

Colette BEL-VIOT

LA CAPACITÉ SÉCRÉTOIRE MAXIMALE
DE LA BROME SULFONE PHTALEINE

Étude expérimentale chez le rat

Thèse de Doctorat es Sciences Naturelles
soutenue à Lille, le 1^{er} Juillet 1969
sous la présidence de Monsieur le Professeur MONTREUIL

INTRODUCTION

et

TRAVAUX ANTERIEURS.

L'exploration systématique des multiples fonctions du parenchyme hépatique n'est encore qu'à peine ébauchée, et le plus souvent on a recours à des procédés indirects. C'est ainsi que sont utilisées dans le "bilan hépatique" des déterminations aussi diverses que le temps de QUICK, le taux sanguin de certains enzymes telles les transaminases, et la courbe d'hyperglycémie provoquée.

L'étude de la fonction biliaire repose sur la mesure de la cholérèse, qui n'est abordable valablement que chez l'animal, et sur des méthodes de clearances kupfférienne ou parenchymateuse. C'est très certainement la recherche de l'épuration sanguine d'un colorant, la brome sulfone phtaléine (B.S.P.) qui a donné lieu au plus grand nombre de travaux, tant chez l'animal que chez l'Homme. Toutefois, d'une façon habituelle, les auteurs se sont limités à la détermination de la disparition sanguine ou de l'excrétion biliaire du colorant après injection d'une dose unique de B.S.P.; ce procédé intéressant en raison de sa simplicité a l'inconvénient majeur d'une faible sensibilité; c'est ainsi que des lésions hépatiques importantes déterminées par le tétrachlorure de carbone n'ont qu'un retentissement minime sur l'épuration de la B.S.P. On a donc été conduit à la mise au point d'une méthode permettant de mieux apprécier la valeur du parenchyme hépatique, en recherchant la capacité sécrétoire maximum du colorant. Cette notion est apparue dès 1947 et depuis lors a donné lieu à de nombreux travaux; il nous est apparu toutefois que le problème avait surtout été abordé par le biais de la disparition sanguine de la B.S.P. et que l'excrétion biliaire quantitative et qualitative n'avait guère été explorée. Nous avons tenté de compléter les données acquises jusqu'à ce jour, en étudiant de façon systématique et en expériences de longue durée, l'élimination de la B.S.P. par la voie biliaire lors de l'administration continue du colorant à débit constant.

-I- NOTION DE CAPACITE SECRETOIRE MAXIMUM DE LA BROME SULFONE
PHTALEINE - METHODES DE MESURE.

C'est en 1947, que M.F. MASON évoque pour la première fois la notion de mesure du maximum d'excrétion d'une substance dont l'élimination est principalement biliaire. Par analogie avec la détermination de la "masse tubulaire active" (Tm) qui représente une estimation de la fonction tubulaire maximum (sécrétion ou résorption) au niveau du rein, il propose la recherche de la "masse hépatique fonctionnelle" ou Lm qui serait une représentation de la capacité excrétoire maxima d'une substance donnée, par exemple la brome sulfone phtaléine.

Le principe de la méthode est simple : si l'on injecte par voie intraveineuse, à vitesse constante, une substance de façon à ce que son taux sanguin soit stable, on peut dire que les quantités excrétée et injectée, pendant une même période, sont égales. Si l'on tient compte de l'élimination par la voie rénale, on pourra donc déterminer, par dosages uniquement sanguins, la Lm .

Comme pratiquement il est difficile d'obtenir une concentration plasmatique constante, on aura intérêt à faire une correction liée à l'accumulation (ou à la déplétion) sanguine.

M.F. MASON, G. HAWLEY et A. SMITH (1948) ont étudié par cette méthode la Lm chez le chien qui reçoit la solution de B.S.P. par la saphène. Après une dose de charge de 15 à 30 mg/kg, l'infusion continue est commencée à raison de 0,45 mg/kg/minute et dure 30 à 60 minutes. Des ponctions veineuses à intervalles réguliers permettent de déterminer la concentration sanguine du colorant. La correction urinaire est faite par détermination de l'élimination rénale de la B.S.P. , mais ces pertes restent minimes chez le chien (0,5 à 1 p. 100 de la dose injectée).

Enfin, pour tenir compte de la variation de concentration sanguine, il faut déterminer la masse plasmatique ; celle-ci est calculée à partir de la masse sanguine, considérée comme égale à 9 p. 100 du poids corporel, et de l'hématocrite que l'on mesure selon le procédé classique.

L'exemple tiré de ce travail initial résume la procédure employée par l'auteur :

CHIEN : 10,900 kg

Volume sanguin : $10,900 \times \frac{9}{100} = 981$ ml

Hématocrite : 40,7 p. 100

Volume plasmatique : $981 \times \left(\frac{100 - 40,7}{100} \right) = 588$ ml

Surface corporelle : $0,55 \text{ m}^2$

B. S. P. - dose de charge : 30 mg/kg

- perfusion : 5,8 mg/minute

Période considérée : - 56 minutes

- 325 mg de B. S. P. injectée

B. S. P. plasmatique : - début : 23,6 mg pour 100 ml

- fin : 28,0 mg pour 100 ml

- variation : + 4,4 mg par 100 ml

Accumulation de B. S. P. dans le plasma : $4,4 \times \frac{588}{100} = 25,9$ mg

Pertes urinaires : 2,8 mg

Dose injectée (après correction) : $325 - (25,9 + 2,8) = 296,3$ mg

Lm : $\frac{296,3}{56 \times 10,9} = 0,48$ mg/kg/minute

: $\frac{296,3}{56 \times 0,55} = 9,6$ mg/kg/m²/minute.

Sur un lot de 10 chiens normaux, pesant entre 8,200 et 20,400 kg, la valeur moyenne de la *Im* est 0,44 mg/kg/minute (valeurs limites : 0,33 - 0,49). La reproductibilité est assez satisfaisante puisque pour 6 déterminations sur un même animal on a une valeur moyenne de 0,47 avec comme limites : 0,42 et 0,52, soit environ plus ou moins 10 p. 100.

En 1949, A.I. MENDELOFF, P. KRAMER, F.J. INGELFINGER et S.E. BRADLEY étudient les facteurs capables de modifier l'épuration sanguine de la brome sulfone phtaléine après simple injection intra-veineuse du colorant. En établissant, chez l'Homme, la variation des concentrations sanguines de la B.S.P. en fonction du temps, ces auteurs montrent qu'une seconde injection (30 minutes après la première) est suivie d'une disparition beaucoup moins rapide du colorant. Il existe donc dans ces conditions, un phénomène de "saturation" qui n'est pas observé lorsque les deux injections sont séparées par 4 heures. Parmi les hypothèses évoquées pour expliquer ce phénomène est particulièrement retenue, pour un foie normal, l'administration d'une dose trop forte de colorant, mais des mécanismes très différents comme les ré-infusions sanguines à partir des zones de captation extra-hépatiques ou une diminution du flot sanguin trans-hépatique sont également envisagés. Selon les auteurs, la "saturation" ainsi envisagée n'est pas un mode satisfaisant d'étude quantitative du fonctionnement hépatique parce que cette "saturation" est dépendante de la concentration plasmatique de la B.S.P. et parce que l'excrétion biliaire du colorant est totalement négligée.

A.E. LEWIS (1950) a tenté d'adapter la méthodologie de la clearance rénale à la fonction biliaire. La difficulté réside dans l'impossibilité, chez l'Homme, de recueillir la bile, donc de connaître la quantité de substance sécrétée; par conséquent, il est nécessaire de se baser sur les quantités injectées. La méthode de MASON et Coll. est rejetée car elle comporte une évaluation trop approximative de la masse sanguine. Trois procédés sont retenus ayant pour

base, la mesure de l'augmentation par unité de temps du taux plasmatique du colorant lorsque la B.S.P. est injectée à une ou plusieurs vitesses supérieures à la capacité hépatique d'extraction : incrément proportionnel, incrément en séries, méthode graphique (cette dernière méthode étant utilisée lorsque les autres donnent des résultats différents selon les concentrations plasmatiques).

En désignant par C la clearance (ml/mn/kg) - P la concentration plasmatique (mg/100 ml) - Q_e et R les quantités respectivement excrétée et injectée par minute (en mg), on peut écrire :

$$C \times P = Q_e = R$$

d'où :

$$P = \frac{R}{C}$$

qui montre que si C est une constante, P est une fonction linéaire de R . Expérimentalement, chez le lapin, cette relation est vérifiée ; la courbe représentative de la fonction $P = f(R)$ est bien une droite passant par l'origine, ce qui conduit à reconnaître l'absence de seuil d'excrétion mais aussi l'absence de clearance complète pour un seul passage sanguin. La pente de la courbe, c'est-à-dire C , est de 16,2 ml/mn/kg chez l'animal nourri, de 9,9 chez l'animal à jeun, avec des déviations standards respectivement de 3,0 et 1,7.

Les clearances fractionnelles $\frac{C}{V}$ (où V représente l'espace de diffusion de la B.S.P., c'est-à-dire sensiblement le volume plasmatique) sont déterminées en tenant compte des concentrations plasmatiques au début (P) et à la fin (P') de l'intervalle t et en valeur moyenne (P_m) pendant ce même intervalle (approximativement $P_m = \sqrt{PP'}$); la période utilisée est en principe située après l'arrêt de l'infusion continue, ce qui est une généralisation du calcul initial prévu pour une injection unique de colorant.

$$\frac{C}{V} = \frac{P - P'}{t P_m}$$

Les valeurs obtenues sont de 0,344 (\pm 0,113) pour l'animal nourri, de 0,219 (\pm 0,052) pour l'animal à jeun.

Enfin, la capacité excrétoire maximum (L_m) est déterminée par calcul ou graphiquement, par extrapolation de la droite représentative de $\frac{dP}{dt} = f(R)$.

La valeur moyenne est de 1,004 mg/mn/kg (\pm 0,104) avec des chiffres de 1,042 pour l'animal nourri et de 0,977 pour l'animal à jeun; le coefficient de variabilité très faible objective la grande constance de la L_m d'un animal à un autre.

R.W. BRAUER et R.L. PESSOTTI (1950) font chez le chien une importante étude de l'excrétion biliaire de la B.S.P. administrée par infusion continue. L'injection intraveineuse à vitesse constante détermine l'apparition dans un délai d'environ 2 heures d'une concentration sanguine stable. L'épuration sanguine est alors égale à la quantité de colorant injectée et peut être exprimée en pourcentage de B.S.P. circulante extraite chaque minute. Lorsque la vitesse d'injection est inférieure à 0,16 mg/kg/mn, ce taux d'extraction est d'environ 15 p. 100 et pratiquement indépendant de la quantité infusée par unité de temps.

La concentration biliaire du colorant augmente avec la vitesse d'infusion mais ne dépasse pas 9,3 \pm 0,9 g/l. Ce maximum est obtenu pour les injections d'un taux égal ou supérieur à 0,16 mg/kg/mn.

Le tableau -I- donne le résumé des résultats obtenus par l'administration de B.S.P. à des taux compris entre 75 et 320 μ g/kg/mn.

Taux d'infusion $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{mm}$.	75 - 160	160 - 210	210 - 320
% de B.S.P. circulante extrait par minute	\pm 15 - 0,69	\pm 8,7 - 0,35	\pm 6,9 - 0,35
B.S.P. biliaire g/l.	\pm 6,1 - 1,22	\pm 9,2 - 0,63	\pm 9,3 - 0,9
Rapport $\frac{\text{B.S.P. biliaire}}{\text{B.S.P. plasmatique}}$	\pm 443 - 81,3	\pm 142 - 25,2	\pm 79,2 - 14,6
100 $\left(\frac{\text{B.S.P. excrétée}}{\text{B.S.P. injectée}}\right)$	\pm 41,4 - 3,4	\pm 49,0 - 1,4	\pm 44,0 - 5,8
% B.S.P. dans le foie	16,5 8,0-22	12,6 6,2-25	21,5 13-30
% retrouvé de la B.S.P. totale	49,8 47-55	58,7 46-66	66,5 58-75

Tableau -I-

(d'après R.W. BRAUER et R.L. PESSOTTI(1950))

- les valeurs précédées de \pm correspondent à l'écart type de la moyenne
- les valeurs séparées par - sont les valeurs extrêmes observées.

Il est aussi à noter que plus la vitesse d'injection est grande, plus le gradient de concentration $\frac{\text{bile}}{\text{plasma}}$ est faible tandis que la B.S.P. récupérée dans la bile est comprise entre 40 et 50 p. 100 de la dose injectée.

Les données ainsi recueillies sont extrêmement importantes ; montrant l'existence d'une concentration maxima du colorant dans la bile, elles soulignent aussi les possibilités considérables de stockage dans les différents tissus et particulièrement le foie.

L'absence de rapport étroit entre captation et excrétion du colorant fait que la notion de *T_{max}* de la physiologie rénale ne peut être transférée intégralement dans le domaine hépato-biliaire.

J.C.M. VERSCHURE (1952) reprend la technique de MASON et Coll. (1948) et l'applique à l'Homme. Les seules différences sont dans les doses injectées (charge : 1 à 2 mg/kg - infusion : 25 mg/mn) et dans l'estimation du volume plasmatique (50 ml de plasma pour 1 kg de poids corporel). La valeur moyenne de la *L_m* déterminée sur 29 sujets normaux est de 18,3 mg/mn avec une déviation standard de 1,6 mg. Cette grande constance et les modifications de la *L_m* sous l'influence des altérations du parenchyme hépatique montrent tout l'intérêt de cette détermination pour explorer la fonction biliaire. Au contraire, la clearance hépatique de la B.S.P. chez l'Homme apparaît comme très sensible à la concentration plasmatique du colorant et par contre modifiée de façon fort inégale dans les lésions parenchymateuses.

Cette variabilité de la clearance en fonction de la vitesse d'injection du colorant a été retrouvée chez l'Homme par H. WINKLER et C. GRAM (1965).

B. COMBES, H.O. WHEELER, A.W. CHILDS et S.E. BRADLEY (1956) distinguent les deux phases successives d'"accumulation" et de "transfert". La première consiste en une captation rapide de la B.S.P. par les différents tissus et particulièrement par le parenchyme hépatique, tandis que la seconde correspond au moins en partie, à l'excrétion biliaire du colorant. En déterminant le débit sanguin splanchnique (par le rose bengale marqué) et la concentration sanguine de la B.S.P., il est possible de faire à chaque instant le bilan de la répartition du colorant dans l'organisme et en particulier d'en déterminer la captation hépatique ; celle-ci augmente en même temps que le taux artériel de la B.S.P. jusqu'à un maximum compris entre 0,9 et 1,4 mg/mm/10 kg de poids corporel (chez le chien). Ce phénomène est à rattacher à l'existence d'une capacité limitée de transfert ou transfert maximum (*Tm* par analogie avec le terme utilisé par SMITH et Coll. en physiologie rénale). Les auteurs notent que les valeurs obtenues sont nettement plus faibles que celles de la *Lm* de MASON et Coll. (1948) et pensent que les différences s'expliquent par l'importance des captations extra-hépatiques lorsque les taux sanguins sont très élevés.

C'est en 1958 et 1960, que STANLEY E. BRADLEY et son Ecole (H.O. WHEELER, J.I. MELTZER, R.M. EPSTEIN et S.E. BRADLEY - 1958, H.O. WHEELER, R.M. EPSTEIN, R.R. ROBINSON et E.S. SNELL - 1960, H.O. WHEELER, J.I. MELTZER et S.E. BRADLEY - 1960, S.E. BRADLEY - 1960) mettent au point une méthode simple, utilisable en clinique humaine, de détermination du *Tm*. Les études ont été réalisées sur le chien anesthésié et sur l'animal vigile, chez l'Homme normal et chez des sujets atteints de diverses affections hépatiques. Chez le chien anesthésié, on administre en continu le colorant et on détermine la captation hépatique par mesure simultanée du débit sanguin hépatique, de la différence entre les concentrations de la B.S.P. dans les artères et dans les veines sus-hépatiques et des variations du taux artériel du colorant.

On utilise la nomenclature suivante :

R : captation hépatique de la B. S. P. (mg/mn)

F : débit plasmatique hépatique (ml/mn)

A : concentration artérielle de la B. S. P. (mg/ml)

V : concentration de la B. S. P. dans le sang sus-hépatique (mg/ml)

$\Delta P / \Delta t$: variation de concentration dans le plasma artériel (mg/ml/mn)

SPV : volume plasmatique splanchnique (2/10 du volume plasmatique total) (ml)

$$R = F (A - V) - \frac{\Delta P}{\Delta t} \times SPV$$

En modifiant brutalement ou progressivement le taux sanguin de la B.S.P., on observe une variation de même sens de la captation hépatique du colorant. La détermination de la captation extra-hépatique a été faite dans un certain nombre d'expériences ; elle est faible et en valeur moyenne de 9,2 % de la quantité de colorant injecté.

La B.S.P. captée par le foie est en partie stockée dans le parenchyme et en partie excrétée dans la bile. On peut penser que le stockage est, au moins dans certaines limites, proportionnel à la concentration plasmatique, tandis que l'excrétion connaît un plafond ou T_m . En désignant par S la capacité de stockage en valeur relative (mg de B.S.P. par mg/100 ml de concentration plasmatique) ou volume de distribution hépatique de la B.S.P., on peut écrire :

$$R = T_m + S \frac{\Delta P}{\Delta t}$$

La mesure du flux sanguin hépatique est un obstacle à l'utilisation de cette méthode. C'est pourquoi, il est intéressant de négliger la captation extra-hépatique, ce qui permet de dire que :

$$R = I - PV \frac{\Delta P}{\Delta t}$$

où : I : taux d'infusion de la B.S.P. (mg/mn)

PV : volume plasmatique (en centaine de ml)

d'où :

$$I = T_m + (S + PV) \frac{\Delta P}{\Delta t}$$

En utilisant deux vitesses d'injection on obtient deux équations permettant de déterminer S et Tm . En pratique trois taux d'infusion sont utilisés, ce qui permet de vérifier la linéarité de la relation entre R et $\frac{\Delta P}{\Delta t}$. La représentation graphique de R en fonction de $\frac{\Delta P}{\Delta t}$ permet facilement de déterminer Tm et S (pente de la droite).

Chez le chien anesthésié, on a :

$$\begin{aligned} Tm &= 1,73 \pm 0,45 \text{ mg/mm/10 kg} \\ S &= 19,7 \pm 6,8 \frac{\text{mg}}{\text{mg/100ml/10 kg}}. \end{aligned}$$

Dans l'espèce humaine :

- homme :	$Tm = 9,5 \pm 1,9 \text{ mg/mm}$
	$S = 67 \pm 28 \text{ mg/mg/100 ml}$
- femme	$Tm = 7,1 \pm 0,8 \text{ mg/mm}$
	$S = 57 \pm 19 \text{ mg/mg/100 ml}$
- tous sujets :	$Tm = 8,6 \pm 1,9 \text{ mg/mm}$
	$S = 63 \pm 25 \text{ mg/mg/100 ml}.$

Chez le chien anesthésié, on a déterminé simultanément le taux biliaire d'excrétion de la B.S.P. qui a été trouvé valoir en moyenne $87,5 \pm 13,4 \%$ de la Tm . On a souvent noté que ce taux diminue progressivement après 2 à 3 heures d'excrétion au taux maximum, sans qu'une explication satisfaisante du phénomène puisse être trouvée.

Enfin, les auteurs notent que lorsque l'expérience se prolonge et que de fortes doses de B.S.P. sont injectées, on peut observer une diminution importante de la cholérèse et de l'excrétion du colorant ce qui fait qu'une notion de toxicité relative peut être dégagée, pouvant se traduire, outre les modifications fonctionnelles ci-dessus mentionnées, par une duodénite hémorragique.

L.J. SCHOENFIELD, W. T. FOULK et H.R. BUTT (1964) reprennent la méthode de WHEELER et Coll. pour déterminer Tm et S chez l'homme, avec une mesure du volume plasmatique par l'albumine marquée à l'iode 131. En l'absence de lésion hépatique, ils obtiennent pour Tm $8,2 \pm 2,9$ mg/mn et pour S $60,6 \pm 27,7$ mg/mg/100 ml plasma, c'est-à-dire des valeurs identiques à celles des auteurs précédents. Chez les sujets atteints de cirrhose ou présentant une obstruction des voies biliaires Tm et S sont beaucoup plus faibles que chez les témoins (respectivement 2,7 à 3 et 12,2 à 18,9). On peut d'ailleurs observer des modifications de Tm et de S alors que les autres tests de la fonction hépatique sont normaux, ce qui montre la sensibilité et l'intérêt de la méthode.

Dans un cas, L.J. SCHOENFIELD, D.B. MCGILL et W.T. FOULK (1964) ont pu simultanément recueillir la bile par fistule chronique du cholédoque et y mesurer la B.S.P. excrétée ; cette dernière ne représente que 82,8 à 89,7 p. 100 de la Tm , ce qui correspond très exactement aux constatations de WHEELER et Coll. (1960) chez le chien; la différence observée s'explique peut-être par l'existence d'autres voies d'élimination du colorant, dont l'importance augmenterait lorsque la fonction biliaire serait déprimée.

Plus récemment (1966) R.H. ADAMS, J. GORDON et B. COMBES ont montré que la méthode de WHEELER pouvait être simplifiée et ne comporter que deux périodes d'infusion.

C.D. KLAASSEN et G.L. PLAA (1967) proposent une méthode simple pour déterminer Tm et S chez de petits animaux ne pouvant supporter quatre ponctions sanguines pour chaque taux d'infusion de la B.S.P. Ils utilisent un seul rythme d'injection (2,5 à 3,5 mg/mn/kg) pendant 90 minutes et déterminent le volume plasmatique par l'albumine marquée à l'Iode 131. Les valeurs obtenues sont rapportées dans le tableau -II- .

	T_m mg/mn/kg	S mg/mg/100ml/kg
CHIEN	0,17	2,4
LAPIN	1,05	0,55
RAT	0,97	0,47

Tableau -II-

(d'après C.D. KLAASSEN et G.L. PLAA -1967)

Chez le chien, elles ne diffèrent pas de façon significative de celles données dans les mêmes expériences par la méthode de WHEELER.

Chez le rat et le lapin, on obtient les mêmes T_m et S avec les deux taux d'infusion du colorant (2,5 et 3,5 mg/mn/kg) ; de plus, on retrouve un même T_m en mesurant l'excrétion biliaire de la B.S.P. La méthode proposée semble donc intéressante, particulièrement chez le rat, qui est l'animal le plus utilisé pour les études de la fonction biliaire.

Parmi les facteurs qui tiennent sous leur dépendance la capacité sécrétoire maxima de la B.S.P., une place doit être faite aux échanges de colorant entre le foie et le sang. L'injection de B.S.P. chez un chien dont le foie a stocké de la B.S.P. marquée aboutit en effet à une augmentation de la radioactivité sanguine ce qui traduit une libération du produit stocké en direction de la voie sanguine (B. NORBERG, A. SENNING et G. WILLIAM-OLSSON - 1962). Cette résorption se fait peut être à partir des voies biliaires. L'expérimentation de F. BEGON et C. BOHUON (1965) menée chez le lapin démontre en effet que l'injection d'une solution concentrée du colorant dans le canal hépato-cholédoque détermine une apparition de la B.S.P. dans le sang. A l'état normal, l'excrétion de diverses substances et en

particulier celle de la B.S.P. serait un phénomène de sécrétion-réabsorption dépendant du gradient de concentration bilio-plasmatique; ce facteur, s'il existe dans les conditions normales d'élimination biliaire, doit certainement jouer un rôle important dans le cas de la B.S.P. dont la concentration biliaire est toujours très élevée par rapport à son taux plasmatique. Il est vraisemblable que chez l'homme, dans les conditions habituelles de mise en oeuvre du test à la B.S.P. chez le sujet à voie biliaire libre, le reflux bilio-plasmatique est négligeable, c'est au moins ce qui résulte de l'analyse mathématique des courbes d'excrétion (F. BEGON - 1966).

La résorption du colorant à partir de l'intestin existe certainement lorsque des doses fortes sont utilisées (S.H. LORBER et Coll. - 1953). Par contre, chez l'homme, lorsque 5 mg par kg de B.S.P. sont administrés par voie gastrique ou duodénale, le colorant n'est jamais retrouvé dans le sang (C.A. OWEN - 1951).

-II- VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES ET EXPERIMENTALES DE LA CAPACITE
SECRETIOIRE MAXIMA DE LA B.S.P. ET DE LA CAPACITE DE
STOCKAGE HEPATIQUE.

A- AUX DIFFERENTES ETAPES DE LA VIE

En utilisant la méthode de WHEELER chez des hommes d'âges compris entre 18 et 69 ans, U. SKAUNIC, V. NERAD et J. JADRNA (1965) ont observé que chez les plus jeunes (18 à 47 ans) la capacité de stockage du foie était beaucoup plus élevée que chez les plus âgés (53 à 69 ans) : 63,95 mg/mg p. 100 au lieu de 38,8 mg/mg p. 100. Au contraire, les taux maxima de sécrétion sont pratiquement identiques dans les deux groupes : 8,77 et 8,32 mg/mn.

La même méthode a été appliquée au cours de la grossesse (B. COMBES, H. SHIBATA, R. ADAMS, B.S. MITCHELL et V. TRAMMEL - 1963). Les variations sont surtout observées pendant la seconde moitié de la grossesse : diminution de 27 p. 100 du T_m et augmentation considérable de la capacité de stockage hépatique (+ 122 p. 100). Le retour à la normale se fait plus rapidement pour le T_m que pour S , mais toujours en moins d'une semaine après l'accouchement.

B- INFLUENCE DU DEBIT BILIAIRE

G. BOURDON, R. FAUVERT, F. NICOLLO et P. d'AUTEUIL (1960) apportent une très intéressante précision sur les rapports entre débits biliaires et taux d'excrétion de la B.S.P., l'augmentation de la cholérèse étant produite par l'administration de déhydrocholate de sodium. C'est seulement dans le cas où la charge hépatique est importante (perfusion continue de B.S.P. à un rythme plus grand que le taux d'excrétion) que le déhydrocholate permet d'observer à la fois une augmentation de la concentration et du débit de colorant par la voie biliaire. Au contraire, lorsque l'infusion de B.S.P. se fait à dose égale à l'excrétion, le déhydrocholate détermine une légère augmentation du débit du colorant en même temps que la concentration biliaire diminue. Cette expérimentation qui permet de localiser

le lieu d'intervention du cholérétique sur la fonction chromagoue du foie nous montre que dans des cas privilégiés le taux d'excrétion maximum de la B.S.P. peut dépendre du débit biliaire.

E.R.L. O'MAILLE, T.G. RICHARDS et A. SHORT (1966) étudient chez le chien la variation du Tm lorsque la cholérèse est augmentée par infusion de taurocholate. Ils montrent que le transfert maximum peut, dans ces conditions, être 2,7 fois plus grand que normalement; mais le volume biliaire est augmenté dans une proportion bien plus forte ce qui correspond à une diminution de la concentration maxima de la B.S.P. dans la bile.

Au contraire, chez le mouton à fistule biliaire chronique (R. GRONWALL et C.E. CORNELIUS - 1966) la concentration maxima de la B.S.P. dans la bile est indépendante du flux biliaire dans les limites de 0,9 à 1,8 ml/minute. L'injection intraveineuse de sécrétine qui augmente le débit biliaire, diminue la concentration de la B.S.P. dans la bile et n'a pas d'influence sur le taux maxima d'excrétion du colorant.

C- ACTIONS DIVERSES

L'influence de l'infestation microbienne latente a retenu l'attention de M.J. LAROCHE, R. PODEVIN, A. HUSSON-COTTART, E. SACQUET et H. CHARLIER (1965). Chez l'animal aseptique, l'élimination de la B.S.P. est moindre et plus tardive que chez l'animal conventionnel ; ceci est vraisemblablement dû à une diminution du débit sanguin hépatique, car un foie aseptique perfusé retrouve une excrétion du colorant identique à celle des témoins. Quant à l'animal gnotobioté (par germe coccus gram +) il présente des concentrations sanguines inférieures à celles des animaux des deux catégories précédentes et excrète beaucoup plus de B.S.P. que l'animal conventionnel dans les dix premières minutes de l'expérience ; dans les dix minutes suivantes au contraire, son excrétion devient 20 fois plus faible que celle des témoins.

-III- LES METABOLITES DE LA BROME SULFONE PHTALEINE

A- IDENTIFICATION DES METABOLITES

Après injection intraveineuse de B.S.P. on retrouve le colorant dans le sang et dans la bile ; cette constatation due à S.M. ROSENTHAL et E.C. WHITE (1924) a été l'origine de l'utilisation de cette substance dans l'exploration de la fonction hépato-biliaire.

Bientôt on s'aperçut, grâce à des études quantitatives, que l'épuration hépatique de la B.S.P. était un phénomène très complexe et qu'il existait en particulier un stockage hépatique, expliquant la captation rapide du colorant par le foie et l'excrétion biliaire prolongée après épuration sanguine de la B.S.P. En outre, la comparaison des doses injectées et des quantités récupérées fait apparaître une "perte" de B.S.P. d'environ 20 à 30 p. 100 ; dès 1950, R.W. BRAUER et R.L. PESSOTTI tentaient de l'expliquer par l'existence possible de métabolites à coefficient d'extinction plus faible que la B.S.P. elle-même. Cette hypothèse était vérifiée par R.W. BRAUER, R.L. PESSOTTI et J.S. KREBS (1955) en utilisant de la B.S.P. marquée par ³⁵S : le rapport des valeurs obtenues $\frac{\text{dosage isotopique}}{\text{dosage colorimétrique}}$ est pratiquement égal à 1 pour le plasma sanguin, compris entre 1,5 et 1,62 pour la bile du chien ; ce qui signe la transformation de la B.S.P. avant son excrétion.

C'est la chromatographie sur colonne qui permettait de préciser ces modifications structurales, en objectivant l'existence de 4 fractions colorées dans la bile (R.W. BRAUER, J.S. KREBS et R.L. PESSOTTI - 1950). J.S. KREBS et R.W. BRAUER développent ce travail initial en 1958 et séparent selon l'espèce 3 à 5 composés migrant à vitesses différentes. Chez le rat, trois métabolites sont isolés et désignés par I, II et III dans l'ordre de la mobilité décroissante. Le composé I identifié à la B.S.P. est beaucoup moins abondant que la composé III ; ce dernier, comme le II, n'est pas altéré par le β -glucuronidase, ce qui démontre que les conjugués de la B.S.P. sont différents de ceux de la bilirubine.

Depuis 1959, c'est essentiellement par chromatographie sur papier que se sont poursuivies les recherches sur les métabolites de la B.S.P. Différents auteurs (J.I. MELTZER, H.O. WHEELER et W.I. CRANSTON - 1959, B. COMBES - 1959, G.M. GRODSKY, J.V. CARBONE et R. FANSKA - 1959) précisent les R_f chez l'homme, le chien et le rat, et montrent que les dérivés du colorant donnent une réaction positive à la ninhydrine, ce qui correspond à l'existence d'acides aminés dans la molécule. La purification des métabolites, l'utilisation de méthodes diverses d'hydrolyse et la chromatographie bi-dimensionnelle des substances ainsi fractionnées devaient permettre d'aboutir à l'identification des acides aminés en cause, c'est-à-dire glycofolle, acide glutamique, cystéine, alanine ; l'hypothèse d'un mercaptide B.S.P. - cystéine ou B.S.P. - glutathion pouvait alors être évoquée.

La contre-épreuve a été représentée par l'étude de la migration de complexes synthétiques formés de B.S.P. (éventuellement marquée par ^{35}S) et de cystéine, de cystine, de glutathion (G.M. GRODSKY et Coll. - 1959, N.B. JAVITT, H.O. WHEELER, K.J. BAKER et O. RAMOS - 1959, B. COMBES et G.S. STAKELUM - 1960, N.B. JAVITT, H.O. WHEELER, K.J. BAKER, O.L. RAMOS et S.E. BRADLEY - 1960, G.M. GRODSKY, J.V. CARBONE, R. FANSKA - 1961). Tant chez le chien que chez le rat, le composé principal est bien formé de B.S.P. et de glutathion (une molécule de chaque) et il est possible que les autres dérivés (B.S.P. - cystéinyl - glycofolle, B.S.P. cystéine et isomère de B.S.P. glutathion) proviennent de la dégradation du constituant majeur.

La liaison entre B.S.P. et glutathion fait très certainement intervenir les groupements SH de la cystéine (B. COMBES et G.S. STAKELUM - 1960-1961, N.B. JAVITT et Coll. - 1960). En effet, la conjugaison de la B.S.P. ne peut être obtenue avec le glutathion oxydé, la cystine et la méthionine. La réaction de FEIGL (1) qui permet la détection des groupements réactifs sulfhydryl est négative sur les

(1) Ref. dans JAVITT (1960) et COMBES (1960).

métabolites de la B.S.P. mais devient fortement positive après hydrolyse alcaline de ceux-ci. On peut donc conclure que les dérivés de la Brome Sulfone Phtaléine sont des mercaptides.

Du côté de la molécule du colorant, il est possible mais non certain que l'union se fasse au niveau du Br. N.B. JAVITT et Coll. (1960), B. COMBES et Coll. (1961) ont effectivement noté que lors de la conjugaison avec le glutathion, des bromures inorganiques apparaissent. On devrait alors obtenir un composé contenant 3 Br pour 3 S, mais J.S. KREBS et R.W. BRAUER (1958) ont trouvé 4 Br pour 2 S (comme dans la Brome Sulfone Phtaléine elle-même).

De toute façon, il reste des inconnues comme l'existence possible d'isomères selon le Br intervenant dans la réaction et aussi la possibilité de conjugués faisant intervenir une molécule de colorant et deux molécules de glutathion. Ce B.S.P. - diglutathion existe peut être en petites quantités dans la bile de rat (N.B. JAVITT et Coll. - 1960).

Bien que la combinaison de la B.S.P. et du glutathion soit possible en solution aqueuse à 37°, cette conjugaison est liée physiologiquement à l'existence d'un enzyme dont B. COMBES et G. S. STAKELUM (1961) ont donné les caractéristiques principales. Existant dans de nombreux tissus, il est toutefois beaucoup plus abondant dans le foie. Le fractionnement des homogénats de foie de rat permet de retrouver l'enzyme dans le surnageat et non dans les mitochondries et les microsomes ; de plus, il n'existe pas de synergie d'action entre surnageat et mitochondries ou microsomes. Enfin, l'enzyme est thermolabile, détruit par chauffage à 100° pendant cinq minutes.

Cet enzyme est apparemment identique (P.L. GROVER et P. SIMS - 1964) à celui décrit en 1961 par J. BOOTH, E. BOYLAND et P. SIMS, comme capable de catalyser la conjugaison du 3,4 - dichloronitrobenzène avec le glutathion. Le nom de glutathion S-aryltransférase a été proposé par GROVER et SIMS de préférence à celui de glutathiokinase utilisé jusque-là. De plus ces auteurs montrent que l'activité spécifique de l'enzyme hépatique est élevée chez le rat, la souris,

le chien, le chat, le hamster, le cobaye, le cheval et le mouton ; basse chez le lapin, le singe, le porc, la grenouille et l'homme ; très basse chez le poussin de un jour.

Tout récemment (J. GOLDSTEIN et B. COMBES - 1966 a), une méthode spectrophotométrique pour la mesure rapide de l'activité de l'enzyme de conjugaison a été développée. Elle est basée sur le fait que, à moins de 500 m μ , la B.S.P. conjuguée a une densité optique supérieure à celle de la B.S.P. Un mélange de B.S.P. et de glutathion à 37° C et pH 8,0, a une densité optique qui augmente en fonction linéaire du temps, par suite de la conjugaison spontanée. La vitesse de transformation augmente en présence de l'enzyme et la différence entre les variations spontanée et enzymatique de la densité optique est directement proportionnelle à la quantité d'enzyme mise en jeu. Un dosage simple et rapide est ainsi réalisable. La vélocité de la réaction est largement dépendante du pH ce qui suggère qu'il peut y avoir un rapport entre l'excrétion de la B.S.P. et l'équilibre acido-basique intracellulaire.

Cette méthode a permis aux mêmes auteurs (1966 b) de montrer que l'activité enzymatique de conjugaison était fortement augmentée par le 17 α -éthyl-nortestostérone (NILEVAR) tandis que 25 autres stéroïdes (dont l'oestradiol, la progestérone et la testostérone) sont ou sans effet ou inhibiteurs.

Il est particulièrement intéressant de noter que le même enzyme permet la combinaison avec la B.S.P., du glutathion, de la cystéine et du cystéinyl-glycocolle ; mais c'est surtout la conjugaison avec le glutathion qui est rapide ce qui semble montrer qu'il s'agit bien là du mode principal d'excrétion du colorant (B. COMBES et G.S. STAKELUM - 1961).

L'activité enzymatique d'un foie varie avec l'âge ; très faible chez le fœtus (5 à 20 % de la valeur de l'adulte), elle s'élève rapidement après la naissance, atteignant 50 % de sa valeur définitive dès le 3ème jour. Une évolution analogue est observée pour la teneur hépatique en glutathion mais avec une augmentation plus tardive (vers la 3ème semaine) (B. COMBES et G.S. STAKELUM - 1962).

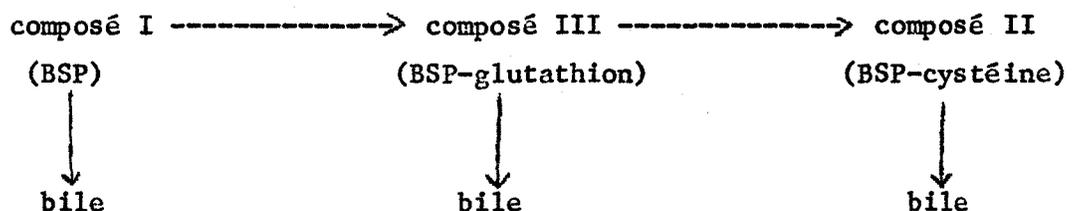
La nature et la vitesse de la conjugaison dépendent du degré de sulfonation de la molécule de phénol tétrabromophthaléine (N.B. JAVITT - 1965). Le monosulfate disparaît rapidement du plasma, il est retrouvé dans la bile sous forme native et conjuguée avec le glutathion ; accessoirement, on trouve des dérivés du monosulfate avec la cystéine et avec à la fois le glutathion et l'acide glucuronique. Le tétrasulfonate est excrété beaucoup plus lentement que la B.S.P. (disulfonate) et atteint des taux biliaires environ 20 fois plus faibles ; l'excrétion semble se faire uniquement sous forme libre bien que l'on ait pu synthétiser in vitro un dérivé conjugué : tétra-sulfonate-glutathion.

B- SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE DES DIVERS CONJUGUES

J.S. KREBS (1959) a séparé et purifié les trois métabolites principaux du rat (I ou B.S.P. - II ou B.S.P.-cystéine - III ou B.S.P.-glutathion), puis les a réinjectés à d'autres animaux. Il constate alors :

- que l'injection de I fait apparaître dans la bile, les trois composés
- que l'injection de II ne permet de recueillir que ce composé dans la bile
- que l'injection de III a comme conséquence l'apparition de II et III dans la bile

ce qui se schématise de la façon suivante :



On peut penser que le composé III, le premier formé, est relativement instable et qu'il est dégradé par perte d'un ou de deux acides aminés (donnant naissance à B.S.P.-cystéinylglycocolle ou à B.S.P.-cystéine (composé II)).

Il a d'ailleurs été observé que lorsque l'excrétion biliaire de la B.S.P. est lente, comme c'est le cas chez l'embryon de poulet, chez le rat intoxiqué par CCl_4 ou dans la cholostase (J.S. KREBS et R.W. BRAUER - 1960) (R.W. BRAUER, L.M. JULIAN et J.S. KREBS - 1960), la transformation est plus complète et le composé II devient prédominant.

C- EFFETS DE LA CONJUGAISON DE LA B.S.P. SUR L'EXCRETION DU COLORANT.

Les métabolites de la B.S.P. se rencontrent dans le sang comme dans la bile, témoignant d'une double polarité sécrétoire des hépatocytes. L'importante étude de J.S. KREBS chez le rat (1959) montre que les différents composés n'ont pas la même cinétique d'épuration ; en conséquence, les rapports entre les concentrations sanguines des métabolites varient d'un instant à l'autre.

De plus, comme le coefficient d'extinction n'est pas le même pour tous les conjugués, il apparaît que les études colorimétriques globales ne peuvent donner qu'une idée approximative de l'épuration sanguine du colorant.

C'est dire que les déterminations habituelles de la capacité sécrétoire maxima de la B.S.P. ne peuvent être pleinement satisfaisantes, particulièrement lorsqu'il y a une altération du parenchyme hépatique. Chez l'homme, L.J. SCHOENFIELD, W.T. FOULK et H.R. BUTT (1964), L.J. SCHOENFIELD, D.B. Mc GILL et W.T. FOULK (1964) ont recherché, en même temps que le T_m , le pourcentage de B.S.P. conjuguée. Ce dernier augmente avec le temps et lorsqu'il y a obstruction de la voie biliaire ; il peut alors atteindre 84 p. 100.

On pouvait également envisager le problème sous un angle différent et se demander si le glutathion était un élément important dans le transfert du colorant dans la bile.

J.R. PHILIP, G.M. GRODSKY et J.V. CARBONE (1961) ont étudié chez le rat Long-Evans le devenir de la B.S.P. injectée par voie intraveineuse, soit en dose unique, soit en infusion continue. Cinq minutes après l'administration du colorant la moitié de la B.S.P. intra-hépatique est encore sous forme libre ce qui suggère que la captation par le foie ne dépend pas de la conjugaison.

Au contraire, on peut noter que si la concentration biliaire de la B.S.P. augmente en même temps que la dose injectée, cette augmentation est pratiquement sous la seule dépendance de la forme conjuguée, le taux d'excrétion de la B.S.P. libre plafonnant rapidement à 3 - 5 $\mu\text{g}/\text{mm}/\text{g}$ de foie ; l'élimination biliaire de la brome sulfone phtaléine est donc conditionnée dans une large part et au moins pour les doses élevées, par la conjugaison sous forme de mercaptide.

B. COMBES (1962) a comparé l'excrétion biliaire de la B.S.P., chez le rat normal et chez l'animal carencé en glutathion à la suite d'un régime dépourvu de protéines. Après 48 heures d'une telle alimentation, la teneur hépatique en glutathion passe de 8,3 à 1,6 mg/100g de poids corporel, soit une réduction d'environ 80 %. L'injection d'une dose unique de B.S.P. (10mg/100g de poids corporel) donne les résultats du tableau -III- pour la bile collectée pendant 45 minutes :

en mg pour 100 g de poids corporel	B.S.P. libre	B.S.P. conjuguée	B.S.P. totale
animal normal	0,69	3,56	4,25
animal "pauvre" en glutathion	0,95	1,99	2,94

Tableau -III-

(d'après B. COMBES - 1962)

Il se produit une réduction franche de l'excrétion de la forme conjuguée qui n'est pas compensée par la petite augmentation de l'élimination de la B.S.P. libre. Au total, le transfert sang/bile du colorant est diminué d'environ 30 p. 100. Dans ces conditions expérimentales il semble bien que soit démontrée l'importance du glutathion dans l'épuration de la B.S.P.

Une étude complémentaire (B. COMBES - 1965) menée dans des conditions expérimentales identiques, précise les données précédentes. Le régime dépourvu de protéines entraîne une chute du glutathion hépatique à environ 30 p. 100 des valeurs de référence ; mais cette baisse est beaucoup plus faible si au régime déprotéiné est adjoint de la cystéine à raison de 1 p. 100 (chute à environ 67 p. 100 de la référence). Dans le même temps, on observe une diminution du contenu en protéines et en enzymes de conjugaison du foie ; toutefois, la cystéine ajoutée au régime ne modifie pas la diminution de teneur en enzymes qui reste d'environ 25 p. 100. Enfin, on notera que la cystéine qui complète le régime déprotéiné, ramène à la normale l'excrétion de la B.S.P. C'est ainsi que pour une dose de B.S.P. de 10 mg/100 g de poids corporel, on obtient les résultats donnés dans le tableau -IV-.

	Concentration moyenne de BSP dans la bile	B.S.P. totale	B.S.P. conjuguée	B.S.P. libre
Contrôle	1,475	4,12	3,44	0,71
Déprotéiné	1,146	3,14	2,27	0,89
Déprotéiné + 1 % cystéine	1,140	4,31	3,40	0,88

Tableau -IV-

(d'après B. COMBES - 1965)

Les quantités de B.S.P. excrétées dans la bile sont exprimées en mg en 45 minutes par 100 g de poids corporel
La concentration moyenne de la B.S.P. est en mg pour 100 ml.

J. SCHERB, M. KIRSCHNER et I. ARIAS (1963) ont noté que le 17 α -éthyl-19-nortestostérone diminue de façon considérable le T_m B.S.P., alors que la capacité relative de stockage hépatique n'est pas modifiée. Ce résultat est assez paradoxal puisque nous avons vu (J. GOLDSTEIN et B. COMBES - 1966 b) que cette substance augmentait l'activité de l'enzyme de conjugaison ce qui devrait correspondre à un T_m plus important que chez les témoins.

E. BOYLAND et P.L. GROVER (1967) ne trouvent pas de relation entre la rétention sanguine de la B.S.P. et la teneur hépatique en glutathion S-aryltransférase chez l'Homme normal et chez le cirrhotique, ce qui permet de penser que la conjugaison n'est pas le facteur limitant dans l'élimination du colorant. Cependant, chez le lapin, un puissant inhibiteur de l'enzyme de conjugaison, le Benziodarone- (2-éthyl-3, 4-hydroxy-3,5 diiodobenzoyl benzofurane) réduit et retarde l'épuration sanguine de la B.S.P. alors qu'il ne modifie pas la clearance de la phénoldibromephtaleine disulfonate qui est excrétée sans conjugaison. Cette dernière expérience semble très démonstrative et confirme les résultats de B. COMBES rapportés ci-dessus.

En 1967, C.D. KLAASSEN et G.L. PLAA comparent le métabolisme, le stockage et l'excrétion de la B.S.P. dans trois espèces animales : le chien, le lapin et le rat. Le T_m est beaucoup plus élevé chez le rat et le lapin que chez le chien, alors que le stockage hépatique est nettement plus important chez ce dernier animal. Par contre, le pourcentage de B.S.P. conjuguée est sensiblement le même (70 p. 100) dans la bile des trois espèces bien que les expériences in vitro montrent que la capacité de conjugaison chez le lapin est inférieure à celle du rat et supérieure à celle du chien. Les concentrations biliaires maximales de colorant sont sensiblement les mêmes dans les trois espèces, tandis que les débits liquidiens et par conséquent les débits de B.S.P., sont nettement moindres chez le chien. Ce serait donc le débit biliaire et non la conjugaison qui limiterait l'excrétion de la B.S.P.

Dans l'état actuel de nos connaissances, il est logique de penser que l'excrétion de la B.S.P. et peut être la captation hépatique du colorant dépendent de sources énergétiques encore inconnues. S. SCHENKER et B. COMBES (1967) ont abordé ce problème par l'étude du rôle de l'A.T.P. dans le transport et le métabolisme de la B.S.P. Chez le rat, les réserves hépatiques en A.T.P. sont diminuées par administration d'éthionine ou d'éthionine et de dinitrophénol (respectivement à 53,2 et 29,8 p. 100 des témoins); aucune modification significative de la captation hépatique, du débit biliaire et de la conjugaison du colorant n'est observée. Ces résultats ne permettent pas d'affirmer que le T_m est indépendant de l'A.T.P. car il est possible que 10 à 25 p. 100 de cette source d'énergie suffisent à assurer une élimination normale de la B.S.P.

J U S T I F I C A T I O N

des

R E C H E R C H E S.

-1- Dans les nombreuses études qui ont jusqu'ici porté sur l'élimination biliaire de la Brome Sulfone Phtaléine, on trouve surtout des méthodes indirectes de détermination du taux maximum d'excrétion, méthodes qui, appliquées à l'Homme, fournissent des renseignements intéressants sur le parenchyme hépatique mais qui ne constituent pas une étude sélective de l'élimination biliaire du colorant. D'ailleurs les travaux de S.E. BRADLEY et de son école (voir page 10), de L.J. SCHOENFIELD et Coll. (1964) font apparaître une différence sensible entre T_m et excrétion biliaire; l'existence d'autres voies d'excrétion peut être supposée au moins lorsque de fortes doses de B.S.P. sont infusées.

Il nous a donc paru intéressant de reprendre une étude systématique de l'élimination biliaire de la Brome Sulfone Phtaléine par mesure directe de l'excrétion du colorant à différents taux d'injection.

-2- La plupart des travaux réalisés jusqu'à présent consistent en expériences de courte durée. Mais S.E. BRADLEY et Coll. avaient observé que la T_m diminuait progressivement après 2 à 3 heures d'expérience et que la cholérèse pouvait alors être réduite. Ces phénomènes n'étaient pas expliqués mais une notion de toxicité pouvait être évoquée :

Nous avons pensé souhaitable de rechercher le point d'impact de cette toxicité éventuelle, en comparant l'excrétion maxima du rat anesthésié et du foie de ce même animal, isolé de l'organisme et perfusé.

-3- la B.S.P. est surtout excrétée sous forme conjuguée avec le glutathion. Mais les opinions de B. COMBES (1962) et de C.D. KLAASSEN et G.L. PLAA (1967) s'opposent sur le rôle de ce polypeptide comme facteur limitant.

Il nous a semblé nécessaire d'étudier les variations de la conjugaison au cours du temps à différents taux d'infusion du colorant d'une part, et d'autre part de rechercher si la surcharge de l'organisme en glutathion était susceptible de modifier la T_m .

L'exploration de ces différents points fait l'objet du présent travail.

TECHNIQUES .

TECHNIQUES PHYSIOLOGIQUES.

L'étude de l'excrétion maximale de la B.S.P. a été conduite conjointement par deux méthodes :

- sécrétion biliaire du foie in situ
- étude de la cholérèse du foie isolé.

I- CHOIX DE L'ANIMAL - ETUDE DE LA POPULATION

Le rat, animal sans vésicule biliaire, est habituellement choisi pour l'étude de la cholérèse : son débit biliaire est élevé et sa reproduction abondante permet d'obtenir le grand nombre de sujets nécessaires à l'expérimentation.

L'existence d'une technique de perfusion du foie isolé de rat mise au point en 1951 par R.W. BRAUER, R.L. PESSOTTI et P. PIZZOLATO, est utilisée au Laboratoire depuis 1955, fut l'argument décisif dans le choix du rat comme animal d'expérience.

Nous avons utilisé des rats WISTAR C.F. élevés au Laboratoire à partir de géniteurs provenant du centre de sélection des animaux de laboratoire du C.N.R.S.

Les animaux mâles utilisés pour l'étude de la cholérèse sur foie en place pèsent de 250 à 300 grammes. Les foies perfusés sont prélevés sur des rats mâles de 350 à 500 grammes.

II- TECHNIQUE D'OBTENTION DE LA BILE CHEZ L'ANIMAL ANESTHESIE

A- CHOIX DE L'ANESTHESIQUE

L'anesthésique utilisé doit répondre à deux critères :

- permettre une narcose prolongée de bonne qualité
- ne pas perturber les fonctions hépatiques.

De nombreux auteurs s'attachent à rechercher cet anesthésique; C. VAILLE, C. DEBRAY, S. de la TOUR, C. ROZE et M. SOUCHARD (1961) ont fait une étude comparative de l'éther, du carbamate d'éthyl et du mébubarbital.

- L'éther ne répond pas au premier critère car l'anesthésie est fugace et de mauvaise qualité, avec encombrement bronchique.

-Le carbamate d'éthyl, bien que donnant une narcose stable et durable, n'est pas retenu car il est détoxiqué par le foie et perturbe la crase sanguine.

- Le mébubarbital semble le mieux adapté à l'anesthésie du rat lors de l'étude de la fonction biliaire. C'est un anesthésique puissant qui donne des narcoses de durée variable d'un animal à l'autre, mais toujours assez prolongées.

Son incidence sur la cholérèse est faible.

R. DELAS, G. ROUX, R. ECALLE (1957) montrent qu'une injection intra-veineuse de 5 à 25 mg/kg de mébubarbital chez le lapin et le chien provoque une réduction du débit biliaire tandis qu'une infusion à faible dose ne modifie pas la cholérèse. G. BIZARD, J. VANLERENBERGHE A. ROBELET et F. GUERRIN (1962) observent à chaque injection de mébubarbital, chez le chien, le lapin et le rat, une diminution fugace du débit biliaire, perturbation qui n'est pas décelable sur des échantillons de 30 minutes. J. VANLERENBERGHE, G. BIZARD, N. GREGOIRE A. ROBELET et F. GUERRIN (1958) montrent que l'introduction de 5 mg de mébubarbital dans le liquide de perfusion après une heure d'expérience ne modifie pas la cholérèse du foie isolé.

L'anesthésie est obtenue 7 à 10 minutes après l'injection intrapéritonéale de 40 mg/kg de mébubarbital en solution à 6,5 p. 100. La narcose est entretenue si nécessaire, par injection intramusculaire d'une faible dose, soit 5 à 10 mg/kg.

B- TECHNIQUE OPERATOIRE

Le rat étant placé en décubitus dorsal, on réalise une trachéotomie qui permettra l'aspiration des sécrétions trachéo-bronchiques et on cathétérise la jugulaire.

Une laparotomie médiane sous-sternale permet d'aborder le duodénum et d'exposer le hile du foie. Le cholédoque est disséqué dans son trajet intra-pancréatique, son extrémité distale fermée par une ligature. Un cathéter en polyéthylène Biotrol n°3 (diamètre extérieur : 0,96 mm - diamètre intérieur : 0,58 mm)

est introduit dans le cholédoque par une fine boutonnière réalisée aux ciseaux mousses et maintenu en place par un fil moyennement serré. La paroi abdominale est refermée par quelques points de suture en utilisant les fils des précédentes ligatures afin d'éviter que le cathéter ou les voies biliaires ne présentent des courbures. L'animal est placé sur une table dont le chauffage est réglé manuellement pour maintenir la température rectale du rat à 38° C.

III- TECHNIQUE D'OBTENTION DE LA BILE DU FOIE ISOLE

Les techniques de perfusion du foie de rat ont été mises au point par les travaux de R.W. BRAUER, R.L. PESSOTTI et P. PIZZOLATTO (1951) d'une part, par L.L. MILLER, M.L. WATSON, C.G. BLY et W.F. BALE (1951) d'autre part.

Depuis 1955, nous utilisons au Laboratoire une méthode dérivée de celle de BRAUER qui consiste en une perfusion à pression constante, avec du sang de rat dilué, par la seule veine porte.

A- APPAREILLAGE

La figure -1- schématise la disposition des circuits sanguins et d'oxygène par rapport au circuit de réchauffement et au système de mesure du débit.

La pompe de remontée est une pompe de DALE SCHUSTER, type vertical avec poire et soupapes en caoutchouc. L'oxygénateur, l'entonnoir, le réservoir supérieur sont en pyrex; la plaque perforée supportant le foie et le rotamètre sont en plexiglass; les tubes de liaison en polyéthylène. Le niveau du réservoir supérieur est maintenu à 20 cm au-dessus du foie par un trop-plein dérivant directement le sang dans le réservoir inférieur; celui-ci reçoit le liquide de perfusion qui a traversé le foie. L'eau du bain-marie et de la jaquette thermostatique est maintenue à 40° C au 1/10 de degré près par une résistance chauffante contrôlée par un thermomètre à contact. L'enceinte de l'appareil est elle-même soumise à un chauffage régulé à 32°C.

Le sang est oxygéné par un bullage d'un courant de 800 ml/minute d'oxygène pur, humidifié et chauffé par passage préalable dans un ballon d'eau à 40° C.

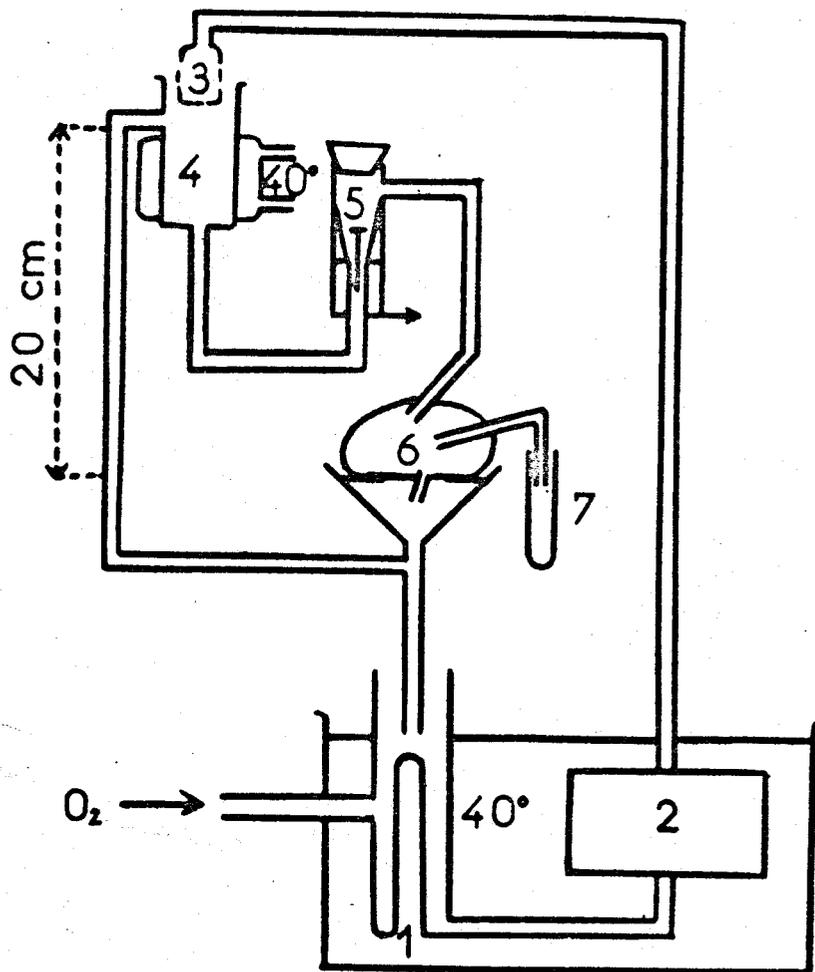


Figure 1-

SCHEMA 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

La température (40° C) est donnée à titre indicatif pour montrer la situation du bain-marie et de la jaquette thermostatique.

On intercale entre la pompe de remontée et le réservoir supérieur, un filtre à sang (type transfusion sanguine) pour éviter que les particules de fibrine formées en cours d'expérience n'atteignent le foie.

Un débitmètre placé sur le circuit de la veine porte permet la mesure des débits entre 0 et 70 ml par minute. Le déplacement du flotteur du rotamètre modifie la valeur d'une self-impédance insérée dans un pont de mesure. Le déséquilibre du pont est mesuré par un voltmètre électronique, lu sur un micro-ampéremètre et enregistré sur un appareil à pointé SADIR-CARPENTIER.

B- LE MILIEU DE PERFUSION

Le perfusat est constitué par du sang de rat dilué dans un milieu nutritif :

sang de rat (1)	25 ml
albumine bovine (2)	3 g
glucose	180 mg
NaCl (3)	542 mg
KCl	25,2 mg
CaCl ₂	7,2 mg
CO ₃ HNa	37,5 mg
Eau distillée ou déminéralisée	60 ml
PO ₄ HNa ₂ M/10	4 ml
PO ₄ H ₂ K M/10	1 ml.

Le milieu de perfusion est le même que celui utilisé par R.W. BRAUER et Coll. mais nous n'infusions pas de solution de remplacement et les antibiotiques ne sont pas nécessaires car les perfusions sont de courte durée.

- (1) obtenu en recueillant sur héparine le sang de 3 ou 4 rats anesthésiés au mébubarbital et saignés par introduction d'un cathéter dans la carotide
- (2) albumine desséchée pour Test de NELSON (Poviet - Amsterdam)
- (3) les sels minéraux sont des produits PROLABO qualité RP.

La formation de mousse est évitée par rincage de l'appareil avec de l'eau distillée additionnée d'une émulsion anti-mousse aux silicones AF1 (SAINT GOBAIN).

En cours de perfusion, une trace d'anti-mousse est ajoutée au perfusé en cas de besoin.

C- PROTOCOLE OPERATOIRE

Le rat est attaché en décubitus dorsal sur une table chauffante; une injection de 2 mg d'héparine est pratiquée dans la veine jugulaire.

Une laparotomie médiane avec deux grandes incisions latérales permet d'aborder le foie. Le cholédoque est dégagé dans son trajet intra-pancréatique; après ligature de l'extrémité distale, un cathéter en polyéthylène (BIOTROL n°3) (1) est introduit vers le hile du foie, maintenu en place par une ligature. Le foie est dégagé de ses adhérences péritonéales par quelques coups de ciseaux mousses les artères pylorique, gastroépiploïque, coronaire stomacique et l'oesophage sont sectionnés entre les deux ligatures.

La veine porte est isolée, une collatérale gastro-duodénale ligaturée, un cathéter en polyéthylène (BIOTROL n°9) (2) est introduit vers l'extrémité hépatique et lié.

Une sternotomie médiane puis la libération du diaphragme par incision latéro-costale permet d'aborder la veine cave inférieure dans son trajet intra-thoracique. Un fil passé sous la veine cave du côté du coeur permet de maintenir la veine et d'y introduire un cathéter en polyéthylène (BIOTROL n°8) (3) jusqu'à l'aboutissement des veines sus-hépatiques.

Les derniers tractus qui retiennent le foie en place sont coupés et l'organe est placé dans le circuit de perfusion en prenant soin de ne pas introduire de bulles d'air dans le courant

- | | |
|---|------------------------------|
| (1) : BIOTROL n°3 : diamètre intérieur : 0,58mm | diamètre extérieur : 0,96mm |
| (2) - BIOTROL n°9 : diamètre intérieur : 1,40mm | diamètre extérieur : 1,90mm |
| (3) - BIOTROL n°8 : diamètre intérieur : 1,19mm | diamètre extérieur : 1,70mm. |

sanguin. Le foie n'est pas irrigué pendant un temps qui n'excède pas trois minutes. La circulation trans-hépatique s'établit rapidement à son maximum et un débit variant de 25 à 70 ml par minute est obtenu en moins de 30 minutes.

D- CRITERES DE VALIDITE

Les techniques de perfusion de foie de rat permettent l'étude de la fonction biliaire et hépatique; elles testent, au moins partiellement, la survie de l'organe isolé.

Des arguments de trois ordres permettent d'affirmer la valeur fonctionnelle de la préparation :

1- arguments biochimiques :

J. VANLERENBERGHE (1958) étudie et compare l'équipement enzymatique du foie après perfusion, à celui du foie en place et montre qu'il conserve de larges possibilités métaboliques en particulier dans le domaine des glucides.

2- arguments physiologiques :

- durée et valeur de la cholérèse

Le foie perfusé est capable de former de la bile pendant plusieurs heures. Ce critère très important témoigne de la valeur fonctionnelle de l'organe isolé. R.W. BRAUER (1951) a poursuivi l'expérimentation pendant 25 heures et Ed. ROBBINS et Coll. (1953) pendant 11 heures 40 minutes.

Nous avons limité l'expérimentation à une durée de 3 heures 30 minutes, temps suffisant pour obtenir une excrétion importante de la Brome Sulfone Phtaléine.

Du point de vue quantitatif, il apparaît que le débit biliaire est plus faible pour le foie isolé. Ce débit de 7,6 μ l par minute est très inférieur à la cholérèse du foie in situ à vascularisation physiologique qui atteint 12,9 μ l par minute. Il est possible que la composition du perfusé intervienne; en effet, B. MORRIS (1960) obtient une sécrétion de 16 μ l par minute (33° C et pression portale de 25 cm d'eau) en ajoutant au milieu de perfusion un mélange complexe d'acides aminés.

L'albumine bovine utilisée (fraction V de COHN) joue aussi un rôle important dans la sécrétion biliaire; certains lots se révèlent impropres à l'obtention d'un bon débit biliaire. Il est également possible que l'exclusion de l'afférence des vaisseaux diaphragmatiques et de l'artère hépatique soit une cause de réduction de la cholérèse.

- l'extrait sec

R.W. BRAUER et E.D. ROBBINS observent une réduction de 25 % de l'extrait sec. Dans nos expérimentations nous n'avons pas noté de différence significative entre la valeur de l'extrait sec de la bile émise par l'organe isolé (3,09 mg/100 µl) et celle de la bile excrétée par le foie in situ (3,35 mg/100 µl).

- la bilirubine

La bilirubine biliaire est nettement plus élevée dans la bile du foie perfusé : 4,94 mg/l contre 1,94 mg chez l'animal anesthésié. Elle augmente de 240 mg/l aux 30 premières minutes à 701 mg/l après 130 minutes de perfusion; ceci est vraisemblablement lié à l'hémolyse qui se produit dans tous les systèmes de perfusion.

- action des cholérétiques

R.W. BRAUER et R.L. PESSOTTI (1952), VANLERENBERGHE (1953) trouvent de façon constante une hydrocholérèse de l'ordre de 60 p. 100 après adjonction au perfusé de 2 mg de déhydrocholate.

- les acides biliaires

E.D. ROBBINS, S. BURTON, J. GOERKE et M. FRIEDMAN (1953) constatent que la bile de foie perfusé s'appauvrit en cholate par comparaison à la bile du foie en place.

J. VANLERENBERGHE, F. GUERRIN et G. MILBLED (1960) montrent que l'effondrement de la concentration du taurocholate est plus nette que celle du glycocholate; cet appauvrissement est très marqué dès le 2ème échantillon. Le 6ème échantillon contient 5 fois moins de taurocholate que le 1er échantillon de bile. Ils observent en 1961 que le foie isolé conjugue l'acide cholique avec la taurine et le glycocholate; en ajoutant du cholate

au milieu de perfusion le taux des conjugués dans la bile chute moins rapidement que dans la série témoin.

- excrétion des colorants

Le foie perfusé excrète la Brome Sulfone Phtaléine et le Rouge Neutre à des gradients de concentration très élevés. Les concentrations biliaires des colorants sont voisines de celles observées chez le rat anesthésié. Le foie perfusé conjugue la B.S.P. avec le glutathion, la cystéine et le cystéinyl-glycocolle. Le pourcentage de B.S.P. conjuguée par rapport à la B.S.P. totale peut atteindre 90 p. 100 dans la bile de foie perfusé. C'est là encore une preuve de la valeur fonctionnelle de la préparation que de pouvoir assurer la conjugaison de la B.S.P.

- métabolisme protidique

L.L. MILLER et Coll. (1956) notent que le foie isolé synthétise l'urée avec un rendement bien supérieur à celui des tranches d'organe.

- métabolisme glucidique

L.L. MILLER, W.T. BURKE, D.E. HAFT (1956) montrent que la préparation est capable d'effectuer les étapes de l'anabolisme glucidique si la charge en glucides est suffisante dans le milieu de perfusion. Le foie assimile alors le glucose et le stocke sous forme de glycogène.

- métabolisme du cholestérol

J. VANLERENBERGHE et Coll. (1967) notent que le cholestérol est éliminé dans la bile du foie perfusé de rat à une concentration et avec un débit très faibles (16,9 mg/100 ml et 35,3 µg/30 minutes). Ces chiffres s'effondrent au tiers de leur valeur de départ dès le 3eme échantillon, pour n'atteindre que 10 p. 100 de la concentration et 12 p. 100 du débit initial au 7eme échantillon. L'adjonction au perfusé d'acétate de sodium modère la chute de la concentration et du débit de cholestérol respectivement à 33 et 22 p. 100 en fin d'expérimentation. De même, une infusion d'acide mévalonique maintient la concentration à 35 p. 100 et le débit du cholestérol à 21 p. 100 de leur valeur de départ. Le foie perfusé est donc bien capable de synthétiser le cholestérol à partir de ces précurseurs.

3- arguments histologiques :

R.W. BRAUER (1951) et J. VANLERENBERGHE (1958)

trouvent un aspect microscopique normal des coupes de foie après 3 heures et demie d'expérience. Un peu d'oedème ou des hémorragies interstitielles sont rarement mis en évidence; de petites lésions de nécrose cellulaire ou de dégénérescence vacuolaire peuvent apparaître à la périphérie des lobules.

Il ressort de ces travaux que le foie perfusé bien que séparé des possibilités de régulations neuro-végétative et humorale, conserve des propriétés fonctionnelles analogues à celles du foie de l'animal entier. De plus, la captation tissulaire extra-hépatique de la B.S.P. est éliminée; l'emploi de cette préparation est donc justifié dans l'étude des mécanismes d'excrétion maximale de la B.S.P.

IV- MODALITES EXPERIMENTALES

A- COLLECTE DE LA BILE

La bile est recueillie par fractions de 30 minutes dans des tubes gradués de 350 µl. Chaque expérience comporte 7 échantillons.

B- ADMINISTRATION DE LA B.S.P.

1- séries normales

Le colorant est injecté en continu au moyen d'une seringue automatique (Perfusor I Braum) soit dans la jugulaire (animal anesthésié) soit dans l'oxygénateur (foie perfusé). Le volume injecté est toujours de 1,2 ml par heure et c'est la dilution de B.S.P. qui varie d'une série à l'autre.

2- séries B.S.P. et glutathion

Le colorant (1) et le glutathion (2) sont dans deux seringues séparées, mues par le même mécanisme. Les solutions ne sont mélangées que juste avant l'entrée dans la jugulaire

(1) - B. S. P. ampoule 10 ml à 30 mg par ml SERB Paris.

(2) - Glutathion réduit - ALDRICH.

pour éviter la conjugaison in vitro. Les volumes injectés sont de 0,6 ml par heure pour chaque corps soit au total 1,2 ml par heure comme dans les séries normales.

C- PRELEVEMENT ET ETUDE HISTOLOGIQUE DU FOIE

En fin de perfusion le foie isolé est coupé en tranches minces que l'on plonge dans une solution de formol à 10 p. 100.

Les rats anesthésiés sont éviscérés après 3 heures et demie d'expérience. Le foie prélevé est coupé en fines lamelles, fixées quelques heures au liquide DUBOSCQ-BRASIL (1) puis recoupées et replacées 24 heures dans ce liquide. Une dernière fixation est faite au formol au 1/10 avant l'inclusion à la paraffine.

Les prélèvements de foie ont été coupés et colorés par l'hémalum-érythrosine-safran, le trichrome de MASSON, l'hémalum-P.A.S.

(1) - Liquide DUBOSCQ-BRASIL - 60 ml sol. alcoolique d'acide picrique (alcool 80° + ac. picrique - 150 ml : 1 g) - 24 ml aldéhyde formique à 40 p. 100 - 6 ml acide acétique cristallisable .

TECHNIQUES DE DOSAGE

DE LA B.S.P.

I- DOSAGE DE LA B.S.P. TOTALE EXCRETEE DANS LA BILE

- La phénoltétrabromophtaléine disulfonate de sodium ou B.S.P. est un indicateur coloré rouge violacé en milieu alcalin, incolore à pH inférieur à 7,4. Le virage de la B.S.P. est total à partir de pH 9,5.

- Nous avons adapté la technique de dosage spectrophotométrique de la B.S.P. sérique de A. NYS et J. CAROLI.

O.H. GAEBLER (1945) a montré que l'absorption maximale de la B.S.P. se situait de 575 à 578 μ dans les liquides biologiques. La coloration tend à diminuer progressivement et le maximum d'absorption se déplace vers une longueur d'onde plus élevée quand le dosage n'est pas pratiqué rapidement après l'alcalinisation. Nous effectuons donc la lecture au spectrophotomètre à 580 μ , la diminution en fonction du temps de la densité optique étant moins marquée à cette longueur d'onde.

- Le dosage de la B.S.P. est facilité par son excrétion biliaire à forte concentration. La bile est diluée entre 1/101 et 1/2501 dans la soude 0,1 N selon la teneur en B.S.P. de l'échantillon.

- La lecture se fait dans les cuves de verre de 10 mm de trajet optique du spectrophotomètre JOBIN & YVON MAROC IV à 580 μ avec un blanc de soude décimormal.

- Du degré de densité optique lu, on déduit la concentration en colorant en se rapportant à une abaque. Cette abaque est établie à partir de dilution dans la soude 0,1 N de la solution commerciale de B.S.P. à 30 g 0/00 .

Les protéines existant en faible quantité dans la bile ne gênent pas la lecture et ne modifient pas la valeur du maximum d'absorption du colorant. La bilirubine présente des maxima d'absorption à 417 et 455 μ et intervient d'autant moins à 580 μ qu'elle

est très diluée dans la soude.

Cependant H.O. WHEELER, J.I. MELTZER et S.E. BRADLEY (1960) trouvent des perturbations inexplicables dans les résultats et font des réserves sur les dosages de la B.S.P. dans la bile quand une dilution supérieure à 1/200 est nécessaire. Ces auteurs préconisent de diluer les échantillons de bile au 1/100 avec de l'eau distillée. A 1 ml de cette dilution ils mélangent 1 ml d'une dilution au 1/5 de la bile témoin (prélevée avant l'injection de B.S.P.) puis ajoutent 20 ml d'eau et 0,4 ml de KOH à 20 p. 100. De la lecture faite à 580 m μ , ils soustraient la densité optique d'une solution de bile témoin traitée de la même manière.

R.W. BRAUER et R. KREBS (1958) comparent les quantités de B.S.P. éliminée dans la bile, mesurées d'une part par colorimétrie et d'autre part par dosage de la radioactivité de la B.S.P. marquée au S³⁵. Chez le chien, ils trouvent le rapport $\frac{\text{dosage isotopique}}{\text{dosage colorimétrique}}$ toujours supérieur à 1. Ces auteurs n'ayant pas trouvé de soufre inorganique radioactif, pensèrent que la différence des résultats des deux dosages était due à des modifications biochimiques de la molécule du colorant.

Les études chromatographiques révélèrent dès 1958, l'apparition dans la bile d'une famille de dérivés de la B.S.P. après injection intraveineuse de B.S.P. chromatographiquement pure. J.S. KREBS et R.W. BRAUER montrèrent que ces corps avaient des coefficients d'extinction moléculaires différents. Dans notre étude globale de la B.S.P., nous entachons donc nos résultats d'une erreur par défaut car nous ne tenons pas compte de la réduction des coefficients d'extinction.

II- CHROMATOGRAPHIE DE LA B.S.P.

A- LES DIFFERENTES TECHNIQUES

1) Protocole d'isolement des métabolites et dosage

Plusieurs techniques furent mises au point en 1958 pour mettre en évidence les transformations métaboliques de la B.S.P.

a- chromatographie sur colonne d'alumine

- R.W. BRAUER et J.S. KREBS (1958) utilisent une colonne d'alumine alcoa F20. La bile ou la solution de B.S.P. diluée avec de l'eau et de l'acétone est portée à filtrer sur la colonne. La chromatographie est développée par passages successifs à travers l'alumine de plusieurs fractions d'un mélange de sulfate de soude à 10 p. 100, ammoniac concentré, eau distillée et acétone. La première solution n'ayant plus d'effet, le développement chromatographique est terminé par le mélange acétone ; eau.

Une succession de sommets se dessinent sur la courbe des densités optiques à 578 m μ des éluats représentant les composés de mobilité différente. La proportion relative des diverses fractions de B.S.P. obtenues est calculée par intégration des graphiques.

- A. CHARBONNIER et P. BRISBOIS (1960) ont adapté au sérum la technique de R.W. BRAUER et J.S. KREBS de chromatographie sur colonne d'alumine.

b- chromatographie sur papier

- Technique originale de G.M. GRODSKY, R. FANSKA et J.V. CARBONE (1959). Un volume de bile est déprotéiné par 4 volumes d'acétone. Le surnageat est desséché sous vide puis repris par une quantité d'eau correspondant au 1/5 environ du volume de bile initial. Cet extrait est soumis à la chromatographie ascendante pendant 6 à 15 heures sur papier WHATMANN 3MM dans un mélange : butanol tertiaire, eau (1,73 : 1 v/v). Les vapeurs d'ammoniac individualisant les taches, les bandes de papier sont découpées puis éluées avec de l'eau. La lecture des densités optiques est faite au maximum de la B.S.P. soit 578 m μ .

- Technique de B. COMBES (1959). Une partie aliquote de bile est déposée sur du papier filtre WHATMANN; la chromatographie descendante est développée par le mélange acide acétique glacial, eau, alcool propylique (1 : 5 : 10 v/v). Le chromatogramme est découpé après exposition aux vapeurs d'ammoniac. Les bandes de papier sont éluées avec de l'eau; les éluats sont alcalinisés par KOH à 20 p. 100 et dosés.

- Technique de N.B. JAVITT, H.O.

WHEELER, K.J. BAKER et O.L. RAMOS qui réalisent des chromatographies ascendantes ou descendantes sur papier WHATMANN 1,3 ou 3MM avec le solvant : butanol, acide acétique, eau (4 : 1 : 2).

- Technique de J.I. MELTZER, H.O.

WHEELER, W.I. CRANSTON (1959). La bile est appliquée directement sur les chromatogrammes sans concentration ni extraction. Occasionnellement en présence de fortes concentrations des substances perturbantes, l'extraction de la B.S.P. est pratiquée comme pour le sérum. La bile est mélangée avec une solution saturée de sulfate d'ammonium, agitée avec 5 ml d'éthanol et maintenue 30 minutes à 20°. Après centrifugation le surnageat est évaporé à sec. Le résidu est repris par de l'éthanol. La bile ou la solution de B.S.P. (soit 0,1 à 0,2 mg de B.S.P.) est posée sur du papier filtre WHATMANN 1. La chromatographie est développée pendant 14 à 16 heures dans le système ascendant constitué par 4 parties de butanol-1, une partie acide acétique glacial et de l'eau en excès. Les papiers sont révélés après séchage, par une solution de carbonate de sodium à 20 p. 100. Chaque tache est découpée, plongée dans 5 ml d'eau distillée, additionnée de 0,1 ml de KOH à 30 p. 100. La lecture est faite à 580 m μ .

- Technique de E.R. GARAY, V. PEREZ,

M. ROYER (1969). La bile est déprotéinisée par 4 volumes d'alcool. Après agitation le mélange est centrifugé; 20 à 50 μ l de surnageat sont appliqués sur le papier filtre WHATMANN 1. Les chromatogrammes sont développés pendant 15 à 16 heures avec le mélange ascendant butanol, acide acétique, eau (40 : 10 : 20) comme solvant. Le papier est séché sous courant d'air chaud, révélé par deux vaporisations d'une solution de potasse à 5 p. 100 dans l'éthanol avec séchage du papier entre chaque imprégnation. Les taches violettes des dérivés de la B.S.P. émettent une fluorescence rouge à 600 m μ , après avoir été excitées à 365 m μ . Cette fluorescence est mesurée sur le fluorimètre Photovolt. La courbe étalon est établie en chromatographiant des solutions de B.S.P. de titre connu et en dosant leur fluorescence comme pour la bile.

c- chromatographie sur couche mince

- Technique de F.J. WHELAN et G.L. PLAA

(1963). La bile (3 μ l) est appliquée sur des plaques recouvertes de cellulose en poudre. La migration se développe par l'ascension de la phase organique du mélange butanol-1, acide acétique, eau (4 : 1 : 5). Les plaques séchées sont exposées aux vapeurs d'ammoniac, les spots ainsi révélés sont grattés dans des tubes où ils sont élués par la soude décijnormale.

- Méthode de M. RAUTUREAU, F. LEMONNIER,

I.F. MOWSZOWICZ (1964). La bile est déposée sans déprotéinisation ni concentration préalables sur des plaques de Kieselgel Merck. Les échantillons sont chromatographiés en système ascendant durant 15 à 18 heures avec la phase supérieure du mélange butanol normal, acide acétique, eau (4 : 1 : 6). Les chromatographies sont révélées soit par les vapeurs d'ammoniac, soit par pulvérisation d'une solution de soude concentrée à 2 p. 100 dans l'alcool absolu. Les résultats quantitatifs sont donnés par élution des taches dans la soude 0,1 N et lecture au spectrophotomètre à 578 m μ .

- Technique de E. GIANGRANDI, G. MOLINO

A. CRAVARIO, E. PAGLIARDI (1965). Les échantillons de bile sont posés directement sur couche mince de Silicagel MERCK activé par la chaleur. Le mélange butanol-tertiaire, eau (173 : 100) permet la migration. Après révélation aux vapeurs NH₃ et élution du Silicagel correspondant aux diverses fractions par la soude 0,1 N, la détermination colorimétrique des éluats est faite à 575 m μ contre un blanc de soude décijnormale.

2) Résultats

Ces techniques chromatographiques de la B.S.P. furent appliquées, chez diverses espèces animales et chez l'Homme, à l'étude de la sécrétion biliaire et de l'épuration plasmatique. Ils trouvent 4 à 5 dérivés colorables comme la B.S.P. en rouge violet en milieu alcalin, possédant le même spectre d'absorption dans le visible que la B.S.P. pure, mais se distinguent par leur mobilité plus lente. J.K. KREBS et R.W. BRAUER (1958), G.M. GRODSKY, R. FANSKA

et J.V. CARBONE (1959), B. COMBES (1959) après isolement chromatographique et purification des différents métabolites, étudient leur structure. Nous présentons dans ce tableau un sommaire de la nomenclature employée et de la composition probable des différentes fractions.

Auteurs	KREBS BRAUER	GRODSKY FANSKA CARBONE	JAVITT MELTZER WHEELER CRANSTON	COMBES STAKELUM	GIANGRANDI MOLINO CRAVARIO PAGLIARDI	RAUTUREAU LEMONNIER MOWSZOWICZ
Sources	rat	homme	chien	rat	homme	rat
Composition probable B.S.P.	I (12.22)	libre (++)	I (+)	D	R	I
B.S.P. cysteinyl- glycocolle	trace	C(+++)	II(+) IIIA(+++)	C(F) D(+)	L ₁	
B.S.P. - cystéine	II (4.39)	B(±)	IIIB(+)	D(±)	L ₂	II
B.S.P. - glycocolle	III (84.38)	A(+)	IV(+)	A(+++)	L ₃	III

Nomenclature des dérivés conjugués de la B.S.P.

Les quantités des divers composés de la B.S.P. dans la bile normale sont représentées par les signes entre parenthèses. BRAUER indique leurs proportions au début et en fin d'expérience.

B- TECHNIQUE UTILISEE : CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER selon B. COMBES (1959)

1) Technique d'isolement et dosage

Dans le but de mieux connaître la dynamique de l'excrétion de la B.S.P. et de ses métabolites chez le rat, nous avons appliqué la technique de B. COMBES (1959).

La commodité et la rapidité d'emploi de la chromatographie sur papier nous a permis d'appliquer cette technique à l'étude de la bile des rats de nos séries expérimentales.

a) préparation de la bile

La bile est déposée directement sur le papier sans défécation préalable. Nous avons concentré la bile par évaporation sous vide pour les séries expérimentales de 0,5 mg et 1 mg de B.S.P. par heure.

b) développement de la chromatographie

Sur du papier filtre WHATMAN I, nous appliquons à 10 cm du bord des volumes de bile de 2 à 3 μ l ; un courant d'air froid sèche chacun d'eux avant ré-application jusqu'à ce que 0,1 à 0,2 mg de B.S.P. soient déposés (10 à 15 μ l de bile dans nos séries expérimentales).

La cuve de chromatographie est saturée des vapeurs du mélange : propanol-1, eau, acide acétique (10 : 5 : 1) versé dans un cristallisoir au fond de l'appareil.

La feuille de papier est introduite dans la cuve et immobilisée au fond d'une gouttière par une baguette de verre ; elle s'appuie en outre sur une autre tige de verre à 1 cm en-deçà des dépôts de bile. Après quelques heures de saturation de la cuve, le solvant introduit dans le godet supérieur au moyen d'un entonnoir descend de 23 à 30 cm sur le papier en 15 à 16 heures.

c) révélation des fractions et topographie des chromatogrammes

Le chromatogramme est sorti de la cuve, séché dans un courant d'air et révélé par exposition aux vapeurs d' NH_3 . La B.S.P. et ses métabolites apparaissent sous la forme de taches violettes :

- d'abord, une fraction très mobile, ou fraction I, ayant le même Rf que la B.S.P. injectée, c'est la B.S.P. libre, de Rf : 0,68.
- puis trois fractions plus lentes : II, III et IV, ayant respectivement pour Rf : 0,48, 0,42 et 0,33.

Après révélation des chromatogrammes de 7 échantillons de bile, nous avons l'image représentative de l'élimination du colorant et de ses métabolites pendant 210 minutes.

d) l'élution du colorant est faite par agitation intermittente durant une heure des fragments de papier dans la soude 0,1 N en quantité adaptée à l'intensité de la coloration de la tache.

e) dosages et calculs

La lecture spectrophotométrique est faite à 580 m μ au spectrophotomètre JOBIN & YVON dans une cuve de 1 cm de trajet optique contre un blanc de soude décimale.

Comme pour la B.S.P. nous nous reportons à une abaque établie à partir de solutions de B.S.P. dans la soude 0,1 N à des titres connus.

Dans les calculs nous n'avons pas fait intervenir la différence de coefficient moléculaire d'extinction existant entre la B.S.P. libre et ses différents conjugués.

Nous avons calculé la proportion des fractions conjuguées par rapport à la somme de la B.S.P. retrouvée sur le chromatogramme de chaque échantillon de bile.

$$\frac{\text{B.S.P. conjuguée}}{\text{B.S.P. conjuguée} + \text{B.S.P. libre}} \times 100$$

2- Observations

a) séparation et récupération des fractions

- la faible différence de Rf des 3 fractions conjuguées de la B.S.P. ne permet pas toujours de les séparer avec certitude et rend le découpage délicat lors d'un léger chevauchement. D'autre part, les composés II et III apparaissent à des concentrations faibles et les densités optiques des éluats des fractions séparées seraient difficiles à mesurer avec précision. Nous avons donc groupé les trois conjugués de la B.S.P.

- Il convient de choisir la quantité de l'éluant en fonction de l'intensité de la coloration des taches ; une

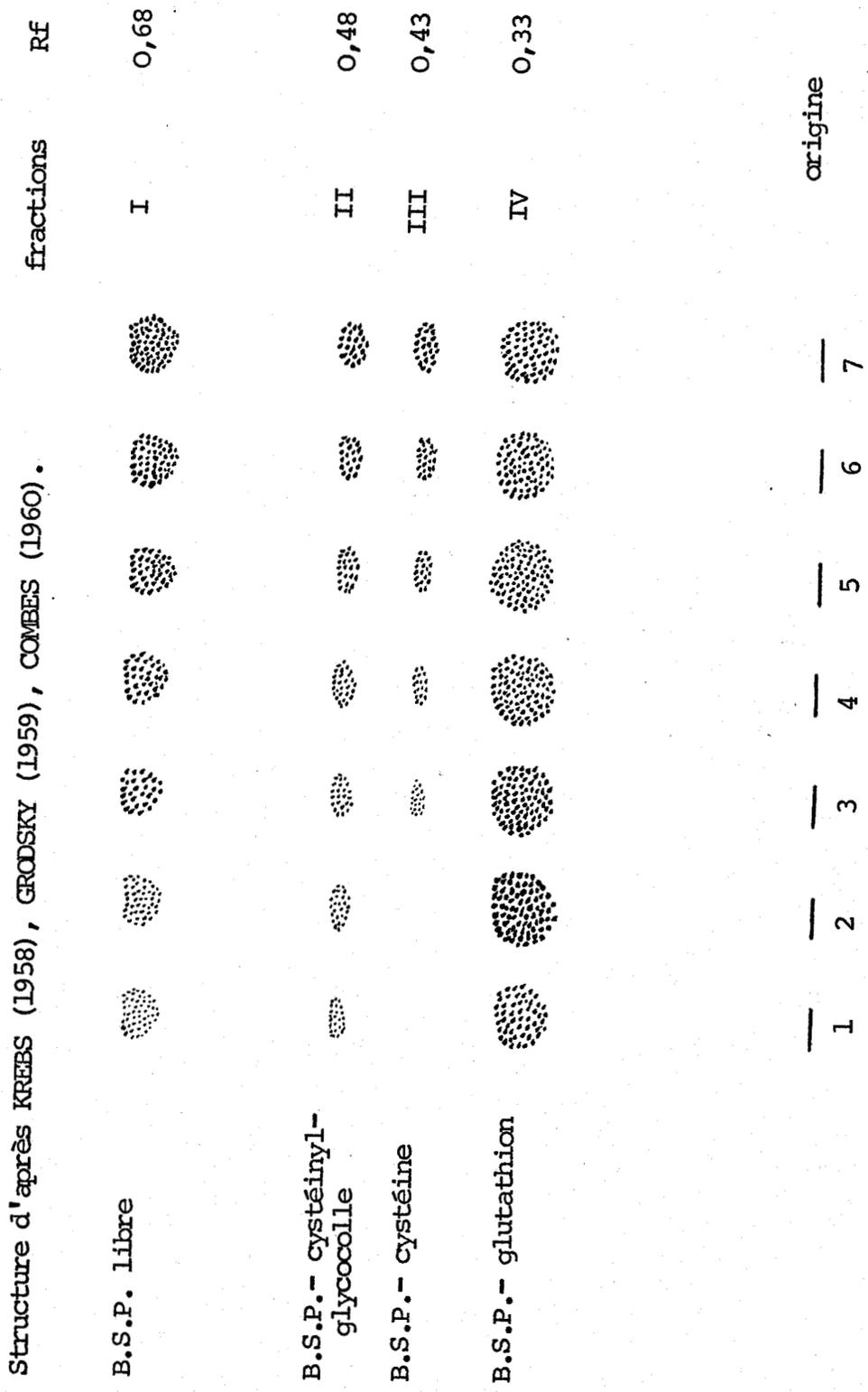


Figure 2 - Schéma général des 7 chromatogrammes de bile après 15 heures de migration dans le système descendant propanol, acide acétique, eau (10 : 1 : 5).

grande dilution du colorant en abaissant trop la densité optique risque d'entraîner des erreurs. Nous employons le plus souvent 5 à 10 ml pour éluer la B.S.P. libre et 10 à 15 ml parfois 20 ml pour les métabolites. Ces dilutions amènent le degré de densité optique entre 0,100 et 0,800. L'emploi comme éluant de la soude 0,1 N évite l'ajustement du pH pour la lecture colorimétrique. De plus, la soude décijnormale s'est révélée être un bon éluant. Nous dosons l'intensité de la coloration une heure après l'alcalinisation, temps suffisant pour une bonne élution et ne permettant pas une chute appréciable de la densité optique (H.O. GAEBLER - 1945).

b) résultats

- la B.S.P. du commerce ne donne par cette technique, qu'une seule tache de Rf égal à celui de notre fraction I.

- le spectre d'absorption dans le visible de la B.S.P. libre et de ses conjugués présente un maximum entre 578 et 580 m μ . Après purification des fractions II et III, KREBS observe qu'à concentration égale, la densité optique des solutions de B.S.P. libre est supérieure à celle de ses conjugués. A densité optique maximale identique, le facteur de correction est de 1,223 pour II et 1,127 pour III (nomenclature de KREBS).

- J. GOLDSTEIN et B. COMBES (1967) observent qu'en dessous de 500 m μ , la B.S.P.-glutathion donne une densité optique plus forte qu'une solution équimoléculaire de B.S.P. libre.

- Nous avons remarqué (surtout pour les doses importantes de B.S.P. injectée) que le taux de la fraction II est fonction du temps et augmente avec celui-ci. La fraction III n'est décelable qu'après 60 minutes de perfusion de B.S.P. à doses élevées.

- Dans chaque échantillon, la différence entre la somme des concentrations de la B.S.P. conjuguée et de la B.S.P. libre et le taux de B.S.P. biliaire correspond à la perte de B.S.P. au cours des manipulations. Nous l'exprimons en p. 100 de récupération

$$\frac{\text{B.S.P. conjuguée} + \text{B.S.P. libre}}{\text{B.S.P. totale biliaire}} \times 100$$

Nous retrouvons en moyenne par chromatographie 86 p. 100 de la B.S.P. dosée dans la bile. Nous avons donc perdu environ 14 p. 100 au cours des manipulations de la technique chromatographique.

RESULTATS

EXPERIMENTAUX.

- PREMIERE PARTIE -

LES CONCENTRATIONS ET LES DEBITS BILIAIRES
DE LA B.S.P. EN FONCTION DE LA DOSE INJECTEE.

-I- EXPERIMENTATION SUR RAT ANESTHESIE.

Dans cette expérimentation, la brome sulfone phtaléine est injectée de façon continue, par la veine jugulaire, à des taux variables compris entre 0,5 et 36 mg par heure et par animal (poids moyen : 273 grammes). Dans tous les cas, la dose injectée correspond à un volume de 1,2 ml par heure.

Chaque série expérimentale comporte 15 animaux. Les résultats individuels et les moyennes calculées des 9 séries (volume biliaire, concentration et débit de B.S.P. par 30 minutes) sont fournis dans les tableaux 5 à 13; les figures 3 à 8 reprennent les valeurs moyennes ci-dessus.

CONCENTRATION BILIAIRE DE LA B.S.P. (figure 3)

Bien que le colorant soit très rapidement excrété dans la bile, il est toujours à moindre concentration dans l'échantillon 1 que dans les suivants. A partir de l'échantillon 3 et pour des doses inférieures ou égales à 16 mg par heure, les courbes sont pratiquement parallèles à l'axe des abscisses.

Pour 24 mg par heure, on observe une diminution progressive et importante des concentrations qui passent de 1184 mg/100 ml dans l'échantillon 2 à 997 dans le n°7, soit une réduction de 187 mg en valeur absolue, de 15,8 p. 100 en valeur relative. Avec le taux de 32 mg par heure, les variations sont analogues avec respectivement les valeurs 1360 et 1179, les réductions de 181 mg et 13,3 p. 100.

Le taux de 36 mg a des effets de même sens mais encore plus marqués. Avec des valeurs de 1289 et 990 mg/100 ml, on constate que la diminution de la concentration est de 299 mg, soit 23,2 p. 100.

On peut également noter que dans les limites 0,5 à 32 mg par heure, les concentrations biliaires moyennes du colorant sont d'autant plus élevées que la dose injectée est plus forte.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile μ l/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. μ g/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 1136	19.2.65	245	260	270	340	340	330	325	330	41	75	72	70	70	75	74	107	202	245	238	231	244	244
G 1137	19.2.65	250	265	265	285	340	345	360	390	09	12	20	20	28	52	47	024	032	057	068	097	187	183
G 1142	22.2.65	255	350	415	455	455	430	420	415	28	52	46	49	52	58	61	098	216	209	223	224	244	253
G 1143	22.2.65	255	375	405	470	500	495	490	490	31	74	66	68	68	70	70	116	300	310	340	337	343	343
G 1144	24.2.65	260	385	400	425	405	400	400	320	39	62	53	55	59	59	60	150	248	225	223	236	236	192
G 1145	24.2.65	275	490	485	490	445	390	205	235	32	68	62	61	60	61	62	157	330	304	271	234	125	146
G 1149	25.2.65	235	490	570	565	575	445	405	400	41	77	79	77	79	81	81	201	439	446	443	352	328	324
G 1154	26.2.65	290	530	530	560	540	470	420	385	39	77	69	68	68	73	74	207	408	386	367	320	307	285
G 1155	26.2.65	255	505	495	495	480	430	405	350	44	83	73	70	70	71	72	222	411	361	336	301	288	252
G 1159	2.3.65	275	370	535	580	580	495	480	470	40	34	27	23	39	33	25	148	182	157	133	193	158	117
G 2069	23.1.67	280	400	440	490	510	540	540	510	41	25	42	38	38	37	33	164	110	206	194	205	200	168
G 2074	24.1.67	270	450	525	500	465	485	460	400	18	39	37	46	45	44	55	081	205	185	214	218	202	220
G 2075	25.1.67	275	555	565	560	510	580	550	485	20	36	38	42	43	45	44	111	203	213	214	249	247	213
G 2076	26.1.67	265	500	480	510	480	410	490	445	18	40	38	38	36	37	42	090	192	194	182	148	181	187
G 2077	26.1.67	245	465	405	425	450	455	380	340	21	41	47	44	40	45	46	098	166	200	198	182	171	156
Moyennes		262	426	452	477	472	447	422	398	31	53	51	51	53	56	56	132	243	246	236	235	231	219

Tableau -5- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 0,5 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile μ l/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. μ g/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 1108	08.2.65	245	250	260	320	340	315	325	375	149	241	208	156	155	149	108	372	627	666	530	488	484	405
G 1113	09.2.65	265	115	440	415	410	350	335	310	044	125	097	102	100	092	089	051	550	403	418	350	308	276
G 1116	10.2.65	260	235	340	375	370	360	350	280	065	222	170	107	110	111	108	153	755	637	396	396	388	302
G 1117	10.2.65	285	240	535	545	505	500	470	420	044	158	128	126	123	119	105	106	845	698	636	615	559	441
G 1122	12.2.65	290	290	360	375	375	335	335	325	057	099	106	116	126	134	143	165	356	397	435	422	449	465
G 1123	12.2.65	295	345	385	440	465	425	415	395	074	120	119	104	096	092	083	255	462	524	484	408	382	328
G 1124	15.2.65	255	335	375	400	405	395	390	380	067	106	108	105	102	093	092	224	397	432	425	403	363	350
G 1130	17.2.65	285	435	440	440	420	430	440	425	056	108	114	160	137	131	101	244	475	502	672	589	576	429
G 1132	18.2.65	275	375	420	420	415	390	365	365	047	226	131	130	130	123	096	176	949	550	539	507	449	350
G 1133	18.2.65	280	410	435	505	505	535	475	465	063	227	140	153	105	100	096	258	987	707	773	562	475	446
G 2047	11.1.67	270	530	540	530	480	560	520	630	041	065	073	068	068	069	069	217	351	387	326	381	359	435
G 2049	12.1.67	270	385	360	380	400	405	400	380	047	094	110	119	108	108	110	181	338	418	476	437	432	418
G 2055	17.1.67	250	280	320	310	330	300	260	240	050	123	128	128	134	152	167	140	394	397	422	402	395	401
G 2057	18.1.67	250	340	470	560	550	440	430	380	049	086	069	075	082	086	092	167	404	386	412	361	370	350
G 2059	19.1.67	270	400	510	490	450	480	420	410	051	069	066	075	087	084	083	204	352	323	337	418	353	340
Moyennes		270	331	413	434	428	415	395	385	060	138	118	115	111	109	103	194	549	495	485	449	423	382

Tableau -6- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 1 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile μ l/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. μ g/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 948	08.12.64	280	460	385	460	450	395	395	370	105	158	160	161	183	197	225	483	608	736	724	723	778	832
G 949	08.12.64	285	320	415	440	400	365	375	265	098	171	177	188	207	209	243	314	710	779	752	756	784	644
G 951	09.12.64	295	405	435	435	455	430	400	390	079	188	190	189	198	225	231	320	818	826	860	851	900	901
G 952	09.12.64	290	395	415	400	440	410	385	425	068	194	197	192	188	191	191	269	805	788	845	771	735	812
G 1001	07.01.65	300	520	545	655	645	575	510	315	158	170	170	170	212	206	233	822	926	1113	1096	1219	1051	734
G 1002	07.01.65	270	445	465	425	480	425	430	425	131	161	161	161	171	195	199	583	749	684	772	727	838	846
G 1013	11.01.65	270	415	420	465	455	390	440	415	159	212	188	159	119	116	114	660	890	874	723	464	510	473
G 1054	22.01.65	270	400	420	405	360	330	320	330	054	104	184	196	233	252	249	216	437	745	706	769	806	822
G 1056	25.01.65	295	355	390	420	400	350	320	315	141	213	184	179	182	178	188	501	831	772	716	637	569	592
G 1057	25.01.65	295	340	385	395	370	345	320	280	098	197	156	131	126	119	116	333	758	616	485	435	381	325
G 1971	15.11.66	265	365	420	440	480	440	440	375	149	163	148	143	152	162	173	544	685	651	685	671	714	648
G 1973	16.11.66	260	375	390	465	460	415	410	400	085	192	183	162	167	184	187	317	750	852	746	695	754	748
G 1974	16.11.66	235	450	560	530	550	540	480	390	032	139	167	116	155	162	207	142	778	883	636	835	779	805
G 1978	21.11.66	290	350	325	335	350	350	340	335	073	193	209	204	211	249	253	254	627	702	715	738	848	848
G 1979	22.11.66	250	380	410	430	390	390	350	330	032	166	174	201	215	223	266	121	681	749	782	838	781	877
Moyennes		277	398	425	447	446	410	394	357	097	175	176	170	181	191	205	392	737	785	750	742	749	727

Tableau -7- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 2 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile μ l/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. μ g/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 953	10.12.64	275	585	470	425	500	540	520	510	188	292	339	317	308	281	292	1100	1372	1441	1585	1663	1461	1489
G 954	10.12.64	280	460	525	550	535	485	490	435	197	258	256	270	339	345	345	906	1354	1408	1444	1644	1690	1505
G 957	14.12.64	260	380	460	425	415	390	355	350	164	308	345	351	402	445	418	623	1417	1466	1457	1568	1580	1463
G 958	14.12.64	250	370	350	395	425	450	445	410	140	345	340	358	345	266	321	518	1207	1343	1521	1552	1184	1316
G 959	15.12.64	305	445	500	495	485	475	450	455	139	278	270	384	331	333	330	618	1390	1336	1862	1572	1498	1501
G 960	15.12.64	300	345	350	375	385	355	330	290	167	427	384	308	375	409	445	576	1494	1440	1186	1331	1350	1290
G 961	15.12.64	310	450	530	585	590	585	560	500	194	319	256	271	286	312	324	873	1691	1498	1599	1673	1747	1620
G 965	16.12.64	275	435	475	435	410	420	405	400	274	372	396	403	350	354	427	1192	1767	1723	1652	1470	1434	1708
G 966	16.12.64	270	525	470	510	505	465	460	460	210	396	375	350	368	371	380	1102	1861	1912	1767	1711	1707	1748
G 1068	27.01.65	250	300	325	350	380	360	350	320	395	316	380	384	423	490	494	1188	1027	1330	1459	1523	1715	1581
G 1981	23.11.66	290	430	470	440	390	430	425	365	106	417	373	419	373	318	351	456	1960	1641	1634	1604	1351	1281
G 1982	24.11.66	285	415	465	495	475	445	410	350	150	347	345	350	365	393	419	622	1614	1708	1662	1624	1611	1466
G 1984	25.11.66	265	390	400	410	370	350	335	315	388	486	490	508	531	535	573	1513	1944	2009	1880	1858	1792	1805
G 1985	28.11.66	295	480	510	550	580	610	600	580	065	142	300	249	265	273	291	312	724	1650	1444	1616	1698	1688
G 1987	29.11.66	285	380	425	425	390	365	310	270	375	403	491	377	415	456	507	1425	1713	2087	1470	1515	1414	1369
Moyennes		280	426	448	458	456	448	430	401	210	340	356	353	365	372	395	868	1502	1599	1575	1595	1549	1522

Tableau -8- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 4 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile μ l/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. μ g/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 970	17.12.64	260	420	490	535	505	480	470	395	074	661	515	476	469	554	556	311	3239	2755	2404	2251	2604	2196
G 971	17.12.64	265	320	375	415	395	365	290	265	392	644	614	577	701	694	626	1254	2415	2548	2279	2559	2013	1659
G 974	18.12.64	300	385	520	520	540	495	500	500	401	632	461	534	527	524	503	1544	3286	2397	2884	2609	2620	2515
G 975	18.12.64	300	505	545	630	605	585	585	590	366	497	424	439	460	503	464	1848	2709	2671	2656	2691	2943	2738
G 976	21.12.64	310	460	510	610	625	605	605	570	317	486	427	424	431	445	430	1458	2479	2605	2650	2607	2692	2451
G 977	22.12.64	240	345	365	435	455	480	470	450	431	618	631	553	539	552	490	1487	2256	2745	2516	2587	2594	2205
G 978	22.12.64	290	555	610	605	665	600	600	570	308	413	396	396	411	423	409	1709	2519	2396	2634	2466	2538	2331
G 979	23.12.64	295	430	480	575	560	580	550	560	321	539	422	431	469	466	485	1380	2587	2426	2414	2720	2563	2716
G 1048	21.01.65	290	475	450	490	510	490	450	420	512	706	623	605	580	614	605	2432	3177	3053	3085	2842	2763	2541
G 1053	22.01.65	250	425	460	500	470	440	420	410	559	760	788	727	686	677	713	2376	3496	3940	3417	3018	2843	2923
G 1472	30.09.65	275	475	565	705	625	635	635	635	349	556	547	465	466	482	503	1659	3144	3860	2905	2957	3062	3195
G 1486	08.10.65	265	420	380	410	425	400	350	350	323	422	450	344	318	306	300	1355	1604	1844	1462	1271	1072	1051
G 1960	02.11.66	235	390	450	490	530	590	580	580	037	519	643	617	593	621	643	145	2333	3149	3268	3496	3599	3727
G 1961	03.11.66	200	345	340	440	430	420	350	280	523	797	741	707	725	787	731	1803	2709	3259	3039	3044	2754	2046
G 1986	29.11.66	305	500	520	550	610	580	510	410	218	506	526	526	535	606	722	1092	2634	2893	3206	3106	3089	2959
Moyennes		272	430	471	527	537	516	491	466	342	584	547	521	527	550	545	1457	2706	2836	2721	2682	2650	2484

Tableau -9- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 8 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile µl/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. µg/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 1991	01.12.66	260	500	450	475	460	410	435	430	717	1192	1097	1075	971	904	895	3584	5363	5212	4944	3981	3931	3847
G 1992	02.12.66	300	500	630	740	700	710	640	530	606	1015	841	869	880	926	1021	3028	6393	6220	6084	6245	5927	5410
G 1993	02.12.66	300	720	660	635	620	585	535	455	407	859	935	925	994	1045	997	2933	5667	5938	5732	5813	5589	4535
G 1998	06.12.66	310	700	910	890	850	740	710	640	558	714	680	768	850	851	964	3903	6502	6052	6532	6287	6043	6167
G 1999	06.12.66	290	480	525	585	480	450	260	160	540	1034	1018	964	955	1181	1237	2594	5430	5953	4625	4296	3071	1979
G 2030	28.12.66	265	450	510	540	630	720	730	630	515	1145	1109	996	940	948	972	2317	5839	5989	6275	6768	6920	6124
G 2031	29.12.66	250	425	470	470	500	460	440	490	418	809	800	780	791	780	705	1776	3802	3760	3900	3639	3432	3454
G 2032	29.12.66	250	420	400	380	345	340	385	400	257	618	636	591	558	498	507	1079	2472	2417	2039	1897	1917	2028
G 2034	30.12.66	280	415	400	430	470	430	415	425	568	1168	1291	1204	1186	1195	1204	2357	4672	5551	5659	5100	4959	5117
G 2035	30.12.66	280	500	540	650	610	610	450	360	378	859	834	826	859	913	980	1890	4639	5421	5039	5240	4108	3528
G 2036	02.01.67	265	375	400	475	500	415	455	540	568	1231	1219	1150	1057	1024	1019	2130	4924	5790	5750	4387	4659	5503
G 2037	03.01.67	255	340	370	380	425	380	440	440	926	1219	1177	1144	1048	1183	1024	3148	4510	4473	4862	4559	5205	4506
G 2038	03.01.67	250	355	385	400	380	330	280	205	711	1246	1213	1204	1100	1183	973	2524	4797	4852	4575	3630	3312	1995
G 2039	04.01.67	290	535	555	630	600	675	640	690	660	955	955	1006	826	880	835	3531	5300	6016	6036	5575	5632	5761
G 2042	06.01.67	265	430	415	525	525	495	450	195	360	651	903	907	944	997	1048	1548	2702	4741	4762	4673	4486	2044
Moyennes		274	476	508	547	540	520	484	439	819	981	981	961	931	967	959	2556	4867	5225	5121	4806	4613	4133

Tableau -10- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 16 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile µg/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. 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 1510	30.11.65	250	460	480	400	250	150	085	035	345	756	893	865	883	772	666	1587	3629	3572	2162	1324	656	233
G 1511	01.12.65	250	430	590	660	580	380	285	130	790	1147	1009	961	961	1028	994	3397	6767	6659	5574	3652	2930	1292
G 1515	06.12.65	260	400	465	505	535	455	330	165	850	1502	1400	1231	1147	1106	1120	3400	6984	7070	6586	5219	3650	1848
G 1523	07.12.65	260	430	515	520	450	360	255	210	889	1201	1097	943	925	959	992	3823	6185	5704	4243	3930	2445	2083
G 1538	13.12.65	250	365	560	565	590	520	520	275	462	1157	1112	1075	1003	943	962	1686	6479	6283	6342	5216	4904	2645
G 1548	15.12.65	250	375	425	445	450	450	275	165	778	1111	994	943	964	805	756	2917	4722	4423	4243	2651	1328	567
G 1550	16.12.65	250	450	490	505	510	515	435	335	788	1096	1045	959	911	883	908	3546	5370	5277	4891	4692	3841	3042
G 1560	20.12.65	250	380	440	400	270	200	065	030	961	1241	1112	1045	1109	1068	1188	3652	5460	4448	2821	2218	694	356
G 1561	21.12.65	250	390	420	440	375	380	380	390	531	923	1156	1201	1156	1091	1012	2071	3877	5086	4504	4393	4146	3947
G 1566	23.12.65	250	335	375	390	400	405	400	380	822	1114	1066	979	889	841	659	2754	4177	4157	3916	3600	3364	2504
G 2041	05.01.67	265	500	650	550	740	800	820	820	504	1359	1301	1217	1205	1165	1145	2520	8833	7155	9006	9640	9553	9389
G 2043	09.01.67	280	530	560	540	485	460	510	440	650	1189	1175	1329	1211	1157	1050	3445	6658	6345	6446	5571	5901	4620
G 2045	10.01.67	240	295	360	355	330	265	175	085	910	1513	1341	1217	1145	1135	1137	2684	5447	4760	4016	3034	1986	966
G 2046	11.01.67	240	355	390	390	335	305	255	155	708	1225	1054	1040	1060	1117	1157	2513	4777	4111	3484	3233	2848	1793
G 2056	18.01.67	285	480	580	625	555	580	550	440	552	1225	1249	1273	1193	1225	1205	2650	7105	7806	7065	6919	6737	5302
Moyennes		255	412	487	486	457	403	349	264	708	1184	1136	1085	1051	1020	997	2843	5765	5524	5020	4313	3665	2706

Tableau -11- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 24 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Débit de bile $\mu\text{l}/30\text{min.}$							B. S. P. $\text{mg}/100\text{ml}$							B. S. P. $\mu\text{g}/30\text{min.}$						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2000	07.12.66	300	495	530	530	480	420	365	345	847	1447	1493	1367	1327	1271	1319	4193	7669	7913	6562	5573	4639	4551
G 2001	08.12.66	260	525	535	575	490	420	300	170	913	1375	1213	1159	1124	1057	1193	4793	7356	6975	5679	4721	3171	2028
G 2002	09.12.66	255	560	560	525	475	315	085	015	946	1375	1271	1219	1289	1479	1109	5298	7700	6673	5790	4060	1257	166
G 2005	12.12.66	320	415	520	620	610	550	490	405	704	1327	1329	1325	1289	1285	1241	2922	6900	8240	8082	7089	6296	5026
G 2006	12.12.66	310	510	550	540	560	480	300	230	928	1489	1421	1233	1241	1237	1195	4733	8189	7673	6905	5957	3711	2748
G 2007	13.12.66	300	455	450	465	420	310	210	155	868	1479	1433	1329	1343	1333	1329	3949	6655	6663	5582	4163	2799	2060
G 2008	13.12.66	290	550	800	850	710	760	730	630	480	1379	1219	1261	1173	1145	1197	2640	11032	10361	8953	8915	8358	7541
G 2009	14.12.66	300	420	530	530	615	490	570	605	880	1557	1515	1445	1423	1433	1341	3696	8252	8029	8887	6973	8168	8113
G 2011	15.12.66	290	310	540	235	440	330	050	085	800	1465	1319	1295	1447	1117	1181	2480	7911	3100	5698	4775	5585	1004
G 2012	15.12.66	305	490	630	550	560	600	580	360	436	374	594	848	1225	1145	1078	2136	2356	3267	4749	7350	6641	3881
G 2015	20.12.66	245	380	460	490	490	380	290	145	947	1447	1205	1193	1135	1145	1193	3599	6656	5904	5846	4313	3320	1730
G 2019	21.12.66	250	410	530	500	490	390	280	140	768	1423	1225	1173	1082	1101	1193	3149	7542	6125	5748	4220	3083	1670
G 2024	23.12.66	275	450	580	660	640	510	350	220	684	1493	1329	1307	1249	1205	1101	3078	8659	8771	8365	6370	4217	2422
G 2027	26.12.66	285	460	560	650	680	690	630	530	552	1695	1609	1581	1401	1341	1161	2539	9492	10458	10751	9667	8448	6153
G 2028	27.12.66	250	450	440	400	320	195	110	040	508	1078	984	1004	1054	916	858	2286	4743	3936	3213	2055	1008	343
Moyennes		282	459	548	541	532	456	356	272	751	1360	1277	1249	1253	1214	1179	3433	7407	6939	6721	5747	4713	3296

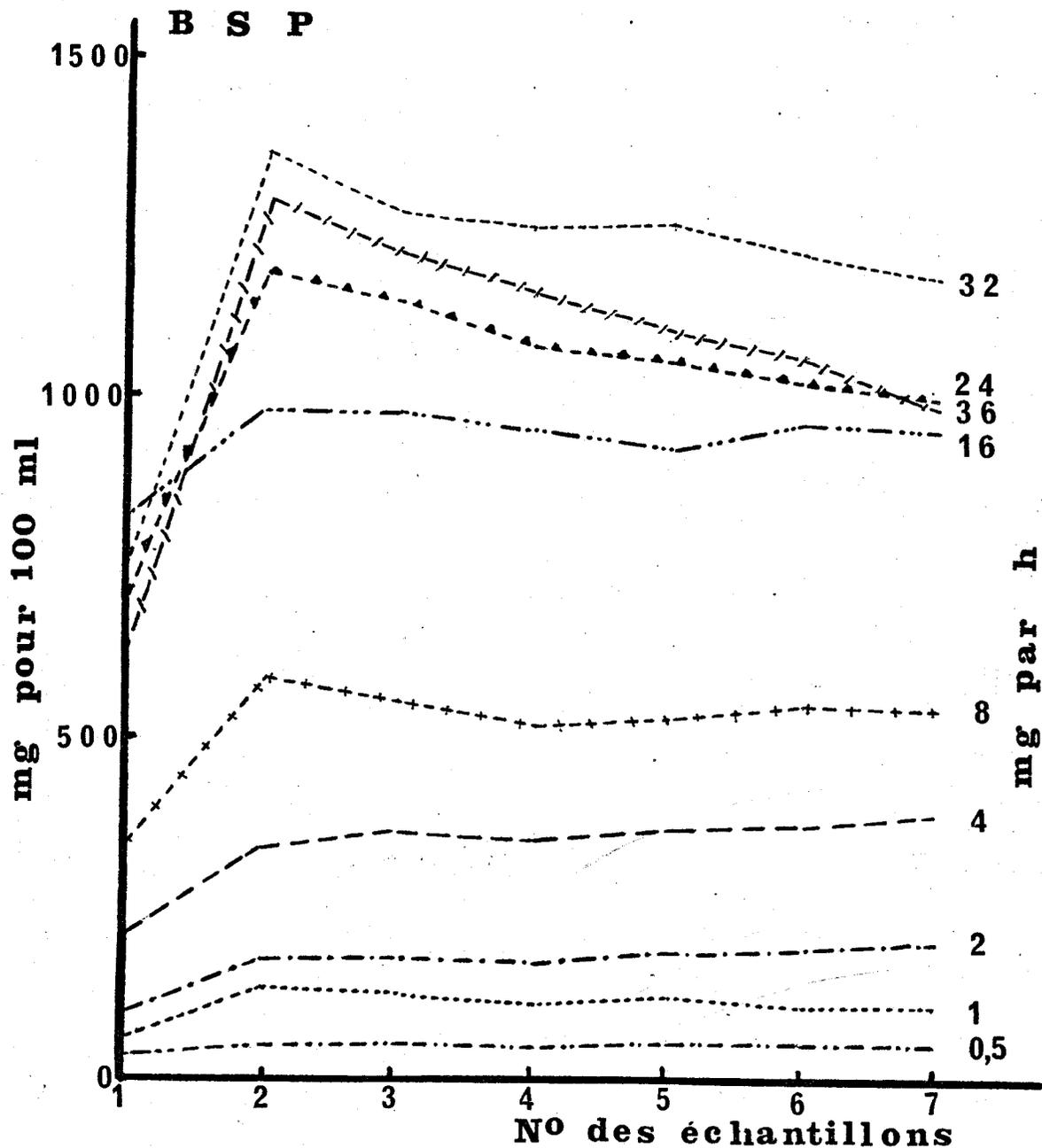
Tableau -12- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 32 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile μ l/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. 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
			G 2081	27.1.67	290	500	710	620	650	450	300	190	820	1493	1315	1401	1278	1028	878	4100	10600	8153	9106
G 2084	30.1.67	280	530	700	690	680	510	400	240	712	1168	1095	958	835	820	885	3774	8176	7555	6514	4258	3280	2124
G 2091	02.2.67	270	500	730	800	750	670	460	260	832	1386	1348	1245	1163	1100	1028	4160	10118	10784	9337	7792	5060	2673
G 2094	03.2.67	270	530	550	500	505	360	230	120	452	918	703	520	460	520	530	2396	5049	3515	2626	1656	1196	636
G 2110	13.2.67	280	580	690	750	800	750	680	550	220	913	1083	1235	1220	1185	1120	1276	6300	8122	9880	9150	8058	6160
G 2129	16.2.67	285	560	700	740	700	680	510	350	812	1411	1230	1083	1085	1073	1075	4547	9877	9102	7581	7378	5472	3762
G 2133	20.2.67	280	565	725	750	820	690	425	310	812	1656	1496	1418	1348	1260	1288	4588	12006	11220	11628	9301	5355	3993
G 2145	23.2.67	300	600	780	800	730	760	720	610	720	1551	1561	1551	1436	1296	1266	4320	12098	12488	11322	10914	9331	7723
G 2150	24.2.67	290	580	590	560	380	300	140	130	848	1633	1493	1263	1005	905	760	4918	9635	8361	4799	3015	1267	988
G 2156	27.2.67	290	385	540	565	515	440	285	115	732	1288	1245	1215	1153	1140	1095	2818	6955	7034	6257	5073	3249	1259
G 2160	28.2.67	290	355	345	330	220	090	050	030	816	1398	1200	1173	1110	945	848	2897	4823	3960	2581	999	472	254
G 2163	01.9.67	300	370	385	350	210	095	040	025	760	1281	1005	1095	1095	1518	1551	2812	4932	3517	2299	1040	607	388
G 2181	13.3.67	290	550	795	1020	1020	1100	1010	750	376	810	1271	1150	1158	1210	855	2068	6440	12954	11730	12738	12221	6413
G 2184	14.3.67	300	600	910	960	870	1025	665	385	224	963	965	820	828	713	730	1344	8763	9264	7134	8487	4741	2811
G 2194	22.3.67	260	540	630	680	600	430	340	190	456	1471	1220	1215	1240	1155	935	2462	9267	8296	7290	5332	3927	1776
Moyennes		285	516	652	674	630	557	417	284	639	1289	1215	1156	1094	1058	990	3232	8336	8289	7339	6192	4488	2842

Tableau -13- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 36 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

Figure 3 - Rat anesthésié

Concentrations biliaires de la B.S.P. totale
aux différents taux d'injection.



Au contraire, à 36 mg par heure on obtient des valeurs inférieures à celles observées pour 32 mg et même pour l'échantillon n°7 à celles obtenues avec 24 mg.

Les maxima sont observés dans la série 32 mg par heure, à savoir 1695 mg/100 ml pour les valeurs individuelles, 1360 mg/100 ml pour les valeurs moyennes.

On peut déterminer une "valeur moyenne" (tableau -14-) de la concentration dans chaque série expérimentale, à partir des résultats des échantillons 2 à 7,(1). Cette donnée est surtout représentative des faits observés lorsqu'on se limite à l'infusion de 16 mg par heure.

dose injectée mg/heure	0,5	1	2	4	8	16	24	32	36
dose injectée mg/h/kg poids moyen	1,91	3,70	7,22	14,28	28,41	58,39	94,11	113,47	126,31
Concentration biliaire moyenne mg/100ml - échan- tillons 2 à 7	53	116	183	363	546	963	1079	1255	1134
Poids moyen des animaux	262	270	277	280	272	274	255	282	285

Tableau -14-

De toute façon, il apparaît qu'il n'y a pas de relation linéaire entre la concentration biliaire moyenne d'une part et d'autre part la dose exprimée en mg par heure ou son logarithme, même lorsque l'on substitue à la dose injectée, la dose moyenne par heure rapportée au kg de poids corporel.

(1) - Calcul sur les seules concentrations sans pondération par l'intervention du débit biliaire.

DEBIT BILIAIRE DE LA B.S.P. (figure 4)

La cholérèse du rat à fistule biliaire aiguë est très stable lorsqu'aucune substance étrangère n'est injectée (variations inférieures à 10 p. 100). Au contraire, lors de l'infusion continue de B.S.P. à doses élevées, on observe de façon quasi constante un effet cholérétique marqué (tableau -15-) se traduisant par une augmentation du débit biliaire pouvant atteindre 30 p. 100 entre le premier échantillon et celui qui est le plus élevé (généralement le 2ème ou le 3ème).

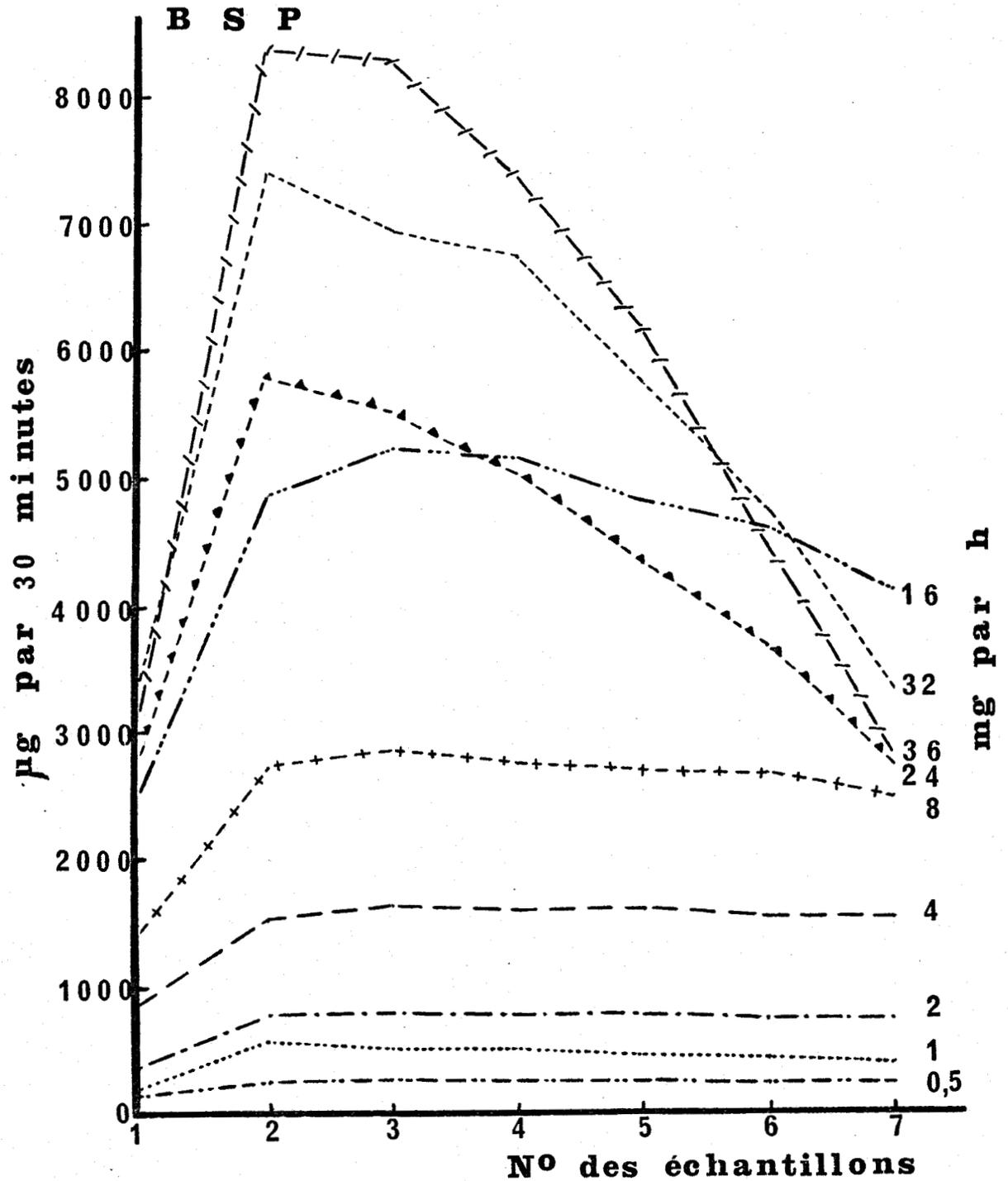
Dose mg/h	échantillon n°1 µl/30 min.	échantillon le plus élevé		p. 100 de variation
		µl/30 min.	n°	
0	359	394	4	9,75
0,5	426	477	3	11,97
1	331	434	3	31,12
2	398	447	3	12,31
4	426	458	3	7,51
8	430	537	4	24,88
16	476	547	3	14,91
24	412	487	2	18,20
32	459	548	2	19,39
36	516	674	3	30,60

Tableau -15-

Action cholérétique de la B.S.P. - Volumes biliaires en µl.

Cependant on observe que pour les doses inférieures ou égales à 4 mg par heure, le débit de la B.S.P. est pratiquement constant du 2ème au 7ème échantillon, et que pour 8 mg par heure les variations sont minimales (diminution de 8 p. 100) et peuvent être négligées.

Figure 4 - Rat anesthésié
 Débits biliaries de la B.S.P. totale
 aux différents taux d'injection.



Pour 16 mg, la courbe de débit est franchement descendante à partir du maximum (échantillon n°3); la quantité de B.S.P. contenue dans l'échantillon n°7 est inférieure de 20,8 p. 100 à celle du n°3. Cette différence est surtout due à la diminution du débit biliaire (19,7 p. 100) alors que la concentration n'est réduite que de 2 p. 100.

Le phénomène ci-dessus est encore beaucoup plus marqué avec les doses de 24, 32 et 36 mg. Dans ces trois cas, on voit les courbes s'effondrer et on aboutit à un débit d'environ 3000 µg/30 minutes, c'est-à-dire à peine supérieur à celui obtenu avec la dose 8 mg par heure, et inférieur à ce que l'on obtient avec 16 mg par heure. Ici encore, on doit incriminer au premier chef la variation de débit biliaire et très accessoirement tenir compte de la diminution de la concentration (tableau -16-).

DOSES mg/h	diminution en p. 100 $\left(\frac{\text{échantillon 2} - \text{échantillon 7}}{\text{échantillon 2}} \right)$		
	débit B.S.P.	débit biliaire	concentration B.S.P.
24	53,1	45,8	15,8
32	55,5	50,4	14,0
36	65,9	56,4	23,2

Tableau -16-

Le maximum de débit du colorant est observé dans la série 36 mg. Il est de 8336 µg par 30 minutes pour les valeurs moyennes (2eme échantillon) ce qui correspond à $\frac{8336}{30} \times \frac{1000}{285}$, soit 975 µg par minute et par kg de poids corporel. En valeurs individuelles, on obtient 12954 µg par 30 minutes (3eme échantillon G 2181) soit $\frac{12954}{30} \times \frac{1000}{290}$, soit 1489 µg par minute et par kg.

Si on détermine après 3 heures 30 d'expérience le rapport $\frac{\text{B.S.P. recueillie dans la bile}}{\text{B.S.P. injectée}}$ on retrouve la donnée bien établie déjà, à savoir que le pourcentage de récupération est d'autant plus faible que la charge veineuse est plus grande (tableau-17-).

B.S.P. injectée mg/h.	B.S.P. injectée mg/3h30	B.S.P. recueillie en 3h30 en mg	$\frac{\text{B.S.P. recueillie}}{\text{B.S.P. injectée}} \times 100$	Ys = at (t en h.)
0,5	1,75	1,54	88,0	0,06 t
1	3,5	3,0	85,7	0,14 t
2	7,0	4,9	70,0	0,60 t
4	14,0	10,2	72,9	1,09 t
8	28,0	17,5	62,5	3,00 t
16	56,0	31,3	55,9	7,06 t
24	84,0	29,7	35,4	15,52 t
32	112,0	38,3	34,2	21,06 t
36	126,0	40,7	31,5	24,37 t

Tableau -17-

L'étude graphique des débits cumulés de B.S.P. figures 5 et 6) fait apparaître que l'excrétion biliaire du colorant est à peu près proportionnelle au temps. Sur le même diagramme, la comparaison avec la dose injectée montre que la divergence entre les courbes B.S.P. infusée, B.S.P. récupérée est d'autant plus marquée que la dose injectée est plus grande, ce qui traduit une rétention somatique accrue.

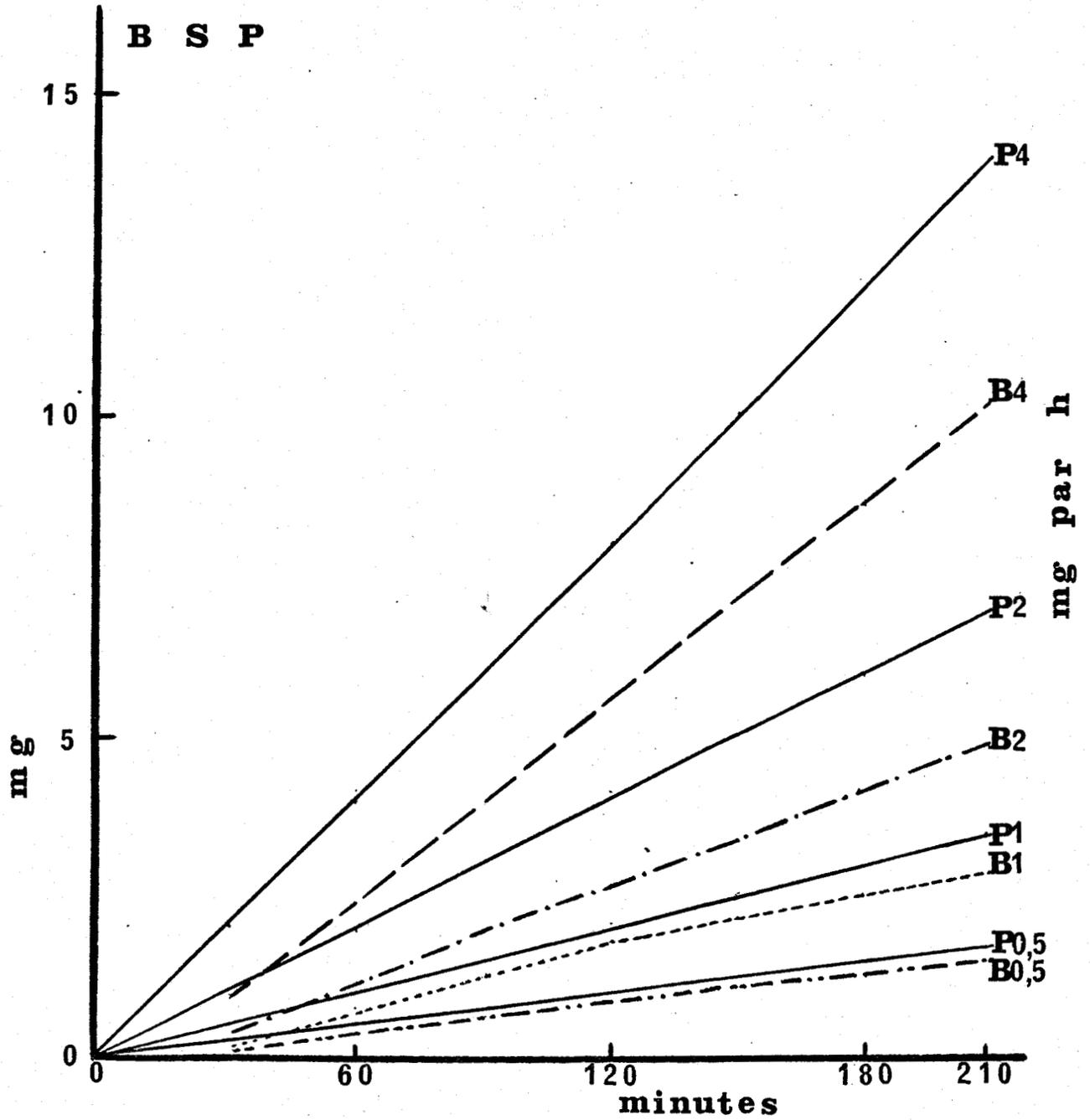
La courbe de débit biliaire de la B.S.P. peut être assimilée à une droite passant par l'origine et par le point ayant pour abscisse : 3 heures 30 et pour ordonnée : le débit cumulé à ce temps. On peut alors calculer facilement la quantité de B.S.P. retenue par l'organisme; cette quantité est également une fonction linéaire du temps.

Figure 5 - Animal anesthésié

Débits cumulés de la B.S.P. totale pour les doses 0,5 à 4 mg/heure

P : B.S.P. injectée

B : B.S.P. biliaire.



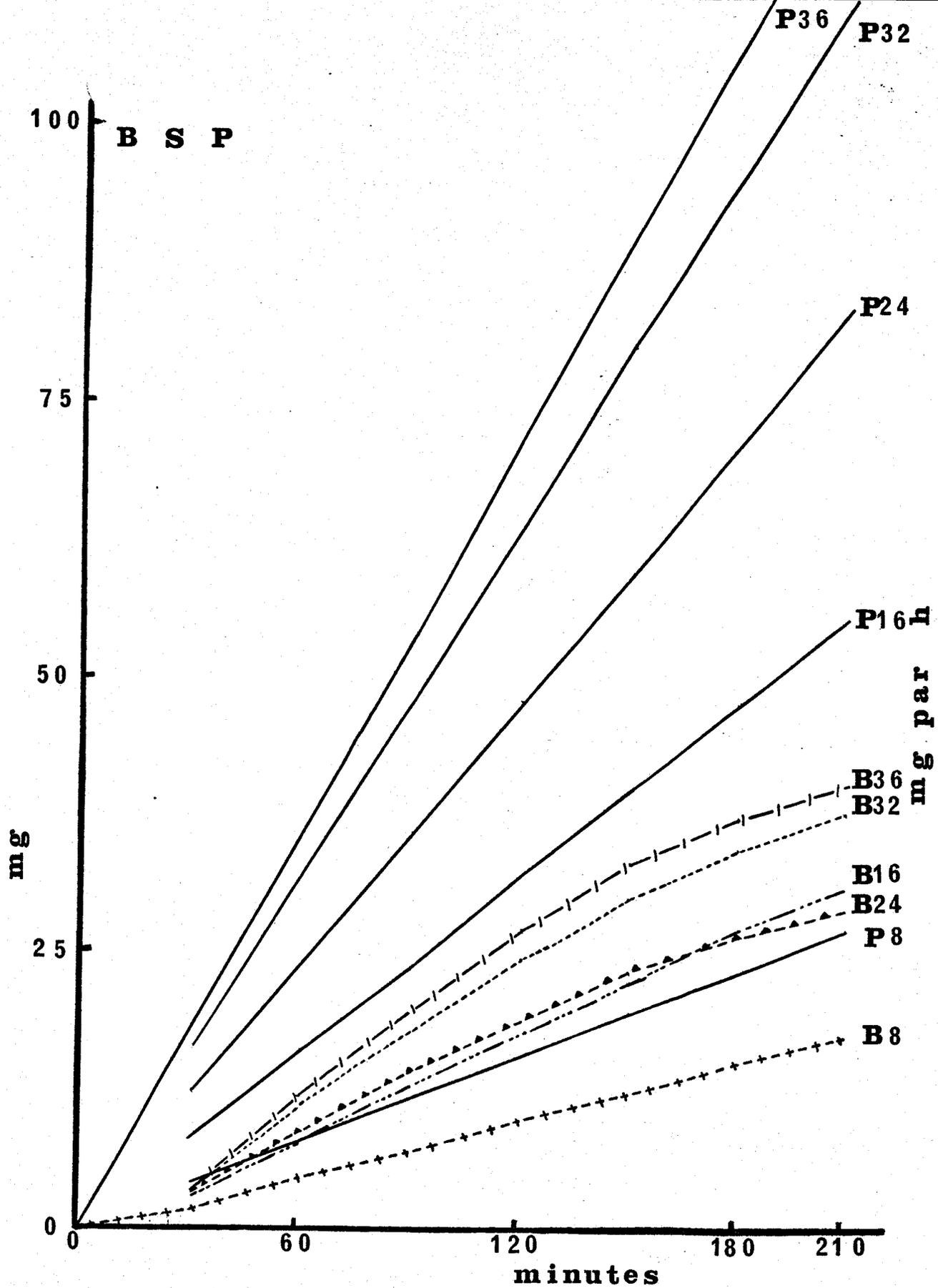


Figure 6 - Animal anesthésié

Débits cumulés de la B.S.P. totale pour les doses 8 à 36 mg/heure

P : B.S.P. injectée

B : B.S.P. biliaire.

Si on pose :

Y_i = B.S.P. injectée en mg

Y_b = B.S.P. recueillie dans la bile en mg

Y_s = B.S.P. stockée dans l'organisme

t = temps en heure

on pourra écrire pour la dose 8 mg :

$$Y_i = 8t$$

$$Y_b = \frac{17,5}{3,5} t \quad (17,5 : \text{quantité de B.S.P. récupérée en 3 heures soit : 3,5 heures})$$

$$Y_s = Y_i - Y_b = t \left(8 - \frac{17,5}{3,5} \right) = 3,00 t$$

Le tableau -17- donne les différentes valeurs pour les doses de B.S.P. comprises entre 0,5 et 36 mg.

Il n'existe pas de relation simple entre la dose injectée (ou son logarithme) et a (ou son logarithme).

Enfin, si l'on recherche la relation entre l'apparition des troubles et les différentes doses de B.S.P., on peut noter que : les débits biliaires du colorant ne sont nettement altérés et de façon très superposables que pour les doses de 24, 32 et 36 mg par heure. Dans les trois cas, la diminution franche du débit apparaît après deux heures d'expérience soit lorsque la B.S.P. injectée est respectivement de 48,64 et 72 mg, ce qui correspond à des rétentions de 30 à 49 mg.

DEBIT BILIAIRE

Les variations du débit biliaire au cours de l'infusion continue de la B.S.P. apparaissent donc comme le facteur essentiel de contrôle du débit biliaire maxima du colorant. Le tableau -18- et les figures 7 et 8 objectivent très nettement les faits constatés. Graphiquement, il apparaît que les courbes sont franchement descendantes pour les trois plus fortes doses de colorant (24,32 et 36 mg par heure) et le calcul permet de préciser que

les débits liquidiens sont alors effondrés, échantillon n°7 ne représentant que 54 à 42 p. 100 de l'échantillon le plus élevé, 64 à 55 p. 100 de l'échantillon n°1 ; pour ces doses, on constate que la réduction de la phase liquide est d'autant plus marquée que le colorant est administré en plus grande quantité. Au contraire, pour les doses inférieures ou égales à 16 mg par heure, la diminution du débit liquidien reste inférieure à 20 p. 100 du débit maximum et à 10 p. 100 de l'échantillon n°1.

Tout se passe comme si "un effet toxique" se manifestait lorsque la rétention de B.S.P. atteignait un certain seuil. Si on note que la diminution des débits de bile est nette à partir du 5eme échantillon (pour les doses de 24 à 36 mg par heure) soit après deux heures d'infusion continue, ce seuil peut être situé aux environs de 30 mg. On remarquera qu'une telle rétention n'est pas obtenue en fin d'expérience avec la dose 16 mg (elle n'est alors que d'environ 25 mg).

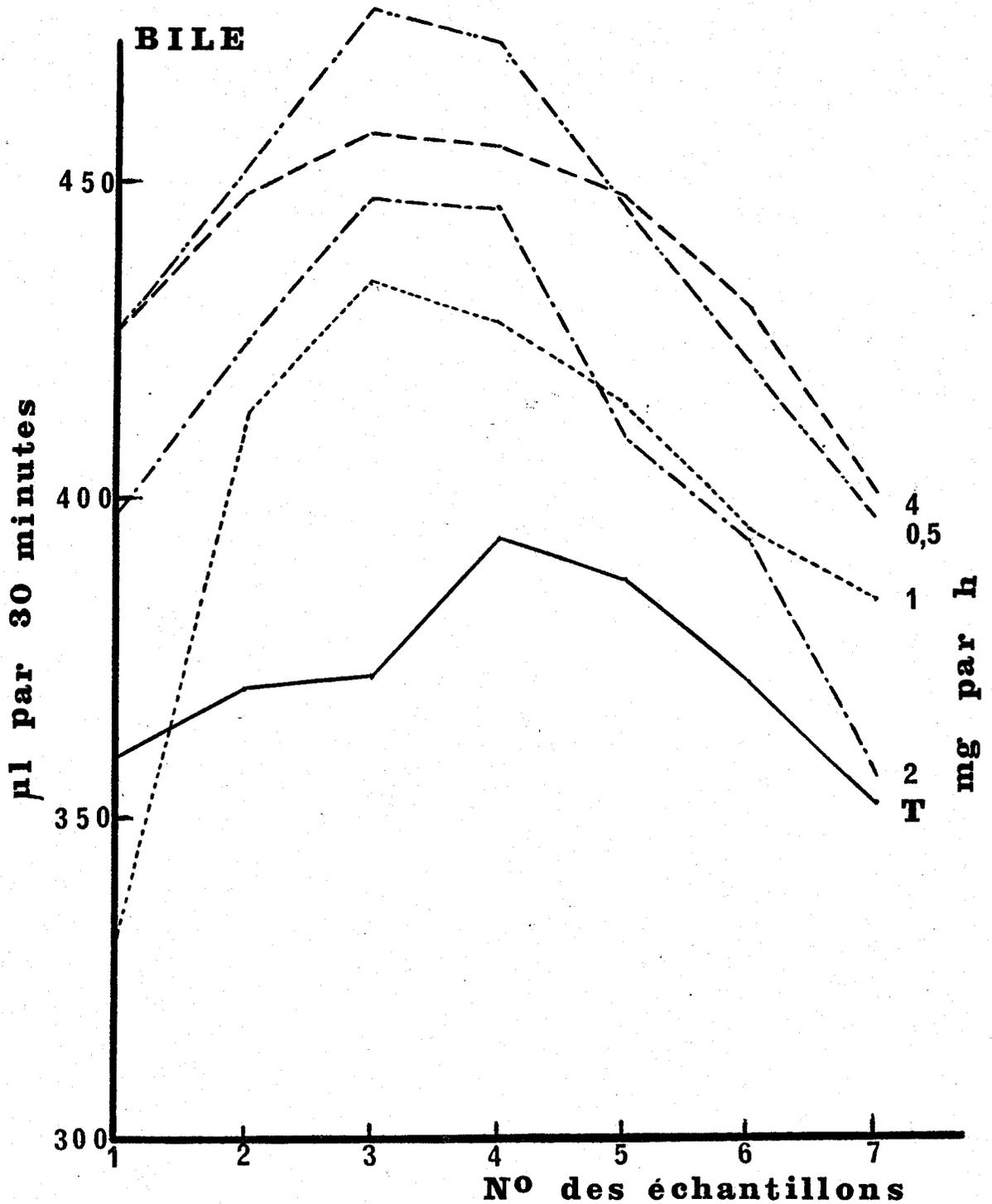
La recherche de la cause de cet "effet toxique" est complexe car de nombreux facteurs peuvent intervenir : toxicité de la B.S.P. vis-à-vis des grandes fonctions cardiaque ou respiratoire, altération du parenchyme hépatique, manque de glutathion ou d'enzyme de conjugaison. Les chapitres suivants tentent de préciser cet aspect du problème mais on notera déjà que lors des injections à très fortes doses (36 mg par heure), la mortalité est très importante : pour obtenir 15 animaux vivants en fin d'expérience, il a fallu réaliser 30 essais.

Figure 7 - Animal anesthésié

Débits biliaries pour les doses 0,5 à 4 mg/heure de B.S.P.

T : témoins (dose 0 mg/heure)

Courbe établie à partir de 30 rats.



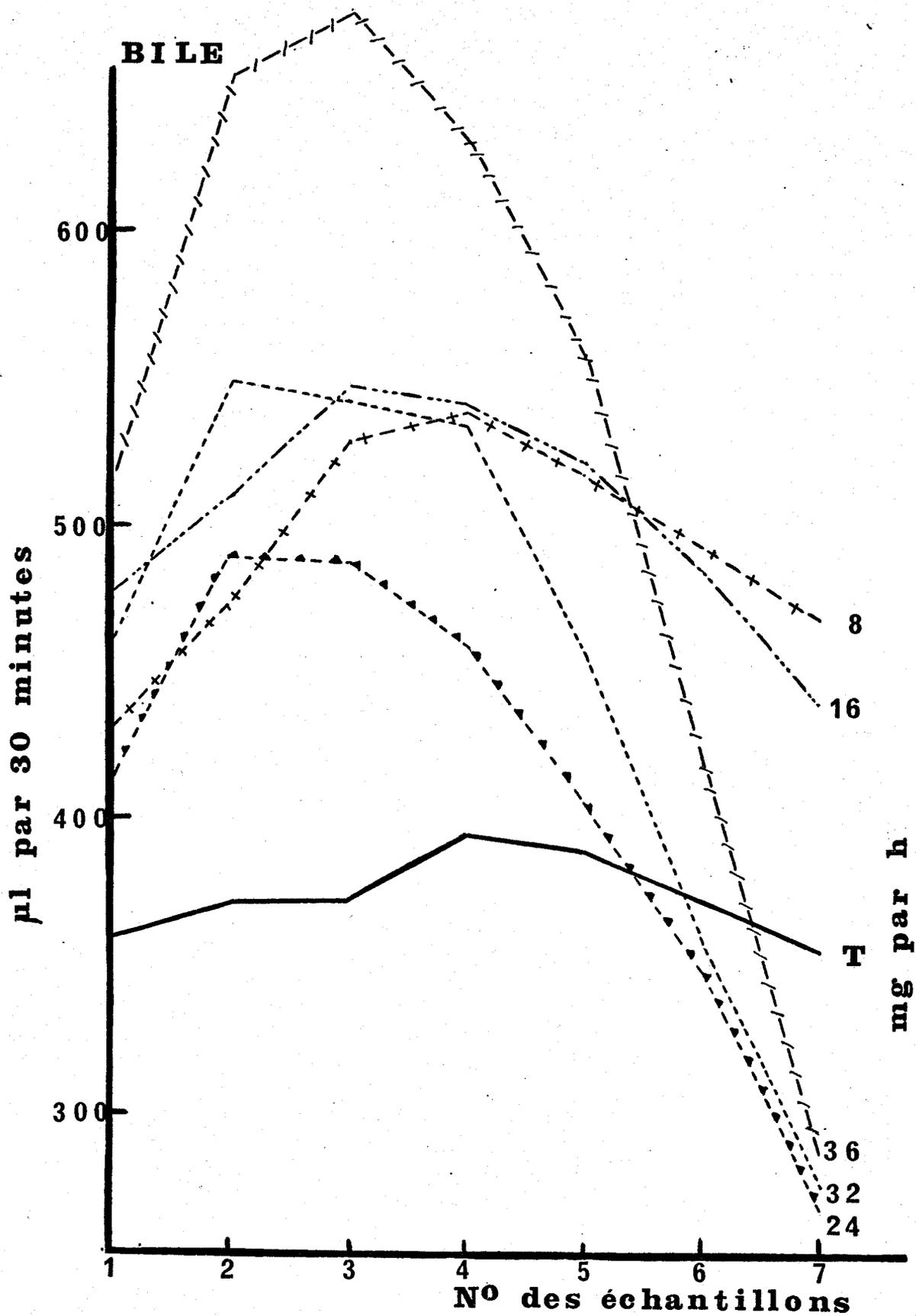


Figure 8 - Animal anesthésié

Débits biliaries pour les doses 8 à 36 mg/heure de B.S.P.

Dose mg/h	échantillon n°1 µl/30min.	échantillon le plus élevé		échantillon n°7 µl/30min.	diminution en p. 100 du n°7 par rapport	
		µl par 30min.	n°		au n°1	au plus élevé
0	359	394	4	353	2,0	10,4
0,5	426	477	3	398	6,6	16,6
1	331	434	3	385	16,3*	11,3
2	398	447	3	357	10,3	20,1
4	426	458	3	401	5,9	12,4
8	430	537	4	466	8,4*	13,2
16	476	547	3	439	7,8	19,7
24	412	487	2	264	35,9	45,8
32	459	548	2	272	40,7	50,4
36	516	674	3	284	45,0	57,9

Tableau -18-

Diminution de la cholérèse par la B.S.P.

* ces chiffres sont des augmentations

-II- EXPERIMENTATION SUR FOIE PERFUSE

Dans cette expérimentation la Brome Sulfone Phtaléine est injectée de façon continue dans le réservoir inférieur (oxygénéateur) de l'appareil à des taux variables compris entre 4 et 24 mg par heure et par perfusion. Dans tous les cas, la dose injectée correspond à un volume de 1,2 ml par heure. Le poids moyen des rats donneurs de foie est de 431 grammes et celui des foies de 12,1 grammes.

Chaque série expérimentale comporte 15 perfusions. Les résultats individuels et les moyennes calculées (volume biliaire, concentration et débit de B.S.P. par 30 minutes) sont fournis dans les tableaux -20 à 25-; les figures 9 à 12 reprennent les valeurs moyennes ci-dessus.

CONCENTRATION BILIAIRE DE LA B.S.P. (figure 9)

Le colorant est rapidement excrété par la voie biliaire, mais la stabilisation du niveau de concentration est difficilement obtenue, contrairement à ce qui se passe chez l'animal anesthésié. D'une façon générale, les concentrations augmentent rapidement jusqu'au 3ème échantillon inclus, puis la pente de la courbe diminue nettement.

Pour 4 et 6 mg par heure, la courbe est ascendante sur toute sa longueur ; pour 8 mg, les trois derniers échantillons sont pratiquement au même niveau. Aux doses supérieures, une descente s'amorce, après le 5ème échantillon pour 12 mg, après le 4ème pour 16 et 24 mg.

Les diminutions de concentration sont d'autant plus marquées que la dose injectée est plus forte (Tableau -19-).

Dose mg/h	Echantillon le plus élevé mg/100 ml (1)	7ème échantillon	% de baisse
12	1298 (5)	1210	6,78
16	1638 (4)	1458	10,98
24	1531 (4)	1162	24,10

Tableau -19- (1) entre parenthèses : n° d'ordre de l'échantillon.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile $\mu\text{l}/30\text{min.}$							B. S. P. $\text{mg}/100.\text{ml}$							B. S. P. $\mu\text{g}/30\text{min.}$						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
			R 938	08.11.65	380	150	135	155	145	145	115	95	3	173	556	727	759	746	744	4	234	862	1054
R 939	09.11.65	380	275	310	300	250	200	160	100	22	241	381	454	569	502	617	60	747	1143	1135	1138	803	617
R 940	10.11.65	400	180	190	180	165	150	125	105	2	240	506	669	729	783	846	4	456	911	1104	1093	979	888
R 941	11.11.65	395	160	175	180	185	185	185	180	19	155	431	615	615	603	608	30	271	776	1138	1138	1116	1094
R 945	22.11.65	350	240	260	245	230	220	195	175	4	356	600	642	650	690	675	10	926	1470	1477	1430	1345	1181
R 946	23.11.65	300	140	165	175	160	160	165	150	5	241	588	650	659	687	698	7	398	1029	1040	1054	1134	1047
R 947	24.11.65	360	190	230	240	235	230	195	170	2	233	600	699	738	744	762	4	536	1440	1643	1697	1451	1295
R 948	25.11.65	310	325	280	280	275	250	220	195	20	243	449	615	666	699	659	65	680	1257	1691	1665	1538	1285
R 949	26.11.65	325	360	335	310	300	280	240	210	11	243	402	531	579	621	653	40	814	1246	1593	1621	1490	1371
R 950	29.11.65	325	160	185	165	160	155	140	130	11	325	608	762	793	841	859	18	601	1003	1219	1229	1177	1118
R 1155	07.03.67	490	180	200	205	200	190	165	135	9	212	688	600	686	668	688	16	424	1410	1200	1303	1102	929
R 1156	08.03.67	430	200	190	205	205	190	145	110	5	284	509	678	800	789	835	10	540	1043	1390	1520	1144	752
R 1158	10.03.67	400	175	180	200	195	170	130	125	14	340	668	812	892	984	1068	24	612	1336	1583	1516	1279	1335
R 1159	14.03.67	500	245	250	250	235	230	200	165	20	190	396	536	642	678	676	49	475	990	1260	1477	1356	1115
R 1160	16.03.67	470	150	230	240	230	225	210	195	6	194	534	684	792	836	812	9	446	1282	1573	1782	1756	1583
Moyennes		388	209	221	222	211	199	173	149	10	245	528	645	705	725	747	23	544	1146	1340	1384	1235	1088

Tableau 20 - Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 4 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile μ l/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. μ g/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 974	11.1.66	400	240	195	155	130	80	55	45	16	234	608	827	892	910	829	38	456	942	1075	714	500	373
R 975	12.1.66	475	240	210	220	205	190	165	165	36	402	838	964	1027	1090	1099	86	844	1844	1976	1951	1798	1813
R 976	13.1.66	390	190	165	165	165	110	80	75	29	520	1153	1229	1358	1358	1282	55	858	1902	2028	1494	1086	961
R 977	17.1.66	500	295	290	265	255	205	180	150	36	466	778	845	940	991	794	106	1351	2062	2155	1927	1784	1191
R 979	19.1.66	450	270	260	280	280	260	220	190	25	410	675	684	717	769	803	67	1066	1890	1915	1864	1692	1526
R 980	20.1.66	420	220	220	220	230	200	200	170	23	406	768	881	958	1025	1025	51	893	1690	2026	1916	2050	1742
R 981	24.1.66	365	250	235	235	225	210	190	165	19	457	752	838	889	895	907	47	1074	1767	1885	1867	1700	1497
R 982	25.1.66	470	225	290	310	315	280	265	240	-	315	711	772	862	880	916	-	913	2204	2432	2414	2332	2198
R 984	27.1.66	360	110	140	195	215	210	200	175	10	216	1027	1262	1282	1261	1279	11	302	2003	2713	2692	2522	2238
R 985	28.1.66	390	150	170	185	185	175	160	130	18	482	1144	1300	1301	1243	1153	27	819	2116	2405	2277	1989	1499
R 1128	18.1.67	460	240	280	300	270	240	215	170	39	441	750	747	862	982	943	94	1235	2250	2017	2069	2111	1603
R 1129	19.1.67	500	275	310	320	300	250	235	225	60	543	792	832	865	961	1013	165	1683	2534	2496	2162	2258	2279
R 1131	24.1.67	470	240	260	265	270	240	225	195	45	566	884	968	1000	1016	1085	108	1472	2343	2614	2400	2286	2116
R 1135	30.1.67	490	230	260	260	245	225	205	180	34	428	767	895	931	994	1019	78	1113	1994	2193	2095	2038	1834
R 1136	01.2.67	500	185	215	235	210	190	150	95	27	489	862	991	1048	1015	997	50	1051	2026	2081	1991	1522	947
Moyennes		443	224	233	241	233	204	183	158	28	424	834	935	996	1026	1010	66	1009	1971	2134	1989	1844	1588

Tableau -21 - Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 6 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile µl/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. µg/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 929	30.10.65	400	220	235	255	255	245	230	215	20	372	838	925	1042	976	961	44	874	2137	2359	2553	2245	2066
R 930	31.10.65	395	320	285	300	275	260	230	220	30	345	642	735	750	801	825	96	983	1926	2021	1950	1842	1815
R 931	01.11.65	400	190	185	195	155	160	150	130	36	369	967	943	1096	994	907	68	683	1886	1462	1754	1491	1179
R 932	02.11.65	420	165	175	185	185	200	190	175	15	463	1267	1507	1582	1609	1651	25	810	2344	2788	3164	3057	2889
R 933	03.11.65	400	165	205	220	190	185	150	130	18	344	1003	1165	1096	1045	967	30	705	2207	2213	2028	1567	1257
R 952	01.12.65	340	170	150	200	205	195	170	135	16	350	711	1028	1019	1096	1096	27	525	1422	2107	1987	1823	1480
R 953	02.12.65	300	200	225	200	180	160	160	140	14	300	615	744	801	708	708	28	675	1230	1339	1194	1282	991
R 954	03.12.65	290	200	180	225	255	240	230	220	49	512	967	1112	1114	1111	1064	98	922	2176	2836	2674	2555	2341
R 986	01.02.66	425	200	190	170	160	140	120	105	07	304	937	1147	1196	1196	1123	14	578	1593	1835	1674	1435	1179
R 987	02.02.66	420	245	230	210	145	095	085	100	24	424	919	1021	1013	986	887	59	975	1930	1480	962	838	887
R 1118	04.01.67	470	265	260	270	270	260	245	225	41	598	831	1024	1144	1162	1171	109	1555	2244	2765	2974	2847	2635
R 1119	05.01.67	440	235	215	220	215	200	125	50	28	309	1066	1219	1255	1264	1488	66	664	2345	2621	2510	1580	744
R 1149	24.02.67	430	240	275	280	275	270	235	185	30	440	860	1078	1225	1241	1069	72	1210	2408	2964	3307	2916	1978
R 1152	01.03.67	570	255	265	270	265	255	220	190	51	717	1205	1365	1557	1533	1557	130	1900	3253	3617	3970	3373	2958
R 1153	02.03.67	540	275	265	260	240	230	210	185	51	688	1217	1373	1461	1533	1467	140	1823	3164	3295	3360	3219	2714
Moyennes		416	223	223	231	218	206	183	160	29	435	937	1093	1153	1156	1129	67	992	2151	2380	2404	2138	1807

Tableau -22- Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 8 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile $\mu\text{l}/30\text{min.}$							B. S. P. $\text{mg}/100\text{ml}$							B. S. P. $\mu\text{g}/30\text{min.}$						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
			R 955	07.12.65	325	255	285	325	335	320	310	270	054	720	1112	1070	1063	922	1082	138	205	3614	3584
R 956	08.12.65	320	380	425	405	370	330	280	255	110	758	985	1072	1123	1192	1204	418	3221	3989	3966	3706	3338	3070
R 957	09.12.65	350	315	345	385	365	320	270	255	095	980	1223	1264	1301	1487	1565	299	3381	4708	4614	4163	4015	3991
R 958	10.12.65	320	155	245	290	265	275	250	225	-	504	1123	1288	1387	1352	1343	-	1235	3257	3413	3814	3380	3022
R 959	13.12.65	320	305	275	305	305	285	270	230	073	759	1096	1234	1333	1420	1280	233	2087	3343	3764	3799	3834	2944
R 960	14.12.65	385	295	315	320	315	280	235	205	068	695	1174	1369	1412	1454	1288	201	2189	3757	4312	3954	3417	2640
R 963	21.12.65	440	185	270	275	260	245	195	145	028	572	967	997	1012	943	874	052	1544	2659	2592	2479	1839	1267
R 964	22.12.65	420	305	355	370	355	320	270	190	050	584	961	1117	1183	1207	1117	152	2073	3556	3965	3786	3259	2122
R 972	06.01.66	350	180	215	230	215	200	175	135	018	976	1420	1411	1369	1267	1156	032	2098	3266	3034	2738	2217	1561
R 973	10.01.66	520	250	265	245	195	115	070	075	054	773	1276	1352	1228	967	810	135	2048	3126	2636	1412	677	607
R 1161	17.03.67	460	285	295	300	275	255	225	200	063	720	1235	1297	1375	1427	1305	179	2124	3705	3567	3506	3211	2610
R 1162	21.03.67	420	205	225	230	210	185	120	060	030	684	1173	1257	1225	1125	928	061	1539	2698	2640	2266	1350	557
R 1164	23.03.67	550	265	310	315	300	285	260	220	024	696	1359	1513	1617	1695	1649	064	2158	4281	4539	4608	4407	3628
R 1165	24.03.67	430	250	320	345	320	280	205	125	054	712	1153	1215	1188	1102	860	135	2278	3978	3888	3326	2259	1075
R 1166	31.03.67	420	240	245	275	280	260	250	225	039	764	1415	1721	1649	1721	1685	094	1872	3891	4819	4287	4302	3791
Moyennes			258	293	308	291	264	226	188	054	726	1178	1278	1298	1285	1210	156	2003	3588	3689	3416	2957	2387

Tableau -23- Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 12 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile $\mu\text{l}/30\text{min.}$							B. S. P. $\text{mg}/100\text{ml}$							B. S. P. $\mu\text{g}/30\text{min.}$						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 1167	10. 4. 67	550	285	290	325	315	280	235	200	107	1166	1573	1676	1536	1656	1571	305	3381	5112	5279	4300	3892	3142
R 1168	11. 4. 67	460	230	280	285	265	225	180	145	92	855	1300	1348	1371	1163	1013	212	2394	3705	3572	3085	2093	1469
R 1169	13. 4. 67	565	225	250	305	320	285	260	235	49	703	1526	1656	1656	1716	1688	110	1757	4654	5299	4720	4462	3967
R 1170	24. 4. 67	500	240	240	205	240	140	150	110	33	705	1275	1551	1651	1576	1551	79	1692	2614	3722	2311	2364	1706
R 1171	25. 4. 67	520	290	280	285	305	295	285	280	146	828	1441	1621	1603	1603	1496	423	2318	4107	4944	4729	4568	4189
R 1172	26. 4. 67	460	210	255	235	250	220	170	105	68	950	1518	1648	1611	1441	1260	143	2422	3567	4120	3544	2450	1323
R 1173	27. 4. 67	420	240	285	230	195	210	155	70	78	990	1466	1576	1506	1386	1310	187	2822	3372	3073	2334	970	262
R 1175	09. 5. 67	355	200	230	245	210	195	155	120	51	793	1366	1493	1521	1316	1145	102	1824	3347	3135	2966	2040	1374
R 1176	10. 5. 67	420	210	230	230	245	205	180	160	99	915	1631	1691	1618	1551	1506	208	2104	3751	4143	3560	2947	2410
R 1178	12. 5. 67	420	215	215	220	205	205	180	155	89	1028	1648	1811	1778	1691	1631	191	2210	3626	3713	3200	2621	1876
R 1179	16. 5. 67	485	235	280	285	255	225	185	150	48	900	1335	1361	1100	1103	975	113	2520	3805	3470	2420	2151	1462
R 1180	18. 5. 67	460	225	225	225	225	225	185	115	92	970	1833	1886	1856	1863	1743	207	2182	4124	4243	3434	2701	2004
R 1182	22. 5. 67	475	255	320	310	290	265	235	220	92	983	1486	1748	1726	1721	1726	235	3146	4607	5069	4574	4044	3797
R 1183	23. 5. 67	440	200	200	200	185	145	110	80	84	790	1458	1641	1656	1691	1468	168	1580	2916	3036	2401	1860	1174
R 1184	24. 5. 67	450	175	220	225	225	205	170	140	50	853	1613	1863	1926	1876	1791	87	1877	3629	4192	3948	3189	2507
Moyennes		465	229	253	254	249	214	180	146	79	895	1498	1638	1608	1557	1458	185	2282	3796	4067	3435	2823	2177

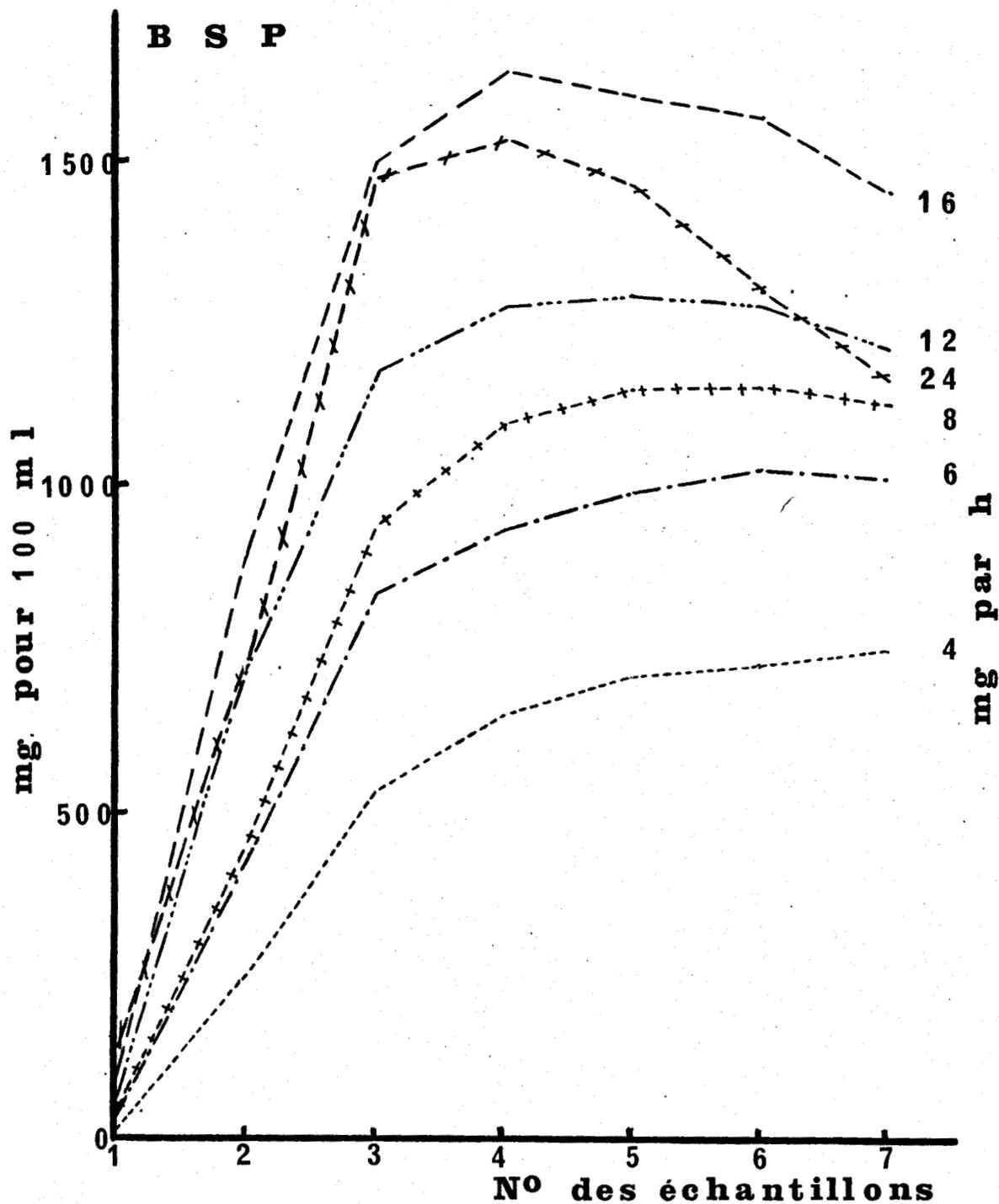
Tableau -24- Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 16 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile $\mu\text{L}/30\text{min.}$							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. $\mu\text{g}/30\text{min.}$						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 1186	29.5.67	450	265	270	320	325	280	230	185	31	810	1726	1863	1863	1806	1691	82	2187	5523	6055	5216	4154	3128
R 1187	30.5.67	410	220	260	265	260	215	150	100	68	860	1493	1613	1616	1481	1250	150	2236	3956	4194	3474	2221	1250
R 1188	31.5.67	480	200	245	270	260	200	140	90	25	970	1763	1811	1721	1498	1315	50	2376	4760	4709	3442	2097	1183
R 1189	01.6.67	420	150	230	210	195	165	125	75	15	923	1485	1558	1551	1386	1215	22	2123	3118	3038	2559	1732	911
R 1191	06.6.67	495	260	330	315	285	240	185	105	206	970	1275	1375	1390	1233	1050	536	3201	4016	3919	3336	2281	1102
R 1192	07.6.67	450	190	235	230	200	160	110	35	60	945	1318	1165	1010	845	718	114	2221	3031	2330	1616	929	2513
R 1193	08.6.67	540	220	280	300	285	250	180	120	131	1150	1613	1618	1521	1338	1180	288	3220	4839	4611	3802	2408	1416
R 1194	12.6.67	450	165	230	250	240	210	170	100	59	795	1425	1558	1493	1235	1190	97	1828	3562	3739	3135	2099	1190
R 1196	14.6.67	500	260	280	310	285	225	170	90	113	1075	1741	1858	1811	1631	1421	294	3010	5397	5295	4075	2773	1279
R 1197	15.6.67	540	200	230	255	245	200	185	80	621	738	1461	1446	1351	1170	1048	1242	1697	3725	3543	2702	2164	838
R 1199	19.6.67	455	170	205	225	210	165	125	70	168	550	1200	1275	1203	1068	1060	285	1127	2700	2677	1985	1335	742
R 1201	22.6.67	520	200	270	260	230	180	130	80	100	840	1190	1215	1130	1000	865	200	2268	3094	2794	2034	1300	692
R 1202	23.6.67	455	220	250	255	220	190	180	80	42	1010	1571	1631	1516	1275	1060	92	2525	4006	3588	2884	2295	848
R 1203	26.6.67	470	175	245	245	200	120	60	25	154	855	1255	1155	965	790	820	269	2095	3075	2310	1158	474	205
R 1204	27.6.67	440	185	240	260	250	220	170	110	56	885	1631	1821	1791	1706	1546	104	2124	4241	4552	3940	2900	1701
Moyennes		472	205	253	265	246	201	154	90	123	892	1476	1531	1462	1297	1162	268	2282	3936	3824	3024	2077	1267

Tableau -25- Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 24 mg par heure
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

Figure 9 - Foie perfusé

Concentrations biliaires de la B.S.P. totale
aux différents taux d'injection.



Pour les doses 4 à 16 mg inclus, les concentrations biliaires de la B.S.P. pour un échantillon de même chronologie, sont d'autant plus élevées que la dose est plus forte. Au contraire, à 24 mg par heure, les concentrations moyennes sont toujours inférieures à celles obtenues avec 16 mg et même pour le 7ème échantillon à celle de la dose 12 mg. Ce phénomène avait déjà été observé (pour des valeurs différentes des injections de colorant) sur l'animal anesthésié.

Les maxima sont trouvés dans la série 16 mg par heure, à savoir 1886 mg par 100 ml pour les valeurs individuelles, 1638 mg par 100 ml pour les valeurs moyennes.

L'absence de plateau net pour la plupart des doses ne permet pas de retenir la notion de concentration moyenne que nous avons utilisé pour les animaux anesthésiés.

DEBIT BILIAIRE DE LA B.S.P. (figure 10)

Le débit biliaire du foie de rat perfusé est beaucoup moins stable que celui de l'animal anesthésié, à fistule cholédocienne. Cependant son évolution, dans nos conditions expérimentales, est bien connue : la cholérèse est pratiquement constante pendant les deux premières heures de l'expérience, puis diminue progressivement. Sur 27 perfusions témoins, l'échantillon n°7 (209 µl) représente 86,4 p. 100 du n°1 et 83,6 p. 100 de l'échantillon le plus élevé (n°3).

Lors de l'infusion continue de B.S.P. on retrouve l'action cholérétique mentionnée sur animal anesthésié. Cet effet est net pour les doses égales ou supérieures à 12 mg (tableau -26-).

Dose mg/h	échant. n°1 µl/30min.	échantillon le plus élevé		% de variation
		µl/30min.	n°	
0	242	250	3	3,3
4	209	222	3	6,2
6	224	241	3	7,6
8	223	231	3	8,1
12	258	308	3	19,4
16	229	254	3	10,9
24	205	265	3	32,2

Tableau -26-

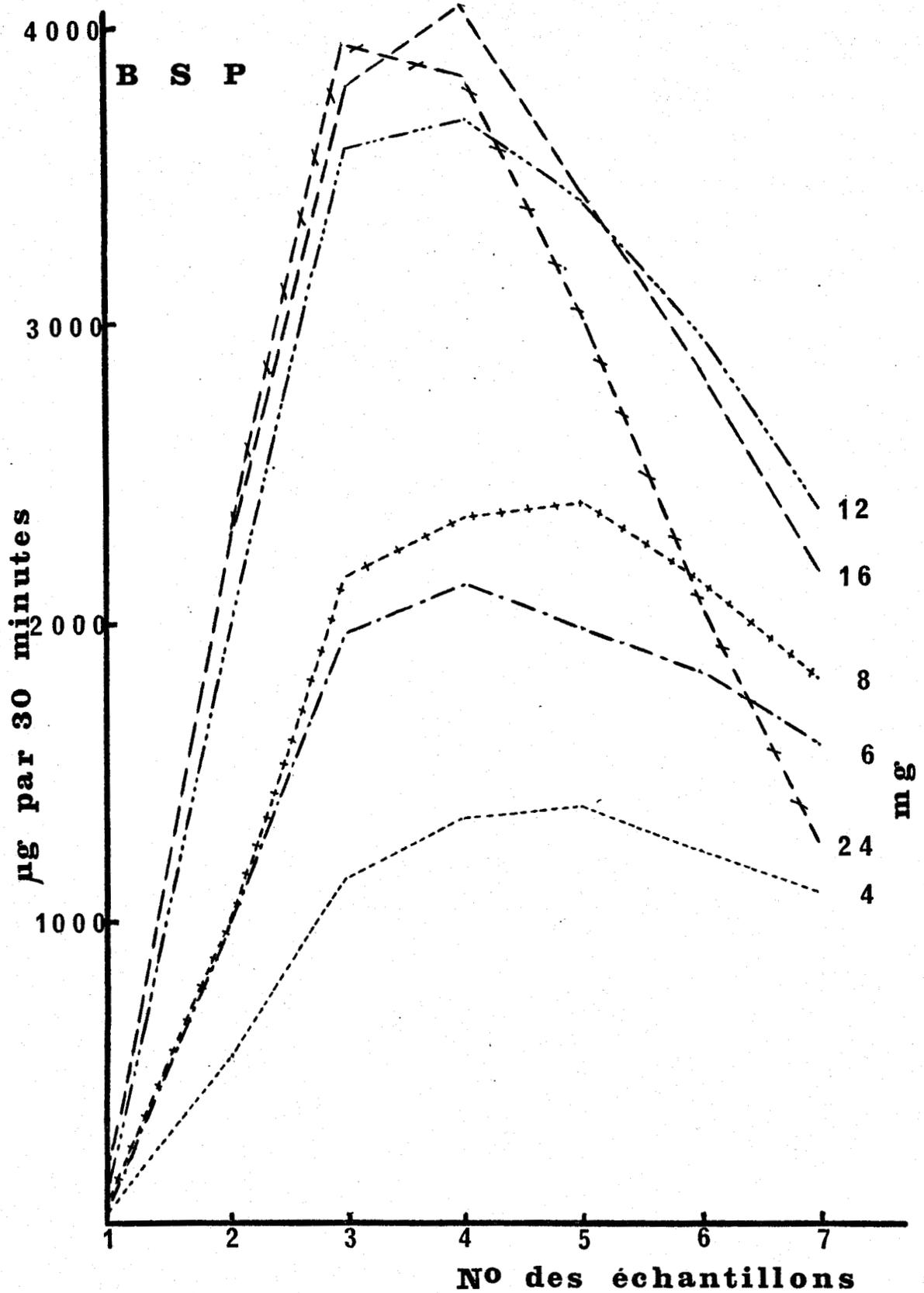


Figure 10 - Foie perfusé
 Débits biliaries de la B.S.P. totale aux différents taux
 d' injection.

De toute façon, on note que les débits du colorant par le foie perfusé sont nettement plus faibles (environ la moitié) que ceux de l'animal anesthésié. Le maximum observé est de 4067 µg par 30 minutes pour les valeurs moyennes (échantillon n°4 - dose 16 mg par heure), de 6055 µg par 30 minutes pour les valeurs individuelles (échantillon n°4 - dose 24 mg par heure - R 1186).

Pour les doses 6 et 8 mg par heure, le débit biliaire du colorant augmente jusqu'au 5eme échantillon, puis diminue légèrement jusqu'à la fin de l'expérience. Le débit moyen du 7eme échantillon est inférieur de 5,1 à 19,4 p. 100 au débit du n°3, de 21,4 à 25,6 p. 100 au débit de l'échantillon le plus élevé.

Pour les doses supérieures, ces pourcentages augmentent rapidement en même temps que la quantité de B.S.P. infusée. On a respectivement, pour 12 mg : 33,5 et 35,3 p. 100, pour 16 mg : 42,7 et 46,5 p. 100, pour 24 mg : 67,8 et 67,8 p. 100.

Dose mg/h	échant. n°3 µg/30min	débit maximum		échant. n°7 µg/30min.	diminution du n°7 en p. 100 par rapport au	
		µg/30min.	n° échant		n°3	+ élevé
4	1146	1384	5	1088	5,1	21,4
6	1971	2134	4	1588	19,4	25,6
8	2151	2404	5	1807	16,0	24,8
12	3588	3589	4	2387	33,5	35,3
16	3796	4067	4	2177	42,7	46,5
24	3936	3936	3	1267	67,8	67,8

Tableau -27-

Ces modifications entraînent au niveau des débits cumulés une baisse progressive des pourcentages $\frac{\text{B.S.P. excrétée}}{\text{B.S.P. injectée}}$, comme cela avait déjà été observé sur animal anesthésié (tableau -28-).

BSP injectée mg/h	BSP injectée mg/3h30	BSP recueillie mg/3h30	$\frac{\text{BSP recueillie}}{\text{BSP injectée}} \times 100$
4	14	6,8	48,6
6	21	10,6	50,5
8	28	11,9	42,5
12	42	18,2	43,3
16	56	18,8	33,6
24	84	16,7	19,9

Tableau -28-

Les variations observées sont donc beaucoup plus marquées que dans les essais sur animal anesthésié, bien que l'on ne puisse pas comparer les résultats dose à dose en raison des conditions expérimentales très différentes dans les deux cas.

L'étude graphique des débits cumulés de la B.S.P. (*figure 11*) montre que pour les doses inférieures à 24 mg, l'excrétion biliaire du colorant est à peu près proportionnelle au temps ; mais les faibles concentrations des premiers échantillons ne permettent pas de considérer que ces droites passent par l'origine et par conséquent empêchent le calcul de la rétention en fonction du temps.

DEBIT BILIAIRE (*figure 12*)

Les débits biliaires du colorant sont beaucoup plus modifiés en fonction du temps que les concentrations de la B.S.P. L'influence des variations du débit biliaire apparaît donc comme étant prépondérante (tableau -29-).

Nous pensons qu'il faut surtout retenir la diminution du débit par rapport à l'échantillon n°1 en raison de l'activité cholérétique de la B.S.P. et tenir compte de l'évolution spontanée (baisse de 23,1 %) dans la série témoin (dose : 0 mg/h).

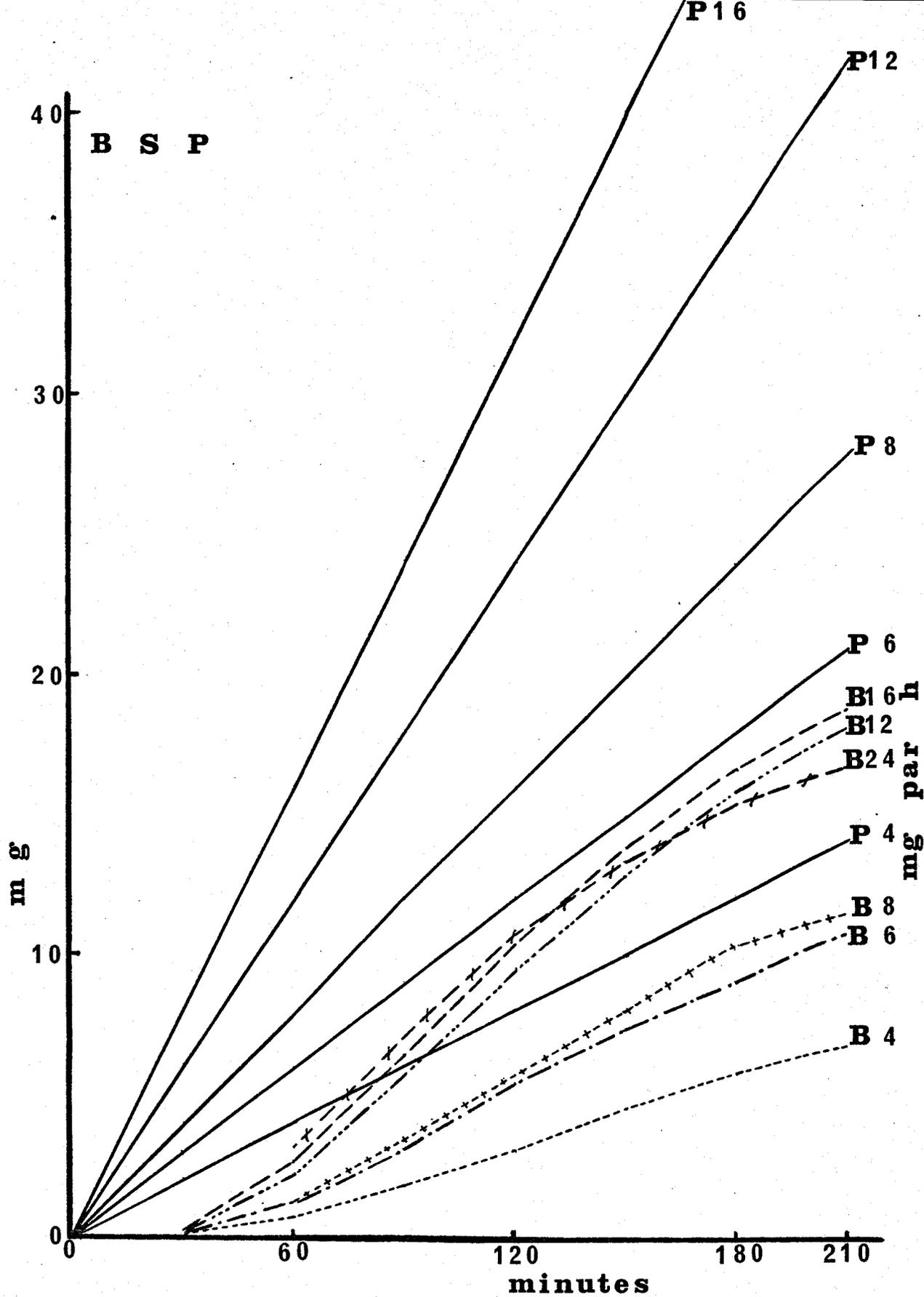


Figure 11 - Foie perfusé

Débits cumulés de la B.S.P. totale aux différents taux d'injection

P : B.S.P. injectée

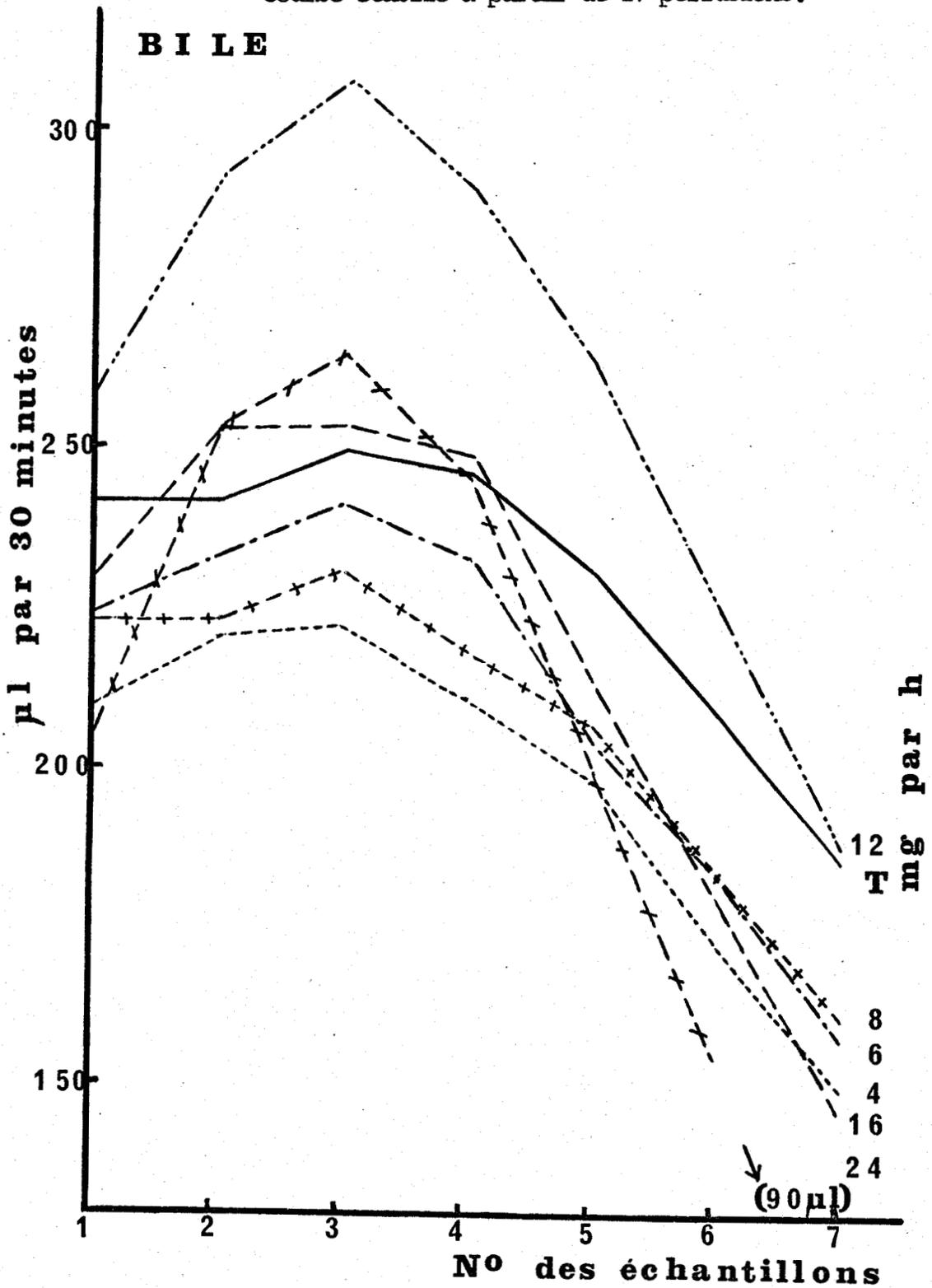
B : B.S.P. biliaire.

Figure 12 - Foie perfusé

Débits biliaries aux différents taux d'injection de B.S.P.

T : témoins (dose 0 mg/heure)

Courbe établie à partir de 27 perfusions.



Dose mg/h	échant. n°1 µg/30min.	échantillon le plus élevé		échant. n°7 µg/30min.	diminution en p. 100 du n°7 par rapport au :	
		µl/30min.	n°		n°1	+ élevé
0	242	250	3	186	23,1	25,6
4	209	222	3	149	28,7	32,9
6	224	241	3	158	29,5	34,4
8	223	231	3	160	28,3	30,7
12	258	308	3	188	27,1	39,0
16	229	254	3	146	36,2	42,5
24	205	265	3	90	56,1	66,0

Tableau -29- Diminution de la cholérèse par la BSP

Pour les doses inférieures ou égales à 8 mg/heure, la réduction du débit du colorant relève uniquement de la diminution de la phase liquide, les variations de concentrations étant minimales.

Pour les doses 16 et 24 mg/heure, la diminution du débit biliaire apparaît comme facteur dominant pour expliquer la chute de l'excrétion du colorant. Par exemple, pour 24 mg, le débit biliaire est réduit de 56,1 p. 100 soit 33 p. 100 de plus que chez les témoins (23,1 p. 100) alors que la variation de concentration n'est que de 24,1 p. 100.

Pour la dose intermédiaire aux deux groupes précédents (12 mg/heure) les facteurs concentration et volume liquidien semblent avoir sensiblement la même importance.

On retrouve donc, sur foie perfusé, une action de la B.S.P. identique à celle notée sur animal anesthésié; les doses fortes du colorant sont donc capables d'agir directement sur la fonction hépatique sans qu'il soit nécessaire de passer par l'intermédiaire d'un trouble respiratoire ou circulatoire.

- DEUXIEME PARTIE -

LA CONJUGAISON DE LA B.S.P. BILIAIRE
AU COURS DES ESSAIS D'INFUSION CONTINUE DU COLORANT.

Les expériences de J.R. PHILIP et Coll. (1961), de B. COMBES (1962) (voir page 24), montrent que la conjugaison de la B.S.P. joue un rôle important dans l'excrétion de ce colorant. Ceci nous a conduit à fractionner par chromatographie la B.S.P. libre d'une part et l'ensemble des conjugués d'autre part, et à étudier les débits de ces fractions.

I- EXPERIMENTATION SUR ANIMAL ANESTHESIE

Les résultats sont donnés dans les tableaux -31 à 39-. Ils ont été obtenus sur les mêmes animaux que ceux utilisés pour l'étude de l'excrétion quantitative de la B.S.P. Jusqu'à 8 mg par heure inclusivement, 5 rats de chaque série ont été étudiés, tandis qu'à partir de 16 mg par heure, la bile de tous les animaux était fractionnée. La représentation graphique des valeurs moyennes fait l'objet des figures 13 à 16.

Les constatations suivantes peuvent être dégagées :

1) pour les doses inférieures ou égales à 16 mg par heure, on observe une augmentation de l'excrétion de la B.S.P. libre et de la B.S.P. conjuguée ; mais cette dernière croît beaucoup plus rapidement que la première comme le montre le tableau -30-.

Il s'ensuit que le pourcentage de B.S.P. libre dans la B.S.P. excrétée diminue au fur et à mesure que la dose injectée augmente, ce qui est en accord avec les résultats de PHILIP et Coll. (1961).

Doses mg/h ..	0,5	1	2	4	8	16	24	32	36
B.S.P. totale mg	1,54	3,0	4,9	10,2	17,5	31,3	30,4	38,3	40,7
B.S.P. libre mg	0,56	1,3	2,0	3,1	4,1	5,5	7,0	7,7	9,5
B.S.P. conjuguée mg	0,98	1,7	2,9	7,1	13,4	25,8	23,4	30,6	31,2
$\frac{\text{libre}}{\text{totale}} \times 100$	36,4	43,3	40,8	30,4	23,4	17,6	23,0	20,1	23,3

Tableau -30- Excrétion de B.S.P. en 3 heures 30
Comparaison des fractions libre et conjuguée

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE							B. S. P. CONJUGUEE						
			% de la B. S. P. totale							% de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2069	23.1.67	280	41,9	45,6	45,4	54,7	46,8	55,3	55,0	58,1	54,4	54,6	45,3	53,2	44,7	45,0
G 2074	24.1.67	270	37,6	32,1	47,9	26,9	28,2	23,1	28,9	62,4	67,9	52,1	73,1	71,8	76,9	71,1
G 2075	25.1.67	275	51,2	40,7	33,7	34,0	30,8	28,2	30,1	48,8	59,3	66,3	66,0	69,2	71,8	69,9
G 2076	26.1.67	265	35,2	22,4	24,0	23,7	22,0	21,3	17,0	64,8	77,6	76,0	76,3	78,0	78,7	83,0
G 2077	26.1.67	245	48,9	47,4	45,9	45,2	46,6	43,4	19,7	51,1	52,6	54,1	54,8	53,4	56,6	80,3
Moyennes			43,0	37,6	39,4	36,9	34,9	34,3	30,1	57,0	62,4	60,6	63,1	65,1	65,7	69,9
Valeurs absolues en µg/30min.			57	91	97	87	82	79	66	75	152	149	149	153	152	153

Tableau -31- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 0,5 mg par heure.
Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2047	11.1.67	270	41,9	48,5	44,5	38,9	57,0	46,1	40,0	58,1	51,5	55,5	61,1	43,0	53,9	60,0
G 2049	12.1.67	270	50,7	42,8	41,8	38,5	40,5	40,9	40,2	49,3	57,2	58,2	61,5	59,5	59,1	59,8
G 2055	17.1.67	250	40,9	42,3	38,8	36,9	36,3	32,7	20,9	59,1	57,7	61,2	63,1	63,7	67,3	79,1
G 2057	18.1.67	250	36,6	33,3	53,1	52,6	42,6	49,5	37,5	63,4	66,7	46,9	47,4	57,4	50,5	62,5
G 2059	19.1.67	270	47,6	40,0	41,0	43,9	37,1	40,2	46,8	52,4	60,0	59,0	56,1	62,9	59,8	53,2
Moyennes			43,5	41,4	43,8	42,2	42,7	41,9	37,1	56,5	58,6	56,2	57,8	57,3	58,1	62,9
Valeurs absolues en µg/30min.			84	227	217	205	192	177	142	110	322	278	280	257	246	240

Tableau -32- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 1 mg par heure.
Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 1971	15. 11. 66	265	42,9	41,2	46,3	49,4	47,3	44,4	39,6	57,1	58,8	53,7	50,6	52,7	55,6	60,4
G 1973	16. 11. 66	260	45,5	37,9	39,7	38,6	38,4	36,8	36,9	54,5	62,1	60,3	61,4	61,6	63,2	63,1
G 1974	16. 11. 66	235	29,6	45,8	48,5	42,7	46,7	44,2	40,0	70,4	54,2	51,5	57,3	53,3	52,8	60,0
G 1978	21. 11. 66	290	48,4	36,3	34,2	34,2	36,5	31,8	35,0	51,6	63,7	65,8	65,8	63,5	68,2	65,0
G 1979	22. 11. 66	250	47,7	42,2	41,5	38,4	43,8	42,0	37,3	52,3	57,8	58,5	61,6	56,2	58,0	62,7
Moyennes			42,8	40,7	42,0	40,7	42,5	39,8	37,8	57,2	59,3	58,0	59,3	57,5	60,2	62,2
Valeurs absolues en µg/30min.		168	300	330	305	315	298	275	224	437	455	445	427	451	452	

Tableau -33- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 2 mg par heure.
Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE							B. S. P. CONJUGUEE						
			% de la B. S. P. totale							% de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 1981	23.11.66	290	28,9	26,4	35,4	34,9	37,3	36,5	34,8	71,1	73,6	64,6	65,1	62,7	63,5	65,2
G 1982	24.11.66	285	45,1	30,4	32,1	32,0	30,6	30,0	28,4	54,9	69,6	67,9	68,0	69,4	70,0	71,6
G 1984	25.11.66	265	31,8	28,3	27,6	24,9	23,7	22,4	21,2	68,2	71,7	72,4	75,1	76,3	77,6	78,8
G 1985	28.11.66	295	46,5	33,0	28,0	38,5	38,3	39,2	37,6	53,5	67,0	72,0	61,5	61,7	60,8	62,4
G 1987	29.11.66	285	31,8	33,5	27,0	24,4	24,0	22,7	20,2	68,2	66,5	73,0	75,6	76,0	77,3	79,8
Moyennes			36,8	30,3	30,0	30,9	30,8	30,2	28,4	63,2	69,7	70,0	69,1	69,2	69,8	71,6
Valeurs absolues en µg/30min.			319	455	480	487	491	468	432	549	1047	1119	1088	1104	1081	1090

Tableau -34- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 4 mg par heure.
Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 1472	30.09.65	275	30,0	23,6	22,2	24,4	22,4	21,8	20,3	70,0	76,4	77,8	75,6	77,6	78,2	79,7
G 1486	08.10.65	265	23,3	19,1	18,9	22,4	22,3	21,7	22,7	76,7	80,9	81,1	77,6	77,7	78,3	77,3
G 1960	02.11.66	235	16,1	29,3	21,6	22,5	22,6	22,1	20,9	83,7	70,7	78,4	77,5	77,4	77,9	79,1
G 1961	03.11.66	200	32,1	23,8	26,4	27,4	26,0	24,2	23,9	67,9	76,2	73,6	72,6	74,0	75,8	76,1
G 1986	29.11.66	305	34,7	25,5	27,1	25,2	24,8	21,9	20,4	65,3	74,5	72,9	74,8	75,2	78,1	79,6
Moyennes			27,3	24,3	23,2	24,4	23,6	22,3	21,7	72,7	75,7	76,8	75,6	76,4	77,7	78,3
Valeurs absolues en µg/30min.			398	658	658	664	633	591	539	1059	2048	2178	2057	2049	2059	1945

Tableau -35- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 8 mg par heure.
Formes libre et conjuguée du colorant.



N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 1991	01.12.66	260	20,6	14,4	13,5	19,2	12,4	13,7	13,5	79,4	85,6	86,5	80,8	87,6	86,3	86,5
G 1992	02.12.66	300	27,3	22,3	20,0	17,8	17,2	16,3	14,3	72,7	77,7	80,0	82,2	82,8	83,7	85,7
G 1993	02.12.66	300	34,5	24,4	21,2	20,3	18,0	18,1	17,1	65,5	75,6	78,8	79,7	82,0	81,9	82,9
G 1998	06.12.66	310	22,6	21,0	18,3	16,0	15,5	15,1	13,6	77,4	79,0	81,7	84,0	84,5	84,9	86,4
G 1999	06.12.66	290	8,5	16,7	15,4	15,8	13,9	12,9	13,2	91,5	83,3	84,6	84,2	86,1	87,1	86,8
G 2030	28.12.66	265	20,5	15,4	15,4	17,4	17,1	18,8	18,6	79,5	84,6	84,6	82,6	82,9	81,2	81,4
G 2031	29.12.66	250	25,1	17,3	18,4	20,6	22,5	25,2	28,9	74,9	82,7	81,6	79,4	77,5	74,8	71,1
G 2032	29.12.66	250	20,9	11,9	19,0	30,6	32,7	37,7	40,1	79,1	88,1	81,0	69,4	67,3	62,3	59,9
G 2034	30.12.66	280	25,5	14,4	13,5	15,9	14,4	13,4	12,7	74,5	85,6	86,5	84,1	85,6	86,6	87,3
G 2035	30.12.66	280	30,7	19,3	18,5	17,1	17,6	14,8	14,5	69,3	80,7	81,5	82,9	82,4	85,2	85,5
G 2036	02.01.67	265	25,5	14,4	14,0	13,9	13,3	13,8	13,8	74,5	85,6	86,0	86,1	86,7	86,2	86,2
G 2037	03.01.67	255	22,2	14,9	14,0	14,5	16,1	16,8	14,8	77,8	85,1	86,0	85,5	83,9	83,2	85,2
G 2038	03.01.67	250	20,7	10,6	10,9	12,5	15,1	15,7	22,3	79,3	89,4	89,1	87,5	84,9	84,3	77,7
G 2039	04.01.67	290	21,1	13,3	12,8	14,4	14,2	12,7	12,1	78,9	86,7	87,2	85,6	85,8	87,3	87,9
G 2042	06.01.67	265	26,1	23,4	16,9	17,5	17,6	16,8	17,1	73,9	76,6	83,1	82,5	82,4	83,2	82,9
Moyennes		274	23,4	16,9	16,1	17,6	17,2	17,4	17,8	76,6	83,1	83,9	82,4	82,8	82,6	82,2
Valeurs absolues en µg/30 min.			598	822	841	901	827	803	736	1958	4047	4384	4220	3979	3810	3397

Tableau -36- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 16 mg par heure.
Formes Libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 1510	30.11.65	250	28,7	41,1	37,3	48,4	54,2	56,8	61,8	61,8	58,9	62,7	51,6	45,8	43,2	38,2
G 1511	01.12.65	250	19,4	16,9	25,2	32,2	39,9	49,5	54,7	54,7	83,1	74,8	67,8	60,1	50,5	45,3
G 1515	06.12.65	260	18,6	14,3	18,5	24,3	35,5	49,2	47,3	47,3	81,4	85,7	75,7	64,5	50,8	52,7
G 1523	07.12.65	260	16,2	12,8	18,2	27,5	37,5	44,3	51,2	51,2	83,8	87,2	72,5	62,5	55,7	48,8
G 1538	13.12.65	250	24,9	12,9	14,9	19,6	22,9	28,6	34,7	34,7	75,1	87,1	80,4	77,1	71,4	65,3
G 1548	15.12.65	250	22,2	18,4	21,1	26,4	32,6	40,3	50,0	50,0	77,8	81,6	73,6	67,4	59,7	50,0
G 1550	16.12.65	250	22,5	16,8	16,8	18,9	23,5	32,0	40,2	40,2	77,5	83,2	81,1	76,5	68,0	59,8
G 1560	20.12.65	250	18,8	14,2	13,9	18,4	21,9	23,1	24,7	24,7	81,2	85,8	86,1	78,1	76,9	75,3
G 1561	21.12.65	250	27,1	18,5	12,7	12,1	14,2	15,9	16,8	16,8	72,9	81,5	87,3	87,9	85,8	83,2
G 1566	23.12.65	250	23,3	12,9	12,9	14,2	14,0	14,0	15,2	15,2	76,7	87,1	87,1	85,8	86,0	84,8
G 2041	05.01.67	265	21,9	21,6	10,9	8,8	7,7	6,4	5,0	5,0	78,1	78,4	91,2	92,3	93,6	95,0
G 2043	09.01.67	280	24,7	13,4	12,4	10,4	13,1	15,0	17,4	17,4	75,3	86,6	87,6	89,6	85,0	82,6
G 2045	10.01.67	240	18,3	12,0	16,8	19,4	26,0	35,6	41,9	41,9	81,7	88,0	80,6	74,0	64,4	58,1
G 2046	11.01.67	240	18,8	16,5	19,3	25,5	33,8	41,0	45,5	45,5	81,2	83,5	74,5	66,2	59,0	54,5
G 2056	18.01.67	285	23,9	12,3	12,5	12,4	12,7	12,6	13,7	13,7	76,1	87,7	87,5	87,3	87,4	86,3
Moyennes		255	21,9	17,0	17,6	21,2	26,0	31,0	34,7	34,7	78,1	83,0	78,8	74,0	69,0	65,3
Valeurs absolues en µg/30min.			623	980	972	1180	1121	1136	939	939	2220	4785	3956	3192	2529	1767

Tableau -37- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 24 mg par heure.
Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE							B. S. P. CONJUGUEE						
			% de la B. S. P. totale							% de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2000	07.12.66	300	18,7	11,9	11,4	12,9	16,2	20,4	27,1	81,3	88,1	88,6	87,1	83,8	79,6	72,9
G 2001	08.12.66	260	20,2	13,8	13,8	17,2	21,5	30,1	42,0	79,8	86,2	86,2	82,8	78,5	69,9	58,0
G 2002	09.12.66	255	21,8	14,7	17,8	24,8	33,2	40,3	46,3	78,2	85,3	82,2	75,2	66,8	59,7	53,7
G 2005	12.12.66	320	16,2	9,9	10,5	11,1	13,4	15,9	18,2	83,8	90,1	89,5	88,9	86,6	84,1	81,8
G 2006	12.12.66	310	20,1	15,5	19,3	24,5	39,8	39,2	49,8	79,9	84,5	80,7	75,5	60,2	60,8	50,2
G 2007	13.12.66	300	21,3	11,8	13,3	17,2	22,6	28,8	35,2	78,7	88,2	86,7	82,8	77,4	71,2	64,8
G 2008	13.12.66	290	25,4	14,5	16,2	15,4	14,2	18,0	17,9	74,6	85,5	83,8	84,6	85,8	82,0	82,1
G 2009	14.12.66	300	17,6	9,9	9,2	9,1	9,7	11,1	12,2	82,4	90,1	90,8	90,9	90,3	88,9	87,8
G 2011	15.12.66	290	17,4	14,1	14,7	17,3	21,2	23,2	35,5	82,5	85,9	85,3	82,7	78,8	76,8	64,5
G 2012	15.12.66	305	24,1	19,5	18,0	16,1	13,0	15,4	18,7	75,9	80,5	82,0	83,9	87,0	84,6	81,3
G 2015	20.12.66	245	16,4	12,8	16,6	20,1	30,3	33,3	35,4	83,6	87,2	83,4	79,9	69,7	66,7	64,6
G 2019	21.12.66	250	19,0	12,6	13,8	17,8	25,0	32,2	37,5	81,0	87,4	86,2	82,2	75,0	67,8	62,5
G 2024	23.12.66	275	17,6	13,4	15,5	18,7	25,6	23,6	45,7	82,4	86,6	84,5	81,3	74,4	76,4	54,3
G 2027	26.12.66	285	15,3	8,9	9,3	10,5	11,9	13,8	15,6	84,7	91,1	90,7	89,5	88,1	86,2	84,4
G 2028	27.12.66	250	24,1	21,4	31,6	46,0	51,1	57,6	57,8	75,9	78,6	68,4	54,0	48,9	42,4	42,2
Moyennes		282	19,7	13,6	15,4	18,6	23,2	26,9	33,0	80,3	86,4	84,6	81,4	76,8	73,1	67,0
Valeurs absolues en µg/30min.		676	1007	1069	1250	1333	1268	1088	2757	6400	5870	5471	4414	3445	2208	

Tableau -38- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 32 mg par heure.
Formes Libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2081	27.1.67	290	24,1	20,9	25,1	31,4	38,5	43,5	36,9	75,9	79,1	74,9	68,6	61,5	56,5	63,1
G 2084	30.1.67	280	16,0	12,0	11,9	15,8	21,3	29,1	35,5	84,0	88,0	88,1	84,2	78,7	70,9	64,5
G 2091	02.2.67	270	19,7	13,3	12,7	13,1	20,7	27,3	37,8	80,3	86,7	87,3	86,9	79,3	72,7	62,2
G 2094	03.2.67	270	20,8	19,1	28,6	28,3	27,4	36,8	52,4	79,2	80,9	71,4	71,7	72,6	63,2	47,6
G 2110	13.2.67	280	27,5	24,0	16,1	13,8	14,2	16,5	23,6	72,5	76,0	83,9	86,2	85,8	83,5	76,4
G 2129	16.2.67	285	26,5	17,9	18,4	22,0	28,6	32,9	39,4	73,5	82,1	81,6	78,0	71,4	67,1	60,6
G 2133	20.2.67	280	24,4	12,3	13,3	15,7	20,5	29,2	37,4	75,6	87,7	86,7	84,3	79,5	70,8	62,6
G 2145	23.2.67	300	20,1	10,5	10,4	10,8	13,5	16,6	20,7	79,9	89,5	89,6	89,2	86,5	84,4	79,3
G 2150	24.2.67	290	19,8	17,1	19,5	26,2	26,7	29,8	22,1	80,2	82,9	80,5	73,8	73,3	70,2	77,9
G 2156	27.2.67	290	22,0	13,7	15,9	18,7	22,1	28,0	31,6	78,0	86,3	84,1	81,3	77,9	72,0	68,4
G 2160	28.2.67	290	19,1	20,6	33,0	44,7	54,4	53,2	50,0	80,9	79,4	67,0	55,3	45,6	46,8	50,0
G 2163	01.3.67	300	24,3	16,5	25,4	37,4	45,6	63,2	56,6	75,7	83,5	74,6	62,6	54,4	36,8	43,4
G 2181	13.3.67	290	23,1	22,7	13,6	14,5	13,4	12,2	14,3	76,9	77,3	86,4	85,5	86,6	87,8	85,7
G 2184	14.3.67	300	39,4	15,3	17,6	17,5	19,6	19,6	24,8	60,6	84,7	82,4	82,5	80,4	80,4	75,2
G 2194	22.3.67	260	24,4	15,8	23,2	29,0	36,7	44,3	38,8	75,6	84,2	76,8	71,0	63,3	55,7	61,2
Moyennes		285	23,4	16,8	19,0	22,6	26,9	32,1	34,8	76,6	83,2	81,0	77,4	73,1	67,9	65,2
Valeurs absolues en µg/30min.			756	1400	1575	1659	1666	1441	989	2476	6935	6714	5680	4526	3047	1853

Tableau -39- Rat anesthésié - Infusion de B.S.P. 36 mg par heure.
Formes libre et conjuguée du colorant.

2) Pour les doses de 24 et 32 mg par heure, l'excrétion de B.S.P. sous forme libre est supérieure pour tous les échantillons à celle observée avec 16 mg par heure, mais la B.S.P. conjuguée s'effondre à partir du 5eme échantillon. Globalement pour les 3 heures 30 d'expérience, l'importance relative de la B.S.P. libre est plus grande que pour la dose 16 mg par heure.

3) Pour la dose 36 mg par heure, il y a successivement diminution de la B.S.P. conjuguée (à partir du 4eme échantillon) puis de la B.S.P. libre (à partir du 5eme échantillon). De toute façon, l'excrétion sous forme libre reste inférieure à 6 $\mu\text{g}/\text{minute}/\text{gramme}$ de foie, chiffre voisin de celui de PHILIP et Coll. (1961).

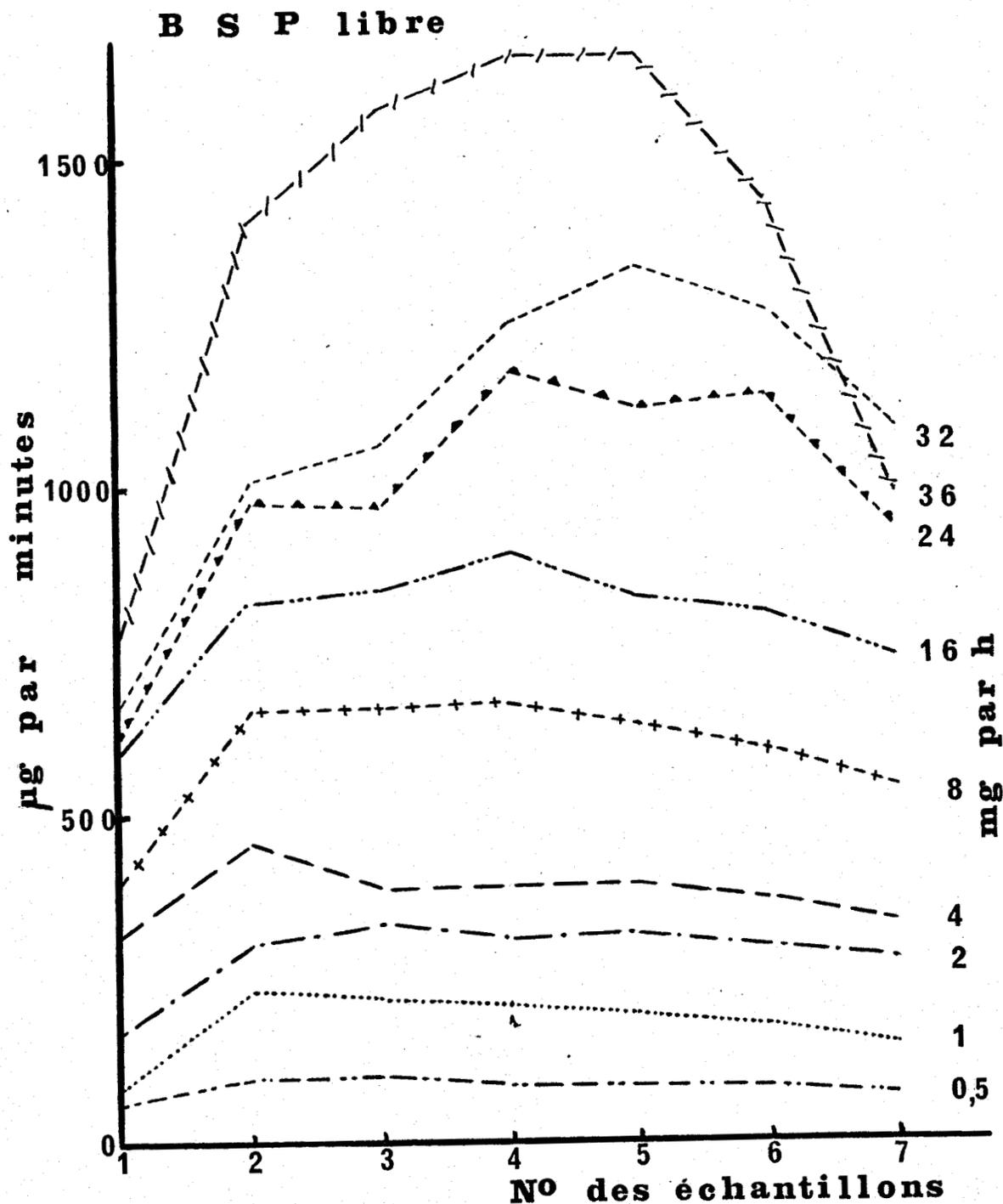
Pour ces doses élevées, le pourcentage de conjugaison varie en fonction du temps et à partir du 4eme échantillon on voit le colorant libre prendre une importance croissante.

(figure 15)

La représentation graphique pour chaque échantillon de la B.S.P. conjuguée en fonction de la dose (figure 16) objective mieux encore la constance du pourcentage de B.S.P. conjuguée dans les échantillons 2 à 7 lorsque la dose injectée est inférieure ou égale à 16 mg par heure. Au contraire, pour les doses plus élevées, on constate ici encore que la B.S.P. conjuguée diminue en valeur relative du 2eme au 7eme échantillon. De toute façon, le premier échantillon a un comportement différent ; on notera en particulier que pour les doses 4 à 16 mg par heure, la conjugaison est plus faible que dans les autres échantillons ce qui permet de supposer que dès la captation du colorant par le foie, il y a excrétion dans la bile, à un moment où la conjugaison ne s'est pas encore effectuée (J.P. PHILIP et Coll. - 1961).

Figure 13 - Animal anesthésié

Débits biliaries de la B.S.P. libre aux différents taux d'injection du colorant.



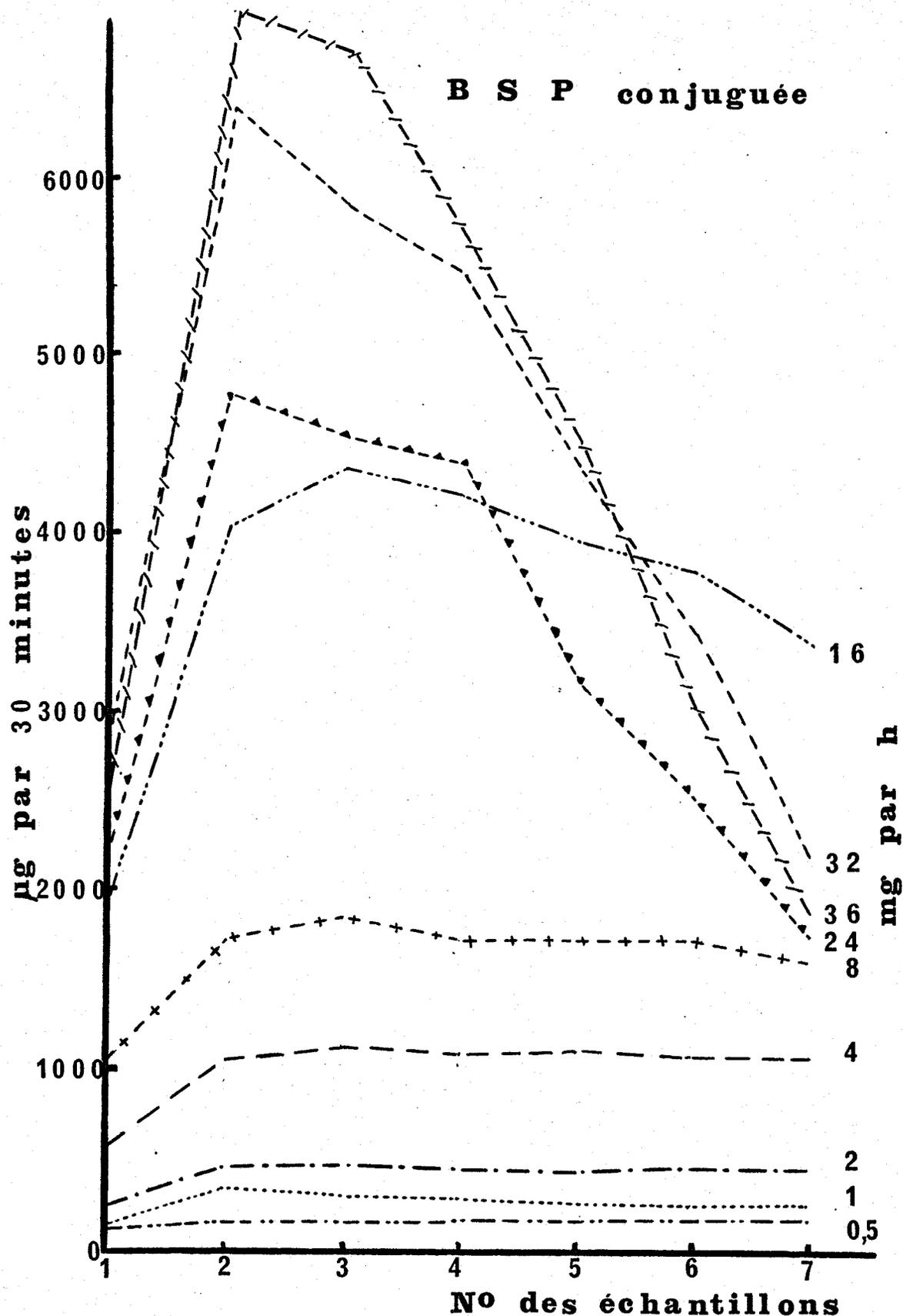


Figure 14 - Animal anesthésié

Débits biliaires de la B.S.P. conjuguée aux différents taux d'injection du colorant.

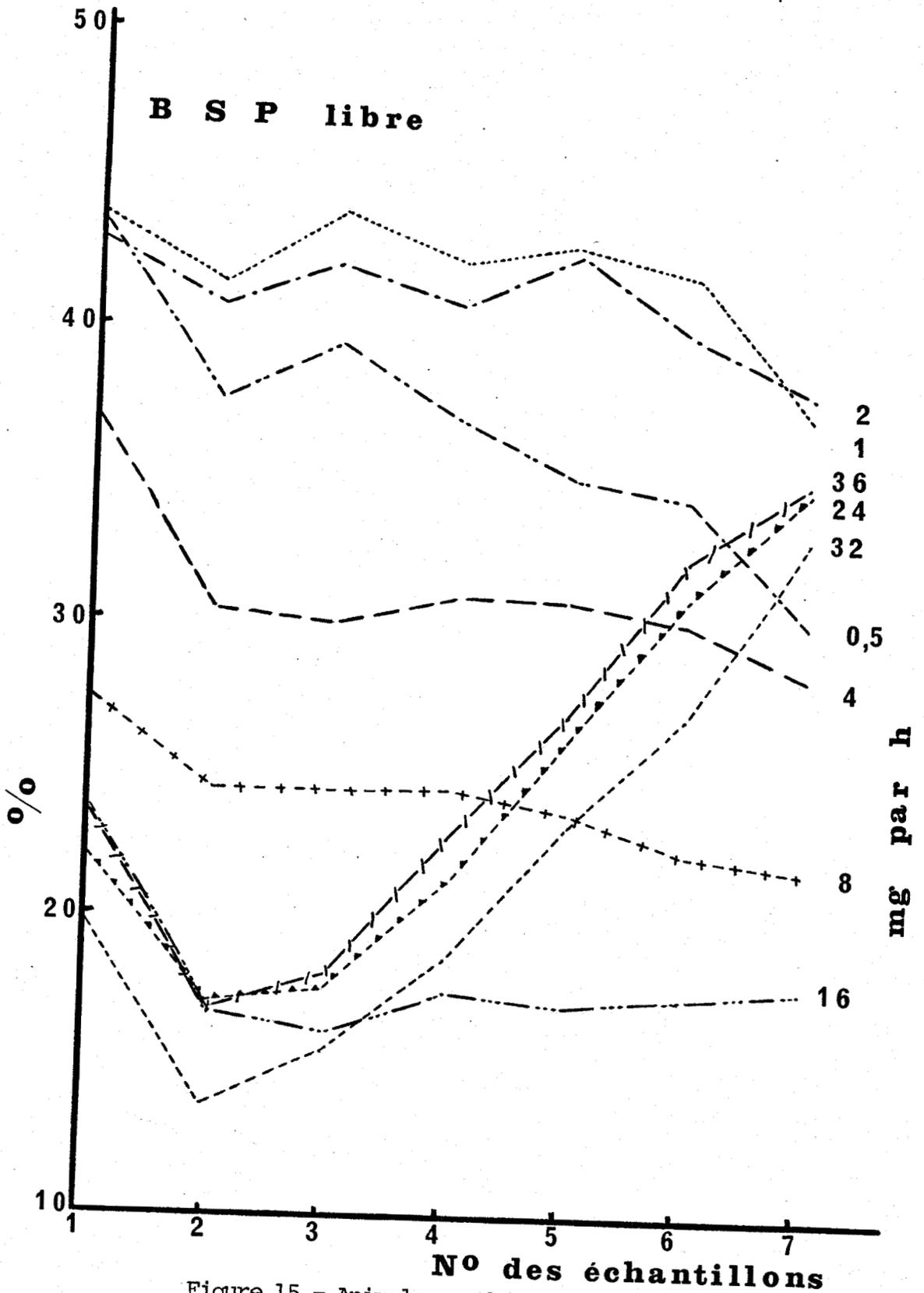


Figure 15 - Animal anesthésié
 Pourcentage de B.S.P. libre, en fonction du temps,
 aux différents taux d'injection.

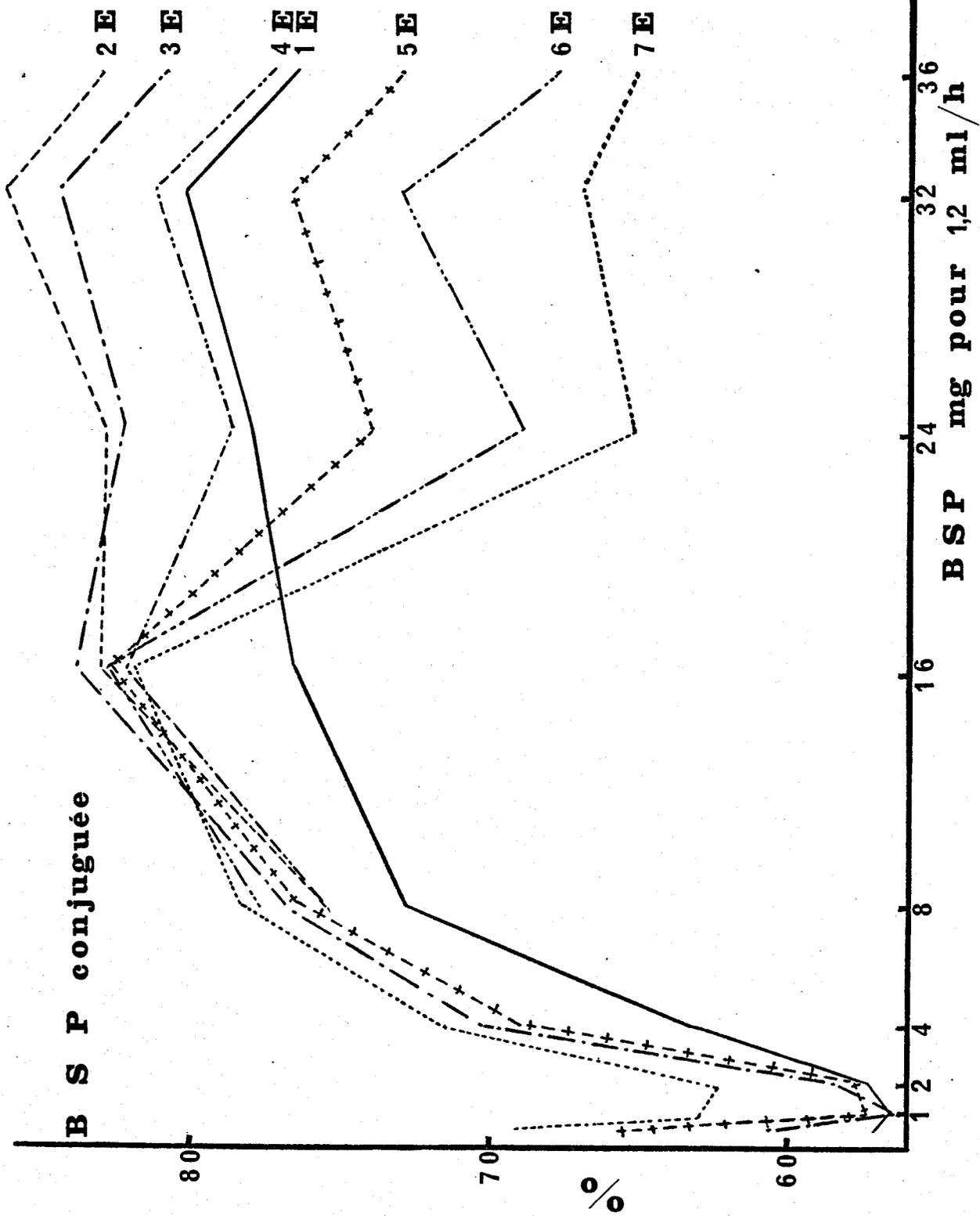


Figure 16 - Animal anesthésié - Pourcentage de B.S.P. conjuguée en fonction de la dose de colorant injecté (dans chacun des sept échantillons : 1E à 7E).

II- EXPERIMENTATION DU FOIE PERFUSE

Les résultats sont donnés dans les tableaux -41 à 46-. Ils ont été obtenus sur les mêmes animaux que ceux utilisés pour l'étude de l'excrétion quantitative de la B.S.P. La bile de tous les animaux a été fractionnée. La représentation graphique des valeurs moyennes fait l'objet des figures 17 à 19.

1) Le fait dominant est l'importance de la forme conjuguée, dans l'excrétion du colorant. En effet, à partir du 3eme échantillon (figure 17) il y a moins de 10 p. 100 de B.S.P. libre. De tels pourcentages n'ont jamais été observés sur animal anesthésié. Pour les 3 heures 30 la B.S.P. libre ne représente que 4,8 à 8,9 p. 100 de la B.S.P. totale bien que dans le premier échantillon la conjugaison ne soit que de 60 à 70 p. 100 (tableau -40-).

Doses mg/h	4	6	8	12	16	24
B.S.P. totale mg	6,76	10,6	11,9	18,2	18,8	16,7
B.S.P. libre mg	0,60	0,8	0,9	1,6	0,9	0,9
B.S.P. conjuguée mg	6,16	9,8	11,0	16,6	17,9	15,8
$\frac{\text{libre}}{\text{totale}} \times 100$	8,9	7,5	7,6	8,8	4,8	5,4

Tableau -40- Excrétion de la B.S.P. en 3 heures 30
Comparaison des fractions libre et conjuguée.

2) Même avec les fortes doses, il n'y a pas, dans les derniers échantillons, d'augmentation sensible du pourcentage de colorant libre.

3) Pour les doses plus fortes (16 et 24 mg par heure) on observe un pourcentage plus faible de colorant libre ce qui s'oppose à ce qui a été noté sur animal anesthésié. Il faut toutefois retenir que les quantités de B.S.P. non conjuguée étant très faibles, leur dosage présente une certaine imprécision.

Il semble donc que pour le foie perfusé on puisse exclure que le facteur limitant l'excrétion de la B.S.P. soit le glutathion ou les enzymes de conjugaison. En effet, lorsque les doses de colorant injecté sont suffisantes, il se produit simultanément une diminution de la B.S.P. libre et de la B.S.P. conjuguée, mais cette dernière représente toujours la forme très largement prédominante.

Au contraire, sur animal anesthésié, l'excrétion de B.S.P. libre augmente encore alors que l'élimination horaire de B.S.P. conjuguée diminue considérablement. Pour les doses 24, 32 et 36 mg par heure, le glutathion et les enzymes de conjugaison pourraient être un facteur limitant.

Ceci nous a conduit à étudier le comportement de l'animal anesthésié lorsque l'injection de colorant était accompagnée d'une infusion continue de glutathion et à ne pas poursuivre dans ce sens les recherches sur foie perfusé.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 938	08.11.65	380	-	17,3	12,3	10,9	8,2	7,3	6,5	-	82,7	87,7	89,1	91,8	92,7	93,5
R 939	09.11.65	380	28,6	12,1	8,3	8,3	5,0	6,0	4,4	71,4	87,9	91,7	91,7	95,0	94,0	95,6
R 940	10.11.65	400	20,7	25,4	10,9	7,5	7,3	6,6	5,2	79,3	74,6	89,1	92,5	92,7	93,4	94,8
R 941	11.11.65	395	9,7	20,3	12,7	9,5	10,7	8,4	8,1	90,3	79,7	87,3	90,5	89,3	91,6	91,9
R 945	22.11.65	350	53,1	20,8	12,6	10,5	9,7	7,9	7,5	46,9	79,2	87,4	89,5	90,3	92,1	92,5
R 946	23.11.65	300	37,5	18,4	9,0	7,1	6,2	6,7	7,4	62,5	81,6	91,0	92,9	93,8	93,3	92,6
R 947	24.11.65	360	37,0	20,0	11,1	9,0	8,0	8,6	7,8	63,0	80,0	88,9	91,0	92,0	91,4	92,2
R 948	25.11.65	310	33,3	11,3	8,4	6,7	5,5	5,4	5,1	66,7	88,7	91,6	93,3	94,5	94,6	94,9
R 949	26.11.65	325	39,8	27,1	17,0	14,0	10,9	9,4	7,9	60,2	72,9	83,0	86,0	89,1	90,6	92,1
R 950	29.11.65	325	18,5	16,8	8,4	6,5	5,5	4,7	4,4	81,5	83,2	91,6	93,5	94,5	95,3	95,6
R 1155	07.03.67	490	52,0	19,5	11,7	6,9	5,6	5,3	4,9	48,0	80,5	88,3	93,1	94,4	94,7	95,1
R 1156	08.03.67	430	-	25,4	14,9	10,7	8,7	6,8	5,7	-	74,6	85,1	89,3	91,3	93,2	94,3
R 1158	10.03.67	400	-	15,9	9,0	5,9	7,0	5,0	4,2	-	84,1	91,0	94,1	93,0	95,0	95,8
R 1159	14.03.67	500	9,2	18,9	9,9	5,7	4,7	4,1	4,1	90,8	81,1	90,1	94,3	95,3	95,9	95,9
R 1160	16.03.67	470	-	28,3	11,8	7,5	4,8	4,4	4,1	-	71,7	88,2	92,5	95,2	95,6	95,9
Moyennes		388	30,9	19,8	11,2	8,4	7,2	6,4	5,8	69,1	80,2	88,8	91,6	92,8	93,6	94,2
Valeurs absolues en µg/30min.			7	108	128	113	100	79	63	16	436	1018	1227	1284	1156	1025

Tableau -4I- Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 4 mg par heure.
Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 974	11.1.66	400	44,1	20,8	12,4	10,1	9,8	9,8	11,0	55,9	79,2	87,6	89,9	90,2	90,2	89,0
R 975	12.1.66	475	38,2	13,2	8,4	7,0	6,2	5,5	4,5	61,8	86,8	91,6	93,0	93,8	94,5	95,5
R 976	13.1.66	390	58,9	16,2	5,8	4,7	4,7	3,8	3,2	41,1	83,8	94,2	95,3	95,3	96,2	96,8
R 977	17.1.66	500	26,9	7,2	4,5	4,3	3,8	3,9	4,9	73,1	92,8	95,5	95,7	96,2	96,1	95,1
R 979	19.1.66	450	38,3	9,7	8,3	7,2	7,0	6,5	6,2	61,7	90,3	91,7	92,8	93,0	93,5	93,8
R 980	20.1.66	420	37,2	12,0	6,9	5,5	4,8	4,8	6,8	62,8	88,0	93,1	94,5	95,2	95,2	93,2
R 981	24.1.66	365	29,0	9,8	7,7	8,8	9,9	9,4	10,0	71,0	90,2	92,3	91,2	90,1	90,6	90,0
R 982	25.1.66	470	-	13,3	10,7	9,7	8,3	7,1	7,1	-	86,7	89,3	90,3	91,7	92,9	92,9
R 984	27.1.66	360	-	17,1	8,8	7,6	7,2	7,0	6,7	-	82,9	91,2	92,4	92,8	93,0	93,3
R 985	28.1.66	390	58,6	12,2	8,7	4,8	4,0	4,2	4,4	41,4	87,8	91,3	95,2	96,0	95,8	95,6
R 1128	18.1.67	460	25,0	18,3	6,6	6,9	5,8	4,6	4,7	75,0	81,7	93,4	93,1	94,2	95,4	95,3
R 1129	19.1.67	500	31,0	12,3	7,8	6,1	5,9	5,5	4,9	69,0	87,7	92,2	93,9	94,1	94,5	95,1
R 1131	24.1.67	470	41,0	16,1	6,9	5,3	5,0	4,7	3,4	59,0	83,9	93,1	94,7	95,0	95,3	96,6
R 1135	30.1.67	490	33,8	19,1	6,4	4,2	3,6	2,9	3,1	66,2	80,9	93,6	95,8	96,4	97,1	96,9
R 1136	01.2.67	500	39,4	18,9	9,7	6,8	6,8	5,7	5,1	60,6	81,1	90,3	93,2	93,2	94,3	94,9
Moyennes		443	38,6	14,4	8,0	6,6	6,2	5,7	5,7	61,4	85,6	92,0	93,4	93,8	94,3	94,3
Valeurs absolues en µg/30min.			25,5	145	158	141	123	105	91	40,5	864	1813	1993	1866	1739	1497

Tableau -42- Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 6 mg par heure.
Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 929	30.10.65	400	16,1	14,9	11,8	15,7	16,7	18,0	18,0	83,9	85,1	88,2	84,3	83,3	82,0	82,0
R 930	31.10.65	395	18,1	14,1	10,2	14,0	12,3	10,6	10,6	81,9	85,9	89,8	86,0	87,7	89,4	89,4
R 931	01.11.65	400	18,0	14,7	8,8	7,5	7,2	8,4	10,5	82,0	85,3	91,2	92,5	92,8	91,6	89,5
R 932	02.11.65	420	27,4	18,4	8,3	6,0	5,6	5,5	4,6	72,6	81,6	91,7	94,0	94,4	94,5	95,4
R 933	03.11.65	400	11,0	18,9	9,3	8,4	8,7	9,2	10,6	89,0	81,1	90,7	91,6	91,3	90,8	89,4
R 952	01.12.65	340	51,4	17,0	8,2	6,2	6,0	4,9	4,7	48,6	83,0	91,8	93,8	94,0	95,1	95,3
R 953	02.12.65	300	18,7	13,8	7,4	5,1	4,7	4,6	5,1	81,3	86,2	92,6	94,9	95,3	95,4	94,9
R 954	03.12.65	290	32,1	13,3	7,1	5,5	5,4	5,0	4,7	67,9	86,7	92,9	94,5	94,6	95,0	95,3
R 986	01.02.66	425	50,0	13,0	10,0	6,8	6,4	6,6	6,6	50,0	87,0	90,0	93,2	93,6	93,4	93,4
R 987	02.02.66	420	39,6	11,4	5,0	4,5	5,5	5,3	7,1	60,4	88,6	95,0	95,5	94,5	94,7	92,9
R 1118	04.01.67	470	20,2	9,1	4,2	3,4	2,6	3,0	2,0	79,8	90,9	95,8	96,6	97,4	97,0	98,0
R 1119	05.01.67	440	28,6	10,2	9,6	9,1	12,0	9,8	9,6	71,4	89,8	90,4	90,9	88,0	90,2	90,4
R 1149	24.02.67	430	42,9	15,8	7,1	4,9	4,0	3,1	2,6	57,1	84,2	92,9	95,1	96,0	96,9	97,4
R 1152	01.03.67	570	33,3	12,1	5,6	4,9	4,4	4,5	3,6	66,7	87,9	94,4	95,1	95,6	95,5	96,4
R 1153	02.03.67	540	25,0	10,2	5,8	5,2	4,3	3,7	3,8	75,0	89,8	94,2	94,8	95,7	96,3	96,2
Moyennes		416	28,8	13,8	7,9	7,2	7,0	6,8	6,9	71,2	86,2	92,1	92,8	93,0	93,2	93,1
Valeurs absolues en µg/30min.			19	137	170	171	168	145	125	48	855	1981	2209	2236	1993	1682

Tableau -43- Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 8 mg par heure
Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE							B. S. P. CONJUGUEE						
			% de la B. S. P. totale							% de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 955	07.12.65	325	39,6	10,0	7,0	7,1	6,7	7,2	7,1	60,4	90,0	93,0	92,9	93,3	92,8	92,9
R 956	08.12.65	320	21,6	8,7	8,4	7,9	6,8	6,7	7,3	78,4	91,3	91,6	92,1	93,2	93,3	92,7
R 957	09.12.65	350	28,7	7,3	5,3	5,2	5,1	4,1	3,7	71,3	92,7	94,7	94,8	94,9	95,9	96,3
R 958	10.12.65	320	-	14,8	8,9	7,7	6,7	6,2	5,7	-	85,2	91,1	92,3	93,3	93,8	94,3
R 959	13.12.65	320	27,1	9,3	6,4	5,7	5,3	5,1	5,2	72,9	90,7	93,6	94,3	94,7	94,9	94,8
R 960	14.12.65	385	36,6	9,6	6,4	4,8	3,7	4,3	4,4	63,4	90,4	93,6	95,2	96,3	95,7	95,6
R 963	21.12.65	440	41,9	15,2	18,6	16,2	17,0	17,9	18,3	58,1	84,8	81,4	83,8	83,0	82,1	81,7
R 964	22.12.65	420	31,6	9,5	16,0	13,1	11,3	10,0	11,6	68,4	90,5	84,0	86,9	88,7	90,0	88,4
R 972	06.01.66	350	38,6	10,2	6,4	6,2	6,5	7,2	7,5	61,4	89,8	93,6	93,8	93,5	92,8	92,5
R 973	10.01.66	520	44,5	13,9	8,3	8,3	8,3	10,3	16,2	55,5	86,1	91,7	91,7	91,7	89,7	83,8
R 1161	17.03.67	460	44,3	10,1	5,8	4,4	3,7	3,8	4,2	55,7	89,9	94,2	95,6	96,3	96,2	95,8
R 1162	21.03.67	420	36,1	10,3	5,3	4,8	4,8	6,2	7,4	63,9	89,7	94,7	95,2	95,2	93,8	92,6
R 1164	23.03.67	550	45,7	12,7	6,1	4,5	3,7	3,6	3,3	54,3	87,3	93,9	95,5	96,3	96,4	96,7
R 1165	24.03.67	430	34,4	17,7	9,0	8,0	6,3	6,1	6,6	65,6	82,3	91,0	92,0	93,7	93,9	93,4
R 1166	31.03.67	420	43,1	20,8	19,7	17,0	15,6	18,8	21,1	56,9	79,2	80,3	83,0	84,4	81,2	78,9
Moyennes		402	36,7	12,0	9,2	8,1	7,4	7,8	8,6	63,3	88,0	90,8	91,9	92,6	92,2	91,4
Valeurs absolues en pg/30min.			57	240	330	299	253	231	205	99	1763	3258	3390	3163	2726	2182

Tableau -44- Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 12 mg par heure.

Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 1167	10.4.67	550	44,3	9,9	4,2	3,4	3,3	3,8	4,5	55,7	90,1	95,8	96,6	96,7	96,2	95,5
R 1168	11.4.67	460	28,3	8,5	5,1	4,3	4,7	5,6	6,8	71,7	91,5	94,9	95,7	95,3	94,4	93,2
R 1169	13.4.67	565	43,0	11,1	3,8	3,1	2,9	2,6	2,6	57,0	88,9	96,2	96,9	97,1	97,4	97,4
R 1170	24.4.67	500	31,5	10,2	4,8	3,9	3,5	3,4	3,6	68,5	89,8	95,2	96,1	96,5	96,6	96,4
R 1171	25.4.67	520	21,3	10,0	5,1	4,2	4,0	4,2	4,4	78,7	90,0	94,9	95,8	96,0	95,8	95,6
R 1172	26.4.67	460	42,5	12,4	4,8	3,8	4,1	5,6	7,8	57,5	87,6	95,2	96,2	95,9	94,4	92,2
R 1173	27.4.67	420	36,6	7,9	4,6	3,9	3,8	4,1	4,8	63,4	92,1	95,4	96,1	96,2	95,9	95,2
R 1175	09.5.67	355	35,6	7,4	4,5	3,5	3,5	4,5	5,5	64,4	92,6	95,5	96,5	96,5	95,5	94,5
R 1176	10.5.67	420	45,4	11,1	4,6	3,8	3,9	4,6	5,1	54,6	88,9	95,4	96,2	96,1	95,4	94,9
R 1178	12.5.67	420	33,6	7,3	3,5	3,1	2,8	3,5	4,4	66,4	92,7	96,5	96,9	97,2	96,5	95,6
R 1179	16.5.67	485	29,3	4,3	2,5	2,7	3,2	4,2	5,2	70,7	95,7	97,5	97,3	96,8	95,8	94,8
R 1180	18.5.67	460	35,4	6,7	3,2	2,5	2,4	2,6	2,4	64,6	93,3	96,8	97,5	97,6	97,4	97,6
R 1182	22.5.67	475	28,7	8,3	4,0	3,7	2,9	2,8	3,0	71,3	91,7	96,0	96,3	97,1	97,2	97,0
R 1183	23.5.67	440	44,2	11,3	4,6	3,6	3,5	4,2	3,9	55,8	88,7	95,4	96,4	96,5	95,8	96,1
R 1184	24.5.67	450	51,2	12,7	4,9	2,9	3,1	3,0	3,4	48,8	87,3	95,1	97,1	96,9	97,0	96,6
Moyennes		465	36,7	9,3	4,3	3,5	3,4	3,9	4,5	63,3	90,7	95,7	96,5	96,6	96,1	95,5
Valeurs absolues en µg/30min.		68	212	163	142	117	110	98	117	2070	3633	3925	3318	2713	2079	

Tableau -45- Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 16 mg par heure.
Formes libre et conjuguée du colorant.

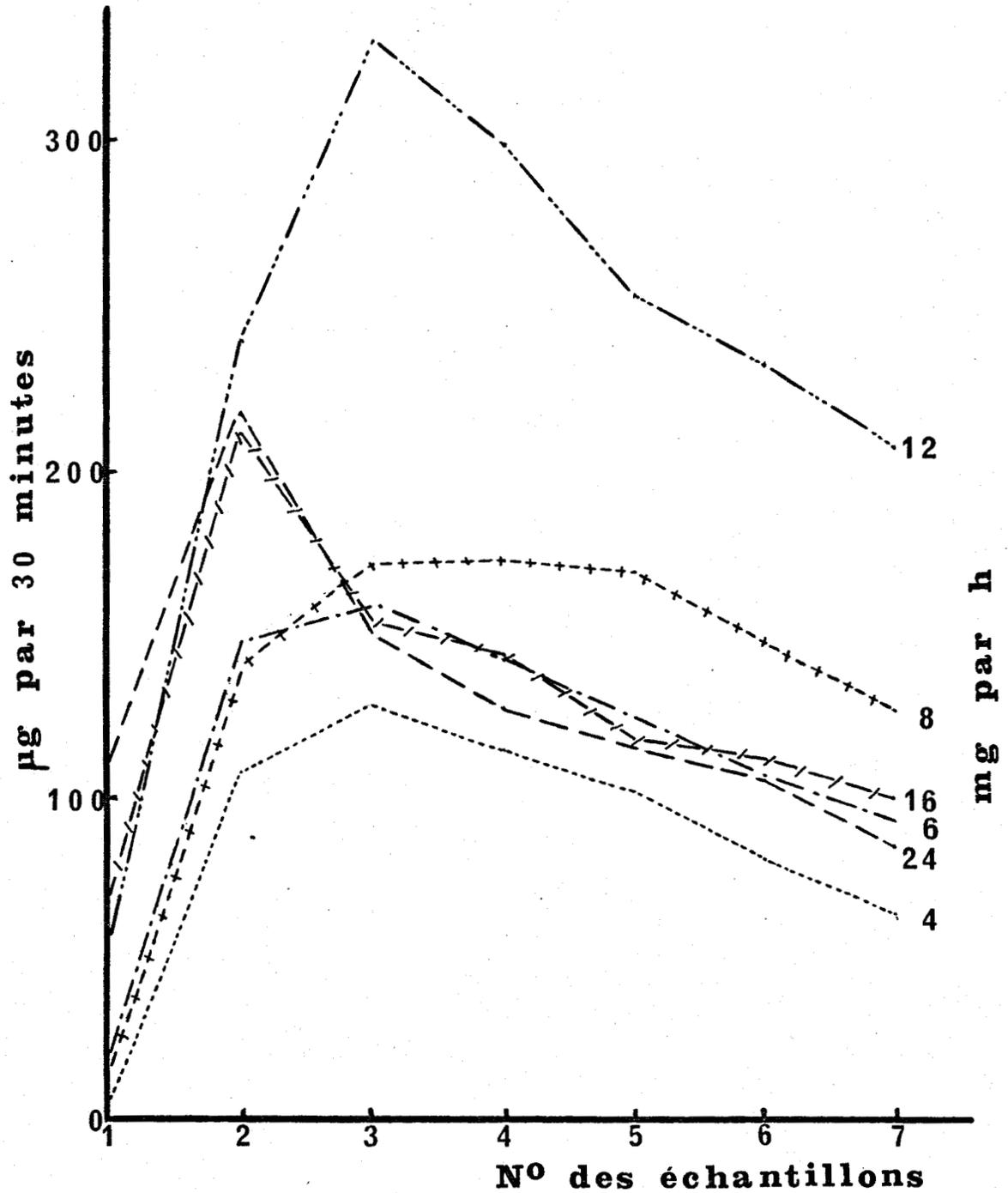
N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
R 1186	29.5.67	450	42,8	5,9	3,1	2,8	3,0	3,3	4,2	57,2	94,1	96,9	97,2	97,0	96,7	95,8
R 1187	30.5.67	410	43,0	11,9	4,3	3,6	3,9	5,2	5,7	57,0	88,1	95,7	96,4	96,1	94,8	94,3
R 1188	31.5.67	480	50,2	5,1	2,0	1,9	2,1	3,1	4,8	49,8	94,9	98,0	98,1	97,9	96,9	95,2
R 1189	01.6.67	420	42,5	16,4	5,9	4,1	4,3	5,0	6,5	57,5	83,6	94,1	95,9	95,7	95,0	93,5
R 1191	06.6.67	495	30,8	8,1	3,8	3,4	3,1	3,4	4,4	69,2	91,9	96,2	96,6	96,9	96,6	95,5
R 1192	07.6.67	450	43,0	5,5	3,8	4,4	6,8	10,0	13,1	57,0	94,5	96,2	95,6	93,2	90,0	86,9
R 1193	08.6.67	540	30,5	8,3	3,6	3,6	4,1	4,6	6,7	69,5	91,7	96,4	96,4	95,9	95,4	93,3
R 1194	12.6.67	450	60,2	12,9	4,1	3,0	3,0	3,3	4,8	39,8	87,1	95,9	97,0	97,0	96,7	95,2
R 1196	12.6.67	500	37,9	7,1	2,8	2,1	2,5	3,1	4,7	62,1	92,9	97,2	97,9	97,5	96,9	95,3
R 1197	15.6.67	540	53,3	12,2	4,5	4,2	4,4	6,5	8,5	46,7	87,8	95,5	95,8	95,6	93,5	91,5
R 1199	19.6.67	455	15,0	9,0	3,3	3,2	4,5	6,0	7,4	85,0	91,0	96,7	96,8	95,5	94,0	92,6
R 1201	22.6.67	520	40,5	12,1	4,7	3,5	4,4	7,2	8,1	59,5	87,9	95,3	96,5	95,6	92,8	91,9
R 1202	23.6.67	455	51,4	7,2	3,0	2,4	2,9	3,1	5,4	48,6	92,7	97,0	97,6	97,1	96,9	94,6
R 1203	26.6.67	470	22,4	9,5	4,2	4,1	5,3	7,6	9,4	77,6	90,5	95,8	95,9	94,7	92,4	90,6
R 1204	27.6.67	440	53,8	10,9	3,8	2,8	2,7	3,3	4,9	46,2	89,1	96,2	97,2	97,3	96,7	95,1
Moyennes		472	41,2	9,5	3,8	3,3	3,8	5,0	6,6	58,8	90,5	96,2	96,7	96,2	95,0	93,4
Valeurs absolues en µg/30min.			110	217	150	126	115	104	84	158	2065	3786	3698	2909	1973	1183

Tableau -46- Foie perfusé - Infusion de B.S.P. 24 mg par heure.
Formes libre et conjuguée du colorant.

Figure 17 - Foie perfusé -

Débits biliaries de la B.S.P. libre aux différents
taux d'injection du colorant.

B S P libre



B S P conjuguée

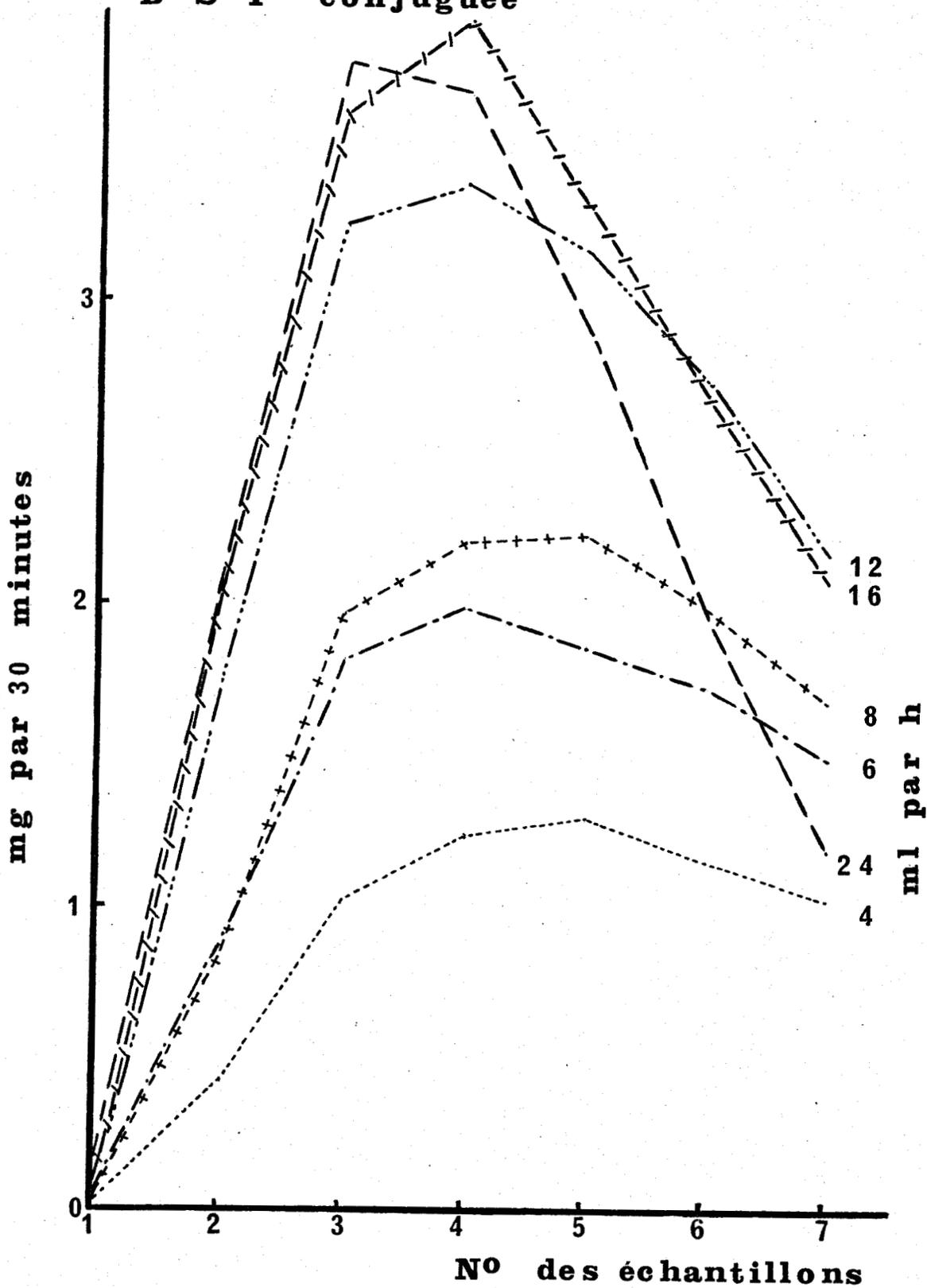
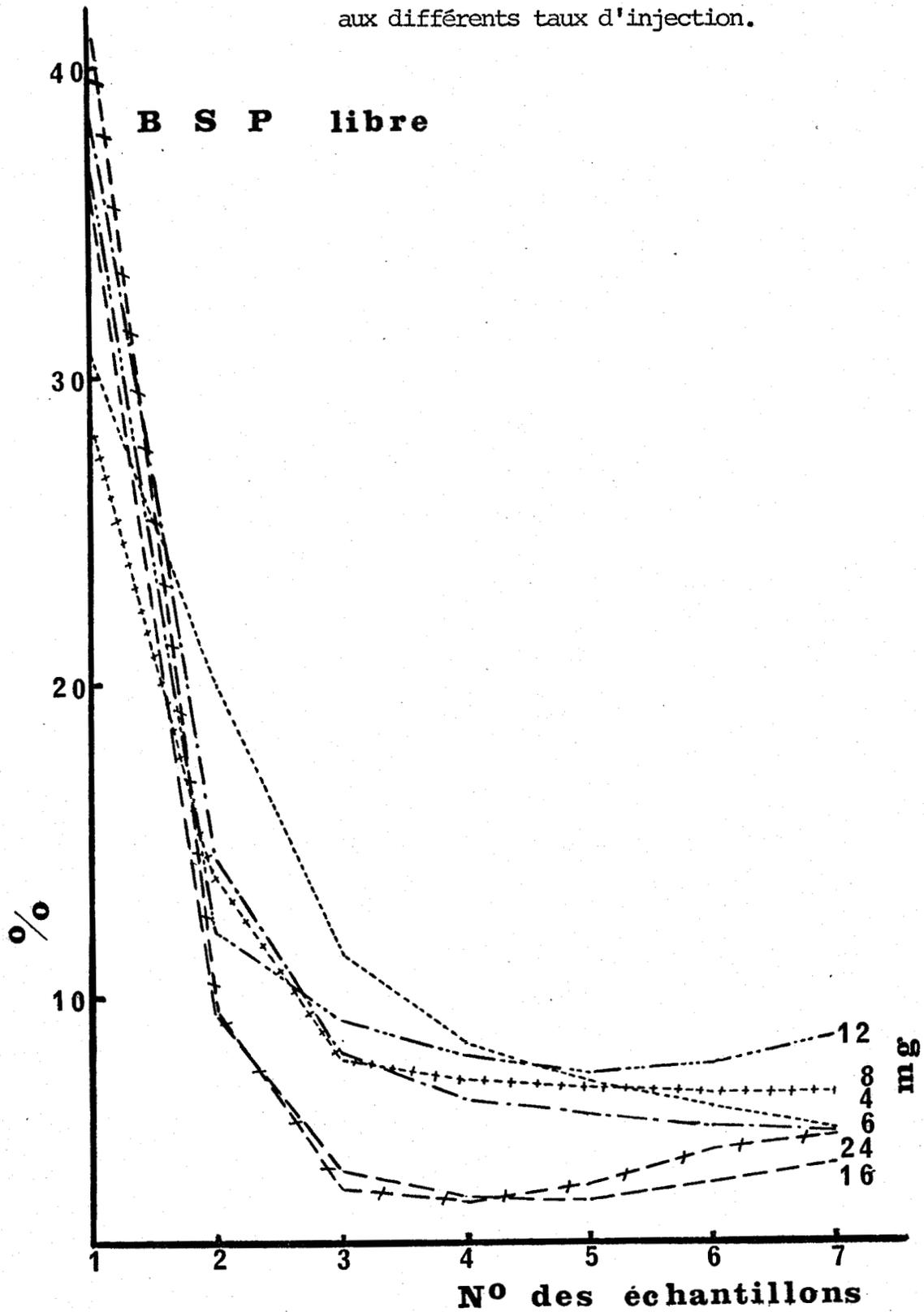


Figure 18 - Foie perfusé -

Débits biliaires de la B.S.P. conjuguée aux différents
taux d'injection du colorant.

Figure 19 - Foie perfusé -

Pourcentage de B.S.P. libre, en fonction du temps,
aux différents taux d'injection.



- TROISIEME PARTIE -

L' EXCRETION BILIAIRE DE LA B.S.P.

(concentration - débit - conjugaison)

LORS DE L'INFUSION SIMULTANEE DE COLORANT ET DE GLUTATHION.

(animal anesthésié).

La diminution rapide du pourcentage des formes conjuguées de la B.S.P. pour les doses supérieures ou égales à 24 mg/heure conduit à envisager le rôle du glutathion dans l'élimination du colorant.

Cependant on peut remarquer que pour la dose 16 mg/heure, il y a excrétion totale en 3 heures 30 de 25,8 mg de conjugués. Or, pour les doses élevées le pourcentage de conjugaison est nettement diminué à partir de l'échantillon n°5, c'est-à-dire au moment où n'ont été excrétées que 15,9 mg pour 24 mg/heure, 20,5 mg pour 32 mg/heure, 21,8 mg pour 36 mg/heure, de dérivés conjugués. Il devrait donc subsister des "réserves" de glutathion suffisantes pour permettre la conjugaison, ce qui peut également être supposé, connaissant les teneurs moyennes en glutathion de l'organisme (100 mg dont 20 mg dans le foie).

Les résultats de B. COMBES (1962) chez le rat en carence protéique étant en contradiction avec ces données théoriques, nous avons cherché à préciser les possibilités d'excrétion de la B.S.P. lors de l'injection continue simultanée de colorant et de glutathion.

Toute l'expérimentation a été menée sur animal anesthésié; les solutions de glutathion (1) et celles de B.S.P. sont injectées par la même veine jugulaire mais à partir de deux seringues différentes de façon à ce que le mélange ne se fasse que juste avant l'injection, ceci afin d'éviter la conjugaison in vitro. Les concentrations de colorant et de glutathion ont été calculées de façon à ce que le volume total injecté soit le même que dans les expériences avec colorant seul, c'est-à-dire 1,2 ml par heure. Dans tous les cas, B.S.P. et glutathion sont injectés à dose équimoléculaire.

(1) - glutathion réduit - ALDRICH U.S.A.

I- CONCENTRATION ET DEBIT BILIAIRE DE B.S.P.

Les doses de colorant utilisées sont comprises entre 8 et 36 mg par heure et par animal (poids moyen : 274 grammes). Chaque série expérimentale comporte 15 animaux. Les résultats individuels et les moyennes calculées des 5 séries (volume biliaire, concentration et débit de B.S.P. par 30 minutes) sont fournis dans les tableaux -48 à 57-. Les figures 20 à 24 reprennent les valeurs moyennes ci-dessus.

Concentration biliaire de la B.S.P. (figure 20)

L'allure générale des courbes est la même que celle observée dans les séries sans glutathion. Pour 8, 16 et 24 mg par heure, les concentrations dans les échantillons de même chronologie sont très voisines qu'il y ait ou non adjonction de glutathion. Pour 32 et 36 mg par heure, les concentrations évoluent de façon identique qu'il s'agisse de B.S.P. seule ou de B.S.P. additionnée de glutathion ; elles sont constamment plus élevées dans la série colorant seul pour la dose 32 mg et dans la série colorant + glutathion pour la dose 36 mg. Ces données sont retrouvées sur le tableau -47- qui donne les "valeurs moyennes" des concentrations calculées comme dans le tableau -14-.

Dose injectée mg/h		8	16	24	32	36
Concentration biliaire moyenne mg/100 ml échantillons n° 2 à 7	avec glutathion	527	934	1064	1067	1265
	sans glutathion	546	963	1079	1255	1134

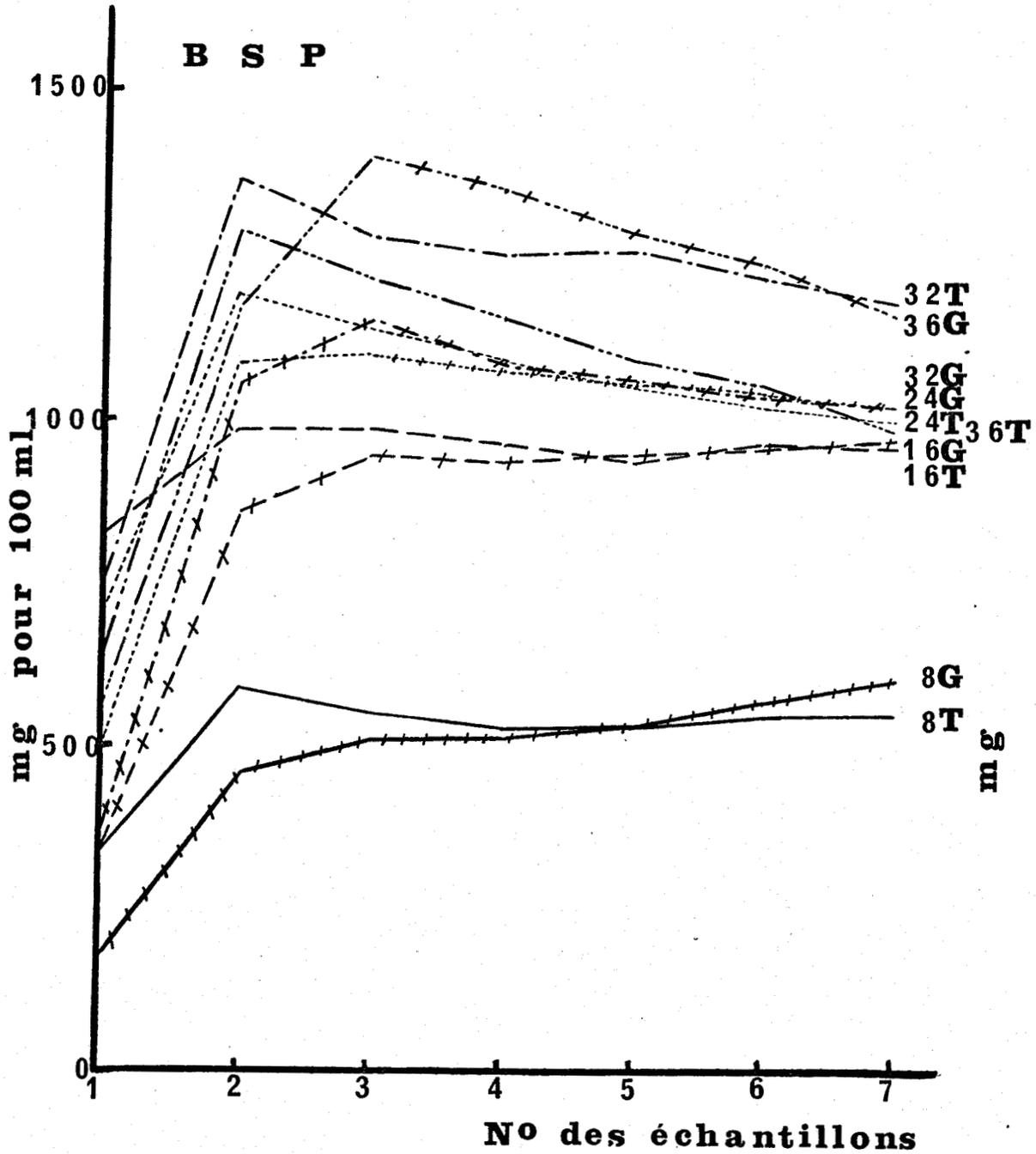
Tableau -47 -

Figure 20 - Animal anesthésié -

Concentrations biliaires de la B.S.P. totale aux différents taux d'injection du colorant.

T : séries sans glutathion

G : séries avec glutathion.



N°	Date	Poids du rat	Volume de bile $\mu\text{l}/30\text{min.}$							B. S. P. $\text{mg}/100\text{ml.}$							B. S. P. $\mu\text{g}/30\text{min.}$						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2301	30.6.67	295	360	420	490	540	525	500	480	163	498	607	552	558	532	563	587	2092	2974	2981	2929	2660	2702
G 2306	06.7.67	265	585	585	600	640	530	560	535	224	500	484	465	464	459	540	1310	2925	2904	2976	2459	2570	2889
G 2308	07.7.67	255	365	340	355	335	285	255	250	131	398	454	486	450	441	440	478	1353	1612	1628	1282	1125	1100
G 2313	19.7.67	280	500	580	630	560	480	300	230	340	499	498	444	558	660	619	1700	2894	3137	2486	2678	1980	1424
G 2314	20.7.67	280	690	800	790	790	750	650	700	166	339	388	388	427	456	492	1145	2712	3065	3065	3202	2964	3444
G 2317	25.7.67	300	420	665	670	680	600	570	605	134	406	418	408	445	490	509	563	2700	2801	2774	2670	2793	3079
G 2321	27.7.67	300	450	545	485	470	445	375	325	184	479	561	584	599	613	651	828	2611	2721	2745	2666	2299	2116
G 2323	31.7.67	290	485	650	635	570	600	550	535	224	435	499	475	491	552	557	1086	2827	3169	2707	2946	3036	2980
G 2325	02.8.67	270	570	420	510	520	495	470	465	132	410	510	483	530	568	591	752	1722	2601	2512	2623	2670	2748
G 2327	04.8.67	250	450	455	575	555	550	490	445	216	545	532	573	573	625	677	972	2480	3059	3180	3151	3062	3013
G 2328	07.8.67	250	315	380	390	400	400	360	380	245	648	723	750	728	797	860	772	2462	2820	3000	2912	2869	3268
G 2329	08.8.67	270	515	510	500	520	550	510	485	88	276	388	458	458	544	619	453	1408	1940	2382	2519	2774	3002
G 2330	10.8.67	280	645	720	650	575	540	440	600	165	343	414	452	503	563	619	1064	2470	2691	2599	2716	2477	3714
G 2338	18.8.67	265	320	400	435	415	405	405	360	187	552	527	538	577	587	665	598	2208	2292	2233	2337	2377	2394
G 2341	28.8.67	275	450	555	510	520	580	500	495	184	452	584	566	571	605	613	828	2508	2978	2943	3312	3025	3034
Moyennes		275	475	535	548	539	516	462	459	186	452	506	508	529	566	601	876	2358	2718	2681	2693	2579	2727

Tableau -48- Rat anesthésié - Infusion simultanée, par heure,
de B.S.P. 8 mg et de glutathion 2,95 mg.
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2301	30.6.67	295	42,9	27,4	21,2	22,1	22,1	20,8	19,4	57,1	72,6	78,8	77,9	77,9	79,2	80,6
G 2306	06.7.67	265	36,1	28,3	28,2	28,4	28,9	25,5	22,6	63,9	71,7	71,8	71,6	71,1	74,5	77,4
G 2308	07.7.67	255	34,0	21,6	16,8	14,3	12,8	16,1	15,4	66,0	78,4	83,2	85,7	87,2	83,9	84,6
G 2313	19.7.67	280	37,7	26,0	24,6	21,5	17,3	14,9	17,0	62,3	74,0	75,4	78,5	82,7	85,1	83,0
G 2314	20.7.67	280	52,2	37,0	32,0	31,3	27,6	26,0	26,1	47,8	63,0	68,0	68,7	72,4	74,0	73,9
G 2317	25.7.67	300	37,9	27,1	27,2	25,9	25,7	24,6	22,7	62,1	72,9	72,8	74,1	74,3	75,4	77,3
G 2321	27.7.67	300	38,5	24,6	18,8	18,5	21,3	14,1	22,0	61,5	75,4	81,2	81,5	78,7	85,9	78,0
G 2323	31.7.67	290	40,5	29,4	28,1	26,9	26,5	22,1	20,9	59,5	70,6	71,9	73,1	73,5	77,9	79,1
G 2325	02.8.67	270	47,9	29,1	25,3	23,2	19,4	19,7	21,5	52,1	70,9	74,7	76,8	80,6	80,3	78,5
G 2327	04.8.67	250	45,3	30,2	31,3	27,5	25,4	23,4	21,0	54,7	69,8	68,7	72,5	74,6	76,6	79,0
G 2328	07.8.67	250	40,0	27,1	24,4	24,0	22,9	19,6	9,1	60,0	72,9	75,6	76,0	77,1	80,4	90,9
G 2329	08.8.67	270	45,2	40,2	36,1	32,5	27,7	23,2	22,6	54,8	59,8	63,9	67,5	72,3	76,8	77,4
G 2330	10.8.67	280	43,3	35,6	29,1	23,4	18,7	14,7	13,4	56,7	64,4	70,9	76,6	81,3	85,3	86,6
G 2338	18.8.67	265	32,6	20,5	19,4	17,7	16,9	15,3	12,0	67,4	79,5	80,6	82,3	83,1	84,7	88,0
G 2341	28.8.67	275	47,5	40,6	33,3	31,7	31,2	29,5	26,4	52,5	59,4	66,7	68,3	68,8	70,5	73,6
Moyennes		275	41,4	29,6	26,4	24,6	23,0	20,6	19,5	58,6	70,4	73,6	75,4	77,0	79,4	80,5
Valeurs absolues en µg/30min.			363	698	718	660	619	531	532	513	1660	2000	2021	2074	2048	2195

Tableau -49- Rat anesthésié - Infusion simultanée, par heure,
de B.S.P. 8 mg et de glutathion 2,95 mg.
Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile en µl/30 min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. µg/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
			G 2373	11.10.67	260	440	560	645	660	640	620	530	237	893	907	892	899	958	976	1043	5001	5850	5887
G 2377	12.10.67	260	460	550	660	645	670	610	565	131	594	880	881	941	928	988	603	3267	5808	5682	6305	5661	5582
G 2379	13.10.67	260	520	540	670	700	660	645	560	405	928	940	919	976	1000	965	2106	5011	6298	6433	6442	6450	5404
G 2381	16.10.67	280	455	555	600	550	620	605	550	348	932	1052	1018	1063	1018	1024	1583	5173	6312	5599	6591	6159	5632
G 2383	17.10.67	260	320	410	450	415	380	250	190	308	994	1186	1186	1202	1210	1108	986	4075	5337	4922	4568	3025	2105
G 2384	18.10.67	250	475	600	600	660	610	590	500	332	784	898	865	877	913	959	1577	4704	5388	5709	5350	5387	4795
G 2385	19.10.67	270	550	710	850	870	800	700	670	138	708	784	741	764	821	775	759	5027	6664	6447	6112	5747	5193
G 2391	24.10.67	270	570	660	750	760	670	660	590	396	817	805	817	841	845	898	2257	5392	6038	6209	5635	5577	5298
G 2392	25.10.67	245	420	515	540	545	635	630	640	380	1030	1003	1048	994	949	917	1596	5305	5416	5712	6312	5979	5869
G 2393	26.10.67	275	520	575	625	665	680	640	580	405	979	1114	1121	1135	1102	1138	2106	5629	6963	7455	7718	7053	6600
G 2396	27.10.67	280	700	710	850	890	800	660	590	410	806	799	746	790	895	916	2870	5723	6792	6639	6320	5907	5404
G 2399	30.10.67	275	425	590	640	670	675	530	490	489	1048	1024	946	937	997	1040	2078	6183	6554	6338	6325	5284	5096
G 2401	31.10.67	270	420	545	610	650	640	590	520	311	755	811	817	760	717	678	1306	4115	4947	5311	4864	4230	3526
G 2402	02.11.67	280	620	625	655	670	700	670	680	387	886	923	979	898	958	985	2399	5538	6046	6559	6286	6419	6698
G 2404	03.11.67	290	700	680	630	680	550	580	470	560	732	961	1048	1051	1096	1123	3920	4978	6054	7126	5780	6357	5278
Moyennes		268	506	588	652	669	649	599	542	349	859	939	935	942	960	966	1813	5008	6031	6135	6024	5678	5177

Tableau -50- Rat anesthésié - Infusion simultanée, par heure,
de B.S.P. 16 mg et de glutathion 5,9 mg.
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	pois du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2373	11. 10. 67	260	32,4	16,7	16,7	15,4	15,5	14,1	15,7	67,6	83,3	83,3	84,6	84,5	85,9	84,3
G 2377	12. 10. 67	260	33,3	24,7	19,2	18,2	17,8	16,2	15,0	66,7	75,3	80,8	81,8	82,2	83,8	85,0
G 2379	13. 10. 67	260	33,4	21,1	19,4	18,8	17,8	17,6	16,0	66,6	78,9	80,6	81,2	82,2	82,4	84,0
G 2381	16. 10. 67	280	33,0	17,1	13,2	12,9	12,6	13,9	11,4	67,0	82,9	86,8	87,1	87,4	86,1	88,6
G 2383	17. 10. 67	260	34,5	19,3	12,7	12,2	12,3	14,4	18,4	65,5	80,7	87,3	87,8	87,7	85,6	81,6
G 2384	18. 10. 67	250	33,3	19,4	17,5	15,6	16,6	15,4	13,5	66,7	80,6	82,5	84,4	83,4	84,6	86,5
G 2385	19. 10. 67	270	39,4	21,9	19,9	20,3	19,3	21,6	19,6	60,6	78,1	80,1	79,7	80,7	78,4	80,4
G 2391	24. 10. 67	270	33,8	18,3	15,4	14,0	14,0	13,2	12,9	66,2	81,7	84,6	86,0	86,0	86,8	87,1
G 2392	25. 10. 67	245	29,4	16,6	12,4	12,4	12,6	12,8	7,6	70,6	84,4	87,6	87,6	87,4	87,2	92,4
G 2393	26. 10. 67	275	36,9	23,4	19,0	18,4	17,3	16,7	15,1	63,1	76,6	81,0	81,6	82,7	83,3	84,9
G 2396	27. 10. 67	280	35,7	26,0	21,6	19,5	18,3	17,8	16,5	64,3	74,0	78,4	80,5	81,7	82,2	83,5
G 2399	30. 10. 67	275	24,7	17,1	18,1	17,9	17,0	18,4	17,8	75,3	82,9	81,9	82,1	83,0	81,6	82,2
G 2401	31. 10. 67	270	21,9	15,2	15,3	18,0	19,7	22,1	27,3	78,1	84,8	84,7	82,0	80,3	77,9	72,7
G 2402	02. 11. 67	280	28,8	15,4	15,2	14,5	14,5	13,6	12,8	71,2	84,6	84,8	85,5	85,5	86,4	87,2
G 2404	03. 11. 67	290	30,4	23,5	19,2	15,7	15,4	13,9	13,6	69,6	76,5	80,8	84,3	84,6	86,1	86,4
Moyennes		268	32,1	19,6	17,0	16,2	16,0	16,1	15,5	67,9	80,4	83,0	83,8	84,0	83,9	84,5
Valeurs absolues en µg/30min.			582	982	1025	994	964	914	802	1231	4026	5006	5141	5060	4764	4375

Tableau -51- Rat anesthésié - Infusion simultanée, par heure,
de B.S.P. 16 mg et de glutathion 5,9 mg.

Formes Libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile $\mu\text{l}/30\text{min.}$							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. $\mu\text{g}/30\text{min.}$						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2495	20.12.67	250	420	590	585	550	530	375	240	384	972	1076	988	982	964	974	1613	5735	6295	5434	5205	3656	2338
G 2497	21.12.67	280	420	555	600	590	660	580	420	654	1153	1221	1165	1080	1018	984	2747	6399	7326	6873	7128	5904	4133
G 2500	27.12.67	280	530	670	790	800	840	790	740	846	1295	1213	1181	1088	1076	1026	4484	8676	9582	9448	9139	8500	7592
G 2503	28.12.67	250	480	490	400	270	140	75	50	444	812	692	668	674	628	594	2131	3979	2768	1804	944	471	297
G 2505	29.12.67	280	630	755	830	810	660	700	520	476	1088	1064	1054	1125	1205	1193	2999	8214	8831	8537	7425	8435	6204
G 2507	03.01.68	275	545	645	690	715	635	525	430	428	1111	1133	1125	1133	1076	950	2333	7166	7818	8044	7194	5649	4085
G 2510	04.01.68	250	480	550	635	650	650	690	585	608	1259	1259	1219	1209	1145	1085	2918	6924	7995	7923	8463	7900	6347
G 2512	05.01.68	260	390	600	670	580	540	395	250	402	1193	1165	1133	1105	1085	1063	1568	7158	7805	6571	5967	4286	2657
G 2514	08.01.68	250	480	590	615	620	560	430	280	458	1117	1059	1027	1027	972	980	2158	6590	6513	6367	5751	4180	2744
G 2516	09.01.68	280	570	610	690	545	390	345	230	556	1229	1219	1193	1145	1141	1145	3169	7497	8411	6502	4465	3936	2633
G 2517	10.01.68	290	690	890	1065	1080	900	760	460	632	944	886	860	860	924	974	4361	8402	9436	9288	7740	7022	4480
G 2521	11.01.68	280	580	720	820	830	785	750	605	674	996	980	1153	1169	1205	1233	3909	7171	8036	9570	9177	9037	7460
G 2525	12.01.68	275	540	655	695	570	655	570	470	326	1055	1145	1125	1077	1027	1007	1760	6910	7958	6412	7054	5854	4733
G 2528	15.01.68	270	450	505	555	550	420	330	140	384	1041	1145	1065	1007	982	950	1728	5257	6355	5858	4229	3241	1330
G 2529	16.01.68	265	440	610	700	665	595	540	505	358	1101	1193	1165	1197	1189	1107	1575	6716	8351	7747	7122	6421	5590
Moyennes		269	510	629	689	655	601	524	395	509	1091	1097	1075	1058	1042	1018	2633	6853	7565	7092	6467	5633	4175

Tableau -52- Rat anesthésié - Infusion simultanée, par heure, de B.S.P. 24 mg et de glutathion 8,85 mg. Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE							B. S. P. CONJUGUEE						
			% de la B. S. P. totale							% de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2495	20.12.67	250	23,7	13,3	15,1	14,7	16,9	34,4	41,9	76,3	86,7	84,9	85,3	83,1	65,6	58,1
G 2497	21.12.67	280	26,4	14,8	13,1	14,0	15,5	18,1	20,4	73,6	85,2	86,9	86,0	84,5	81,9	79,6
G 2500	27.12.67	280	22,1	16,3	13,3	12,1	14,4	10,6	12,0	77,9	83,7	86,7	87,9	85,6	89,4	88,0
G 2503	28.12.67	250	19,7	24,7	30,0	51,6	44,0	42,5	41,9	80,3	75,3	70,0	48,4	56,0	57,5	58,1
G 2505	29.12.67	280	30,1	17,6	13,7	14,9	12,9	11,0	11,3	69,9	82,4	86,3	85,1	87,1	89,0	88,7
G 2507	03.01.68	275	28,9	15,4	13,2	13,3	13,8	15,4	20,0	71,1	84,6	86,8	86,7	86,2	84,6	80,0
G 2510	04.01.68	250	23,5	14,1	12,9	14,0	12,7	13,9	13,7	76,5	85,9	87,1	86,0	87,3	86,1	86,3
G 2512	05.01.68	260	25,9	14,2	13,9	15,6	18,9	23,4	31,3	74,1	85,8	86,1	84,4	81,1	76,6	68,7
G 2514	08.01.68	250	26,5	12,6	13,0	13,2	15,7	19,9	26,1	73,5	87,4	87,0	86,8	84,3	80,1	73,9
G 2516	09.01.68	280	24,7	13,1	11,1	11,4	14,9	19,6	27,1	75,3	86,9	88,9	88,6	85,1	80,4	72,9
G 2517	10.01.68	290	19,5	12,8	11,9	11,4	11,7	9,8	10,5	80,5	87,2	88,1	88,6	88,3	90,2	89,5
G 2521	11.01.68	280	26,4	14,9	13,8	13,7	13,8	15,2	15,1	73,6	85,1	86,2	86,3	86,2	84,8	84,9
G 2525	12.01.68	275	35,4	17,0	14,0	14,4	15,5	14,9	18,2	64,6	83,0	86,0	85,6	84,5	85,1	81,8
G 2528	15.01.68	270	30,8	16,1	14,0	15,4	18,7	24,5	29,7	69,2	83,9	86,0	84,6	81,3	75,5	70,3
G 2529	16.01.68	265	37,5	19,5	15,5	15,9	15,4	18,1	20,3	62,5	80,5	84,5	84,1	84,6	81,9	79,7
Moyennes		269	26,7	15,8	14,6	16,4	17,0	19,4	22,6	73,3	84,2	85,4	83,6	83,0	80,6	77,4
Valeurs absolues en µg/30min.			703	1083	1104	1163	1099	1093	944	1930	5770	6461	5929	5368	4540	3231

Tableau -53- Rat anesthésié - Infusion simultanée, par heure,
de B.S.P. 24 mg et de glutathion 8,85 mg.
Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile μ l/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. μ g/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
			G 2434	16.11.67	265	555	680	650	540	325	230	125	506	1089	918	810	836	836	848	2808	7405	5967	4374
G 2443	21.11.67	300	565	750	825	745	525	325	130	450	1329	1301	1257	1135	1189	1197	2543	9968	40733	9365	5959	3864	1556
G 2446	22.11.67	275	640	720	730	655	495	280	150	684	1035	914	918	790	710	636	4378	7452	6672	6013	3911	1988	954
G 2452	22.11.67	270	515	650	710	600	350	215	75	700	1085	1065	942	832	832	850	3605	7053	7562	5652	2912	1789	688
G 2453	27.11.67	275	390	495	535	430	240	100	45	158	1185	1283	1113	1189	1193	1238	616	5866	6864	4786	2854	1193	557
G 2460	30.11.67	290	450	505	530	600	480	310	195	184	968	1193	1045	968	904	814	828	4888	6323	6270	4646	2802	1587
G 2462	01.12.67	280	385	510	500	410	235	120	60	322	1017	966	776	792	828	866	1240	5187	4830	3182	1861	994	520
G 2465	04.12.67	270	370	400	480	410	440	325	130	100	512	1283	1329	1409	1261	1237	370	2048	6158	5449	6200	4098	1608
G 2475	07.12.67	285	430	585	720	660	710	640	570	368	1191	1237	1265	1287	1279	1273	1582	6967	8906	8349	9138	8186	7256
G 2477	08.12.67	285	465	675	800	800	800	700	600	382	1209	1153	1305	1287	1257	1107	1776	8161	9224	10440	10296	8799	6642
G 2480	11.12.67	285	480	650	690	730	620	430	150	232	982	1021	968	934	864	786	1114	6383	7045	7066	5791	3715	1179
G 2482	12.12.67	275	400	500	490	350	225	155	80	450	988	880	906	922	904	880	1800	4940	4312	3171	2075	1401	704
G 2487	14.12.67	285	340	450	450	370	280	225	170	362	978	1125	1108	1135	1178	1235	1231	4401	5063	4100	3178	2651	2100
G 2489	15.12.67	285	510	610	650	500	510	390	270	422	1083	1253	1401	1301	1301	1258	2152	6606	8145	7005	6635	5074	3397
G 2491	18.12.67	270	370	685	760	795	460	520	350	380	1145	1128	1085	1078	1030	1058	1406	7843	8573	8626	4959	5356	3703
Moyennes		280	458	591	635	573	446	331	207	380	1053	1147	1082	1060	1038	1019	1830	6345	7091	6257	4875	3589	2231

Tableau -54- Rat anesthésié - Infusion simultanée, par heure,
de B.S.P. 32 mg et de glutathion 11,8 mg.
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE % de la B. S. P. totale							B. S. P. CONJUGUEE % de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
			G2434	16. 11. 67	265	21,7	15,9	20,9	27,7	36,5	43,2	45,0	78,3	84,1	79,1	72,3
G2443	21. 11. 67	300	31,5	15,9	16,4	18,1	25,9	36,3	44,9	68,5	84,1	83,6	81,9	74,1	63,7	55,1
G2446	22. 11. 67	275	21,7	15,0	12,7	15,1	21,2	30,9	45,0	78,3	85,0	87,3	84,9	78,8	69,1	55,0
G2452	24. 11. 67	270	23,2	15,5	15,5	21,3	30,3	44,6	48,5	76,8	84,5	84,5	78,7	69,7	55,4	51,5
G2453	27. 11. 67	275	37,5	14,9	16,3	24,0	32,5	39,0	45,1	62,5	85,1	83,7	76,0	67,5	61,0	54,9
G2460	30. 11. 67	290	39,7	19,8	11,7	17,8	24,5	28,7	36,5	60,3	80,2	88,8	82,2	75,5	71,3	63,5
G2462	01. 12. 67	280	26,1	15,0	17,8	29,4	30,8	47,7	53,1	73,9	85,0	82,2	70,6	60,2	52,3	46,9
G2465	04. 12. 67	270	21,1	22,6	14,4	14,3	24,6	39,8	36,3	78,9	77,4	85,6	85,7	75,4	69,2	63,7
G2475	07. 12. 67	285	33,1	14,5	12,2	12,5	15,2	15,1	21,3	66,9	85,5	87,8	87,5	84,8	84,9	78,7
G2477	08. 12. 67	285	25,9	14,6	14,6	13,7	15,1	18,3	22,1	74,1	85,4	85,4	86,3	84,9	81,7	77,9
G2480	11. 12. 67	285	48,2	19,9	13,5	13,8	14,3	18,1	21,4	51,8	80,1	86,5	86,2	85,7	81,9	78,6
G2482	12. 12. 67	275	21,0	18,9	20,4	27,7	40,1	45,4	48,5	79,0	81,1	79,6	72,3	59,9	54,6	51,5
G2487	14. 12. 67	285	39,6	19,9	18,7	25,6	34,0	42,2	50,1	60,4	80,1	81,3	74,4	66,0	57,8	49,9
G2489	15. 12. 67	285	32,3	17,3	14,9	12,2	13,5	19,0	26,5	67,7	82,7	85,1	87,8	86,5	81,0	73,5
G2491	18. 12. 67	270	33,3	18,9	13,8	14,3	15,5	18,8	22,6	66,7	81,1	86,2	85,7	84,5	81,2	77,4
Moyennes		280	30,4	17,2	15,6	19,2	25,5	31,9	37,8	69,6	82,8	84,4	80,8	74,5	68,1	62,2
Valeurs absolues en µg/30min.			556	1091	1106	1201	1243	1145	843	1274	5254	5985	5056	3633	2444	1388

Tableau -55- Rat anesthésié - Infusion simultanée, par heure,
de B.S.P. 32 mg et de glutathion 11,8 mg.
Formes libre et conjuguée du colorant.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile μ l/30min.							B. S. P. mg/100ml							B. S. P. 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
G 2549	22.1.68	300	440	620	675	680	350	155	50	318	1140	1396	1345	1295	1200	1020	1399	7068	9423	9146	4533	1860	510
G 2554	23.1.68	270	610	695	690	660	600	470	295	575	1418	1583	1571	1503	1468	1461	3508	9855	10923	10369	9018	6900	4310
G 2563	25.1.68	260	430	580	570	560	515	400	240	345	1040	1388	1363	1258	1173	1123	1484	6032	7912	7633	6479	4692	2695
G 2568	26.1.68	265	600	675	790	750	710	755	640	455	1290	1406	1360	1345	1215	1225	2730	8708	11107	10200	9550	9173	7840
G 2570	29.1.68	270	725	920	1105	1095	1015	915	780	500	1160	1258	1195	1135	1135	1093	3625	10672	13901	13085	11520	10385	8525
G 2583	05.2.68	290	515	640	660	675	570	435	250	395	1104	1493	1406	1351	1296	1296	2034	7066	9854	9491	7701	5638	3240
G 2597	09.2.68	260	380	440	470	355	210	80	40	460	1285	1315	1098	1020	1008	1008	1748	5654	6180	3898	2142	806	403
G 2599	12.2.68	300	575	695	730	765	735	575	380	313	1340	1551	1468	1416	1388	1295	1800	9313	11322	11230	10408	7981	4921
G 2604	13.2.68	275	570	645	750	750	600	400	280	655	1140	1215	1173	1120	1013	978	3733	7353	9112	8797	6720	4052	2738
G 2607	14.2.68	280	510	675	640	650	580	510	385	1005	1243	1320	1370	1325	1320	1130	5125	8390	8448	8905	7685	6732	4350
G 2614	16.2.68	270	555	680	750	730	710	505	300	720	1441	1513	1436	1290	1250	1210	3996	9799	11347	10483	9159	6312	3630
G 2620	20.2.68	290	855	1040	1110	1175	1025	900	790	513	1180	1228	1228	1213	1245	1205	4386	12272	13631	14429	12609	11205	9519
G 2623	21.2.68	290	515	755	850	890	860	870	715	720	1123	1245	1270	1188	1140	1085	3708	8479	10582	11303	10217	9918	7758
G 2625	22.2.68	275	550	500	880	880	700	420	80	468	1130	1448	1360	1285	1243	878	2574	5650	12742	11968	8995	5221	702
G 2626	22.2.68	285	640	550	810	840	800	780	670	928	1546	1573	1513	1503	1458	1345	5939	8503	12741	12709	12024	11372	9011
Moyennes		279	565	674	765	764	665	545	393	558	1172	1395	1344	1283	1237	1157	3186	8321	10615	10243	8584	6818	4676

Tableau -56- Rat anesthésié - Infusion simultanée, par heure,
de B.S.P. 36 mg et de glutathion 12,25 mg.
Concentrations et débits de la B.S.P. totale.

N°	Date	Poids du rat	B. S. P. LIBRE							B. S. P. CONJUGUEE						
			% de la B. S. P. totale							% de la B. S. P. totale						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2549	22.1.68	300	40,0	17,3	13,0	16,3	20,6	28,6	36,3	60,0	82,7	87,0	83,7	79,4	71,4	63,7
G 2554	23.1.68	270	30,8	14,1	12,3	12,3	13,8	17,5	23,0	69,2	85,9	87,7	87,7	86,2	82,5	77,0
G 2563	25.1.68	260	39,5	16,8	10,4	9,7	13,6	18,0	25,5	60,5	83,2	89,6	90,3	86,4	82,0	74,5
G 2568	26.1.68	265	31,4	15,3	11,3	11,0	10,8	12,4	16,5	68,6	84,7	88,7	89,0	89,2	87,6	83,5
G 2570	29.1.68	270	39,7	23,0	14,9	14,2	13,8	16,5	15,5	60,3	77,0	85,1	85,8	86,2	83,5	84,5
G 2583	05.2.68	290	36,1	19,9	13,7	15,5	19,2	25,3	34,9	63,9	80,1	86,3	84,5	80,8	74,7	65,1
G 2597	09.2.68	260	33,3	18,0	15,7	19,5	28,6	38,8	44,9	66,7	82,0	84,3	80,5	71,4	61,2	55,1
G 2599	12.2.68	300	36,6	15,5	12,3	13,2	14,7	17,4	21,0	63,4	84,5	87,7	86,8	85,3	82,6	79,0
G 2604	13.2.68	275	31,2	16,0	15,4	13,3	26,2	34,1	41,7	68,8	84,0	84,6	80,7	73,8	65,9	58,3
G 2607	14.2.68	280	19,9	16,2	14,0	13,8	16,5	18,0	25,5	80,1	83,8	86,0	86,2	83,5	82,0	74,5
G 2614	16.2.68	270	22,9	13,8	11,8	13,3	16,5	22,2	30,1	77,1	86,2	88,2	86,7	83,5	77,8	69,9
G 2620	20.2.68	290	34,7	18,6	12,8	14,2	13,9	14,0	15,6	65,3	81,4	87,2	85,8	86,1	86,0	84,4
G 2623	21.2.68	290	10,3	13,9	13,4	12,6	13,4	16,8	18,3	89,7	86,1	86,6	87,4	86,6	83,2	81,7
G 2625	22.2.68	275	32,5	19,2	12,5	13,1	15,6	22,9	37,5	67,5	80,8	87,5	86,9	84,4	77,1	62,5
G 2626	22.2.68	285	16,2	13,0	11,7	12,3	12,7	14,6	16,5	83,8	87,0	88,3	87,7	87,3	85,4	83,5
Moyennes		279	30,3	16,7	13,0	14,0	16,7	21,1	26,9	69,7	83,3	87,0	86,0	83,3	78,9	73,1
Valeurs absolues en pg/30min.			965	1390	1380	1434	1454	1439	1258	2221	6931	9235	8809	7150	5379	3418

Tableau -57- Rat anesthésié - Infusion simultanée, par heure,
de B.S.P. 36 mg et de glutathion 13,27 mg.
Formes libre et conjuguée du colorant.

Les différences observées inférieures à 4 p. 100 pour les doses 8, 16 et 24 mg par heure peuvent être négligées et de toute façon sont au désavantage de la série B.S.P. + glutathion. Seule, la dose 36 mg donne une concentration plus élevée pour l'association B.S.P. + glutathion, mais la différence n'est que d'environ 10 p. 100. Les valeurs moyennes des échantillons 2 à 7 étant comprises entre 990 et 1289 mg/100 ml dans la série B.S.P., entre 1157 et 1395 dans la série B.S.P. + glutathion, il apparaît que la différence ne peut être considérée comme ayant une signification, ce qui est confirmé par le calcul des limites de confiance.

	moyennes	σ_m	Limites pour $p = 0,05$	
			inférieure	supérieure
B.S.P. seule	1134	140	833	1435
B.S.P. + glutathion	1265	122	1003	1527

Tableau -58-

On notera toutefois que la diminution progressive des concentrations biliaires pour les fortes doses est un peu plus faible dans la série B.S.P. + glutathion que dans la série B.S.P. seule.

Débit biliaire de la B.S.P. (figure 21)

L'évolution générale des débits de B.S.P. en fonction du temps est très superposable à celle observée dans la série colorant seul avec cependant quelques différences qui paraissent mineures :

- dose 8 mg par heure : le plateau des débits n'est obtenu qu'à partir du 3eme échantillon (au lieu du 2eme).

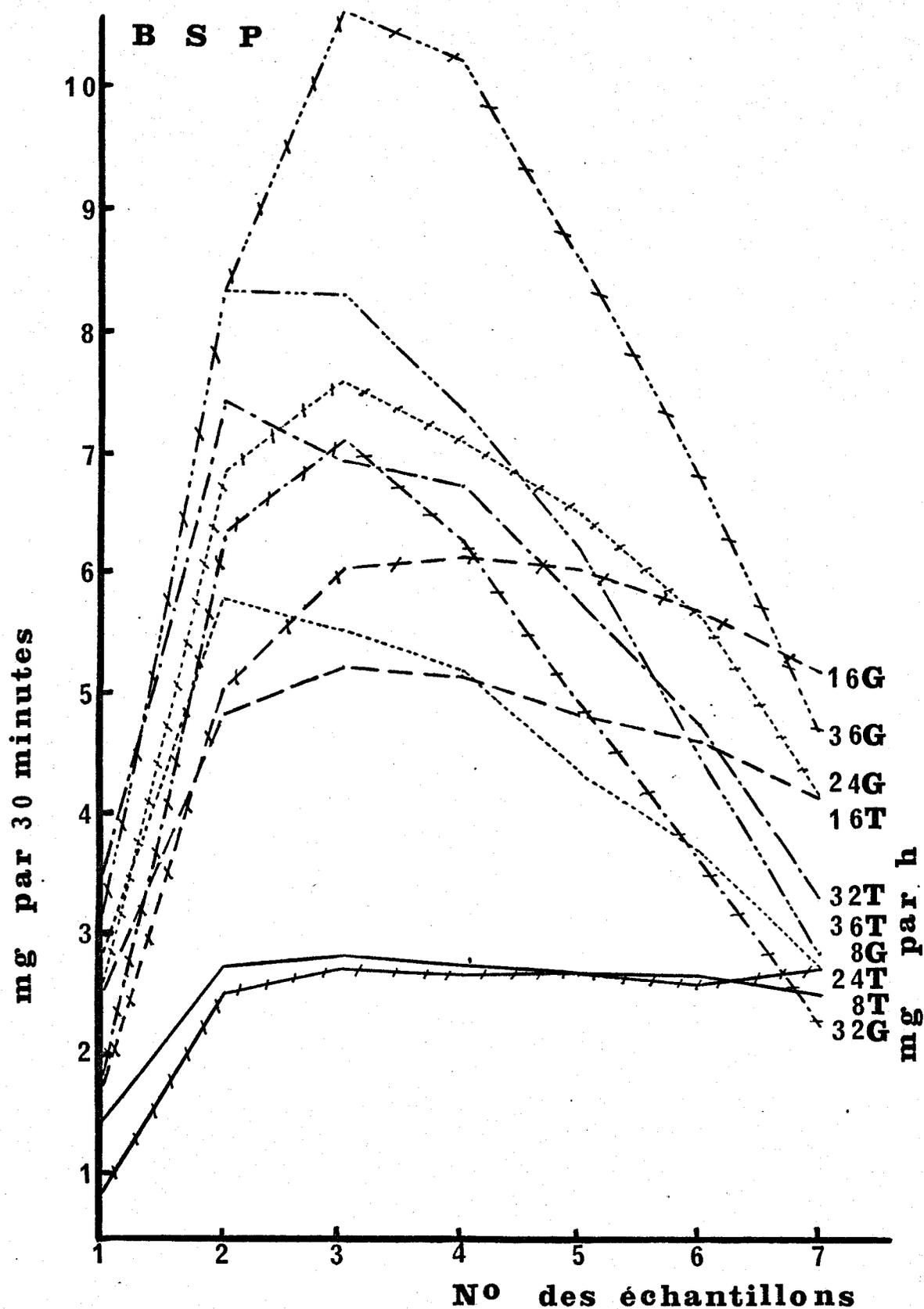


Figure 21 - Animal anesthésié -

Débits biliaires de la B.S.P. totale aux différents
taux d'injection du colorant.

T : séries sans glutathion - G : séries avec glutathion.

- dose 16 mg par heure : la courbe est franchement descendante à partir du maximum qui n'est atteint qu'au 4eme échantillon. La quantité de B.S.P. contenue dans l'échantillon n°7 est inférieure de 15,6 p. 100 à celle du n°4. Cette différence est uniquement due à la diminution du débit biliaire puisque la concentration est alors plus élevée.
- Le phénomène ci-dessus est encore beaucoup plus marqué avec les doses de 24, 32 et 36 mg par heure. Dans ces trois cas, on voit les courbes s'effondrer et on aboutit à des débits inférieurs à ceux obtenus avec 16 mg par heure. Ici encore on doit incriminer au premier chef la variation de débit biliaire et très accessoirement tenir compte de la diminution de la concentration comme le montre le tableau -59-.

Doses mg/heure	diminution en p. 100 $\left(\frac{\text{échant. 2} - \text{échant. 7}}{\text{échant. 2}} \right)$		
	débit B.S.P.	débit biliaire	concentration B.S.P.
24	39,1	37,2	6,7
32	68,7	65,0	3,2
36	43,8	41,7	1,3

Tableau -59-

L'étude graphique des débits cumulés de B.S.P. (figures 22 et 23) montre que l'excrétion biliaire du colorant est à peu près proportionnelle au temps et que la rétention somatique s'accroît en fonction de la dose.

Enfin, comme dans les séries correspondantes au colorant seul, le débit biliaire de la B.S.P. est nettement altéré après deux heures d'expérience ; cependant avec 36 mg par heure, la diminution franche du débit n'apparaît qu'au niveau du 5eme échantillon, soit après deux heures et demie.

Figure 22 - Animal anesthésié -

Débits cumulés de la B.S.P. totale pour les doses
8 à 24 mg par heure.

P : B.S.P. injectée

T : séries sans glutathion)

G : séries avec glutathion) B.S.P. biliaire.

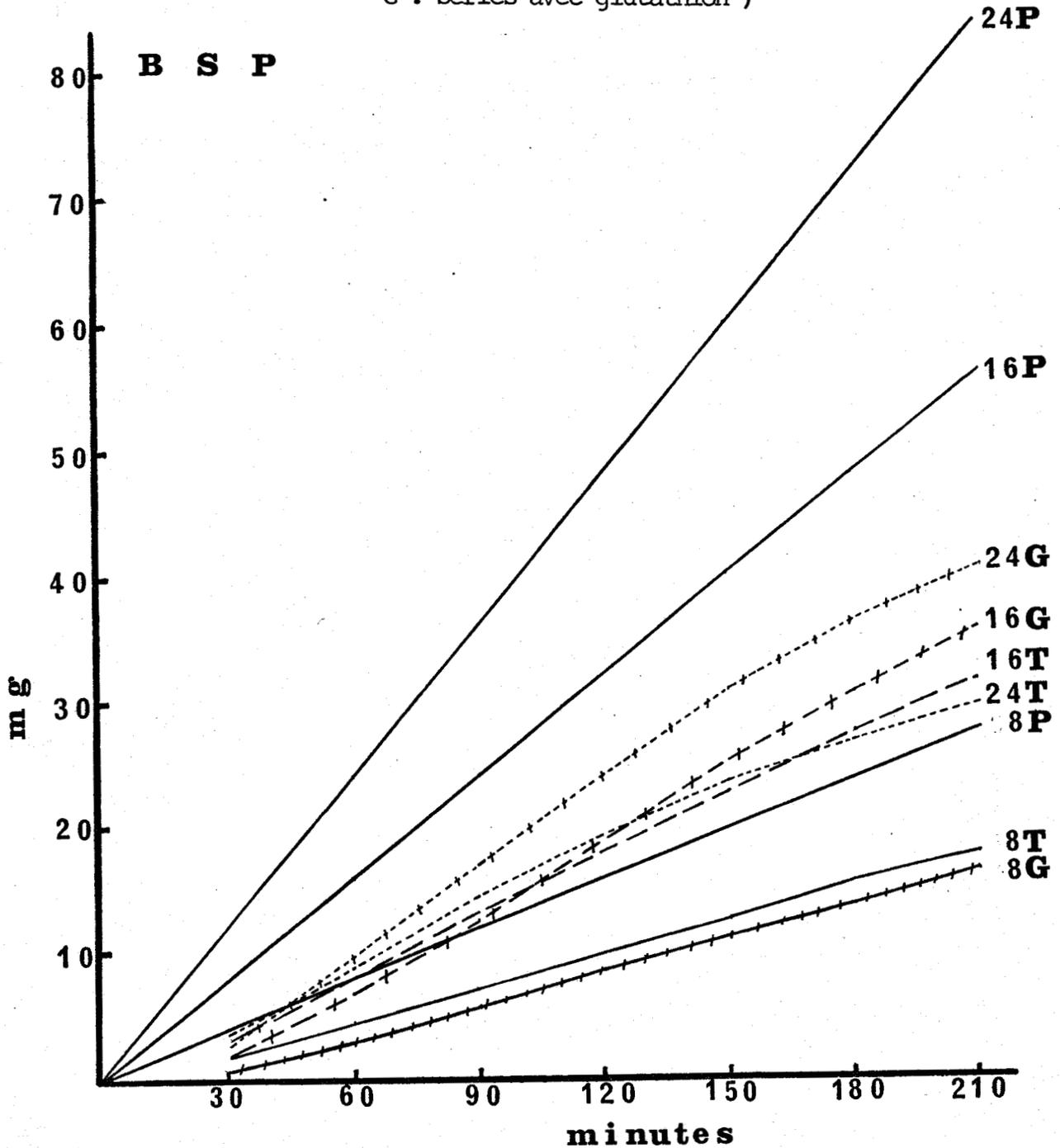


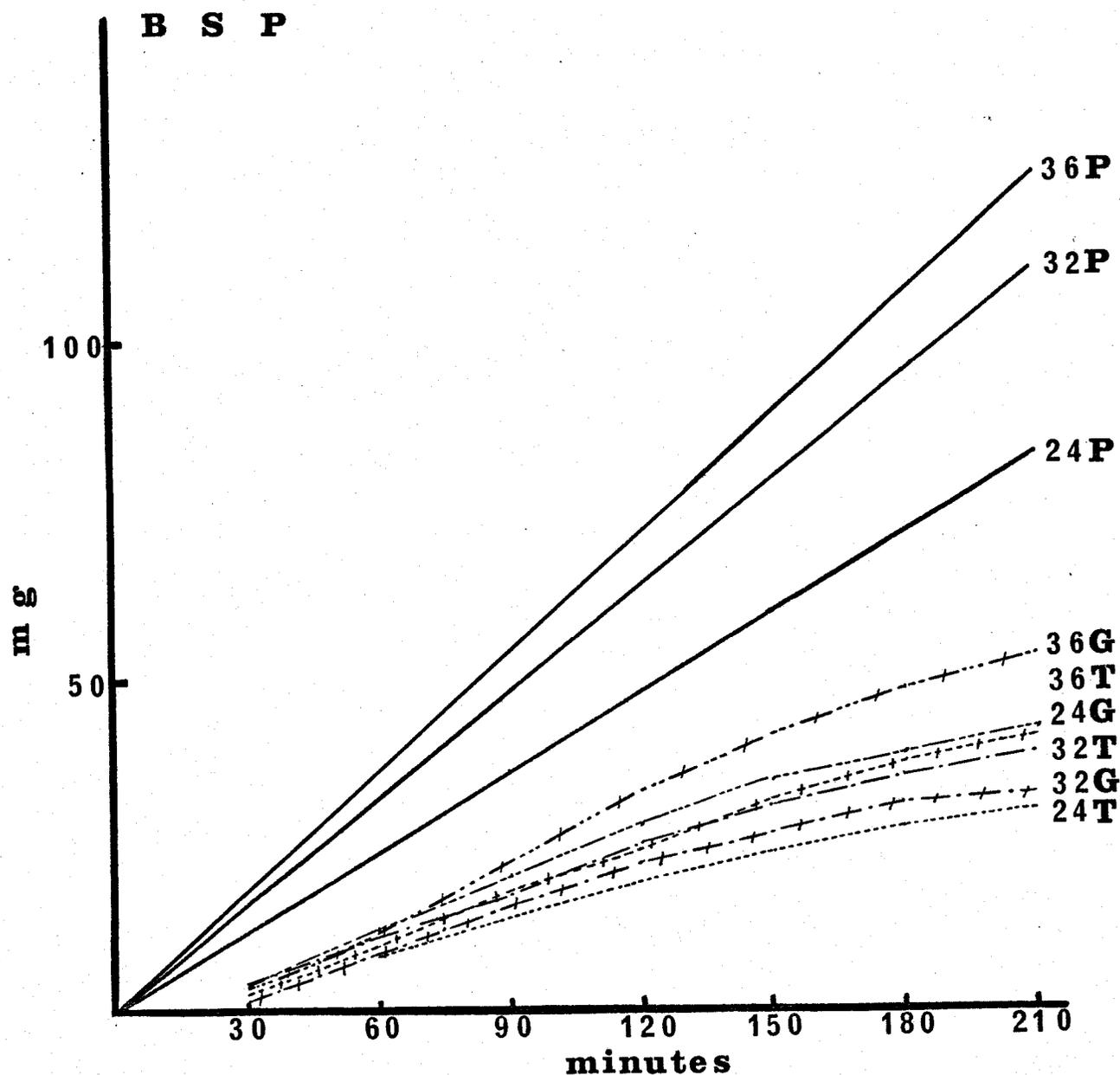
Figure 23 - ~~Animal~~ anesthésié -

Débits cumulés de la B.S.P. totale pour les doses
24 à 36 mg par heure.

P : B.S.P. injectée

T : séries sans glutathion)

G : séries avec glutathion) B.S.P. biliaire.



Si la comparaison des concentrations biliaires du colorant entre les séries B.S.P. seule et B.S.P. + glutathion a été simple, la comparaison des débits biliaires de B.S.P. est plus complexe.

On remarquera que dans trois séries sur cinq (16 - 24 et 36 mg par heure), les moyennes sont plus élevées pour la B.S.P. + glutathion que pour la B.S.P. seule ; mais dans tous les cas, les valeurs individuelles sont très dispersées.

Ceci nous conduit à rechercher par calcul, si les différences observées étaient significatives. Nous avons choisi un risque de 5 p. 100 et nous avons comparé les débits maxima dans les séries sus-mentionnées et les débits cumulés (3 heures et demie) dans toutes les séries (tableaux -60- et -61-).

Il n'est donc pas possible de dire que les excrétions cumulées de B.S.P. sont différentes dans les deux séries. Quant aux débits maxima, c'est seulement dans la série 24 mg qu'une valeur statistiquement supérieure est obtenue en présence de glutathion.

Conjugaison biliaire de la B.S.P. (figure 24)

Chez les 15 rats de chacune des 5 séries expérimentales, la B.S.P. a été séparée en fraction libre et en conjuguées par chromatographie sur papier, et le pourcentage de conjugaison a été déterminé. De même que pour l'excrétion quantitative du colorant, les courbes évoluent comme dans la série B.S.P. seule. Pour les doses 8 et 16 mg, le pourcentage de B.S.P. libre diminue au fur et à mesure que l'expérience avance, tandis que pour les doses supérieures, la B.S.P. libre passe par un minimum dans les 2ème ou 3ème échantillons pour s'élever ensuite progressivement.

Cependant, dans toutes les séries autres que 32 mg, le pourcentage est plus élevé dans le groupe B.S.P. + glutathion que dans le groupe colorant seul : la différence dans l'échantillon n°7 étant d'environ 3 p. 100 pour 8 et 16 mg, 8 p. 100 pour 36 mg et 12 p. 100 pour 24 mg. Dans la série 32 mg, la différence, de sens inverse, est de l'ordre de 4 p. 100.

Doses B.S.P.	B.S.P. + glutathion			B.S.P.		
	moyennes	limites inf.	limites sup.	moyennes	limites inf.	limites sup.
16	6135	5758	6512	5225	4644	5806
24	7565	6645	8485	5765	4977	6553
36	10615	9408	11822	8336	6965	9707

Tableau -60- Débits maxima de la B.S.P. totale
(en µg)

(noter que les débits maxima ne sont pas observés dans des échantillons de même chronologie selon qu'il s'agit de B.S.P. seule ou de B.S.P. + glutathion).

Doses B.S.P.	B.S.P. + glutathion			B.S.P.		
	moyennes	limites inf.	limites sup.	moyennes	limites inf.	limites sup.
8	16631	15116	18146	17537	15905	19169
16	35866	33265	38467	31322	27209	35435
24	40418	33977	46859	29678	23676	35680
32	32218	25916	38520	38256	31864	44648
36	52443	43845	61041	40719	31584	49854

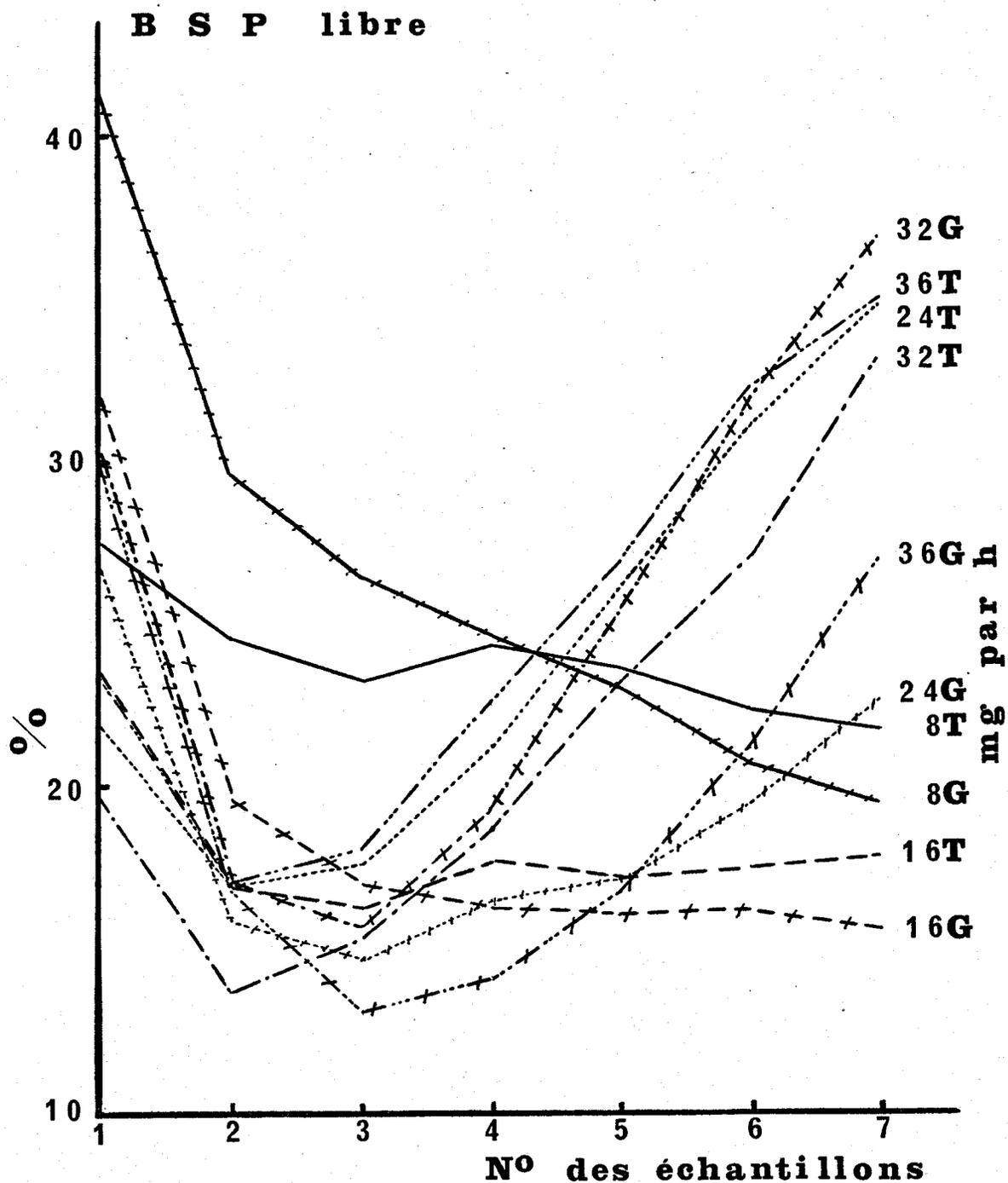
-Tableau -61- Débits cumulés (en µg) de la B.S.P. totale (en 3 heures et demie).

Figure 24 - Animal anesthésié -

Pourcentage de B.S.P. libre, en fonction du temps,
pour les différents taux d'injection du colorant.

T : séries sans glutathion

G : séries avec glutathion.



On pouvait alors se demander si la comparaison des débits de B.S.P. conjuguée n'aboutirait pas à une conclusion différente de celle obtenue lors de l'étude des débits de B.S.P. totale. Nous avons donc complété l'analyse statistique de la série 24 mg. C'est en effet, la première série où sur valeurs moyennes apparaît une augmentation de l'excrétion de la B.S.P. totale en présence de glutathion et dans laquelle le débit maximum du colorant est plus élevé. C'est également la série où cette différence est la plus importante en valeur relative, et c'est avec cette dose que le pourcentage de B.S.P. est le plus modifié par le glutathion.

Nous avons recherché, échantillon par échantillon, les limites de confiance de la quantité de B.S.P. excrétée sous forme conjuguée, nous plaçant ainsi dans les conditions les plus favorables pour observer une différence significative. Le tableau -62- donne les valeurs obtenues. On peut ainsi constater que l'administration simultanée de glutathion et de B.S.P. permet d'observer une augmentation significative du colorant conjugué seulement dans les échantillons 3 et 4.

B.S.P. conjuguée	avec glutathion			sans glutathion		
	moyennes	valeurs minimales	valeurs maximales	moyennes	valeurs minimales	valeurs maximales
1	1956	1480	2432	2235	1895	2575
2	5791	5180	6402	4819	4101	5537
3	6520	6120	6920	4587	3897	5277
4	6071	5035	7107	4052	3072	5032
5	5494	4415	6573	3360	2219	4501
6	4712	3482	5942	2774	1474	4074
7	3408	2288	4528	2068	774	3362

Tableau -62- Débits biliaires (en µg) de la B.S.P. conjuguée pour les injections

au taux de 24 mg par heure. Comparaison de la série sans glutathion avec la série glutathion - Limites de confiance des moyennes avec un risque de 5 p. 100.

- QUATRIEME PARTIE -

GLUTATHION ET CHOLERESE .

Le rôle du débit de bile dans l'excrétion de la B.S.P. est apparu fondamental au cours des différentes expériences rapportées ci-dessus. Nous avons pu en effet constater que si les variations de concentration restaient modérées dans les essais de longue durée, tels que nous les avons réalisés, les effondrements de la cholérèse entraînaient la chute massive du débit biliaire du colorant.

Nous avons également noté que, au début des expériences, la B.S.P. avait un effet cholérétique non négligeable et que de plus l'association B.S.P. + glutathion donnait généralement (pour des doses égales ou supérieures à 16 mg par heure) une augmentation de la cholérèse plus forte que celle obtenue avec le colorant seul (tableau -63- et figure 25).

<i>Doses mg/heure</i>	<i>B.S.P. seule</i>	<i>B.S.P. + glutathion</i>
16	14,9	32,2
24	18,2	35,1
32	19,4	38,6
36	30,6	35,4

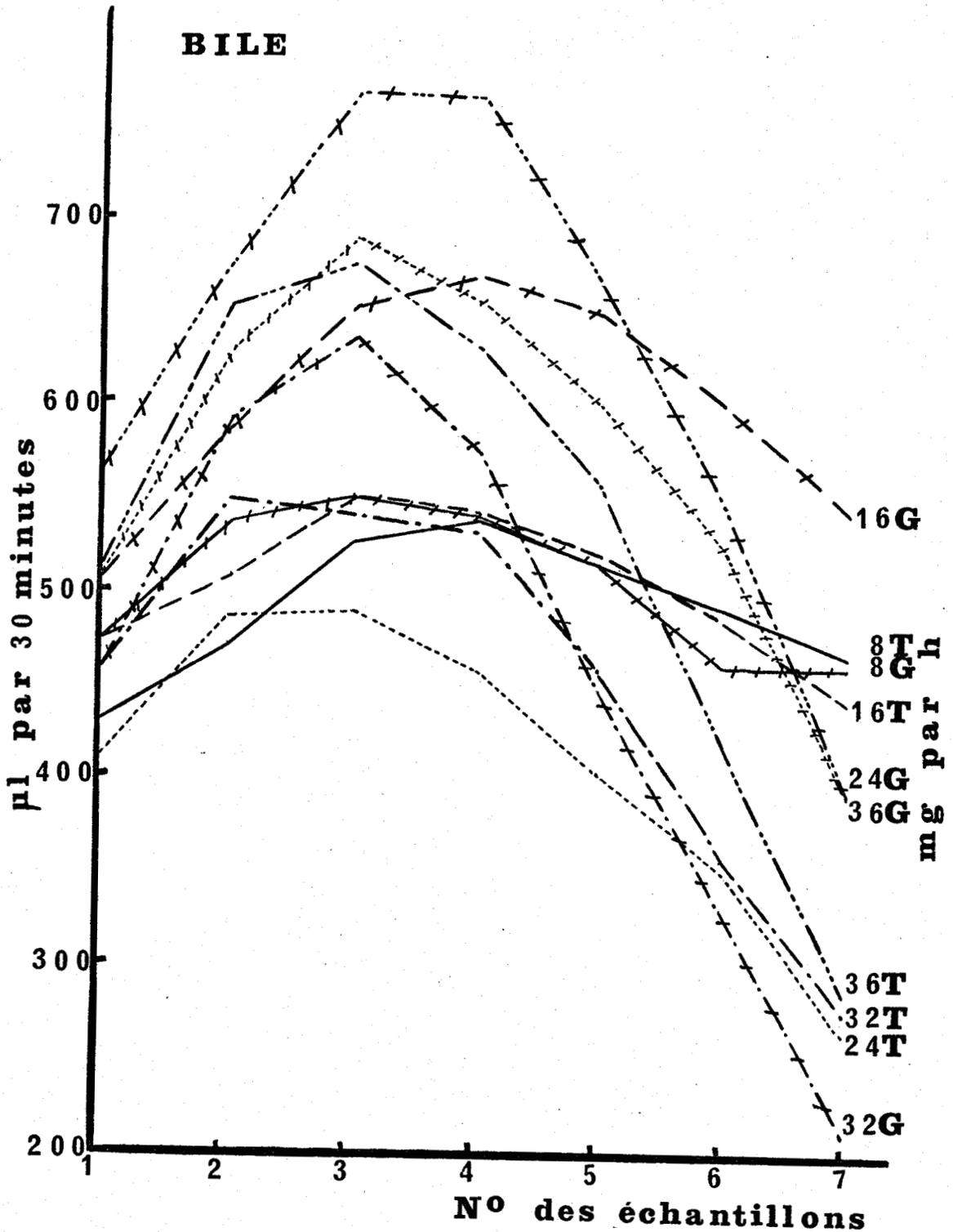
Tableau -63- Comparaison de l'action cholérétique de la B.S.P. seule et de la B.S.P. + glutathion - Pourcentage de l'augmentation entre l'échantillon le plus élevé et l'échantillon n°1 par rapport au n°1.

En raison de l'incidence de ce fait sur les débits du colorant, nous avons pensé nécessaire de rechercher l'action du glutathion seul sur la cholérèse. Dans une série de 10 animaux nous avons réalisé une infusion continue de glutathion par voie jugulaire à raison de 13,27 mg (sous un volume de 1,2 ml) par heure, ce qui correspond à la dose utilisée dans la série 36 mg par heure de B.S.P.

Figure 25 - Animal anesthésié -

Effets cholérétiques de la B.S.P. seule (T)

et de la B.S.P. + glutathion (G).



Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux -64- et -65- et les valeurs moyennes reprises dans les *figures 26 et 27*.

On constate que si le glutathion est dépourvu d'effet cholérétique, son infusion entraîne une augmentation importante de la concentration et du débit biliaire de la bilirubine. Ce fait non signalé jusqu'à présent retiendra notre attention pour la discussion ultérieure.

N°	Date	Poids du rat	Volume de bile ul/30min.							Bilirubine mg/L.							Bilirubine µg/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
			G 2637	29.2.68	265	515	470	470	480	460	425	415	93	128	192	305	429	686	866	48	60	90	146
G 2642	4.3.68	270	350	370	360	340	370	340	320	126	176	277	324	397	505	670	44	65	100	110	147	172	214
G 2649	8.3.68	275	545	565	560	570	530	500	520	180	207	241	309	332	407	454	98	117	135	176	176	204	236
G 2651	11.3.68	265	475	520	545	565	570	530	425	114	151	189	199	268	372	498	54	79	103	112	153	197	212
G 2655	12.3.68	265	430	430	440	440	450	460	445	222	317	465	610	760	398	1066	95	136	205	268	342	413	474
G 2658	14.3.68	265	370	375	390	425	405	400	310	116	194	366	384	439	542	612	43	73	143	163	178	217	190
G 2660	15.3.68	280	510	455	390	460	460	435	385	159	184	239	227	255	275	343	81	84	93	104	117	120	132
G 2663	18.3.68	270	335	345	375	385	360	355	350	170	261	464	518	608	746	796	57	90	174	199	219	265	279
G 2666	19.3.68	250	490	480	505	545	580	530	465	146	199	244	236	320	448	493	72	95	123	129	186	237	229
G 2668	20.3.68	275	425	480	425	490	450	440	420	129	209	271	287	288	337	481	55	100	115	141	130	148	202
Moyennes		268	445	449	446	470	464	442	406	146	203	295	340	410	522	628	65	90	128	155	184	226	253

Tableau -64- Rat anesthésié .

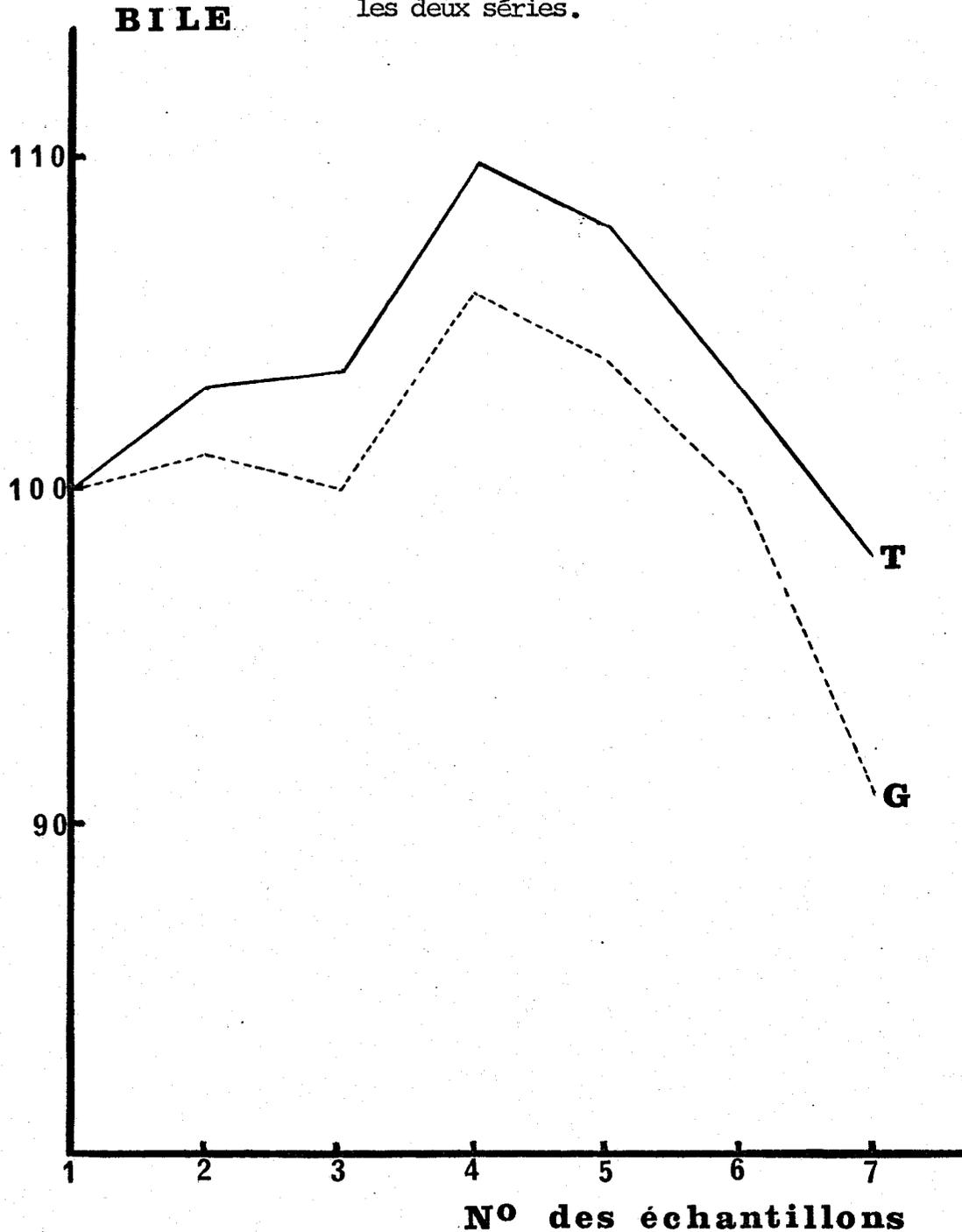
Action du glutathion (13,27 mg par heure)
sur la cholérèse (volume et bilirubine).

N°	Date	Poids du rat	Extraits secs mg/100pl							Extraits secs mg/30min.						
			1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
G 2637	29.2.68	265	3,86	3,44	3,29	3,21	3,24	3,19	3,12	19,9	16,2	15,5	15,4	14,9	13,6	12,9
G 2642	4.3.68	270	3,69	3,45	3,32	3,26	2,96	2,83	2,82	12,9	12,8	11,9	11,1	10,9	9,6	9,0
G 2649	8.3.68	275	4,36	4,24	3,88	3,55	3,29	3,25	3,07	23,8	24,0	21,7	20,2	17,4	16,2	16,0
G 2651	11.3.68	265	3,88	3,34	3,20	2,88	2,74	2,66	2,69	18,4	17,4	17,4	16,3	15,6	14,1	11,4
G 2655	12.3.68	265	4,31	3,46	3,31	3,10	2,97	2,87	2,83	18,5	14,9	14,6	13,6	13,4	13,2	12,6
G 2658	14.3.68	265	3,86	3,74	3,58	3,01	2,80	2,69	2,76	14,3	14,0	14,0	12,8	11,3	10,8	8,6
G 2660	15.3.68	280	4,35	3,98	3,50	3,11	2,88	2,73	2,69	22,2	18,1	13,6	14,3	13,2	11,9	10,3
G 2663	18.3.68	270	3,59	3,53	3,45	3,17	3,11	2,78	2,77	12,0	12,2	12,9	12,2	11,2	9,9	9,7
G 2666	19.3.68	250	4,01	3,54	3,09	2,74	2,61	2,54	2,48	19,6	17,0	15,6	14,9	15,1	13,5	11,5
G 2668	20.3.68	275	3,66	3,21	3,05	2,77	2,81	2,66	2,77	15,5	15,4	13,0	13,6	12,6	11,7	11,6
Moyennes		268	3,96	3,59	3,37	3,08	2,94	2,82	2,80	17,7	16,2	15,0	14,4	13,6	12,4	11,4

Tableau -65- Rat anesthésié.

Action du glutathion (13,27 mg par heure)
sur la cholérèse (extraits secs).

Figure 26 - Animal anesthésié - Etude comparée du débit biliaire chez les témoins T (moyennes de 30 expériences) et chez des rats recevant une infusion continue de glutathion (13,27 mg par heure). Le débit biliaire des échantillons n°1 est affecté de la valeur 100 dans les deux séries.



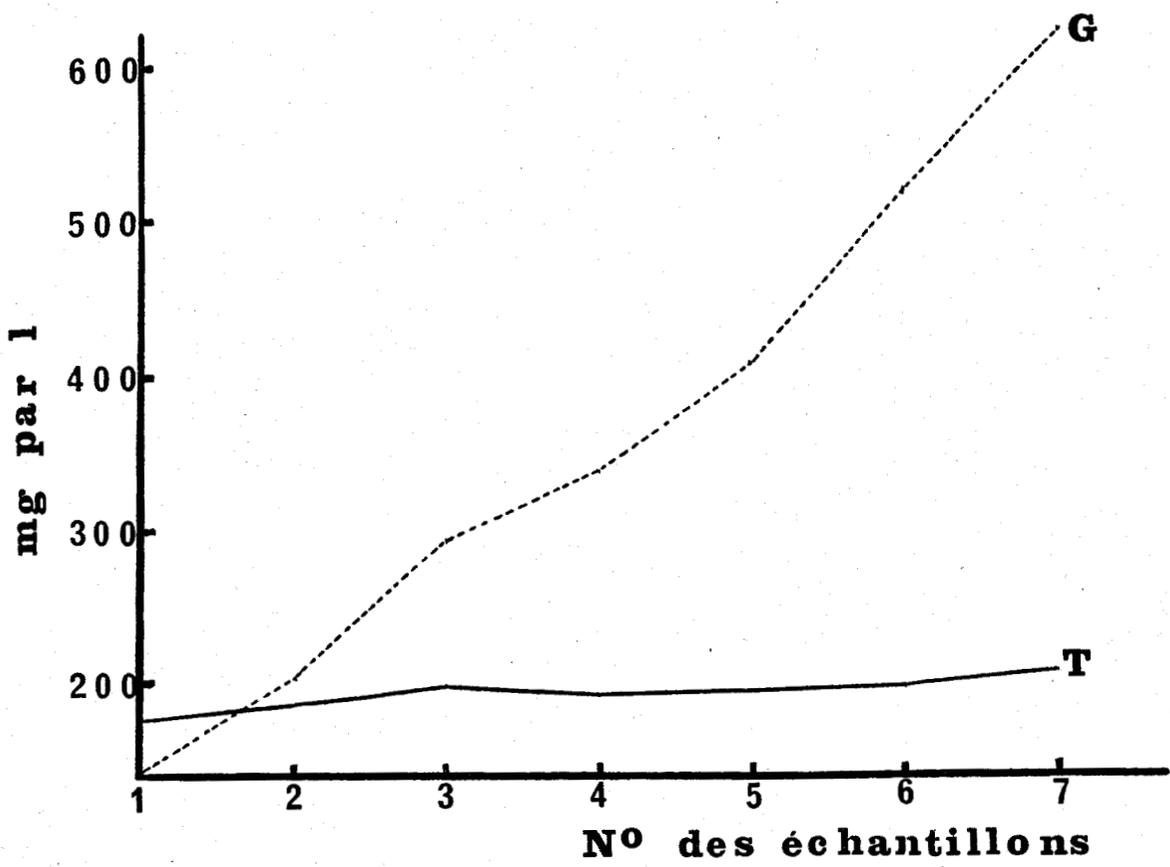
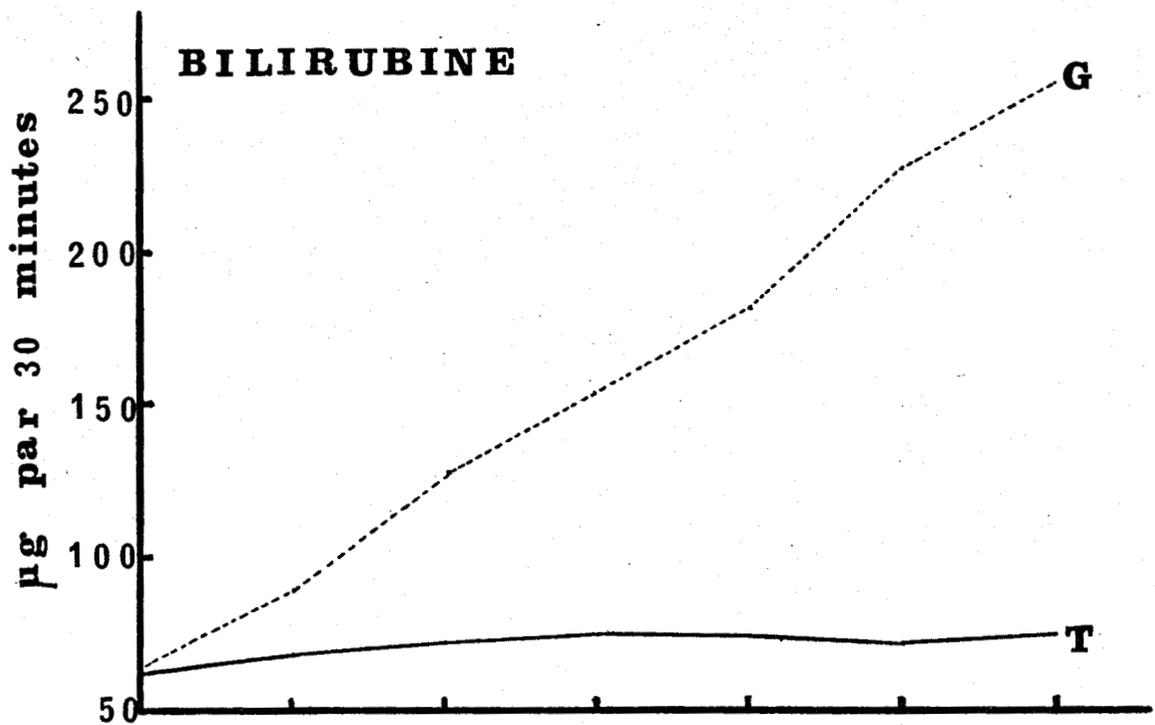


Figure 27 - Animal anesthésié -

Action du glutathion sur la concentration et le débit biliaire de la bilirubine.

T : série témoin (30 exp.) - G : série glutathion.

- DISCUSSION GENERALE -

Dans chacune des parties du chapitre "Résultats expérimentaux" nous avons discuté les résultats obtenus en essayant de mettre en évidence le fil directeur de notre travail. Nous avons ainsi été amené à étudier, après les concentrations et les débits biliaires du colorant libre ou conjugué, le rôle du glutathion dans la limitation de l'excrétion de la Brome Sulfone Phtaléine.

Il nous reste maintenant à reprendre plus schématiquement dans une discussion générale, les divers points envisagés antérieurement et à placer nos résultats par rapport à ceux d'autres auteurs. Nous rapporterons également ici quelques résultats d'études accessoires (électrocardiographie - examens histopathologiques) pouvant permettre certaines interprétations.

I- LA NOTION DE CAPACITE SECRETOIRE MAXIMA DE LA B.S.P.

Cette notion qui découle de nos connaissances sur la fonction rénale représente très certainement un mode d'estimation intéressant de la fonction biliaire, au moins en ce qui concerne les processus de détoxication par excrétion.

On peut toutefois remarquer que l'immense majorité des travaux a porté sur la disparition sanguine du colorant et non sur son élimination biliaire. Excrétion biliaire ou urinaire et stockage hépatique ou somatique sont donc explorés simultanément et la détermination de la T_m par ce mode opératoire ne représente qu'une valeur approchée de l'excrétion biliaire du colorant. D'ailleurs, lorsque T_m et élimination biliaire du colorant ont été mesurées simultanément, (WHEELER et Coll. - 1960, chez le chien - SCHOENFIELD et Coll. - 1964, chez l'Homme) des différences de 10 à 20 p. 100 ont été observées.

L'étude expérimentale que nous avons réalisée sur rat anesthésié montre que les maxima de concentration biliaire (1360 mg par 100 ml) sont obtenus avec l'infusion de B.S.P. au taux horaire de 32 mg. Toutefois, le débit maxima du colorant est obtenu avec la dose de 36 mg par heure en raison de l'effet cholérétique important de la B.S.P. au moins dans les premiers temps de l'injection.

On notera cependant que les résultats individuels sont très dispersés et qu'il n'y a pas de différence significative (au risque 5 p. 100) entre les valeurs obtenues avec 32 mg et celles correspondant à 36 mg. Ceci, joint à l'apparition pour ces doses, de phénomènes toxiques, nous a conduit à ne pas utiliser un rythme plus rapide d'injection.

En prenant comme meilleure approximation de l'excrétion maxima du colorant la valeur moyenne de l'échantillon 2 (dose : 36 mg par heure) soit 8336 μg par 30 minutes, c'est-à-dire 975 μg par minute et par kg de poids corporel, on constate que notre résultat est pratiquement le même que celui de KLAASSEN et PLAA (1967) qui, chez le rat, par la méthode de disparition sanguine, trouvent 970 $\mu\text{g}/\text{minute}/\text{kg}$.

La capacité sécrétoire maxima du foie perfusé n'avait pas été recherchée jusqu'ici. Avec les doses 16 et 24 mg par heure, on obtient des valeurs maximales très voisines bien que légèrement plus élevées avec 16 mg. L'excrétion maximale de la B.S.P. dans ces conditions est approximativement égale à la moitié de ce que l'on observe sur animal anesthésié : 4067 μg par 30 minutes au lieu de 8336 pour les valeurs moyennes, 6055 μg par 30 minutes au lieu de 12954 pour les valeurs individuelles. Ces différences de capacité sécrétoires ne sont pas sous la dépendance du facteur concentration biliaire du colorant puisque le foie perfusé permet d'obtenir des concentrations biliaires plus élevées que le foie en place (1638 au lieu de 1360 mg/100 ml). Par contre, le débit biliaire du foie perfusé est toujours très nettement inférieur à celui de l'animal anesthésié : 7,6 au lieu de 12,4 μl par minute pour les séries témoins du Laboratoire (J. VANLERENBERGHE et Coll. - 1968). Cette différence, observée par tous les auteurs ayant réalisé des perfusions de foie de rat, n'a jamais pu être expliquée.

La comparaison foie perfusé, animal anesthésié apporte une nouvelle démonstration de l'influence du débit biliaire sur la capacité sécrétoire maxima de la B.S.P. ; les résultats de BOURDON et Coll. (1960), de O'MAILLE et Coll. (1966) obtenus au moyen de

cholérétiques sont donc confirmés par l'utilisation de ces deux préparations.

II- L'EXCRETION DE LA B.S.P. AU COURS DES EXPERIENCES DE LONGUE DUREE.

Lorsque l'infusion de B.S.P. est poursuivie pendant plusieurs heures on voit apparaître un phénomène nouveau qui est la très importante diminution du débit du colorant d'une part et du débit biliaire d'autre part. Ce phénomène avait été signalé incidemment par WHEELER et Coll. en 1960.

Notre étude apporte à cette donnée initiale, un certain nombre de renseignements complémentaires et tout d'abord une notion quantitative. En expériences de longue durée, telles que celles que nous avons pratiquées sur animal anesthésié, le débit biliaire de la B.S.P. ne peut se maintenir à une valeur supérieure à 4000 µg par 30 minutes ; c'est ce que nous observons dans le dernier échantillon pour la dose de 16 mg par heure. Il s'agit d'ailleurs déjà d'une estimation optimiste puisque l'examen de la courbe 16 mg par heure montre qu'elle est régulièrement descendante; il est vraisemblable qu'à plus long terme des valeurs d'environ 3000 µg par 30 minutes soit 400 µg par minute et kg de poids corporel, représentent la vraie capacité sécrétoire maxima de la B.S.P. Cette capacité de longue durée qui correspond mieux au pouvoir de détoxication du parenchyme hépatique que la capacité maxima "instantanée" ne représente que 40 p. 100 environ de cette dernière.

Sur foie perfusé des constatations analogues sont faites mais il est beaucoup plus difficile de donner une limite précise à la capacité sécrétoire à long terme. En effet, on sait de par l'étude du débit biliaire dans une série ne recevant aucune substance étrangère que l'état fonctionnel du parenchyme hépatique perfusé se dégrade progressivement. Il est donc normal que peu à peu la capacité sécrétoire diminue. Cependant, si l'on compare les débits biliaires des séries témoins et des séries avec B.S.P. on

constate une évolution superposable jusqu'à la dose de 8 mg par heure, ce qui correspond à une excrétion en fin d'expérience d'environ 1800 µg par minute, soit de l'ordre de 45 p. 100 de la capacité maxima à court terme, chiffre voisin de celui calculé sur animal anesthésié.

III- L'EXISTENCE D'UN FACTEUR TOXIQUE LIMITANT.

a) Lorsque l'infusion continue de B.S.P. se fait à un rythme rapide, l'excrétion biliaire est inférieure à la quantité de colorant reçue par l'animal. Il se produit donc une accumulation somatique de l'indicateur et il semble logique d'admettre une relation de cause à effet entre cette accumulation et la réduction du débit biliaire. Cependant, il n'apparaît pas que l'on puisse fixer avec précision une valeur de rétention déterminant la diminution de la cholérèse ; ceci est dû selon nous, à la difficulté de mise en évidence du moment où commence la réduction du débit biliaire. En raison de l'opposition entre la "toxicité" de la B.S.P. et son action cholérétique, il n'est pas possible de savoir s'il n'y a pas déjà une limitation de la cholérèse alors même que l'effet cholérétique du colorant existe encore apparemment.

b) Les résultats que nous avons obtenus font apparaître que l'action limitante se fait essentiellement par la réduction de la phase liquide, le facteur concentration n'intervenant que plus accessoirement.

Notre expérimentation permet donc de retrouver des phénomènes déjà observés par VANLERENBERGHE (1958) et N. TRUPIN (1962) lors de l'étude de l'action d'inhibiteurs enzymatiques sur la cholérèse. En effet, ces auteurs ont pu constater sous l'influence du cyanure ou de l'hypothermie, une diminution de la sécrétion biliaire avec concentration biliaire pratiquement non altérée en ce qui concerne la bilirubine ou la Brome Sulfone Phtaléine. Cette dissociation de la phase liquide et des substances dissoutes

avait alors permis d'évoquer une dualité du mécanisme sécrétoire, ce qui n'est d'ailleurs pas en contradiction avec l'hypothèse de l'intervention de phénomènes osmotiques (SPERBER - 1959).

c) Etant donné que la diminution de la cholérèse s'observe aussi bien chez l'animal anesthésié que sur le foie perfusé, il apparaît que l'action "toxique" peut s'exercer directement au niveau du parenchyme et que le rôle des modifications circulatoire et respiratoire éventuelles n'est que secondaire.

Cependant, étant donné la très importante mortalité observée lors de l'injection des fortes doses de B.S.P. (36 mg par heure) nous avons recherché les troubles du fonctionnement cardiaque pouvant apparaître dans ces conditions expérimentales. Pour ce faire, nous avons enregistré à intervalles réguliers (10 minutes) l'électrocardiogramme (dérivation précordiale) chez 19 rats recevant une infusion continue de B.S.P. (36 mg par heure, sous un volume de 1,2 ml) tout en recueillant la bile comme d'habitude.

Nous avons observé, comme dans la série ayant servi à déterminer la capacité sécrétoire maximale de la B.S.P., une mortalité importante, 10 animaux seulement ayant survécu pendant les 3 heures 30 de l'infusion continue du colorant.

L'interprétation des électrocardiogrammes a été faite en se basant sur des tracés témoins obtenus par la même technique chez des rats dont la bile était dérivée mais ne recevant pas de B.S.P. La nomenclature des troubles électriques est celle que l'on utilise chez l'Homme.

RATS AYANT SURVECU PENDANT 3 HEURES 30 au moins.

ETUDE ANALYTIQUE

(en tête de chaque expérience se trouvent les volumes de bile des premier et septième échantillons).

G 2289 (510 μl \longrightarrow 400 μl)

On note une augmentation de la fréquence de 360/minute au début à 480 en fin d'expérience. Le rythme demeure régulier, sinusal. On ne note aucune modification des complexes QRS ni de la phase de repolarisation.

G 2296 (490 μl \longrightarrow 330 μl)

Le rythme cardiaque diminue de 400/minute à 350 en fin d'expérience. Comme précédemment on ne décèle aucune anomalie de la conduction auriculo-ventriculaire, de l'onde rapide, ni de la repolarisation ventriculaire.

G 2298 (680 μl \longrightarrow 180 μl)

Le rythme cardiaque diminue de 420/minute à 300/minute en fin d'expérience. On note l'apparition à la 80ème minute d'une onde de lésion sous épicaudique naissant de la partie inférieure de la branche descendante de R, s'intensifiant progressivement dans le temps pour devenir très nette à la 100ème minute avec inversion de l'onde T.

G 2233 (410 μl \longrightarrow 120 μl)

La fréquence est demeurée stable à 400/minute. Apparition à la 110ème minute d'une onde de lésion sous-épicaudique de même caractère que précédemment, transitoire jusqu'à la 160ème minute.

A la 200ème minute, apparition de troubles majeurs de la repolarisation avec sous dénivellation profonde du

segment ST, auxquels font suite durant quelques minutes un rythme nodal moyen lent (70/minute). Enfin survient un rythme ventriculaire d'aspect pré-fibrillatoire à 250/minute suivi de la mort du rat peu après la fin de l'expérience.

G 2339 (530 μ l \longrightarrow 140 μ l)

Fréquence stable à 400/minute.

Troubles de la repolarisation avec sous-dénivellation de ST à la 160eme minute. A la 190eme minute, on note l'apparition d'une arythmie complète à 120/minute avec troubles de la conduction intra-ventriculaire objectivés par un élargissement important de QRS.

G 2352 (540 μ l \longrightarrow 110 μ l)

Fréquence stable à 350/minute.

Apparition à la 110eme minute d'une onde de lésion sous épicaudique naissant près du sommet de R. Après un épisode de tachycardie à 600/minute, on note la survenue d'un rythme nodal à 200/minute avec persistance de la sus-dénivellation de ST.

G 2361 (580 μ l \longrightarrow 180 μ l)

Fréquence à 400 au début, 420 en fin d'expérience. Le rythme persiste régulier sinusal. Apparition à la 90eme minute d'une onde de lésion partant de la partie inférieure de la branche descendante de R, très nette dès la 100eme minute avec réduction marquée de l'amplitude de QRS.

G 2375 (560 μ l \longrightarrow 410 μ l)

Fréquence stable à 400/minute. Rythme persistant régulier, sinusal. Image de lésion sous-épicardique à partir de la 140ème minute.

G 2393 (480 μ l \longrightarrow 110 μ l)

Fréquence stable à 400 au début, 440 en fin d'expérience. Rythme régulier, sinusal. Apparition dès la 40ème minute d'une ou de deux lésions sous-épicardiques d'une intensité croissante qui seront très importantes en fin d'expérience.

G 2394 (460 μ l \longrightarrow 80 μ l)

Fréquence à 400/minute au début, 300/minute en fin d'expérience. Apparition à la 110ème minute de troubles de la repolarisation sous forme d'une onde de lésion sous-épicardique partant du pied de R et devenant très importante en fin d'expérience.

CONCLUSIONS

Sur les 10 rats ayant survécu à la perfusion de B.S.P. :

- a) 2 rats ont vu leur E.C.G. persister normal en dehors d'une modification discrète du rythme ventriculaire.
- b) les 8 autres ont vu leur E.C.G. se modifier de façon significative. Les anomalies observées sont essentiellement de deux types :
 - les troubles de la repolarisation ventriculaire
 - les troubles du rythme cardiaque.

Trois de ces rats ont présenté des troubles du rythme sous forme d'une bradyarythmie complète et de deux rythmes nodaux moyens lents. Ces troubles du rythme ont toujours été précédés de troubles de la repolarisation.

Les 8 rats ont présenté des troubles de la repolarisation ventriculaire sous forme le plus souvent d'une onde de lésion sous-épicardique (7 cas) survenant généralement entre la 80ème et la 110ème minute (5 cas). Une fois, cette image est survenue plus tôt (40ème minute), une fois elle est apparue plus tard (140ème minute). Dans 4 cas; cette image de lésion était particulière par son origine (partie inférieure de la branche descendante de R) ressemblant ainsi à celle observée en clinique humaine chez les sujets réfrigérés alors que la température du rat était rigoureusement maintenue entre 38° et 39°.

Dans un cas enfin, fut observée une image de lésion sous-endocardique.

Il est à noter que dès que les signes électrocardiographiques apparaissent nettement, il se produit une réduction du débit biliaire, sans doute secondaire à une altération du flux sanguin transhépatique. La vérification directe de cette hypothèse n'a pu être faite, faute d'un débitmètre adapté à ces mesures.

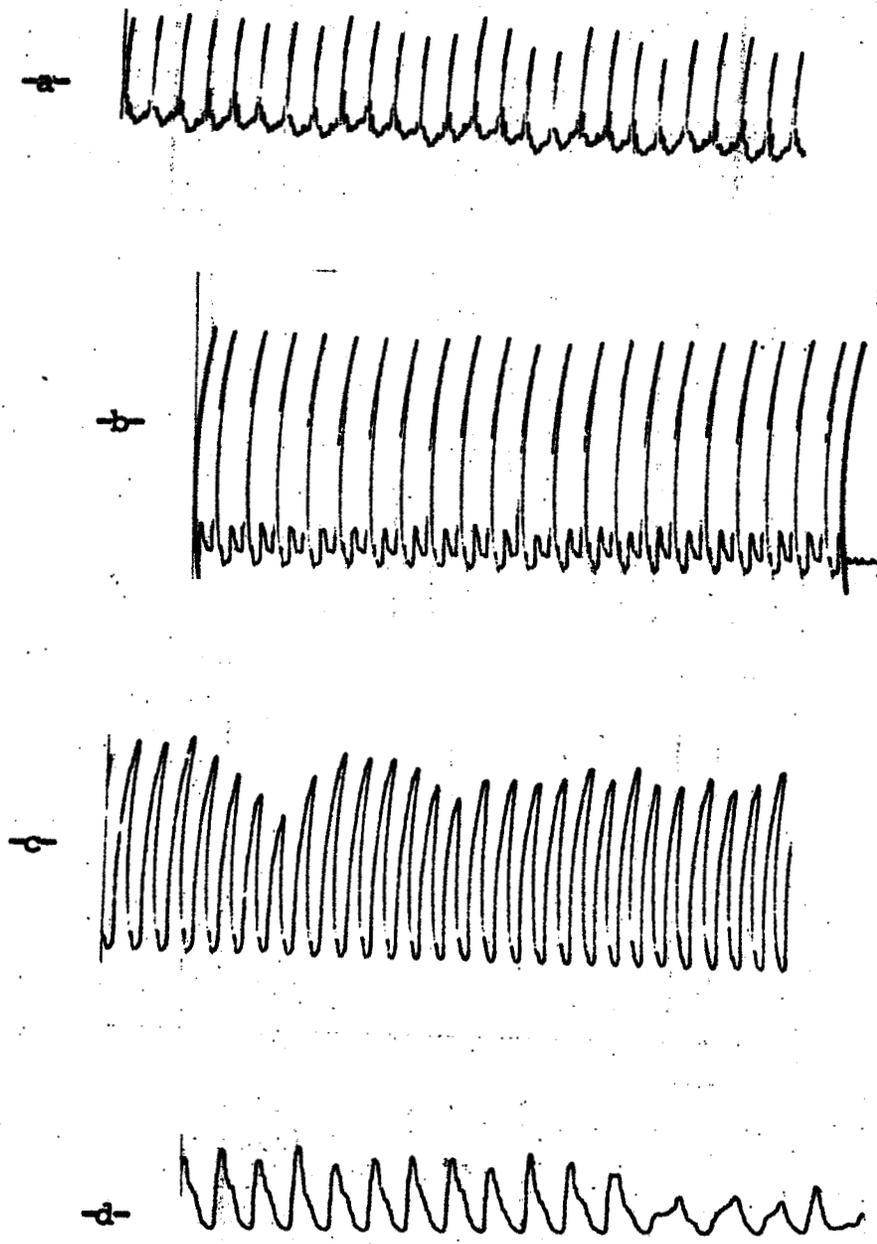


Figure 28-

Rat 2291 - Electrocardiogramme

- a- Tracé avant B.S.P.
- Après infusion du colorant (36 mg/h)*
- b- Rythme nodal (disparition de P)
- c- Début de fibrillation ventriculaire
- d- fibrillation ventriculaire terminale.

RATS DECEDES.

ETUDE ANALYTIQUE

- G 2287* Fréquence de départ à 500/minute.
Apparition d'une onde de lésion sous-épicardique partant du pied de R à la 160eme minute.
Fibrillation ventriculaire à la 180eme minute.
- G 2291* Fréquence de départ à 400/minute.
Apparition d'une onde de lésion ayant les mêmes caractères que précédemment, à la 70eme minute.
Rythme nodal à 350/minute à la 150eme minute, puis fibrillation ventriculaire.
- G 2236* Fréquence de départ à 560/minute.
Sous-dénivellation de ST à la 140eme minute.
Fibrillation ventriculaire à 350/minute à la 190eme minute, remplacée 10 minutes plus tard par l'installation d'une dissociation auriculo-ventriculaire pré-mortem.
- G 2337* Fréquence de départ à 400/minute.
Onde de lésion sous-épicardique partant de la partie inférieure de la branche descendante de R dès la 50eme minute augmentant jusqu'à la 170eme minute.
Apparition d'un rythme nodal 10 minutes plus tard suivi d'une arythmie précédant de peu la mort.
- G 2340* Dissociation auriculo-ventriculaire précédant le décès à la 60eme minute.

- G 2344 Fréquence de départ à 400/minute.
Apparition d'une sous-dénivellation de ST à la 30eme minute.
Fibrillation ventriculaire à la 80eme minute.
- G 2355 Fréquence de départ à 400/minute.
Apparition à la 70eme minute d'une onde de lésion sous endo-
cardique.
Survenue à la 130eme minute d'une tachycardie à 500 avec
persistance de l'onde de lésion.
Fibrillation ventriculaire terminale..
- G 2357 Fréquence de départ à 400/minute.
Apparition à la 40eme minute d'une onde de lésion sous-épi-
cardique qui deviendra très importante à la 150eme minute.
Rythme nodal à la 160eme minute puis bradyarythmie complète
précédant la mort de l'animal.
- G 2361 Fréquence de départ à 350/minute.
Onde de lésion sous-épicardique à la 100eme minute.
Fibrillation ventriculaire précédant la mort à la 150eme
minute.

CONCLUSIONS

Chez les rats décédés on observe les mêmes anomalies de la repolarisation ventriculaire que chez les rats ayant survécu.

8 rats sur 9 présentaient ces troubles, 5 étant à type de sus-dénivellation du segment ST, 3 à type de sous-dénivellation du même segment. Le rythme est trop rapide pour apprécier les caractères de l'onde T.

La mort a toujours été précédée de troubles du rythme à type :

- de fibrillation ventriculaire (5 cas)
- de bradyarythmie complète (2 cas)
- de dissociation auriculo-ventriculaire (2 cas).

d) Des examens anatomo-pathologiques du parenchyme hépatique ont été réalisés chez la plupart de nos animaux (1).

Le foie apparaît normal ou présente des altérations minimes le plus souvent de type congestif. Quelquefois on note une très discrète stéatose micro-vésiculaire toujours très localisée (quelques lobules seulement). Il n'existe pas de siège électif de ces lésions et on les trouve aussi bien dans la zone centro-lobulaire que dans la région péri-lobulaire.

Il n'existe aucune relation apparente entre l'intensité des lésions et les modifications de la fonction biliaire. En particulier, plusieurs animaux décédés au cours d'expérience (dose de B.S.P. : 36 mg par heure) ne présentaient aucune altération visible en microscopie optique.

On peut rapprocher ces résultats de ceux que C. LEJEUNE (1967) a obtenus lors de l'intoxication expérimentale du rat par le tétrachlorure de carbone. Cet auteur observe des modifications minimes de la cholérèse alors que les lésions histologiques sont déjà importantes et certainement beaucoup plus marquées que dans nos expériences ; approximativement il y a réduction du débit biliaire lorsqu'environ la moitié du parenchyme hépatique est atteinte par l'atrophie cellulaire, la ballonnisation ou la surcharge lipidique.

Les modifications importantes du débit biliaire que nous avons observées ne peuvent donc pas être rapportées aux quelques lésions histologiques constatées. Il serait sans doute intéressant de réaliser une étude plus spécialisée de type histoenzymologie ou histo-chimie pour tenter de mettre en évidence des altérations structurales.

(1) - Nous remercions Monsieur ADENIS, Docteur en Médecine, Attaché-Assistant d'Anatomie Pathologique à la Faculté de Médecine, qui a bien voulu nous conseiller dans l'interprétation de ces examens.

IV- ROLE DETOXCANT DU GLUTATHION

a) les formes conjuguées de la B.S.P. représentent le mode majeur d'excrétion du colorant, surtout lorsqu'il est nécessaire d'éliminer par la voie biliaire de fortes doses d'indicateur. Cette notion, déjà connue, est particulièrement apparente dans notre expérimentation sur animal anesthésié. Lorsque l'excrétion biliaire de B.S.P. est inférieure à 50 µg par minute, ce qui est obtenu pour les injections de 0,5 à 4 mg par heure, la forme libre représente 30 à 55 p. 100 du colorant total ; les excrétions de 70 à 130 µg par minute (doses de 8 et 16 mg par heure) se font à environ 75 à 85 p. 100 de forme conjuguée.

L'étude de la conjugaison pour les doses 24 et 36 mg par heure est particulièrement intéressante puisque l'on voit (figure 15) qu'après 2 heures d'expérience la forme libre prend une importance de plus en plus grande : au moment où le débit biliaire de la B.S.P. totale diminue et alors que le débit de la phase liquide se réduit considérablement. Tous ces facteurs concourent donc à augmenter rapidement la rétention somatique du colorant.

On pouvait donc se demander si le facteur fixant la limite de la capacité sécrétoire maximum de la B.S.P. n'était pas le glutathion ou l'enzyme de conjugaison.

b) Nous avons initialement pensé que l'étude sur foie perfusé aurait pu donner une réponse à cette question. En effet, cette préparation disposant de "réserves" beaucoup plus limitées qu'un animal anesthésié en raison de l'exclusion somatique, nous comptions observer rapidement une diminution du pourcentage de conjugaison. Au contraire (d'après les résultats des pages 109 et suivantes) la forme libre représente moins de 10 p. 100 de la B.S.P. totale et la conjugaison reste massive avec les doses fortes, tandis que le débit biliaire et le débit du colorant diminuent.

Il n'apparaît donc pas que la possibilité de conjugaison et la capacité sécrétoire maximum du colorant soient étroitement liées et que la première tienne sous sa dépendance la seconde.

c) Dans le but de faire une contre épreuve à cette conclusion provisoire nous avons alors recherché la capacité sécrétoire maximum sur animal anesthésié recevant simultanément colorant et glutathion à doses équimoléculaires.

Nos résultats (page 120 et suivantes) sont dans l'ensemble très peu différents de ceux obtenus lors de l'injection de B.S.P. seule. Le calcul statistique (avec $p = 0,05$) n'a permis d'observer une augmentation de débit maxima de B.S.P. que dans la série 24 mg, augmentation due à celle de la forme conjuguée. Mais à terme, c'est-à-dire à partir du 5^{eme} échantillon, soit en débit cumulé (3 heures et demie) soit en débit par échantillon, aucune différence ne peut être retenue comme significative.

On remarque en outre que le glutathion n'a pas d'influence sensible sur les concentrations biliaires du colorant et qu'il ne conduit à une augmentation du pourcentage de conjugaison dans les échantillons 4 et suivants, que dans la série 24 mg par heure.

Il convient cependant de retenir que nous avons observé une activité cholérétique plus marquée avec le glutathion - B.S.P. qu'avec la B.S.P. seule et que cette modification du débit biliaire peut expliquer l'augmentation légère, significative ou non selon les séries, du débit du colorant.

Nos résultats expérimentaux aboutissant donc à une conclusion très superposable à celle que C.D. KLAASSEN et G.L. PLAA (1967) avaient tirée de l'étude comparée de la capacité sécrétoire maxima dans diverses espèces animales. La conjugaison ne semble pas être le facteur limitant de l'excrétion de la B.S.P.

d) Nous croyons toutefois qu'une réserve doit être faite à l'interprétation globale présentée ci-dessus. Nous avons en effet constaté que le glutathion seul déterminait une augmentation très importante de l'excrétion biliaire de la bilirubine bien que classiquement ce pigment ne soit pas conjugué avec le glutathion. On peut alors évoquer une compétition sécrétoire, bilirubine/B.S.P., l'augmentation du débit de bilirubine empêchant l'augmentation de débit du colorant. Cette compétition sécrétoire a déjà été étudiée mais les différents auteurs ont obtenu des résultats variables selon les modalités opératoires. Pour DRAGSTEDT et MILLS (1936) l'injection simultanée de bilirubine et de B.S.P. conduit à une rétention sanguine du colorant. Pour CANTAROW et WIRTS (1948) chez le même animal, avec un protocole identique, c'est plutôt une excrétion préférentielle de la B.S.P. qui est observée. F. BESANCON, M. MOUVIER et C. ROZE (1960) au cours de l'obstruction graduée expérimentale chez le rat observent une excrétion préférentielle de la bilirubine et une accentuation de ce phénomène lors de l'action simultanée de déhydrocholate ou après intoxication par le tétrachlorure de carbone.

- CONCLUSIONS GENERALES -

-1- Nous avons étudié de façon systématique, chez le rat anesthésié, la capacité sécrétoire maxima de la Brome Sulfone Phtaléine, en réalisant la mesure de l'excrétion biliaire du colorant. Nous avons ainsi pu séparer de la capacité à court terme déjà connue, une capacité à long terme, nettement inférieure à la précédente.

-2- Une étude similaire faite sur foie de rat isolé et perfusé a permis de retrouver ces deux types de capacité excrétoire maxima.

-3- Nos études à long terme permettent d'affirmer que c'est le débit de la phase liquide qui tient sous sa dépendance le niveau de l'excrétion biliaire maxima du colorant et que la teneur en glutathion de l'organisme n'est pas un facteur limitant essentiel.

-4- La réduction de la phase liquide sous l'effet de doses fortes de B.S.P. fait évoquer un facteur toxique. Chez l'animal anesthésié les décès observés dans certaines séries peuvent être attribués à une fibrillation cardiaque mais l'existence de cette même réduction chez le foie perfusé permet de considérer ces phénomènes circulatoires comme accessoires.

-5- On en arrive donc à reconnaître à la B.S.P. un rôle hépato-toxique dont le substratum anatomique n'a pu être décelé par l'examen microscopique.

Des recherches complémentaires peuvent donc être envisagées pour tenter de préciser le mécanisme de cette hépato-toxicité, mais elles dépassent largement le cadre d'une telle étude purement physiologique. Il est possible en effet que des études histo-chimiques du parenchyme hépatique permettent de mettre en évidence des modifications fonctionnelles sans traduction morphologique et qu'ainsi on puisse préciser une topographie sécrétoire de la cellule hépatique.

- BIBLIOGRAPHIE -

- ADAMS R.H., GORDON J., COMBES B. - Measurements of hepatic storage and of maximal biliary transport of sulfobromophthalein sodium in man.
Gastroenterology 1966, 51, 373-376.
- BAR N. - Contribution à l'étude de la fonction biliaire en hypothermie (recherches sur le rat).
Thèse Doctorat es Sciences Naturelles, Lille 1962.
- BEGON F. - Epreuve à la Brome Sulfone Phtaléine chez le sujet normal et dans les obstructions totales ou partielles de la voie biliaire.
Thèse Doctorat Médecine, Paris 1966.
- BEGON F., BOHUON C. - Etude expérimentale de l'élimination de la B.S.P. chez le lapin ; importance du gradient de concentration bilio-plasmaticque dans son transfert ; sa réabsorption par les voies biliaires.
Rev. Fr. Et. Clin. Biol. 1965, 10, 73-78.
- BESANCON F., MOUVIER M., ROZE C. - Obstruction biliaire graduée expérimentale. II- Excrétion préférentielle de la bilirubine par rapport à la Bromesulfonephtaléine.
C.R. Soc. Biol. 1960, 154, 567-570.
- BIZARD G., VANLERENBERGHE J., GUERRIN F., ROBELET A. - Action des barbituriques sur la sécrétion biliaire (étude expérimentale).
J. Physiol. 1962, 54, 295-296.
- BOOTH J., BOYLAND E., SIMS P. - An enzyme from rat liver catalysing conjugations with glutathione.
Biochem. J. 1961, 79, 516-524.
- BOURDON G., FAUVERT R., NICOLLO F., AUTEUIL P. - Recherches sur le mécanisme des perturbations apportées par le déhydrocholate de sodium à l'épuration sanguine et l'élimination biliaire de la brome sulfone phtaléine.
Rev. Internat. Hepatol. 1960, 10, 1215-1246.
- BOYLAND E., GROVER P.L. - The relationship between hepatic glutathione conjugation and B.S.P. excretion and the effect of therapeutic agents.
Clin. Chim. Acta 1967, 16, 205-213.

- BRADLEY S.E. - The excretory function of the liver.
Harvey Lectures 1960, 54, 131-155.
- BRAUER R.W., JULIAN L.M., KREBS J.S. - Maturation of liver function in the chick embryo as explored with S³⁵ sulfobromophthalein vascular factors biliary secretion and conjugation.
Ann. N.Y. Acad. Sc. 1963, 111, 136-156.
- BRAUER R.W., KREBS J.S., PESSOTTI R.L. - Bromsulphonphthalein as a tool for study of liver physiology.
Fed. Proc. 1950, 9, 259.
- BRAUER R.W., PESSOTTI R.L. - Hepatic uptake and biliary excretion of bromsulphthalein in the dogs.
Amer. J. Physiol. 1950, 162, 565-574.
- 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 USA 1952, 115, 142-143.
- BRAUER R.W., PESSOTTI R.L., KREBS J.S. - The distribution and excretion of S³⁵ labeled sulfobromophthalein sodium administered to dogs by continuous infusion.
J. Clin. Invest. 1955, 34, 35-43.
- BRAUER R.W., PESSOTTI R.L., PIZZOLATTO P. - Isolated rat liver preparation. Bile production and other basic properties.
Proc. Soc. Exper. Biol. N.Y. 1951, 78, 174-181.
- CANTAROW A., WIRTS C.W., SNAPE W.J., MILLER L.L. - Excretion of bilirubin and bromsulphthalein in bile.
Amer. J. Physiol. 1948, 154, 211-219.
- CHARBONNIER A., BRISBOIS P. - Chromatographie de la B.S.P. et cholérèse.
Pathol. Biol. 1960, 8, 1211-1221.
- CHARBONNIER A., BRISBOIS P. - Etude chromatographique de la B.S.P. au cours de l'épreuve clinique d'épuration plasmatique de ce colorant.
Rev. Internat. Hepatol. 1960, 10, 1163-1213.

- COMBES B. - Biliary excretion by the rat of Bromsulfalein as a conjugate of glycine and glutamic acid.
Science USA, 1959, 129, 388-389.
- COMBES B. - The importance of glutathione for B.S.P. transfer from blood to bile.
Clin. Res. 1962, 10, 54.
- COMBES B. - The importance of conjugation with glutathione for sulfobromophthalein sodium (B.S.P.). Transfer from blood to bile.
J. Clin. Invest. 1965, 44, 1214-1224.
- COMBES B., SHIBATA H., ADAMS R., MITCHELL B., TRAMMEL V. - Alterations in sulfobromophthalein sodium removal. Mechanisms from blood during normal pregnancy.
J. Clin. Invest. 1963, 42, 1431-1441.
- COMBES B., STAKELUM G.S. - Conjugation of sulfobromophthalein sodium with glutathione in thioether linkage by the rat.
J. Clin. Invest. 1960, 39, 1214-1222.
- COMBES B., STAKELUM G.S. - A liver enzyme that conjugates sulfobromophthalein sodium with glutathione.
J. Clin. Invest. 1961, 40, 981-988.
- COMBES B., STAKELUM G.S. - Maturation of the sulfobromophthalein sodium glutathione, conjugating system in rat liver.
J. Clin. Invest. 1962, 41, 750-757.
- COMBES B., WHEELER H.O., CHILDS A.W., BRADLEY S.E. - The mechanisms of bromsulfalein removal from the blood.
Trans. Assoc. Amer. Phys. 1956, 49, 276-284.
- DELAS R., ROUX G., ECALLE R. - Influence de l'anesthésie sur la cholérèse expérimentale.
C.R. Soc. Biol. 1957, 151, 1429-1431.
- DRAGSTEDT C.A., MILLS N.A. - Bilirubinemia and B.S.P. retention.
Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y. 1936, 34, 467-468.
- GAEBLER H.O. - Determination of bromsulphalein in normal, turbid, hemolyzed or icteric serums.
Amer. J. Clin. Path. 1945, 15, 452.

- GIANGRANDI E., MOLINO G., CRAVARIO A., PAGLIARDI E. - I metaboliti sirici della bromsulfonftaleina (B.S.F.) durante la prova di clearance.
Soc. It. Biol. Sper. 1965, 41, 829.
- GOLDSTEIN J., COMBES B. - Spectrophotometric assay of the liver enzyme that catalyses sulfobromophthalein-glutathione conjugation.
J. Lab. Clin. Med. 1966, 67, 863-872.
- GOLDSTEIN J., COMBES B. - The effect of steroids on the activity of the enzyme that catalyses sulfobromophthalein-glutathione conjugation.
J. Lab. Clin. Med. 1966, 67, 830-835.
- GRODSKY G.M., CARBONE J.V., FANSKA R. - Identification of metabolites of sulfobromophthalein.
J. Clin. Invest. 1959, 38, 1981-1988.
- GRODSKY G.M., CARBONE J.V., FANSKA R. - Biosynthesis of a sulfobromophthalein mercaptide with glutathione.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1961, 106, 526-530.
- GRONWALL R., CORNELIUS C.E. - Biliary excretion of sulfobromophthalein in sheep.
Fed. Proc. 1966, 25, 576.
- GROVER P.L., SIMS P. - Conjugations with glutathione.
Biochem. J. 1964, 90, 603-606.
- JAVITT N.B. - Conjugation and excretion of phenoltetrabromphthalein mono-, di-, and tetrasulfonates.
Amer. J. Physiol. 1965, 208, 555-562.
- JAVITT N.B., WHEELER H.O., BAKER K.J., RAMOS O.L. - Intrahepatic conjugation of bromsulphalein and glutathione.
J. Clin. Invest. 1959, 38, 1015.
- JAVITT N.B., WHEELER H.O., BAKER K.J., RAMOS O.L., BRADLEY S.E. - The intrahepatic conjugation of sulfobromophthalein and glutathione in the dog.
J. Clin. invest. 1960, 39, 1570-1577.
- KLAASSEN C.D., PLAA G.L. - Species variation in metabolism, storage and excretion of sulfobromophthalein.
Amer. J. Physiol. 1967, 213, 1322-1326.

- KREBS J.S. - The metabolism of B.S.P. and its effect on the plasma clearance of B.S.P.
in : Liver Function - Edit. BRAUER - 1958, 302-309.
- KREBS J.S. - Relation of the metabolism of sulfobromophthalein sodium to its blood clearance in the rat.
Amer. J. Physiol. 1959, 197, 292-296.
- KREBS J.S., BRAUER R.W. - Metabolism of sulfobromophthalein sodium (B.S.P.) in the rat.
Amer. J. Physiol. 1958, 196, 37-43.
- KREBS J.S., BRAUER R.W. - Modification of B.S.P. metabolism by bile stasis and liver injury.
Amer. J. Physiol. 1960, 198, 774-778.
- LAROCHE M.J., PODEVIN R., HUSSON-COTTART A., SACQUET E., CHARLIER H. -
Exploration comparée de la fonction chromogogue chez le rat aseptique et chez le rat classique.
Ann. Pharmac. Fr. 1965, 23, 197-202.
- LEJEUNE-LECOCQ C. - Les effets de l'intoxication par le tétrachlorure de carbone sur la cholérèse du rat.
Thèse Doctorat en Médecine - Lille, 1967.
- LEWIS A.E. - Investigation of hepatic function by clearance techniques.
Amer. J. Physiol. 1950, 163, 54-61.
- LORBER S.H., OPPERHEIMER M.J., SHAY H., LYNCH P., SIPLET H. - Entero-hepatic circulation of bromsulphalein : intraduodenal, intraportal and intravenous dye administration in dogs.
Amer. J. Physiol. 1953, 173, 259-264.
- MASON M.F., HAWLEY G., LAWALLEN W., MONTGOMERY H.G. -
Fed. Proc. 1947, 6, 1 (d'après MASON M.F. et Coll. 1948).
- MASON M.F., HAWLEY G., SMITH A. - Application of the saturation principle to the estimation of functional hepatic mass in normal dog.
Amer. J. Physiol. 1948, 152, 42-47.
- MELTZER J.I., WHEELER H.O., CRANSTON W.I. - Metabolism of sulfobromophthalein sodium (B.S.P.) in dog and man.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1959, 100, 174-179.
- MENDELOFF A.I., KRAMER P., INGELFINGER F.J., BRADLEY S.E. - Studies with bromsulphalein. II- Factors altering its disappearance from the blood after a single intravenous injection.
Gastroenterology 1949, 13, 222-234.

- 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 rat liver with the aid of lysine C¹⁴.
Exper. Med. USA 1951, 94, 431-453.
- 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.
- NORBERG B., SENNING A., WILLIAM-OBSSON G. - On the reversible extraction of bromsulphalein (B.S.P.) in the liver.
Acta Physiol. Scand. 1962, 55, 26-34.
- O'MAILLE E.R.L., RICHARDS T.G., SHORT A.H. - Enhancement of the maximal rate of hepatic excretion of bromsulphalein by cholerisis.
J. Physiol. 1966, 182, 47-49.
- OWEN C.A. - The effect of enterohepatic circulation on the bromsulphalein test of hepatic function.
J. Lab. Clin. Med. 1951, 38, 583-584.
- PHILIP J.R., GRODSKY G.M., CARBONE J.V. - Mercaptide conjugation in the uptake and secretion of sulfobromophthalein.
Amer. J. Physiol. 1961, 200, 545-547.
- RAUTUREAU M., LEMONNIER F., MOWSZOWICZ I.F., CHENDEROVITCH J. - Chromatographie sur couches minces de la brome sulfone phtaléine dans la bile et le sérum.
Rev. Fr. Et. Clin. Biol. 1964, 9, 197-199.
- ROBBINS E.D., BURTON S., GOERKE J., FRIEDMAN M. - Cholesterol and cholate concentration of perfusate and bile of isolated liver preparation.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1953, 83, 212-214.
- RODRIGUEZ-GARAY E., PEREZ V., ROYER M. - Fluorometric determination of free and conjugated bromsulphalein (B.S.P.) in experimental liver injury.
Acta Physiol. Lat. Amer. 1967, 17, 68-75.

- ROSENTHAL S.M., WHITE E.C. - Studies in hepatic function. VI- A) The pharmacological behavior of certain phthalein dyes. B) The value of selected phthalein compounds in the estimation of hepatic function.
J. Pharmacol. Exper. Ther. 1924, 24, 265-288.
- SCHENKER S., COMBES B. - Role of hepatic adenosine triphosphate in B.S.P. transport and metabolism in vivo.
Amer. J. Physiol. 1967, 212, 295-300.
- SCHERB J., KIRSCHNER M., ARIAS I. - Studies of hepatic excretory function : effect of 17 α -19-nortestosterone on sulfobromophthalein sodium (B.S.P.). Metabolism in man.
J. Clin. Invest. 1963, 42, 404-408.
- SCHOENFIELD L.J., FOULK W.T., BUTT H.R. - Studies of sulfobromophthalein sodium (B.S.P.) metabolism in man. I- In normal subjects and patients with hepatic disease.
J. Clin. Invest. 1964, 43, 1409-1418.
- SCHOENFIELD L.J., Mac GILL D.B., FOULK W.T. - Studies of sulfobromophthalein sodium (B.S.P.). Metabolism in man. III- Demonstration of a transport maximum (Tm) for biliary excretion of B.S.P.
J. Clin. Invest. 1964, 43, 1424-1432.
- SKAUNIC V., NERAD V., JADRNA J. - Relative storage capacity and maximal secretion rate of the liver for sulfobromophthalein in relation to age.
Cesk. Gastroent. Vyz. 1965, 19, 523-532.
- SMITH H.W. - The physiology of the kidney.
Oxford University Press - 1938.
- SPERBER I. - Secretion of organic anions in the formation of urine and bile.
Pharmacol. Rev. 1959, 11, 109-134.
- TRUPIN N. - Contribution à l'étude de la fonction biliaire en hypothermie (recherches sur le rat).
Thèse Doctorat es Sciences Naturelles, Lille 1962.
- VAILLE C., DEBRAY C., DE LA TOUR S., ROZE C., SOUCHARD M. - Influence des anesthésiques sur les sécrétions biliaire et pancréatique.
Ann. Pharmacol. Fr. 1961, 19, 713-721.

- VANLERENBERGHE J. - Etude de l'intervention de quelques facteurs enzymatiques dans la cholérèse (recherches sur le foie de rat perfusé).
Thèse Doctorat es Sciences Naturelles - Lille 1958.
- VANLERENBERGHE J., BIZARD G., GREGOIRE N., ROBELET A., GUERRIN F. - Action de quelques barbituriques sur la sécrétion de la bile par le foie de rat perfusé.
Anesth. Analg. Réanim. 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., TRUPIN-BAR N., GUISLAIN R., CASSAIGNE R. - Elimination biliaire du cholestérol. Etude chez le rat anesthésié et sur le foie perfusé.
J. Physiol. 1967, 59, 304-305.
- VANLERENBERGHE J., TRUPIN N., BEL C., GUISLAIN R., CASSAIGNE R. - Données numériques sur la fonction biliaire du rat.
Pathol. Biol. 1968, 16, 105-109.
- VERSCHURE J.C.M. - Clinical use of measurements of clearance and maximum capacity of the liver.
Acta Med. Scand. 1952, 142, 409-419.
- WHEELER H.O., EPSTEIN R.M., ROBINSON R.R., SNELL E.S. - Hepatic storage and excretion of sulfobromophthalein sodium in the dog.
J. Clin. Invest. 1960, 39, 236-247.
- WHEELER H.O., MELTZER J.I., BRADLEY S.E. - Biliary transport and hepatic storage of sulfobromophthalein sodium in the unanesthetized dog, in normal man, and in patients with hepatic disease.
J. Clin. Invest. 1960, 39, 1131-1144.
- WHEELER H.O., MELTZER J.I., EPSTEIN R.R., BRADLEY S.E. - Hepatic storage and biliary transport of bromsulphalein in dog and man.
J. Clin. Invest. 1958, 37, 942.
- WHELAN F.J., PLAA G.L. - The application of thin layer chromatography to sulfobromophthalein metabolism studies.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 1963, 5, 457-463.
- WINKLER H., GRAM C. - The kinetics of bromsulphalein elimination during continuous infusion in man.
Acta Med. Scand. 1965, 178, 439-452.

