

55376
1962
4

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE LILLE

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Nicole BAR

licenciée ès-sciences — diplômée d'études supérieures
assistante de Physiologie à la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lille

PREMIÈRE THÈSE

Contribution à l'étude de la fonction biliaire en hypothermie
(recherches sur le rat)

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

MM. M. DURCHON  Président

R. DEFRETIN

J. MONTREUIL

S. BOUISSET

J. VANLERENBERGHE

Examineurs

LILLE 1962

UNIVERSITÉ DE LILLE

FACULTÉ DES SCIENCES

- Doyen Honoraire* : M. P. PRUVOST.
- Professeurs Honoraires* : MM. ARNOULT, BÉGHIN, BROCHARD, CAU, CHAPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, DEHORNE, DOLLE, FLEURY, P. GERMAIN, KOURGANOFF, LAMOTTE, LELONG, M^{me} LELONG, MM. MAZET A. MICHEL, NORMANT, PARISELLE, PASCAL, PAUTHENIER, ROUBINE, WIEMANN, ZAMANSKY.
- Doyen* : M. PARREAU, Professeur de Mathématiques.
- Assesseur* : M. ROUELLE, Professeur de Physique et Électricité industrielles.
- Professeurs* : MM. BONNEMAN-BEMIA, Chimie et Physico-chimie industrielles.
BONTE, Géologie appliquée.
M^{lle} CHAMFY, Mathématiques.
MM. CORSIN, Paléobotanique.
DECUYPER, Mathématiques.
DEFRETIN, Biologie maritime.
N..... Analyse supérieure et Calcul des probabilités.
DEHORS, Physique industrielle.
DELATRE, Géologie.
N....., Chimie minérale.
DESCOMBES, Calcul différentiel et intégral.
DURCHON, Zoologie.
GABILLARD, Radio-électricité et Électronique.
GERMAIN, Chimie générale et Chimie organique.
GLACET, Chimie.
HEIM de BALSAC, Zoologie.
HEUBEL, Chimie.
HOCQUETTE, Botanique générale et appliquée.
KAMPÉ de FÉRIET, Mécanique des Fluides.
LEBÈGUE, Botanique.
LEBRUN, Radio-électricité et Électronique.
LUCQUIN, Chimie minérale.
MARION, Chimie.
M^{lle} MARQUET, Mathématiques.
MM. MARTINOT-LAGARDE, Mécanique des Fluides.
MONTREUIL, Chimie biologique.
PEREZ, Physique.
POITOU, Algèbre supérieure.
N....., Physique générale.
N....., Mécanique rationnelle et expérimentale.
SAVARD, Chimie générale.
TILLIEU, Physique.
TRIDOT, Chimie appliquée.
VIVIER, Zoologie.
WATERLOT, Géologie houillère.
WERTHEIMER, Physique.
- Maîtres de Conférences* : MM. BACCHUS, Astronomie
BECART, Physique.
BOURIQUET, Physique.
BOUISSET, Physiologie animale.
CELET, Géologie.
GONTIER, Mécanique des fluides.
HERZ, Mathématiques.
LACOMBE, Mathématiques.
M^{lle} LENOBLE, Physique.
MM. LINDER, Botanique.
LURCAT, Physique.
MAUREL, Chimie.
MENESSIER, Géologie.
M^{lle} NAZE, Mathématiques.
MM. POLVÈCHE, Géologie.
PRUVOST, Géologie.
SCHALLER, Zoologie.
- Chargés d'enseignement* : MM. LIEBAERT, Radio-électricité.
SCHILTZ, Physique.
- Secrétaire* : M^{me} BOUCHEZ.

Les études sur la physiologie du parenchyme hépatique sont très nombreuses et correspondent à des sujets aussi variés que le sont les fonctions du foie. Parmi celles-ci, la formation de la bile a depuis longtemps retenu l'attention de multiples chercheurs, sans doute parce qu'il est très facile de recueillir cette sécrétion.

Cependant si l'on connaît bien les quantités de bile émises dans diverses conditions expérimentales ou sous l'influence de substances hormonales ou étrangères à l'organisme, on est beaucoup moins avancé en ce qui concerne le mécanisme même de la cholérèse. Toutefois, la part sécrétoire est certaine et fait l'objet depuis 1956 de travaux au Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lille.

Nous avons été d'abord amenée à collaborer aux recherches de M. le Professeur J. VANLERENBERGHE sur l'action des inhibiteurs métaboliques sur la fonction d'excrétion des colorants et à propos de ces études nous avons pensé que le refroidissement de l'organe ou de l'organisme pouvait représenter un mode d'exploration de la fonction sécrétoire. M. VANLERENBERGHE a bien voulu nous confier ce travail et a accepté de diriger nos recherches, ce dont nous le remercions.

L'étude de la fonction biliaire doit tout d'abord comporter la mesure des volumes de bile émis dans des conditions expérimentales très précises, mais il est également important de chercher à déterminer le devenir des substances dissoutes. Il semble toutefois que la formation de la bilirubine et des acides biliaires ait retenu l'attention des biochimistes

plutôt que celle des physiologistes ; il en résulte que nos connaissances sur la sécrétion de ces constituants majeurs de la bile sont très limitées, alors que les modalités de transformations moléculaires sont déjà assez bien précisées. Nous nous sommes efforcée, dans ce travail, de réunir le plus grand nombre d'informations que l'on pouvait recueillir sur la composition de la bile au cours de l'hypothermie : concentration du pigment et de certains colorants, nature et taux des acides biliaires.

D'autres mesures, telles que les modifications éventuelles de la consommation d'oxygène et du quotient respiratoire du foie lors des variations thermiques seraient sans doute intéressantes à réaliser ; ces techniques n'ont pu être mises en œuvre car elles exigent un matériel très spécialisé dont nous ne disposons pas.

INTRODUCTION

DONNÉES ACTUELLES SUR LES MÉCANISMES DE LA CHOLÉRÈSE

De très nombreux travaux ont déjà été consacrés à l'étude du mécanisme de formation de la bile et il est généralement admis que deux processus différents coexistent, une filtration et une sécrétion vraie.

LA FILTRATION

Il n'existe pas de preuve irréfutable de l'existence d'un tel mécanisme en raison de la coprésence d'une sécrétion active. Toutefois un certain nombre d'arguments peuvent être retenus à l'appui de cette thèse.

L'architecture hépatique classique comporte une séparation absolue entre les capillaires biliaires et les sinusoides sanguins : entre ces deux formations, il y a toujours interposition d'un ou d'un demi hépatocyte. Les importants travaux histologiques de Hans ELIAS parus depuis 1948, ceux de PAVEL et TEITEL-BERNARD (1948) et les examens au microscope électronique, réalisés en particulier par ROUILLER (1954-1956) ont conduit à la révision de ces données. Les canalicules biliaires n'ont pas de paroi

propre et sont simplement délimités par les membranes cellulaires des hépatocytes voisins. Ces canalicules possèdent de multiples digitations dont la plupart s'arrêtent à distance d'un capillaire sanguin. Mais un certain nombre de ces ramifications viennent se terminer juste au contact de l'espace de DISSE, sans interposition cellulaire, ce qui correspond à des possibilités d'échanges par filtration entre sang et bile par l'intermédiaire de cet espace à signification lymphatique (1). Il est toutefois certain que de telles communications sont assez rarement observées sur les préparations, ce qui conduit à penser que le phénomène de filtration ne doit pas être quantitativement très important.

L'étude de la composition de la bile et de l'élimination de certaines substances apporte également des éléments en faveur de la théorie de la filtration. Il existe en effet tout un ensemble de corps dont le rapport :

$$\frac{\text{concentration biliaire}}{\text{concentration sanguine}} \text{ est au voisinage de l'unité}$$

et dont la clearance est faible (0,0015 à 0,0150). C'est le cas de l'eau, de l'inuline, du cholestérol, des chlorures, du glucose, de la créatinine, du sodium et du potassium. Toutes ces substances pourraient filtrer en même temps que l'eau à condition que la taille de leur molécule soit suffisamment petite ; il semble que la taille des pores correspondent à une masse moléculaire d'environ 5.000, car l'insuline (PM environ 5.100) a un rapport de concentration bile/sang de l'ordre de 0,5.

Par ailleurs, COOK, COLETA, LAWLER et GREEN (1954) ont étudié les variations de clearance biliaire de l'eau, du sodium, du potassium, des chlorures et de la créatinine sous l'influence du déhydrocolate de sodium (expériences chez le chien) ; on observe toujours une élévation notable de ces clearances, alors que le taux d'épuration plasmatique de la B.S.P., de la pénicilline et de l'acide para-amino-hippurique (corps à fortes concentrations biliaires) n'est pas modifié. Ces résultats semblent bien confirmer l'existence d'un mécanisme de filtration susceptible d'être influencé par un hydrocholérétique.

(1) Pour ROULLIER, il existe également des fentes dans l'endothélium des capillaires sanguins. Il pourrait donc y avoir passage direct du sang vers les canalicules biliaires.

LA SÉCRÉTION

Il existe de multiples preuves de l'existence de ce mécanisme. C'est tout d'abord la présence dans la bile de substances physiologiques ou exogènes à un taux bien plus élevé que dans le sang ; le rapport de concentration est de l'ordre de 1.000 pour la bilirubine, de 600 pour les acides biliaires, 30 à 1250 pour les colorants. Une filtration suivie d'une résorption plus ou moins élective d'eau pourrait être évoquée pour expliquer les faits constatés bien qu'il soit peu vraisemblable que la résorption puisse atteindre un tel niveau. Par ailleurs, aucune expérience ne vient à l'appui de l'hypothèse d'une résorption ; en particulier, les agressions expérimentales qui atteignent la fonction cellulaire (intoxication par les cyanures, anoxhémie) ne déterminent pas d'augmentation de la cholérèse alors que sur le rein, le cyanure en bloquant la résorption tubulaire donne une élévation sensible de la diurèse (STARLING et VERNEY, 1924).

BRAUER, LEONG et HOLLOWAY (1954) ont étudié la pression maximale sous laquelle la bile pouvait être émise par une préparation de foie de rat perfusé par la seule veine porte. Ils constatent que pour des pressions portales inférieures à 16 cm d'eau la pression biliaire est toujours supérieure à la pression de perfusion sanguine. Ce résultat ne peut s'expliquer que par un phénomène de sécrétion vraie.

BIZARD, VANLERENBERGHE, MILBLED et GUERRIN (1957-1960) ont recherché l'influence d'inhibiteurs enzymatiques sur la cholérèse du foie de rat perfusé. Ils confirment que les phénomènes de respiration cellulaire sont indispensables à la formation de la bile en quantité normale, en montrant que le cyanure de potassium diminue notablement le volume biliaire. En s'appuyant sur les résultats de l'action de l'acide monoiodacétique (réduction très importante de la cholérèse), ces auteurs montrent que des phénomènes de glycolyse sont en cause et que par conséquent la sécrétion biliaire puise une partie au moins de l'énergie nécessaire dans le métabolisme glucidique. L'absence d'action de l'acétazolamide, inhibiteur très puissant de l'anhydrase carbonique, permet de conclure à la non intervention de cet enzyme, contrairement à ce qui se passe pour les sécrétions gastrique et pancréatique.

En utilisant des inhibiteurs variés, tels le cyanure, l'acide monoiodacétique, le 2-4 dinitrophénol, la phloridzine, BIZARD, VANLERENBERGHE et coll. observent des réponses différentes sur la phase liquide et sur les substances dissoutes ce qui permet d'évoquer une dualité du mécanisme sécrétoire. Cette hypothèse a particulièrement retenu notre attention

et se trouve confirmée par les résultats que nous rapportons dans ce travail.

Chez l'animal entier, chien et chat, STONE en 1959 avait retrouvé l'action de la phloridzine sur le volume et la bilirubine biliaires déjà signalée par VANLERENBERGHE et coll., mais n'utilisait ces résultats que pour démontrer l'existence d'une sécrétion active.

*
* *
*

Il ressort des données rappelées ci-dessus que le mécanisme de filtration reste discutable tandis qu'il existe des preuves formelles de l'existence d'une sécrétion vraie. Il est possible que la formation de la phase liquide et l'excrétion des substances dissoutes relèvent de deux processus distincts comme c'est le cas pour la sécrétion pancréatique.

ACTION DE LA TEMPÉRATURE SUR LA FONCTION BILIAIRE - TRAVAUX ANTÉRIEURS

De nombreux auteurs ont étudié l'action de l'hypothermie sur l'organisme des mammifères et les modifications des grandes fonctions en hibernation, mais d'une façon très générale, le fonctionnement du tractus digestif et des glandes annexes n'a guère retenu l'attention. Il existe toutefois quelques travaux isolés dans lesquels a été ébauchée l'étude de la relation entre fonction biliaire et variation thermique.

Dès 1923, Mc MASTER, BROUN et PEYTON ROUS montrent que l'élévation de la température centrale d'un chien porteur d'une fistule biliaire chronique donne une diminution de la cholérèse, avec enrichissement en bilirubine de la bile émise par rapport à la normale.

OSBORNE et GOLDMAN (1939) étudient les effets de l'hyperthermie à 42° C sur la sécrétion biliaire du chien à fistule extemporanée. Ils observent une augmentation du volume de la bile et une élévation du taux de l'acide cholique et des acides gras (par rapport à la série témoin) tandis que la concentration du cholestérol ne varie pas toujours dans le même sens.

En 1941, OSBORNE, GRODINS, GOLDMAN et IVY complètent les observations précédentes en étudiant les effets de l'élévation de tempé-

rature chez le chien à fistule temporaire et chez l'animal à fistule chronique. Trente-neuf animaux pesant 30 à 45 livres sont anesthésiés au pentobarbital de sodium (30 mg par kg - voie intraveineuse). Après une période de contrôle de 20 à 30 minutes, la température corporelle est élevée à 42° C au moyen d'un inductotherm. Dans sept cas où l'hyperthermie est trop importante, on obtient un arrêt de la sécrétion biliaire. Chez les autres animaux on observe une augmentation de la cholérèse dès que la température atteint 41,5° C ; l'effet excito-sécrétoire, très variable, est compris entre 12 et 50 p. 100. Les variations de l'acide cholique sont peu significatives : augmentation dans deux cas, diminution dans sept expériences ; le débit biliaire de la bilirubine est diminué de façon constante.

Les résultats obtenus sur le chien vigile sont assez nettement différents puisque le séjour dans une pièce à 45-48° C ne donne jamais d'augmentation du débit biliaire. Dans ces essais, les variations de l'acide cholique et du cholestérol ne sont pas significatives.

BRAUER et PESSOTTI publient en 1949 une importante étude sur la captation de la brome-sulfone-phtaléine par le foie de rat de race Sprague Dawley (poids 180-230 g). Des tranches de foie d'une épaisseur de 0,5 mm sont placées dans des fioles de Warburg (en oxygène pur) avec un substrat contenant de la B.S.P. On note que la captation du colorant est indépendante de la température entre 22 et 49° C tandis qu'elle est réduite à 10° C.

TEMPÉRATURES	RÉDUCTION DE LA TENEUR EN B.S.P. DU MILIEU	
49° C	79,0	p. 100
38° «	78,8	»
22° «	78,0	»
10° «	72,5	»

Les auteurs notent également que les cyanures n'ont pas d'influence sur la captation de la B.S.P. par les tranches de foie et par le foie perfusé.

BROKAW et PENROD (1949) étudient la disparition de la Brome-sulfone-phtaléine du sang après une injection unique du colorant (dose 5 mg par kg) chez le chien anesthésié au pentobarbital de sodium. La réfrigération est obtenue par immersion dans un bassin à 2-5° C ce qui

entraîne une baisse de la température d'environ 0,17° C par minute. L'étude du taux sanguin de la B.S.P. montre que la captation est diminuée en hypothermie.

B.S.P. en mg/100 ml	Temps après l'injection (en minutes)			
	6	12	20	30
Normothermes (16 animaux)	1,8±0,1	0,6±0,2	0,4±0,2	0,3±0,1
35° C (7 chiens)	4,5±1,4	2,9±1,6	2,0±1,2	1,7±1,0
30° C (10 chiens)	4,8±1,2	3,2±0,9	2,5±1,4	2,1±0,6

Pour BROKAW et PENROD ces résultats sont plus la conséquence d'une diminution du flux sanguin transhépatique que d'une réduction de l'activité métabolique du foie.

En 1950, KALOW rapporte le résultat de ses travaux sur le rat anesthésié à l'uréthane. Il observe que la cholérèse est maximum pour une température hépatique de 40° C et qu'elle diminue progressivement dans la zone de froid. Le quotient de température (Q_{10}) est très variable d'une expérience à une autre, compris entre 1,54 et 3,25 pour des températures hépatiques de 26° à 40° C ; pour une même expérience le Q_{10} n'est pas constant dans tous les intervalles considérés.

KALOW étudie également les effets cholérétiques du déhydrocholate de sodium, du cholate de sodium, des esters succiniques du phényl-méthyl-carbinol (PMCB) et du tolyl-méthyl-carbinol (TMCB) à température normale (35° et 37°,5) et en hypothermie (26°). En valeurs absolues, les différents cholérétiques agissent beaucoup mieux à température élevée qu'à basse température ; mais en valeurs relatives (rapport effet global du cholérétique/cholérèse de base) il n'y a pratiquement pas de différence d'effet. Enfin KALOW note qu'en hypothermie le temps de latence séparant l'injection, de l'effet cholérétique est nettement allongé : 2 à 3 fois pour l'acide déhydrocholique et l'acide cholique, 3, 5 à 6 fois pour le PMCB et le TMCB. Il est vraisemblable que ces retards sont liés au ralentissement circulatoire dû à la baisse de température.

BIRNIE et GRAYSON en 1951 et en 1952 déterminent des baisses de température chez le rat, par anesthésie à l'éther ou au pentobarbital.

Simultanément ils observent une diminution du flux sanguin transhépatique, sans donner d'indication sur le niveau de la cholérèse. Après l'anesthésie, ils notent que le débit sanguin retrouve sa valeur initiale plus rapidement que ne le fait la température, ce qui laisse supposer que les deux variables sont relativement indépendantes.

En 1952, HANZON réalise une étude microscopique de l'élimination biliaire d'un colorant fluorescent, l'uranine (sel de sodium de la fluorescéine). L'expérience est menée chez le rat blanc pesant 150 à 250 g, sans distinction de sexe. Une dose unique d'uranine est administrée, on note les délais d'apparition du colorant dans les sinusoides sanguins, les cellules hépatiques et les canalicules biliaires. Sur une série de vingt expériences témoins, on observe un temps moyen de passage sinusoi-de/cellule de 22,5 secondes et pour le trajet sinusoi-de/canalicule biliaire 46,5 secondes. A 28° C les temps correspondants sont respectivement d'environ 100 et 300 secondes ; le retard d'élimination est d'autant plus important que la température est plus basse et à 17°-23° C on n'observe pas de concentration de l'uranine dans les capillaires biliaires. Une étude quantitative du phénomène montre qu'il existe une relation linéaire entre l'inverse de la température absolue et le logarithme de l'inverse du temps de sécrétion ; le Q_{10} (28°-38° C) est de 3,75.

BRAUER, LEONG et HOLLOWAY étudient en 1954 les effets des variations de température sur la cholérèse d'un foie de rat perfusé, totalement séparé de l'organisme, en utilisant la technique mise au point par BRAUER, PESSOTTI et PIZZOLATO (1951). Le débit biliaire de la préparation est maximum à 40°-41° C et diminue rapidement pour les températures plus basses ; en dessous de 28° C la cholérèse est si faible qu'on ne peut pratiquement plus la mesurer. Le Q_{10} est compris entre 3 et 5,2 pour les températures de 28° à 38° C, entre 2,8 et 5,5 pour l'intervalle 30°-40° C.

Le débit sanguin transhépatique a été déterminé simultanément, il diminue légèrement en même temps que la température s'élève entre 25° et 50° C. Tous les phénomènes sont réversibles entre 32° et 40° C ; en dehors de cette zone, il se produit des lésions définitives. Les auteurs font remarquer qu'au niveau du rein l'hypothermie donne une augmentation de la diurèse (comme le cyanure) : ceci permet d'exclure l'hypothèse d'une formation de la bile par filtration suivie de résorption.

ARCHDEACON, DANFORTH et DUMMIT (1954) recherchent l'influence des basses températures sur la cholérèse du rat anesthésié au pentobarbital (voie intra-péritonéale). Chaque série comporte 10 animaux mâles adultes de race Wistar ou Sherman. La quantité horaire de bile émise

est de 1,99 ml/kg ($\pm 0,15$) à 6° C (5 à 7°), de 3,25 ml/kg à 36° (35 à 37°). Le calcul montre que la différence est significative au sens statistique du terme.

FISHER, FEDOR, LEE, WEITZEL, SELKER et RUSS (1956) réalisent des fistules biliaires chroniques chez le chien. L'hypothermie est induite par anesthésie à l'éther et immersion des animaux dans un bac d'eau froide, puis les animaux sont maintenus dans une pièce à température constante de façon à ce que leur température rectale soit comprise entre 22° et 24° C. Les auteurs observent une réduction du volume biliaire sans modification de la concentration de l'acide cholique. Au cours de cette épreuve, il se produit une diminution de l'azote non protéique et du glycogène hépatique. La consommation d'oxygène d'une tranche de foie n'est pas modifiée lorsque l'hypothermie dure six heures, elle diminue ensuite.

Enfin en 1960, MORRIS reprend l'étude de BRAUER et coll. (1954) sur la cholérèse du foie perfusé, mais en utilisant la technique de MILLER, BLY, WATSON et BALE (1951). La sécrétion biliaire est maximum à 38° C, les autres températures employées étant 34° et 42° C.

RÉSUMÉ DES TRAVAUX ANTÉRIEURS

Les premières recherches ont envisagé l'action de l'élévation thermique sur la fonction biliaire : on obtient alors une diminution de la cholérèse sans variation marquée des constituants de la bile. Ces travaux n'ont pas été poursuivis sans doute en raison de la très faible possibilité de modification thermique compatible avec la survie de l'animal. Aucune interprétation des résultats obtenus n'a été ébauchée.

Depuis 1949, l'action de l'hypothermie sur la cholérèse a été étudiée : la baisse de la température donne toujours une réduction du débit biliaire, que l'on opère sur le rat à fistule aiguë, le chien à fistule chronique ou le foie de rat perfusé. La captation de la B.S.P. est diminuée tant en ce qui concerne les tranches de foie de rat que pour le chien à fistule extemporanée. L'urarine est éliminée avec retard.

Enfin, en valeur absolue, les cholérétiques ont une action moindre qu'à la température normale.

Il ressort des données que nous venons d'exposer qu'aucun travail d'ensemble n'a été réalisé sur l'action de l'hypothermie sur la fonction biliaire et qu'en particulier, aucune recherche n'a été faite sur l'excrétion biliaire de la bilirubine et des colorants pendant cet état. Nous avons pensé qu'il était intéressant d'effectuer cette étude, en considérant que les phénomènes biochimiques qui sont à la base de la fonction sécrétoire devaient être influencés par les variations thermiques ; les résultats obtenus par une inhibition physique du métabolisme pourraient ainsi être comparés avec ceux déjà observés en utilisant des inhibiteurs chimiques.

MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

I - TECHNIQUES PHYSIOLOGIQUES

Pour réaliser une étude systématique de la fonction biliaire en hypothermie, il fallait choisir un animal dont on pouvait se procurer de nombreux exemplaires et d'une taille suffisante pour permettre l'introduction d'une sonde dans le cholédoque. Le chien et le chat sont actuellement trop rares pour permettre la réalisation de séries suffisantes, la souris trop petite en regard du matériel et des techniques de dosages dont nous disposons. Le cobaye a été exceptionnellement utilisé sans doute parce qu'il est très fragile. Seuls le rat et le lapin peuvent donc être employés commodément, et actuellement la majorité des auteurs qui travaillent sur le parenchyme hépatique se servent du rat. La cholérèse de cet animal est bien connue et la composition de sa bile a été précisée ; de plus il est possible de disposer d'animaux de souche pure ce qui doit éviter, le plus possible, la dispersion des résultats. Outre la diversité des races, le lapin présente l'inconvénient d'une bile contenant une grande majorité de biliverdine dont le dosage précis n'était guère réalisable en raison de l'impossibilité de se procurer, jusqu'à tout récemment, ce pigment à l'état pur.

Enfin, un argument décisif dans le choix de l'animal d'expérience, a été l'existence d'une technique de perfusion du foie isolé de rat, mise au point en 1951, par BRAUER, PESSOTTI et PIZZOLATO et utilisée depuis

1955 au Laboratoire, tandis que jusqu'à présent, il ne semble pas qu'on ait pu maintenir en survie durable un foie isolé de chien ou de lapin.

En effet, il est possible de réaliser une étude de la fonction biliaire en hypothermie sur l'animal entier, car le froid, contrairement aux inhibiteurs métaboliques d'ordre chimique, est bien supporté par l'organisme vivant, au moins lorsque l'on ne descend pas au-dessous de 15° ou 20° C (1). Mais il se produit, dans ces conditions, des modifications simultanées des grandes fonctions végétatives, circulation et respiration principalement, ce qui rend complexe l'interprétation des résultats.

Au contraire, sur foie perfusé, l'oxygénation de la préparation est facilement assurée et le débit sanguin peut être contrôlé ; les résultats obtenus dans ces conditions expérimentales seront plus facilement rapportés à une action propre du foie sur la fonction biliaire.

Notre travail a été réalisé entièrement sur des rats Wistar CF, élevés au Laboratoire en reproduction non consanguine à partir de géniteurs provenant du Centre de Sélection des animaux de Laboratoire du C.N.R.S.

A. — RECHERCHES SUR L'ANIMAL ENTIER

Tous les animaux utilisés sont des adultes de sexe mâle, d'un poids compris entre 140 et 340 g. L'anesthésie est réalisée par injection intrapéritonéale de mébubarbital à raison de 40 mg par kg (solution à 6,5 p.100). Lorsque la narcose est suffisante, on pratique une trachéotomie qui permet une aspiration des mucosités trachéobronchiques, puis on aborde le foie par laparotomie médiane sous sternale. Le cholédoque est repéré et dégagé des tissus de voisinage ; une ligature est serrée du côté duodénal et on introduit dans l'extrémité hépatique de ce canal un cathéter de polyéthylène (2) que l'on fixe par un fil. La paroi abdominale est refermée en un plan par quelques points de suture et l'animal est placé en décubitus latéral sur une petite table chauffante. Un thermomètre à alcool introduit dans le rectum permet de vérifier la température de l'animal, que l'on maintient entre 38° et 39° C par réglage manuel du chauffage.

(1) BRAUER, LEONG et HOLLOWAY (1954) ont toutefois signalé qu'au dessous de 32° C la réversibilité des phénomènes observés n'est pas retrouvée.

(2) Clay Adams PE 50 ou Biotrol N° 3	Diamètre extérieur	0,965 mm
	Diamètre intérieur	0,58 mm
Dubernard N° 0	Diamètre extérieur	1 mm
	Diamètre intérieur	0,5 mm

Lorsque l'on veut réaliser une hypothermie on place le rat sur une table dans laquelle une circulation d'eau froide à vitesse variable est établie. En outre pour accélérer le refroidissement, on recouvre l'animal d'un sachet de plastique contenant de la glace. On peut ainsi maintenir la température fixée à 1° C près.

On pouvait se demander si l'utilisation d'une fistule biliaire extemporanée sur l'animal anesthésié, ne venait pas perturber les résultats expérimentaux.

L'action des barbituriques sur la cholérèse a été initialement étudiée par DELAS, ROUX et ECALLE (1957), chez le chien et le lapin. Ces auteurs notent que le mébubarbital détermine une réduction du débit biliaire lorsqu'on l'injecte par voie intraveineuse à raison de 5 à 25 mg par kg. Par contre l'anesthésie barbiturique, entretenue par une perfusion lente et prolongée du produit, permet d'obtenir une courbe de cholérèse très stable.

En 1958, VANLERENBERGHE, BIZARD-GRÉGOIRE, ROBELET et GUERRIN ont recherché l'action du mébubarbital sur la cholérèse du foie de rat perfusé. Ils constatent que la sécrétion pendant la première heure est de 348 μ l si l'animal est anesthésié au mébubarbital, de 342 μ l si la narcose a été obtenue par le carbamate d'éthyle (moyennes de 10 expériences dans chaque série). Dans une autre série expérimentale on ajoute au milieu de perfusion 5 mg pour 100 ml de mébubarbital (ou de penthio-barbital ou de méthitural) et on constate alors que l'évolution de la cholérèse en fonction du temps est identique à celle des témoins.

Plus récemment BIZARD, VANLERENBERGHE, ROBELET et GUERRIN (1962) ont repris l'étude de l'action du mébubarbital sur la cholérèse du chien, du lapin et du rat. Ils notent qu'à chaque injection intraveineuse de barbiturique il se produit une réduction fugace du débit biliaire, mais que cette modification est trop discrète pour apparaître sur des échantillons de 30 minutes.

On peut donc conclure de ces divers résultats que l'anesthésie au mébubarbital est justifiée pour la réalisation d'une fistule biliaire aiguë chez le rat, lorsque l'on étudie la fonction biliaire, à condition d'éviter des injections intraveineuses massives du barbiturique. C'est la raison pour laquelle nous nous sommes abstenue de tout entretien de l'anesthésie par voie intraveineuse ; lorsque la nécessité s'en fait sentir nous réalisons un complément sous forme d'une dose minimum (environ 5 à 10 mg par kg) par voie intramusculaire. De plus tous nos résultats ont

été interprétés par comparaison avec des séries témoins où l'anesthésie intervenait de la même façon que dans les séries expérimentales proprement dites.

B. — RECHERCHES SUR LE FOIE PERFUSÉ

L'expérience du foie lavé de CLAUDE BERNARD représente sans doute la première ébauche d'une perfusion mais il est bien certain qu'une telle préparation ne donnait pas de garantie quant à la survie de l'organe.

De nombreuses recherches biochimiques, en particulier sur le glycogène hépatique ont été réalisées depuis ; d'une façon très générale les organes perfusés n'émettaient pas de bile ; ce qui correspond de façon évidente à un mauvais fonctionnement cellulaire.

En 1951, BRAUER, PESSOTTI et PIZZOLATO d'une part, MILLER, BLY, WATSON et BALE d'autre part, ont mis au point des techniques de perfusion par la veine porte d'un foie de rat complètement séparé de l'organisme. La formation continue et prolongée de bile représente un test simple de survie du parenchyme hépatique, mais de nombreuses autres épreuves ont permis de montrer que le foie perfusé conserve les propriétés fondamentales de l'organe *in situ*.

1. — L'appareillage.

La disposition générale des circuits sanguins et gazeux est schématisée sur la figure 1. Le réservoir supérieur, l'entonnoir et le réservoir inférieur servant d'oxygénateur, sont en verre. La pompe de remontée est une pompe de DALE SCHUSTER, type vertical avec poire et soupapes en caoutchouc. Les tubes de jonction sont en polyéthylène tandis que le rotamètre est taillé dans un rondin de Plexiglass.

L'oxygénateur est du type à film liquide. Il est totalement immergé dans un bac rempli d'eau dont la température est maintenue constante, au 1/10^e de degré près, à l'aide d'un thermomètre à contact. L'oxygénateur est alimenté par de l'oxygène pur (1) humidifié par barbotage en bulles très fines dans de l'eau distillée.

Le réservoir supérieur, à niveau constant, est entouré d'une jaquette thermostatique alimentée par l'eau du bac grâce à une pompe de circulation. La pompe de remontée est totalement immergée dans le bac d'eau

(1) Différent de BRAUER qui oxygène avec un mélange O² - CO².

de cette façon l'ensemble du système est maintenu à température constante. Entre la pompe et le réservoir supérieur est intercalé un filtre à sang destiné à retenir les particules de fibrine qui ne manquent pas d'apparaître au cours de la perfusion.

Un débitmètre est inséré dans le circuit de la veine porte. Il s'agit d'un rotamètre dans lequel le déplacement du flotteur modifie la valeur d'une self-impédance insérée dans un pont de mesure. Le déséquilibre de pont est mesuré par un voltmètre électronique et la lecture se fait sur un micro-ampèremètre en même temps qu'un enregistrement continu est réalisé sur un enregistreur à pointé Sadir-Carpentier. L'appareil dont nous disposons permet de mesurer les débits entre 0 et 70 ml par minute.

Tout le dispositif de perfusion est placé dans une enceinte où un chauffage électrique contrôlé par bilame maintient une température de 32° C.

2. — Le milieu de perfusion.

Le milieu nutritif est constitué par du sang de rat dilué de la façon suivante :

Sang de rat (1)	25 ml
Albumine bovine (2)	3 g
Glucose	180 mg
Na Cl (3)	542 mg
K Cl	25,2 mg
Ca Cl ₂	7,2 mg
CO ₃ H Na	37,5 mg
Eau bidistillée (4)	60 ml
PO ₄ H Na ₂ M/10	4 ml
PO ₄ H ₂ K M/10	1 ml

On dispose ainsi de 90 ml de liquide de perfusion, ce qui suffit à faire fonctionner notre appareil, malgré les pertes par évaporation. Cependant dans nos essais sur l'excrétion des acides biliaires nous utilisons 120 ml de milieu avec la même concentration de chacun des constituants.

(1) Obtenu en recueillant sur héparine le sang de trois rats anesthésiés au mébubarbital, héparinés par voie veineuse et saignés par introduction d'un cathéter de polyéthylène dans une carotide.

(2) Albumine desséchée spéciale pour Test de NELSON (POVIET - AMSTERDAM).

(3) Tous les produits minéraux utilisés sont en provenance de Prolabo qualité RP.

(4) Les deux distillations se font sur appareil entièrement en verre Pyrex — Stockage en bonbonnes Pyrex ou Plastique.

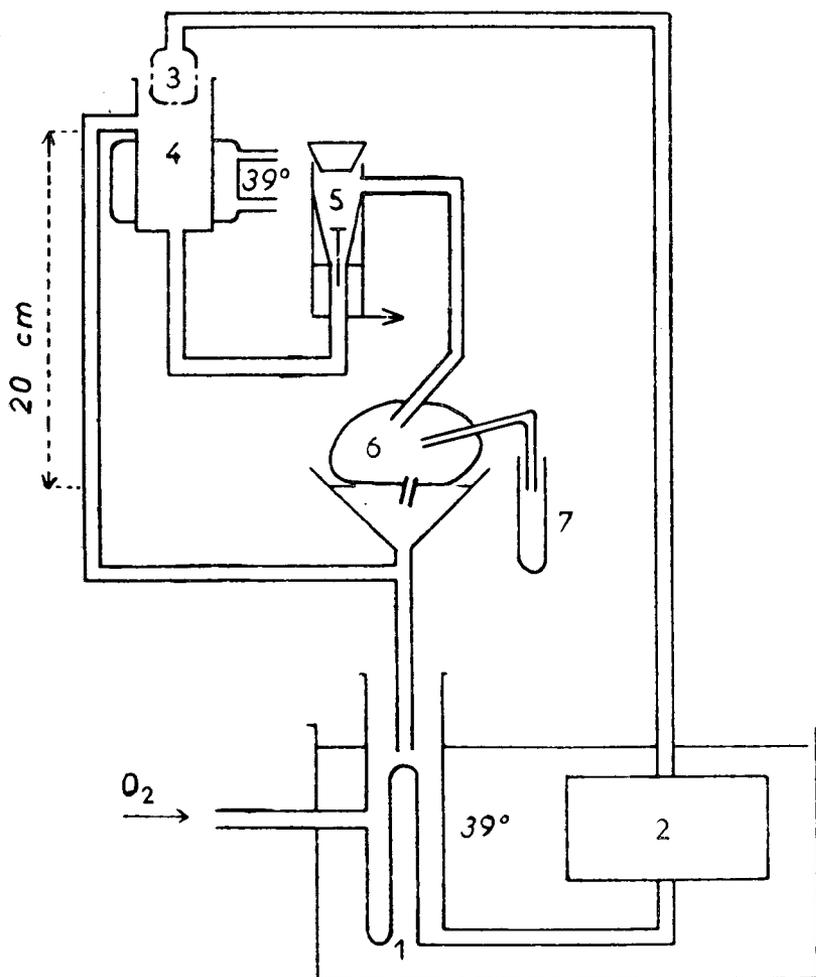


FIG. 1. — SCHÉMA D'UN APPAREIL POUR PERFUSION DU FOIE DE RAT

1. — Oxygénateur (à film liquide).
2. — Pompe de remontée.
3. — Filtre à sang.
4. — Réservoir supérieur à niveau constant.
5. — Débitmètre (rotamètre) avec départ vers l'enregistreur.
6. — Foie.
7. — Bile.

BUS
LILLE

La température (39° C) est donnée à titre indicatif pour montrer la situation du bain-marie et de la jaquette thermostatique.

Notre milieu de perfusion est le même que celui préconisé par BRAUER et coll. ; mais, contrairement à ces auteurs, il n'est pas infusé de solution de remplacement au cours de la perfusion. De plus, nous n'ajoutons pas d'antibiotique, en raison de la courte durée (moins de 5 heures) de nos expériences.

Malgré l'oxygénation par film liquide et non par bullage, il est indispensable d'empêcher la formation de mousse. Ceci est obtenu par rinçage de toute la verrerie avec une solution aqueuse d'un antimousse à base de silicone (émulsion AF 1 Saint-Gobain).

3. — Préparation de l'animal.

Tous les animaux utilisés sont des mâles de souche Wistar d'un poids supérieur à 250 g (1).

L'anesthésie est faite par injection intra-péritonéale de mébubarbital, à raison de 40 mg par kg. L'animal est alors attaché en décubitus dorsal sur une table chauffante et on aborde le foie par une laparotomie médiane avec incisions latérales de décharge. On injecte 2 mg d'héparine par la veine jugulaire et on commence la libération du foie. Les adhérences péritonéales sont coupées avec de fins ciseaux mousses et on sectionne, entre deux ligatures, les vaisseaux qui se rendent à la grosse tubérosité de l'estomac. L'œsophage et les vaisseaux péri-œsophagiens sont également sectionnés entre deux ligatures.

Les constituants du hile du foie sont alors repérés. On dégage le cholédoque dans son trajet intra-pancréatique et, après ligature de son extrémité duodénale, on le cathétérise avec un tube de polyéthylène (Dubernard N° 0 ou Clay Adams PE 50). La veine porte est isolée et, après ligature d'une collatérale gastrique, on pose une ligature du côté intestinal avant d'introduire vers le hile un cathéter en polyéthylène (Clay Adams PE 200 ou PE 205) (2).

Une sternotomie médiane permet d'aborder le cœur et les gros vaisseaux de la base. Le diaphragme est sectionné au ras des insertions costales et on libère la veine cave inférieure dans son trajet intra-thoracique. Tout le sang qui a traversé le foie, passe par les veines sus-hépatiques qui se jettent dans la veine cave inférieure. Une ligature est posée sur la

(1) BRAUER et coll., (1951), ont montré que la survie est plus longue pour les foies prélevés chez les rats mâles.

(2) PE 200 diamètre intérieur 1,40 mm extérieur 1,90 mm.
PE 205 diamètre intérieur 1 57 mm extérieur 2,08 mm.

veine cave inférieure du côté cardiaque et on introduit un cathéter en polyéthylène (Clay Adams PE 200 ou PE 205) dans cette veine en direction du foie. Il ne reste plus qu'à donner quelques coups de ciseaux pour libérer les dernières adhérences qui retiennent le foie en place. Celui-ci est alors placé dans le circuit de perfusion, en prenant soin de ne pas introduire de bulle gazeuse dans le circuit portal.

L'interruption circulatoire est réduite au maximum et en général, ne dépasse pas 3 minutes. L'expérience prouve que dans ces conditions, la survie de l'organe est très satisfaisante pendant plusieurs heures.

4. — Validité de la méthode.

La valeur de la préparation ressort de la comparaison de son comportement par rapport à celui d'un foie en place, normalement vascularisé et innervé.

a) DÉBIT BILIAIRE.

Tous les auteurs qui ont utilisé cette technique, s'accordent à reconnaître que le foie perfusé est capable de former de la bile pendant plusieurs heures. BRAUER et coll. (1951) ont suivi le fonctionnement de l'organe pendant 25 heures, ROBBINS et coll. (1953) pendant 11 h 40 minutes. Personnellement, nous avons étudié de nombreuses perfusions pendant 4 h 1/2, temps suffisant pour nos essais ; l'adjonction d'antibiotique dans le perfusat ne semble alors pas nécessaire.

On remarque toutefois qu'un foie de rat perfusé émet une bile nettement moins abondante que le foie *in situ*. BRAUER rapporte des valeurs moyennes de 5,1 (femelles) et 6,4 (mâles) microlitres par minute ; ROBBINS trouve une sécrétion d'environ 4 μ l/min. et VANLER NBERGHE (1958) de 4,7 μ l/min. (moyennes de la sécrétion de 3 heures calculées sur un lot de 10 mâles). Les expériences témoins à 40° C qui ont servi de base à ce travail, font ressortir une valeur moyenne (calculée sur 3 heures 1/2) de 7,667 μ l par minute.

Toutes ces valeurs sont assez voisines, mais très inférieures à la cholérèse normale d'un rat entier anesthésié au mébubarbital ou à l'uréthane (substances qui pourtant ne sont nullement cho'érétiques). A une température rectale de 38° C, la sécrétion moyenne par minute est de 11,858 μ l dans la série de 10 mâles ayant servi de témoins pour le présent travail.

Il est possible que l'insuffisance sécrétoire du foie perfusé soit due à la composition du milieu de perfusion. Récemment BEDE MORRIS (1960), en ajoutant au perfusat un mélange complexe d'acides aminés

(leucine, phénylalanine, tryptophane, valine, histidine, lysine, isoleucine, glycine, proline, tyrosine, méthionine, thréonine, arginine), améliore très nettement les performances de la préparation puisqu'il obtient à 38° C et à forte pression portale (25 cm d'eau) une sécrétion de l'ordre de 16 μ l par minute.

Nous avons également pu constater que l'albumine bovine utilisée (fraction V de Cohn) jouait un rôle important. Nous utilisons toujours la même qualité de ce produit, c'est-à-dire une albumine totalement dessalée à un degré de pureté minimum de 95 p. 100 ; il existe cependant des lots de préparation totalement impropres à la perfusion sans que l'électrophorèse ou la recherche toxicologique (ions Hg, Ca, Ba qui sont éventuellement utilisés dans les précipitations) expliquent ce phénomène.

Notons à ce propos que les auteurs américains utilisent habituellement de l'albumine cristallisée dont nous n'avons pu disposer en raison de son prix extrêmement élevé (10 fois celui de l'albumine poudre à 95 p. 100).

b) COMPOSITION DE LA BILE.

Il existe dans la littérature peu de données concernant la composition de la bile émise par le foie perfusé. MILLER et coll. (1956) signalent une richesse anormale en bilirubine tandis que BRAUER d'une part, ROBBINS de l'autre, indiquent que la valeur en extrait sec est inférieure à la normale d'environ 25 p. 100.

Dans notre expérience personnelle, il n'y a pratiquement aucune différence entre les extraits secs de la bile de foie perfusé (3,11 mg/100 μ l) et de celle émise par un foie *in situ* (3,06 mg).

Par contre la bilirubine biliaire augmente de façon sensible du début à la fin de la perfusion et se situe toujours nettement au dessus des valeurs normales.

BILIRUBINE mg /LITRE

		Foie perfusé	Foie en place
série de 10 témoins	minimum	227	184
	maximum	526	223
	moyenne sur 210 minutes	381	201

Cette différence est la conséquence d'une hémolyse qui ne manque pas de se produire dans tous les systèmes de perfusion par suite de lésions globulaires lors du brassage du sang.

ROBBINS, BURTON, GOERKE et FRIEDMAN ont montré que la bile du foie perfusé était moins riche en cholate que celle du foie *in situ* : 117 mg p. 100 au lieu de 184 mg. VANLERENBERGHE, GUERRIN et MILBLED (1960) ont apporté des précisions sur ce point en utilisant une méthode de séparation électrophorétique des sels biliaires dans la bile ; ils montrent que le déficit porte surtout sur le taurocholate, mais également sur le glycocholate. Ils constatent également que l'appauvrissement en taurocholate, constituant principal chez le rat, est particulièrement rapide puisque, très marqué dès le 2^e ou le 3^e échantillon, il conduit à un échantillon n° 6 contenant environ 5 fois moins de taurocholate que le n° 1. En 1961 les mêmes auteurs observent que l'adjonction de cholate au milieu de perfusion permet d'augmenter la concentration biliaire du taurocholate et du glycocholate, ce qui démontre que la préparation est capable de réaliser la conjugaison de l'acide cholique avec la taurine et le glycolle.

c) EXCRÉTION DES COLORANTS.

Le foie perfusé élimine les colorants acides (brome-sulfone-phtaléine) et basiques (rouge neutre) sous une concentration bien plus élevée que dans le milieu de perfusion. BRAUER et coll. (1951) avaient déjà observé que l'adjonction à 100 ml de perfusé d'une dose unique de 2,2 mg de B.S.P. conduisait à une concentration biliaire de 500 mg pour 100 ml. VANLERENBERGHE (1958), dans des conditions expérimentales identiques, obtient des valeurs analogues (300 à 550 mg pour 100 ml de bile).

Dans nos séries témoins qui reçoivent une dose de charge de 2 mg suivie d'une infusion continue de 1 mg/h, nous avons pu constater que le taux biliaire maximum des colorants se trouvait aux environs de 300 mg pour 100 ml pour la B.S.P. de 200 mg pour 100 ml pour le rouge neutre, ce qui représente des gradients de concentration sang/bile, de l'ordre de 100 à 150.

Chez le rat entier, on obtient des concentrations biliaires voisines en utilisant une dose de charge de 2 mg suivie d'une infusion continue de 2 mg par heure,

Ces résultats montrent nettement que le foie perfusé a conservé le pouvoir de capter certains colorants et de les excréter dans la bile sous une forte concentration.

d) ACTION DES CHOLÉRÉTIQUES.

Le déhydrocholate de sodium augmente la cholérèse d'un foie perfusé ; initialement observé par BRAUER et PESSOTTI (1952), ce phénomène a été retrouvé par VANLERENBERGHE en 1958. Dans ce travail, nous avons également constaté une réponse constante de la préparation à ce cholérétique.

e) FORMATION DE GLYCOGÈNE.

Lorsque le perfusé est suffisamment riche en glucides, le foie perfusé se charge de glycogène, au moins lorsque la perfusion est faite dans le sens normal de la circulation, c'est-à-dire de la veine porte vers les veines sus-hépatiques (MILLER, BURKE et HAFT, 1956).

f) MÉTABOLISME PROTIDIQUE.

MILLER et coll. (1956) ont observé que le foie perfusé était capable d'oxyder certains acides aminés tels la lysine et l'histidine et de réaliser la synthèse de l'urée ; les possibilités fonctionnelles sont bien supérieures à celles des tranches de foie.

g) DÉBIT SANGUIN TRANS-HÉPATIQUE.

Les travaux de BRAUER, PESSOTTI et PIZZOLATO (1951) sur le foie perfusé et sur l'animal entier permettent d'affirmer que la perfusion s'accompagne d'une vaso-dilatation importante puisque, à pression égale, le débit du foie perfusé est environ quadruple de celui du foie en place.

BRAUER, LEONG, HOLLOWAY, KREBS et PESSOTTI (1954) ont également montré que l'adjonction de sang de rat, frais, au perfusé déterminait une réduction temporaire du débit sanguin trans-hépatique, ce qui permet de penser qu'un facteur humoral d'origine tissulaire extra-hépatique tient sous sa dépendance le tonus vasculaire.

De toute façon, la survie des fibres musculaires lisses des vaisseaux est assurée puisque la préparation répond par une vaso-constriction à l'adrénaïne et à la noradrénaïne (BRAUER, LEONG et PESSOTTI, 1953).

Il ressort des données exposées ci-dessus que le foie perfusé possède les propriétés fondamentales du foie en place et qu'en particulier il peut former de la bile pendant plusieurs heures. Cette bile moins abondante que normalement, est plus riche en bilirubine mais son extrait sec est

diminué. Enfin, la préparation élimine les colorants avec concentration importante et peut conjuguer l'acide cholique.

Il nous semble que ces résultats justifient l'emploi de la méthode dans l'étude des mécanismes intimes de la cholérèse, bien qu'une telle préparation soit privée de ses connexions nerveuses et hormonales. D'ailleurs, des contrôles histologiques (BRAUER, 1951 ; VANLERENBERGHE, 1958) ont montré qu'après 3 heures de perfusion, l'aspect microscopique était pratiquement normal dans la plupart des expériences avec parfois un peu d'œdème ou des hémorragies interstitielles. Des lésions discrètes de nécrose cellulaire ou de dégénérescence vacuolaire peuvent être observées ; il s'agit toujours de lésions limitées, localisées à la périphérie des lobules.

C. — LE DÉROULEMENT DES EXPÉRIENCES

1. — La bile est collectée dans de petits tubes gradués, par échantillons de 30 minutes. Nos expériences sont généralement réalisées de la façon suivante :

— deux échantillons de 30 minutes sont recueillis à la température normale. (38° C rectal pour l'animal entier. Bain-marie à 40° C pour le foie perfusé) ;

— puis on réalise l'abaissement thermique (rat sur une table refroidie - glace dans le bain-marie) pendant l'échantillon n° 3.

Quatre échantillons sont alors étudiés,

— éventuellement un réchauffement est mis en œuvre pendant 30 à 90 minutes pour rechercher la réversibilité de l'action du froid.

2. — Administration des colorants.

Pour apprécier assez facilement l'action de l'hypothermie sur l'excrétion biliaire des colorants, il est souhaitable que la concentration de ces substances dans la bile soit constante ou évolue selon une courbe linéaire.

Après administration d'une dose unique de B.S.P. ou de rouge neutre, on constate une décroissance extrêmement rapide de la concentration biliaire du colorant. La pente de la courbe est beaucoup plus faible lorsqu'après une dose de charge, on met en œuvre une infusion continue du même colorant. Cette infusion continue est réalisée au moyen d'une seringue dont le piston est commandé par un moteur synchrone.

ANIMAL ENTIER. — Pour la Brome-sulfone-phtaléine et le Rouge neutre, nous utilisons une dose de charge de 2 mg (volume 0,5 ml) suivie d'une infusion au taux de 2 mg par heure (volume 1,2 ml par heure). Dès que l'on commence à recueillir la bile, on injecte dans la jugulaire la dose de charge et on met en route l'infusion continue.

FOIE PERFUSÉ. — La technique est identique à celle utilisée chez l'animal entier mais avec une dose de charge de 2 mg (volume 1 ml) et une infusion continue à raison de 1 mg par heure (volume 1,2 ml par heure).

Les doses indiquées ci-dessus ont été déterminées par tâtonnement afin d'obtenir une courbe d'excrétion biliaire (en concentration) pratiquement linéaire sur une partie de son trajet.

La B.S.P. et le Rouge neutre sont excrétés de façon sensiblement identique par le foie perfusé. La concentration, maximum dans l'échantillon n° 2, décroît ensuite régulièrement. Les valeurs notées avec le Rouge neutre sont plus basses que celles obtenues avec la B.S.P.

Chez l'animal entier, l'évolution des phénomènes est très différente. La B.S.P. est excrétée très rapidement et on la voit apparaître dans la bile dès la dixième minute ; son taux biliaire est maximum dans l'échantillon 1 et se stabilise à partir de l'échantillon 3. Le Rouge neutre est excrété plus tardivement ; à partir de l'échantillon 2, sa concentration est importante et reste pratiquement constante, mais toujours inférieure à celle de la B.S.P.

3. — Action des cholérétiques.

Le déhydrocholate de sodium est administré en dose unique à raison de 2 mg pour une perfusion (volume 1 ml) et de 50 mg par kg. chez l'animal entier (injection intra-jugulaire lente d'une solution à 25 g par litre).

Chez l'animal entier deux séries témoins ont été réalisées, l'une avec injection du cholérétique à la fin de l'échantillon n° 2, l'autre avec injection à la fin de l'échantillon n° 3. Dans le premier cas, la comparaison a été faite avec l'action du déhydrocholate de sodium sur un rat refroidi à 25° par séjour au réfrigérateur (+ 4° C) après narcose. La seconde série a été comparée avec des animaux traités de la façon suivante : 2 échantillons à une température de 38° C, mise en œuvre du refroidissement ce qui permet de recueillir un échantillon 3 à basse température, puis action du cholérétique à la fin de ce 3^e échantillon.

Cette seconde méthode est moins satisfaisante que la précédente car elle ne permet pas de fixer avec précision la cholérèse de base en hypothermie.

Sur le foie perfusé, le déhydrocholate est toujours ajouté au perfusat à la fin de l'échantillon n° 2, la température étant maintenue pendant toute l'expérience à un niveau constant : 40° C pour les témoins, 25° C pour les essais en hypothermie.

4. — Excrétion des sels biliaires.

Pour maintenir un taux biliaire élevé de taurocholate, il est nécessaire d'ajouter constamment au perfusat une solution de cho'ate de sodium. Cette infusion, réalisée avec une seringue à injection continue se fait au rythme de 5 mg de cholate par heure (volume 1,2 ml par heure).

Ce taux d'infusion a été choisi d'après le travail de VANLERENBERGHE, GUERRIN et MILBLED (1961) démontrant que le foie perfusé conjugue l'acide cholique avec la taurine et le glycocole. Ces auteurs ont en effet observé que l'administration de cholate, à raison de 2 mg par heure permettait d'élever la teneur de la bile en taurocholate, sensiblement au-dessus du niveau des perfusions témoins; dans ces conditions il persiste toutefois un déficit important par rapport à la bile du rat entier. C'est la raison pour laquelle nous avons pensé souhaitable d'utiliser la dose de 5 mg/heure qui permet d'obtenir des concentrations biliaires en sels, plus proches de la normale, et qui évite la diminution progressive de ces constituants dans la bile.

II. - TECHNIQUES DE DOSAGE -

A. — EXTRAIT SEC

La mesure est réalisée par pesées au 1/50 de mg, après dessiccation sous vide en présence de Ca Cl_2 , de la bile placée dans des verres de montre. En général, la détermination est faite sur 100 μl , mais lorsque la quantité de bile est inférieure à cette valeur, nous utilisons des quantités moindres, mais jamais inférieures à 20 μl .

B. — PIGMENTS BILIAIRES

Étant donné que nous disposons de quantités de bile toujours très petites, nous avons rejeté systématiquement toutes les méthodes de dosage donnant lieu à des manipulations plus ou moins complexes. Nous avons préféré la détermination colorimétrique directe. Cette technique permet en outre de vérifier si le pigment excrété se modifie qualitativement et en particulier de rechercher l'apparition de biliverdine qui, à l'état normal, n'existe pas dans la bile de rat.

De nombreux auteurs ont étudié le spectre d'absorption des pigments biliaires et dès 1928, HEILMEYER et WAPPLER évaluent la cholémie par

cette méthode. En 1939, BARAC réalise des mesures photométriques satisfaisantes en utilisant un filtre S 43.

Depuis lors, les travaux de POLONOVSKI et BOURRILLON (1952) de CHARBONNIER et FARON (1955) ont montré que l'absorption maximum se faisait pour la bilirubine biliaire à 420 m μ , mais qu'un autre sommet plus ou moins instable se situait aux environs de 450 m μ ; ce second sommet est prépondérant dans certaines biles. Il semble que ces différences d'absorption directe soient à rapporter à l'existence de formes mono et di conjuguées de la bilirubine avec l'acide glycuronique (SCHMID, 1956).

Pour tenir compte de ces deux sommets nous déterminons le spectre d'absorption de la bilirubine entre 370 et 480 m μ , en 18 points : 370, 375, 380, 390, 400, 405, 410, 415, 420, 425, 430, 435, 440, 450, 460, 465, 470 et 480 m μ . La quantité de bilirubine est calculée par comparaison avec une gamme étalon établie à partir de dilutions de bilirubine HOFFMAN LA ROCHE, mise en solution dans NaOH N/100. La concordance entre les surfaces données par les courbes d'absorption, mesurées à l'intégrateur de surfaces, et la simple somme des valeurs d'absorption (en densité optique) pour les longueurs d'onde précitées est bonne et nous avons préféré utiliser cette somme plutôt qu'une mesure de surface après traçage du spectre par interpolations.

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre JOBIN et YVON, avec lampe à filament de tungstène et cuve de verre à trajet optique de 10 mm. La bile est examinée après dilution au 1/151 (20 μ l de bile dans 3 ml d'eau distillée) directement dans les cuves du spectrophotomètre. Pour éviter l'oxydation de la bilirubine, la bile est conservée à l'abri de la lumière et diluée juste avant le dosage.

C. — DOSAGE DE LA BROME SULFONE PHTALEINE

La brome sulfone phtaléine (B.S.P.) est facile à étudier dans la bile, car elle s'y trouve sous forte concentration. De plus l'intensité de la coloration qui se développe en milieu alcalin, permet le dosage même dans de très petites quantités de bile.

NYS et ALLIOT à l'occasion d'une étude critique du test de la B.S.P. ont précisé la technique de dosage de ce colorant qui devient rouge violet en milieu fortement alcalin, alors qu'il est incolore en milieu acide. Ils ont insisté sur quelques points particuliers. Le maximum de l'absorp-

tion spectrale se situe selon les auteurs, et pour les prélèvements récents, à 575, 578 ou 580 $m\mu$. Il est conseillé cependant de faire la lecture à 580 $m\mu$ car la diminution de la densité optique, avec le vieillissement, est moindre à cette longueur d'onde qu'à 575 ou 578 $m\mu$. Pour une lecture à 580 $m\mu$, l'intensité de la coloration peut même rester stable pendant 24 heures. Il est cependant indiqué de faire la lecture à 580 $m\mu$, dans les premières heures qui suivent l'alcalinisation de l'échantillon contenant la B.S.P. à doser.

La présence de protéines (qui sont d'ailleurs à des concentrations très faibles dans la bile) n'est pas de nature à gêner le dosage car elles n'interfèrent pas sur la valeur du maximum d'absorption de la B.S.P. ; la présence de bilirubine n'est pas gênante car ses maximums d'absorption sont suffisamment éloignés de celui de la B.S.P. Par contre, l'hémoglobine serait extrêmement gênante par son absorption propre à 578 $m\mu$. Elle ne perturbe pas les dosages dans la bile, mais rend difficile la mesure du taux de la B.S.P. dans le milieu de perfusion du foie isolé, surtout en fin d'expérience.

Nous avons effectué les mesures de la densité optique de la bile diluée au 1/751 dans la soude N/100. La lecture est faite au spectrophotomètre JOBIN et YVON à 580 $m\mu$, dans des cuves de verre à trajet optique de 10 mm.

Le taux de la concentration de la bile, en mg de B.S.P., est obtenu par comparaison avec une courbe d'étalonnage établie pour des dilutions connues de B.S.P. dans la soude N/100.

D. — DOSAGE DU ROUGE NEUTRE

A notre connaissance, il n'existe pas de document pour l'évaluation du rouge neutre dans les milieux biologiques. Nous avons recherché le maximum d'absorption, en établissant des courbes d'absorption spectrophotométrique de ce colorant, dans des milieux aqueux à différents pH.

Nous avons obtenu la plus grande sensibilité dans nos mesures pour des lectures faites à 530 $m\mu$ après dilution de la bile contenant le rouge neutre dans de l'acide chlorhydrique N/100.

Nous avons donc effectué les mesures de densité optique au spectrophotomètre JOBIN et YVON à 530 $m\mu$ pour des dilutions de bile au 1/501 dans l'acide chlorhydrique N/100.

Comme pour la B.S.P., les évaluations pondérales sont obtenues en se rapportant à une courbe étalon.

E. — TECHNIQUE D'ÉTUDE ET DE DOSAGE DES SELS BILIAIRES

Le choix d'une technique de dosage des sels biliaires est en apparence facile, si l'on se réfère à la multiplicité des méthodes proposées : colorimétrie, fluorescimétrie, spectrophotométrie, électrophorèse, chromatographie. Cependant, nous nous heurtons à deux difficultés fondamentales : celle d'une étude à la fois qualitative et quantitative, de mélanges de sels biliaires susceptibles de varier dans leur composition au cours de l'expérience, celle de dosages à faire sur des échantillons nombreux et toujours de très faible volume.

— *Les méthodes colorimétriques* sont les plus couramment utilisées car les sels biliaires donnent facilement des réactions colorées. Elles sont toutes dérivées, de façon plus ou moins directe, de la technique de PETTENKOFER, qui date de 1844 et consiste en l'appréciation de la coloration violet rouge que donne l'addition d'acide sulfurique et de saccharose.

— *Les techniques fluorescimétriques* sont basées sur la propriété des sels biliaires de donner une fluorescence bleue verte en milieu sulfurique. Ceci nécessite des extractions qui permettent d'isoler les sels biliaires d'autres substances donnant aussi une fluorescence.

MINIBECK en 1938 est le premier à préciser cette technique qui est améliorée par PESEZ en 1953 par l'étude de l'intensité de la fluorescence de l'acide cholique en lumière de WOOD, puis par WARTER, METAIS, FUMEY en 1957.

— *La méthode spectrophotométrique* mise au point par BANDOW qui montre que les acides biliaires en milieu sulfurique, peuvent donner des spectres d'absorption dans l'ultra-violet. Une bande d'absorption principale existe à 385 m μ pour l'acide cholique, à 310 m μ , pour l'acide désoxycholique. Des concentrations variées en acide sulfurique permettent d'obtenir des courbes d'absorption caractéristiques de certains acides biliaires. KIER trouve des résultats qui confirment ceux de BANDOW, METAIS et DEISS établissent des courbes d'absorption dans l'ultra violet, des acides taurodésoxycholique, chénodésoxycholique, glycochénodésoxycholique, taurochénodésoxycholique. Des courbes d'étalonnage des

maximums d'absorption peuvent être obtenues pour des concentrations différentes de façon à réaliser des dosages quantitatifs.

— *La méthode chromatographique* est très séduisante, car elle permet grâce au choix judicieux des solvants de séparer la plupart des acides biliaires. Elle résulte surtout des travaux de l'école suédoise de LUND. BERGSTROEM et SJOVALL obtiennent des résultats d'ordre qualitatif par chromatographie sur colonne d'alumine ou de gels de silice ; l'utilisation des solvants à base de ch'loroforme ou de N - butanol, permet de séparer les acides biliaires libres et conjugués et de les titrer.

La chromatographie sur papier permet d'identifier la plupart des acides biliaires, de distinguer les glyco des tauroconjugués et même de séparer les différents glycoconjugués comme le glycocholate, le glyco-désoxycholate, le glycochénodésoxycholate.

Pour réaliser la séparation chromatographique sur papier, BERGSTROEM et SJOVALL prennent comme phase stationnaire : l'acide acétique à 70 p. 100 et comme phase mobile : des mélanges d'éther isopropylique-heptane ou d'acétate d'amyle-heptane, ou de ch'lorure d'éthylène-heptane ou du butanol. KRITCHEVSKY préfère les solvants à base d'alcool isopropylique, d'ammoniaque et d'éthanolamine.

— *La méthode de séparation électrophorétique* des sels biliaires a été préconisée par BISERTE, VANLERENBERGHE et GUERRIN. Elle consiste en une migration électrophorétique sur papier en tampon acide et permet la séparation de plusieurs acides et sels biliaires, notamment la distinction entre taurocholate, glychocholate et cholate. Les acides biliaires possèdent un groupement carboxylique qui leur confère une légère acidité, ce qui explique sans doute en partie, leur séparation électrophorétique. La même explication s'applique à la séparation électrophorétique dans les mêmes conditions, des séromucoïdes ou des acides aminés dicarboxyliques.

L'analyse de ces techniques laisse peu de possibilités pour l'étude que nous nous proposons.

Les méthodes colorimétriques et fluorescimétriques fournissent un résultat global que l'on exprime en acide cholique, mais qui n'a de valeur que si la teneur du milieu est constante en ce qui concerne le pourcentage des différents acides biliaires. La spectrophotométrie est d'emploi délicat dans les mélanges de sels biliaires en raison des chevauchements des spectres d'absorption.

Il semble donc nécessaire de faire précéder le dosage proprement dit d'une séparation des divers constituants.

La chromatographie sur papier permet une analyse quantitative, lorsqu'elle est suivie d'une évaluation photométrique des tâches co'orées ou d'une élution des tâches avec lecture photométrique secondaire. L'analyse qualitative qu'elle permet, par le jeu des systèmes solvants est extrêmement fine. Malheureusement c'est une méthode très longue, totalement inadaptée à nos recherches portant sur un grand nombre d'échantillons de petit volume. Elle nécessite en effet, des chromatographies multiples, faites avec des systèmes solvants différents pour les divers acides biliaires.

La séparation électrophorétique par contre, offre la possibilité d'une étude qualitative fine, du moins pour l'acide cholique et ses conjugués : acide taurocholique, acide glycocholique, qui se séparent parfaitement en migration sur papier. Elle permet aussi une étude quantitative dont la précision est satisfaisante, soit par l'élution des différentes tâches d'acides biliaires obtenues, soit par l'enregistrement photodensimétrique direct. Elle a le gros avantage d'être relativement simple.

Nous avons utilisé la technique de séparation électrophorétique de BISERTE, VANLERENBERGHE et GUERRIN, qui nous paraissait la mieux adaptée à nos recherches et qui d'ailleurs avait été mise au point essentiellement pour le dosage des acides biliaires dans la bile de rat.

Les acides biliaires des divers échantillons de bile sont extraits par addition d'éthanol absolu à volume égal. Après centrifugation le surnageant est recueilli. Une telle extraction, qui ne suffit pas pour certaines biles riches en protéines comme celle du porc, est suffisante pour la bile de rat. Les étalements sont de 20 ou 40 microlitres du soluté alcoolique ainsi obtenu (selon la richesse de la bile en sels biliaires).

L'électrophorèse est menée sur du papier relativement épais. Nous avons d'abord utilisé le papier Arches 304, puis le papier Edero 202 qui procure une meilleure résolution des tâches. Les feuilles sont disposées en V renversé, dans des cuves closes avec support de type Durrum. Le papier une fois en place est imprégné du tampon acide (pH 3,9) de MICHL, pyridine 30 ml, acide acétique 100 ml, eau distillée q.s. pour 5000 ml.

Nous avons utilisé la pyridine MERCK (spéciale pour chromatographie) qui n'oblige pas à une redistillation nécessaire pour éviter des artefacts de coloration. C'est seulement lorsque l'imbibition des feuilles

par le tampon est complète et homogène, que les étalements des solutions à étudier sont faits à l'aide d'une micropipette, soit à 12 cm, soit à 17,5 cm, de l'extrémité cathodique de la feuille selon le modèle de cuve utilisé. Les dépôts ont 1 cm de largeur et sont séparés les uns des autres de 3 cm, sur un front de 28 cm de large, de façon à éviter les effets de bord. Sur chaque feuille, à côté des échantillons à étudier, sont déposées des solutions témoins de taurocholate et de glycocholate de sodium de concentrations connues.

La migration d'une durée de 6 heures est faite sous une tension stabilisée de 500 volts et les feuilles sont immédiatement séchées à l'étuve à une température de 80° C.

L'emplacement des acides biliaires est révélé par la technique de coloration que BERGSTROEM et SJOVALL emploient pour la chromatographie sur papier des acides biliaires. Les feuilles sont passées pendant deux minutes et demie dans une solution à 10 p. 100 d'acide phosphomolybdique dans l'éthanol à 95°. Cette solution doit être fraîchement préparée, filtrée et maintenue à l'abri de la lumière. Les feuilles de papier sont uniformément jaunes après le séjour dans le bain colorant ; elles sont ensuite mises à l'étuve à 80° C. Les acides biliaires apparaissent colorés en bleu sur fond jaune à partir de la 3^e ou 4^e minute à l'étuve. Les feuilles sont enlevées de l'étuve après quatre minutes et demie ; un séjour plus prolongé altère la coloration de fond et rend l'enregistrement photodensitométrique moins précis.

Les acides cholique, glycocholique, taurocholique, taurochéno-désoxycho'ique sont séparés dans l'ordre cité et dans le sens de migration cathode-anode. L'acide cholique a ainsi la migration anodique la moins forte dans ces conditions d'expérience.

En raison du grand nombre d'échantillons étudiés, nous avons préféré l'enregistrement photodensitométrique direct à la technique d'élu-tion appliquée par SJOVALL aux séparations chromatographiques sur papier.

Les enregistrements des tâches colorées furent d'abord faits par photodensimétrie à l'aide de l'appareil Photovolt muni d'un écran de 6150 Å, couplé à un enregistreur par l'intermédiaire d'un amplificateur logarithmique, ce qui permet d'obtenir les diagrammes densitométriques dont il reste ensuite à planimétrer les pics correspondant aux tâches colorées des différents acides biliaires.

Nous avons ensuite disposé d'un enregistreur photométrique Beckman R Analytrol qui possède un intégrateur automatique des surfaces et que nous avons muni d'écrans de 6500 Å.

Pour chaque feuille de migration, nous comparons les surfaces obtenues à partir des tâches des divers acides biliaires séparés depuis les échantillons de bile, à celles correspondant à des témoins d'acides biliaires purs soumis à la même migration électrophorétique.

La transformation surface/poids se fait au moyen de courbes de références établies à partir de dilutions connues d'acide cholique, glycocholique ou taurocholique.

Dans nos conditions expérimentales, il apparaît que les biles émises par le foie perfusé et par le rat entier, comportent deux composants principaux : l'acide taurocholique et l'acide glycocholique et quelques composants secondaires, dont l'acide taurochénodésoxycholique, que nous avons négligé en raison de son inconstance et de son taux très faible.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Ce travail rapporte les résultats de nos

— 112 essais sur animal entier,

— 101 perfusions de foie,

et nous avons en outre utilisé quelques expériences témoins, antérieurement réalisées au Laboratoire (1).

Les résultats sont fournis sous forme de tableaux qui contiennent les valeurs obtenues pour chaque expérience, dans des colonnes numérotées de 1 à 8, correspondant aux échantillons successifs de 30 minutes. Pour chaque colonne, la moyenne arithmétique des nombres a été calculée. Dans la colonne intitulée : poids du rat, figure le poids de l'animal lorsqu'il s'agit d'une fistule extemporanée et le poids du rat donneur de foie, dans les expériences de perfusion.

En outre, dans chaque perfusion nous avons noté le débit sanguin transhépatique.

Les valeurs moyennes des principaux résultats obtenus ont été reprises pour construire des courbes par points, plus faciles à lire que des histogrammes. Certains résultats provenant du calcul, tels les débits de bilirubine et les débits de colorants (concentration biliaire X volume de bile en 30 minutes) ne sont pas donnés sous forme de tableaux de nombres, mais uniquement en représentation graphique des valeurs moyennes.

(1) Seules ont été retenues les expériences menées à terme sans incident. Tous les essais partiels, soit par mort de l'animal avant le 6^e échantillon, soit par mauvaise survie de la préparation de foie perfusé, ont été systématiquement éliminés.

I. - ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR LE VOLUME BILIAIRE.

A. — ANIMAL ENTIER

Trois séries d'expériences ont été réalisées, portant chacune sur 10 animaux

- une série témoin à 38° C (température rectale),
- une série à 30° C
- une série à 25° C

L'hypothermie est déclanchée à la fin de l'échantillon 2 et se prolonge 120 minutes. Un réchauffement est alors mis en œuvre.

Chez tous les animaux, le refroidissement détermine une diminution de la cholérèse, d'autant plus marquée que la température est plus basse.

Lorsque l'équilibre thermique est obtenu, on constate que la valeur moyenne de débit biliaire est très stable ; la réduction de la cholérèse est d'environ 30 p. 100 à 30° C ; 50 p. 100 à 25° C.

Lors du réchauffement de fin d'expérience, il s'est produit dans tous les cas, une élévation du débit biliaire qui peut atteindre ou même dépasser le niveau de départ. Dans la limite 38 - 25 degrés, les phénomènes observés sont donc parfaitement réversibles.

RATS ENTIERS TÉMOINS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en $\mu\text{l}/30 \text{ min.}$								Extrait sec en $\text{mg}/100 \mu\text{l}$								Bilirubine en mg/l							
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
G 5	8-1-57	140	281	240	269	296	299	297	285	294	3,13	3,04	2,84	2,47	2,50	2,47	2,65	2,62	148	170	176	146	140	138	144	158
G 6	10-1-57	170	251	289	299	291	285	301	266	235	2,94	3,31	3,01		2,70	2,69	2,57	2,59	164	182	196	274	226	252	252	
G 7	15-1-57	160	264	305	317	315	314	316	302	270	3,77	3,70	3,28	2,94	2,94	2,82	2,71	2,57	220	200	224	194	210	240	240	246
G 8	17-1-57	160	269	294	308	317	308	294	285	253	4,14	3,08	2,59	2,23	2,24	2,29	2,20	2,57	218	200	176	162	180	182	208	200
G 259	7-3-62	240	210	235	235	255	265	260	240		4,64	3,06	2,85	2,55	2,76	2,40	2,28		220	205	185	207	213	194	282	
G 260	12-3-62	250	330	340	325	375	345	360	340		4,04	3,35	3,78	3,20	3,10	2,85	2,60		202	189	224	240	248	211	165	
G 261	13-3-62	280	350	400	445	515	550	495	440		3,68	4,21	3,90	3,85	3,25	3,55	3,25		256	235	198	211	203	196	199	
G 262	14-3-62	260	430	440	475	520	540	505	490		3,24	2,80	2,71	2,65	2,68	2,50	2,45		185	167	167	159	162	195	199	
G 263	14-3-62	260	390	415	435	495	445	390	320		4,35	3,37	3,08	2,76	2,65	2,55	2,67		206	149	158	187	213	214	264	
G 264	15-3-62	260	500	400	475	455	460	430	425		4,45	4,10	3,85	3,35	3,15	3,00	2,81		184	143	173	212	189	240	281	
Moyennes		218	327	335	358	383	381	365	339	263	3,84	3,40	3,19	2,89	2,80	2,71	2,62	2,59	200	184	187	199	208	206	223	201

TABLEAU 1

RATS ENTIERS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en $\mu\text{l}/30 \text{ min.}$								Extrait sec en $\text{mg}/100 \mu\text{l}$								Bilirubine en mg/l								
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	
F 1	1-2-62	250	515	420	315	280	345	320																			
F 2	2-2-62	270	355	355	255	245	220	215	285	375	4,50	3,65	3,35	3,05	2,58	2,75	2,84	2,87	209	214	188	162	127	178	157	233	
F 3	5-2-62	290	255	220	180	130	140	135	210	300	4,15	3,88	3,50	3,20	2,97	3,05	3,20	2,95	266	244	210	162	186	202	220	240	
F 4	6-2-62	260	270	260	195	125	110	155	235	315	4,10	3,50	3,20	3,50	3,00	3,08	2,95	3,14	337	314	308	258	249	252	277	366	
F 5	7-2-62	250	475	385	285	240	240	215	310	385	4,00	4,00	3,65	3,35	3,05	2,05	2,70	3,35	186	217	193	163	158	179	171	223	
F 6	8-2-62	250	455	425	250	235	260	270	330	440	4,45	4,15	3,80	3,55	3,35	3,25	2,95	3,10	193	218	213	189	187	216	306	437	
F 7	9-2-62	250	445	460	370	310	315	330	385	560	3,60	2,95	2,55	2,15	2,10	2,30	2,35	2,35	160	162	176	128	133	146	164	250	
F 8	12-2-62	260	270	260	195	150	190	190	220		4,30	3,90	3,50	2,85	2,85	3,10	2,65	3,00	260	239	253	190	204	200	258	312	
F 46	9-4-62	250	235	270	195	140	135	185	245	335	4,20	3,25	2,90	2,75	2,55	2,25	2,40	2,33	233	241	192	229	180	162	207	252	
F 47	10-4-62	260	365	395	260	205	245	270	315	405	4,35	3,88	3,40	3,20	3,90	3,30	3,10	3,15	234	186	143	90	113	140	208	267	
Moyennes		259	364	345	250	206	220	228	282	389	4,22	3,71	3,36	3,51	2,95	2,83	2,69	2,91	229	222	206	183	166	185	219	286	

Action de l'hypothermie à 30° sur — le volume biliaire
 — l'extrait sec de la bile
 — la bilirubine biliaire

Abaissement de la température en fin d'échantillon n° 2
 Réchauffement en fin d'échantillon n° 6

TABLEAU 2

RATS ENTIERS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en $\mu\text{l}/30 \text{ min.}$								Extrait sec en $\text{mg}/100 \mu\text{l}$								Bilirubine en mg/l							
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
F 9	13-2-62	260	330	255	200	90	110	135	200	300	4,05	3,90	3,80	3,71	4,20	2,85	2,60	2,70	318	292	295	229	230	213	236	262
F 10	14-2-62	250	370	375	260	165	190	225	235	365	4,15	3,40	3,05	2,80	2,50	2,80	2,63	2,60	278	285	303	244	268	305	309	322
F 11	15-2-62	250	195	220	165	85	100	125			4,10	4,00	3,80	4,00	3,91	3,63			389	325	306	270	242	256		
F 12	16-2-62	250	195	180	120	60	70	85	105	190	4,50	3,50	3,59	3,50	3,62	2,60	3,25	2,50	332	347	347	320	293	288	275	301
F 13	19-2-62	260	370	380	300	180	145	120	170	310	4,95	4,15	3,75	3,50	3,66	3,38	2,70	2,75	248	222	227	203	202	218	195	206
F 14	20-2-62	260	425	415	310	160	140	135	130		3,80	3,60	3,30	2,90	2,84	3,13	2,68		265	248	347	206	266	209	273	249
F 15	21-2-62	240	370	390	285	210	185	190	265	370	4,45	3,60	3,25	3,15	2,75	2,45	2,40	2,35	245	343	258	302	187	211	199	219
F 16	22-2-62	270	415	400	385	190	165	160	245	370	4,27	3,78	3,40	3,70	4,00	3,56	2,75	2,70	247	235	219	227	201	235	232	303
F 17	23-2-62	280	370	320	225	145	90	105	150	320	4,17	3,65	3,60	3,26	3,53	3,46	3,20	2,90	315	265	236	202	223	296	186	343
F 45	6-4-62	240	360	340	230	130	130	140	235	375	4,50	3,90	3,25	3,40	2,76	2,75	2,35	2,60	130	147	109	143	144	122	129	177
Moyennes		256	340	327	248	141	132	142	193	325	4,29	3,75	3,48	3,39	3,38	3,06	2,73	2,64	277	271	265	235	226	235	226	265

Action de l'hypothermie à 25° sur — le volume biliaire
 — l'extrait sec de la bile
 — la bilirubine biliaire

Abaissement de la température en fin d'échantillon n° 2

Réchauffement en fin d'échantillon n° 6

TABLEAU 3

Bile

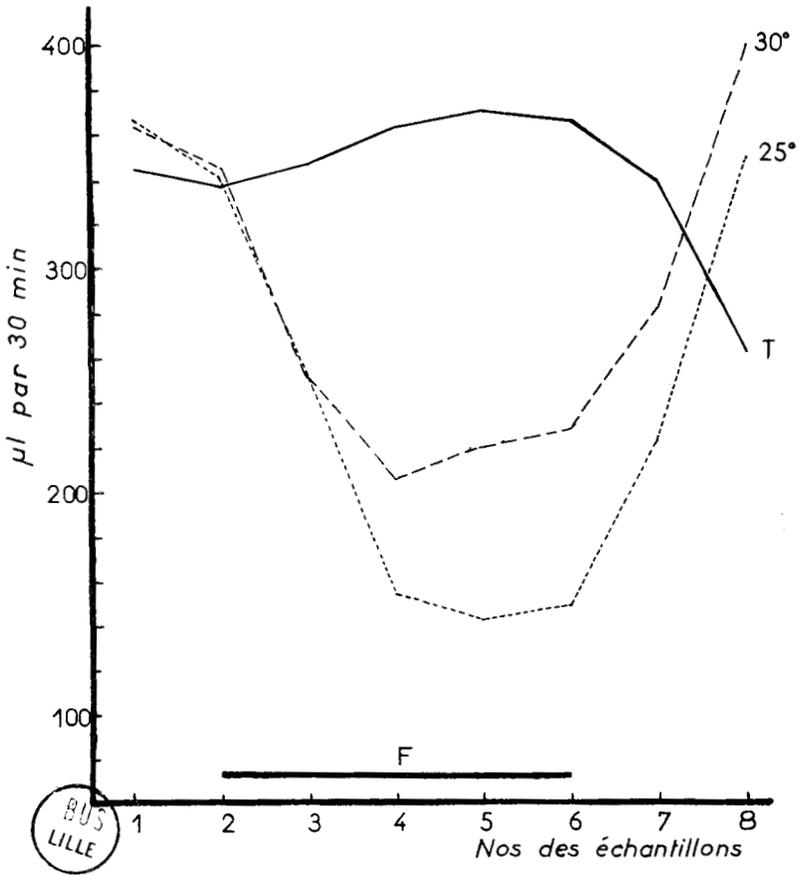


FIG. 2. — ANIMAL ENTIER

Action de l'hypothermie sur le volume biliaire.

T : série témoin (38° C).

Période de refroidissement : de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

B. — FOIE PERFUSÉ

Quatre séries d'expériences ont été réalisées, portant chacune sur 10 perfusions :

- une série témoin à 40° C
- une série à 30° C
- une série à 25° C
- une série à 20° C.

Comme chez l'animal entier, l'hypothermie est déclanchée à la fin de l'échantillon 2 et se prolonge 120 minutes. Un réchauffement terminal est mis en œuvre pour apprécier la survie de la préparation.

Dans toutes les expériences, l'hypothermie détermine une diminution de la sécrétion biliaire, et l'effet est d'autant plus marqué que la température est plus basse. La réduction volumétrique est de l'ordre de 50 p. 100 à 30° C, 72 p. 100 à 25° C, 89 p. 100 à 20° C. On observe également que, dès l'obtention de l'équilibre thermique, la sécrétion biliaire demeure stable.

Les essais terminaux de réchauffement montrent un comportement différent pour des préparations qui ont été soumises à une température de 20° C et pour celles qui n'ont atteint que 25° et 30° C. Dans ces derniers cas (25° et 30° C) on constate que la réversibilité des phénomènes est totale puisque la sécrétion des échantillons 7 et 8 atteint pratiquement le niveau des témoins. L'aspect des courbes (*fig. 3*) est à cet égard, particulièrement démonstratif. Au contraire, lorsque l'hypothermie a atteint 20° C, le réchauffement permet d'obtenir une augmentation du débit biliaire, mais on reste toujours nettement au-dessous des valeurs notées chez les témoins.

La réversibilité totale d'action des variations thermiques n'est donc observée, sur le foie perfusé, que dans la limite 40 - 25 degrés.

Nos constatations sont à rapprocher de celles de BRAUER, LEONG et HOLLOWAY (1954) qui avaient noté que la réversibilité du phénomène n'était pas observée au-dessous de 32° C. Il apparaît donc :

— que la limite inférieure trouvée par nous, est nettement plus basse que celle de BRAUER et coll. avec une technique sensiblement identique,

FOIES PERFUSÉS TÉMOINS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μ l /30 min.								Extrait sec en mg /100 μ l								Bilirubine en mg/l							
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
R 27	14-1-57	250	169	169	140	65	43	80	116	122	3,18	2,48	2,32	2,50	2,50	2,63	2,63	2,86	186	150	194	212	260	404	510	446
R 420	10-4-62	420	265	285	320	335	345	335	300	255	4,25	3,84	3,90	3,96	4,00	3,84	3,96	3,80	334	406	696	721	791	771	699	782
R 422	12-4-62	430	265	270	280	260	195	150	120	115	4,15	3,40	3,44	3,40	3,45	3,18	5,75	5,16	558	297	368	398	517	593	698	833
R 424	16-4-62	440	205	215	245	250	240	205	185	165	4,00	3,31	3,27	3,25	3,33	3,35	3,25	3,25	254	202	317	316	417	401	416	491
R 425	17-4-62	400	210	220	230	240	225	215	180	130	4,20	3,55	3,45	3,76	3,70	3,50	3,63	5,00	201	313	253	276	302	377	413	476
R 426	18-4-62	450	200	245	280	305	255	240	210	180	3,50	2,95	2,85	2,80	2,85	2,85	2,90	3,05	267	215	382	509	585	698	737	757
R 428	20-4-62	450	240	210	240	240	245	235	215	210	3,70	2,95	2,90	2,90	2,75	2,90	2,70	2,80	193	153	264	318	328	381	388	448
R 429	26-4-62	440	230	225	255	250	260	225	225	245	3,05	2,65	2,55	2,60	2,60	2,80	2,50	3,10	278	210	335	323	331	464	330	355
R 431	2-5-62	410	255	255	290	280	275	250	230	215	3,20	2,71	2,65	2,60	2,65	2,45	2,60	2,65	175	153	245	235	283	358	411	384
R 432	3-5-62	400	200	210	245	250	250	250	260	225	2,79	2,35	2,45	2,35	2,16	2,15	2,35	2,20	131	171	322	439	558	640	662	698
Moyennes		409	224	230	252	247	233	218	204	186	3,62	3,02	2,98	3,01	3,00	2,96	3,23	3,39	258	227	337	375	437	509	526	567

TABLEAU 4

FOIES PERSUÉS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en $\mu\text{l}/30 \text{ min.}$								Extrait sec en $\text{mg}/100 \mu\text{l}$								Bilirubine en mg/l							
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
R 391	12-1-62	400	175	185	105	80	75	65	140	135	2,68	2,65	2,60	3,95	2,90	3,12	3,94	2,83	228	133	252	279	402	452	409	490
R 392	17-1-62	410	205	225	110	100	80	65	95	80	4,45	3,20	3,40	3,46	3,83	4,37	3,83	3,20	221	235	284	370	419	389	454	502
R 393	19-1-62	400	175	170	90	80	80	75	140	125	3,78	2,60	2,92	2,88	3,10	2,95	2,47	2,94	172	257	327	427	404	518	509	551
R 394	24-1-62	430	365	340	200	165	155	140	250	240	4,35	3,45	2,80	2,65	2,70	2,25	2,35	2,55	105	142	196	144	199	209	222	346
R 395	31-1-62	460	245	255	130	105	110	105	185	165	3,70	2,65	2,75	2,73	2,75	2,86	2,65	2,80	226	202	249	273	293	384	414	527
R 397	7-2-62	400	215	250	150	130	125	125	265	260	3,35	2,65	2,80	3,00	2,77	2,66	2,35	2,50	162	194	289	352	284	448	460	539
R 398	8-2-62	420	215	210	115	105	100	105	200	185	3,55	2,85	3,00	3,20	3,00	3,15	2,70	2,95	277	179	271	360	450	469	474	612
R 399	9-2-62	420	170	205	135	105	90	80	160	150	4,20	3,15	2,85	2,87	3,16	3,00	2,50	2,65	242	185	231	326	409	446	510	644
R 446	22-5-62	450	160	200	105	105	100	115	250	200	4,05	3,04	2,86	2,62	2,46	2,47	2,60	2,60	281	275	427	495	541	593	655	800
R 447	23-5-62	410	215	135	85	90	70	50	100	3,85	3,27	4,10	4,06	3,70	4,16	6,23	226	233	260	265	260	239	248			
Moyennes		420	214	217	122	106	98	92	178	171	3,80	2,95	3,01	3,14	3,03	3,09	3,16	2,78	216	203	278	329	366	415	435	557

Action de l'hypothermie à 30° sur — le volume biliaire
 — l'extrait sec de la bile
 — la bilirubine biliaire

Abaissement de la température en fin d'échantillon n° 2
 Réchauffement en fin d'échantillon n° 6

TABLEAU 5

FOIES PERFUSÉS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μ l/30 min.								Extrait sec en mg/100 μ l								Bilirubine en mg/l							
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
R 383	8-12-61	470	205	240	95	60	60	190	180	3,53	3,95	3,00	2,80	2,75	3,40	2,64	2,75	232	222	195	221	199	247	264	277	
R 384	13.12.61	420	225	220	90	55	60	185	175	3,25	2,85	3,25	4,20	5,10	4,12	2,65	2,90	230	185	214	209	232	236	280	326	
R 385	15.12.61	420	225	200	80	75	65	70	205	185	4,20	3,00	3,50	6,40	6,40	6,20	4,35	3,25	191	113	223	151	239	213	236	232
R 386	20.12.61	420	235	235	80	60	60	60	225	190	4,15	3,80	3,40	4,00	3,70	3,50	2,65	2,85	177	150	194	187	169	215	232	270
R 387	22.12.61	430	185	150	40	30	40	120	180	4,40	3,53						2,78	2,90	242	264	165	226	143	144	242	317
R 388	3-1-62	400	225	230	80	60	60	55	215	205	4,15	3,00	3,40	4,50	3,60	3,84	2,55	2,80	152	168	218	212	225	229	303	266
R 389	5-1-62	450	225	245	95	75	75	70	230	215	4,15	3,35	3,42	4,00	4,00	3,75	2,80	3,00	216	185	151	190	170	241	272	296
R 390	10-1-62	410	190	185	80	50	55	205	215	3,70	2,75	3,20	5,75	5,20	4,00	3,20	2,50	210	153	197	195	205	263	277	282	
R 437	10-5-62	450	205	200	65	65	65	60	185	220	3,65	2,85					2,65	4,80	260	318	558	466	619	670	741	1033
R 442	17-5-62	450	125	155	60	45	45	45	105	80	4,57	4,25	3,20				5,40	6,00	316	481	628	642	660	686	716	668
Moyennes		432	204	206	76	57	57	56	186	184	3,97	3,23	3,29	4,52	4,39	4,11	3,16	3,37	222	224	274	270	286	314	356	397

Action de l'hypothermie à 25° sur — le volume biliaire
 — l'extrait sec de la bile
 — la bilirubine biliaire

Abaissement de la température en fin d'échantillon n° 2
 Réchauffement en fin d'échantillon n° 6

TABLEAU 6

FOIES PERFUSÉS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μ l/30 min.								Extrait sec en mg/100 μ l								Bilirubine en mg/l												
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8					
R 400	14-2-62	420	215	230	75	22	30	30	145	165	3,75	3,10									3,05	3,05	277	240	224	198	236	209	253	344	
R 401	16-2-62	420	220	190	60	25	24	17	90	90	3,50	2,60	3,00									2,80	3,40	499	213	259	265	296	360	351	546
R 402	21-2-62	450	190	225	75	25	28	15	70	4,15	3,75	2,50									3,00	2,28	246	326	284	281	233	354	239	351	
R 404	23-2-62	410	175	190	55	30	30	35	185	165	4,65	3,60	3,20									3,80	3,95	259	196	243	220	313	234	304	296
R 405	28-2-62	440	250	240	80	32	40	205	175	3,25	2,90	3,46									2,85	2,93	216	203	322	270	339	294	407	516	
R 406	1-3-62	430	260	295	85	40	35	25	185	220	3,05	2,44	2,33									2,20	2,40	259	407	461	404	437	514	591	702
R 407	2-3-62	450	200	195	70	20	15	15	70	4,65	3,78	3,12									3,77	3,14	213	180	211	178	202	208	180	318	
R 408	5-3-62	410	165	160	50	10	10	10	30	55	4,38	3,35																			
R 410	9-3-62	450	310	315	90	20	20	20	95	4,77	3,50	4,22									3,54	3,77	260	182	230	346	286	362	302	368	
R 448	24-5-62	440	145	140	45	15	15	15	95	4,15	3,20	5,00									3,25	4,86	258	344	443	336	289	428	499	625	
Moyennes		432	213	218	68	24	24	22	117	120	4,03	3,22	3,35									3,14	3,40	265	248	286	272	288	315	330	420

Action de l'hypothermie à 20° sur — le volume biliaire
 — l'extrait sec de la bile
 — la bilirubine biliaire
 Abaissement de la température en fin d'échantillon n° 2
 Réchauffement en fin d'échantillon n° 6

TABLEAU 7

Bile

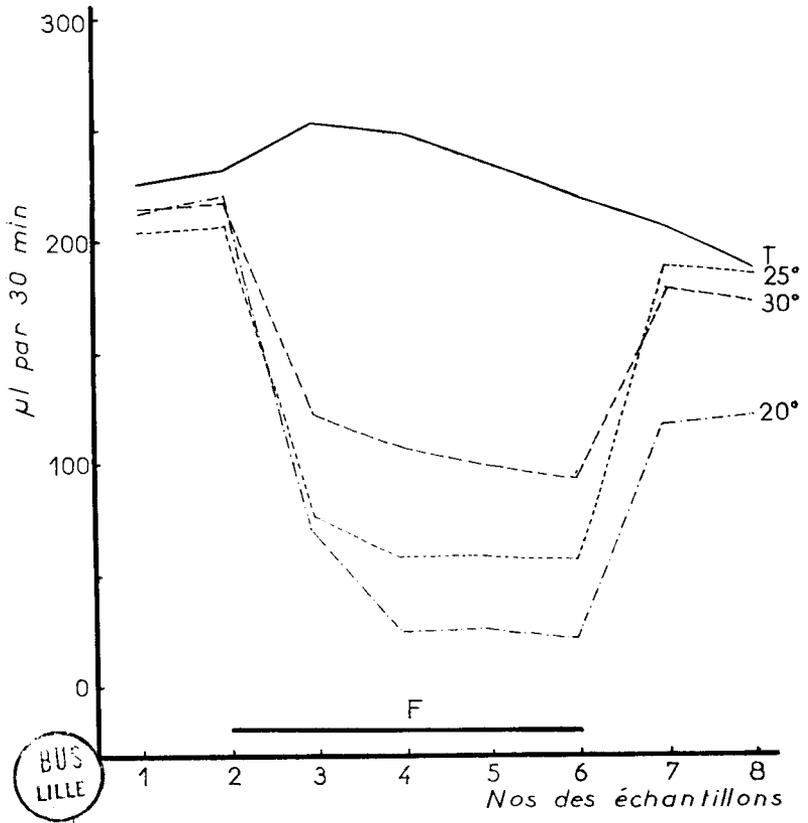


FIG. 3. — FOIE PERFUSÉ

Action de l'hypothermie sur le volume biliaire.

T : série témoin (40° C).

Période de refroidissement : de la fin du 2° échantillon à la fin du 6° échantillon.

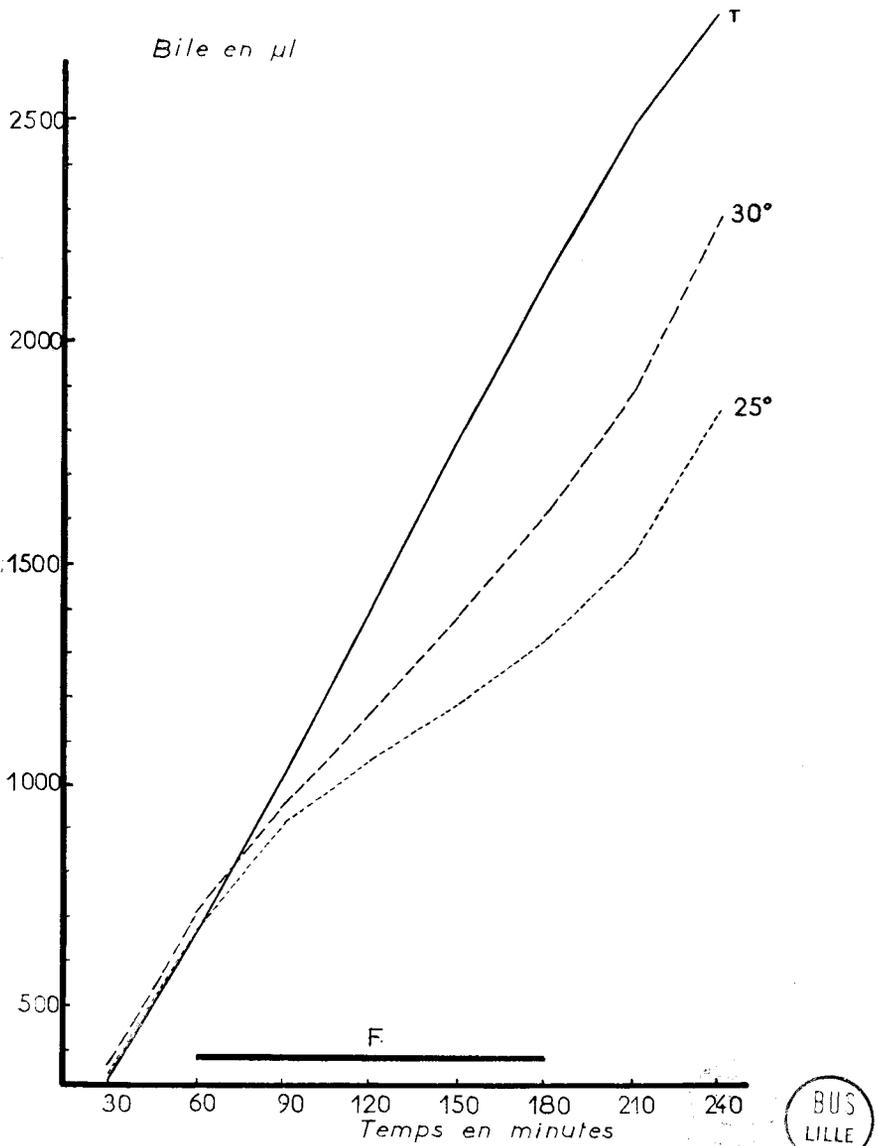


FIG. 4. — ANIMAL ENTIER

Action de l'hypothermie sur les volumes cumulés de bile.

T : série témoin (38° C).

Période de refroidissement : de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

Bile en μ l

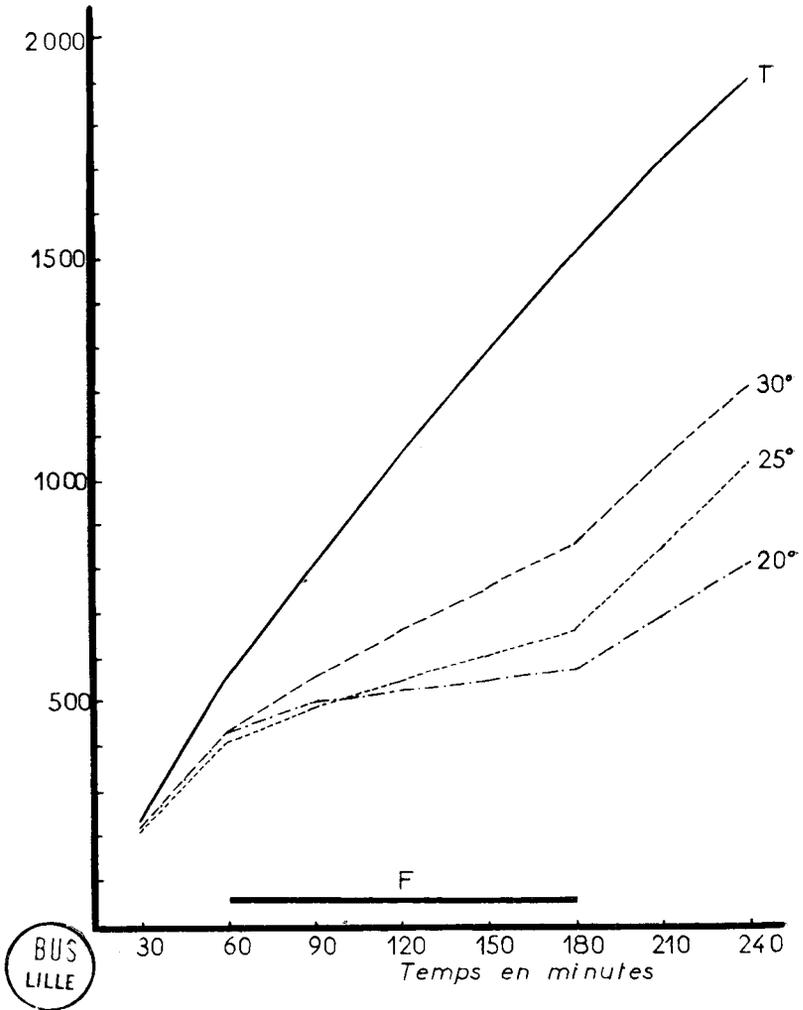


FIG. 5. — FOIE PERFUSÉ

Action de l'hypothermie sur les volumes cumulés de bile.

T : série témoin (40° C).

Période de refroidissement : de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

— que, même pour une température de 20° C, la sécrétion biliaire reste non négligeable, alors que BRAUER et coll. signalent qu'en dessous de 28° C, cette sécrétion est très faible et ne peut pratiquement plus être mesurée.

Afin de pouvoir comparer, d'une part l'action des différents degrés d'hypothermie et d'autre part, les résultats obtenus sur l'animal entier et le foie perfusé, nous avons eu recours à la détermination du Q_{10} , selon la formule préconisée par HITCHCOCK (1945) et déjà employée par KALOW (1950) :

$$\log Q_{10} = \frac{10}{t_2 - t_1} \log \frac{k_2}{k_1}$$

dans laquelle t_2 = température la plus élevée (40° C pour les perfusions - 38° C pour l'animal entier)

t_1 = température la plus basse

k_2 = valeur moyenne de la sécrétion en 30 minutes pour les deux premiers échantillons (à haute température)

k_1 = valeur moyenne de la sécrétion en 30 minutes pendant les échantillons 3 à 6 inclus (hypothermie)

Le tableau 8 donne les valeurs du Q_{10} calculées pour chaque expérience, la valeur moyenne de ces nombres, et le Q_{10} déterminé à partir des valeurs moyennes reprises sur les tableaux 2, 3, 5, 6, 7 (ces deux dernières valeurs ne sont pas identiques en raison de leur mode même de calcul. En effet, si $q_1 = \frac{a}{b}$ et $q_2 = \frac{c}{d}$, la valeur moyenne des quotient $\frac{q_2 + q_1}{2}$ est différente du rapport $\frac{a + c}{b + d}$. Toutefois, la valeur moyenne des Q_{10} et le Q_{10} des moyennes sont assez voisins, car il n'y a pas de dispersion notable des résultats.

La comparaison des différents Q_{10} permet d'aboutir aux constatations suivantes :

a) le Q_{10} varie avec la zone de modification thermique considérée. Il est d'autant plus élevé que la variation de température est plus ample et ceci s'observe sur les valeurs minimales, les valeurs moyennes et les valeurs maximales, tant chez l'animal entier que sur le foie perfusé. La variabilité du Q_{10} en fonction de l'intervalle considéré avait déjà été signalée par KALOW (1950) chez l'animal entier ;

FOIES PERFUSÉS						RATS ENTIERS			
Expé- riences	Q ₁₀ 40° - 30°	Expé- riences	Q ₁₀ 40° - 25°	Expé- riences	Q ₁₀ 40° - 20°	Expé- riences	Q ₁₀ 38° - 30°	Expé- riences	Q ₁₀ 38° - 25°
R 391	2,455	R 383	2,395	R 400	2,855	F 1	1,637	F 9	2,085
R 392	2,632	R 384	2,488	R 401	3,053	F 2	1,734	F 10	1,656
R 393	2,070	R 385	2,094	R 402	3,030	F 3	1,998	F 11	1,706
R 394	2,298	R 386	2,485	R 404	2,403	F 4	2,420	F 12	2,097
R 395	2,343	R 387	2,934	R 405	2,684	F 5	1,300	F 13	2,041
R 397	1,834	R 388	2,472	R 406	2,887	F 6	1,971	F 14	2,262
R 398	2,056	R 389	2,175	R 407	3,450	F 7	1,551	F 15	1,670
R 399	2,045	R 390	2,363	R 408	4,031	F 8	1,699	F 16	1,944
R 446	1,722	R 437	2,171	R 410	3,952	F 46	1,885	F 17	2,409
R 447	2,500	R 442	2,131	R 448	3,082	F 47	1,773	F 45	2,101
Valeur minimale	1,722		2,094		2,403		1,300		1,656
Valeur maximale	2,632		2,934		4,031		2,420		2,409
Moyenne des Q ₁₀	2,195		2,3708		3,1427		1,7968		1,9971
Q ₁₀ des valeurs moyennes	2,175		2,358		3,043		1,835		1,964

TABLEAU 8. — DÉTERMINATION DU Q₁₀ POUR LE VOLUME BILIAIRE.

b) les valeurs obtenues sur l'animal entier sont plus faibles que celles déterminées sur le foie de rat perfusé. Il semble qu'on puisse en conclure, que la fonction biliaire en hypothermie est modifiée, essentiellement, par action directe de la température sur le foie et que si des perturbations de la circulation trans-hépatique se produisent sur l'animal entier, elles n'interviennent pas de façon sensible.

Il est en outre à noter que dans toutes nos expériences de perfusion, aucune modification du débit sanguin portal n'a été observée ; BRAUER, LEONG et HOLLOWAY (1954) avaient d'ailleurs remarqué que le débit sanguin du foie perfusé était légèrement plus élevé à 25° qu'à 40° C.

c) On peut enfin remarquer que les Q_{10} que nous avons obtenus pour le foie perfusé sont nettement inférieurs à ceux de BRAUER, LEONG et HOLLOWAY, tandis que chez l'animal entier, nos valeurs extrêmes pour l'intervalle 38 - 25° C (1,65 et 2,40) sont voisines de celles de KALOW pour l'intervalle 40 - 26° C (1,54 - 3,25).

II. - ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR L'EXTRAIT SEC BILIAIRE

La détermination de l'extrait représente un mode d'exploration globale de la bile, mais il faut reconnaître, qu'étant donné la multiplicité des constituants, on ne peut généralement pas tirer de conclusions nettes de cette mesure.

A. — ANIMAL ENTIER

Chez les témoins, l'extrait sec diminue progressivement du début à la fin de l'expérience : environ 38 g par litre dans l'échantillon n° 1, 26 g par litre dans le n° 8. Chez les animaux soumis à l'hypothermie, l'évolution des phénomènes est sensiblement identique ; cependant, il se produit une élévation temporaire assez nette dans l'échantillon 4 pour la température de 30° C.

A 25° C, une augmentation analogue est observée, mais elle est moins marquée ; elle débute dans l'échantillon 4 et s'accroît dans l'échantillon 5. Ce décalage du phénomène dans le temps est sans doute lié à la réduction du débit biliaire qui fait que la bile recueillie dans un échantillon correspond à une bile émise antérieurement, en raison du trajet à parcourir dans les canalicules biliaires et le cathéter. BIZARD et VANLERENBERGHE avaient déjà noté que l'excrétion biliaire de la B.S.P. était apparemment retardée lorsque la cholérèse était réduite sous l'in-

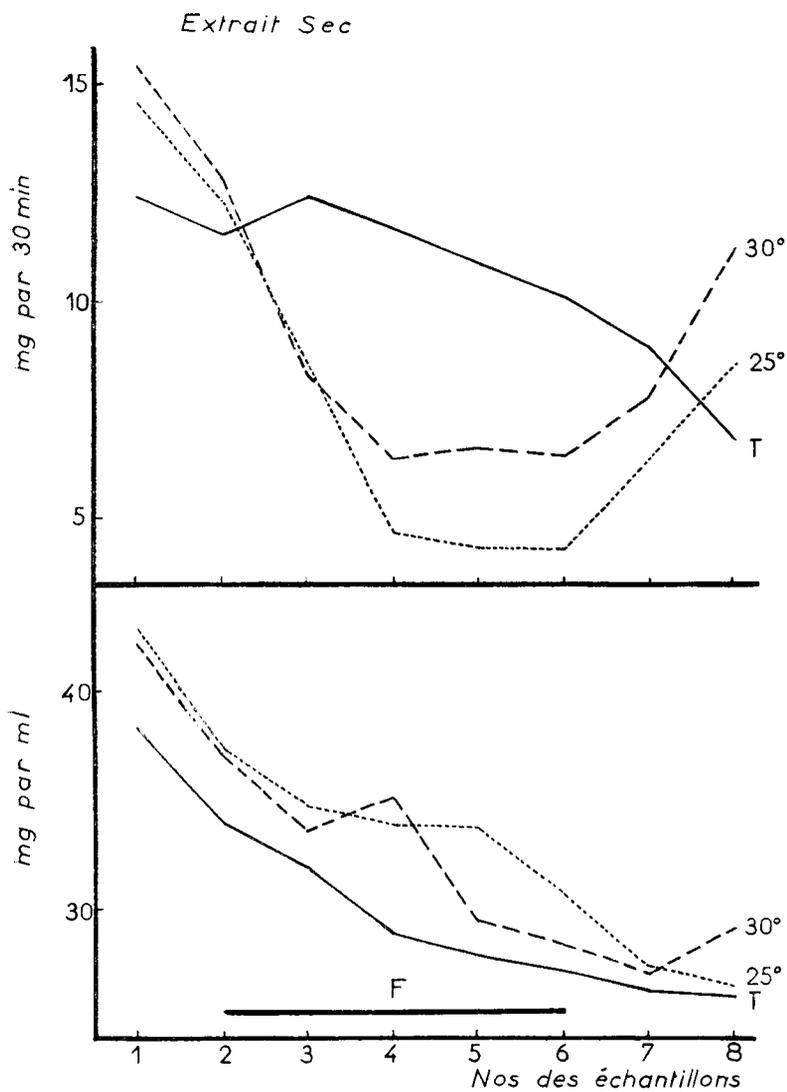


FIG. 6. — ANIMAL ENTIER

Action de l'hypothermie sur la concentration et le débit de l'extrait sec de la bile.

T : série témoin (38° C).

Période de refroidissement : de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.



fluence du cyanure de potassium. A 25° C, le débit biliaire étant plus faible qu'à 30° C, la modification de la valeur de l'extrait sec est donc observée plus tardivement.

L'examen de la courbe d'excrétion des solides par 30 minutes permet de constater que le débit des substances dissoutes est nettement diminué en hypothermie. Il n'y a donc pas compensation de la réduction volumétrique par l'augmentation de l'extrait sec.

Lors du réchauffement on assiste à une remontée rapide de l'excrétion des solides (par unité de temps) qui dépasse les valeurs témoins mais ceci est essentiellement la conséquence de l'augmentation de la cholérèse, puisque l'extrait sec (en concentration) ne subit guère de modification.

B. — FOIE PERFUSÉ

L'extrait sec, élevé dans l'échantillon 1 (mélange de biles formées avant et pendant la perfusion) se stabilise bientôt aux environs de 30 g par litre. En fin d'expériences (échantillon 8) l'extrait sec augmente légèrement (d'environ 10 p. 100).

L'hypothermie à 30° C donne une courbe très superposable à celle des témoins, avec toutefois une baisse légère lors du réchauffement.

Dans les expériences à 25° C, on observe une élévation nette de la valeur de l'extrait sec (de l'ordre de 30 p. 100) mais ces résultats doivent être interprétés avec prudence car les déterminations n'ont pu être faites que sur des échantillons de 20 ou 25 microlitres (au lieu de 100 normalement) ce qui augmente considérablement l'erreur expérimentale possible.

Dans l'hypothermie à 20° C, la mesure de l'extrait sec n'a pu être réalisée en raison de la trop faible quantité de bile dont nous disposons.

La lecture des courbes d'excrétion par 30 minutes conduit à la même conclusion que chez l'animal entier, c'est-à-dire, une absence de compensation de la réduction volumétrique par l'augmentation de l'extrait sec.

Lors du réchauffement on constate (expérience à 25° C) que les valeurs de l'extrait sec en concentration et en quantités totales reviennent pratiquement à la normale.

Les données globales ainsi obtenues permettent déjà de penser que la bile émise lors de l'hypothermie, n'est pas une bile beaucoup moins concentrée que la bile normale.

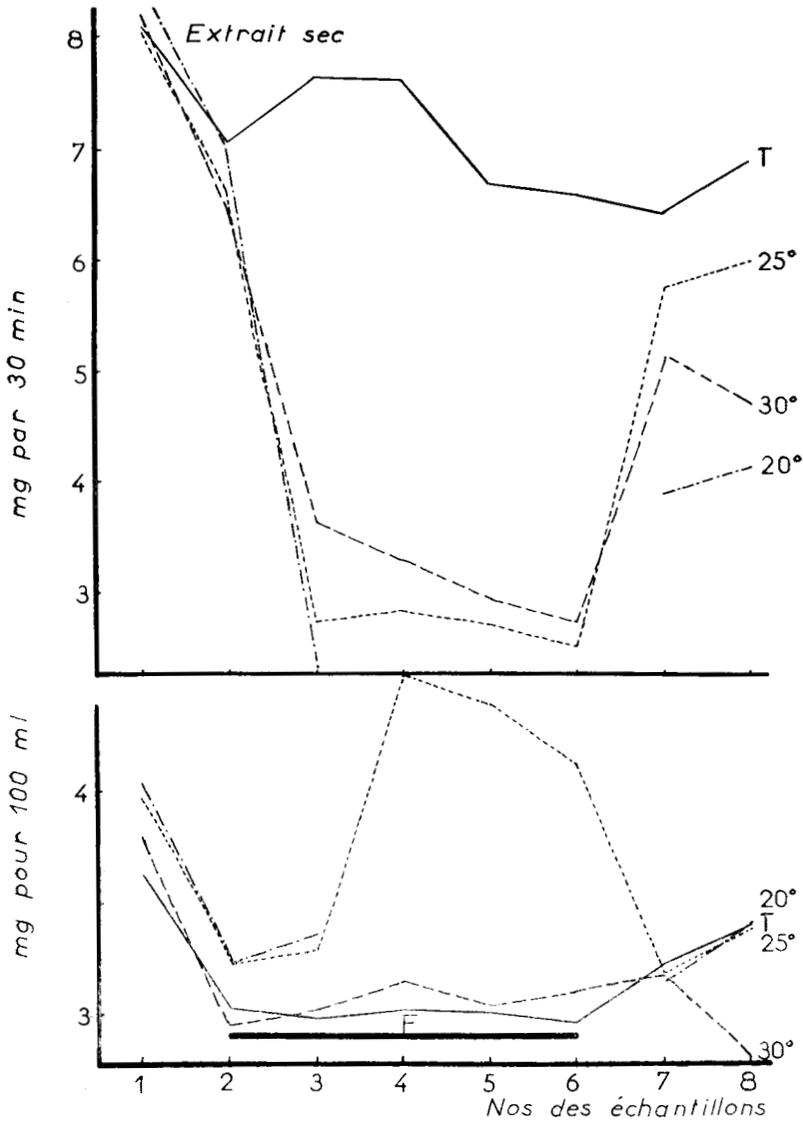


FIG. 7. — FOIE PERFUSÉ

Action de l'hypothermie sur la concentration et le débit de l'extrait sec de la bile.
T : série témoin (40° C).

Période de refroidissement : de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.



III. - ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR LA BILIRUBINE BILIAIRE

Les 70 expériences dont nous allons analyser les résultats sont celles qui ont servi à l'étude de l'action de l'hypothermie sur le volume biliaire.

La modification fonctionnelle sous l'influence du froid doit être recherchée dans les variations de concentration biliaire de la bilirubine et non dans les quantités excrétées par échantillon puisque ces dernières sont fortement influencées par la réduction du volume de la bile.

L'interprétation des résultats doit tenir compte de l'évolution normale de la bilirubine biliaire, telle qu'on l'observe dans les séries témoins. Ceci est indispensable dans les expériences de perfusion où l'on observe un enrichissement progressif en bilirubine. Il est également nécessaire de ne pas négliger les concentrations de départ, parfois très différentes, que l'on constate au cours d'expériences de même type.

Nous pensons que ces impératifs conduisent à déterminer, pour chaque variété d'essai, y compris les séries témoins :

- la valeur moyenne B_1 de la concentration en bilirubine des échantillons 1 et 2 (quotient de la somme des quantités de bilirubine excrétées pendant cette période par le volume biliaire correspondant).

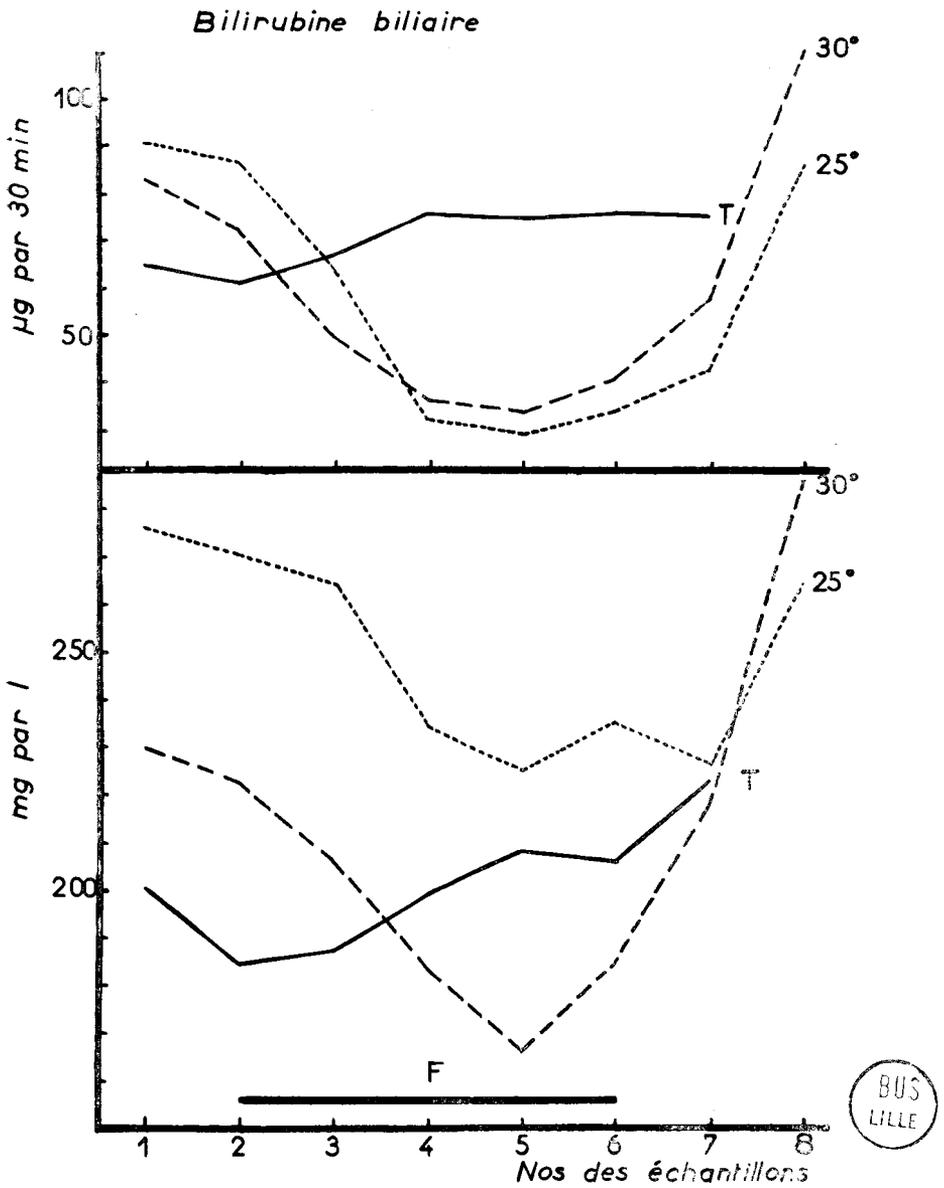


FIG. 8. — ANIMAL ENTIER

Action de l'hypothermie sur la concentration et le débit de la bilirubine biliaire.
T : série témoin (38° C).

Période de refroidissement : de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

Bilirubine biliaire

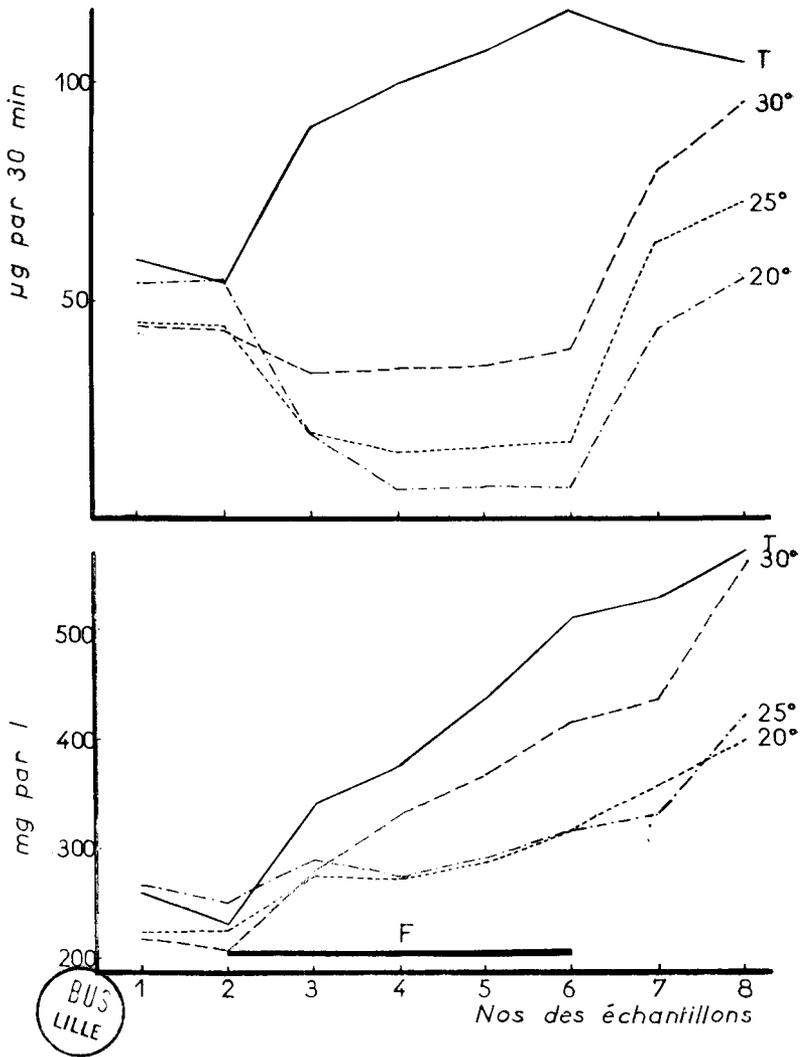


FIG. 9. — FOIE PERFUSÉ

Action de l'hypothermie sur la concentration et le débit de la bilirubine biliaire.

T : série témoin (40° C).

Période de refroidissement : de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

— la valeur correspondante B_2 pour les échantillons 3 à 6, c'est-à-dire pour la période pendant laquelle l'animal ou le foie sont soumis à l'hypothermie,

— le rapport $\frac{B_2}{B_1}$ qui représente la concentration de la bilirubine dans la zone de froid en valeur relative vis-à-vis de la température normale de fonctionnement,

— ce même rapport $\frac{B_2}{B_1}$ divisé par la valeur $\frac{B_2}{B_1}$ de la série témoin et multiplié par 100, ce qui permet d'apprécier directement, en pourcentage, ce que l'on observe dans les séries refroidies.

On obtient ainsi les résultats suivants :

	B_1 mg/l	B_2 mg/l	B_2/B_1	B_2/B_1 valeur relative par rapport aux témoins
Animal entier				
Témoins	191	196	1,026	100
30°	223	179	0,802	78,1
25°	266	240	0,902	87,8
Foie perfusé				
Témoins	252	431	1,710	100
30°	202	334	1,640	95,9
25°	215	281	1,260	73,6
20°	252	314	1,246	72,8

A. — ANIMAL ENTIER

L'abaissement thermique entraîne une baisse de concentration de la bilirubine dans la bile. L'effet est paradoxalement plus marqué à 30° qu'à 25° C., mais de toute façon reste modéré, la réduction de concentration du pigment ne dépassant pas 22 p. 100.

B. — FOIE PERFUSÉ

Il semble qu'à 30° C on puisse considérer la concentration pigmentaire comme normale, la différence avec les témoins n'étant que de 4 p. 100. Par contre à 20° et à 25° C, la diminution du taux de la bilirubine dans la bile est nette, de l'ordre de 28 p. 100 pour ces deux températures. Il est surprenant de noter l'existence d'un véritable seuil d'action de la température, à partir duquel l'effet paraît constant. Ici, comme chez l'animal entier, l'action de l'hypothermie est assez discrète puisque pour une même température de 20° on obtient une diminution de la concentration de 28 p. 100, alors que le volume biliaire est réduit de près de 90 p. 100.

L'excrétion pigmentaire par unité de temps reflète à la fois, le débit biliaire et la concentration ; cette excrétion est donc notablement réduite, tant chez l'animal entier que dans les perfusions de foie.

IV. - ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR L'EXCRÉTION DE LA BROME SULFONE PHTALEINE.

Cette étude a été faite de façon comparative entre une série témoin et une série à 25° C, tant chez l'animal entier que sur le foie perfusé. Cette température de 25° C a été choisie pour plusieurs raisons :

- elle représente sensiblement la limite inférieure des phénomènes réversibles, donc le point où l'action du froid est maximum, sans pour autant déterminer des lésions du parenchyme hépatique ;
- elle permet d'obtenir des échantillons de bile, suffisant pour un dosage précis du colorant.

A. — ANIMAL ENTIER

L'hypothermie est déclanchée à la fin de l'échantillon 2 et dure 120 minutes. Un réchauffement à 38° C est alors réalisé.

Dans la série témoin (38°) la concentration maximale est obtenue dans l'échantillon 1 et se situe aux environs de 300 mg pour 100 ml. La courbe est rapidement descendante mais, à partir de l'échantillon 3 elle se stabilise autour de 170 mg/100 ml.

RATS ENTIERS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en $\mu\text{l}/30 \text{ min.}$						B.S.P. en $\text{mg}/100 \text{ ml}$						B.S.P. en $\mu\text{g}/30 \text{ min.}$					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
RL 2	10-10-60	270	240	285	365	350	260	390	218	300	243	237	198	195	523	856	888	831	515	761
RL 4	17-10-60	240	290	260	250	255	270	280	348	300	150	174	240	248	1010	781	375	444	649	694
RL 5	19-10-60	230	220	195	215	230	220	215	351	353	258	291	315	285	773	688	554	670	692	613
RL 8	7-12-60	280	305	390	345	425	375	335	188	255	180	195	177	195	573	995	622	830	665	654
RL 9	5-1-61	230	330	320	315	300	310	300	354	240	197	158	197	219	1170	769	620	473	610	658
RL 10	11-1-61	260	960	595	500	440	400	340	148	125	150	155	150	148	1429	746	751	681	601	503
RL 12	14-3-61	270	520	585	660	605	615	610	360	122	114	116	113	120	1874	712	753	700	693	733
RL 13	16-3-61	320	305	255	270	230	200	180	288	150	140	138	146	108	879	383	378	318	291	195
RL 14	21-3-61	330	455	470	535	510	490	440	330	171	113	116	140	138	1503	805	603	594	687	608
RL 15	21-3-61	340	425	425	545	535	495	465	336	163	138	117	131	135	1430	692	753	628	647	628
Moyennes		277	405	378	400	388	363	355	292	218	167	170	181	179	1116	743	630	617	605	605

Excrétion biliaire (concentration et débit) de la B.S.P.
Série témoin

TABLEAU 9

RATS ENTIERS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en $\mu\text{l}/30 \text{ min.}$								B.S.P. en $\text{mg}/100 \text{ ml}$								B.S.P. en $\mu\text{g}/30 \text{ min.}$							
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
F 18	26-2-62	250	405	415	255	125	120	120	180	335	378	227	191	219	316	427	450	390	1533	941	486	274	379	512	811	1305
F 19	27-2-62	250	460	500	370	220	190	155			396	186	161	191	229	289			1824	931	597	419	435	448		
F 20	28-2-62	260	235	210	225	140	125	100	120	225	411	328	298	292	405	471	541	547	965	689	671	409	507	471	649	1232
F 21	1-3-62	250	325	400	260	130	145	145	275	400	385	273	188	239	390	348	388	283	1252	1093	490	311	565	504	1068	1132
F 22	2-3-62	270	425	470	315	185	180	155	180	325	411	189	171	242	316	364	393	374	1746	889	539	447	569	564	707	1215
F 24	6-3-62	270	420	340	280	190	180	140			350	206	179	222	287	308	350		1470	702	500	422	516	432		
F 25	8-3-62	270	255	305	285	180	175	180	210	340	445	366	226	257	300	294	311	359	1135	1115	644	462	526	530	653	1220
F 26	9-3-62	270	295	330	255	115	110	125	200	335	397	285	213	261	317	390	384	384	1172	942	544	300	348	487	767	1286
F 50	13-4-62	250	335	330	260	115	115	155	255	380	374	283	184	194	327	503	492	225	1253	934	478	223	376	780	1254	853
F 51	16-4-62	260	390	425	185	145	155	190	225		356	170	143	239	367	406	367	367	1388	721	265	347	569	772	826	
Moyennes		260	354	372	269	154	149	146	205	334	390	251	195	236	325	380	408	366	1374	896	522	362	479	550	842	1179

Excrétion biliaire (concentration et débit) de la B.S.P.
 Action de l'hypothermie à 25° Abaissement de la température en fin d'échantillon n° 2
 Réchauffement en fin d'échantillon n° 6.

TABLEAU 10

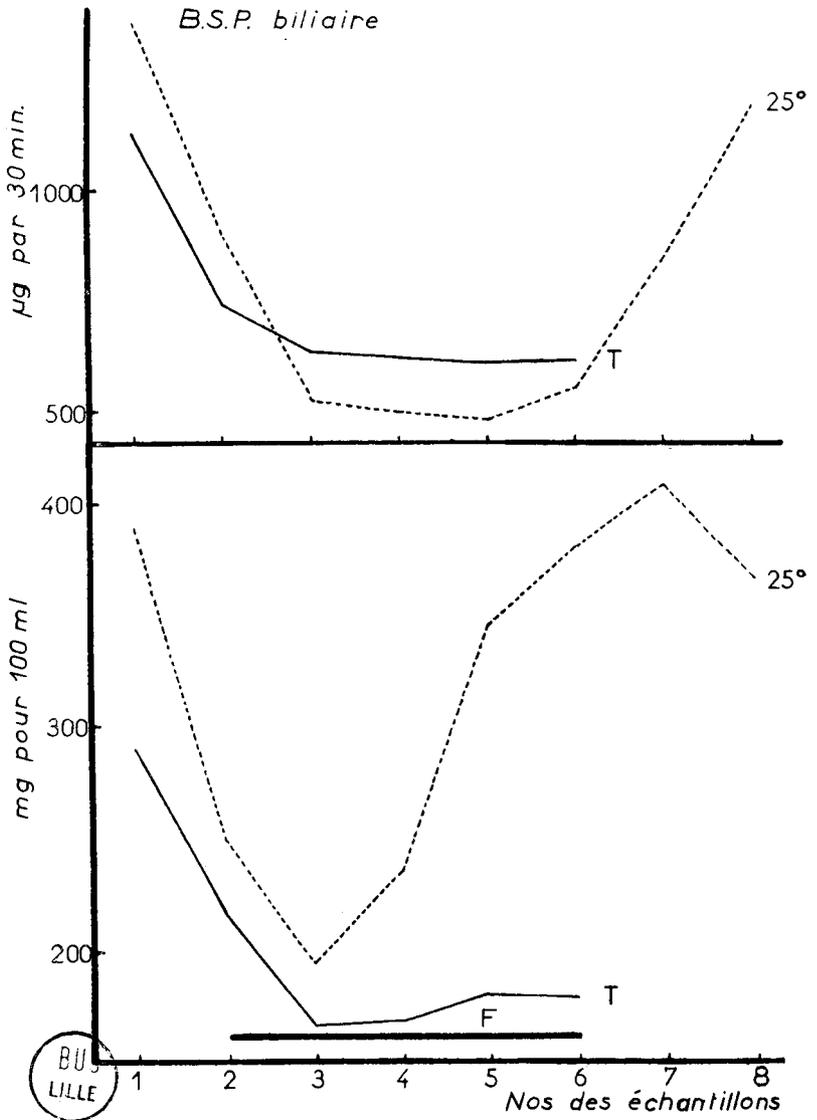


FIG. 10. — ANIMAL ENTIER

Action de l'hypothermie sur l'excrétion biliaire de la B.S.P. (concentration et débit).

T : série témoin (38° C).

Période de refroidissement (25° C) : de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

Dans la série soumise à l'hypothermie on constate que l'évolution des concentrations biliaires de la B.S.P. est sensiblement parallèle à celle de la série témoin, pour les échantillons 1 et 2, ce qui est normal étant donné que ces échantillons sont recueillis à la température de 38° C. L'échantillon 3 présente lui aussi une composition identique à celle des témoins, ce qui démontre que le foie, en hypothermie a conservé intact son pouvoir de concentration de la B.S.P.

Dans les échantillons 4 à 6, la concentration biliaire du colorant augmente progressivement pour atteindre une valeur de 380 mg/100 ml, soit plus du double de ce qui est obtenu chez les témoins (179 mg/100 ml). Ce résultat, à priori paradoxal, s'explique facilement par la technique employée pour administrer la B.S.P.

Nous infusions à vitesse constante le colorant, et l'état d'équilibre, débit d'admission/débit d'excrétion, est obtenu chez les témoins à partir du 3^e échantillon ; le débit biliaire étant stable dans ces conditions, il s'ensuit que la concentration de la B.S.P. dans la bile est également constante. Dans le cas de l'hypothermie le débit d'admission reste identique à celui de la série témoin, mais la cholérèse est réduite d'environ 50 p. 100 ; l'échantillon 3 a éliminé une quantité de colorant inférieure à la normale, ce qui entraîne une augmentation de la concentration sanguine en B.S.P. ; la conséquence en est une élévation du taux biliaire de la brome sulfone phtaléine ce qui permet également de conclure à la conservation d'un pouvoir de concentration élevé du parenchyme hépatique à la température de 25° C. Le maintien de cette fonction résulte en outre de l'étude de l'élimination quantitative de la B.S.P. (en microgrammes par 30 minutes) qui montre que le foie arrive à compenser partiellement la diminution du volume biliaire par l'augmentation de la concentration du colorant.

B. — FOIE PERFUSÉ

L'élimination du colorant par cette préparation est beaucoup moins rapide que par le foie de l'animal entier. La concentration de la B.S.P. dans la bile est maximale dans le second échantillon, elle décroît ensuite rapidement, pour se stabiliser aux environs de 200 mg par 100 ml, à partir de l'échantillon n° 4.

Dans la série à 25° C on constate une évolution des phénomènes très superposable à ce qui se passe chez l'animal entier : la concentration

FOIES PERFUSÉS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en µl/30 min.							B.S.P. en mg/100 ml							B.S.P. en µg/30 min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 173	22-9-58	300	265	275	205	200	160	136	124	243	208	204	202	192	329	668	426	408	323	250			
R 175	29-9-58	300	305	315	325	325	300	250	159	235	183	162	142	159	485	740	595	526	426	397			
R 177	6-10-58	330	170	240	225	220	190	120	92	281	270	222	203	171	156	674	607	488	386	205			
R 178	8-10-58	300	235	220	210	185	200	200	52	342	297	261	220	172	122	752	624	483	440	344			
R 379	29-11-61	510	170	200	215	205	215	190	185	70	315	323	255	236	204	204	119	631	694	523	486	388	378
R 380	1-12-61	460	280	300	345	350	305	255	215	129	327	201	147	143	158	164	362	982	694	515	437	402	352
R 381	4-12-61	450	125	185	170	150	120	95	55	8	562	511	383	348	333	350	10	929	868	574	418	317	192
R 382	6-12-61	540	220	280	290	255	195	150	105	96	333	248	183	183	202	231	211	934	719	469	359	303	243
R 439	14-5-62	490	180	210	225	225	205	175	140	76	384	233	153	129	161	136	137	807	524	345	265	281	190
R 443	18-5-62	450	155	205	235	245	210	165	115	54	437	287	188	257	171	200	84	896	674	461	540	282	230
Moyennes		413	210	243	244	236	210	173	136	86	340	276	216	205	192	214	211	801	643	479	388	317	264

Excrétion biliaire (concentration et débit) de la B.S.P.
Série témoin

FOIES PERFUSÉS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μ l /30 min.								B.S.P. en mg /100 ml								B.S.P. en μ g /30 min.							
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
R 287	14-12-59	370	305	320	125	95	80	85	150	200	95	296	252	264	293	314	381	307	289	947	315	251	234	267	571	614
R 290	6-1-60	340	250	255	90	70	65	70	175		65	294	273	287	327	335	387		161	751	246	188	213	234	641	
R 373	8-11-61	470	155	185	80	60	50	50	160	190	44	273	302	290	294	309	357	345	67	506	241	174	147	155	572	655
R 374	10-11-61	450	140	190	80	50	55	70	145	220	4	252	303	290	290	303	341	311	5	479	243	145	149	212	494	684
R 375	13-11-61	470	220	270	105	75	75	70	210	245	50	293	227	188	213	260	295	260	109	791	239	141	160	182	620	637
R 376	15-11-61	480	225	220	90	55	55	50	135	160	54	234	251	231	239	263	306	334	122	515	226	127	131	131	414	535
R 377	22-11-61	420	175	245	105	75	65	60	190	275	65	222	231	234	239	269	299	243	113	545	243	176	155	161	568	669
R 378	24-11-61	410	135	185	75	55	50	45	145	195	17	192	241	242	269	283	303	307	22	355	181	133	134	127	439	599
R 440	15-5-62	420	160	185	80	70	70	70	130		100	392	292	264	272	292	359		160	725	234	184	190	204	467	
R 441	16-5-62	450	180	200	90	75	60	60	160	165	54	401	308	264	303	325	367	340	97	802	277	198	182	195	587	561
Moyennes		428	194	225	92	68	62	63	160	206	54	285	268	255	274	295	340	306	115	641	244	172	169	187	537	619

Excrétion biliaire (concentration et débit) de la B.S.P.

Action de l'hypothermie à 25° Abaissement de la température en fin d'échantillon n° 2

Réchauffement en fin d'échantillon n° 6

TABLEAU 12

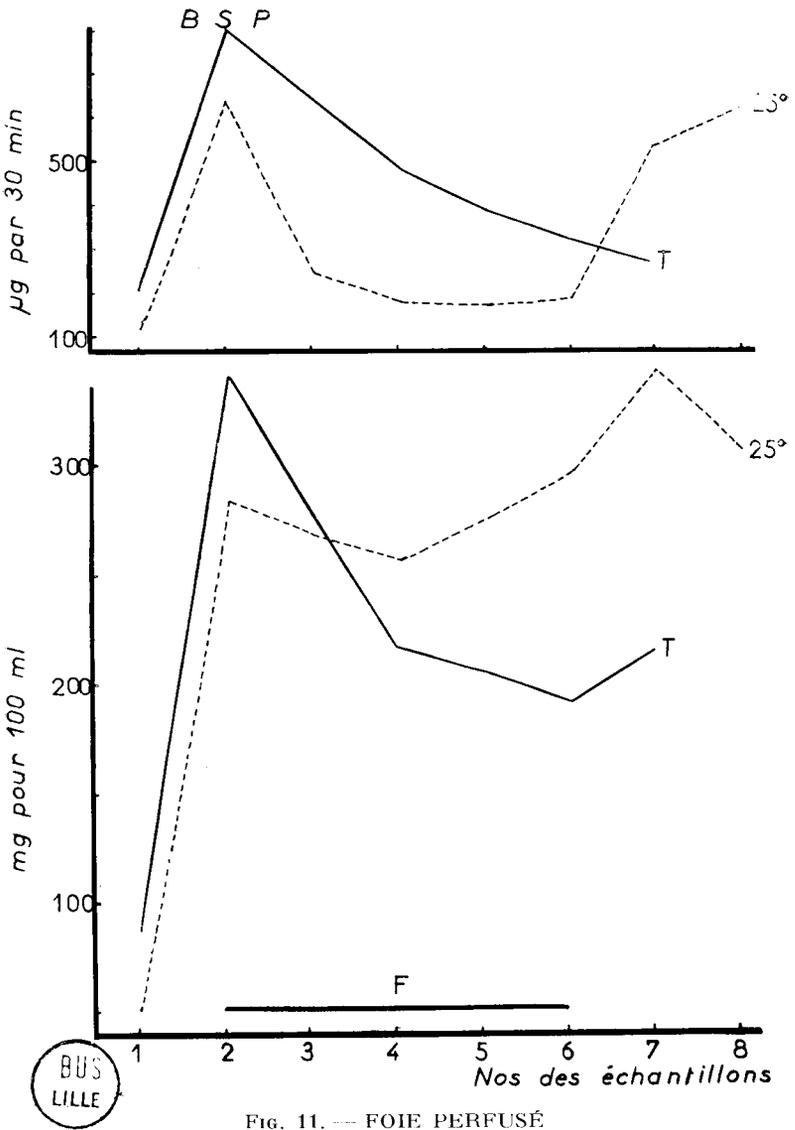


FIG. 11. — FOIE PERFUSÉ

Action de l'hypothermie sur l'excrétion biliaire de la B.S.P. (concentration et débit).

T : série témoin (40° C).

Période de refroidissement (25° C) : de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

sensiblement normale dans l'échantillon 3 s'élève ensuite progressivement pour atteindre des valeurs supérieures à la normale d'environ 50 p. 100, l'explication du phénomène, donnée précédemment reste valable.

Le foie perfusé, comme le foie *in situ*, a donc conservé son pouvoir de concentration de la brome sulfone phtaléine.

L'étude de l'élimination totale du colorant, par échantillon, fait également ressortir une compensation partielle de la diminution du volume biliaire par l'augmentation de la concentration.

Cette compensation est toutefois un peu moins bonne que dans le cas de l'animal entier, mais il faut tenir compte du fait que la réduction de la cholérèse, est ici beaucoup plus importante.

* * *

Étant donné que ni chez l'animal entier, ni sur le foie perfusé, il n'y a de diminution du pouvoir de concentration dans la zone de froid, l'étude de la période de réchauffement ne peut apporter de renseignements complémentaires. On observe alors une remontée brutale de la courbe « quantité de B.S.P. par échantillon », conséquence de l'augmentation du débit biliaire.

* * *

Il est logique de penser que la captation des colorants par le système réticulo-endothélial, précède l'excrétion biliaire qui dépend de la fonction des hépatocytes. Nos résultats ne cadrent donc pas avec les données obtenues sur le chien par BROKAW et PENROD en 1949 (voir page 10). Ils sont par contre en accord avec celles de BRAUER et PESSOTTI (page 10) qui montrent que des tranches de foie de rat captent normalement la B.S.P. jusqu'à 22° C.

V. - ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR L'EXCRÉTION DU ROUGE NEUTRE.

Il semblait intéressant d'étudier l'action de l'hypothermie sur l'excrétion du rouge neutre car il s'agit d'un colorant basique dont l'élimination biliaire est inférieure à celle des colorants acides tel : la brome sulfone phtaléine (HOBBER et TITAJEW, 1930 - VANLERENBERGHE, MILBLED, GUERRIN, BAR et VALTILLE, 1962).

Les techniques utilisées sont exactement celles employées pour la B.S.P. : hypothermie à 25° C, même méthode d'administration des colorants.

A. — ANIMAL ENTIER

L'excrétion du rouge neutre est plus tardive que celle de la B.S.P. et sa concentration n'est élevée qu'à partir de l'échantillon 2. La courbe est alors en plateau aux environs de 90 mg/100 ml, c'est-à-dire à un niveau deux fois moins élevé que la brome sulfone phtaléine.

Si l'on tient compte des différences de concentration de départ entre la série témoin et la série en hypothermie, il apparaît que, dès l'échantillon n° 3, la concentration du rouge neutre est moins élevée à 25° qu'à 38° C. Le phénomène ne fait que s'accroître avec le temps et dans l'échantillon 6, la concentration du colorant n'est que les deux tiers

RATS ENTIERS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en µl/30 min.							Rouge neutre en mg/100 ml							Rouge en µg/30 min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 249	5-3-62	170	225	225	245	260	255	245	230	41	85	105	113	110	108	103	91	192	258	293	281	264	236
G 250	5-3-62	270	415	420	425	450	320	340	350	48	56	60	61	63	68	67	197	236	255	273	200	230	235
G 251	6-3-62	250	400	350	390	405	390	355	375	46	76	77	83	85	86	90	184	265	299	335	332	306	338
G 252	6-3-62	250	225	260	300	300	280	260	235	40	91	97	93	95	93	97	90	236	290	278	266	241	228
G 253	7-3-62	250	220	220	265	270	265	280	215	40	98	106	95	103	106	116	87	215	281	257	272	297	250
G 254	8-3-62	250	240	285	290	285	275	260	260	39	97	110	97	96	102	112	94	277	320	277	264	264	292
G 255	8-3-62	250	335	375	375	335	290	360	390	54	90	89	90	86	95	110	180	336	332	300	250	343	430
G 256	12-3-62	260	460	465	515	470	495	470	385	63	91	90	83	85	93	88	290	422	464	388	422	436	337
G 257	13-3-62	250	490	515	560	555	480	430	480	71	102	90	74	79	77	88	349	524	502	411	380	332	421
G 265	19-3-62	270	340	315	345	375	360	350	330	43	76	81	74	91	81	90	145	240	280	276	326	282	298
Moyennes		257	335	343	371	370	341	335	325	48	86	90	86	89	91	96	171	294	328	309	299	299	306

Excrétion biliaire (concentration et débit) du rouge neutre
Série témoin

TABLEAU 13

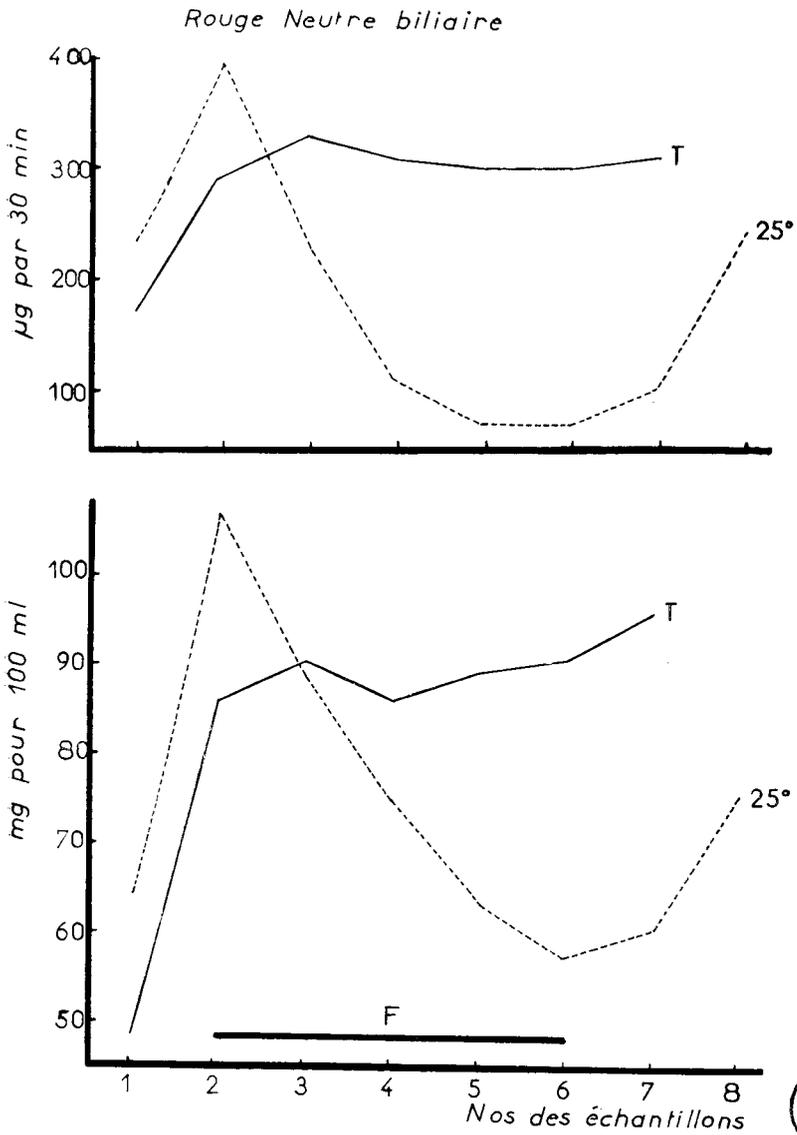


FIG. 12. — ANIMAL ENTIER



Action de l'hypothermie sur l'excrétion biliaire du rouge neutre (concentration et débit).

T : série témoin (38° C).

Période de refroidissement (25° C) : de la fin du 2° échantillon à la fin du 6° échantillon.

de la valeur normale. Pendant le même temps la réduction volumétrique a été de l'ordre de 50 p. 100, ce qui fait que le débit du rouge neutre par échantillon est environ le tiers de ce que l'on note chez les témoins.

Les résultats obtenus font apparaître qu'en hypothermie, le pouvoir de concentration du colorant par le foie *in situ*, n'est pas intégralement conservé. Le phénomène est réversible, au moins partiellement, et lors du réchauffement, on voit la courbe des concentrations et celle du débit du rouge neutre s'élever.

B. — FOIE PERFUSÉ

La courbe de concentration biliaire du rouge neutre dans la série témoin, a sensiblement la même forme que celle de la brome sulfone phtaléine. La concentration est maximale dans l'échantillon n° 2 et décroît ensuite progressivement. Pendant toute la durée de l'expérience, les concentrations du rouge neutre sont sensiblement les deux tiers de celles de la B.S.P. pour les périodes correspondantes.

La courbe en hypothermie est presque parallèle à la courbe témoin mais, bien que située initialement à un niveau un peu supérieur, les concentrations dans les échantillons 6 (témoins et 25° C) sont pratiquement identiques, ce qui semble indiquer que, lorsque l'action du froid se prolonge, le pouvoir de concentration du foie pour le rouge neutre est quelque peu diminué.

Si par ailleurs, on tient compte de l'importante réduction de l'excrétion du rouge neutre par échantillon, due à la diminution du volume biliaire en hypothermie, il est permis de penser que la teneur du sang *en colorant* augmente de façon sensible. On devrait alors observer, comme dans le cas de la B.S.P., une élévation progressive de la concentration biliaire du rouge neutre, si le gradient de concentration sang/bile était respecté.

Il semble donc que l'on puisse conclure que le foie perfusé perd en hypothermie une partie de son pouvoir de concentration du rouge neutre. Le phénomène est toutefois beaucoup moins net que sur l'animal entier.

Lors du réchauffement terminal, la concentration biliaire du colorant reste sensiblement constante et on observe une remontée rapide du débit du rouge neutre qui dépasse nettement le niveau des témoins : conséquence de l'augmentation volumétrique.

FOIES PERFUSÉS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μ l/30 min.							Rouge neutre en mg/100 ml							Rouge neutre en μ g/30 min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 310	24-3-60	280	175	200	200	200	200	200	43	223	253	239	213	188	74	446	506	479	426	376			
R 312	31-3-60	400	310	325	345	325	295	270	78	243	195	156	140	135	241	790	674	508	414	365			
R 313	13-4-60	400	290	360	360	350	310	300	90	197	169	145	123	115	261	711	610	508	380	346			
R 314	14-4-60	400	290	250	245	255	230	220	58	180	188	183	178	175	167	451	460	313	409	386			
R 315	20-4-60	390	275	275	310	295	265	250	76	223	205	170	155	148	209	613	637	502	411	369			
R 370	30-10-61	450	180	235	240	240	240	215	195	61	200	178	161	155	135	140	110	471	427	386	373	291	273
R 371	3-11-61	520	235	210	215	210	175	130	60	75	206	195	180	168	180	188	177	432	420	379	294	234	113
R 372	6-11-61	450	170	210	200	165	145	85	55	45	208	190	175	168	145	143	77	437	381	288	243	123	79
R 433	4-5-62	430	215	240	255	275	205	175	115	60	188	170	140	113	103	93	129	451	434	386	231	197	106
R 434	7-5-62	450	195	235	275	310	295	295	290	58	173	158	123	105	85	78	112	406	434	381	310	251	225
Moyennes		417	233	254	264	262	236	214	143	64	204	190	167	152	141	128	156	521	498	413	349	294	159

Excrétion biliaire (concentration et débit) du rouge neutre
Série témoin

TABLEAU 15

FOIES PERFUSÉS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μ l/30 min.								Rouge neutre en mg/100 ml								Rouge neutre en μ g/30 min.							
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
R 360	27-9-61	500	260	285	120	70	70	235	80	271	243	175	170	141	126	208	772	292	122	119	99	296				
R 363	6-10-61	440	170	170	55	50	45	180	210	25	200	216	200	193	105	130	42	340	119	100	96	69	189	273		
R 364	11-10-61	490	255	265	105	75	80	75	250	235	63	233	240	208	166	155	134	165	161	617	252	156	133	116	335	388
R 365	13-10-61	510	220	230	90	70	75	250	295	128	323	273	240	175	133	116	140	282	743	246	168	306	131	290	413	
R 366	16-10-61	530	215	250	100	65	65	55	185	230	53	208	213	208	170	148	125	144	114	520	213	135	110	81	231	331
R 367	19-10-61	530	190	200	85	50	45	40	150	185	46	229	250	247	213	190	153	175	87	458	212	123	96	76	229	324
R 368	23-10-61	430	240	260	90	45	40	40	170	215	98	273	240	220	200	159	135	130	235	710	216	99	80	64	229	279
R 369	27-10-61	470	270	240	95	65	70	65	215	260	98	263	229	208	165	144	128	166	265	631	218	135	115	94	275	432
R 435	8-5-62	450	225	260	100	80	70	70	285	320	90	218	168	138	105	97	75	105	202	567	168	110	73	68	214	336
R 436	9-5-62	480	215	255	105	75	85	100	255	300	70	190	170	155	115	113	97	113	150	484	178	116	98	113	247	339
Moyennes		483	226	241	94	64	65	63	217	250	75	241	224	200	167	143	119	141	174	584	211	126	122	91	263	346

Excrétion biliaire (concentration et débit) du rouge neutre.
 Action de l'hypothermie à 25°. Abaissement de la température en fin d'échantillon n° 2
 Réchauffement en fin d'échantillon n° 6

TABEAU 16

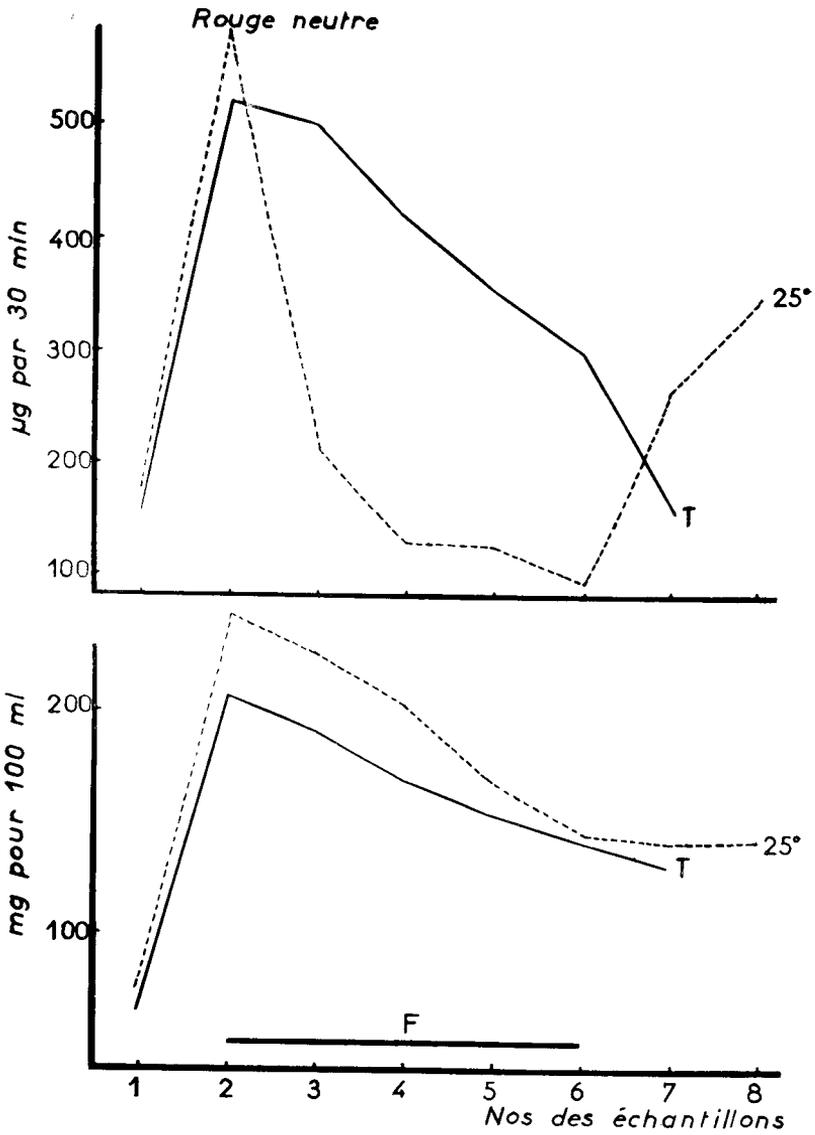


FIG. 13. — FOIE PERFUSÉ



Action de l'hypothermie sur l'excrétion biliaire du rouge neutre (concentration et débit).

T : série témoin (40° C).

Période de refroidissement (25° C): de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

VI. - ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR L'EXCRÉTION DES ACIDES BILIAIRES.

Les acides biliaires sont sans doute les constituants les plus importants de la bile, car c'est grâce à eux que cette sécrétion intervient dans la digestion, en particulier en émulsionnant les graisses.

Les méthodes habituelles de dosage des sels biliaires sont très complexes à mettre en œuvre et on ne trouve guère de données physiologiques sur les variations expérimentales de ces composés. La séparation électrophorétique des acides biliaires est assez commode à utiliser et en particulier, elle peut s'appliquer à des échantillons de bile d'environ 50 μ l. Elle nous a conduit aux constatations suivantes :

A. — ANIMAL ENTIER

Le principal acide biliaire de la bile est l'acide taurocholique qui est à la concentration d'environ 7,50 g par litre, mais on trouve également des quantités non négligeables d'acide glycocholique (environ 3 g par litre).

La fistule biliaire expérimentale supprime le cycle entero-hépatique des sels biliaires et il s'ensuit, du début de l'expérience à la fin de l'échantillon 6, une diminution progressive de la concentration. Dans notre

RATS ENTIERS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en µl /30 min.								Taurocholate en g/l								Glycocholate en g/l															
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8								
F 54	19-4-62	270	310	295	210	135	140	140	205	335	3,0	2,2	1,6	1,4	1,9	2,0	2,2	3,0	1,6	1,1	0,6	0,4	0,5	0,7	0,9									
F 58	4-5-62	260	385	395	290	200	190	185	405	465	3,1	2,4	3,6	3,5	3,6	3,5	2,8	2,4	4,8	3,5	5,1	3,3	3,1	2,8	1,9	1,7								
F 59	7-5-62	250	330	270	210	95	130	130	190	330	4,5	3,6	3,9	4,8	5,5	5,3	4,5	4,4	1,6	2,0	3,5	4,2	7,2	2,4	1,4	2,2								
F 60	8-5-62	270	305	305	245	240	190	135	275	305	13,0	10,4	9,1	9,5	5,4	4,0	2,9	2,9	0,7	0,4	0,6	0,6	0,3	0,7	0,3	0,3								
F 63	11-5-62	280	405	420	320	165	145	185	275	375	6,0	8,0	3,1	2,3	2,0	3,0	2,2	1,9	4,0	4,2	2,6	1,1	0,4	0,8	0,6	0,3								
F 68	18-5-62	250	300	310	210	125	110	120	215	275	7,1	5,0	3,8	3,1	1,9	2,2	2,5	2,9	1,9	3,7	1,0	0,7	0,6	0,6	0,8	0,8								
F 69	21-5-62	250	395	355	275	270	230	180	240	7,4	10,4	9,1	4,6	5,6	5,4	4,7	5,4	5,6	7,0	6,0	2,4	2,1	2,2	1,9	2,3									
F 73	25-5-62	240	605	455	290	215	200	200	275	430	8,0	13,4	11,2	8,4	8,3	5,8	8,0	6,3	7,6	9,0	7,5	2,7	3,3	2,4	2,6	1,9								
F 74	28-5-62	250	475	400	240	105	65	150	170	385	8,9	8,7	8,0	6,0	11,3	8,4	7,0	8,0	2,6	2,1	2,0	1,8	1,8	2,2	1,6	1,0								
F 76	30-5-62	250	430	365	250	135	165	170	280	430	6,0	4,9	3,8	4,7	5,6	4,3	2,7	3,3	10,2	6,0	4,1	3,8	2,7	1,4	0,9	0,3								
Moyennes		257	394	357	254	168	156	159	253	359	6,7	6,9	5,7	4,8	5,1	4,4	3,9	4,0	4,1	3,9	3,3	2,1	2,2	1,6	1,3	1,3								

Excrétion biliaire du taurocholate et du glycocholate
 Action de l'hypothermie à 25° Abaissement de la température en fin d'échantillon n° 2
 Réchauffement en fin d'échantillon n° 6

Sels biliaires

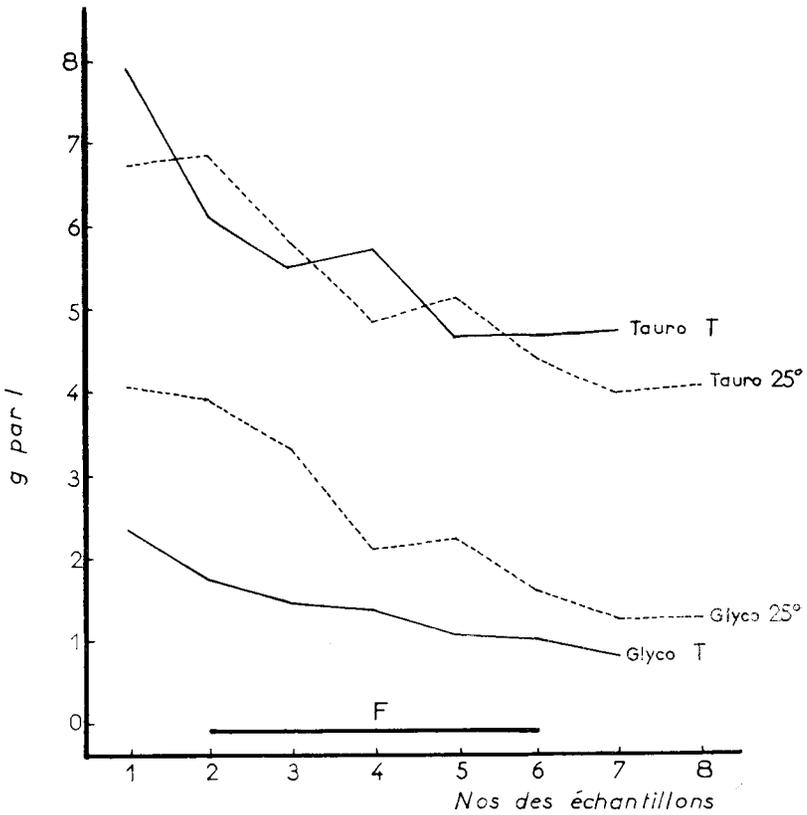


FIG. 14. — RAT ENTIER



Action de l'hypothermie sur l'excrétion des acides biliaires dans la bile, en concentration.

T : série témoin (38° C).

Période de refroidissement (25° C): de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

Sels biliaires

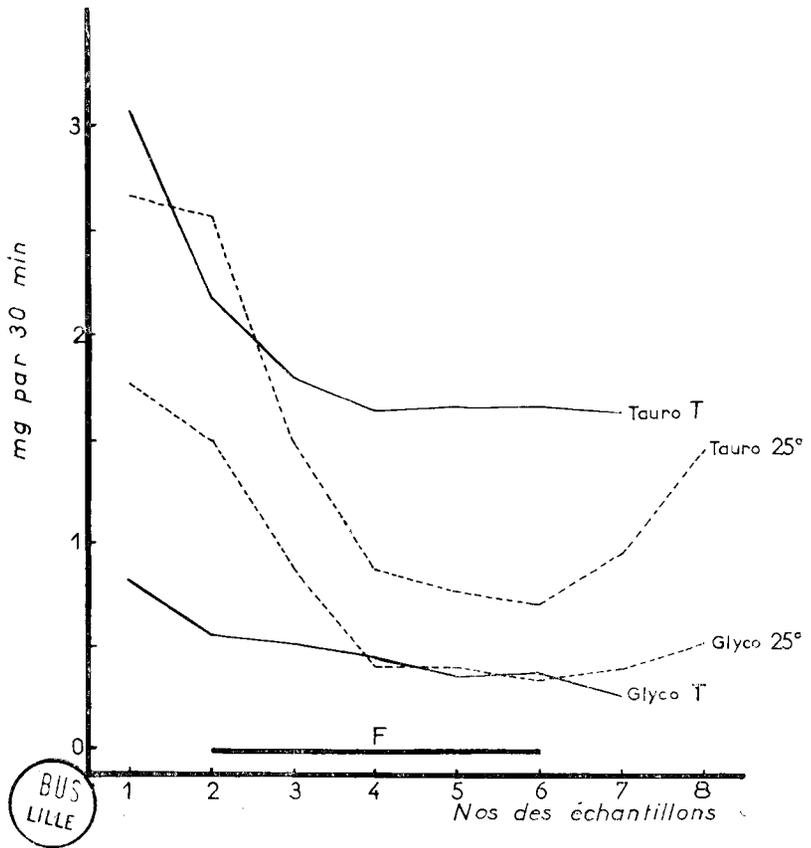


FIG. 14 bis. — RAT ENTIER

Action de l'hypothermie sur l'excrétion des acides biliaires dans la bile, en débit.
T : série témoin (38° C).

Période de refroidissement (25° C): de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

série témoin, la valeur moyenne de l'acide taurocholique est de 7,91 g/l dans l'échantillon 1, 4,63 g/l dans le n° 6 ; pour l'acide glycocholique, les chiffres correspondants sont de 2,34 g/l et 1,01 g/l. Le rapport de concentration des deux constituants principaux est donc compris entre 3 et 5.

Nous avons également noté que d'un animal à un autre, les teneurs en acides biliaires de la bile étaient très variables, allant de 3,9 g/l à 13,3 g/l pour l'acide taurocholique, de 0,7 g/l à 5,7 g/l pour l'acide glycocholique (1). FRIEDMAN et coll. (1951), utilisant la méthode de dosage photométrique de MINIBECK (qui ne donne pas une évaluation de la totalité des sels biliaires) trouvent, chez le rat dont la bile est recueillie par fistule biliaire, des taux moyens de l'ordre de 2 à 5 g/l pour la bile de 24 heures, avec sans doute des taux plus élevés pour la bile obtenue en début de cathétérisme. On sait par ailleurs, que chez l'homme, le taux est également très variable d'un sujet à un autre : 4,20 à 18,30 g/l (ALTMAN - Blood and other body Fluids, 1961).

En hypothermie (25° C) la concentration de l'acide taurocholique est pratiquement la même que chez les témoins et ceci, du début à la fin de l'expérience. La courbe des concentrations de l'acide glycocholique évolue parallèlement à celle des témoins, tout en étant située légèrement au dessus de cette dernière. Le débit des acides biliaires (en mg par échantillon de 30 minutes) reflète donc uniquement les variations du débit liquide, et l'on note une réduction sensible de la quantité d'acides excrétés par unité de temps pendant la phase d'hypothermie.

B. — FOIE PERFUSÉ

VANLERENBERGHE, MILBLED et GUERRIN (1960) avaient montré que la bile émise par un foie perfusé, contenait des acides taurocholique et glycocholique mais, à un taux très faible, allant de 4,58 g/l pour l'échantillon 1, à 0,44 g/l pour l'échantillon 6. Ces auteurs avaient également démontré que la préparation conjuguait l'acide cholique avec la taurine et le glyocolle, puisque l'infusion continue d'acide cholique (2 mg par heure) permettait de recueillir une bile enrichie en sels biliaires.

Avec une infusion continue d'acide cholique à raison de 5 mg par heure, nous sommes parvenue à obtenir des taux élevés d'acides tauro-

(1) Valeurs de l'échantillon n° 1, qui peuvent être considérées comme correspondant à la bile normale, le cycle entéro-hépatique n'étant supprimé que depuis moins de 30 minutes.

chologique et glycochologique dans la bile, assez voisins de ceux notés chez l'animal entier : 9,65 à 14,25 g/l pour le taurocholate, 1,66 à 3,42 g/l pour le glycocholate. Il est d'ailleurs à noter que le taux de l'acide glycochologique s'élève progressivement du début à la fin de l'expérience, tandis que la concentration en taurocholate est maximale dans l'échantillon 2, et diminue ensuite (évolution assez superposable à nos courbes de B.S.P.). Bien que l'infusion continue de cholate se fasse d'une façon identique pour toutes les préparations, on note, comme chez l'animal entier, des différences importantes dans les concentrations des acides biliars d'une expérience à une autre.

En hypothermie, on observe une élévation considérable de la concentration de l'acide taurochologique qui peut atteindre le double de la valeur des témoins. Après réchauffement, la concentration de ce sel revient rapidement à la normale. Les phénomènes observés avec l'acide glycochologique sont identiques, mais l'augmentation massive de la concentration apparaît plus tardivement.

Il se produit donc en hypothermie une compensation partielle de la réduction du débit biliaire par l'augmentation de la concentration des sels biliars.

Ces résultats sont très apparents sur les courbes de concentration et de débit (*fig. 14, 14 bis, 15, 15 bis*) ; en outre, nous les avons chiffrés, en utilisant le même procédé que pour la bilirubine, afin de tenir compte des différentes concentrations de débuts d'expériences. Les notations sont les suivantes :

T_1 et G_1 : valeurs moyennes de la concentration en taurocholate (T) et en glycocholate (G) des échantillons 1 et 2.

T_2 et G_2 : Valeurs correspondantes pour les échantillons 3 à 6.

	T_1 g/l	T_2 g/l	T_2 — T_1	T_2 — valeur T_1 relative par rapport aux témoins	G_1 g/l	G_2 g/l	G_2 — G_1	G_2 — valeur G_1 relative par rapport aux témoins
Animal entier								
Témoin	7,53	4,78	0,63	100	1,97	1,21	0,61	100
25° C	6,97	5,18	0,74	117,4	4,34	2,77	0,63	103,2
Foie perfusé								
Témoin	11,06	10,93	0,92	100	1,56	2,43	1,56	100
25° C	13,27	18,81	1,49	161,6	2,19	4,30	1,96	125,8

FOIES PERFUSÉS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μ l/30 min.								Taurocholate en g/l								Glycocholate en g/l												
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8					
R 357	15-3-61		360	530	540	460	410	330				2,5	3,5	2,4	2,0	3,0	3,1					0,8	0,8	0,5	0,5	1,1	0,8				
R 438	11-5-62	490	195	270	290	295	270	260	235	195	14,0	15,7	15,2	17,0	7,5	7,7	8,1	9,0	0,4	0,3	0,5	0,4	0,3	0,2	0,3	0,1					
R 445	21-5-62	410	140	180	200	150	110	60	40	30	8,0	21,1	22,9	22,9	20,8	10,5	26,2	10,4	1,9	1,9	3,2	6,9	8,3	3,0	15,4	8,7					
R 453	30-5-62	420	170	205	215	220	215	205	185	175	10,6	19,8	20,0	10,1	16,4	13,0	13,4	10,1	1,6	1,9	2,7	2,4	4,3	6,0	7,0	6,0					
R 456	4-6-62	420	170	230	285	265	275	240	225	205	11,7	15,2	12,2	8,6	7,9	15,3	16,8	31,0	1,4	1,1	1,5	1,8	1,0	1,4	2,0	4,1					
R 457	5-6-62	410	305	325	365	345	280	205	215	160	8,3	3,8	6,8	5,8	8,8	7,1	7,7	6,3	0,6	0,6	0,4	0,7	1,3	2,1	6,7	8,2					
R 458	6-6-62	440	210	225	270	270	295	255	250	230	15,3	19,5	14,8	13,5	11,0	14,2	14,9	16,2	0,5	0,6	0,4	0,4	0,3	0,5	0,7	0,3					
R 463	12-6-62	480	185	235	285	290	265	235	235	225	16,0	18,0	12,5	10,3	11,0	11,5	13,5	10,6	2,2	1,9	0,9	1,0	1,3	2,5	3,7	6,4					
R 464	13-6-62	490	185	275	290	315	330	310	260	255	7,0	16,0	14,3	17,5	6,0	4,5	3,7	4,5	5,7	4,5	5,0	7,7	6,0	5,7	6,3	10,6					
R 465	14-6-62	450	240	245	270	255	165	125	70	50	6,1	9,9	14,0	10,3	9,2	9,6	9,6	9,8	2,1	3,0	5,5	7,0	8,6	12,0	16,6	22,5					
Moyennes		445	216	272	301	286	261	222	190	169	9,9	14,2	13,5	11,8	10,2	9,6	12,6	11,9	1,7	1,7	2,1	2,9	3,2	3,4	6,5	7,4					

Excrétion biliaire du taurocholate et du glycocholate
Série témoin

TABLEAU 19

FOIES PERFUSÉS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en µl/30 min.								Taurocholate en g/l								Glycocholate en g/l							
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
			R 467	18-6-62	490	150	175	105	105	105	110	195	125	5,8	9,4	13,7	18,7	11,9	25,4	19,4	13,0	1,8	1,5	2,4	2,8	2,1
R 469	20-6-62	400	235	260	140	140	150	150	340	310	5,6	6,8	4,7	5,1	6,8	3,2	2,9	8,2	3,6	2,5	2,4	2,9	10,0	10,4	9,0	7,5
R 470	21-6-62	410	205	235	100	100	90	85	130	105	5,6	10,0	9,2	11,0	14,0	6,2	6,0	4,4	5,3	5,1	6,5	13,0	9,0	8,2	13,8	11,3
R 472	25-6-62	400	170	210	95	100	105	110	155	80	11,7	16,6	34,0	28,7	22,4	25,7	19,8	8,8	1,1	0,4	0,9	0,7	0,7	0,6	0,5	0,3
R 473	26-6-62	400	105	165	90	80	85	85	155	105	7,5	15,3	22,9	25,0	26,3	22,9	22,6	19,3	4,1	4,0	5,5	5,2	9,5	14,3	15,2	20,8
R 474	27-6-62	450	210	240	115	105	120	115	225	215	20,5	18,8	15,5	23,3	51,0	61,0	46,0	19,3	1,1	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6	0,6
R 479	4-7-62	480	165	205	95	90	95	90	175	145	9,5	12,3	13,4	12,3	16,4	12,1	8,0	4,5	2,3	2,3	3,3	3,7	6,0	18,8	25,2	26,7
R 481	6-7-62	440	220	255	115	125	115	115	225	150	8,4	11,0	13,2	21,1	35,5	32,7	21,3	18,9	0,3	0,6	0,3	0,4	0,4	0,2	0,3	0,3
R 482	9-7-62	400	175	200	70	60	80	85	250	155	5,6	8,2	10,6	12,0	20,8	21,7	9,3	3,9	3,0	0,5	0,6	0,5	0,9	1,9	1,4	1,5
R 483	10-7-62	400	125	170	80	80	80	75	105	75	8,5	13,4	9,1	10,3	11,7	5,5	5,5	4,7	1,3	3,0	2,1	3,3	6,5	5,5	7,8	8,3
Moyennes		427	176	211	100	98	102	103	195	146	8,9	12,1	14,6	16,7	21,7	21,6	16,1	10,5	2,4	2,1	2,5	3,5	5,8	7,1	8,0	7,3

Excrétion biliaire du taurocholate et du glycocholate
 Action de l'hypothermie à 25° Abaissement de la température en fin d'échantillon n° 2
 Réchauffement en fin d'échantillon n° 6

Sels biliaires

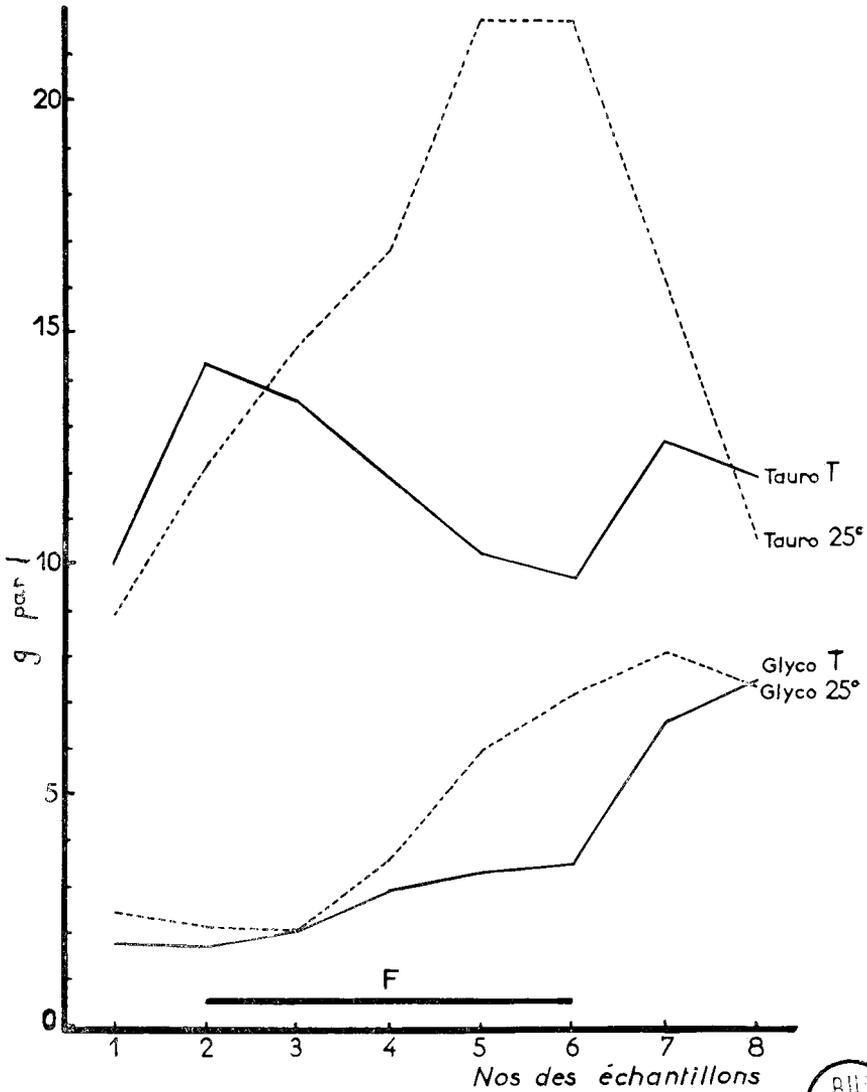


FIG. 15. — FOIE PERFUSÉ



Action de l'hypothermie sur l'excrétion des acides biliaires dans la bile, en concentration.

T : série témoin (40° C).

Période de refroidissement (25° C): de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

Sels biliaires

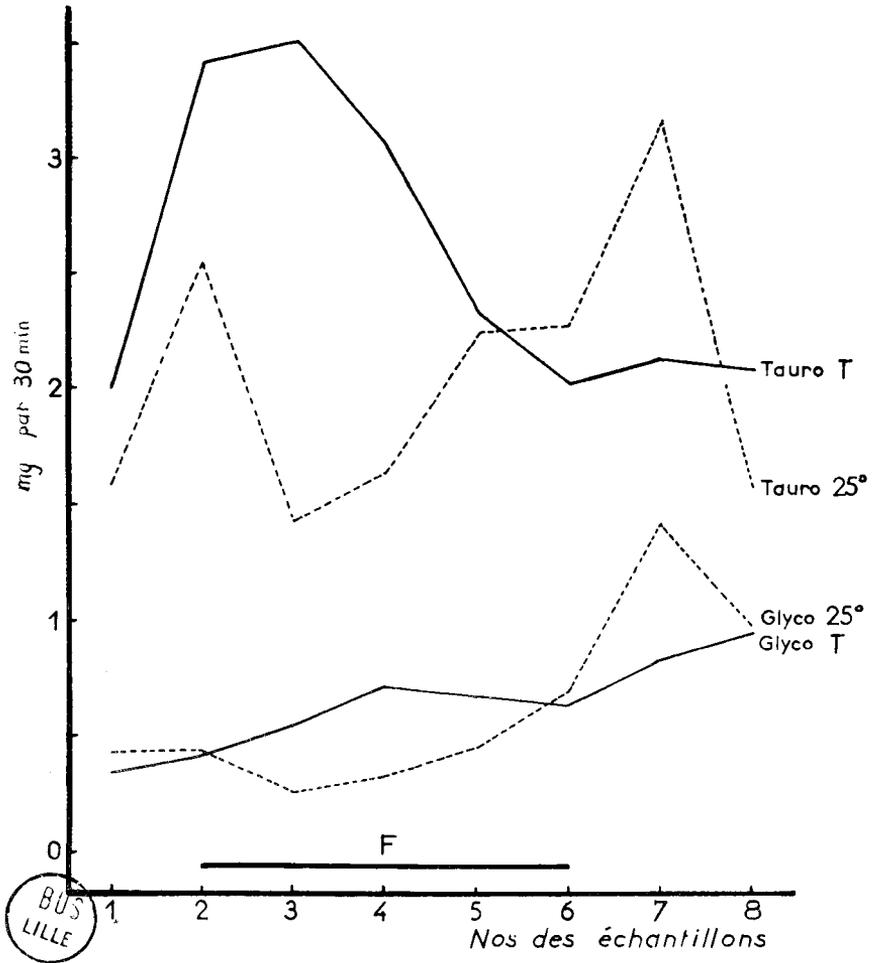


FIG. 15 bis. — FOIE PERFUSÉ

Action de l'hypothermie sur l'excrétion des acides biliaires dans la bile, en débit.
T : série témoin (40° C).

Période de refroidissement (25° C): de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

Il apparaît ainsi que chez l'animal entier les augmentations de concentrations en hypothermie sont négligeables pour le glycocholate, et peu marquées pour le taurocholate.

Au contraire, sur le foie perfusé, on observe une augmentation sensible de la concentration des sels biliaries, mais plus marquée pour le taurocholate, ce qui semble logique puisqu'il s'agit là du constituant principal de la bile du rat.

D'une façon globale, il apparaît donc que le foie en hypothermie conserve intacte sa fonction de concentration des sels biliaries dans la bile, et peut encore conjuguer l'acide cholique avec la taurine et le glycocholate.

VII. - ACTION DU DEHYDROCOLATE DE SODIUM PENDANT L'HYPOTHERMIE.

Parmi les substances qui augmentent le volume du débit biliaire, le déhydrocolate de sodium occupe une place privilégiée. Il s'agit d'un corps ayant la structure des acides biliaires physiologiques et qui est habituellement utilisé comme base de référence pour chiffrer l'action des cholérétiques. De plus tous les travaux sur ce produit s'accordent à reconnaître que seul le volume de bile est augmenté tandis que la concentration des substances dissoutes est diminuée ; il s'agit donc d'un hydrocholérétique. Le mécanisme intime d'action du déhydrocolate n'est toutefois pas encore précisé et on ne sait s'il se produit une augmentation de la filtration ou une excitation du phénomène de sécrétion de l'eau.

De toute façon, il nous a semblé intéressant de reprendre les travaux de KALOW (1950) sur l'animal entier et d'étendre ces observations au comportement du foie de rat perfusé.

A. — ANIMAL ENTIER

Premier mode opératoire : Injection du déhydrocolate de sodium à la fin du 3^e échantillon.

— série témoin : température de 38° C.

— série en hypothermie : 2 échantillons à 38° C — échantillons 3 à 6 à 25° C — réchauffement à 38° C pour les n^{os} 7 et suivants.

Sur la courbe témoin, l'action cholérétique classique du déhydrocholate se traduit par une augmentation brutale et fugace du volume biliaire. L'échantillon 4 qui suit l'injection intraveineuse du produit, est sensiblement le double du précédent, mais dès l'échantillon 5, l'augmentation de la cholérèse n'est plus que de 15 p. 100 environ.

Dans la série en hypothermie, on retrouve la réduction de la sécrétion biliaire dès le refroidissement, et à 25° C, l'injection intraveineuse de déhydrocholate détermine une augmentation de la cholérèse de l'ordre de 90 p. 100, dans les mêmes délais que chez les témoins ; ici également, l'action est fugace et l'échantillon 6 est à peine supérieur à la normale.

Lors du réchauffement, la sécrétion biliaire s'élève et rejoint la valeur des témoins, ce qui apporte une nouvelle preuve de la réversibilité des phénomènes.

La concentration biliaire de la bilirubine diminue sous l'influence du déhydrocholate de sodium, tant en hypothermie que chez les témoins. Il semble toutefois que la chute soit plus marquée dans la série à 25° C, ce qui vient confirmer les résultats exposés dans le chapitre 3, concernant l'action de l'hypothermie sur l'excrétion de la bilirubine. La quantité totale de bilirubine excrétée (par 30 minutes) est également moins élevée à 25° qu'à 38° C ce qui est la conséquence d'une réduction simultanée des débits biliaires et des concentrations pigmentaires.

Dans ces expériences, les courbes d'extraits secs n'apportent guère d'éléments nouveaux (1) : les valeurs par litre sont sensiblement identiques dans les deux séries expérimentales et les quantités de solides éliminées par 30 minutes reflètent essentiellement les variations volumétriques de la sécrétion .

Second mode opératoire.

Les essais précédents ne permettent d'obtenir que des résultats qualitatifs, car en hypothermie, on ne dispose que d'un échantillon avant l'action du déhydrocholate, ce qui ne permet pas de chiffrer avec certitude l'effet cholérétique.

(1) Le déhydrocholate de sodium est excrété dans la bile, ce qui oblige à interpréter les résultats uniquement par comparaison avec la série témoin.

RATS ENTIERS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μl /30 m.							Extrait sec en mg /100 μl							Bilirubine en mg/l						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 266	16-3-62	250	240	220	255	565	355	310	280	3,95	3,60	3,80	3,70	3,16	2,88	2,75	226	255	278	144	183	207	209
G 267	16-3-62	250	410	435	430	805	430	425	395	4,25	3,65	3,66	3,85	3,35	3,55	3,20	216	194	207	111	147	177	193
G 268	19-3-62	270	390	370	425	635	595	525	515	3,15	3,42	3,00	2,95	3,10	2,65	2,42	215	202	191	231	516	740	1088
G 269	21-3-62	250	375	400	395	475	470	460	425	4,65	4,55	3,35	3,31	2,85	2,65	2,70	254	198	240	171	185	220	217
G 270	21-3-62	250	310	335	320	745	390	340	320	4,10	3,75	3,25	3,50	2,98	2,63	2,45	364	254	217	145	235	263	235
G 271	22-3-62	250	220	220	255	635	370	335	290	4,71	5,04	4,46	4,75	4,05	3,75	3,75	299	226	274	139	205	249	266
G 272	22-3-62	250	330	230	285	670	355	315	265	4,25	3,90	3,95	4,05	3,30	3,10	3,05	173	203	206	147	186	236	265
G 273	23-3-62	270	435	410	475	950	515	475	495	3,70	3,65	3,60	3,65	3,20	3,70	3,45	176	189	181	123	166	159	178
G 274	23-3-62	270	460	425	510	895	650	545	430	3,05	2,80	2,45	2,80	2,15	2,30	2,90	172	194	186	108	128	151	199
G 275	26-3-62	280	290	250	295	635	400	335	325	4,11	3,50	3,35	2,80	2,50	2,15	2,80	151	190	164	113	141	194	227
Moyennes		259	346	329	364	703	453	406	374	3,99	3,75	3,48	3,53	3,06	2,93	2,95	224	210	213	143	209	259	308

Cholestérose provoquée par le Déhydrocholate de sodium (50 mg/kg) administré entre 3 et 4
Série témoin

TABLEAU 21

RATS ENTIERS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μ l /30 min.								Extrait sec en mg /100 μ l								Bilirubine en mg /l							
			1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
F 35	23-3-62	260	455	360	280	505	320	190	180	310	3,90	3,70	3,25	3,30	3,08	3,05	3,15	3,75	260	249	234	109	100	124	127	180
F 36	26-3-62	250	300	245	155	235	350	375	420	355	4,21	4,21	3,30	3,20	3,22	3,25	3,05	3,10	162	207	216	169	54	58	78	143
F 37	27-3-62	250	305	255	155	300	215	145	195	340	3,65	3,65	4,04	3,86	4,15	3,10	3,35	3,50	165	143	214	109	34	49	70	131
F 38	28-3-62	250	405	380	270	470	360	290	335	365	3,15	2,94	2,75	2,56	2,50	2,45	2,15	2,35	164	248	216	87	79	109	118	154
F 39	29-3-62	280	395	375	295	395	290	250	335	440	2,93	3,73	3,35	3,25	3,11	3,30	3,30	3,10	227	222	234	109	111	140	198	287
F 40	30-3-62	280	325	355	265	590	335	230	250	340	4,15	3,65	3,00	3,24	2,85	2,65	2,60	2,40	187	192	220	128	109	124	174	210
F 41	2-4-62	260	315	305	205	395	280	215	180	290	3,60	3,64	3,15	3,35	3,25	2,94	3,03	2,80	114	128	116	60	58	74	113	155
F 42	3-4-62	245	310	295	230	335	310	245	295	340	3,58	3,60	3,10	3,35	3,15	2,95	2,75	2,95	279	334	581	162	82	180	159	271
F 43	4-4-62	250	325	260	170	390	260	175	200	280	4,35	3,85	3,70	3,75	3,70	3,51	3,01	3,47	315	273	279	134	90	128	156	225
F 44	5-4-62	250	345	345	220	330	335	320	360	390	4,30	4,40	4,15	3,60	3,50	3,40	2,55	2,75	273	264	347	197	147	159	226	269
Moyennes		257	348	317	224	394	305	243	275	345	3,78	3,74	3,38	3,34	3,25	3,06	2,89	3,02	215	226	266	126	86	114	142	202

Cholérèse provoquée par le Déhydrocholate de sodium (50 mg /kg) administré entre 3 et 4
 Action de l'hypothermie à 25° Abaissement de la température en fin d'échantillon n° 2
 Réchauffement en fin d'échantillon n° 6

TABLEAU 22

Bile

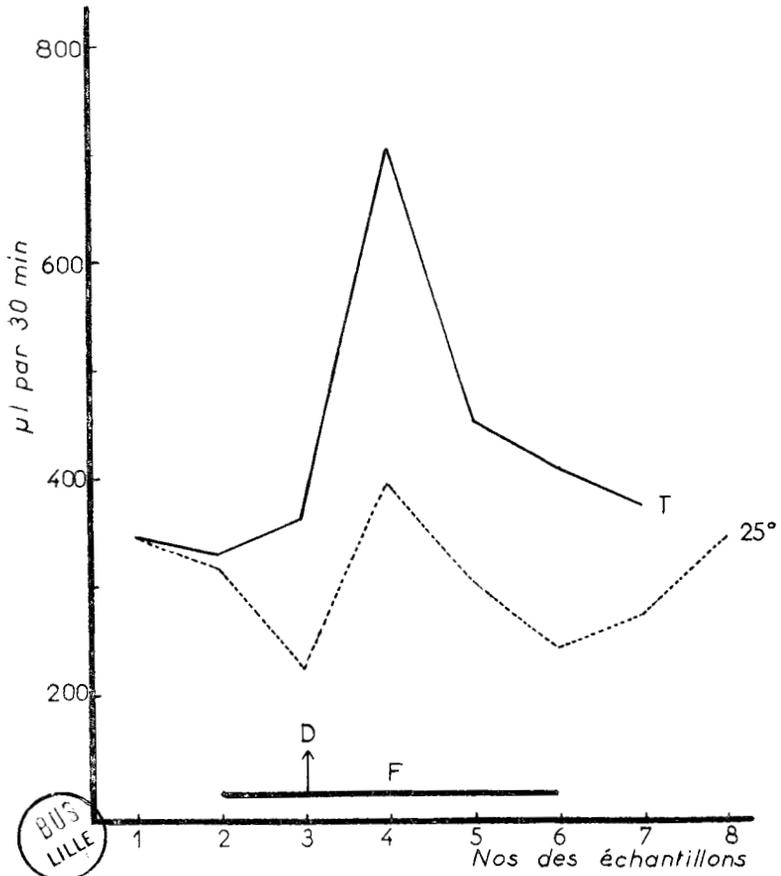


FIG. 16. — ANIMAL ENTIER

Action de l'hypothermie sur la cholérèse provoquée par le déhydrocholate de sodium (50 mg/kg) administré en fin d'échantillon n° 3.

T : série témoin (38°C).

Période de refroidissement (25°C): de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

Bilirubine biliaire

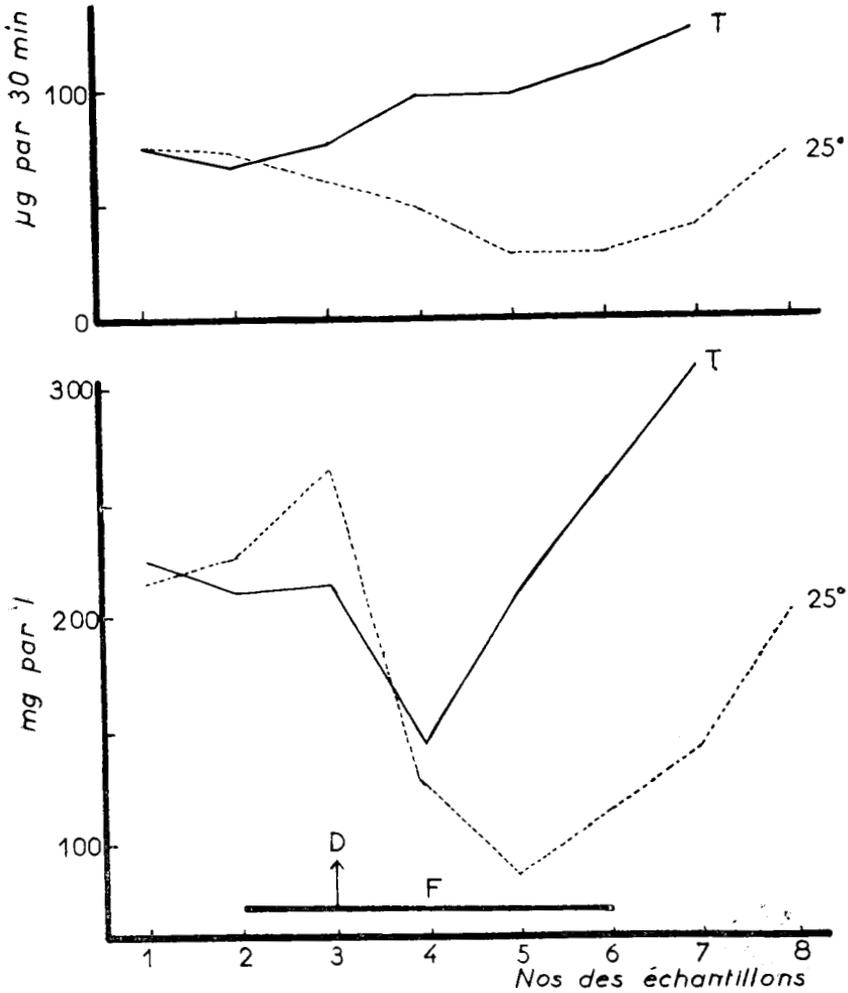


FIG. 17. — ANIMAL ENTIER

Action de l'hypothermie sur la concentration et le débit de la bilirubine biliaire, sous l'action du déhydrocholate de sodium (50 mg/kg) administré en fin d'échantillon n° 3.

T : série témoin (38° C).

Période de refroidissement (25° C): de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

Extrait sec

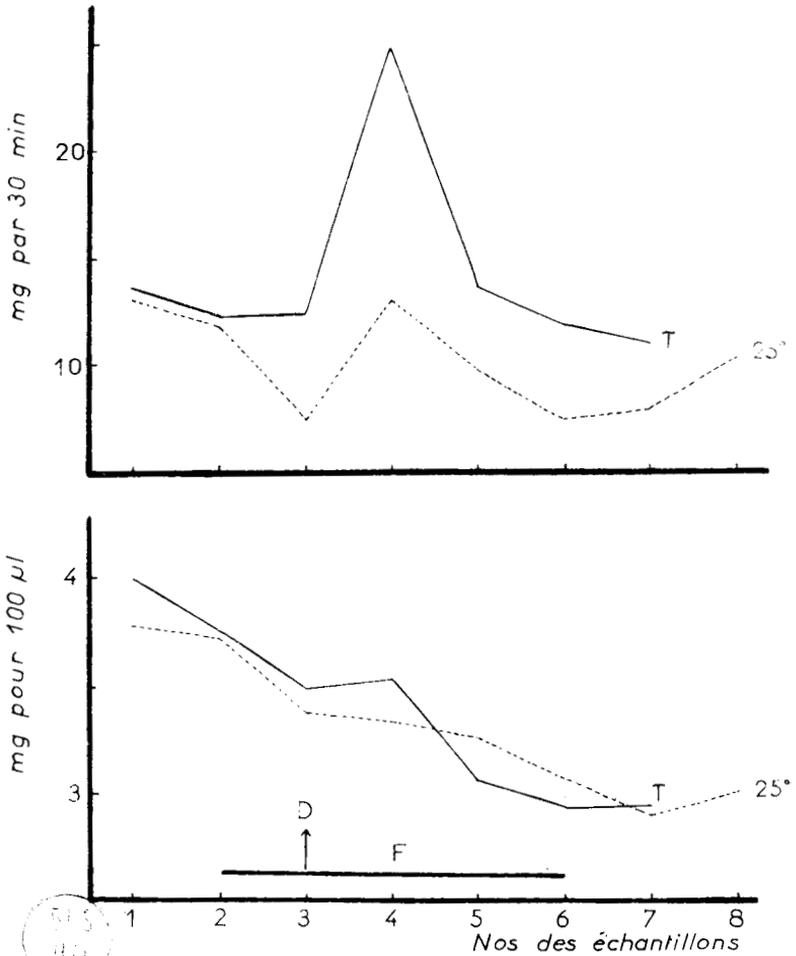


FIG. 18. — ANIMAL ENTIER

Action de l'hypothermie sur la concentration et le débit de l'extrait sec de la bile, sous l'action du déhydrocholate de sodium (50 mg/kg) administré en fin d'échantillon n° 3.

T : série témoin (38° C).

Période de refroidissement (25° C) : de la fin du 2^e échantillon à la fin du 6^e échantillon.

Aussi avons-nous mis en œuvre une nouvelle série expérimentale dans laquelle l'animal, après narcose, est amené à une température de 25° C avant la réalisation de la fistule biliaire. Tout l'essai est alors mené en hypothermie, avec injection intraveineuse du déhydrocholate à la fin de l'échantillon n° 2. Les résultats ont été comparés avec une série témoin (animaux maintenus à 38° C) antérieurement réalisée au Laboratoire par VANLERENBERGHE, GUERRIN, ROBELET et MILBLED (1).

Les résultats obtenus sont très nets et montrent qu'à 25° C, le déhydrocholate de sodium augmente de façon importante le volume biliaire. On constate en outre qu'en hypothermie, l'action cholérétique est plus prolongée puisque l'échantillon 5 est encore nettement plus élevé que la normale alors qu'à 38° C ce même échantillon est déjà au dessous de la cholérèse de base.

Sous l'influence du déhydrocholate on obtient une diminution de la concentration biliaire de la bilirubine aussi bien chez les témoins qu'en hypothermie. Cependant dans ce dernier cas, le maximum d'effet est plus tardif, sans doute en raison de la réduction volumétrique (voir la discussion dans le chapitre : action de l'hypothermie sur l'extrait sec).

L'étude des extraits secs nous confirme que la bile émise à 25° C est sensiblement identique à la bile normale. La diminution de concentration sous l'influence du déhydrocholate de sodium est nette dans la série témoin et très peu marquée en hypothermie. L'excrétion des solides par unité de temps décrit une courbe identique à celle du premier mode opératoire et suit fidèlement les variations volumétriques de la sécrétion.



B. — FOIE PERFUSÉ

Sur le foie perfusé, le déhydrocholate de sodium (2 mg pour une perfusion) ajouté à la fin du 2^e échantillon, donne une élévation nette de la cholérèse, mais l'action est très fugace puisque le 4^e échantillon est redevenu normal.

Lorsque le même essai est réalisé en hypothermie à 25° C, on retrouve l'action cholérétique du déhydrocholate de sodium, avec un effet maximum dans l'échantillon n° 3. Mais contrairement à ce qui se passe à la tempé-

(1) Le tableau, inédit, est publié avec l'autorisation des auteurs.

RATS ENTIERS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en $\mu\text{l}/30 \text{ min.}$						Extrait sec en $\text{mg}/100 \mu\text{l}$						Bilirubine en mg/l					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
G 26	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
G 27	28-5-57	220	515	512	986	541	408	388	3,63	3,31	3,58	2,71	2,52	2,87	136	136	170	124	244	268
G 32	22-6-57	250	407	397	856	478	428	417	4,27	3,60	3,23	3,01	2,83	2,82	194	182	150	228	254	266
G 59	13-1-58	260	465	473	900	515	392	287	3,29	2,78	2,90	2,52	2,59	2,81	173	152	64	165	193	161
G 61	18-1-58	250	360	370	760	510	430	280	4,13	3,52	3,73	2,95	2,11	3,60	172	178	158	248	306	354
G 67	30-1-58	260	230	250	635	326	185	120	4,42	4,09	3,50	3,01	2,84	3,30	274	278	134	228	272	284
G 68	3-2-58	230	350	360	750	412	348	250	4,30	3,41	3,17	2,85	2,73	2,59	174	166	132	198	236	270
G 71	8-2-58	270	345	360	743	438	372	220	4,40	4,45	4,19	2,98	2,80	2,88	228	236	115	146	175	198
G 74	15-2-58	260	365	320	576	235	155	95	4,12	3,93	3,95	3,19	3,12	3,44	196	208	158	291	297	328
G 75	15-2-58	270	310	315	640	355	305	270	6,01	4,72	4,20	3,56	3,50	3,57	214	222	173	298	322	339
Moyennes		249	364	373	767	427	342	270	4,25	3,73	3,57	2,96	2,75	3,03	194	195	142	216	257	278

Cholérèse provoquée par le Déhydrocholate de sodium (50 mg/kg) administré entre 2 et 3
Série témoin

TABLEAU 23

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μ l/30 min.						Extrait sec en mg/100 μ l						Bilirubine en mg/l					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
F 52	17-4-62	280	200	195	510	430	290	245	3,00	2,85	3,00	3,15	2,90	2,90	65	96	78	54	64	133
F 53	18-4-62	260	85	120	375	250	175	195	3,95	3,15	3,20	3,30	3,05	3,03	135	86	96	113	150	163
F 57	3-5-62	270	200	165	350	245	220	180	4,30	3,36	3,45	3,45	3,55	3,10	177	72	50	54	71	150
F 61	9-5-62	250	125	155	485	415	275	285	2,73	3,30	3,80	2,71	2,75	2,65	202	245	114	93	122	124
F 66	16-5-62	250	200	125	410	330	235	185	4,45	3,28	3,05	3,00	3,00	2,95	155	109	89	80	97	165
F 67	17-5-62	260	165	135	355	290	220	155	3,40	3,25	3,75	3,90	3,35	3,00	238	132	82	71	109	186
F 70	22-5-62	250	160	160	465	340	275	265	4,30	4,05	3,50	3,28	3,25	3,10	127	127	100	89	105	109
F 71	23-5-62	250	100	95	320	340	265	235	4,14	4,12	3,65	3,35	3,30	3,30	117	100	102	60	79	66
F 72	24-5-62	260	185	145	345	275	230	155	4,25	3,40	3,85	3,60	3,65	3,60	194	146	147	116	143	141
F 75	29-5-62	260	150	140	425	415	350	250	3,95	3,65	3,20	3,25	2,90	2,75	222	176	135	123	116	140
Moyennes		259	157	143	404	333	253	215	3,85	3,44	3,44	3,30	3,17	3,04	163	129	99	85	106	138

Cholestérose provoquée par le Déhydrocholate de sodium (50 mg/kg) administré entre 2 et 3
Série à 25°

TABLEAU 24

Bile

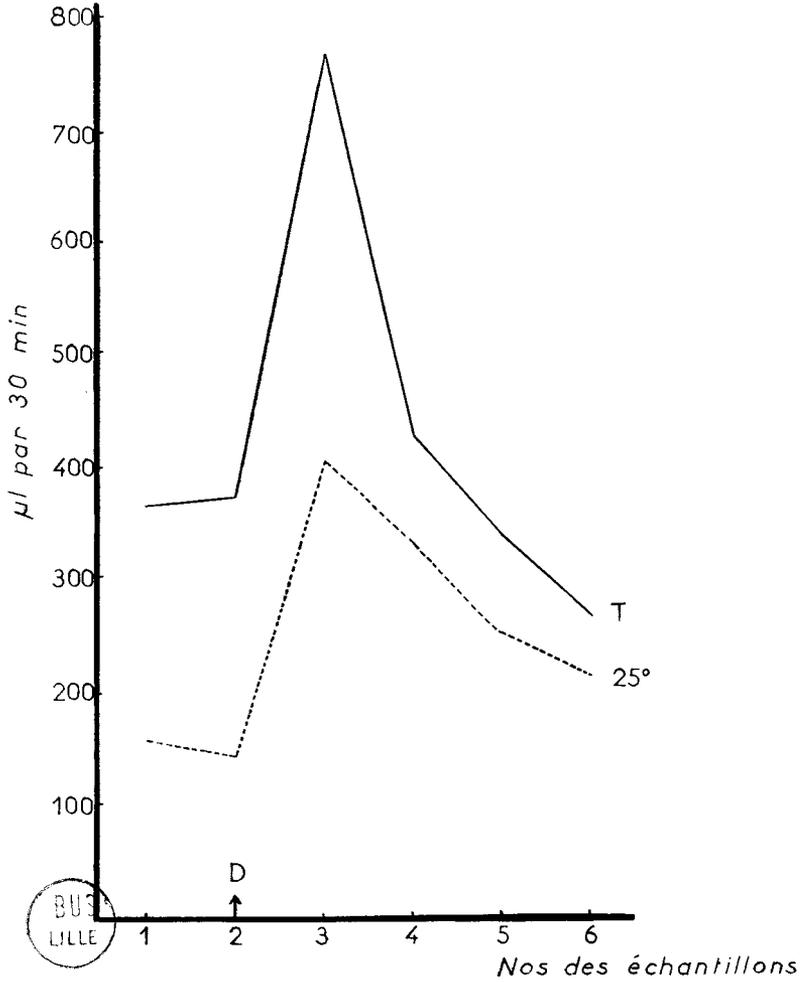


FIG. 19. — ANIMAL ENTIER

Action de l'hypothermie sur la cholérèse provoquée par le déhydrocholate de sodium (50 mg/kg) administré en fin d'échantillon n° 2.

T : série témoin (38° C).

Bilirubine biliaire

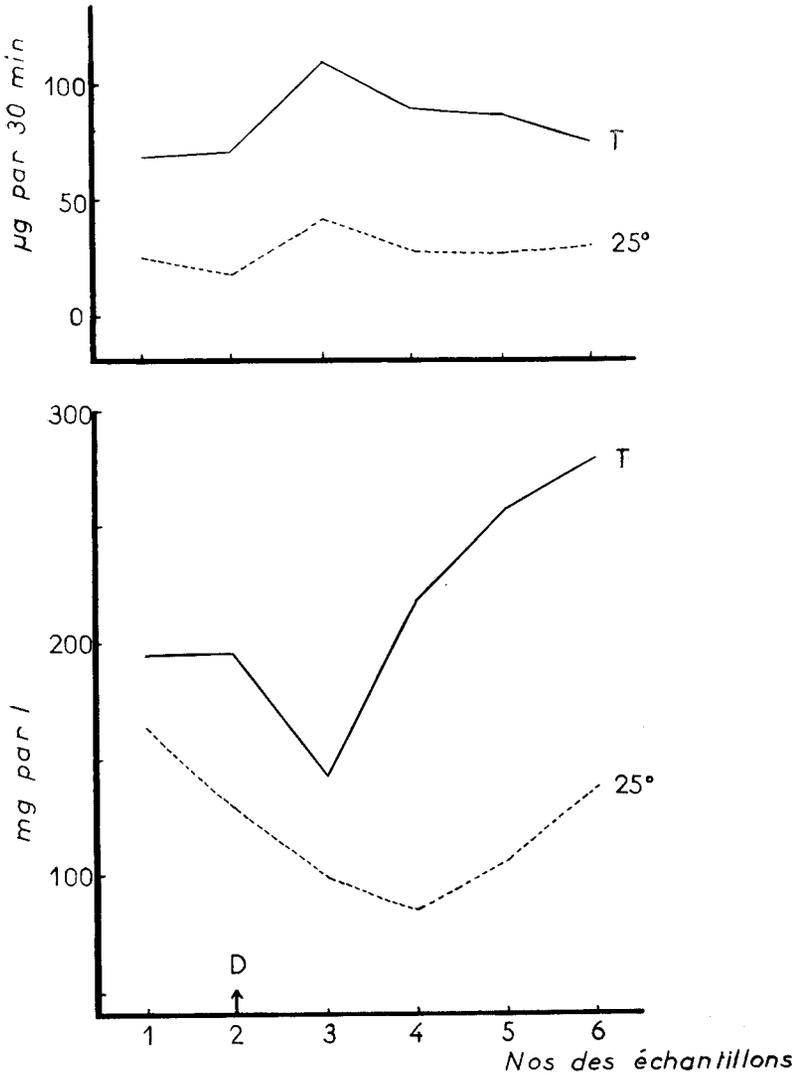


FIG. 20. — ANIMAL ENTIER

Action de l'hypothermie sur la concentration et le débit de bilirubine biliaire, sous l'action du déhydrocholate de sodium (50 mg/kg) administré en fin d'échantillon n° 2.

T : série témoin (38° C).



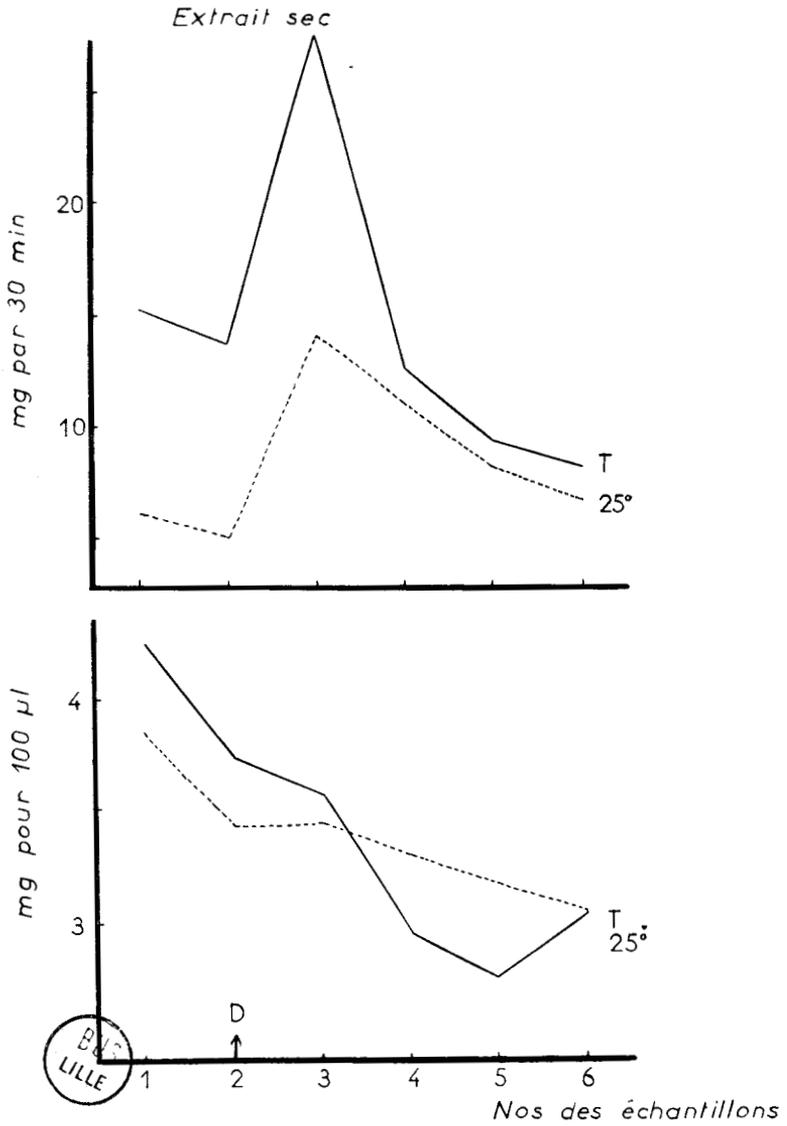


FIG. 21. — ANIMAL ENTIER.

Action de l'hypothermie sur la concentration et le débit de l'extrait sec de la bile, sous l'action du déhydrocholate de sodium (50 mg/kg) administré en fin d'échantillon n° 2.

T : série témoin (38° C).

rature de 40° C, l'augmentation de la cholérèse persiste, bien qu'à un degré moindre — dans l'échantillon suivant.

Chez les témoins déhydrocholate, la bilirubine biliaire augmente progressivement du premier au 6^e échantillon comme dans les perfusions sans déhydrocholate mais les valeurs moyennes obtenues sont toujours plus basses, en particulier dans les échantillons 3 et 4, ce qui correspond à la dilution biliaire sous l'effet du cholérétique.

La courbe de bilirubine à 25° C est toujours située très largement au dessous de la courbe des témoins, ce qui apporte une nouvelle confirmation de la réduction de l'excrétion de la bilirubine en hypothermie.

Les résultats obtenus avec la détermination de l'extrait sec sont intéressants à souligner. On constate d'abord que la courbe 25° C est toujours située au dessus de la courbe 40° C, ce qui vient confirmer les données recueillies dans l'étude du chapitre II (action de l'hypothermie sur l'extrait sec). Sur la courbe témoin, une augmentation temporaire de l'extrait sec apparaît dans l'échantillon 3 ; elle traduit l'élimination par la voie biliaire du déhydrocholate de sodium. En hypothermie, ce même accident se produit beaucoup plus tardivement, dans l'échantillon 5, ce qui marque un retard très net de l'excrétion du produit.

ÉTUDE QUANTITATIVE DE L'ACTION DU DÉHYDROCHOLATE DE SODIUM.

La comparaison de l'action du déhydrocholate de sodium à 40° et à 25° C pose ce même problème que l'estimation quantitative de l'action cholérétique de diverses substances.

La figure 25 donne une représentation schématique de l'évolution de la cholérèse en fonction du temps lors de l'injection d'une substance X.

L'estimation de l'activité cholérétique peut se faire, dans des conditions expérimentales constantes, par la détermination de :

A = augmentation de la cholérèse au dessus du débit basal.

A + B = cholérèse totale après cholérétique (ce qui suppose que la cholérèse de base, soit peu variable d'un individu à un autre, à l'intérieur de la même espèce).

A
— = augmentation de la cholérèse, en valeur relative, par rapport à la
B cholérèse de base.

FOIES PERFUSÉS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μ l/30 min.						Extrait sec en mg/100 μ l						Bilirubine en mg/l					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
R 91	6-1-58	330	200	170	285	175	160	155	3,57	2,40	2,48	2,24	2,09	2,11	210	164	118	210	240	248
R 92	8-1-58	360	160	160	275	200	165	150	4,36	2,60	2,34	3,35	2,37	2,39	176	144	202	228	242	291
R 162	18-8-58	290	215	175	270	165	160	150	2,60	2,42	2,95	2,75	2,71	2,85	149	157	164	246	306	332
R 163	20-8-58	330	230	225	310	195	175	150	3,26	2,46	2,91	2,56	2,59	2,39	230	346	452	490	510	520
R 164	22-8-58	310	240	240	325	220	205	190	3,41	2,67	2,86	2,54	2,68	2,48	136	152	190	266	392	407
R 165	27-8-58	290	163	135	225	120	115	75	3,72	2,91	3,29	2,84	2,72	2,55	150	186	243	376	470	512
R 166	29-8-58	250	160	155	260	115	65	20	3,35	2,57	3,34	2,54	2,79	268	143	120	168	230		
R 455	2-6-62	420	135	150	295	240	205	195	4,00	2,85	2,95	2,60	2,45	2,45	154	195	235	273	326	408
R 459	7-6-62	410	170	140	240	165	160	155	3,70	2,70	2,95	2,45	3,10	2,50	259	211	458	456	579	959
R 461	8-6-62	410	160	190	300	210	185	170	4,05	3,70	4,05	3,55	3,25	3,60	160	227	304	377	430	697
Moyennes		340	183	174	278	180	159	141	3,60	2,72	3,03	2,74	2,67	2,59	189	192	249	309	372	486

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

TABLEAU 25

FOIES PERFUSÉS

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile en μ l/30 min.						Extrait sec en mg/100 μ l						Bilirubine en mg/l					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
R 444	19-5-62	450	85	70	135	85	70	55	4,12	3,00	3,47	4,45	4,33	4,83	230	214	255	194	190	204
R 449	25-5-62	440	90	55	125	90	75	75	4,10	3,50	4,33	4,30	4,23	4,40	239	232	179	143	198	184
R 450	26-5-62	450	125	95	175	115	105	95	4,05	4,00	3,35	3,35	3,89	3,38	202	147	99	112	151	138
R 451	28-5-62	440	75	50	115	65	60	55	5,57	5,50	5,40	4,33	4,23	4,25	259	239	207	156	151	135
R 452	29-5-62	440	95	75	155	85	80	70	3,28	4,66	4,50	3,50	5,60	4,46	260	203	251	208	215	255
R 454	1-6-62	440	65	40	110	60	55	50	4,80	4,66	3,70	4,57	4,50	3,17	181	238	198	163	151	162
R 460	7-6-62	400	75	55	135	90	75	85	5,42	5,83	3,07	3,00	4,62	3,50	250	172	142	182	231	275
R 462	8-6-62	450	75	55	150	80	75	70	5,25	4,25	3,25	3,60	4,42	5,50	191	151	210	117	144	235
R 466	15-6-62	410	45	35	115	70	55	55			3,00	3,20	3,00	2,33	190	180	231	203	192	218
R 468	19-6-62	510	80	70	150	85	80	85	6,20	4,75	3,05	4,40	5,80	3,00	235	263	285	202	239	289
Moyennes		443	81	60	136	82	73	69	4,75	4,46	3,71	3,87	4,46	3,88	224	204	206	168	186	209

Cholérèse provoquée par le Déhydrocholate de sodium (2 mg) administré entre 2 et 3
Série à 25°

TABLEAU 26

Bile

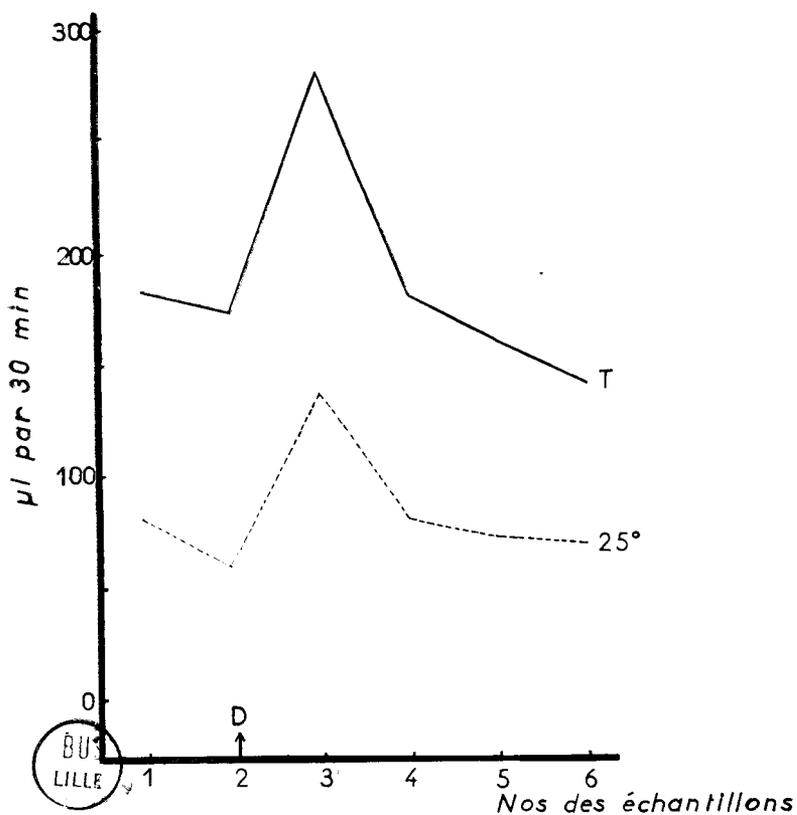


FIG. 22. — FOIE PERFUSÉ

Action de l'hypothermie sur la cholérèse provoquée par le déhydrocholate de sodium (2 mg) administré en fin d'échantillon n° 2.

T : série témoin (40° C).

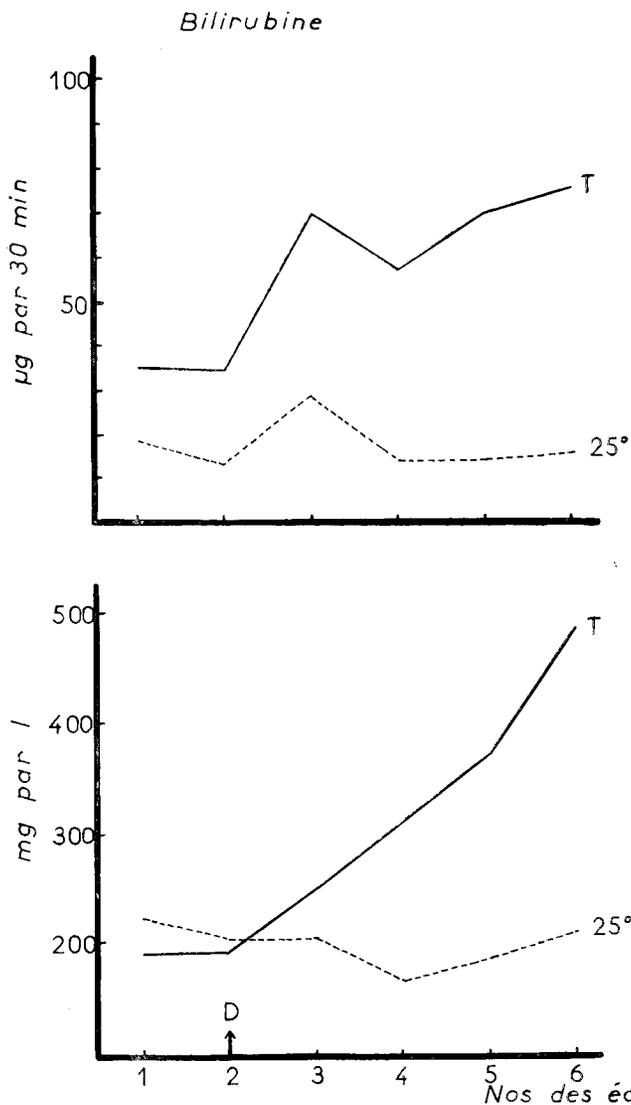


FIG. 23. — FOIE PERFUSÉ

Action de l'hypothermie sur la concentration et le débit de bilirubine biliaire, sous l'action du déhydrocholate de sodium (2 mg) administré en fin d'échantillon n° 2.
T : série témoin (40° C).

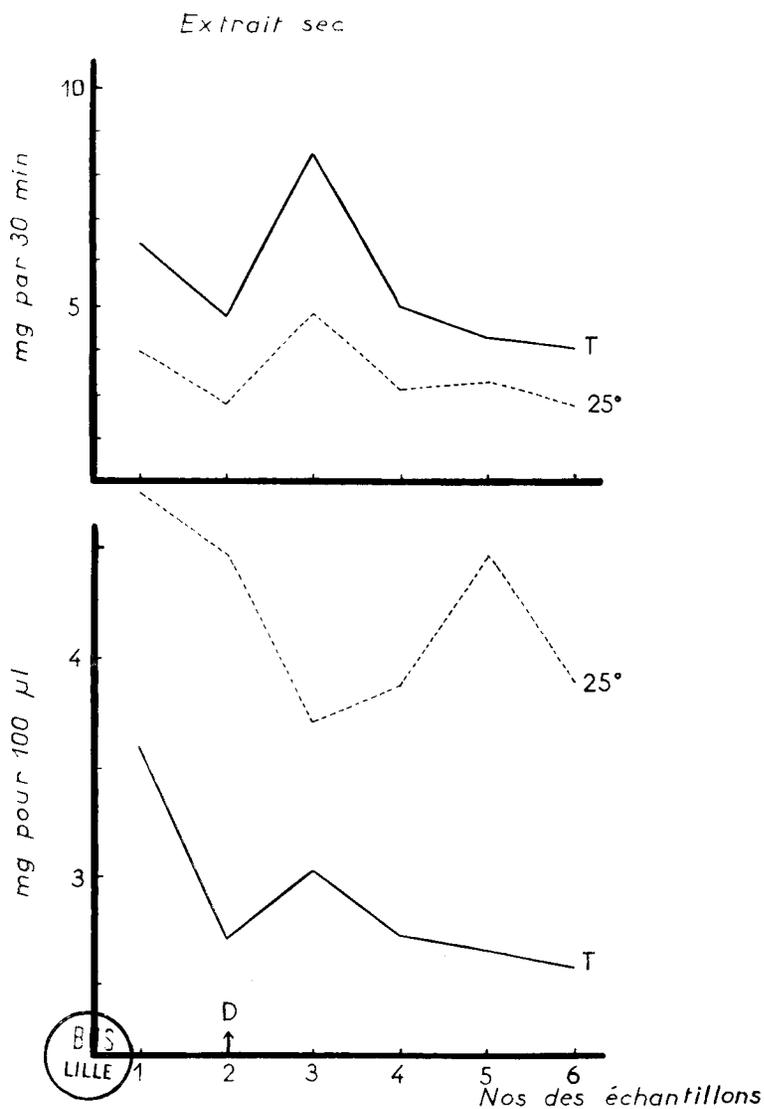


FIG. 24. — FOIE PERFUSÉ

Action de l'hypothermie sur la concentration et le débit de l'extrait sec de la bile, sous l'action du déhydrocholate de sodium (2 mg) administré en fin d'échantillon n° 2.
T : série témoin (40° C).

$\frac{A + B}{B}$ = valeur relative (par rapport à la cholérèse de base) du débit
biliaire total.

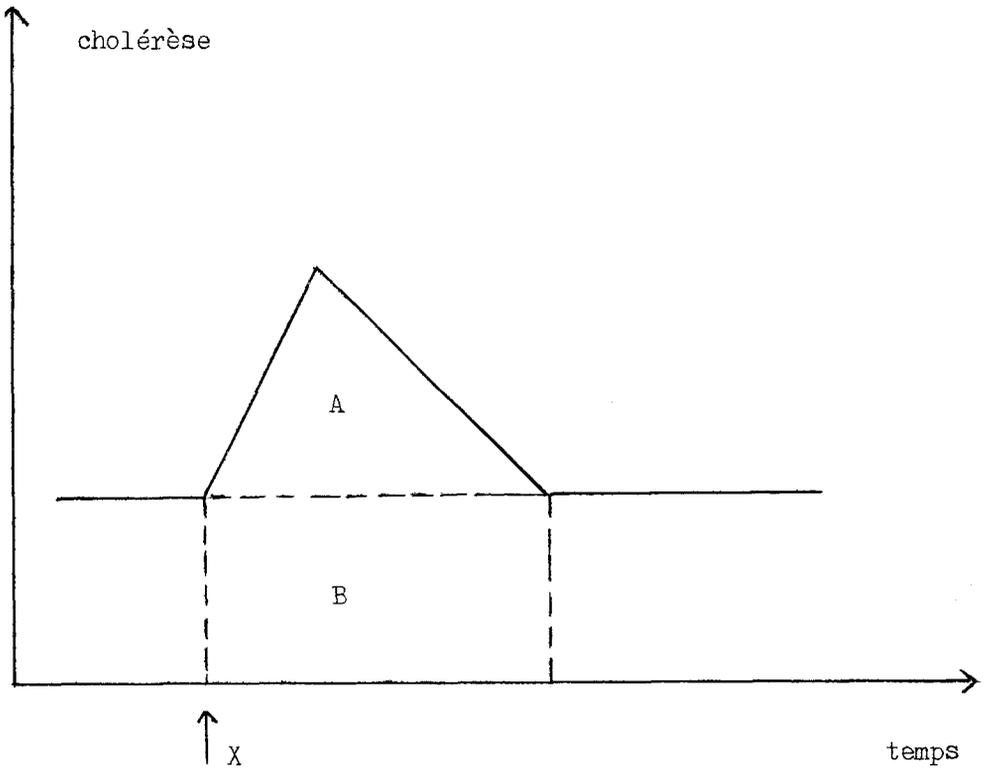


FIG. 25. — CHOLÉRÈSE EN FONCTION DU TEMPS.

INJECTION D'UN CHOLÉRÉTIQUE X

d'après VANLERENBERGHE, GUERRIN, ROBELET et MILBLÉD, 1960)

GUNTER, RALSTON et IVY (1948) avaient montré que, chez le chien, la meilleure représentation quantitative de l'activité cholérétique était $A + B$, le coefficient de variabilité de cette valeur étant p'us faible que celui des autres notations. Chez le rat au contraire, VANLERENBERGHE, GUERRIN, ROBELET et MILBLÉD (1960) ont montré que la détermination

de $\frac{A + B}{B}$ était préférable et c'est la raison pour laquelle nous avons calculé cette valeur dans les différentes expériences analysées ci-dessus, pour des temps de réponse de 30 et de 60 minutes après administration du déhydrocholate de sodium.

RAT ENTIER

	A	A	$\frac{A + B}{B}$	$\frac{A + B}{B}$
	30 min.	60 min.	30 min.	60 min.
38° C	399	457,1	2,08	1,61
25° C	253,75	436,5	2,68	2,46

FOIE PERFUSÉ

40° C	99,85	101,70	1,55	1,28
25° C	66	78	1,94	1,55

Chez l'animal entier on constate que l'augmentation en valeur absolue de la cholérèse (A) est plus importante à 38° C qu'à 25° C, lorsqu'on se limite à l'étude du premier échantillon après le cholérétique (cholérèse de pointe) ; par contre pour la sécrétion de 60 minutes, la différence est négligeable puisqu'inférieure à 5 p. 100. Avec le foie perfusé, au contraire, les valeurs A chez les témoins sont toujours nettement plus fortes que dans la série à 25° C.

(A + B)

En valeurs relatives $\frac{A+B}{B}$ les résultats obtenus sont toujours plus élevés en hypothermie qu'à haute température, tant chez l'animal entier que pour le foie perfusé.

Nos constatations sont en accord partiel avec celles de KALOW (1960) qui, chez le rat entier, observait que les cholérétiques sont plus actifs en valeur absolue à 37° C qu'à 26° C, tandis qu'en valeur relative, les actions étaient pratiquement identiques (voie page 11).

DISCUSSION DES RÉSULTATS

CONCLUSIONS

Les résultats expérimentaux que nous avons obtenus, peuvent se résumer schématiquement de la façon suivante :

1. — L'hypothermie donne de façon constante, une réduction du volume biliaire et pour une même variation de température, les modifications de la cholérèse sont plus importantes sur une préparation de foie perfusé que chez l'animal entier ; ceci se traduit en particulier par un quotient de température plus élevé dans le premier cas que dans le second.

Ces résultats permettent de conclure que la modification volumétrique de la bile sous l'influence de l'hypothermie, est bien la conséquence d'une action directe de l'abaissement de la température sur le parenchyme hépatique et non pas d'une action secondaire à une réduction de la circulation sanguine trans-hépatique, puisque dans les foies perfusés, le débit du sang n'est pas altéré de façon sensible lorsque la température diminue. Cependant, nous n'avons pas trouvé d'explication satisfaisante au fait que l'animal entier réponde moins à l'hypothermie que le foie perfusé. d'autant plus que la thermo régulation du rat anesthésié est profondément déprimée, ce qui permet à priori, d'exclure l'intervention de l'adrénaline (1).

Le Q_{10} est variable selon l'expérience et en fonction de l'intervalle thermique considéré. Il reste toujours au voisinage de 2 ou 3, ce qui conduit à penser à une intervention de la température sur des processus

(1) Chez le rat, l'adrénaline donne une diminution de la cholérèse suivie d'un retour rapide à la normale (ARCHDEACON, 1954).

chimiques plutôt que physiques, donc sur un phénomène sécrétoire de préférence à un mécanisme de filtration. Cette variation du coefficient de température (ou constante k de la relation d'ARRHENIUS) en fonction de l'intervalle thermique, est d'ailleurs retrouvée dans tous les systèmes chimiques. On sait par ailleurs que le Q_{10} dépend de l'énergie d'activation des réactions qui entrent en jeu et que pour les systèmes enzymatiques, ces énergies sont faibles et comprises entre 1 000 et 25 000 calories, ce qui correspond à des Q_{10} de l'ordre de 2 à 4 (le calcul montre que pour une énergie d'activation de 20 000 calories, le Q_{10} est de 2,7 pour l'intervalle 30° - 40° C).

En se basant sur ces données, on est conduit à considérer que l'hypothermie (dans les limites physiologiques) agit directement sur la fonction des cellules hépatiques en perturbant leur métabolisme, vraisemblablement par action sur les systèmes enzymatiques. Dans le cas particulier de la fonction biliaire, le froid est donc à classer parmi les inhibiteurs métaboliques déjà étudiés par VANLERENBERGHE et coll., avec comme avantage particulier, la possibilité d'une action parfaitement réversible au moins lorsqu'on ne descend pas au dessous de 25° C.

On ne peut cependant, par l'hypothermie, déterminer la part respective de la filtration et de la sécrétion en abaissant la température en deçà des limites de notre expérimentation, car les phénomènes physiques sont également influencés par les variations thermiques, quoiqu'à un degré bien moindre (Q_{10} plus faible par suite d'une énergie d'activation plus petite que celle des réactions enzymatiques).

2. — Si l'hypothermie modifie de façon très nette le volume biliaire, son action sur les constituants normaux de la bile, que nous avons étudiés, est beaucoup plus discrète.

La bilirubine biliaire diminue légèrement lorsque la température s'abaisse et toujours plus dans les perfusions que chez l'animal entier. Cette constatation est en concordance avec les modifications du volume biliaire (plus marquées dans les perfusions) et relève peut-être d'une hémolyse moindre à 25° qu'à 40° C ; quelques déterminations du degré d'hémolyse en fin de perfusion ont été faites et n'ont toutefois pas montré de différences significatives.

Les résultats concernant l'excrétion des acides biliaires, sont assez particuliers. Cette fonction n'est pas déprimée (du point de vue concentration) en hypothermie, mais la compensation de la diminution du volume biliaire par une augmentation de la concentration des acides, ne s'observe que chez le foie perfusé, donc lorsque l'on offre au parenchyme

hépatique une quantité constante d'acide cholique. On est alors conduit à penser que chez l'animal entier, en hypothermie, il y a réduction de la formation quantitative d'acide cholique, comme si l'organisme, pour maintenir une concentration biliaire physiologique, s'adaptait à une excrétion de sels biliaires inférieure à la normale, en raison de la diminution de la cholérèse.

L'extrait sec est plus élevé en hypothermie qu'à la température normale et ce résultat est surtout net à 25° C sur le foie perfusé. Les faibles quantités de bile dont nous disposions, ne nous ont pas permis de rechercher la cause exacte de cette augmentation, mais de toute façon, cette donnée globale sur la composition de la bile, montre qu'en hypothermie, il n'y a pas de réduction notable, en concentration, de la plupart des constituants biliaires.

3. — L'étude de l'excrétion des colorants est très significative, particulièrement en ce qui concerne la brome sulfone phtaléine. En hypothermie, les concentrations biliaires de cette substance, sont toujours égales à celles notées chez les témoins, et l'on remarque même une compensation partielle de la réduction du volume de la bile par une augmentation de la concentration.

Par contre, l'excrétion du rouge neutre, en hypothermie, se fait avec une concentration légèrement plus faible que dans les préparations normothermes, et on n'observe pas de processus de compensation de la réduction volumétrique. Les modifications observées sont plus nettes chez l'animal entier que pour le foie perfusé.

L'hypothermie permet donc d'objectiver une différence de comportement du parenchyme hépatique vis-à-vis des colorants acides (B.S.P.) et des colorants basiques (rouge neutre).

4. — Chez l'animal entier comme sur le foie perfusé, le déhydrocholate de sodium reste cholérétique pendant l'hypothermie. L'action de ce produit est généralement moindre en valeur absolue, mais toujours plus marquée en valeur relative par rapport à la cholérèse de base, à basse température (25° C).

Les résultats expérimentaux que nous avons rapportés dans ce travail sont à rapprocher des constatations de VANLERENBERGHE et coll. concernant l'action des inhibiteurs enzymatiques, sur la fonction biliaire du foie perfusé.

Le cyanure de potassium et le 2-4 dinitrophénol diminuent de façon importante le volume biliaire ; l'acide monoïodacétique agit de même, mais après avoir donné une hypercholérèse transitoire. Au contraire, la phloridzine augmente de façon durable le débit biliaire. Seul parmi les inhibiteurs, le cyanure a une action fugace, ce qui correspond à une réversibilité du phénomène, liée à la destruction du toxique par la rhodanèse dont le foie de rat est particulièrement riche (*fig. 26*).

La bilirubine biliaire est légèrement diminuée sous l'influence du cyanure, un peu augmentée par le dinitrophénol, abaissée fortement par l'acide monoïodacétique et par la phloridzine (*fig. 27*).

L'excrétion biliaire de la brome sulfone phtaléine n'est pas modifiée par le cyanure et le dinitrophénol, alors qu'elle est considérablement réduite par la phloridzine et l'acide monoïodacétique (*fig. 28*). En présence de ces inhibiteurs le comportement du foie perfusé vis-à-vis du rouge neutre est sensiblement le même que vis-à-vis de la B.S.P. (*fig. 29*).

Ces études objectivaient que selon l'inhibiteur métabolique, on obtenait soit une réduction du volume biliaire, avec bile pratiquement normale (cas du cyanure et du dinitrophénol) soit une diminution simultanée du volume de la bile et de la concentration des substances dissoutes (cas de l'acide monoïodacétique), soit enfin une diminution de la seule concentration des solides (cas de la phloridzine). L'action des inhibiteurs enzymatiques sur l'excrétion des acides biliaires n'a pas été étudiée jusqu'à présent et l'étude de l'extrait sec dans les mêmes conditions expérimentales n'a pas été retenue, car les mesures sont faussées par le fait que la bile représente une voie d'excrétion de ces substances.

Les résultats obtenus avec l'hypothermie sont donc très voisins de ceux observés avec le cyanure. Dans les deux cas, il y a réduction massive du volume biliaire, avec action réversible et très légère diminution de la bilirubine. L'excrétion de la B.S.P. n'est pas perturbée et on observe la compensation partielle de la diminution du volume de la bile par une augmentation de la concentration biliaire du colorant. L'évolution des concentrations biliaires du rouge neutre se fait également de façon sensiblement identique en présence de cyanure ou sous l'action du froid.

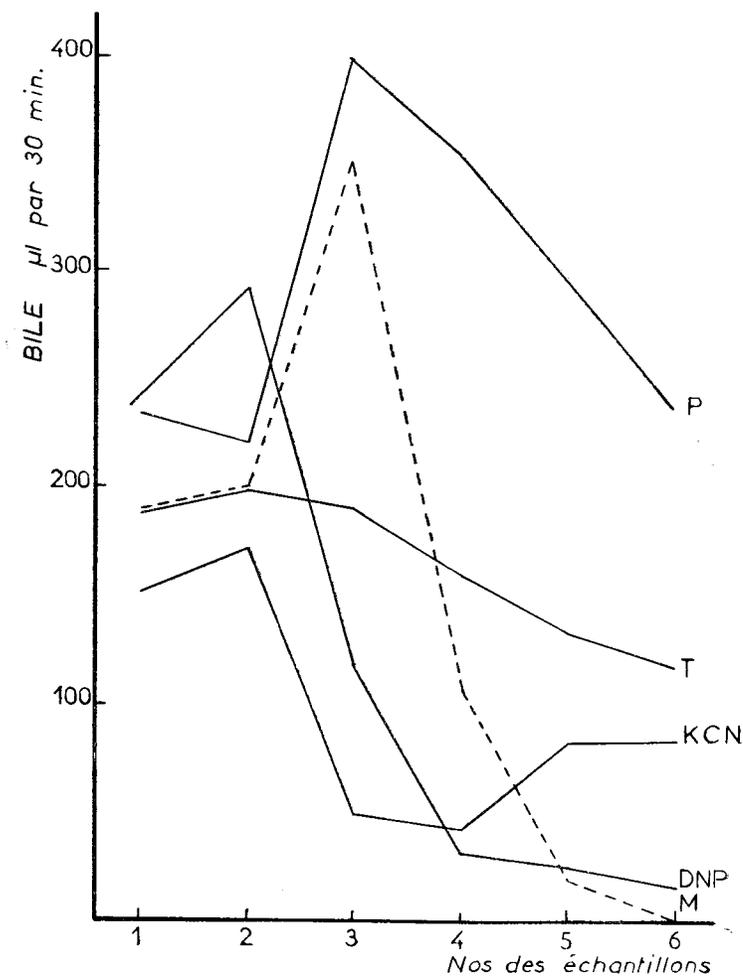


FIG. 26. — Action de quelques inhibiteurs enzymatiques sur la quantité de bile émise par un foie de rat perfusé.

- T : expériences témoins
- KCN : cyanure de potassium
- P : phloridzine
- DNP : 2-4 dinitrophénoI
- M : acide mono iodacétique

Les inhibiteurs sont ajoutés au milieu de perfusion à la fin de l'échantillon n° 2.

(d'après VANLERENBERGHE, 1960).

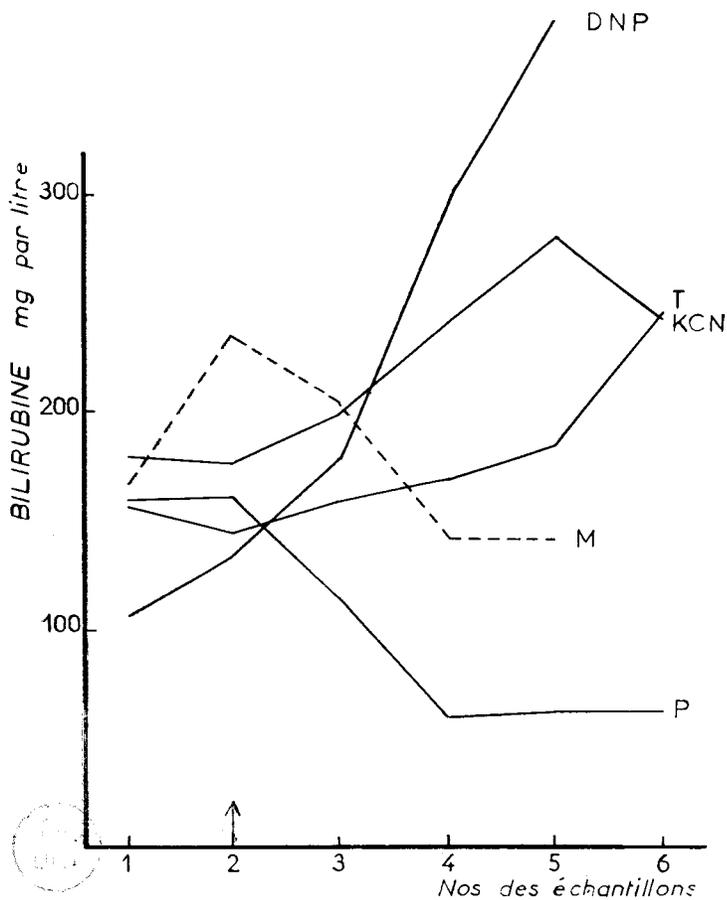


FIG. 27. — Action de quelques inhibiteurs enzymatiques sur la concentration biliaire de la bilirubine.

(Pour les lettres voir légende de la figure 26).

(d'après VANLERENBERGHE, MILBLED, GUERRIN et BAR)
à paraître.

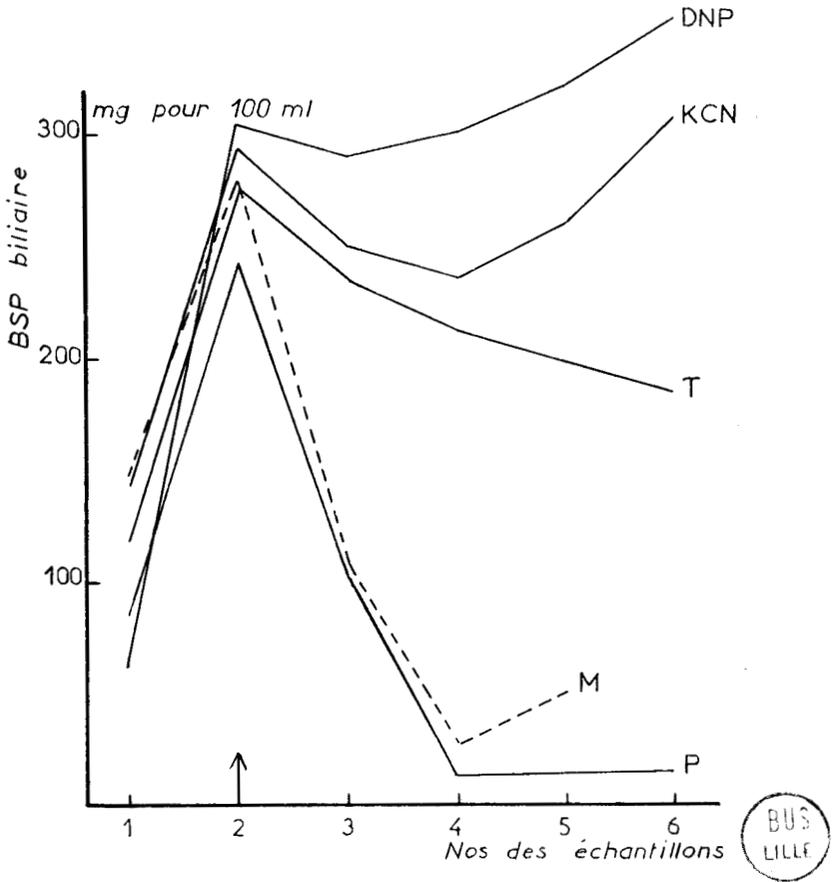


FIG. 28. — Action de quelques inhibiteurs enzymatiques sur la concentration biliaire de la Brome-sulfone-phtaléine.

(Pour les lettres, voir légende de la figure 26).

(d'après VANLERENBERGHE, 1960).

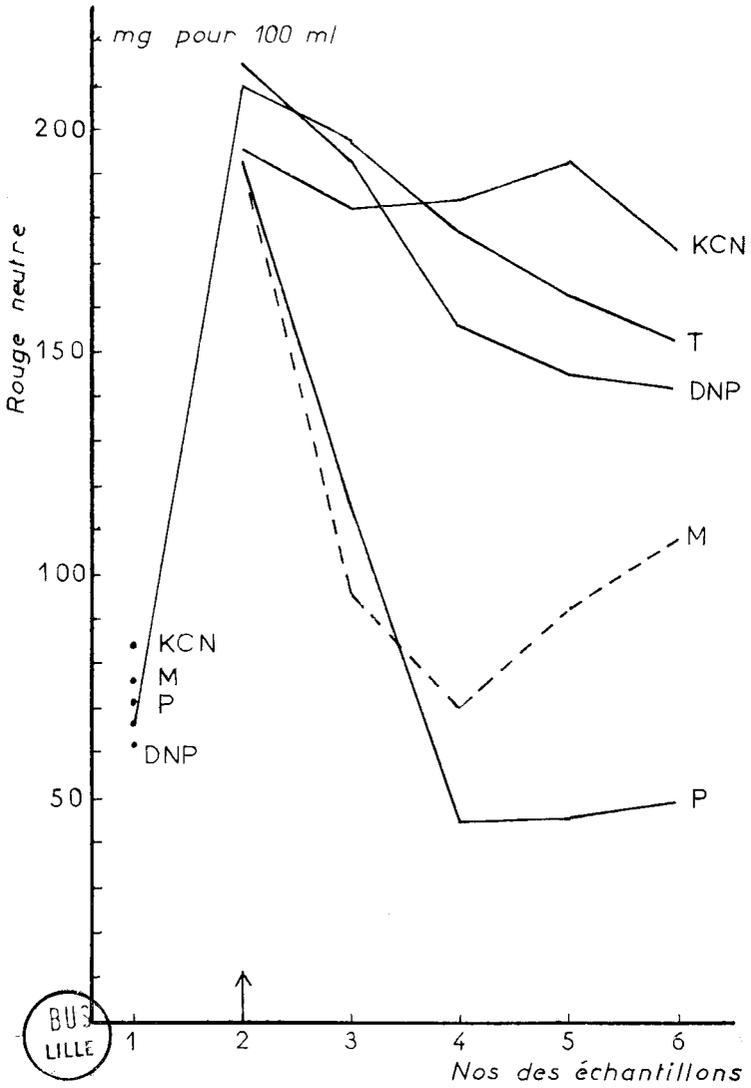


FIG. 29. — Action de quelques inhibiteurs enzymatiques sur la concentration biliaire du Rouge neutre.

(Pour les lettres, voir légende de la figure 26)..

(d'après VANLERENBERGHE, MILBLED, GUERRIN et BAR)
à paraître.

Il apparaît donc clairement que par l'hypothermie, on agit électivement sur la phase liquide de la bile sans modifier de façon notable, l'excrétion des substances dissoutes et que ce résultat est identique à celui obtenu par l'action du cyanure. Nous pensons avoir apporté un argument nouveau en faveur de l'hypothèse avancée par VANLERENBERGHE, de l'existence de deux mécanismes sécrétoires distincts et indépendants, l'un présidant à la formation du liquide, l'autre à l'excrétion des substances dissoutes.

Il ne semble pas, en effet, que l'on puisse interpréter les résultats obtenus avec l'hypothermie comme une conséquence d'une modification d'un phénomène de filtration. VANLERENBERGHE a observé que le débit biliaire, sous cyanure, pouvait se tarir complètement pendant 10 à 20 minutes, ce qui amène à considérer que la filtration, pour autant qu'elle existe, est quantitativement très peu importante. D'autre part, un Q_{10} de l'ordre de 2 ou 3 ne cadre pas avec une action de la température sur un phénomène physico-chimique.

Par ailleurs, nos résultats en hypothermie, ne permettent pas d'évoquer l'existence d'une résorption d'eau puisque, dans ce cas, on devrait avoir par inhibition de ce mécanisme, une bile plus abondante que normalement. Rappelons qu'aucune donnée expérimentale n'a conduit à retenir ce mécanisme.

On ignore actuellement le mode d'action exact du déhydrocholate de sodium sur la formation de la bile, mais il ressort clairement de tous les résultats expérimentaux connus, que ce produit n'intervient qu'en augmentant la phase aqueuse, sans modifier de façon sensible le débit des substances dissoutes. Nous avons constaté que l'action cholérétique du déhydrocholate de sodium était assez largement indépendante de la température, ce qui permet de supposer que ce produit n'agit pas par l'intermédiaire d'une activation du ou des systèmes enzymatiques qui interviennent physio'ogiquement dans la formation de la phase aqueuse de la bile. Dans l'état actuel de nos connaissances, une action du déhydrocholate de sodium sur un processus de filtration aqueuse, peut être retenue, bien que peu d'arguments plaident en faveur de ce mécanisme.

L'existence de deux mécanismes sécrétoires distincts pour former une seule sécrétion ne doit pas nous surprendre, puisqu'un phénomène analogue est déjà connu au niveau du pancréas où la sécrétine agit sur la phase liquide et la pancréozymine sur la teneur en enzymes du suc pancréatique.

Il nous semble toutefois nécessaire de souligner l'anomalie de certains faits constatés. On sait en effet que le cyanure est un inhibiteur enzymatique à très large spectre, inhibant environ 95 p. 100 des systèmes diastatiques connus. VANLERENBERGHE signalait déjà qu'on s'attendait, avec ce produit, à une action globale tant sur le volume que sur la qualité de la bile. Avec l'hypothermie, les mêmes conclusions sont à retenir ; ici également, on pensait altérer la totalité de la fonction biliaire puisque tous les enzymes voient leur activité réduite lorsque la température s'abaisse et on n'observe cependant qu'une action sur le volume de la bile.

Notons toutefois que, pour paradoxaux qu'ils soient, ces deux types de résultats sont en accord avec les données fournies par BRAUER et PESSOTTI (1949) qui avaient montré que des coupes de foie fixent la brome sulfone phtaléine de façon normale en hypothermie (jusqu'à 22° C) et sous cyanure (voir page 10).

*
* * *

L'étude de l'action des inhibiteurs enzymatiques a permis de progresser dans nos connaissances sur le mécanisme de sécrétion de la bile mais, il nous semble difficile par cette méthode de pénétrer beaucoup plus avant dans l'intimité des phénomènes, car nous ne disposons pas actuellement d'inhibiteurs sélectifs de tel ou tel métabolisme. De toute façon, nous pensons souhaitable de multiplier les essais avec des inhibiteurs variés et aussi d'entreprendre une étude d'ensemble de l'action de l'hypoxie sur la fonction biliaire, ce qui permettra peut-être de faire la part des processus aérobie et anaérobie et de mesurer l'importance relative de la filtration et de la sécrétion.

BIBLIOGRAPHIE

- ALTMAN (P.L.). — Blood and other body fluids. (*Biological Hand Books*). Ed. D.S. Dittmer, 1961.
- ARCHDEACON (J.W.), DANFORTH (J.T.), DUMMIT (G.D.). — Factors affecting bile flow in the rabbit and rat. *Am. J. Physiol.*, 1954, **178**, 499-502.
- BANDOW (F.). — Ueber die Absorptionsspektren organischer Stoffe in konzentrierter Schwefelsäure. *Biochem. Ztschr.*, 1939, **301**, 37-57.
- BARAC (G.). — Stabilisation et dosage de la bilirubine dans le liquide duodénal. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1939, **21**, 1163-1170.
- BENEZECH (C.). — *Physico-chimie biologique et médicale*. Ed. Masson, Paris, 1958.
- BERGSTROEM (S.), SJOVALL (J.). — Separation of bile acids with reversed phase partition chromatography. *Acta chem. Scandinavica*, 1951, **5**, 1267-1270.
- BIRNIE (J.H.), GRAYSON (J.). — The effect of anesthesia on temperature and liver blood flow in rats. *J. Physiol.*, 1951, **114**, 30.
- BIRNIE (J.H.), GRAYSON (J.). — Observations on temperature distribution and liver blood flow in the rat. *J. Physiol.*, 1952, **116**, 189-201.
- BISERTE (G.), VANLERENBERGHE (J.), GUERRIN (F.). — Séparation électrophorétique des acides biliaires. *C.R. Soc. Biol.*, 1959, **153**, 618.
- BIZARD (G.) et VANLERENBERGHE (J.). — Cholérèse et cholérétiques. *J. Physiol.* (Paris), 1956, **48**, 207-364.
- BIZARD (G.), VANLERENBERGHE (J.), GUERRIN (F.), MILBLED (G.), ROBELET (A.). — Excrétion de la brome sulfone phtaléine par le foie de rat perfusé. Une technique d'infusion continue de la B.S.P. *C.R. Soc. Biol.*, 1959, **153**, 613-617.
- BIZARD (G.), VANLERENBERGHE (J.), GUERRIN (F.), ROBELET (A.). — Action des barbituriques sur la sécrétion biliaire. (Étude expérimentale). *J. Physiol.*, 1962, **54**, 295-296.
- BIZARD (G.), VANLERENBERGHE (J.), MILBLED (G.), GUERRIN (F.), ROBELET (A.). — Action du 2-4 dinitrophénol sur la cholérèse du rat. (Recherches sur le foie perfusé). *J. Physiol.*, 1960, **52**, 21-22.
- BIZARD (G.), VANLERENBERGHE (J.), ROBELET (A.), GUERRIN (F.), MILBLED (G.). — Sécrétion de bile par le foie de rat. V. Action de l'acide mono-iodacétique. *C.R. Soc. Biol.*, 1959, **153**, 83-86.
- BIZARD (G.), VANLERENBERGHE (J.), ROBELET (A.), GUERRIN (F.), MILBLED (G.). — Action de quelques inhibiteurs enzymatiques sur l'excrétion biliaire de la B.S.P. Étude sur le foie de rat perfusé. *C.R. Soc. Biol.*, 1959, **153**, 1351-1354.

- BIZARD (G.), VANLERENBERGHE (J.), ROBELET (A.), MILBLED (G.), GUERRIN (F.). — Sécrétion de bile par le foie de rat en perfusion. I. Action du CNK. *J. Physiol.* (Paris), 1957, **49**, 49-53.
- BIZARD (G.), VANLERENBERGHE (J.), ROBELET (A.), MILBLED (G.), GUERRIN (F.). — Sécrétion de bile par le foie de rat. III. Action de l'acétazolamide. *Thérapie*, 1958, **13**, 1006-1025.
- BRAUER (R.W.), LEONG (G.F.), 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.), HOLLOWAY (R.J.), KREBS (J.S.), PESSOTTI (R.L.). — Isolated perfused rat liver, changes in physiological state associated with transfer from animal to perfusion system. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1954, **110**, 7.
- BRAUER (R.W.), LEONG (G.F.), PESSOTTI (R.L.). — Vasomotor activity in the isolated perfused rat liver. *Am. J. Physiol.*, 1953, **174**, 304-312.
- BRAUER (R.W.), PESSOTTI (R.L.). — The removal of brom sulphatein from blood plasma by the liver of the rat. *J. Pharmacol.*, 1949, **97**, 358-370.
- BRAUER (R.W.), 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.), PIZZOLATO (P.). — Isolated rat liver preparation. Bile production and other basic properties. *Proc. Soc. Exper. Biol.*, N.Y., 1951, **78**, 174-181.
- BROKAW (R.), PENROD (K.E.). — Brom sulphatein removal rates during hypothermia in the dog. *Am. J. Physiol.*, 1949, **159**, 365-368.
- CHARBONNIER (A.), FARON (G.). — Bilirubine directe et bilirubine indirecte. *Rev. int. Hepatol.*, 1955, **5**, 313-408.
- COOK (D.L.), LAWLER (C.A.), GREEN (D.M.). — Studies on the effect of hydrocholeric agents on hepatic excretory mechanisms. *J. Pharmacol. and exper. ther.*, 1954, **110**, 293-299.
- DELAS (R.), ROUX (G.), ECALLE (R.). — Influence de l'anesthésie sur la cholérèse expérimentale. *C.R. Soc. Biol.*, 1957, **151**, 1429-1431.
- ELIAS (H.). — A re-examination of the structure of the mammalian liver. I. Parenchymal architecture. *Am. J. Anat.*, 1949, **84**, 311-333 ; II. The hepatic lobule and its relation to the vascular and biliary systems. *Am. J. Anat.*, 1949, **85**, 379-427.
- ELIAS (H.). — The liver cord concept after hundred years. *Am. J. Anat.*, 1949, **85**, 379-427.
- ELIAS (H.). — The geometry of the cell shape and the adaptive evolution of the liver. *J. Morphol.*, U.S.A., 1952, **91**, 365-387.
- ELIAS (H.). — Morphology of the liver. Liver. Injury. Jos. Macy foundation. *Trans. of the 11th Conf.*, 1952, 111-119.
- ELIAS (H.). — Liver morphology. *Biol. Rev.*, 1955, **30**, 263-310.

- ELIAS (H.), COHEN (T.). — Geometrical analysis of inclusions in rat liver cells as seen in electromicrograms. *Ztschr. f. Zellforsch.*, 1955, **41**, 407-420.
- FISCHER (B.), FEDOR (E.J.), LEE (S.H.), WEITZEL (W.K.), SELKER (R.), RUSS (C.). — Some physiologic effects of short and long term hypothermia upon the liver. *Surgery*, U.S.A., 1956, **40**, 862-873.
- FUMEY (M.). — Contribution à l'étude des acides biliaires du sérum humain. Dosage fluorescéimétrique, résultats normaux et pathologiques. *Thèse Doctorat en Pharmacie*, Strasbourg, 1958.
- GUNTER (M.J.), RALSTON (H.), IVY (A.C.). — Assay of choleric compounds or variability of liver in response to standard dose of choleric compounds. *Methods in medical research. The Year Book Publishers*, Chigaco, vol. I, 1948, 256-262.
- HANNON (J.P.). — Effect of prolonged cold exposure on oxidative phosphorylation and adenosine triphosphatase activity of rat liver tissue. *Am. J. Physiol.*, 1959, **196**, n° 4, 890-892.
- HANZON (V.). — Liver cell secretion under normal and pathologic conditions studied by fluorescence microscopy on living rats. *Acta Physiol. Scandinavica*, 1952, **28**, supp. 101, 1-268.
- HARRINGTON (J.D.), NARDONE (R.M.). — Hepatic function of the golden hamster after exposure to cold and during hibernation. *Am. J. Physiol.*, 1959, **196**, 910-912.
- HEILMEYER (I.). — Spectrophotometry in medicine. *Ed. Adam Hilger*, Londres, 1943.
- HITCHCOCK. — *Physical chemistry of cells and tissues*. Philadelphia, 1945, p. 835
- HOBER (R.), TITAJEW (A.). — Über die Sekretionsarbeit der Leber vom Frosch. *Pflüger's Arch. f.d. ges. Physiol.*, 1930, **223**, 180-194.
- KALOW (W.). — Cholere durch synthetische Mittel. IV. Die narkotisierte Ratte als poikilothermes Studienobjekt. *Arch. exper. Pathol. Pharmacol.*, 1950, **210**, 336-345.
- KIER (L.G.). — A method for simultaneous quantitative determination of cholic acid and desoxycholic acid. *J. Lab. clin. Med.*, 1952, **40**, 755-765.
- MC MASTER (P.D.), BROUN (G.O.), ROUS (P.). — Studies on the total bile. I. The effects of operation, exercise, hot weather, relief of obstruction, intercurrent disease and other normal and pathological influences. *J. exper. Med.*, 1923, **37**, 395-420.
- METAIS (P.), DEISS (H.), WARTER (J.). — Détermination spectrophotométrique des acides biliaires du sérum. *C.R. Soc. Biol.*, 1957, **39**, 321-329.
- FRIEDMAN (M.), BYERS (S.O.), MICHAELIS (F.). — Bile acid content of rat bile and of normal and icteric rat plasma. *Am. J. Physiol.*, 1951, **164**, 786-788.
- MILLER (L.L.), BURKE (W.T.), HAFT (D.E.). — Amino acid metabolism studies with the isolated perfused rat liver. In some aspects in amino acid supplementation. *Rutgers University Press*, 1956, 44-59.
- MILLER (L.L.), WATSON (M.L.), BLY (C.G.), BALE (W.F.). — The dominant role of the liver in plasma protein synthesis. A direct study of the isolated perfused rat liver with the aid of lysine C 14. *J. Exper. Med.*, U.S.A., 1951, **94**, 431-453.

- MINIBECK (H.). — Beiträge zur quantitative fluoreszenz photometrischen Mikroanalyse. *Biochem. Ztschr.*, 1938, **197**, 29-45.
- MORRIS (B.). — Some observations on the production of bile by the isolated perfused liver of the rat. *Austral. J. exper. biol.*, 1960, **38**, 99-110.
- NYS (A.), ALLIOT (G.). — Étude critique du test de la B.S.P. *Pathologie et Biologie*, 1956, **13**, 1001-1012.
- OSBORNE (S.L.), GOLDMAN (L.). — The effects of heat on bile flow, a quantitative and qualitative study. *Am. J. Physiol.*, 1939, **126**, 595.
- OSBORNE (S.L.), GRODINS (F.S.), GOLDMAN (L.), IVY (A.C.). — The effect of hyperpyrexia on the secretion and flow of bile. *Am. J. Physiol.*, 1941, **132**, 32-41.
- PAVEL (I.), TEITEL-BERNARD (A.). — Morphologie et relation du canalicule biliaire. *Semaine des Hôpitaux*, 1948, **24**, 2679-2682.
- PESEZ (M.). — Dosage fluorométrique de l'acide cholique. *Ann. Pharm., Fr.*, 1953, **11**, 670-675.
- OLONOVSKI (M.), BOURRILLON (R.). — Métabolisme de la bilirubine. I. - État physico-chimique de la bilirubine plasmatique. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, Paris, 1952, **34**, 963-972.
- RINK (R.A.), GRAY (I.), RUECKERT (R.R.), SLOCUM (H.C.). — The effect of hypothermia on morphine metabolism in an isolated perfused liver. *Anesthesiology*, U.S.A., 1956, **17**, n° 3, 377-384.
- ROBBINS (E.D.), BURTON (S.), GOERKE (J.), FRIEDMAN (M.), ISHIDA (T.), CALVERT (C.). — Cholesterol and cholate concentration of perfusate and bile of isolated liver preparation. *Proc Soc. Exper. Biol. and Med.*, 1953, **83**, 212.
- ROUILLER (C.). — Les canalicules biliaires. Étude au microscope électronique. *C.R. Soc. Biol.*, 1954, **148**, 2008-2011.
- ROUILLER (C.). — Les canicules biliaires. Étude au microscope électronique. *Acta Anatomica*, 1956, **26**, 94-109.
- SCHMID (R.). — Neuere Gesichtspunkte auf dem Gebiete des Gallenfarbstoffwechsels. *Helv. Med. Acta*, 1957, **24**, 273-284.
- SJOVALL (J.). — Separation of conjugated and free bile acids by paper chromatography. Bile acids and steroids. *Acta Chem. Scandinavica*, 1954, **8**, 339-345.
- STARLING (E.H.), VERNEY (E.B.). — Die Folgen der Trennung von Glomerulus und Harnkanälchenttätigkeit bei der Säugetierrniere. *Arch. Ges. Phys.*, 1924, **205**, 47-50.
- STONE (S.L.). — The effects of some metabolic inhibitors on biliary excretion of water endogenous bile pigment and bromsulphthalein. *J. of Physiol.*, 1959, **147**, 63-64.
- TORBEN (K.). — Biology of bile pigments. *Arne Frost. Hansen Ed. Copenhagen*, 1954.
- VANLERENBERGHE (J.). — Étude de l'intervention de quelques facteurs enzymatiques dans la cholérèse. (Recherches sur le foie de rat perfusé). *Thèse Doctorat ès-sciences naturelles*, Lille, 1958.

- VANLERENBERGHE (J.). — La fonction biliaire. *Lille-Médical*, 3^e série, 1960, **5**, 812-824.
- VANLERENBERGHE (J.), BIZARD-GREGOIRE (N.), ROBELET (A.), GUERRIN (F.). — Action de quelques barbituriques sur la sécrétion de la bile par le foie de rat perfusé. *Anesthésie - Analgésie - Réanimation*, 1958, **15**, 901-907.
- VANLERENBERGHE (J.), GUERRIN (F.), MILBLED (G.). — Sécrétion des acides biliaires par le foie de rat perfusé. *C.R. Soc. Biol.*, 1960, **154**, 1240-1243.
- VANLERENBERGHE (J.), GUERRIN (F.), MILBLED (G.). — Conjugaison des acides biliaires par le foie de rat perfusé. *C.R. Ac. Sc.*, 1961, **252**, 1206-1208.
- VANLERENBERGHE (J.), GUERRIN (F.), MILBLED (G.). — Conjugaison intra-hépatique de l'acide cholique. *J. Physiol.*, 1961, **53**, 491-492.
- VANLERENBERGHE (J.), GUERRIN (F.), ROBELET (A.), MILBLED (G.). — Essai de composés cholérétiques chez le rat. Mode d'expression de la réponse sécrétoire. *C.R. Soc. Biol.*, 1960, **154**, 123-126.
- VANLERENBERGHE (J.), MILBLED (G.), GUERRIN (F.). — Étude du mécanisme sécrétoire de la cholérèse. *Pathologie et Biologie*, 1960, **8**, 1231-1234.
- VANLERENBERGHE (J.), MILBLED (G.), GUERRIN (F.), BAR (N.). — Action de quelques inhibiteurs enzymatiques sur l'excrétion biliaire de la brome sulfone phtaléine et du rouge neutre. (*à paraître*).
- VANLERENBERGHE (J.), MILBLED (G.), GUERRIN (F.), BAR (N.), VALTILLE (C.). — Action de quelques inhibiteurs enzymatiques sur l'excrétion biliaire du rouge neutre par le foie de rat perfusé. *J. Physiol.*, 1962, **54**, 423-424.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION

DONNÉES ACTUELLES SUR LES MÉCANISMES DE LA CHOLÉRÈSE	5
ACTION DE LA TEMPÉRATURE SUR LA FONCTION BILIAIRE. TRAVAUX ANTÉRIEURS	9

MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

TECHNIQUES PHYSIOLOGIQUES	15
<i>Animal entier</i>	16
<i>Foie perfusé</i>	18
TECHNIQUES DE DOSAGES	29

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX 37

I. — ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR LE VOLUME BILIAIRE	38
II. — ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR L'EXTRAIT SEC	54
III. — ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR LA BILIRUBINE	58
IV. — ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR L'EXCRÉTION BILIAIRE DE LA B.S.P.	63
V. — ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR L'EXCRÉTION BILIAIRE DU ROUGE NEUTRE	72
VI. — ACTION DE L'HYPOTHERMIE SUR L'EXCRÉTION DES ACIDES BILIAIRES	80
VII. — ACTION DU DÉHYDROCHOLATE PENDANT L'HYPOTERMIE	92

DISCUSSION DES RÉSULTATS — CONCLUSIONS 115

BIBLIOGRAPHIE. 125

07145358X

SECONDE THÈSE

Propositions données par la Faculté

L'IMMUNOÉLECTROPHORÈSE



Vu et approuvé
Lille, le 21 septembre 1962
Le Doyen de la Faculté des Sciences
de Lille,
M. PARREAU.

Vu
et permis d'imprimer
Lille, le 22 septembre 1962
Le Recteur de l'Académie de Lille,
G. DEBEYRE.