous nous limitons à 6 échantillons c'est à dire 3 heures de perfusion.

Lorsque l'on étudie l'action d'un inhibiteur enzymatique sur la quantité et la qualité de la bile, la substance est ajoutée au perfusat entre les échantillons 2 et 3, soit 1 heure après le début de la perfusion.

Dans les recherches sur la cholérèse provoquée par le déhydrocholate de sodium, 2 mg de ce cholérétique sont ajoutées au milieu de perfusion, soit seuls ( témoins ), soit en même temps qu'un inhibiteur, toujours entre les échantillons 2 et 3.

Cependant, dans le cas de l'action de l'acide monoïdacétique, cet inhibiteur a été ajouté entre les échantillons 2 et 3 tandis que le dehydrocholate de sodium était introduit dans le circuit plus tardivement, alors que la première substance avait eu le temps de développer son activité. Une partie des expériences avec cyanure a été faite selon cette modalité.

Pour étudier l'excrétion biliaire de la Brome Sulfone phtaléïne on ajoute au perfusat 2 mg de B.S.P. entre les échantillons 1 et 2. La B.S.P. est utilisée soit seule, soit associée à un inhibiteur.

## B - LES INHIBITEURS ENZYMATIQUES UTILISES.

Les inhibiteurs enzymatiques sont très nombreux et presque tous agissent sur plusieurs diastases. A notre connaissance seul le cyanure a été utilisé vis à vis de la fonction biliaire, tandis que les organomercurels ont été étudiés comme diurétiques. Les sulfamides inhibiteurs de l'anhydrase carbonique ont vu leur action recherchée sur la formation de l'urine, la sécrétion pancréatique et la sécrétion gastrique.

Nous avons utilisé 6 inhibiteurs enzymatiques : l'acétazolamide qui inhibe électivement l'anhydrase carbonique et 5 inhibiteurs à action très étendue particulièrement dans le domaine de la glycolyse ou de la respiration cellulaire = le cyanure de potassium, le fluorure de sodium, la mérécurure, l'acide monoïdacétique et la phloridzine.

### 1 - CYANURE DE POTASSIUM.

Les cyanures sont des substances très toxiques pour l'organisme; la dose létale ne peut être donnée avec précision car la vitesse d'administration joue un rôle considérable. Chez le mammifère des doses de l'ordre de 5 mg par kg de KCN entraînent la mort par paralysie du centre respiratoire et accessoirement par action sur les centres vaso moteurs.

Les études biochimiques ont par ailleurs montré que les cyanures étaient de très puissants inhibiteurs enzymatiques à spectre d'action très étendu, touchant environ les 9/10 des enzymes. Les cyanures suppriment la respiration cellulaire principalement par action sur les cytochrome-oxydase. Parmi les autres enzymes que nous avons étudiés retenons comme particulièrement sensibles au K.C.N. la phosphatase alcaline, l'aldolase, la succinodeshydrogénase, les transaminases, l'histidase, l'anhydrase carbonique et la décarboxylase de l'acide L cystéïque.

Le cyanure de potassium est très soluble dans l'eau mais son action ne peut pas être durable. Il existe en effet une diastase, la rhodanése qui transforme le cyanure de potassium en thio cyanate inactif sur la respiration tissulaire.

## 2 - FLUORURE DE SODIUM.

Les fluorures sont de puissants inhibiteurs enzymatiques et interviennent surtout dans l'utilisation du glucose. L'action se fait sur de nombreuses phosphatases : phosphomonoestérase acide, phosphomonoestérase alcaline, phosphoglucomutase, A T P ase, glucose 6 phosphatase, glucose 1 phosphatase, glucose 1 - 6 - diphosphatase. La succinodeshydrogénase, l'amylase, les lipases, certaines aliesté-  
rases, l'anhydrase carbonique sont également inhibées par les fluorures. En règle générale les concentrations actives de fluorure sont comprises en 1 pour 5.000 et 1 pour 15.000.

Le fluorure de sodium est très soluble dans l'eau, mais en présence de sels de calcium on obtient du fluorure de Calcium insoluble, ce qui modifie considérablement la concentration du produit

dans le perfusat.

### 3 - ACIDE MONOIODACETIQUE.

L'acide monoiodacétique est surtout connu par son action sur la contractilité musculaire. L'utilisation chez l'animal intact n'est guère possible car des doses de l'ordre de 50 mg par kg sont mortelles.

L'intervention de l'acide monoiodacétique dans les processus enzymatiques est surtout marquée dans la glycolyse. L'inhibition se fait au stade de l'hexokinase, de la deshydrogénase, de l'acide citrique, des triphosphate deshydrogénases. Au total l'acide monoiodacétique à doses faibles empêche la formation de l'acide lactique; des doses élevées pourraient même limiter l'utilisation du glucose.

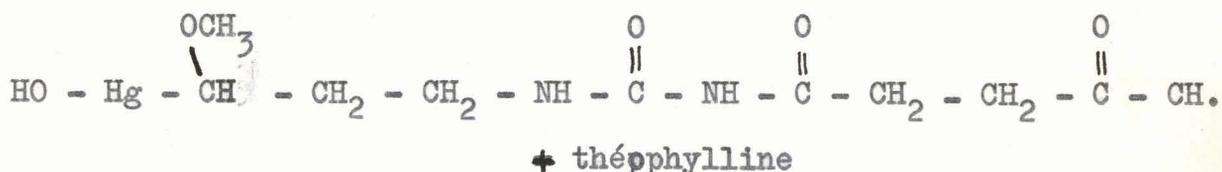
### 4 - PHLORIDZINE.

La phloridzine est un alcaloïde extrait de l'écorce des racines de certains arbres fruitiers ( pommier, poirier, cerisier, etc.....). Son action physiologique est connue depuis VON MERING ( 1886 ): l'injection ou l'ingestion de phloridzine donne une glycosurie sans hyperglycémie. Une telle action ne peut qu'être secondaire à une modification de la fonction du tube rénal, par trouble de la résorption tubulaire du glucose.

Dans l'ordre enzymatique, la phloridzine inhibe principalement les phénomènes de phosphorylation et de déphosphorylation ( phosphorylases ), ne permettant pas d'arriver au stade glucose 1 phosphate ( CORI et coll. 1939 - 1943 ). La réduction de l'acide oxalacétique, l'oxydation de l'acide malique, l'oxydation d'hydrates de carbone, la dégradation de l'alcool ne se produisent plus en présence de phloridzine.

5 - MERALLURIDE.

La m ralluride (1) est une combinaison équimoléculaire de théo-  
phylline et d'acide N - ( hydroxymercuri - 3 - méthoxy - 2 propyl  
carbamyl ) succinamique de formule développée =



Le poids moléculaire est de 629 et la teneur en mercure de 31,7  
pour 100 environ.

La m ralluride est avant tout un diurétique de la classe des  
mercuriels. Son étude, comme inhibiteur enzymatique a été réalisée  
par C.A. HANDLEY. Il s'agit d'une substance qui agit sur le système  
succino deshydrog nasique, sans doute en formant avec les groupes  
S H de ce système des mercaptides.

C.A. HANDLEY et P.S. LAVIK ( 1950 ), chez le rat, ont montré que  
l'injection intraveineuse de 4 à 8 mg de Hg par kg entraînait une  
réduction de 45 pour 100 environ de l'activité succino deshydrog na-  
sique du rein, alors que l'activité de ce même enzyme n'était pas  
modifié au niveau du foie et du coeur.

Cependant C.A. HANDLEY ( 1949 ) avait observé qu'en ajoutant  
directement un diurétique mercuriel dans les fioles d'un appareil de  
Warburg, on obtenait une inhibition identique de la succino deshydro-  
g nase contenue dans des homogénats de rein, de foie ou de coeur. Les  
concentrations nécessaires in vitro sont, exprimée en Hg, de l'ordre  
de  $5 \cdot 10^{-6}$     $1 \cdot 10^{-5}$  M.

Les auteurs expliquent les différences d'action in vivo et in

---

(1) Fournie gracieusement par les Laboratoires ROUSSEL.

vitro de la m ralluride par une concentration des ions mercure, au niveau du rein de l'animal entier, concentration liée à la résorption tubulaire de l'eau. Dans ces conditions la teneur en mercure du foie et du coeur n'est pas suffisante pour que l'inhibition se fasse sentir à ces niveaux.

Cette hypothèse trouve une confirmation dans les travaux histochimiques de WACHTEIN et MEISEL ( 1954 ) de TELKKA et MUSTAKALLIO ( 1955 ). Après injection de fortes doses de m ralluride ( 15 à 30 mg Hg/kg ), le mercure est retrouvé dans le tube proximal du nephron et la succino deshydrogénase est inhibée à ce niveau.

Etant donné ces résultats il était inutile de rechercher l'action de la m ralluride sur la chol r se du rat entier, tandis que la technique de foie isolé perfusé apparaissait favorable puisque permettant d'amener tout le mercure disponible au contact du foie.

Bien que la m ralluride soit connue comme inhibant la succino deshydrogénase il semble logique de la considérer comme susceptible d'inhiber d'autres enzymes sensibles aux ions  $Hg^{++}$  et en particulier certaines phosphatases ( phosphomonoestérase acide non spécifique, A T P ase, glucose 6 phosphatase ), des transaminases, la  $\beta$  glycuronidase. La m ralluride est toutefois sans action sur la cytochrome C oxydase.

La m ralluride est soluble dans la soude diluée à des concentrations au moins égale à 20 mg par ml.

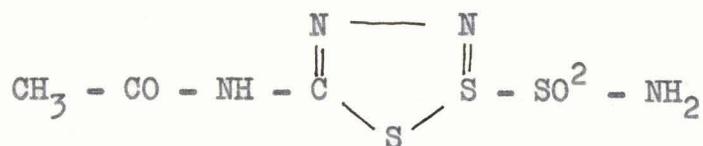
#### 6 - L'ACETAZOLAMIDE.

L'acétazolamide (1) appartient au groupe des sulfamides. D cou-

---

(1) Fournie gracieusement par les Laboratoires THERAPLIX.

verte par ROBBIN R.O. et CLAPP en 1950, c'est la 2 acetylamino, 1,3, 4 thiadiazol 5 sulfonamide dont la formule développée est la suivante:



L'acétazolamide est l'inhibiteur le plus puissant, que l'on connaisse actuellement, de l'anhydrase carbonique; son activité inhibitrice est environ 400 fois plus importante que celle de la sulfanilamide.

Il était intéressant de rechercher l'action de cette drogue sur la cholérèse car on sait qu'elle agit sur les sécrétions gastriques et pancréatiques.

D. BIRNBAUM et F. HOLLANDER ( 1953 ) ont montré qu'à raison de 60 mg par Kg l'acétazolamide réduit de 95 pour 100 le volume de la sécrétion gastrique due à une injection intraveineuse de sécrétine, chez le chien. Les résultats obtenus chez l'homme par D.A. DREILLING, H.D. JANOWITZ et M. HALPERN ( 1955 ) sont identiques.

La sécrétion gastrique induite par l'histamine est réduite par l'acétazolamide et la concentration en H Cl du suc est diminué. Des doses de 20 à 60 mg par kg d'inhibiteur sont nécessaires chez le chien ( H.D. JANOWITZ, H. COLCHER et F. HOLLANDER 1952 ). Chez l'homme les doses thérapeutiques d'acétazolamide sont inactives alors qu'avec plus de 73 mg par kg on réduit la sécrétion gastrique de base et la sécrétion provoquée par l'histamine ( H.D. JANOWITZ, D.A. DREILLING et F. HOLLANDER 1955 ).

L'acétazolamide est soluble dans Na OH concentrée à froid ( à 40 pour 100 environ ); la dilution secondaire avec de l'eau distillée

ne précipite pas le produit et on obtient facilement des concentrations de 100 mg par ml.

### C - RESULTATS EXPERIMENTAUX

Tous les résultats obtenus sont groupés en tableaux correspondant aux divers types d'expériences. Nous avons éliminés les protocoles des perfusions nos satisfaisantes par suite de circulation sanguine trop lente ou de débit biliaire particulièrement faible, dès le début de l'expérience.

Pour alléger la présentation nous ne donnons pas les chiffres de certaines expériences où KCN, NaF ---, ont été utilisé à des doses si élevées qu'il en résultait une altération profonde du débit sanguin. Il sera simplement fait état de ces résultats dans la discussion.

Dans chaque Tableau P désigne le poids, exprimé en grammes, du rat sur lequel le foie a été prélevé.

Pour la B.S.P. biliaire T correspond à des traces indosables.

N°	Date	P	Débit de bile $\mu\text{l}/30 \text{ min}$						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
R11	11.11.56	260	202	240	219	191	178	173	3,78	2,66	2,60	2,57	2,68	2,76						
R18	5.12.56	250	44	118	130	134	127	111	4,00	3,26	2,89	2,73	2,76	2,51						
R27	14. 1.57	250	169	169	140	65	43	80	3,18	2,48	2,32	2,50	2,50	2,63	186	150	194	212	260	404
R29	21. 1.57	250	273	202	176	161	146	156												
R30	23. 11.57	265	148	150	147	131	102	60							183					206
R37	18. 2.57	250	186	210	177	90	27	8	3,79	2,98	2,69	2,70			190	205	212	214	228	
R38	20. 2.57	280	217	241	204	125	55	37	3,02	2,87	2,88	2,91			147	144	156	169	176	186
B1	13. 3.57	270	82	109	125	80														
B3	22. 5.57	290	152	150	163	157	120	89	4,13	3,08	3,12	3,08	3,21	3,23	142	100	109	109	123	141
B4	27. 5.57	300	192	240	238	184	135	95	2,77	3,02	2,68	2,47	2,54	2,33	118	133	131	144	139	254
<b>Moyennes</b>			<b>166</b>	<b>183</b>	<b>172</b>	<b>132</b>	<b>104</b>	<b>90</b>	<b>3,52</b>	<b>2,90</b>	<b>2,74</b>	<b>2,70</b>	<b>2,73</b>	<b>2,69</b>	<b>161</b>	<b>146</b>	<b>160</b>	<b>170</b>	<b>185</b>	<b>238</b>

TABLEAU 4

Série témoin

N°	Date	P	Débit de bile $\mu\text{l}/30 \text{ min}$						B.S.P. mg/100 ml				
			1	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6
R29	21. 1.57	250	273	202	176	161	146	156	192	408	209	96	49
R30	23. 1.57	265	148	150	147	131	102	60	110	555	357	204	125
R95	20.1. 58	300	230	260	280	275	210		185	336	204	100	
R167	1. 9.58	300	185	150	145	150	140	90	237	423	273	105	63
R168	3. 9.58	300	180	195	170	125	75	25	139	324	313	138	102
R170	12. 9.58	350	340	390	365	265	140	115	141	204	86	36	23

TABLEAU 5

Série témoin-Elimination de la B.S.P.(2 mg pour une perfusion)

Administration du produit entre 1 et 2

N°	Date	P	Débit de bile µl/30 min						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
R19	10.12.56	265	106	105	171	97	80	67	4,72	3,96	3,90	3,53	3,38	3,24	210	164	118	210	240	248
R9I	6. 1.58	330	200	170	285	175	160	155	3,57	2,40	2,48	2,24	2,09	2,11	176	144	202	228	242	291
R92	8. 1.58	360	160	160	275	200	165	150	4,36	2,60	2,54	2,35	2,37	2,39	149	157	164	246	306	332
RI62	18. 8.58	290	215	175	270	165	160	150	2,60	2,42	2,95	2,75	2,71	2,85	230	346	452	490	510	520
R163	20. 8.58	330	230	225	310	195	175	150	3,26	2,46	2,91	2,56	2,59	2,39	136	152	190	266	392	407
R164	22. 8.58	310	240	240	325	220	205	190	3,41	2;67	2,86	2,54	2,68	2,48	150	186	243	376	470	512
R165	27. 8.58	290	163	135	225	120	115	75	3,72	2,91	3,29	2,84	2,72	2,55	268	143	120	168	230	
R166	29. 8.58	250	160	155	260	115	65	20	3,35	2,57	3,34	2,54	2,79		188	184	212	283	341	385
<b>Moyennes</b>			<b>184</b>	<b>171</b>	<b>265</b>	<b>161</b>	<b>141</b>	<b>119</b>	<b>3,62</b>	<b>2,75</b>	<b>3;03</b>	<b>2,67</b>	<b>2,67</b>	<b>2,57</b>	<b>188</b>	<b>184</b>	<b>212</b>	<b>283</b>	<b>341</b>	<b>385</b>

TABLEAU 6

Cholérèse provoquée par le Déhydrocholate de sodium(2 mg) administré entre 2 et 3

N°	Date	P		Débit de bile $\mu\text{l}/30 \text{ min}$						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre					
				1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
R10	7.11.56	260	A	132	207	75	88	136	140	4,01	2,60	2,63	2,63	2,63	2,37						
R13	18.11.56	260	A	83	102	20	4	29	20												
R14	26.11.56	270	A	125	152	43	68	115	96	4,53	2,91	3,29	2,94	2,97	2,65						
R15	28.11.56	270	A	161	164	43	45	68	71	3,75	3,00	3,06	3,02	3,03	3,02						
R16	30.11.56	260	A	143	155	44	34	92	78	3,95	3,05	3,63	3,33	3,57	3,20						
R22	19.12.56	260	A	167	180	38	16	26	40							178	198	172			182
R25	7. 1.57	270	A	129	157	26	41	69	67							234	175	230	240	348	371
R26	9.1. 57	250	A	183	209	92	75	114	100	3,31	2,76	2,77	2,93	3,13	3,55	139	144	183	254	233	174
R28	16. 1.57	260	A	208	199	68	37	67	92	3,51	2,92	3,18	2,27	3,61	3,47	170	192	221	236	283	250
R12	14.11.56	260	B	191	195	53	35	113	134	4,01	2,60	2,63	2,63	2,63	2,37						
<b>Moyennes</b>				<b>152</b>	<b>172</b>	<b>50</b>	<b>44</b>	<b>83</b>	<b>84</b>	<b>3,87</b>	<b>2,83</b>	<b>3,03</b>	<b>2,82</b>	<b>3,19</b>	<b>2,94</b>	<b>180</b>	<b>177</b>	<b>201</b>	<b>243</b>	<b>281</b>	<b>244</b>

TABLEAU 7

Action du Cyanure de potassium (entre 2 et 3) sur la cholérèse.

A: 10 mg

B: 12,5 mg

N°	Date	P	Débit de bile µl/30 min						B.S.P. mg/100 ml					
			1	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6	
R33	4.2.57	260	129	48	38	122	129	114		35	200	237	201	
R34	6.2.57	250	184	105	83	120	89	32	59	724	524	210	137	
R35	11.2.57	300	208	97	96	107	75	54	20	296	427	231	179	
R36	13.2.57	290	180	81	60	117	157	162	T	258	402	219	123	

TABLEAU 8

Elimination biliaire de la B.S.P. (2 mg) en présence de Cyanure de potassium (10 mg)

Administration simultanée des 2 produits entre 1 et 2

N°	Date	P		Débit de bile µl/30 min						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre					
				1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
R104	12.2.58	300	A	150	165	200	90	100	65	3,30	2,75	2,92	3,25	2,98	3,00	270	286	384	342	338	308
R105	14.2.58	300	A	175	185	20	75	45	45	3,29	2,42		2,17	3,30	2,68	162	176	238	214	258	230
R106	19.2.58	340	A	115	140	135	25	35	5	3,25	2,40	2,37				228	282	368	306	320	
R108	24.2.58	290	A	165	200	115	82	110	80	3,75	2,63	2,54	3,10	2,96	2,84	156	138	146	125	162	174
R109	26.2.58	310	A	250	290	225	110	155	155	3,61	2,85	2,91	2,91	2,89	2,75	134	144	170	206	204	162
<b>MOYENNES de A</b>				<b>171</b>	<b>196</b>	<b>139</b>	<b>76</b>	<b>89</b>	<b>70</b>	<b>3,44</b>	<b>2,61</b>	<b>2,68</b>	<b>2,86</b>	<b>3,03</b>	<b>2,82</b>	<b>190</b>	<b>205</b>	<b>261</b>	<b>239</b>	<b>256</b>	<b>218</b>
R110	3.3.58	300	B	290	255	125	290	300	260	2,74	2,39	2,25	2,57	2,26	2,20	151	158	173	182	136	130
R111	5.3.58	310	B	200	210	60	150	95	40	2,59	2,20	2,60	2,57	1,47	1,52	192	128	137	114	123	138
R113	10.3.58	350	B	285	285	120	195	150	95	2,59	2,53	2,31	3,10	2,78	2,51	142	208	238	278	250	264
R114	12.3.58	330	B	155	175	35	165	55		2,45	1,82	2,31	2,20			310	212	301	265	263	
<b>MOYENNES de B</b>				<b>232</b>	<b>231</b>	<b>85</b>	<b>200</b>	<b>150</b>	<b>131</b>	<b>2,59</b>	<b>2,23</b>	<b>2,37</b>	<b>2,61</b>	<b>2,17</b>	<b>2,07</b>	<b>199</b>	<b>176</b>	<b>212</b>	<b>210</b>	<b>193</b>	<b>177</b>

TABLEAU 9

Cholérèse provoquée par le Déhydrocholate de sodium (2 mg) en présence de KCN (10 mg).

Administration des produits :

A: simultanément entre 2 et 3

B: KCN entre 2 et 3 ; déhydrocholate entre 3 et 4

N°	Date	P	Débit de bile $\mu\text{l}/30 \text{ min}$						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre							
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6		
R43	11. 3.57	280	A	8I	112	107	58	17	0	4,67	3,86	3,46	4,19			214	237	242	182	182		
R44	18. 3.57	270	A		172	204	156	75	35	27	3,18	2,79	2,85	2,64		244	234	248	266	308	366	
R45	20. 3.57	270	A		102	105	44	13	0	0	4,28	3,93	4,13			247	256	264				
R46	25. 3.57	280	A		81	116	122	101	60	27	4,82	3,44	2,84	3,08	3,34	160	140	154	165	163	183	
R49	20. 5.57	300	A		290	355	330	239	176	157	3,46	2,52	2,43	2,37	2,59	2,60	179	132	124	136	170	213
R56	26. 6.57	345	B		220	280	270	195	55		3,10	2,54	2,75	2,62	2,78	158	166	144	179	157		
R57	31. 7.57	330	C		145	225	215	175	140	115	3,95	2,89	2,91	2,90	2,88	2,58	188	260	275	257	278	297
R58	5. 8.57	360	C		195	215	180	105	70	65	3,82	2,93	2,78	3,33	3,70	2,70	196	174	176	178	208	257
R64	16. 9.57	280	C		105	85	105	45	15	10	4,61	4,18	4,06			143	140	212	247			
R65	18. 9.57	280	C		245	240	200	150	120	50	3,60	2,97	2,79	2,82	2,57	2,93	236	270	331	367	423	500
R67	27. 9.57	300	C		300	380	345	185	135	100	2,73	2,71	2,31	2,42	2,40	2,44	144	178	194	200	224	268
<b>Moyennes</b>					<b>176</b>	<b>210</b>	<b>188</b>	<b>122</b>	<b>74</b>	<b>55</b>	<b>3,83</b>	<b>3,16</b>	<b>3,02</b>	<b>2,93</b>	<b>2,89</b>	<b>2,65</b>	<b>191</b>	<b>198</b>	<b>214</b>	<b>217</b>	<b>234</b>	<b>297</b>

TABLEAU 10

Action du fluorure de sodium (entre 2 et 3) sur la cholérèse

A: 5 mg

B: 7,5 mg

C: 4 mg

N°	Date	P	Débit de bile $\mu\text{L}/30 \text{ min}$						B.S.P. mg/100 ml					
			1	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6	
R48	15. 5.57	280	A	382	345	429	412	363	348	352	191	44	18	8
R73	23.10.57	290	B	95	90	65	35	15		4	428	676	404	
R72	21.10.57	290	B	95	105	95	80	65	45	94	512	476	364	284
R71	16.10.57	300	B	200	170	130	55	23	10	164	460	388	254	166
R70	14.10.57	290	B	185	170	165	135	115	95	228	396	264	158	108
R69	7.10.57	300	B	215	180	125	35	5		164	480	328		
R68	2.10.57	300	B	75	85	65	55	40	30	8	196	370	382	262

TABLEAU 11

Elimination biliaire de la B.S.P. (2 mg) en présence de fluorure de sodium. A: 5 mg  
B: 4 mg

Administration simultanée des 2 produits entre 1 et 2

NO	Date	P		Débit de bile pl/30 min						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre					
				1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
R59	14. 8.57	310	A	260	315	260	230	180	130	4,11	3,05	3,40	2,84	2,86	2,76	150	144	136	160	169	144
R62	26. 8.57	300	A	160	165	105	65	45	40	4,77	3,02	2,87	3,07	2,02	2,28	176	244	306	332	420	542
R74	28.10.57	290	A	85	90	45	55	55	45	5,37	3,18	5,05	3,53	3,54	2,55	218	260	275	264	260	282
R75	30.10.57	340	A	75	70	35	30	25							157	197	207	205	195		
R76	4.11.57	310	B	264	263	118	49	5	5	4,09	3,06	2,60			144	178	194	160			
R77	6.11.57	340	B	207	245	170	95	45	15	3,79	3,39	2,60	2,37	2,54	142	204	226	266	275		
R81	25.11.57	390	B	130	110	50	25	15	5						224	212	208	210			
R85	9.12.57	330	B	95	100	65	30	0	0	4,78	2,55	2,38			205	224	279	272			
R82	27.11.57	350	C	140	161	160	100	65	45	4,53	3,51	2,94	2,66	2,56	2,30	210	228	244	268	294	312
R83	2.12.57	390	C	175	220	200	150	105	65	5,41	2,98	2,76	2,62	2,72	3,05	196	218	250	312	338	391
R84	4.12.57	400	C	45	70	105	90	65	35						230	242	317	283	273	270	
R87	16.12.57	400	D	265	235	235	190	180	190	3,78	2,39	2,25	2,28	2,25	2,20	180	130	168	324	324	260
R88	18.12.57	240	D	150	230	170	145	125	100	3,25	2,63	2,36	2,36	2,25	1,76	208	250	388	452	345	361
R89	23.12.57	410	D	260	295	265	245	220	160	3,19	2,44	2,23	2,19	2,11	2,21	161	176	182	214	270	279
R103	10. 2.58	290	D	195	205	215	220	185	160												
Moyennes C etD				176	202	193	163	135	108	4,03	2,78	2,51	2,42	2,37	2,30	197	207	257	308	307	312

TABLEAU 12-Action de la mэрalluride(entre 2 et 3)sur la cholэрэse. A:20mg B:15mg C:10mg D:5mg

N°	Date	P	Débit de bile $\mu\text{l}/30 \text{ min}$						B.S.P. $\text{mg}/100\text{ml}$					
			1	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6	
R93	13.1.58	300	235	250	220	189	168		132	316	268	205		
R101	5.2.58	320	70	95	100	85	50	15	1	274	298	350	250	
R102	6.2.58	320	185	145	110	30	0		27	560	592			
R103	10.2.58	290	205	215	220	185	160	115	148	306	223	96	58	

TABLEAU 13

Elimination biliaire de la B.S.P. (2 mg) en présence de  
Méralluride (5 mg).

Administration simultanée des 2 produits entre 1 et 2

N°	Date	P	Débit de bile µl/30 min						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre						
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	
R94	15.	1.58	300	165	205	270	160	125	105	4,38	2,81	2,11	2,15	2,25	2,40	244	226	276	278	387	666
R96	22.	1.58	320	65	85	170	95	85	75	4,20	5,56	2,15	2,16	1,91		144	161	234	198	256	350
R97	27.	1.58	400	175	220	315	50	140	145	3,89	2,75	2,76	2,50	2,65	2,50	214	260	224	150	364	460
R98	29.	1.58	340	150	150	205	85	60	55	3,61	2,67	3,12	2,74	2,85	2,90	148	164	186	204	268	343
<b>Moyennes</b>				<b>139</b>	<b>165</b>	<b>240</b>	<b>98</b>	<b>103</b>	<b>95</b>	<b>4,02</b>	<b>3,45</b>	<b>2,53</b>	<b>2,39</b>	<b>2,41</b>	<b>2,60</b>	<b>187</b>	<b>203</b>	<b>230</b>	<b>207</b>	<b>319</b>	<b>455</b>

TABEAU 14

Cholérèse provoquée par le Déhydrocholate de sodium (2 mg) en présence de Méraluride (5 mg).  
Administration simultanée des 2 produits entre 2 et 3

N°	Date	P	Débit de bile $\mu\text{L}/30$ min						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
R78	18.11.57	360	A	90	75	76	49	13	20	7,01	4,95	3,93	4,57	3,46	172	263	296	278		
R79	20.11.57	340	A	150	150	150	75	40	25	3,84	2,51	2,22	2,62	2,86	153	136	130	124	188	271
R146	30. 6.58	310	B	265	260	295	85	0		3,00	2,38	2,65	2,69		166	107	91	68		
R147	2. 7.58	300	B	155	160	260	75	25	15	3,74	2,70	2,28	2,34		138	144	150	84	139	
RI49	7. 7.58	320	B	250	210	260	55	5	0	2,91	2,83	2,95	2,86		161	200	197	130		
R137	28. 5.58	310	C	210	230	520	170	35	0	3,70	3,21	2,52	2,27		183	186	131	145	181	
R138	4. 6.58	300	C	145	160	295	20	0	0	1,56	2,49	2,42			168	215	192			
R140	11. 6.58	330	C	70	100	95	20	5	0	4,00	3,56	3,13			166	338	334			
R141	16. 6.58	310	C	255	265	320	120	10	0	2,77	2,02	2,10	2,21		172	232	250	168		
R142	18. 6.58	330	C	270	250	520	205	45	0	3,50	2,89	2,89	2,71	2,77	146	210	122	117	102	
<b>Moyennes de C</b>				<b>190</b>	<b>201</b>	<b>350</b>	<b>107</b>	<b>19</b>	<b>0</b>	<b>3,10</b>	<b>2,83</b>	<b>2,61</b>	<b>2,39</b>		<b>167</b>	<b>236</b>	<b>206</b>	<b>143</b>	<b>142</b>	

**TABEAU 15**

**Action de l'acide monoiodacétique (entre 2 et 3) sur la cholérèse**

**A: 10 mg**

**B: 12,5 mg**

**C: 15 mg**

N°	Date	P		Débit de bile $\mu$ l/30 min						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre					
				1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
R150	9.7.58	350	A	265	225	410	325	245	190	3,11	2,71	3,15	3,00	2,83	2,66	172	182	263	380	465	404
R152	28.7.58	250	B	180	160	310	310	225	185	3,83	2,61	2,93	3,27	3,02	2,81						
R153	30.7.58	350	B	220	200	340	390	365	260	3,52	2,97	3,50	3,74	3,34	3,03	196	204	114	98	330	388
R154	1.8.58	310	B	245	315	495	490	375	280	2,92	2,33	2,77	3,06	2,63	2,70	134	178	122	96	279	287
R155	4.8.58	300	C	208	223	437	377	310	257	4,04	2,51	2,62	2,85	2,79	2,82	217	248	162	78	187	384
R156	6.8.58	320	C	281	200	320	320	285	230	3,88	2,85	3,40	3,69	3,93	4,15	144	158	154	49	106	342
R157	8.8.58	290	D	120	110	245	250	245	210	3,97	3,02	3,19	3,31	3,46	3,35	170	192	138	89	85	98
R158	11.8.58	290	E	364	345	535	510	420	295	2,08	2,23	3,03	3,09	2,93	4,24	132	131	98	59	63	65
R160	13.8.58	300	E	270	215	530	510	430	340	3,04	3,00	3,27	3,07	2,94	2,96	186	192	135	63	63	61
<b>Moyennes</b>				<b>239</b>	<b>221</b>	<b>402</b>	<b>387</b>	<b>322</b>	<b>250</b>	<b>3,38</b>	<b>2,69</b>	<b>3,09</b>	<b>3,23</b>	<b>3,09</b>	<b>3,19</b>						

TABLEAU 16

Action de la Phloridzine(entre 2 et 3) sur la cholérèse

Doses de Phloridzine: A: 10 mg  
 B: 15 mg  
 C: 20 mg  
 D: 25 mg  
 E:100 mg

N°	Date	P	Débit de bile $\mu$ l/30 min						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
R50	28. 5.57	300	315	338	337	310	245	198	3,37	2,76	2,87	2,96	2,94	2,63	144	125	139	148	168	176
R51	5. 6.57	300	247	265	180	95	50	65	3,28	2,95	2,90	3,13	3,80	3,68	198	151	156	192	231	291
R53	12. 6.57	310	220	255	235	210	135	85	2,93	2,83	3,04	2,88	3,01	3,25	140	153	162	195	234	256
R54	19. 6.57	325	325	335	315	320	250	205	2,59	2,60	2,72	2,98	2,83	2,77	92	86	90	113	145	200
<b>Moyennes</b>			<b>276</b>	<b>298</b>	<b>266</b>	<b>243</b>	<b>170</b>	<b>138</b>	<b>3,04</b>	<b>2,78</b>	<b>2,88</b>	<b>2,98</b>	<b>3,14</b>	<b>3,08</b>	<b>128</b>	<b>128</b>	<b>136</b>	<b>164</b>	<b>194</b>	<b>230</b>

TABLEAU 17

Action de 100 mg d'acétazolamide (entre 2 et 3) sur la cholérèse

D - DISCUSSION DES RESULTATS.

1 - CYANURE DE POTASSIUM.

Le plus grand nombre d'expériences à été réalisé avec des doses de 10 mg de KCN pour 90 ml de perfusat et environ 10 g de foie, ce qui correspond à des concentrations de l'ordre de  $1.10^{-4}$  ou encore  $15.10^{-4}$  M/L/

1° - ACTION SUR LE DEBIT BILIAIRE.

Le cyanure de potassium ( concentration  $1.10^{-4}$  ) réduit de façon très importante la sécrétion biliaire alors que le débit sanguin est non modifié ou accéléré. Cette action est particulièrement nette pendant la première heure suivant le KCN; la sécrétion est alors réduite de 70 pour 100 environ par rapport à l'heure précédent le cyanure, les expériences témoins ne montrant qu'une baisse de l'ordre de 20 pour 100 dans les mêmes délais. La sécrétion remonte ensuite pendant une heure et le 6° échantillon est sensiblement de même valeur que celui des perfusions de référence.

Avec des concentrations de  $5.10^{-5}$  en KCN ( 2 expériences ) les résultats obtenus sont analogues mais moins nets. Avec une concentration de  $15.10^{-4}$  ( exp. du 5.11.1956 ) on obtient en 15 minutes environ l'arrêt total de la sécrétion biliaire mais il se produit en même

temps un oédème considérable du foie ( l'organe augmente de volume à vue d'oeil ) et une réduction très importante du débit sanguin; l'expérience devient ininterprétable.

Sur le vue de ces résultats globaux, il semblait que les doses de cyanure compatibles avec une bonne circulation sanguine pouvaient seulement réduire la cholérèse sans l'annuler. L'interprétation était délicate sinon impossible et on ne pouvait faire la part respective de la sécrétion et de filtration.

Cependant dans 6 expériences nous avons noté le volume de bile formée, de 10 en 10 minutes. Nous avons alors constaté que pendant de courts laps de temps il n'y avait aucune cholérèse = 5 minutes pour R15 et R20, 10 minutes pour R14, R16 et R28, 20 minutes pour R22.

R 28 16.1.1957	Avant	Périodes de 10 minutes après KCN									
	KCN	0 10	10 20	20 30	30 40	40 50	50 60	60 70	70 80	80 90	
Volume de bile µl par 10 min.	68	39	19	10	0	16	21	16	23	28	
Débit sanguin ml par min.	57	67	70	75	80	75	75	75	75	75	

R 14 26.11.1956	Avant	Périodes de 10 minutes après KCN							
	KCN	0 10	10 20	20 30	30 40	40 50	50 60	60 70	70
Volume de bile µl par 10 min/	46	33	5	5	0	34	34	38	
Débit sanguin ml par min.	71	85	85	85	92	92	92	90	

Les deux exemples donnés en détail ci dessus sont très démonstratifs car on observe la diminution progressive de la cholérèse jusqu'à la sécrétion nulle, suivie d'un retour progressif aux valeurs normales.

Il est également évident que pendant le même temps il n'y a aucune réduction du débit sanguin, l'augmentation apparente de ce débit pouvant être considérée comme dans les limites d'erreurs de mesure ( la détermination du débit était faite à cette époque par mesure du temps nécessaire pour que passent à travers le foie 20 ml de perfusats : 85 ml par minute correspond à un temps de passage de 14 secondes, 92 ml à 13 secondes).

### 2° - ACTION SUR L'EXTRAIT SEC.

Que le milieu de perfusion soit ou non additionné de cyanure, on observe une diminution progressive de la teneur de la bile en substances dissoutes, sans différences marquées entre les deux types d'expériences. Il ne semble donc pas que la qualité globale de la bile soit altérée par le cyanure. Il reste toutefois possible que l'adjonction de cyanure entraîne l'élimination de cette substance ( en nature, ou sous forme de thiocyanate, ou sous forme d'un autre dérivé ) ce qui diminue la valeur de ce critère comme test de la fonction biliaire.

### 3° - ACTION SUR LA BILIRUBINE BILIAIRE.

Chez les témoins la concentration biliaire en bilirubine augmente légèrement au fur et à mesure que l'expérience avance, sans doute par suite de l'hémolyse qui se produit progressivement. Les valeurs moyennes sur 5 expériences passent de 161 mg/l ( 1<sup>er</sup> Echantillon ) à 230 mg/l ( 6<sup>ème</sup> Echantillon ). En présence de KCN ( moyennes de 4 déterminations les chiffres correspondant sont 180 et 244 mg/l.

### 4° - ACTION SUR L'ELIMINATION DE LA B.S.P.

Sur les préparations témoins l'élimination du colorant commence

dans la première demi-heure suivant l'adjonction de la B.S.P. au sang. La concentration maximum est trouvée dans l'échantillon de la deuxième demi-heure et peut atteindre 250 à 300 fois la concentration initiale dans le milieu de la perfusion. Le cyanure de potassium à la concentration de  $1.10^{-4}$  permet d'obtenir une courbe d'élimination très superposable mais retardée d'une demi-heure. Dans 2 expériences sur 4 le premier échantillon recueilli après B.S.P. + KCN ne contient pas de B.S.P. tandis que dans les 2 autres cas la concentration dans ce même échantillon est très faible.

Il apparait donc que même lorsque le cyanure agit encore fortement sur le débit biliaire ( 2<sup>ème</sup> échantillon après cyanure) le foie concentre la B.S.P. de façon sensiblement normale. Ce résultat n'est pas en accord avec les observations de HOBBER et TITAJEW ( 1930 ) sur le foie de grenouille; il faut cependant retenir que ces auteurs utilisaient comme perfusat un milieu dépourvu de protéines, ce qui intervient peut-être dans l'élimination de la B.S.P.

Dans une note préliminaire ( BIZARD , VANLERENBERGHE et coll. 1957 ) nous avons considéré que le KCN entraînait un retard dans l'élimination de la B.S.P. On peut en fait se demander s'il ne s'agit pas là uniquement d'un artéfact du au trajet que doit parcourir la bile formée avant d'être recueillie pour le dosage. En effet le cathéter introduit dans le choléogogue à une longueur de 20 cm environ et un diamètre intérieur de 0,5 mm, soit un volume de 40  $\mu$ l. Le volume des voies biliaires intrahépatique n'est pas connu avec précision car il s'agit là d'un réservoir élastique, mais une valeur de 10  $\mu$ l à la pression 0 est un minimum. On arrive ainsi à un " espace mort " de 50  $\mu$ l environ et on s'explique que chez R 33 avec un premier échantillon après B.S.P. - cyanure de 48  $\mu$ l on ne trouve pas de B.S.P. dans la bile,

car tout le trajet mort n'a pas été parcouru par la bile formée depuis l'administration de la B.S.P. On constate d'ailleurs qu'il y a un parallélisme entre le débit biliaire, le délai d'obtention de la B.S.P. et la concentration du colorant ( Tableau 18 ).

N° du rat	Témoins (T) ou cyanure (KCN)	Bile du 1 <sup>er</sup> échantillon après B.S.P. $\mu$ l pour 30 min.	B.S.P. biliaire mg pour 100 g
R 33	KCN	48	0
R 36	KCN	81	traces
R 35	KCN	97	20,3
R 34	KCN	105	58,6
R 30	T	150	110,4
R 95	T	202	192,2
R 29	T	260	185

Tableau 18

Influence du débit biliaire sur le délai d'apparition de la B.S.P. dans la bile.

Nous sommes donc porté à croire que le cyanure ne modifie pas le délai d'apparition et la concentration de la B.S.P. dans la bile.

Cependant si l'on calcule les quantités absolues de B.S.P. éliminées dans le même temps on note une réduction sensible sous l'influence du KCN. Au cours des expériences témoins de 3 heures on retrouve dans la bile 95 pour 100 environ de la B.S.P. ajoutée au perfusé ( valeur moyenne de 6 expériences ). Lorsque la B.S.P. est administrée avec du

KCN on retrouve dans la bile, en 3 heures 1 mg de B.S.P. (R 33), 1,09 (R 35), 1,32 (R 36), 1,57 (R34), soit une proportion de 50 à 80 pour 100 de la B.S.P. injectée (2 mg) avec une valeur moyenne de 62 pour 100. Vu sous l'angle quantitatif le cyanure entraîne donc un retard dans l'élimination du colorant, retard qui est secondaire à la diminution du volume biliaire émis.

5° - CHOLÉRESE PROVOQUÉE PAR LE DEHYDROCHOLATE DE SODIUM.

Lorsque l'on administre simultanément 10 mg de KCN et 2 mg de déhydrocholate de sodium on obtient, sur l'échantillon suivant un résultat intermédiaire entre l'action isolée de l'un ou de l'autre produit. Si l'on prend comme référence ( échantillon 2 ) pour la cholérèse la valeur 1, le déhydrocholate donne 1,6, le KCN 0,3, le mélange déhydrocholate KCN 0,7. Le cyanure n'empêche donc pas une certaine action du déhydrocholate mais on pouvait se demander s'il se produisait une dénaturation partielle du cyanure ou si l'inhibiteur enzymatique était marqué dans un complexe.

Nous avons alors réalisé une seconde série expérimentale au cours de laquelle le cyanure était d'abord ajouté à la préparation; 30 minutes plus tard, alors que la réduction du débit biliaire est à son maximum le déhydrocholate est administré et on obtient alors dans la demi-heure suivante une quantité de bile nettement augmentée = 200 ml ( moyenne de 4 expériences ) alors qu'avec du KCN seul on pouvait s'attendre à 80 ml environ (en se basant sur les moyennes de KCN seul ). Comme cette action cholérétique apparaît à un moment où le cyanure doit être fixé sur la cellule hépatique, il semble que l'on puisse conclure que lorsque le débit biliaire est réduit par le cyanure, le déhydrocholate de sodium possède encore la propriété d'augmenter la

cholérése.

L'arrêt total de la sécrétion biliaire par le KCN est trop fugace pour que l'on puisse essayer l'action du dehydrocholate sur cet état particulier.

En résumé le cyanure de potassium à la dose de 10 mg par perfusion réduit considérablement la cholérése et peut même pendant un court laps de temps supprimer toute formation de bile.

La briéveté de l'action s'explique aisément par la richesse extrême du foie de rat en rhodanèse.

Lorsqu'il y a encore émission de bile, celle ci est de qualité sensiblement normale, ce qui est un argument en faveur d'un mécanisme unique de formation de la bile car il est peu vraisemblable que 2 mécanismes, totalement différents ( filtration et sécrétion) donnent 2 biles identiques.

Enfin, même lorsque la cellule hépatique est très déprimée par le cyanure, le pouvoir de concentration de la B.S.P. et la réponse au dehydrocholate de sodium sont conservés.

#### FLUORURE DE SODIUM.

##### 1 - ACTION SUR LE DEBIT BILIAIRE.

Le fluorure de sodium a été utilisé dans 11 perfusions aux doses de 4 à 7,5 mg pour 90 ml de perfusat c'est-à-dire à des concentrations comprises entre 4 et  $7,5 \cdot 10^{-5}$ .

Sur le tableau récapitulatif général il apparait que Na F entraîne une petite diminution du débit biliaire, surtout dans les 5° et 6° échantillon; la différence entre témoins et action du Na F n'est que

de 10 pour 100 environ et ne doit pas être retenue comme valable.

Nous avons toutefois constaté que dans la quasi totalité des expériences avec Na F il se produit une réduction notable du débit sanguin transhépatique. Nous avons pensé que le rapprochement des débits sanguins et biliaires des témoins et des expériences avec fluorure était nécessaire. ( Tableau 19 ).

On peut noter que la réduction de la cholérèse se produit en même temps que le ralentissement du débit sanguin transhépatique mais que ce débit reste quand même supérieur à 30 ml par minute. En se basant sur les données de BRAUER, LEONG et HOLLOWAY ( 1954 ) analysées plus haut, on peut admettre que ce débit est suffisant pour permettre une fonction biliaire normale; il s'en déduirait que le Na F réduit la cholérèse par action directe sur le parenchyme hépatique et non pas par l'intermédiaire de la circulation.

Il nous semble qu'une telle conclusion est imprudente parce que la diminution de la cholérèse est modeste alors que la réduction du débit sanguin est importante. A notre avis l'interprétation des valeurs moyennes des résultats obtenus avec le fluorure de sodium est impossible.

Notons en outre que nous n'avons jamais constaté dans cette série expérimentale d'arrêt temporaire de la sécrétion biliaire. Il est cependant une observation particulière, celle du R 45 ( 20.3.1957 ) qui mérite d'être rapportée.

	TEMOINS(moy de 10 exp)				NaF(moy. de 11 exp.)			
	BILE		SANG		BILE		Sang	
	µl/min	V.R.	ml/min	V.R.	µl/min	V.R.	ml/min	V.R.
1	166	91	30	79	176	84	38	73
2	183	100	38	100	210	100	52	100
					Fluorure de sodium			
3	172	94	41	108	188	90	54	104
4	132	72	41	108	122	58	37	71
5	104	57	40	105	74	35	35	67
6	90	49	39	103	55	26	31	60

Tableau 19

Action du fluorure de sodium(4 à 7,5 mg) sur la cholérèse et le débit sanguin(comparaison avec la série témoin).

V.R. : valeur relative par rapport à l'échantillon N° 2 fixé arbitrairement à 100 dans chaque série de chiffres.

R 45 20.3.1957	N° des échantillons					
	1	2	3	4	5	6
Bile µl/min	102	105	44	13	0	0
Débit sanguin ml/min	48	50	50	45	43	39

Il semble donc qu'exceptionnellement le fluorure(5 mg) puisse entraîner l'arrêt de la sécrétion sans modifier de façon notable le

débit sanguin : c'est ce qui se passe en particulier lors de l'échantillon N° 5.

Deux essais ont été faits avec des doses plus élevées de fluorure ( 20 mg R 41 = 100 mg R 39 ). Dans les deux cas il s'est produit en quelques minutes un arrêt de la circulation sanguine sans oédème hépatique. A l'opposé une dose de 2 mg de Na F ( R 42 ) ne donne aucune modification, ni de la cholérése, ni du débit sanguin.

## 2 - QUALITE DE LA BILE.

La diminution progressive de la valeur de l'extrait et l'élévation lente de la bilirubine biliaire sont analogues aux variations observées chez les témoins. Si l'on admet une action du fluorure sur le volume biliaire, on constate donc que la bile émise dans ces conditions est de qualité normale.

## 3 - ELIMINATION DE LA B.S.P.

L'analyse du tableau 11 montre nettement que le fluorure de sodium ne modifie pas la puissance de concentration de la cellule hépatique. En ce qui concerne le délai d'apparition du colorant dans la bile on retrouve les données exposées à propos de l'action du cyanure = la B.S.P. apparait tardivement lorsque le débit biliaire est faible.

En résumé, l'action du fluorure de sodium sur la fonction biliaire du foie de rat perfusé est nulle ou tout au moins très limitée. Il nous semble que cet effet peut s'expliquer par le fait que les doses de Na F mises en jeu sont trop faibles. Il faut de plus tenir compte du fait que ce fluorure doit réagir sur les sels de calcium du perfusé

pour donner du fluorure de calcium insoluble et qui ne peut pas agir sur le foie. Il est d'ailleurs possible que les arrêts circulatoires par doses fortes de fluorure soient dus à des obstructions capillaires par ce fluorure de calcium.

### MERALLURIDE.

#### 1 - QUANTITE DE BILE.

Dans 9 expériences la méréalluride a été utilisée à une dose supérieure à 15 mg pour une perfusion ( soit plus de 4,5 mg de Hg par 100 g ). Toutes les fois que la formation de la bile était réduite ce phénomène était contemporain d'un ralentissement important du débit sanguin : c'est le cas par exemple du R 85 ou le débit transhépatique est passé de 39 ml/min à 20 ml/min alors que la sécrétion biliaire se tarissait. Par contre dans les 2 expériences où la méréalluride n'a pas perturbé la circulation sanguine de façon marquée ( R 59 ou le débit passe de 71 à 55 ml/min, R 74 = de 67 à 58 ml/min ) il ne s'est pas produit de réduction de la cholérése ( par rapport à l'évolution des témoins ). Ces 9 expériences sont donc inutilisables dans l'ordre enzymatique, car il semble bien qu'il existe là une relation de cause à effet entre la diminution du débit sanguin et la réduction de la cholérése.

Les doses de méréalluride comprises entre 5 et 10 mg ( soit 1,5 à 3 mg de mercure pour 100 g ) sont beaucoup mieux tolérées sur le plan circulatoire et n'entraînent qu'une réduction légère du débit sanguin ( de l'ordre de 10 pour 100 ) On observe alors une évolution des débits biliaires très superposable à celle des perfusions témoins.

2 - QUALITE DE LA BILE ET ELIMINATION DE LA B.S.P.

La bile émise sous l'action de la méréalluride est de qualité normale du point de vue de l'extrait sec et de la teneur en bilirubine. L'élimination de la B.S.P. n'est pas perturbée, le délai d'apparition et la concentration du colorant dans la bile sont normaux.

3 - ACTION SUR LA CHOLERESE PROVOQUEE PAR LE DEHYDROCHOLATE DE SODIUM.

5 mg de méréalluride n'empêchent pas le dehydrocholate de sodium de déclancher une augmentation de la cholérèse analogue à celle que l'on observe chez les témoins ( + 60 pour 100 environ ). Par contre les échantillons 4 - 5 - 6 ont des valeurs moindres en présence de méréalluride que chez les témoins. La différence est surtout nette pour l'échantillon N° 4 et plus particulièrement dans l'expérience R 97 ( 50 ml alors qu'on pouvait s'attendre à environ 200 ml débit sanguin non modifié ).

Si l'on excepte cette action partielle de la méréalluride sur la cholérèse provoquée par le dehydrocholate de sodium -- action inexplicable dans l'état actuel de nos connaissances -- on est amené à rejeter toute l'influence de ce mercuriel sur la fonction biléaire. Le comportement différent du foie et du rein vis à vis de cette substance peut s'expliquer assez aisément.

a) Si l'on tient compte des concentrations de méréalluride, les doses que nous avons utilisé sont suffisantes pour donner l'inhibition de la succino déhydrogénase. En effet WACHSTEIN, TELKKA utilisent sur l'animal intact 10 à 30 mg de mercure ( sous forme combinée ) par kilog; avec 5 à 10 mg de méréalluride pour 100 g de perfusat et foie

nous sommes au dessus des limites d'activité.

b) Mais dans l'ordre de l'inhibition enzymatique il est abusif de raisonner seulement en concentration. IN vitro, les pourcentages d'inhibition sont toujours définis en précisant la quantité d'enzyme mis en jeu et le choix de la prise d'essai est un élément important dans le dosage de l'activité diastasique. L'étude du rapport quantité d'enzyme ( ou organe ) - quantité totale d'inhibiteur est d'autant plus intéressant, dans le cas de la méréalluride, que le mercure est en presque totalité bloqué au niveau du rein de l'animal intact. 10 à 30 mg de mercure par kg représentent 2,5 à 7,5 mg de Hg pour un rat de poids moyen soit 8 à 25 mg de méréalluride qui se fixent dans les reins, dont le poids est inférieur à 8 g. On a ainsi au niveau de ce parenchyme une teneur en inhibiteur de 1 à 3 mg par g.

Si dans nos perfusions de foie toute la méréalluride ( 5 à 10 mg ) est bloquée par le foie ( 10 g ) on a seulement un rapport inhibiteur tissu de 0,5 à 1 mg par g. De plus il est quasi certains que le foie ne fixe pas la méréalluride de façon élective comme le fait le rein. Chez l'animal entier WACHSTEIN et MEISEL ont observé, avec 10 mg de Hg par kg ( sous forme de méréalluride -- sel de sodium ) des lésions de nécrose rénale analogues à celles obtenue dans l'intoxication par le chlorure mercurique. Les examens histo pathologiques des foies perfusés en présence de méréalluride, montrent des aspects sensiblement normaux et aucune lésion de nécrose cellulaire n'a pu être observé. De plus la recherche histo chimique du mercure par la technique de MUZZA et LOMBARDO ( coloration au chlorure stanneux d'après HILSON 1953 ) s'est avéré négative au niveau des cellules hépatiques et des cellules de KUPFFER du foie perfusé avec la méréalluride.

Il semble donc que l'action de la m ralluride sur la succino deshydrogénase rénale se fait parce que le rein est la voie d'élimination majeure du mercure. Le foie qui ne capte pas ce métal échappe à l'action de l'inhibiteur, par suite d'une concentration trop faible au niveau de l'organe.

### ACIDE MONOIODACETIQUE.

#### 1 - ACTION SUR LE DÉBIT BILIAIRE.

2 expériences ont été réalisées avec des doses de 10 mg d'acide monoiodacétique. Dans les deux cas il n'y a eu aucune modification du débit sanguin transhépatique mais par contre on observe une certaine réduction de la chol r se qui apparait dans les échantillons 5 et 6 c'est à dire 1 heure après l'administration du produit.

Dans les 3 expériences avec 12,5 mg d'acide monoiodacétique on voit apparaitre un phénomène nouveau = l'échantillon 3 ( juste après l'acide ) est plus important que les précédents ce qui traduit une action cholérétique. Les échantillons suivants sont inférieurs à la normale, mais il se produit en même temps une réduction du débit sanguin.

Avec 15 mg d'acide monoiodacétique, les effets sont analogues à ceux observés avec 12,5 mg, mais plus marqués tandis que la perturbation circulatoire est du même ordre de grandeur. Des 5 expériences menées dans ces conditions on peut tirer les conclusions suivantes:

a) L'acide monoiodacétique est cholérétique. Cette action cholérétique est trouvée dans 4 expériences sur 5; elle peut doubler le volume de bile( R 137 et R 142 )  mise dans les 30 minutes suivant l'administration du produit. En valeur moyenne l'augmentation de la chol r se est de 75 pour 100 par rapport à l'échantillon N 2 (86 pour

100 si l'on se réfère à la valeur que devrait avoir l'échantillon 3; en se basant sur la série témoin ). L'effet fugace, est toujours limité à un échantillon de 30 minutes et se marque principalement dans les 20 premières minutes de l'échantillon N° 3. Cette action cholérétique n'est pas un fait surprenant car CHAZBROL, CHARONNAT, MAXIMIN et WAITZ ( 1931 ) avaient montré que, chez le chien, l'acide monochloracétique ( et le trichloracétique ) est capable de doubler la cholérése.

b)- Dans un deuxième temps l'acide monoiodacétique entraîne une diminution très importante de la cholérése en même temps que se produit une réduction du débit sanguin transhépatique. Le rapprochement des débits sanguin et biliaire ( en valeur absolue et en valeur relative ) des témoins et des expériences avec acide monoiodacétique est utile à l'interprétation des résultats obtenus ( Tableau 20 ).

Dans l'échantillon N° 4 les débits sanguins sont égaux dans les 2 cas et la cholérése est réduite de 25 pour 100 environ par l'acide monoiodacétique.

Dans l'échantillon N° 5 la cholérése est 6 fois moins importante alors que le débit sanguin , inférieur de 3 pour 100 seulement à celui des témoins, reste largement supérieur au 30 ml par minute indiqués par BRAUER et coll.

Enfin la cholérése est totalement bloquée au cours de l'échantillon N° 6 avec un débit sanguin de 49 ml/min qui correspond en valeur relative à 83 pour 100 du débit transhépatique des témoins.

Les résultats obtenus apparaissent encore plus nets lorsque l'on se reporte au tableau 19 donnant l'évolution des phénomènes en présence du fluorure de sodium = un débit sanguin diminué de 40 pour 100

1	Témoins (moy de 10 exp)				Ac. monoïodacétique (moy de 5 exp.)			
	Bile		Débit sanguin		Bile		Débit sanguin	
	µl/30min	V.R.	ml/min	V.R.	µl/30min	V.R.	ml/min	V.R.
1	166	91	30	79	190	95	56	95
2	183	100	38	100	201	100	59	100
					Ac. monoïodacétique			
3	172	94	41	108	350	175	68	115
4	132	72	41	108	107	53	64	108
5	104	57	40	105	19	9	60	102
6	90	49	39	103	0	0	49	83

Tableau 20

Action de l'acide monoïodacétique ( 15 mg ) sur la cholérèse et le débit sanguin ( comparaison avec la série témoin ).

V.R. = Valeur relative par rapport à l'échantillon N° 2 fixé arbitrairement à 100 dans chaque série de chiffres.

laisse persister un échantillon N° 6 égal à 26 pour 100 de la valeur de référence. Il est donc quasi certain que l'arrêt de la sécrétion biliaire sous l'influence de l'acide monoïodacétique n'est pas sous la dépendance de la réduction de la circulation.

L'acide monoïodacétique semble se fixer solidement sur le parenchyme hépatique. Le 18 Juin 1958 ( R 142 ) nous avons totalement remplacé le perfusé contenant l'acide par un perfusé neuf, avec un rinçage préalable de l'appareil et des vaisseaux par un milieu de perfusion identique au mélange habituel mais privé de sang. Cette manoeuvre n'a

pas permis de rétablir une fonction biliaire satisfaisante.

## 2 - ACTION SUR LA QUALITE DE LA BILE

Nous ne disposons que de renseignements fragmentaires car les quantités de bile sont souvent trop faibles pour doser les substances dissoutes et la bilirubine.

Les valeurs moyennes indiquées sur le tableau 15 n'ont de ce fait qu'une valeur indicatrice et il est plus intéressant d'examiner ce qui se passe dans chaque expérience. L'extrait sec est peu perturbé mais il est possible qu'un dérivé de l'acide monoiodacétique soit excrété dans la bile, ce qui retire toute valeur à ce test. En ce qui concerne la bilirubine on note que les échantillons 4 et 5 sont toujours moins riches que l'échantillon 2 alors que chez les témoins il se produit une élévation progressive de la bilirubine biliaire.

L'élimination biliaire de la B.S.P. n'a pas été recherchée. La réduction considérable du débit biliaire ne permettait pas d'espérer la récupération du colorant en raison des espaces morts (voir la discussion dans le paragraphe cyanure de potassium).

## 3 - ACTION SUR LA CHOLERESE PROVOQUEE PAR LE DEHYDROCHOLATE DE Na

Nous avons essayé à 2 reprises l'action du déhydrocholate, une fois avec 2 mg(R144), une fois avec 4 mg(R145). Dans les 2 cas l'effet a été nul, l'échantillon suivant ce produit étant égal à 0.

En résumé l'acide monoiodacétique agit sur la fonction biliaire. Après avoir déclenché une augmentation de la cholérèse il entraîne une réduction de la formation de la bile jusqu'à l'arrêt total de la sécrétion. Lorsque la sécrétion est réduite la bile est moins riche que normalement en bilirubine.

PHLORIDZINE

1 - ACTION SUR LE DEBIT BILIAIRE

9 expériences ont été réalisées avec des doses de Phloridzine comprises entre 10 et 100 mg pour 90 ml de perfusat.

Dans tous les cas le débit biliaire augmente de façon notable et dans certaines expériences l'échantillon N° 3 est sensiblement le double du précédent. Toutefois il est à noter qu'il n'existe pas de relation entre l'activité cholérétique de la phloridzine et les doses utilisées: les doses faibles (15 mg) sont pratiquement aussi actives que la dose forte (100 mg); ceci est vraisemblablement dû au fait que les quantités de Phloridzine mises en oeuvre sont telles que le foie perfusé travaille à la limite de ses possibilités.

L'action cholérétique du produit se manifeste précocément, dans les 10 premières minutes suivant l'adjonction de la phloridzine au perfusat. L'élévation de la cholérèse qui est maximum dans les 30 minutes après phloridzine se poursuit jusqu'à la fin de l'expérience; l'échantillon N° 6 vaut 113 p.100 du N° 2 (pris comme référence) alors que chez les témoins il n'était que de 49 p.100.

Enfin, nous avons remarqué que la phloridzine, même aux plus fortes doses, ne perturbait pas la circulation sanguine trans-hépatique. Dans toutes nos expériences le débit sanguin est extrêmement stable avec à peine une légère augmentation juste après l'administration du produit.

2 - ACTION SUR LA QUALITE DE LA BILE

Extrait sec

L'extrait sec ne diminue pas progressivement comme dans la série témoin et tend, au contraire, à se stabiliser à un niveau supérieur

à la normale. Il est vraisemblable qu'il s'agit là d'une élimination biliaire de la phloridzine; cette hypothèse n'a pu être vérifiée par suite de l'impossibilité de dosage du glucoside dans d'aussi faibles quantités de bile.

### Bilirubine

C'est dans le domaine de la bilirubine biliaire que la phloridzine donne des résultats les plus surprenants. Nous avons en effet constaté, dès les premières perfusions avec 15 mg, que la bile émise subissait une décoloration transitoire. Le dosage spectrophotométrique montrait un effondrement de la teneur en bilirubine. Les résultats sur des échantillons globaux de 30 minutes n'étaient pas très nets car la décoloration durait 30 minutes environ: dernier tiers de l'échantillon N° 3 et deux premiers tiers de l'échantillon N° 4. La recoloration progressive se produit ensuite et l'échantillon N° 6 est sensiblement normal.

Les expériences suivantes ont été faites avec fractionnement de chaque échantillon en 3 parties de 10 minutes. Chaque sous-échantillon a été étudié du point de vue bilirubine et les chiffres fournis dans le tableau 16 proviennent du regroupement de ces sous-échantillons 3 par 3.

Avec 20 mg de Phloridzine les résultats sont analogues à ceux obtenus avec 15 mg mais la chute du taux de la bilirubine biliaire est un peu plus prolongée (1 heure environ). La figure 7 montre l'évolution du phénomène dans le temps.

Enfin avec 100 mg de phloridzine la décoloration de la bile se fait dans les mêmes délais que précédemment mais cette décoloration se prolonge jusqu'à la fin de l'expérience.

Remarquons que la bile obtenue sous phloridzine n'est jamais

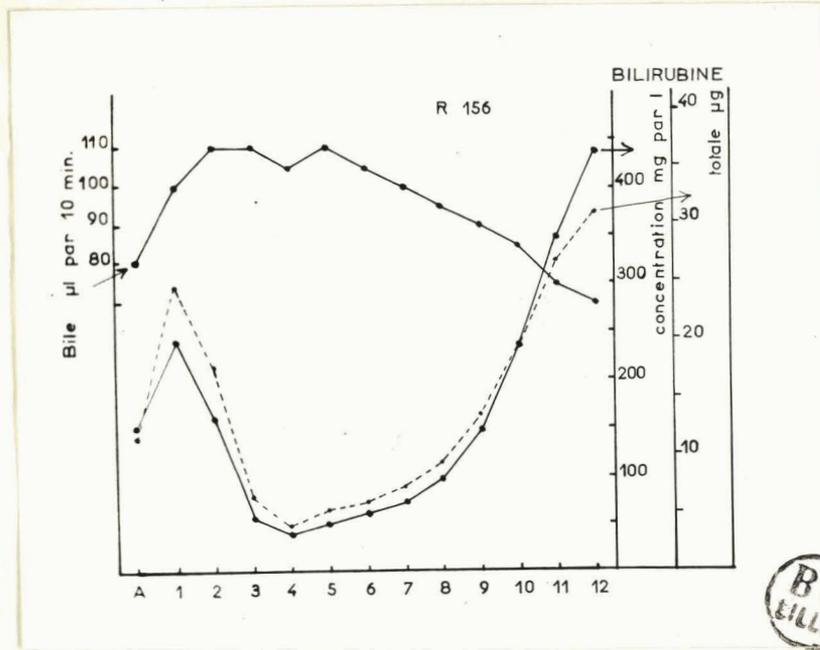


Figure 7 - R156 du 6.8.1958 - Phloridzine 20 mg

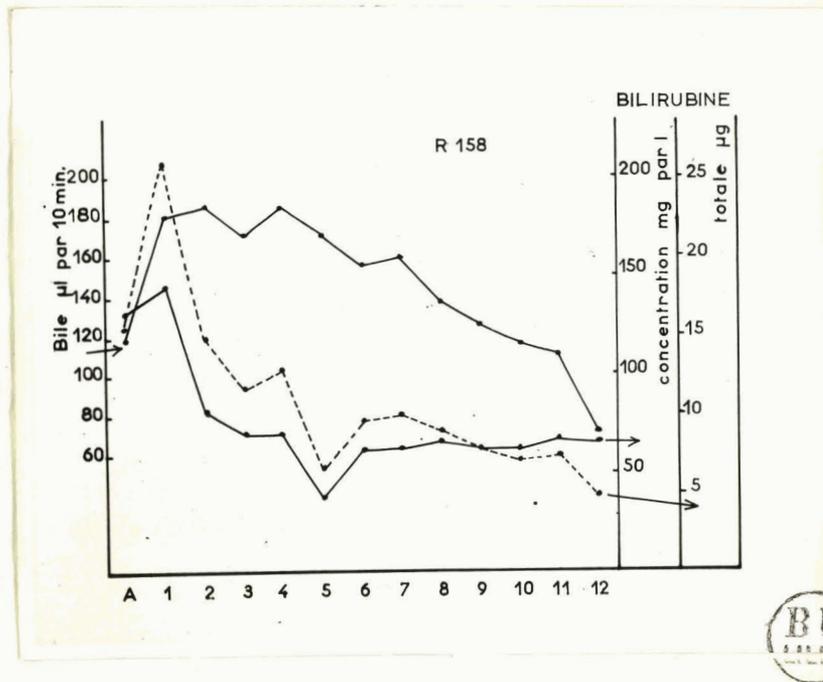


Figure 8 - R158 du 11.8.1958 - Phloridzine 100 mg

Légende des figures 7 et 8

- A - Valeurs moyennes pour 10 minutes de l'heure précédant la Phloridzine
- 1 à 12 - N° des sous échantillons de 10 minutes après Phloridzine

incolore et que la teneur en bilirubine se stabilise autour de 60 mg par litre après être descendue jusqu'à 40 mg/l environ.

L'appauvrissement de la bile en bilirubine pouvait être la conséquence de l'augmentation du volume de la bile émise. Aussi était-il nécessaire de déterminer l'évolution du débit de bilirubine (volume de bile x concentration de la bilirubine); les résultats obtenus pour chaque sous-échantillon sont très démonstratifs et objectivent une diminution considérable de la quantité de bilirubine excrétée (voir à titre d'exemples les figures 7 et 8).

La phloridzine se comporte donc de façon très différente des cholérétiques connus. Les sels biliaires, par exemple, entraînent à la fois une augmentation du débit biliaire et une diminution plus ou moins marquée du taux de la bilirubine biliaire; mais l'augmentation du débit compense largement la dilution et au total l'excrétion de la bilirubine est au moins égale à la normale.

Nous sommes donc amenés à penser que la phloridzine agit de façon originale sur la formation hépatique de la bilirubine. Il n'est guère possible de tirer des conclusions des faits que nous avons observés. En effet nos connaissances sur la gènèse hépatique des pigments biliaires sont très limitées; le point de départ est très certainement l'hémoglobine et quelques termes de passage sont connus mais le mécanisme intime de la transformation n'est pas précisé et en particulier aucun facteur enzymatique n'a été envisagé comme intervenant dans les différentes réactions de dégradation. La phloridzine inhibe les phénomènes de phosphorylation et de déphosphorylation ce qui permet d'envisager le rôle des phosphorylases dans la formation des pigments biliaires; il peut s'agir d'une intervention directe mais aucune hypothèse biochimique n'a jusqu'ici fait appel

au phosphore pour expliquer la dégradation de l'hémoglobine; ou bien la phloridzine en empêchant l'utilisation du glucose priverait le foie de sa source principale d'énergie chimique.

Il est également possible que le spectre d'action de la phloridzine soit nettement plus large que celui décrit actuellement et intéresse un enzyme encore non connu comme intervenant dans la genèse des pigments biliaires.

Nous n'avons pas essayé l'action simultanée de déhydrocholate de sodium et de la phloridzine, étant donné que ce dernier corps est cholérétique et semble, aux doses que nous utilisons, faire travailler le foie à la limite de ses possibilités.

#### ACETAZOLAMIDE

Sur le foie de rat perfusé, l'acétazolamide (100 mg pour 90 ml de perfusat) est sans influence sur la formation de la bile, que l'on interroge le volume émis, la teneur en substances dissoutes ou le taux de bilirubine.

L'action de l'acétazolamide sur les sécrétions gastriques et pancréatique, mise en évidence sur l'animal intact, s'oppose au résultat négatif obtenu sur la fonction biliaire du foie perfusé. On pouvait se demander si une modification de la molécule de l'acétazolamide se produisait dans un tissu extra-hépatique, en donnant naissance à une substance active. Pour étudier ce problème nous avons recherché l'action de l'acétazolamide sur la cholérèse du rat intact anesthésié au mébubarbital (39 mg par kg-voie intra-péritonéale) avec fistule biliaire extemporanée.

Le tableau 21 donne les résultats obtenus dans 4 expériences et permet la comparaison avec les valeurs obtenues chez les témoins. De

N°	Date	P	Débit de bile µl/30 min						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre						
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	
G15	5. 4.57	210	A	456	481	475	505	456	432	4,19	3,58	2,77	2,75	2,91	2,82	145	150	196	204	226	262
G18	17. 4.57	230	B	386	413	425	428	399	375	3,40	2,84	2,46	2,37	2,51	2,36	166	178	204	240	226	252
G19	18. 4.57	240	C	443	428	444	488	458	388	4,23	4,00	2,75	2,72	2,69	2,62	214	212	216	200	214	208
G20	19. 4.57	200	C	246	252	265	279	294	242	4,93	4,32	3,74	3,66	2,76	2,93	214	236	230	240	252	270
<b>Moyennes des 4 exp.</b>				<b>382</b>	<b>393</b>	<b>402</b>	<b>425</b>	<b>401</b>	<b>359</b>	<b>4,26</b>	<b>3,68</b>	<b>2,93</b>	<b>2,61</b>	<b>2,94</b>	<b>2,61</b>	<b>184</b>	<b>194</b>	<b>211</b>	<b>214</b>	<b>226</b>	<b>243</b>
<b>Moyennes de 7 exp. TEMOINS</b>				<b>343</b>	<b>326</b>	<b>325</b>	<b>339</b>	<b>307</b>	<b>307</b>	<b>3,63</b>	<b>3,14</b>	<b>2,83</b>	<b>2,66</b>	<b>2,57</b>	<b>2,54</b>	<b>187</b>	<b>170</b>	<b>193</b>	<b>194</b>	<b>189</b>	<b>203</b>

TABEAU 21

Animal entier

Action de l'acétazolamide ( entre 2 et 3) sur la cholérèse, avec référence à la série témoin.

Doses d'acétazolamide A: 50 mg par kg  
 B: 100 mg par kg  
 C: 100 mg par kg

N°	Date	P	Débit de bile µl/30 min						Extrait sec g/100 ml						Bilirubine mg/litre						
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	
G28	31. 5.57	220	A	504	488	834	548	461	492	5,13	4,33	4,00	3,53	3,21	2,90	128	144	138	236	246	296
G30	14. 6.57	220	A	397	329	766	458	424	405	3,58	3,36	3,01	3,78	2,73	2,62	148	148	138	176	192	228
G31	20. 6.57	250	A	355	359	818	444	436	450	4,30	4,17	4,02	3,41	3,23	3,14	260	270	186	218	216	249
<b>Moyennes de A</b>				<b>419</b>	<b>392</b>	<b>806</b>	<b>483</b>	<b>440</b>	<b>449</b>	<b>3,25</b>	<b>3,95</b>	<b>3,68</b>	<b>3,24</b>	<b>3,06</b>	<b>2,89</b>	<b>179</b>	<b>187</b>	<b>154</b>	<b>210</b>	<b>218</b>	<b>258</b>
G26	24. 5.57	220		358	372	825	458	396	375	3,93	3,53	3,29	2,83	2,49	2,43	181	192	170	240	276	316
G27	28. 5.57	220		493	515	986	541	408	388	3,91	3,63	3,58	2,71	2,52	2,87	136	136	124	244	268	358
G32	22. 6.57	250		407	397	856	478	428	417	4,27	3,60	3,23	3,01	2,82	2,87	194	182	150	228	254	266
<b>Moyennes</b>				<b>419</b>	<b>428</b>	<b>889</b>	<b>492</b>	<b>413</b>	<b>393</b>	<b>4,04</b>	<b>3,59</b>	<b>3,37</b>	<b>2,85</b>	<b>2,61</b>	<b>2,72</b>	<b>170</b>	<b>170</b>	<b>148</b>	<b>237</b>	<b>266</b>	<b>313</b>

TABLEAU 22

Animal entier

Cholérèse provoquée par le déhydrocholate de sodium(50 mg/kg-i.v.) seul, ou en présence d'acétazolamide(A:200 mg/kg-i.v.). Injection simultanée des produits entre 2 et 3

N°	Date	P		Débit de bile $\mu\text{l}/30 \text{ min}$						B.S.P. mg/100 ml				
				1	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6
G16	12. 4.57	240	A	450	470	512	518	514	515	170	6			
G17	23.4. 57	240	A	425	472	425	444	504	457	146	20	6		
G21	24. 4.57	230	B	377	488	411	355	370	349	192	9			
G22	30. 4.57	200	B	417	416	421	413	415	381	158	13			
G10	31. 1.57	180		205	205	237	279	237	252	170	54	11		
G11	9. 2.57	200		375	335	335	354	337	323	163	42	15	7	7
G12	15. 2.57	180		342	245	226	215	193	205	93	11	11	6	
G13	21. 2.57	200		313	354	407	391	322	255	174	21			

TABLEAU 23

Animal entier

Elimination de la B.S.P.(1 mg pour un rat) chez les témoins et en présence d'acétazolamide.

Doses d'acétazolamide: A: 50 mg/kg

B:200 mg/kg

toute évidence des doses d'acétazolamide comprises en 50 et 200 mg par kg ( voie intraveineuse ) n'altèrent pas la cholérèse spontanée du rat, tant du point de vue volume que du point de vue qualité de la bile.

Chez l'animal entier nous avons également étudié l'influence de l'acétazolamide sur la cholérèse provoquée par le déhydrocholate de sodium à raison de 50 mg par Kg ( voie intraveineuse ). Pour cela 3 rats ont reçu le dehydrocholate seul et 3 autres un mélange de dehydrocholate de Na et de 200 mg par Kg d'acétazolamide. Dans les 2 cas l'action maximum du déhydrocholate se marque dans le premier échantillon suivant l'injection et l'augmentation du débit biliaire est d'environ 100 pour 100. ( Tableau 22 ).

Enfin l'élimination biliaire de la Brome sulfone phtaléine a été recherché sur l'animal intact qui recevait soit la B S P seule, ( 1 mg pour un rat - voie intraveineuse ), soit un mélange de B S P et d'acétazolamide ( 50 à 200 mg par Kg ). En présence d'acétazolamide l'excrétion de la B S P se fait dans les délais habituels et le colorant est concentré normalement dans la bile ( Tableau 23 ).

En résumé l'acétazolamide, à la dose de 200 mg par Kg, chez le rat entier, est <sup>in</sup>capable de modifier la cholérèse, alors que des doses 3 fois moindre réduisent notablement les sécrétions gastriques et pancréatique de l'homme et du chien. En perfusion à des doses de 100 mg pour 90 ml de perfusat et environ 10 g de foie, c'est à dire sensiblement 1.000 mg par kg ne troublent pas la formation de la bile.

CONCLUSIONS.

## A - EQUIPEMENT ENZYMATIQUE DU FOIE PERFUSE

Après avoir perfusé pendant 90 minutes un foie de rat, on trouve dans cet organe des taux physiologiques d'aldolase, de glucose 6-phosphatase, de fructose 1-6 diphosphatase, de succinodeshydrogénase et de cytochrome-oxydase. Par contre l' $\alpha$ amylase est moins abondante que dans le foie provenant d'un animal qui vient d'être sacrifié.

Si nous avons trouvé une diminution homogène de l'activité enzymatique du foie perfusé par rapport à celle du foie "normal", nous aurions été tenté d'en faire la cause de la dépression de la fonction biliaire du foie perfusé. Etant donné que nous n'avons observé qu'une altération de l'activité  $\alpha$  amylasique nous ne pouvons pas conclure dans ce sens, d'autant plus que nous ne possédons aucune indication sur les quantités de cet enzyme nécessaires au fonctionnement normal de l'organe.

on peut seulement dire que le foie perfusé conserve de larges possibilités métaboliques, en particulier dans le domaine des glucides. Il nous semble que le problème pourrait être plus facilement résolu si l'on arrivait à comparer le métabolisme ( par l'étude de la consommation d'oxygène et du quotient respiratoire) du foie en place et celui du foie perfusé.

## B - CHOLERESE ET INHIBITEURS ENZYMATIQUES

1 - Les phénomènes de respiration cellulaire sont indispensables à la formation normale de la bile puisque le cyanure de potassium réduit la cholérèse spontanée du foie perfusé. Les résultats que

nous avons obtenus apportent une preuve nouvelle de l'existence d'une sécrétion active de la bile.

DE plus le cyanure de potassium permet de supprimer pendant un court laps de temps la cholérèse. Il s'agit là d'un fait qui n'avait pas encore été observé puisque, jusqu'à présent, aucune agression expérimentale n'avait annulé la cholérèse. Ce résultat est en faveur d'une prédominance du mécanisme sécrétoire sur le phénomène de filtration. On ne peut pas nier cependant l'existence d'une filtration car il est possible que le cyanure de potassium entraîne une dilatation paralytique des canaux biliaires comme il détermine un relâchement de la musculature intestinale. Dans ce cas la bile qui continuerait d'être formée en quantité très réduite s'accumulerait dans le tractus biliaire.

2 - La sécrétion biliaire, processus actif, puise au moins une partie de son énergie dans la dégradation du glucose.

Les effets nuls du fluorure de sodium et de la mériuride ne peuvent donner lieu à aucune déduction car il est apparu dans la discussion que ces produits n'ont pu être utilisés qu'à des doses trop faibles.

L'acide monoiodacétique réduit de façon nette la cholérèse mais en perturbant quelque peu la circulation sanguine trans-hépatique. Son action sur le parenchyme glandulaire; qui présente des analogies avec son influence sur la contractilité musculaire, permet de dire que les phénomènes de glycolyse et donc le métabolisme glucidique conditionnent, au moins partiellement, la sécrétion biliaire.

3 - Les résultats négatifs obtenus avec l'acétazolamide (à doses

très élevées) conduisent à affirmer que l'anhydrase carbonique ne joue aucun rôle dans la sécrétion biliaire, alors qu'elle intervient nettement dans la formation des sucs gastrique et pancréatique.

4 - L'effet de la phloridzine sur la cholérèse est très curieux puisque touchant uniquement l'excrétion de la bilirubine. Il s'en déduit que les enzymes inhibés par la phloridzine (principalement les phosphorylases) conditionnent des réactions qui interviennent dans l'élimination de la bilirubine, réactions qui ne joueraient pas pour la formation de la phase liquide.

Il est donc vraisemblable que deux mécanismes sécrétoires relativement indépendants, formant l'un le liquide, l'autre la bilirubine, coexistent.

L'action cholérétique de la phloridzine s'explique difficilement. Il pourrait s'agir de l'inhibition d'un processus de résorption mais cette hypothèse ne peut être valablement défendue sur ce seul résultat, d'autant plus que l'on sait que la propriété cholérétique est très répandue et inexpliquée.

En résumé nous pensons avoir apporté dans ce travail quelques arguments en faveur d'une prédominance du facteur sécrétoire dans la formation de la bile. La sécrétion dépend de la respiration cellulaire et du métabolisme glucidique et pourrait comporter deux voies différentes, une pour la phase liquide et l'autre pour la bilirubine.

Des conclusions plus précises ne pourront être tirées que lorsque l'on aura découvert des inhibiteurs enzymatiques agissant de façons variées sur le volume et la composition de la bile.

Il serait souhaitable de pouvoir compléter ces études par la détermination de plusieurs constituants de la bile, en particulier les sels biliaires et les sels minéraux; on se heurte dans cet ordre d'idées à des difficultés majeures dues au manque de micro-méthodes adaptables aux faibles quantités de bile émises par le foie de rat perfusé.

ANNEXE

DESCRIPTION DU ROTAMETRE ELECTRIQUE

Nous nous sommes inspirés des modèles décrits par SHIPLEY et WILSON, BELL, BRAUER, pour réaliser un appareil particulièrement simple.

Dans tous les rotamètres connus le flotteur possède une queue en métal magnétique que le flot sanguin déplace dans l'axe de bobinages. On peut ainsi, soit faire varier le couplage entre 2 bobines ce qui réalise un transformateur variable, soit considérer les bobines comme des selfs et faire varier l'impédance de l'une d'entre elles.

I - PARTIE MECANIQUE ET BOBINAGE.

L'exécution est faite en Plexiglass selon la figure 9. Plus la pente du cone est forte et moins l'excursion du flotteur est grande. Avec une pente de 2 pour 100 (obtenue avec un alésoir à goupilles standard) le débit maximum est de l'ordre de 100 ml par minute. La limite supérieure d'utilisation peut être reculée en allongeant le cone sans modifier la pente.

II - Partie ELECTRONIQUE

Le rotamètre constitue la branche variable d'un pont de mesure de selfs. Un bobinage identique placé sur le chassis sert d'étalon tandis que les 2 dernières branches sont représentées par des résistances. Le pont est alimenté par un générateur 15.000 périodes sous 15 volts maximum.

Le déséquilibre du pont dû à l'ascension du flotteur est mesuré par un voltmètre électronique: redressement par la moitié d'

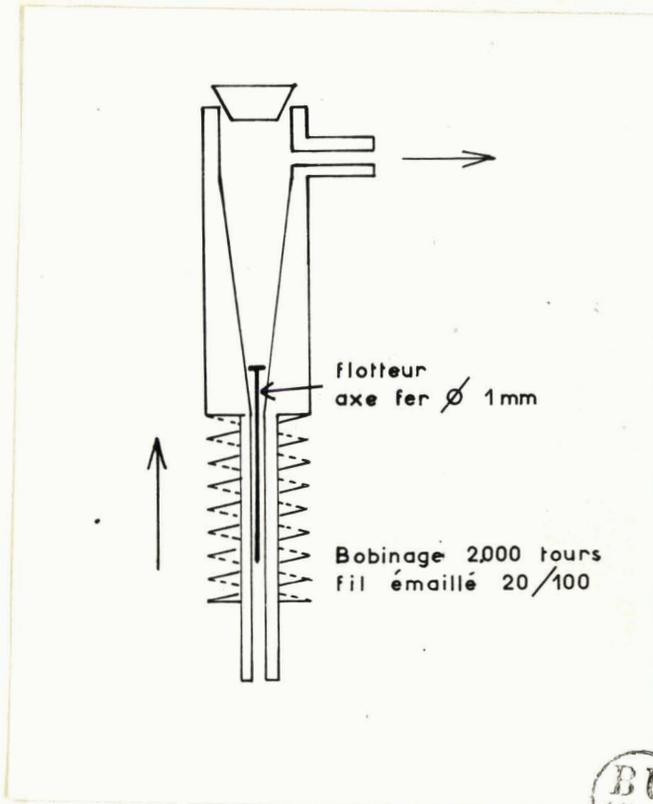


Figure 9 - Partie mécanique du Rotamètre

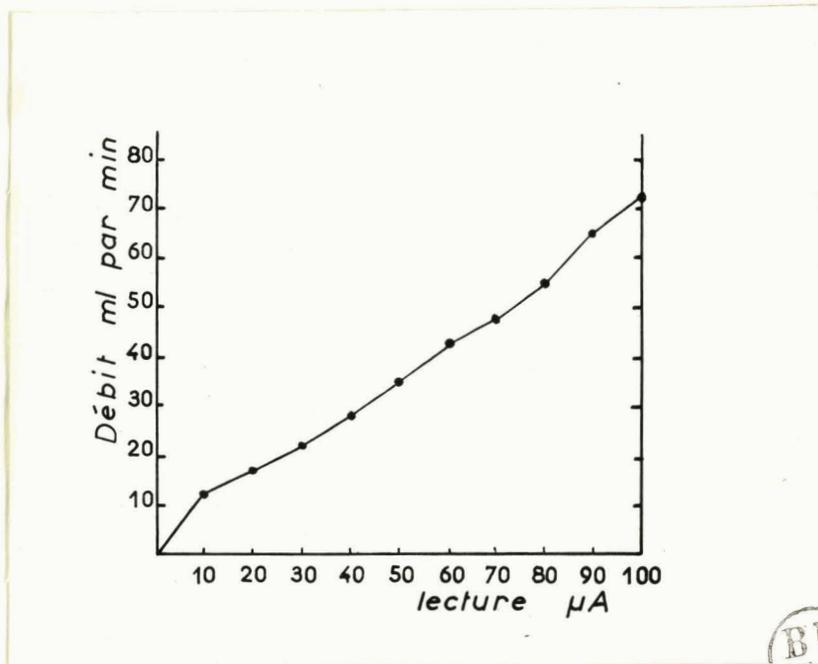


Figure 10 - Courbe d'étalonnage du Rotamètre

une double diode (l'autre moitié de la même 6 AL5 servant à compenser le courant de repos), puis amplification par triode. La lecture se fait sur un microampéremètre. L'enregistrement peut se faire directement sur un microampéremètre enregistreur, ou grâce à une amplification supplémentaire sur oscillographe électromagnétique. Nous utilisons un enregistreur à pointé Sadir Carpentier. 2 des 6 directions sont mises en service, ce qui nous donne un pointage toutes les minutes.

### 3 - ETALONNAGE

L'ascension du flotteur n'est pas proportionnelle au débit sanguin et la variation de self n'est pas proportionnelle à l'ascension du flotteur. La compensation de ces non proportionnalités par un montage électronique serait complexe et aléatoire. Aussi est-il nécessaire d'étalonner l'appareil point par point. La figure 10 donne la courbe obtenue avec l'appareil en service au Laboratoire; paradoxalement la courbe est pratiquement une droite dans sa partie moyenne.

### REFERENCES

BELL P.M.G. - J. of Physiol. London - 1954, 125, 9P, 10P

BRAUER R.W. - Communication personnelle

SHIPLEY R.E. et WILSON C. - Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y.  
1951, 78, 724, 728

BIBLIOGRAPHIE

ARVY L. - Les techniques actuelles d'histoenzymiologie.

Biologie Médicale 1957, 46, 238 - 1957, 46, 324, 360 - 1957, 46, 407, 470 -  
1957, 46, 526, 614 - 1957, 46, 632, 671 - 1958, 47, 12, 160 -

BAGLEY E.H. et GRAFFLIN A.L. - The mechanism of biliary excretion in mammals.

Liver Injury. Transactions of the 11<sup>th</sup> Confer. - Josiah Macy Foundation 1952 -

BALTACEANO G. et VASILIU C. - La relation entre le débit biliaire et urinaire dans  
l'inanition. - C.R. Soc. Biol. Paris 1936, 123, 846, 848 -

BENARD H. et GAJDOS A. - Les fonctions hépatiques. Etude physio-pathologique.

1952 - Masson et Cie. Paris -

BIRNBAUM D. et HOLLANDER F. - Inhibition of pancreatic secretion by the carbonic an-  
hydrase inhibitor (6063 Diamox) - Am. J. Physiol. 1953, 174, 191, 195 -

BIZARD G. et BOULET L. - Influence de la distension de l'estomac sur la sécrétion bi-  
liaire - C.R. Soc. Biol. Paris 1934, 116, 763, 764 -

BIZARD G. et VANLERENBERGHE J. - Cholérèse et cholérétiques -

J. Physiol. (Paris) 1956, 48, 207, 364 -

BIZARD G., VANLERENBERGHE J., GUERRIN F., ROBELET A. et MILBLED G. - Sécrétion de

bile par le foie de rat. II- Action du fluorure de sodium -

C.R. Soc. Biol. Paris 1957, 151, 1889, 1895 -

BIZARD G., VANLERENBERGHE J., ROBELET A., MILBLED G. et GUERRIN F. - Sécrétion de

bile par le foie de rat en perfusion. I- Action du CNK -

J. Physiol. (Paris) 1957, 49, 49, 53 -

BOULANGER P. et OSTEUX R. - Action de la L-amino-acide-deshydrogénase du foie de Din-  
don (Meleagris Gallopavo L.) sur les acides aminés basiques. -

Biochimica et Biophysica Acta 1956, 21, 552, 561 -

BRADLEY S.E. - Discussion du rapport de GRAFFLIN. - Liver Injury. Trans. of the 7<sup>th</sup>

Confer. Jos. Macy Foundation 1948 -

BRADLEY S.E., INGELFINGER F.J., BRADLEY G.P. et CURRY J.J. - The estimation of hepatic

blood flow in man - J. Clin. Investig. 1945, 24, 890, 897 -

BRADLEY S.E., INGELFINGER F.J. et BRADLEY G.P. - Determinants of hepatic haemodynamics

Ciba Foundation Symposium. Visceral circulation 1952, 219, 232 -

BRAUER R.W., LEONG G.F. et HOLLOWAY R.J. - Mechanics of bile secretion. Effect of

perfusion pressure and temperature on bile flow and bile secretion pressure -

Am. J. Physiol. 1954, 177, 103, 112 -

BRAUER R.W., LEONG G.F. et PESSOTTI R.L. - Vasomotor activity in the isolated perfused

rat liver - Am. J. Physiol. 1953, 174, 304, 312 -

BRAUER R.W. et PESSOTTI R.L. - The removal of brom sulphalein from blood plasma by

the liver of the rat - J. Pharmacol. Exp. Therap. 1949, 97, 358, 370 -

- BRAUER R.W. et PESSOTTI R.L. - Hepatic uptake and biliary excretion of brom sulphatalein in the dog - Am. J. Physiol. 1950, 162, 565, 574 -
- BRAUER R.W. et PESSOTTI R.L. - The effect of choleric and of hydrocholeric agents on bile flow and bile solids in the isolated perfused liver - Science U.S.A. 1952, 115, 142, 143 -
- BRAUER R.W., PESSOTTI R.L. et KREBS J.S. - The distribution and excretion of <sup>35</sup>S labeled sulfobromophthalein-sodium administered to dogs by continuous infusion - J. Clin. Investig. 1955, 34, 35, 43 -
- BRAUER R.W., PESSOTTI R.L. et PIZZOLATO P. - Isolated rat liver preparation. Bile production and other basic properties - Proc. Soc. Exper. Biol. Med. U.S.A. 1951, 78, 174, 181 -
- BRAUER R.W. et PIZZOLATO P. - A method for maintaining bile production in the isolated rat liver; its application to the study of the pharmacology of the liver - J. Pharmacol. Exp. Therap. 1951, 101, 4 -
- BROKAW R. et PENROD K.E. - Brom sulphatalein removal rates during hypothermia in the dog - Am. J. Physiol. 1949, 159, 365, 368 -
- CANTAROW A. et WIRTS C.W. - Excretion of brom sulfalein in the bile - Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1941, 47, 252, 254 -
- CANTAROW A. et WIRTS C.W. - The effect of dog's bile, certain bile acids and India ink on bilirubinemia and the excretion of brom sulfalein - Am. J. Digest. Dis. 1943, 10, 261, 266 -
- CANTAROW A., WIRTS C.W., SNAPE W.J. et MILLER L.L. - Excretion of bilirubin and brom sulfalein in bile - Am. J. Physiol. 1948, 154, 211, 219 -
- CHABROL E., CHARONNAT R., MAXIMIN M. et WAITZ R. - L'action cholérétique des dérivés chlorés de l'acide acétique - C.R. Soc. Biol. 1931, 106, 17, 18 -
- CHARDON G., NEVERRE G. et JEANNOEL G. - Modifications de la sécrétion biliaire sous l'influence du déficit en oxygène - C.R. Soc. Biol. 1949, 143, 697, 698 -
- CIER J.F. et GELLER A. - Sécrétion biliaire, pancréatique et rénale au cours de l'occlusion de l'aorte thoracique chez le chien - C.R. Soc. Biol. 1949, 143, 485, 487 -
- COOK D.L., LAWLER C.A. et GREEN D.M. - Studies on the effect of hydrocholeric agents on hepatic excretory mechanisms - J. Pharmacol. Exp. Therap. 1954, 110, 293, 299 -
- DRAGSTEDT C.A. et MILLS M.A. - The removal of intravenously injected bilirubin from the blood stream in the dog - Am. J. Physiol. 1937, 119, 713, 719 -
- DREILLING D.A., JANOWITZ H.D. et HALPERN M. - The effect of a carbonic anhydrase inhibitor, Diamox on human pancreatic secretion - Gastroenterology 1955, 29, 262, 279 -

- EDLUND Y. et HANZON V. - Demonstration of the close relationship between bile capillaries and sinusoid walls - Acta Anar. 1953, 17, 105, 111 -
- ELIAS H. - A re-examination of the structure of the mammalian liver.  
I- Parenchymal architecture - Amer. J. Anat. 1949, 84, 311, 333 -  
II- The hepatic lobule and its relation to the vascular and biliary systems - Amer. J. Anat. 1949, 85, 379, 427 -
- ELIAS H. - Liver morphology - Biol. Rev. 1955, 30, 263, 310 -
- ELIAS H. et COHEN T. - Geometrical analysis of inclusions in rat liver cells as seen in electromicrograms - Zeitschr. f. Zellforsch. 1955, 41, 407, 420 -
- ENGSTRAND L. - Acta Chir. Scand. 1949, supp. 146, d'après HANZON V. 1952 -
- FIESSINGER N., BENARD H. et SYLLABA G. - Concomitance de l'oxygène dans le foie de chien perfusé - C.R. Soc. Biol. 1935, 119, 182, 183 -
- ELIKSON et RUBEL - 1940, d'après CHARDON et coll. 1949 -
- GOFFIN R. - Contribution à l'étude des modifications physiologiques et pathologiques de la fonction biliaire - Ann. Soc. Roy. Sc. Med. et Nat. Bruxelles 1948, 1, 1, 55 -
- GRAB W., JANSSEN S. et REIN H. - Über die Grösse der Leberdurchblutung - Z. Biol. 1929, 89, 324, 331 -
- GRAFFLIN A.L. et BAGLEY E.H. - Studies of hepatic structure and function by fluorescence microscopy - Bull. Johns Hopkins Hosp. U.S.A. 1952, 90, 395, 437 -
- GRAFFLIN A.L. et BAGLEY E.H. - Studies on peripheral blood vascular beds - Bull. Johns Hopkins Hosp. U.S.A. 1953, 92, 47, 73 -
- GRINDLAY J.H., HERRICK J.F. et MANN F.C. - Measurement of the blood flow of the liver Am. J. Physiol. 1941, 132, 489, 496 -
- GRODINS F.S., OSBORNE S.L., IVY A.C. et GOLDMAN L. - The effect of bile acids on hepatic blood flow - Am. J. Physiol. 1941, 132, 375, 389 -
- HANDLEY C.A. - Effect of mercurial diuretics on the succinic dehydrogenase system of the kidney - Fed. Proc. 1949, 8, 209 -
- HANDLEY C.A. et LAVIK P.S. - Inhibition of the kidney succinic dehydrogenase system by mercurial diuretics - J. Pharmacol. Exp. Therap. 1950, 100, 115, 118 -
- HANSON V. - Liver cell secretion under normal and pathologic conditions studied by fluorescence microscopy on living rats - Acta Physiol. Scandin. 1952, 28, supp. 101, 1, 268 -
- HERMANN H., JOURDAN F. et SEDALLIAN P. - Sur le rôle fonctionnel de l'artère hépatique Expériences de perfusion du foie au cou chez le lapin - Bull. Acad. Natio. Med. 1938, 119, 754, 757 -
- HERMANN H., JOURDAN F. et SEDALLIAN P. - La valeur fonctionnelle de l'artère hépatique - Biologie Médicale 1941, 31, 65, 91 -

- HERMANN H. et MORIN G. - Action de la distension intestinale sur la sécrétion pancréatique provoquée - C.R. Soc. Biol. 1934, 115, 1533, 1535 -
- HERRICK J.F., MANN F.C., ESSEX H.E. et BALDES E.J. - The effect of the digestion of food on the blood flow from the liver of the dog - Am. J. Physiol. 1934, 109, 52 -
- HOBER R. - Studies concerning the nature of the secretory activity of the isolated Ringer-perfused frog liver. I- The differential secretion of pairs of dyestuffs - J. Gen. Physiol. 1939, 23, 185, 190 -
- HOBER R. - Physio-chemical aspects of the secretory process - Fed. Proc. 1942, I, 240,
- HOBER R. et MOORE E. - Studies concerning the nature of the secretory activity of the isolated Ringer-perfused frog liver. II- The inhibitory and the promoting influence of organic electrolytes and non-electrolytes upon the secretion of dyestuffs - J. Gen. Physiol. 1939, 23, 191, 202 -
- HOBER R. et TITAJEW A. - Uber die Sekretionsarbeit der Leber vom Frosch - Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol. 1930, 223, 180, 194 -
- HOLLEMAN J.W. - Aspects de la structure de quelques chromoprotéines - Thèse Doctorat es Sciences - Lille 1958 -
- HOUDAS Y. - Sécrétions digestives et anoxie. Etude expérimentale des sédrétions salivaire, biliaire et pancréatique - Thèse Médecine - Lyon 1956 -
- JANOWITZ H.D., COLCHER H. et HOLLANDER F. - Inhibition of acid secretion in dogs by the carbonic anhydrase inhibitor (6063) - Fed. Proc. 1952, 11, 78 -
- JANOWITZ H.D., DREILLING D.A. et HOLLANDER F. - Inhibition of HCl-formation in the human stomach by Diamox; the role of carbonic anhydrase in gastric secretion - J. of Clin. Invest. 1955, 34, 918 -
- KALOW W. - Cholereuse durch synthetische Mittel. IV- Die nar kotisierte Ratte als poiki- lothermes Studienobjekt - Arch. exper. Pathol. Pharmakol. 1950, 210, 336, 345 -
- KREBS J. et BRAUER R.W. - Uptake of brom sulphtalein by the liver of the rat. II- Studies with radioactive brom sulphtalein (B.S.P.) - Fed. Proc. 1949, 8, 310 -
- LEMBERG R. et LEGGE J.W. - Haematin compounds and bñle pigments. Interscience New York et London - 1949 -
- LØGHTBODY et KLEINMAN - J. Biol. Chem. 1939, d'après BENARD H. et GAJDOS A. 1952 -
- LISON L. - Histochimie et cytochimie animales. Principes et méthodes - Gauthier-Villars - Paris 1953 -
- LUNDGAARD E. - Observations on a factor determining the metabolic rate of the ñiver - Biochim. Biophys. Acta 1950, 4, 322, 329 -
- MENDELOFF A.I. - Fluorescence of intravenously administered Rose Bengal appears only in hepatic polygonal cells - Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 1949, 70, 556, 558 -

- PAGET M. et DELAISSE J. - Technique de dosage de l'amylase sérique -  
Ann. Biol. Clinique - 1958, 223, 226 -
- PAVEL I. et TEITEL-BERNARD A. - Morphologie et relation du canalicule biliaire -  
Semaine Hopitaux 1948, 24, 2679, 2682 -
- POGELL B.M. et Mc GILVERY R.W. - d'après Mc GILVERY R.W. in COLOWICZ S.P. et KAPLAN N.O.  
Methods in enzymology T II, 543, 546 - Academic Press 1955 -
- POPPER H.L., JEFFERSON N.C., WULKAN E. et NECHELES H. - Bile secretion and blood supply of the liver - Am. J. Physiol. 1955, 181, 435, 438 -
- ROBBINS E.D., BURTON S., GOERKE J., FRIEDMAN M., ISHIDA T. et CALVERT C. - Cholesterol and cholate concentration of perfusate and bile of isolated liver preparation -  
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 1953, 83, 212, 214 -
- ROUILLER Ch. - Les canalicules biliaires. Etude au microscope électronique.  
C.R. Soc. Biol. 1954, 148, 2008, 2011 -
- SCHNEIDER W.C. et POTTER V.R. - The assay of animal tissues for respiratory enzymes.  
II- Succinic dehydrogenase and cytochrome oxydase -  
J. Biol. Chem. 1943, 149, 217, 227 -
- SCHWIEGK H. - Untersuchungen über die Leberdurchblutung und den Pfortaderkreislauf -  
Arch. f. exper. Path. und Pharmakol. 1932, 168, 693, 714 -
- SHORE M.L. et ZILVERSMIT D.B. - Effect of India Ink on bromsulphalein excretion phagocytosis and circulation in the liver - Am. J. Physiol. 1954, 177, 436, 440 -
- SIBLEY J.A. et LEHNINGER A.L. - Determination of aldolase in animal tissues -  
J. Biol. Chem. 1949, 177, 859, 872 -
- SNAPP E.F., GUTMAN M., LI T.W. et IVY A.C. - Experimental production of jaundice of direct reacting type by injection of preparation of direct-reacting bilirubin -  
J. Lab. Clin. Med. 1947, 32, 321, 322 -
- SOSKIN S., ESSEX H.E., HERRICK J.F. et MANN F.C. - The mechanism of regulation of the blood sugar by the liver - Am. J. Physiol. 1938, 124, 558, 567 -
- SUMNER J.B. et MYRBACK K. - The enzymes - Academic Press 1950 - 1951 - 1952 - 4 vol. -
- TANTURI C.A. et IVY A.C. - A study of the effect of vascular changes in the liver and the excitation of its nerve supply on the formation of bile -  
Am. J. Physiol. 1938, 121, 61, 74 -
- TELKKA A. et MUSTAKALLIO K.K. - Proximal or distal inhibition of succinic dehydrogenase in kidney tubules of rat - Science U.S.A. 1955, 121, 146 -
- VANLERENBERGHE J. - La fonction biliaire - Presse Médicale 1957, 65, 1237, 1239 -
- VANLERENBERGHE J. et DUJARDIN J. - Un nouveau rotamètre électrique -  
C.R. Soc. Biol. à paraître -

- WACHSTEIN M. et MEISEL E. - On the histochemical localization of the mercurial inhibition of succinic dehydrogenase in rat kidney -  
Science U.S.A. 1954, 119, 100 -
- WARKENTIN J., HUSTON J.H., PRESTON F.W. et IVY A.C. - The mechanism of bile flow inhibition upon distension of the colon or stimulation of its nerve supply -  
Am. J. Physiol. 1942-1943, 138, 462, 464 -
- WIRTS C.W. et CANTAROW A. - A study of the excretion of bromsulphalein in the bile -  
Am. J. Digest. Dis. 1942, 2, 101, 106 -

TABLE DES MATIERES



Phloridzine	121
Acétazolamide	125
CONCLUSIONS	130
ANNEXE : description du rotamètre électrique	135
BIBLIOGRAPHIE	138

