

570 - 13/02

# THÈSE

présentée à

**L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE PARIS VI**

pour l'obtention du

**DIPLOME DE DOCTEUR DE 3<sup>ème</sup> CYCLE**

**«SCIENCES NATURELLES»**

mention: **NUTRITION**

0564

par

**Lazazi DEHBI**

D45

Sujet de la thèse :

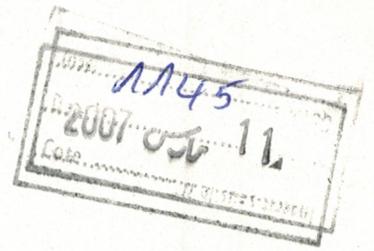
**Sécrétion biliaire et acides biliaires chez le lapin.**

Soutenue le 19 Novembre 1984 devant la Commission composée de:

MM. M. PASCAUD	Président
H. LE BARS	Rapporteur
D. SAUVANT	Examineur
T. CORRING	"
S. ERLINGER	"

R E S U M E

+ = + = + = + = + = + = +



Ce travail porte sur l'étude de quelques aspects de la sécrétion biliaire du lapin en fonction de perturbations physiologiques spécifiques de l'espèce et après induction de perturbations importantes de cette sécrétion. Une première expérience s'est attachée à faire un "inventaire" de la composition en acides biliaires dans les milieux biologiques, et d'essayer d'établir une relation avec la pratique de la caecotrophie. En effet cette relation est mise en évidence, et une large variation des taux d'acides biliaires dans ces milieux biologiques (en particulier dans la bile) est vérifiée. Deux expériences ont été faites pour étudier les conséquences physiologiques découlant des ligatures des canaux biliaires. Les animaux survivent jusqu'à un mois, quoique les lésions hépatiques soient drastiques (une vésicule biliaire dilatée, des canaux épaissis, une ascite abdominale) ; l'acide biliaire primaire, est bien l'acide cholique, mais des acides biliaires secondaires sont présents sans que nous puissions trouver une explication. La 4<sup>e</sup> et dernière expérience suggère de dériver la bile à l'intérieur du duodénum au niveau du canal pancréatique ; il en ressort que le lapin supporte cette perturbation, quoique le cycle entérohépatique des A. soit moins efficace.

Lapin : sécrétion biliaire.

MOTS CLES :

Acides biliaires - sécrétion biliaire - vésicule biliaire - canaux biliaires - chromatographie sur couche mince - chromatographie en phase gazeuse - caecotrophie - ligatures - dérivation biliaire - duodénum. Lapin.

# THÈSE

présentée à

**L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE PARIS VI**

pour l'obtention du

**DIPLOME DE DOCTEUR DE 3<sup>ème</sup> CYCLE**

**«SCIENCES NATURELLES»**

mention: NUTRITION

0562

par

*Lazazi DEHBI*



Sujet de la thèse :

**Sécrétion biliaire et acides biliaires chez le lapin.**

Soutenue le 19 Novembre 1984 devant la Commission composée de:

MM. M. PASCAUD	Président
H. LE BARS	Rapporteur
D. SAUVANT	Examineur
T. CORRING	”
S. ERLINGER	”

*A ma femme,*

*A mes enfants,*

*A mes parents et Beaux-Parents*

*A mes amis*

*A mon Pays.*

## S O M M A I R E

+ = + = + = + = + = + = + = + = +

## I - I N T R O D U C T I O N

I.1. PARTICULARITES DE LA SECRETION ET DE L'EXCRETION BILIAIRE CHEZ LE LAPIN

I.1.1. Rappels anatomiques du système biliaire

I.1.2. Volume et débit biliaire

I.1.2.1. Effets hormonaux

I.1.2.2. Influence du sphincter d'ODDI

I.1.2.3. Effets de certaines substances chimiques.

I.1.3. Evacuation vésiculaire de la bile

I.1.4. Composition chimique et concentration de la bile.

I.2. PARTICULARITES DU METABOLISME DES ACIDES BILIAIRES CHEZ LE LAPIN.

I.2.1. Cycle entérohépatique

I.2.2. Métabolisme

I.2.3. Taux circulant et synthèse

I.2.4. Taux et composition en acides biliaires dans les milieux biologiques

I.2.4.1. Dans la bile

I.2.4.2. Dans le tube digestif

I.2.4.3. Dans le sang

I.2.4.4. Dans l'urine et dans les fèces dures

I.2.5. Absorption des acides biliaires

I.2.6. Rôles des acides biliaires

- I.2.6.1. Absorption des lipides
- I.2.6.2. Excrétion d'eau et formation de micelles dans la bile.
- I.2.6.3. Cholérèse
- I.2.6.4. Formation et dissolution de calculs biliaires
- I.2.6.5. Détoxification
- I.2.6.6. Sécrétion du mucus et motilité du côlon
- I.2.5.7. Rôles divers en pathologie

I.3. ANALYSE CRITIQUE DES METHODES D'EXTRACTION DES ACIDES BILIAIRES.

I.4. CONCLUSION

II - T R A V A U X P E R S O N N E L S

II.1. TECHNIQUES UTILISEES

II.1.1. Techniques physiologiques et chirurgicales

- II.1.1.1. Animaux
- II.1.1.2. Régime alimentaire
- II.1.1.3. Conditions expérimentales et hébergement
- II.1.1.4. Recueil des échantillons
- II.1.1.5. Techniques opératoires

II.1.2. Techniques analytiques

II.1.2.1. Extraction des échantillons

- II.1.2.1.1. Fèces dures, molles et contenus intestinaux
- II.1.2.1.2. Bile
- II.1.2.1.3. Plasma
- II.1.2.1.4. Urine

- II.1.2.2. Méthylation des échantillons
- II.1.2.3. Purification
- II.1.2.4. Chromatographie sur couche mince (C.C.M.)
- II.1.2.5. Chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.)

## II.2. RESULTATS ET DISCUSSIONS

### II.2.1. Expérience 1

- II.2.1.1. Détermination de la période de caecotrophie
- II.2.1.2. Résultats analytiques

- II.2.1.2.1. Concentration en acides biliaries dans la bile
- II.2.1.2.2. Concentration en acides biliaries plasmatiques
- II.2.1.2.3. Concentration en acides biliaries dans l'estomac
- II.2.1.2.4. Concentration en acides biliaries dans le duodénum
- II.2.1.2.5. Concentration en acides biliaries dans le jéjunum
- II.2.1.2.6. Concentration en acides biliaries dans l'iléon
- II.2.1.2.7. Concentration en acides biliaries dans le caecum
- II.2.1.2.8. Concentration en acides biliaries dans le côlon proximal
- II.2.1.2.9. Concentration en acides biliaries dans le côlon distal
- II.2.1.2.10. Concentration en acides biliaries dans les fèces dures
- II.2.1.2.11. Concentration en acides biliaries dans les caecotrophes
- II.2.1.2.12. Concentration en acides biliaries dans l'urine.

### II.2.1.3. Discussion

## II.2.2. Expérience 2

II.2.2.1. Mesures physiologiques

II.2.2.2. Résultats d'autopsie

II.2.2.3. Résultats analytiques

II.2.2.3.1. Concentration en acides biliaires dans la bile

II.2.2.3.2. Concentration en acides biliaires plasmatiques

II.2.2.3.3. Concentration en acides biliaires dans les fèces dures

II.2.2.3.4. Concentration en acides biliaires dans les caecotrophes

II.2.2.4. Discussion

## II.2.3. Expérience 3

II.2.3.1. Mesures physiologiques

II.2.3.2. Résultats d'autopsie

II.2.3.3. Résultats analytiques

II.2.3.3.1. Concentration en acides biliaires dans la bile

II.2.3.3.2. Concentration en acides biliaires plasmatiques

II.2.3.3.3. Concentration en acides biliaires dans les fèces dures

II.2.3.4. Discussion

## II.2.4. Expérience 4

II.2.4.1. Mesures physiologiques

II.2.4.2. Résultats d'autopsie

II.2.4.3. Mesures analytiques

II.2.4.3.1. Concentration en acides biliaires dans la bile

II.2.4.3.2. Concentration en acides biliaires dans les fèces dures

II.2.4.3.3. Concentration en acides biliaires  
urinaires

II.2.4.4. Discussion

III - C O N C L U S I O N G E N E R A L E

+ = + = + = + = + = + = + =

Les recherches qui font l'objet de ce travail ont été entreprises au laboratoire d'Anatomie et de Physiologie Animales de L'Institut National Agronomique, dirigé par Monsieur le Professeur H. LE BARS.

Je voudrais, en premier lieu, que le Professeur H. LE BARS trouve ici le témoignage de mon très respectueux et amical attachement. Je ne saurais oublier que, par ses qualités humaines, par son enseignement, c'est à lui que je dois mon apprentissage à la recherche. Il m'a particulièrement encouragé pour entreprendre ce travail.

Je souhaite remercier le Professeur M. PASCAUD, qui a bien voulu accepter d'être mon patron de thèse, <sup>qu'il</sup> trouve ici le témoignage de ma vive reconnaissance. Par ses conseils et son aide, il a largement contribué au bon déroulement de notre travail.

Je remercie vivement le Docteur S. ERLINGER qui a bien voulu accepter de juger notre travail. Par ses conseils et ses questions soulevées lors de nos entretiens, il m'a beaucoup aidé à améliorer et à mieux présenter l'exploitation de mes expériences.

Je prie Monsieur T. CORRING, directeur de recherches à l'I.N.R.A. d'accepter l'hommage de ma vive admiration. Par sa haute compétence, ses qualités humaines et ses critiques bénéfiques, il a largement contribué à l'amélioration de ce travail.

Je tiens à remercier le Professeur D. SAUVANT, qui a bien voulu accepter notre invitation à ce jury ; ses enseignements et ses conseils ont été pour nous, une aide morale et scientifique inestimable.

*Je remercie le Docteur PARQUET, de l'INSERM de l'hôpital Saint-Antoine ainsi que son équipe de leur aide scientifique et leur concours technique.*

*Je remercie Monsieur F. GALLOMIN, Maître de Conférences à l'I.N.A.P.G., qui nous a initiés à la chirurgie expérimentale et à la pédagogie.*

*Je tiens à exprimer ma sincère gratitude et ma vive reconnaissance à Mademoiselle Germaine DEMAUX et à Madame Louise GUEMON, de notre laboratoire. Leur infatigable enthousiasme et leurs compétences m'ont servi de guide dans la réalisation de mon travail. A toute l'équipe de ce laboratoire, mes amitiés sincères.*

*Je remercie l'équipe de F O R M A V E N I R ainsi que mon amie Dominique FILIPPUCCI pour la dactylographie de ce document.*

*+ = + = + = + = + = + = + =*

Le lapin domestique "*Oryctolagus Cuniculus*", présente un intérêt économique indiscutable pour les pays en voie de développement, par sa chair plus riche en protéines (21,47 %) que celle du boeuf (20,58 %) ou du mouton (16,36 %); (BRADFIELD et MAYNARD, 1958), par sa prolificité, par sa facilité d'adaptation à de nombreux milieux climatiques tels ceux des régions tropicales et des régimes alimentaires variés, susceptibles d'être modifiés en fonction des productions végétales de ces pays. Ces caractéristiques ont été mises à profit comme instrument de développement du niveau alimentaire dans plusieurs pays du monde.

Par ailleurs, son utilisation dans les laboratoires de recherches a permis de travailler des aspects de la physiologie comparée, de la pharmacodynamie, de la sérologie etc... Le lapin fait l'objet d'études de transit et de physiologie digestive dont on trouve des applications nutritionnelles directes pour l'homme (i.e. : importance des fibres cellulosiques dans un régime alimentaire).

Cependant les recherches fondamentales consacrées au lapin, non pas comme modèle expérimental, mais pour lui-même, sont encore trop rares. Ce qui a fait dire au professeur CHARLET : " Le lapin est un de ces animaux de laboratoire auquel la science a beaucoup emprunté et peu donné".

La pratique de la caecotrophie dont le mécanisme intime est encore mal connu malgré les progrès faits ces dernières années, complique certains aspects de sa physiologie digestive. La caecotrophie se présente comme le phénomène dominant le fonctionnement du tube digestif.

Outre son intérêt nutritionnel, elle bouleverse les données d'absorption de nombreux métabolites, et introduit dans le cycle digestif certaines espèces de la microflore bactérienne proliférant même aux pH acides de l'estomac (BEAUVILLE, 1966).

De nombreuses autres particularités anatomiques ou physiologiques du lapin sont à signaler : l'anatomie originale de son tube digestif avec un estomac qui ne se vide pratiquement jamais, siège d'une prolifération bactérienne, et un caecum volumineux représentant le dixième du poids total de l'animal, le classent entre les herbivores polygastriques et les monogastriques ; des agents lytiques puissants différents des protéases classiques seraient présents dans l'antrum (VIALARD et RAYNAUD, 1968) et dans le côlon (BONNAFOUS et RAYNAUD, 1967) ; la sécrétion gastrique est continue mais celle de la pepsine est discontinue, (BEAUVILLE, 1966).

*Ce travail que nous avons réalisé et que nous rapportons dans ce mémoire a été consacré à l'étude de la sécrétion biliaire du lapin, soit en fonction des particularités anatomiques spécifiques soit après induction de perturbations importantes de la physiologie de cette sécrétion.*

I - I N T R O D U C T I O N

I.1. PARTICULARITES DE LA SECRETION BILIAIRE  
CHEZ LE LAPIN.

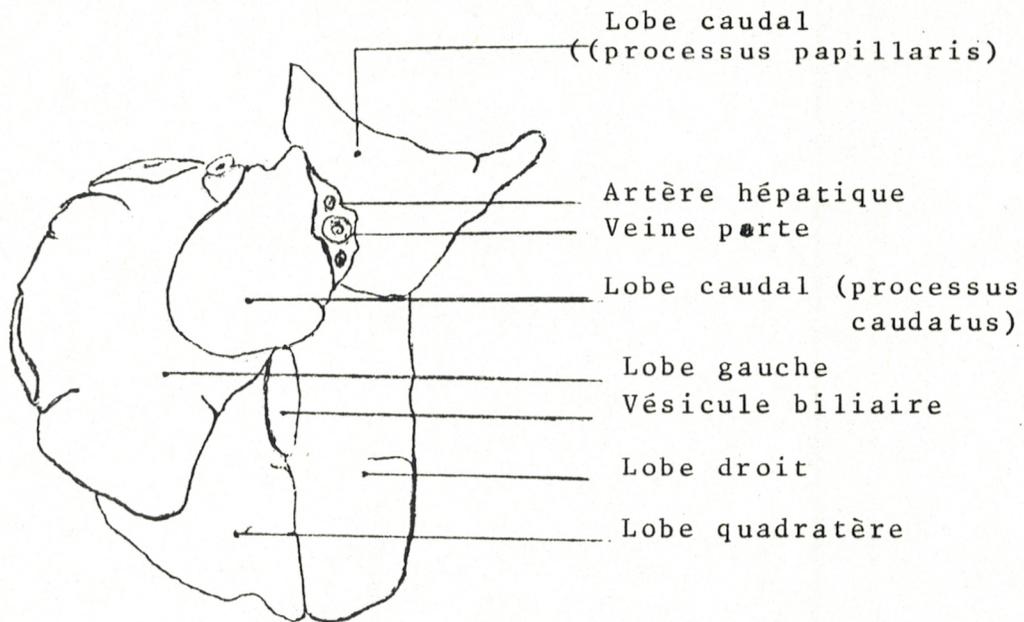
Dans l'étude de la sécrétion biliaire, les chercheurs ont, semble-t-il, "évité" le lapin car la plupart des publications sur ce sujet précis, sont faites surtout chez l'homme, le cobaye, le porc, le chat, le rat et le chien.

Les quelques auteurs qui ont utilisé le lapin, ont travaillé sur des animaux anesthésiés, sauf BOEGLI et HALL, 1969 ; JACOBS, 1972 ; SHAW et HEATH, 1974 ; ESTELLER, JIMENEZ et LOPEZ, 1981.

Ces derniers auteurs ont fait des fistules chroniques avec restitution partielle ou totale de la bile recueillie.

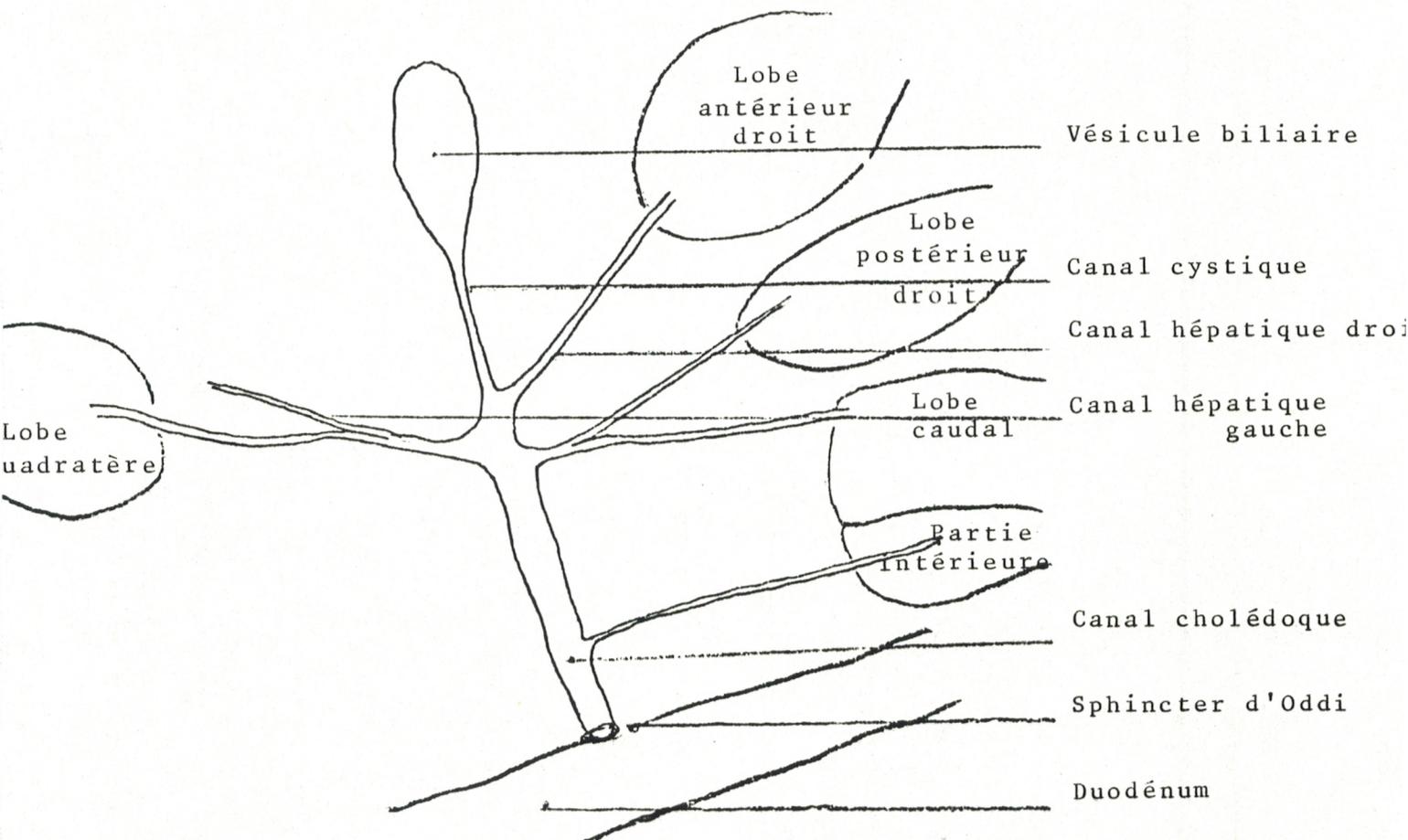
Le recueil et la réintroduction de la bile à l'aide de cathéters chez un lapin éveillé et pendant un temps prolongé, nécessitent un appareillage assez complexe. Ceci explique, peut-être, la préférence de certains auteurs pour l'utilisation de la fistule aiguë.

Le rôle de la bile dans la digestion et l'absorption des lipides est connu de longue date : il fut décrit par DASTRE en 1890 qui a réussi à aboucher le canal cholédoque au milieu de l'intestin grêle du chien. FORSGREN en 1928, a décrit la rythmicité de l'activité hépatique chez le lapin. Puis JONES et GROSSMAN en 1969, travaillant avec des méthodes plus élaborées, telle que la fistulation chronique et totale du canal cholédoque du chien, ont facilité l'étude de la sécrétion biliaire. Les travaux de JUSTE, CORRING et BREANT en 1979 sur le porc et de JIMENEZ, ESTELLER et LOPEZ en 1982 sur le lapin, ont permis de confirmer la fiabilité des fistulations chroniques.



Face viscérale en place, du foie de lapin  
(D'après BARONE et al., 1973, Atlas d'Anatomie du lapin).

SCHEMA N° 2



Système biliaire du lapin établi selon le texte de  
CRAIGIE, 1960.

### I.1.1. Rappels anatomiques du système biliaire.

La vésicule biliaire du lapin ressemble à un sac allongé, situé dans une dépression sur la face postérieure du lobe antérieur droit du foie.

Le canal cholédoque est formé à la surface postérieure du foie par l'union du canal hépatique gauche avec un autre similaire venant du lobe antérieur droit. Ce dernier reçoit le canal cystique de la vésicule biliaire. Un canal du lobe quadratère rejoint le canal hépatique gauche.

Des canaux "spéciaux", selon CRAIGIE 1960, provenant du lobe postérieur droit et du lobe caudal arrivent au canal cholédoque par un court tronc.

Un canal arrivant de la partie antérieure du lobe caudal joint directement le canal cholédoque. Ce dernier passe derrière et du côté droit de la veine porte et entre dans le tube digestif à la surface dorsale de la première portion du duodénum, à 15 mm en aval du pylore, par l'intermédiaire du sphincter d'ODDI (voir schémas n°1 et n°2). SARLES et AWAD, 1983 ont observé une particularité inédite chez le lapin : la musculature oddienne est constituée uniquement de fibres circulaires lisses. Ainsi l'absence de fibres longitudinales rend le sphincter d'ODDI indépendant de la musculature duodénale.

### I.1.2. Volume et débit biliaire

Le débit biliaire, a été étudié par plusieurs auteurs, utilisant soit des fistulations aiguës, temporaires ou chroniques. Les travaux d'ESTELLER et al. en 1981 sur le lapin, utilisant un recueil de la bile réintroduite dans le canal cholédoque irrigant ainsi le sphincter d'ODDI, donnent des résultats con-

TABLEAU N° 1 : VOLUME EXCRETE DE LA BILE VESICULAIRE  
PAR ESPECES ET PAR JOUR.

\* avec réintroduction de la bile dans le duodénum ; sur des animaux non anesthésiés.

ANIMAUX	ml/Kg de poids vif	ml/g de foie	REFERENCES
LAPIN	118	4,53	SCHMIDT et IVY, 1935
	104-225	2,5-5,4	SCRATCHERD, 1965
	50,64	-	GREGG et POLEY, 1966 *
		2,41±1,09	PUGH et STONE, 1969
	87,4 g		DHUMEAUX et coll., 1970
	100,8		KLAASSEN, 1972
	64,4		KIRCHMAYER et coll. 1972
	163,6		ERLINGER et coll. 1969-1970
RAT	28,6-47,1	1,25	SCHMIDT et IVY, 1935
	72		KLAASSEN, 1972
PORC	25,2	1,04	SCHMIDT et IVY, 1935
	46	-	JUSTE et coll., 1979 *
CHAT	14	0,45	SCHMIDT et IVY, 1935
	-	0,331 ±0,043	PUGH et STONE, 1969
CHIEN	12	0,36	SCHMIDT et IVY, 1935
	10	-	WHEELER et RAMOS, 1960
	-	0,274±0,02	PUGH et STONE, 1969
	7,2	-	KLAASSEN, 1972
MOUTON	12,1	0,98	SCHMIDT et IVY, 1935
	21	-	HEATH et coll., 1970
COBAYE	228	6,50	SCHMIDT et IVY, 1935
SOURIS	34,9	0,63	" "
CHEVAL	20,8	1,46	" "
BOEUF	15,4	0,86	" "
POULE	14,2	0,58	" "
CHEVRE	11,8	0,87	" "
PIGEON	40,1	1,64	" "
HOMME	20,02-30,24 g	-	BERGSTRÖM, 1962
	9	-	MIETTINEN, 1973

concernant le débit et la concentration des sels biliaires ou en électrolytes qui sont remarquablement stables. Ces auteurs ont, par ailleurs, montré que le débit biliaire est plus faible chez les animaux éveillés que chez les animaux anesthésiés. BIZARD et ROBELET (1962) ont affirmé que certains anesthésiques augmentent le débit biliaire. Le tableau n° 1, montrant les volumes des biles cholédociennes dans diverses espèces, nous amène à dire que le lapin fait partie des animaux qui ont une sécrétion biliaire très importante.

#### I.1.2.1. Effets hormonaux

Une particularité, chez le lapin, est l'absence d'effet cholérétique de la sécrétine (AFFOLTER et al., 1964 - SCRATCHERD, 1965 - KIRCHMAYER et al, 1972 - SHAW et HEATH, 1974). Cependant ESTELLER et al. 1977, ont observé une augmentation très brève du débit biliaire juste après l'injection de sécrétine. Toutefois, l'effet cholérétique de la sécrétine sur la cholérèse chez le lapin n'est pas significatif.

D'après SHAW et HEATH (1974), la cholécystokinine (C.C.K.), a des doses élevées (non physiologiques), peut augmenter le débit biliaire, quoique KIRCHMAYER et al. 1972 n'aient pas pu trouver des effets significatifs. D'après ces derniers auteurs, il semble que la C.C.K. soit cholaguogue (contractions de la vésicule biliaire et inhibition du sphincter d'ODDI provoquant une "chasse biliaire"). En outre, la pentagastrine, qui a une analogie de structure avec la C.C.K., n'a aucun effet sur le débit biliaire.

### I.1.2.2. Influence du sphincter d'ODDI

SARLES et AWAD, 1983 chez le lapin ont décelé l'influence de la motricité oddienne sur l'excrétion biliaire. Aussi, toute augmentation de l'activité électrique du sphincter d'ODDI, se traduit par une élévation de la pression biliaire sus-Oddienne et une diminution du débit trans-Oddien. L'effet est contraire s'il y a diminution de l'activité électrique.

### I.1.2.3. Effets de certaines substances

DHUMEAUX et al., 1970 ont comparé l'influence du Rose Bengale et de l'uranine (Fluorescéine soluble) administrés par voie veineuse sur le débit de la bile et la concentration en sels biliaires dans la bile du lapin. L'uranine fait augmenter le premier et diminuer la seconde, alors que le Rose Bengale a des effets inverses.

### I.1.3. Evacuation vésiculaire de la bile

L'intervention hormonale et nerveuse a été de tout temps incriminée dans le mécanisme de l'évacuation biliaire. Il est admis que le nerf vague est constrictor de la vésicule biliaire et dilatateur du sphincter d'ODDI. Le nerf splanchnique a un effet inverse ; cependant cette théorie semble douteuse car chacun des nerfs contient un mélange de fibres motrices et inhibitrices, avec selon le cas, prépondérance de l'une ou de l'autre sorte (cf. HERMANN et Cier, 1970). Actuellement les chercheurs considèrent que le rôle essentiel du système nerveux est de coordonner les contractions de la vésicule biliaire avec la motricité du sphincter d'ODDI. Il existe des réflexes vésico-sphinctériens décrits par

WYATT en 1967 : les stimulations portées sur les parois de la vésicule et amenant sa contraction, provoqueraient le relâchement du sphincter d'ODDI. Par contre, la distension de la vésicule réalisée par augmentation passive de la pression intravésiculaire est sans effet sur le tonus sphinctérien.

#### I.1.4. Composition chimique et concentration de la bile

La bile est un liquide de composition chimique complexe (TABLEAU 2 et 2 bis). On y trouve des produits de dégradation de l'hémoglobine, des sels biliaires, des phospholipides, des médicaments (éventuellement), des poisons organiques ou minéraux, des corps étrangers et des bactéries lors d'hépatites ou de cholécystites, du cholestérol et d'autres métabolites. Elle est épaisse et de couleur verdâtre (vert clair chez le lapin) due à la présence de biliverdine. En outre, elle contient du mucus sécrété par la vésicule elle-même.

Le pH de la bile cholédocienne de lapin que nous avons mesuré est de  $8,1 \pm 0,6$  chez huit animaux. KIRCHMAYER et al., 1972 ont trouvé un pH de  $8,25 \pm 0,13$ .

L'extrait sec est de 2,5 à 15 g. p.cent.

La vésicule biliaire du lapin a la capacité de concentrer la bile de 2 à 6 fois selon SCHMIDT et IVY, 1937 (tableau 2). Le mécanisme serait une réabsorption active de chlorure de sodium et d'eau (DIAMOND, 1964), avec participation active des bicarbonates (WHITLOCK et WHEELER, 1964).

## TABLEAU N° 2

## TENEUR EN SELS BILIAIRES DE LA BILE VESICULAIRE

Espèce animale	mg/ml de bile	Références
L A P I N	96,1 3,62 (0,7-12,0) 32,9	MOSBACH et BEVANZ, 1960 GREGG et POLEY , 1965 TAYLOR , 1977
C H I E N	79-150	KOLB, 1965
P O R C	85-120	KOLB, 1965
B O E U F	72	KOLB, 1965

Concentration de la bile par la vésicule biliaire de quelques espèces animales, d'après KOLB, 1965.

LAPIN .....	5 fois
CHIEN .....	5 à 10 fois
SOURIS .....	4 à 5 fois
POULE .....	3 à 6 fois
CANE .....	3 à 4 fois
COBAYE .....	1 à 2 fois
PORC, MOUTON, CHEVRE, VACHE .....	Nulle

+++++

TABLEAU N° 2bis : COMPOSITION IONIQUE DE LA BILE VESICULAIRE en m.Eq/l

ESPECE ANIMALE	Cl <sup>-</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>--</sup>	Références
L A P I N	77-89	142-147	5,2-6,7	44,49	1,4-1,7	2,7-6,7	0,3-0,7	4-4,7	STRANSKY, 1931
	82,1	144,1	3,6	47,7	-	-	-	-	SCRATCHERD, 1965
	106,2	158,6	2,92	32,7	-	-	-	-	PUGH & STONE, 1969
	99,39	176,4	6,15	51,8	-	5,42	1,07	-	KIRCHMAYER, coll., 1972
86-105	137-150	-	32-47	-	-	-	-	ESTELLER, coll., 1981	
C H I E N	0,09-0,17	-	-	-	-	-	-	-	KOLB, 1965
	66,2	170,8	5,05	60,7	-	-	-	-	PUGH & STONE, 1969
C H A T	108,7	163,1	4,17	24,1	-	-	-	-	PUGH & STONE, 1969
P O R C	0,03-0,06	-	-	-	-	-	-	-	KOLB, 1965
B O E U F	-	-	-	-	-	-	-	-	KOLB, 1965

## I.2. PARTICULARITES DU METABOLISME DES ACIDES BILIAIRES CHEZ LE LAPIN

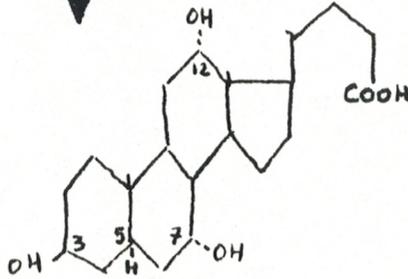
### I.2.1. Cycle entérohépatique des acides biliaires

Les acides biliaires sont des acides carboxyliques formés dans le foie, par saturation et hydroxylation du noyau cholestérique et oxydation de sa chaîne carboxylique (voir schéma n° 3). A l'inverse du cholestérol composé de 27 carbones, non saturé, mono hydroxylé, non polaire, les acides biliaires ont 24 carbones, sont saturés, mono ou polyhydroxylés, et ont un groupe carboxylique à la fin de la chaîne latérale carbonée. Ils sont conjugués soit à la taurine ou à la glycine et sont sécrétés dans la bile par des processus incluant l'intervention de transporteurs (GONZALES, SUTHERLAND et SIMON, 1979).

Les acides biliaires se différencient entre eux par la position de l'atome d'hydrogène sur le carbone 5 (Acides en  $5\beta$  et  $5\alpha$ , appelés Allo), par le nombre et la position des groupes hydroxyles et par la configuration stéréochimique de ces mêmes groupes.

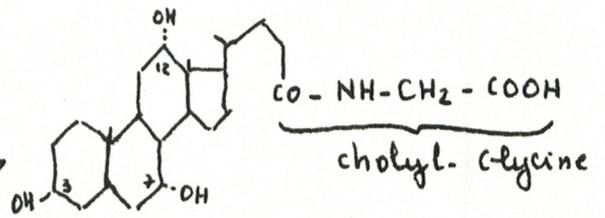
Les acides biliaires sont concentrés dans la vésicule biliaire, et délivrés avec la bile dans le duodénum, à travers le sphincter d'ODDI. Dans le tube digestif, une quantité importante est absorbée et ramenée au foie par la veine porte, la partie des acides biliaires qui échappe à ce cycle entérohépatique s'élimine par les fèces dures. Il est à noter, que chez le lapin, le cycle est enrichi par l'apport d'acides biliaires des caecotrophes.

cholesterol

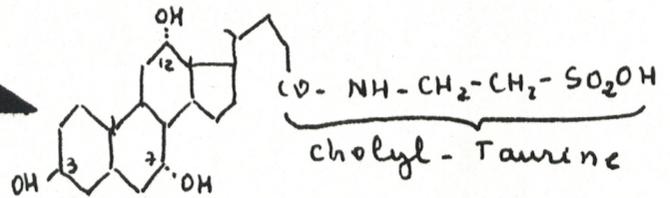


ACIDE CHOLIQUE

(Acide 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$  Trihydroxy 5 $\beta$ . cholanique)



Acide Glycocholique



Acide Taurocholique

Acide CHENODESOXYCHOLIQUE

(Acide 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$  dihydroxy 5 $\beta$ . cholanique)

Acide Glycochénodésoxycholique

Acide Tauro chénodésoxycholique

Acide DESOXYCHOLIQUE

(Acide 3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ , dihydroxy 5 $\beta$  cholanique)

Acide Glycésoxycholique

Acide Tauro désoxycholique

Acide LITHOCHOLIQUE

(Acide 3 $\alpha$ , monohydroxy 5 $\beta$  cholanique)

Acide Glycolithocholique

Acide Tauro lithocholique

# ACIDES BILIAIRES PRIMAIRES et SECONDAIRES

Schéma: 5

Secondaires

Primaires

ACIDE CHOLIQUE  
(Acide 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$  Trihydroxy  
5 $\beta$  cholanique).

→

Acide Désoxycholique et ses dérivés  
(Acide 3 $\alpha$ , 12 $\alpha$  dihydroxy  
5 $\beta$  cholanique).

microorganismes

ACIDE CHENODESOXYCHOLIQUE  
(Acide 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , dihydroxy  
5 $\beta$  cholanique)

→

Acide Lithocholique et ses dérivés  
(Acide 3 $\alpha$  monohydroxy  
5 $\beta$  cholanique).

### I.2.2. Métabolisme des acides biliaires

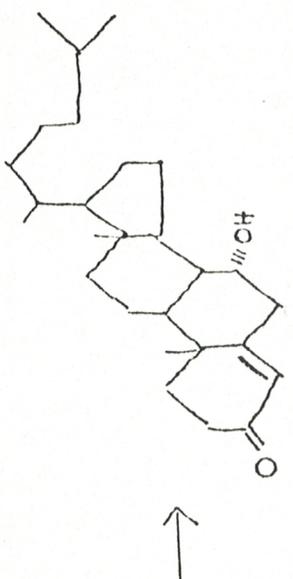
Le cholestérol est éliminé de l'organisme dans les fèces, partiellement en stérols neutres et en acides biliaires ; une petite quantité est excrétée comme métabolites hormonaux. Dans le foie le cholestérol donnerait deux voies métaboliques correspondantes, l'une à la formation du cholate (trihydroxy), l'autre à celle du chénodésoxy-cholate (dihydroxy), selon les schémas n°3 et 4. On continue d'appeler ces deux acides biliaires, primaires par rapport aux acides biliaires secondaires qui sont le résultat des transformations biochimiques dues à la microflore intestinale (tableau n° 3 et schéma n° 5).

#### - Nouvelles données sur le métabolisme des acides biliaires et particularités chez le lapin.

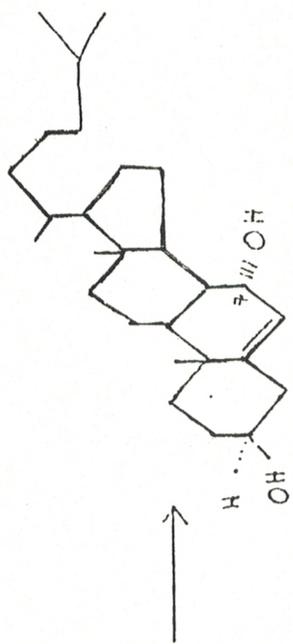
Chez les mammifères, les acides biliaires principaux sont des composés ( $5\beta$ ,  $C_{24}$ ) quoique des traces d'acides biliaires en  $C_{27}$  et d'acide allocholique ( $5\alpha$ ) aient été observées chez l'homme ayant une fistule biliaire (HASLEWOOD, 1964). Chez le lapin, l'acide allodésoxycholique a été mis en évidence par de nombreux auteurs et son taux est souvent significatif.

Les voies classiques du métabolisme des acides biliaires commencent à être remises en question. Par exemple, d'après KOK et al, 1981, le lithocholate, acide biliaire classé secondaire, serait en fait un acide biliaire primaire par une voie métabolique alternative de dégradation du cholestérol hépatique chez certains mammifères, et particulièrement chez le lapin (TAYLOR, 1981).

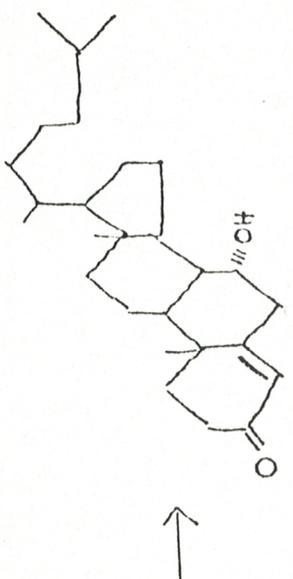
SCHEMA N° 3 : TRANSFORMATION DU CHOLESTEROL EN AC. CHOLIQUE



CHOLESTEROL



7 α Hydroxy CHOLESTEROL



7 α Hydroxy CHOLEST-4-ENE 3 ONE

7 α, 12 α dihydroxy cholest-4-ène-3 ONE

7 α, 12 α dihydroxy 5 β cholest-4-ène-3 ONE

7 α, 12 α dihydroxy 5 β cholest-an-3 ONE

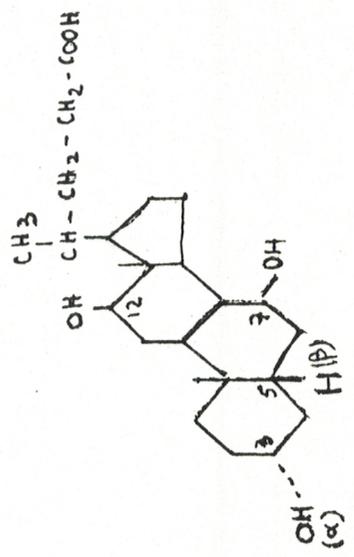
3 α, 7 α, 12 α Trihydroxy 5 β cholestane

3 α, 7 α, 12 α, 26 Tétrahydroxy 5 β Cholestane

3 α, 7 α, 12 α Trihydroxy 5 β cholanique

- Insertion d'un ou plusieurs OH sur le noyau stéroïde
- Inversion stéréochimique de l'OH du carbone 3
- OXYDATION des C25 - C26 - C27- qui se détachent.
- SATURATION de la double liaison C5 - C6
- Carboxylation du C24

(ACIDE CHOLIQUE)



## ISOMERES ET EPIMERES DE CERTAINS ACIDES BILIAIRES

NOM CHIMIQUE	ABREVIATIONS	FORMULE CHIMIQUE
Acide cholique	C	Acide 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ Trihydroxy 5 $\beta$ cholanique
Acide Allocholique	Allo C	Acide 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ Trihydroxy 5 $\beta$ cholanique
Acide Hyocholique	HC	Acide 3 $\alpha$ , 6 $\alpha$ , 7 $\alpha$ Trihydroxy 5 $\beta$ cholanique
Acide pythocholique	PC	Acide 3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ , 16 $\alpha$ Trihydroxy 5 $\beta$ cholanique
Acide bitocholique	BC	Acide 3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ , 23 Trihydroxy 5 $\beta$ cholanique
Acide Déhydrochique	DHC	Acide 3,7,12 Tricéto 5 $\beta$ cholanique
Acide 7 céto déoxycholique	7CDOC	Acide 3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ , 7 céto 5 $\beta$ cholanique
Acide Chénodéoxycholique	CDC	Acide 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ dihydroxy 5 $\beta$ cholanique
Acide Ursodéoxycholique	UDOC	Acide 3 $\alpha$ , 7 $\beta$ dihydroxy 5 $\beta$ cholanique
Acide Hyodéoxycholique	HDC	Acide 3 $\alpha$ , 6 $\alpha$ dihydroxy 5 $\beta$ cholanique
Acide 7 Cétolithocholique	7CLC	Acide 3 $\alpha$ hydroxy, 7 Céto 5 $\beta$ cholanique
Acide 6 Cétolithocholique	6CLC	Acide 3 $\alpha$ hydroxy, 6 Céto 5 $\beta$ cholanique
Acide Déoxycholique	DOC	Acide 3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ dihydroxy 5 $\beta$ cholanique
Acide Allodéoxycholique	AlloDOC	Acide 3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ dihydroxy 5 $\alpha$ cholanique
Acide Lithocholique	LC	Acide 3 $\alpha$ monohydroxy 5 $\beta$ cholanique
Acide isolithocholique	IsolC	Acide 3 $\beta$ monohydroxy 5 $\beta$ cholanique
Acide Déhydrolithocholique	DHLC (3CLC)	Acide 3 céto 5 $\beta$ cholanique
-		Acide 3 $\beta$ , 7 $\beta$ dihydroxy 5 $\beta$ cholanique
-		Acide 3 $\beta$ , 7 $\alpha$ dihydroxy 5 $\beta$ cholanique
-		Acide 3 $\alpha$ , 6 $\beta$ dihydroxy 5 $\beta$ cholanique
-		Acide 3 $\beta$ , 6 $\beta$ dihydroxy 5 $\beta$ cholanique
-		Acide 3 $\beta$ , 6 $\alpha$ dihydroxy 5 $\beta$ cholanique
-		Acide 3 $\alpha$ , 12 $\beta$ " "
-		Acide 3 $\beta$ , 12 $\beta$ " "
-		Acide 3 $\beta$ , 12 $\alpha$ " "
-		Acide 12 $\alpha$ hydroxy 3 céto " "
Acide 12 Cétolithocholique	12CLC	Acide 3 $\alpha$ , 12 Céto " "
-		Acide 3, 7 dicéto " "
-		Acide 3, 6 dicéto " "
A. déhydro desoxycholique	DHDOC	Acide 3, 12 dicéto

Un autre exemple peut être cité : l'activité de certaines espèces de Streptomycètes vivant dans le sol, conduit à la formation d'acide cholique, pourtant considéré comme acide primaire (DAVIS et al., 1962).

Ainsi la classification entre primaires et secondaires deviendrait insatisfaisante. Les voies métaboliques nouvelles de dégradation du cholestérol ont fait l'objet d'une étude intéressante par VLAHCEVIC et al., 1980 et LESTER en 1983.

En outre, d'autres formes de conjugaison peuvent être associées à celles de la glycine et de la taurine : celle de l'acide glucuronique (BACK, et al. 1974) et l'ion sulfate (PALMER, 1967-FROHLING et STIEHL, 1976 - TAYLOR, 1977 - STIEHL et al, 1977). D'appréciables quantités d'acides biliaires sulfatés et glucuronidés sont excrétées dans l'urine (PALMER, 1971- BACK et al. 1974 - ALME et SJOVALL, 1980 - EKLUND et al., 1980). Il semble que cette voie soit choisie par certains acides biliaires polyhydroxylés (BREMELGAARD et SJOVALL, 1979 - THOMASSEN, 1979). Certains auteurs parlent d'acides biliaires en C<sub>27</sub>, mais souvent en pathologie hépatique (HANSON et PRIES, 1977 - GUSTAFSSON, 1979).

### I.2.3. Taux circulant et synthèse

Etudiant l'influence d'une alimentation lipidique sur le métabolisme des acides biliaires, HELLSTRÖM et SJOVALL en 1962 ont estimé que la demi-vie de l'acide désoxycholique est de 6,8 jours et la synthèse quotidienne de 73,4 mg, avec un taux circulant de 700 mg ; ceci avec un régime contenant peu de lipides. Selon ces auteurs, la synthèse totale quotidienne des acides biliaires est estimée à 80 mg et l'acide biliaire synthétisé par le foie est l'acide cholique qui est rapidement déhydroxylé en

acide désoxycholique par les enzymes microbiens du tube digestif. RUCKEBUSCH en 1977, estime que la demi-vie de l'acide désoxycholique est de 6 jours pour un taux circulant égal à 9 ou 10 fois la synthèse quotidienne chez le lapin.

La valeur du taux circulant des acides biliaires chez le lapin est environ deux fois celle du rat (GUSTAFSSON, NORMAN et SJOVALL, 1960) et quatre fois celle de l'homme (LINDSTEDT, 1957) quand les valeurs sont calculées par Kg de poids vif. D'après HELLSTRÖM et SJÖVALL (1962) la production journalière d'acides biliaires chez le lapin est à peu près la même que celle des rats, mais 2 à 3 fois plus élevée que celle de l'homme.

#### I.2.4. Taux et composition en acides biliaires

##### I.2.4.1. Dans la bile

La concentration en acides biliaires de la bile, chez des herbivores et particulièrement chez le lapin et le cobaye est relativement basse par rapport au débit biliaire. (ERLINGER et al., 1969 - SHAW et HEATH, 1975). Un ensemble de résultats empruntés à plusieurs auteurs, se trouve dans le tableau n°2.

L'étude et la reconnaissance des acides biliaires primaires de la bile du lapin, ont été faites sur des animaux germ-free, par HOFMANN et al. (1969). Les résultats de ce travail montrent que l'acide chénodésoxycholique est en quantité très faible (2,4 %), le cholate représente 93,8 % et l'allocholate 1,5 %. Sur ce sujet, d'autres études ont été faites par MOSBACH et BEVANS 1956 - GREGG et POLEY, 1966).

La composition en acides biliaires chez des lapins normaux est en fait peu complexe. (Tableau n° 4 et 4 bis).

- l'acide glycodésoxycholique (GDOC) représente à lui seul 80 à 90 % des acides biliaires totaux de la bile.

- l'acide allodésoxycholique (Allo DOC) serait en quantité équivalente à celle de l'acide cholique (C) et pourrait représenter jusqu'à 8 % des acides biliaires totaux (DANIELSSON et al. 1963 - ELLIOTT 1971 et 1976 - TAYLOR, 1977), et paraît comme une particularité pour cette espèce. Cet acide proviendrait, par une dérivation, de l'acide allocholique ou, par conversion isomérique, du désoxycholate, ou encore des deux à la fois. Les rôles des acides biliaires allo sont encore très obscurs (ELLIOTT, 1971 et 1976). DANIELSSON et al, 1963 ont montré que le  $5\alpha$  cholestan- $3\beta$  ol pourrait être un précurseur des acides biliaires allo. Le lapin étant un lagomorphe, certains chercheurs n'ont pas hésité à baptiser cet acide du nom d'Ac. lagodésoxycholique (KISHI cité par DANIELSSON, 1963 et NAIR, 1967).

- l'acide allocholique est lui aussi présent mais en proportion beaucoup plus faible (TAYLOR, 1981). Cet auteur précise que trois des huit acides biliaires de la bile dans la fraction sulfatée sont des acides allo.

- l'acide chénodésoxycholique, se trouve en très petites quantités dans la bile vésiculaire chez le lapin (FISHER et al. 1974 - TAYLOR, 1977). Cette faible quantité suppose-t-elle une présence dans le tissu hépatique d'une  $12\alpha$  hydroxylase hautement active qui préviendrait l'accumulation de cet acide ?

- le lithocholate, normalement considéré comme un acide biliaire secondaire du chénodésoxycholate, est présent dans la bile vésiculaire en petites quantités et parfois sous forme de

TABLEAU N° 4 - TAUX DE CERTAINS ACIDES BILIAIRES CHEZ LE LAPIN.

ACIDES BILIAIRES	Aspect qualitatif.	F E C E S			URINE	ESTOMAC
		% d'acides biliaires excrétés.	Excrétion mg/j	% d'acides biliaires excrétés		
ACIDE DESOXYCHOLIQUE	+	87	61,94	.	10	
ACIDE LITHOCHOLIQUE	+	0-20	10-20	.	.	
ACIDE ISOLITHOCHOLIQUE	+	.	+	.	.	
ACIDE 12 CETOLITHO- CHOLIQUE	+	.	+	10	.	
ACIDE 3 $\beta$ , 12 $\alpha$ DIHYDRO- XY	+	.	+	.	.	
ACIDE ALLODEOXYCHOLI- QUE	+	.	-	.	.	
ACIDE CHENODEOXYCHO- LIQUE	-	.	+	.	.	
ACIDE 3, 12 DICETO	-	.	+	.	.	
ACIDE ISO 12 CETO LC	+	.	-	.	.	
REFERENCES	5	2	6	1	6	

- 1 - YAHIRO et coll, 1980  
 2 - TAYLOR, 1981  
 5 - DANIELSSON et coll, 1963  
 3 - GREGG et POLEY, 1966  
 4 - TAYLOR, 1977  
 6 - HELLSTROM et SJOVALL, 1962

TABLEAU N° 4 bis - TAUX DE CERTAINS ACIDES BILIAIRES  
CHEZ LE LAPIN

ACIDES BILIAIRES	B I L E					
	% D'ACIDES BILIAIRES TOTAUX				ng / ml	
ACIDE CHOLIQUE	2,3	9,1	14-16	10	0,571 ± 0,346	8,05
ACIDE DESOXYCHOLIQUE	95,3	80,9	80-82	82	2,853 ± 4,02	66,39
ACIDE ALLODEOXYCHOLIQUE		7,3		8		5,85
ACIDE LITHOCHOLIQUE	1	2,7		< 0,03		2,22
ACIDE CHENODEOXYCHOLIQUE			1		0,035 ± 0,015	
ACIDE ALLOCHOLIQUE				< 0,03		
ACIDE 3,12 DEHYDROXY		+ ?		< 0,03		0
ACIDE URSODESOXYCHOLIQUE			+ ?			
ACIDE 3,12 DIHYDROXY				< 0,03		
ACIDE TAUROCHOLIQUE			3,4		0,074 ± 0,03	
ACIDE TAURO CDC			0,5			
TAURINE DIHYDROXY					0,081 ± 0,06	
GLYCOCONJUGUES			96		3,46	
TAUROCONJUGUES			4		0,15	
SULFATES				0,5		
NON SULFATES				99,5		
REFERENCES	1	2	3	4	3X X	2

traces (TAYLOR, 1977). Chez des animaux alimentés avec du cholestérol (2 % dans l'aliment), le lithocholate devient un acide prédominant, ce qui laisse penser que cet acide peut être dit acide biliaire "primaire" dans ces conditions (MITROPOULOS et MYANT 1967 - DANIELSSON, 1976).

Aucune différence de composition en acides biliaires de la bile du lapin, n'a été trouvée entre les deux sexes (TAYLOR, 1977).

#### I.2.4.2. Dans le tube digestif

Une quantité d'acides biliaires non négligeables est présente dans l'estomac, et correspondrait à 10 % de l'excrétion totale en acides biliaires (HELLSTRÖM et SJÖVALL 1962). Cette présence s'expliquerait d'une part par l'ingestion des caecotrophes qui contiendraient des acides biliaires, et d'autre part par un reflux duodénal.

HELLSTRÖM et SJÖVALL, 1962 ont noté que quand la vésicule biliaire contient peu d'acides biliaires, la plus grande partie se trouve dans le caecum et le côlon et vice-versa (tableau n° 6) Nous commenterons cette observation par rapport à nos résultats sur l'étude du taux des acides biliaires à différentes heures de la journée, dans la bile, le côlon et le caecum.

Des bactéries anaérobies, capables de déshydroxyler l'acide cholique au niveau du carbone 7, ont été isolées des fèces de lapin par MOSBACH et al, 1967. Les études microbiologiques, dans ce sens, sont rares. L'acide désoxycholique est toujours prédominant, dans la bile ou dans le tube digestif, y compris l'estomac, (HELLSTRÖM et SJÖVALL, 1962). Même au niveau du duodénum, la déconjugaison par les bactéries est très significative.

TABLEAU N° 5 : ACIDES BILIAIRES CHEZ PLUSIEURS ESPECES

d'après WEINER et LACK, 1968.

ESPECES	TYPE DE CONJUGAISON	A.B. MAJEURS DE LA BILE	A.B. I-aires	A.B. II-aires	A.B. fécaux	R E F E R E N C E S
L A P I N	GLYCINE	DOC	C	DOC LC	DOC 12 CLC 3,12 dicéto LC Iso LC 12 CisolC Allo DOC	LINDSTEDT et NORMAN, 1955. LINDSTEDT et SJÖVALL, 1957. DANIELSSON et al., 1963.
H O M M E	GLYCINE TAURINE	C CDC	C CDC	DOC LC	DOC LC IsolC 12 CLC 12CisolC 3, 12 dfoH DHLC 3,12 dicéto 3,7 dicéto DHC	HELLSTRÖM et SJÖVALL, 1961. DANIELSSON et al., 1963. GRUNDY et al., 1965. ENEROTH et al., 1966. SPRITZ et AHRENS, 1963.
R A T	GLYCINE TAURINE	C CDC	C CDC $\alpha, \beta$ Muricho- lique UDOC	DOC 7CDOC 12 CLC LC	DOC 7CLC 12 CLC LC	BERGSTRÖM et al., 1960. HASLEWOOD, 1962. HASLEWOOD, 1964.
P O R C	GLYCINE	HDC	HC CDC	HDC LC		NORMAN, 1954. LINDSTEDT et SJÖVALL, 1955. NORMAN et SJÖVALL, 1960.
C O B A Y E	GLYCINE TAURINE	CDC 7CLC C	CDC 7CLC C	LC UDOC	7CLC LC C DHLC 7-0H dicéto	PERIC-GOLIA et JONES, 1960. DANIELSSON et al., 1964. ENEROTH et al., 1966.

#### I.2.4.3 Dans le sang

HELLSTRÖM et SJÖVALL, 1962, ont présenté des valeurs de concentration d'acides biliaires sanguins, qui montrent que celle concernant le lapin est plus élevée <sup>que</sup> chez le rat et le singe.

LAPIN : 0,26 à 3 mg par 100 ml de sang

RAT : 0,055 à 0,128 mg par 100 ml de sang

SINGE : 0,16 à 0,53 mg par 100 ml de sang

#### I.2.4.4. Dans l'urine et dans les fèces dures

HELLSTRÖM, SJÖVALL et WIGAND, 1962 ont montré que l'excrétion fécale des acides biliaires est réduite chez les lapins nourris avec des aliments semi-synthétiques, alors que l'excrétion urinaire de ces acides semble la même que celle obtenue avec l'aliment témoin. L'élimination des acides biliaires par l'urine correspond, selon ces auteurs, environ à 24 % de la synthèse journalière d'acide désoxycholique chez les animaux nourris avec des aliments semi-synthétiques. DANIELSSON, 1963 donne un taux de 10 % avec un aliment habituel. HELLSTRÖM et SJÖVALL, 1962 avancent le même taux qui représenterait 5 à 8 mg par jour ; par comparaison celui des autres animaux est moins de 5 %.

L'excrétion fécale des acides biliaires est assez significative puisqu'elle représente 25 à 35 mg par jour mais varie beaucoup (HELLSTRÖM et SJÖVALL, 1962). (voir tableau n° 6 et 7). Plusieurs acides biliaires ont été identifiés dans les fèces de lapin (HELLSTRÖM et SJÖVALL 1962 - DANIELSSON et al. 1963 - TAYLOR, 1981).

DISTRIBUTION DE LA RADIOACTIVITE, APRES ADMINISTRATION INTRAPERITONEALE DE  $DOC_{14}$  CHEZ LE LAPIN  
(D'après Hellström et Sjövall, 1962)

Nombre de jours après administration	Dans le foie et la vésicule biliaire en %	Dans l'estomac en %	Dans l'intestin grêle en %	Dans le colon en %
3	26,1	12,8	31,0	27,9
3	7,5	8,4	18,8	65,3
30	2,7	14,7	17,5	65,1
128	65,8	9,6	9,7	14,9

TABLEAU N° 7

EXCRETION FECALE DES ACIDES BILIAIRES. COMPARAISON DE LA PRODUCTION JOURNALIERE DE DEOXYCHOLATE ET DE SES METABOLITES PAR DEUX MODES DE CALCUL DIFFERENTS CHEZ LE LAPIN. (D'après Hellström et Sjövall, 1962).

A partir de la demi-vie du taux circulant (1) mg/jour	A partir de l'excrétion: fécale journalière en acides biliaires (2) mg/jour	$\frac{(2) \times 100}{(1)}$ p.cent.
61,3	55,1	89,9
54,5	50,6	92,8
106,0	82,3	77,7
89,9	80,5	89,6
59,0	41,2	69,8
$\bar{X}$ : 74,1	$\bar{X}$ : 61,9	$\bar{X}$ : 84,0

La quantité et la qualité de ces acides dépendent essentiellement de la nature et de la composition de la microflore intestinale (tableau n° 4). Cette fraction d'acides biliaires échappe au cycle entérohépatique et apparaît dans les fèces entièrement non conjugués .

#### I.2.5. Absorption des acides biliaires

Pendant un siècle, l'évidence fut que le site de la réabsorption des acides biliaires dans le tube digestif était localisé d'une manière prédominante dans l'iléon, et même certains auteurs ont admis que cette localisation était exclusive. LACK et WEINER, 1961 et HOLT, 1966, travaillant sur le cobaye, ont confirmé l'absorption iléale avec un mécanisme de transport actif. Mais la plupart de ces auteurs, ont utilisé comme témoin de cette absorption, l'acide taurocholique et le plus souvent "in vitro" ou sur des animaux anesthésiés. Ces résultats ne peuvent être étendus au lapin qu'avec quelque prudence. Des vérifications s'imposent donc ; en effet chez cet animal, l'acide biliaire prédominant est le glycodésoxycholate et non le taurocholate. De plus, l'efficacité de la déconjugaison microbienne déjà dans le duodénum et le jéjunum laisse supposer qu'une grande partie des acides biliaires de l'iléon sont déconjugués. Ce qui rend peut être le taurocholate, un témoin non valable pour le lapin, d'autant que le type de conjugaison influe sur le site d'absorption (BUCHWALD, et GEBHARD, 1968) et que les acides biliaires libres et conjugués ont des sites d'absorption différents (HISLOP et al. 1967) ;

L'étude quantitative de l'absorption iléale pourrait être compliquée par la présence possible d'acides biliaires endogènes dans le tissu iléal (travaux sur le rat par PLAYOUST et ISSELBACHER, 1964 cités par WEINER et LACK, 1968).

SAMUEL et al. 1968 ont remarqué une absorption d'acide desoxycholique par le côlon chez l'homme dans des proportions significatives. Des quantités considérables d'acides biliaires sont absorbées par la paroi caecale du rat, d'après LINDSTEDT et SAMUELSSON, 1959 - NORMAN et SJÖVALL, 1958 - HOLT, 1964 et SULLIVAN, 1965.

La configuration particulière du tube digestif du lapin et la pratique de la caecotrophie nous laissent penser que s'il y a bien absorption iléale, d'autres parties du tube digestif ont aussi un rôle important qu'il importera de préciser comme le laissent supposer les travaux de BUCHWALD et GEBHARD, 1968. (tableau n° 8). Ces auteurs ont observé l'absorption du cholate dans l'iléon, mais le caecum peut représenter un lieu d'absorption pour 39,3 % des acides biliaires totaux absorbés.

Quant aux mécanismes d'absorption, DIETSCHY et al. en 1966 et 1968, en proposent trois :

- 1-) Diffusion ionique passive
- 2-) Diffusion non ionique passive
- 3-) Transport actif (contre un gradient électrochimique).

La plupart des études "in vivo" ou sur des animaux anesthésiés ne prennent en compte que le troisième mécanisme. Ce qui rend les travaux de BUCHWALD et GEBHARD, 1968 très intéressants dans la mesure où ils ont été effectués sur des lapins physiologiquement "intacts" (non anesthésiés).

TABLEAU N° 8

POURCENTAGE D'ABSORPTION DES ACIDES  
BILIAIRES CHEZ LE LAPIN.  
(D'après BUCHWALD et GEBHARD, 1968)

Témoins	Dérivation Jéjunale	Dérivation Iléale	Dérivation iléo-colique
77,8 p.cent	73,5 p.cent	69,5 p.cent	39,3 p.cent

TABLEAU N° 9

ABSORPTION DU TAUROCHOLATE AU NIVEAU DE  
L'INTESTIN PROXIMAL ET DISTAL.  
(D'après WEINER et LACK, 1968)

Espèces	Intestin Proximal (1) (grêle) en p.cent	Intestin distal (2) caecum-colon en p.Cent	Rapport (2) (1) en p.cent.
L A P I N	0,9	51,4	57
R A T	13,2	83,4	6,3
C O B A Y E	1,6	40,3	25
C H I E N	13,2	84,8	6,4

+++++

Ils concluent que l'iléon est un site privilégié de l'absorption des sels biliaires, les autres portions du tube digestif ayant aussi cette capacité (absorption du cholate dans le jéjunum). SCHULTZ et al. 1971 - THOMSON et O'BRIEN 1981, ont noté l'absorption du tauro désoxychol~~ate~~ate dans le jéjunum.

LACK et WEINER en 1966, ont obtenu des résultats expliquant l'inhibition de l'absorption active des acides trihydroxy par les dihydroxy et la relation liant le pourcentage d'absorption à la structure chimique des acides biliaires. D'après ces auteurs, les trihydroxy seraient mieux absorbés que les dihydroxy. CRONHOLM et SJÖVALL, 1967 n'ont pu trouver cette différence d'absorption "in vivo".

#### I.2.6. Rôles des acides biliaires

##### I.2.6.1. Absorption des lipides

Les acides biliaires jouent un rôle fondamental dans l'absorption des lipides et des vitamines A,D,E,K et B<sub>12</sub> (TEO et al.1980). Ils émulsionnent les lipides, ce qui accroît leur interface avec la lipase, protègent la cholestérol-estérase de l'attaque protéolytique et facilitent la resynthèse intramucosale des triglycérides. Ils forment des micelles avec les lipides qui deviennent solubles et facilement absorbés.

##### I.2.6.2. Excrétion d'eau et formation de micelles dans la bile.

----

L'excrétion biliaire de l'eau et des électrolytes implique de nombreux mécanismes complexes où les hépatocytes et l'épithélium du système biliaire sont impliqués (WHEELER, 1968).

A des concentrations spécifiques dans l'eau, les acides biliaires forment des micelles qui maintiennent en solution dans la bile, les constituants insolubles. Mais tous les sels biliaires ne forment pas des micelles (O'MAILLE, 1980). Ainsi par ce rôle fondamental, les acides biliaires préviennent la formation de calculs.

#### I.2.6.3. Cholérèse

ERLINGER et al, 1969 ont observé que, comme le chien, le <sup>chez</sup> débit biliaire chez le lapin est proportionnel au taux d'excrétion des acides biliaires. Mais ces auteurs ont montré qu'un débit de l'ordre de 60 mg par min. et par Kg de poids (représentant près de 60 % du débit total) est observé pour une excrétion nulle d'acides biliaires déduisant que cette importante fraction de la cholérèse est indépendante de l'excrétion des acides biliaires. Ce qui a été confirmé par ESTELLER et al. en 19 sur des animaux non anesthésiés.

ERLINGER et al, 1969 et SHAW et HEATH, 1974 ont montré l'effet cholérétique du glycodésoxycholate (GDOC) de sodium chez le lapin. Cet effet est dû, selon les derniers auteurs cités, aux phénomènes osmotiques de l'acide GDOC. D'autre part, il semble que les acides dihydroxycholiques soient potentiellement plus cholérétiques que les acides trihydroxycholiques (peut être à cause de la différence de poids moléculaire), et les glycoconjugués plus que les tauroconjugués, d'après KLAASSEN en 1972, confirmé par SHAW et HEATH en 1975, sur les rats, les cobayes et les lapins.

DUMONT et al. 1980, ont observé chez le rat, que l'acide ursodésycho-  
lychique et l'acide 7 Cétolithocholique sont de puissants

cholérétiques par comparaison au taurocholate.

#### I.2.5.4. Formation et dissolution de calculs biliaires

L'intérêt des acides biliaires dans la formation et la dissolution des calculs biliaires a été largement étudié. MATON et al. en 1977 - BATTA et al. en 1981 ont montré que l'acide chénodésoxycholique puis l'acide ursodésoxycholique sont des agents de dissolution des lithiases. L'acide cholique semble retarder la formation de calculs supplémentaires et l'acide désoxycholique en dissout quelques uns au bout de 24 h (BORGMAN et al., 1969). Ces auteurs précisent que la lécithine retarde la formation de calculs supplémentaires. En outre, chez le lapin, l'addition de taurine, permet elle aussi quelque dissolution ; mais malheureusement pour le lapin, cet acide aminé n'est pas celui des conjugaisons essentielles avec les acides biliaires.

Si certains acides biliaires peuvent aider à la dissolution des calculs biliaires, d'autres par contre sont hépatotoxiques ; ce qui rend difficile la thérapie des calculs par les acides biliaires. MIYAI et al., 1982 ont montré, chez le lapin, que l'addition de 0,5 % de lithocholate, de chénodésoxycholate et d'ursodésoxycholate dans l'aliment et séparément, provoquaient des lésions hépatiques plus sévères avec les deux premiers cités qu'avec le troisième qu'ils considèrent moins toxique. BORGMAN et al., 1969 - FISCHER et al, 1974 annonçaient déjà des résultats.

Un aliment contenant du cholestérol induisait des calculs biliaires dans lesquels l'allo désoxycholate a été identifié (MOSBACH et BEVANS, 1956 - HOFFMANN et MOSBACH, 1964).

#### I.2.5.5. Détoxification

L'importance relative du taux des acides biliaires sulfatés dans la bile du lapin a été mise en évidence par ELLIOTT en 1976 et TAYLOR en 1977 et 1981. Cette sulfatation aurait un rôle de détoxification. Il y aurait 0,5 % d'acides biliaires sulfatés parmi les acides biliaires totaux de la bile chez le lapin (TAYLOR, 1981). Le lithocholate sulfaté est moins toxique que l'acide libre. La glucuronidation des acides biliaires aurait le même effet (DANIELSSON, 1963).

#### I.2.5.6. Sécrétion de mucus et motilité du côlon

Des travaux récents montrent la relation acides biliaires et mucus (CAMILLIERI et al., 1982). Ces auteurs ont conclu que le chénodésoxycholate, chez le lapin, augmente la sécrétion du mucus dans le côlon et cela peut se généraliser pour les acides biliaires dihydroxy. Ce qui pourrait expliquer certains phénomènes diarrhéïques, particuliers au lapin (travaux en cours dans notre laboratoire sur ce sujet).

L'acide désoxycholique stimule la motilité du côlon quand il est en contact avec la muqueuse colique, par un mécanisme nerveux intrinsèque (SCHIFF et al, 1980).

### I.2.5.7. Rôles divers en pathologie

SKREDE et al, 1978 ont décrit une relation de plusieurs hépatites avec le taux des acides biliaires sériques. La relation entre les acides biliaires et l'artériosclérose a été établie par WILSON en 1962 et TAYLOR et al. en 1966.

Enfin le lithocholate, le taurodésoxycholate et le désoxycholate pourraient être cancérigènes à leur point d'injection, parfois promoteurs ou accélérateurs de formations tumorales au niveau du côlon (NARISAWA et al., 1974 - COOK et al. 1940), quoique plusieurs substances ont cette action locale.

### I.3. ANALYSE CRITIQUE DES METHODES D'EXTRACTION DES ACIDES BILIAIRES.

L'analyse qualitative et quantitative du mélange des acides biliaires dans les matériels biologiques est une procédure difficile à cause des multiples variations de la structure chimique des acides biliaires dues aux micro-organismes intestinaux et à la contamination par des substances complexes extraites avec les stérols fécaux (pyrroles, caroténoïdes, tocophérols). Cette extraction doit comprendre une extraction et une purification délicates.

Quoique l'extraction des acides biliaires de la bile soit relativement plus facile, celle des acides biliaires fécaux est extrêmement délicate et longue (3 jours pour chaque échantillon)

Actuellement, il est difficile d'envisager une méthode de dosage précise et universelle des acides biliaires. Il semble qu'à l'heure actuelle, chaque chercheur essaie de perfectionner des méthodes qui lui paraissent imprécises ou encore de les simplifier s'il ne voit pas la nécessité de certaines étapes.

La solubilité dans l'eau ou les solvants est assez différente d'un acide biliaire à l'autre, ce qui complique énormément l'extraction et la quantification. D'après SMALL, 1971, quand le nombre des groupes hydroxyle des acides biliaires augmente, la solubilité dans les solvants organiques non polaires diminue. Ce qui rend très délicat le choix des solvants à utiliser pour dissoudre les extraits d'échantillons ou encore pour combiner un système de solvants pour la chromatographie surcouche mince.

Leurs structures chimiques (isomères, épimères) et leurs propriétés physiques peu différentes rendent la séparation des pics de chromatographie très difficile (MIETTINEN et al. 1965).

Dans ce travail, nous nous sommes proposés d'essayer un grand nombre de méthodes d'extraction, avec différents solvants. Les essais de chromatographie en phase gazeuse (choix de la colonne et des paramètres d'intégration et de séparation des pics) ont été, eux aussi nombreux. Malgré toutes ces difficultés, nous avons tenté de déterminer qualitativement et quantitativement 9 acides biliaires.

Le choix de l'étalon interne nous a posé énormément de problèmes et nous n'avons pas pu tous les résoudre. En effet, choisir un acide biliaire ou un métabolite stérolique qui soit extractible et soluble comme les acides biliaires, révélable en chromatographie sur couche mince (C.C.M.) et dosable en chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.) et qui soit naturellement absent dans

les échantillons à analyser, n'est pas très facile. Nous avons choisi, le 6 CLC (Acide 3 $\alpha$  hydroxy 6 ceto 5  $\beta$  cholan ique) pour l'analyse de la bile et l'UDOC (Acide ursodésoxycholique) pour l'analyse des autres échantillons. Plusieurs auteurs ont proposé différentes solutions à ce choix. ROOVERS et al. 1968 - EVRARD et JANSSEN, 1968 ont utilisé l'acide Nordésoxycholique pour l'analyse des acides biliaires plasmatiques et fécaux. SUBBIAH, 1973 suggère un stérol végétal, le stigmastérol pour la détermination simultanée du cholestérol et des acides biliaires en C.P.G. de la bile ; mais cet étalon n'est pas utilisable pour l'analyse des acides biliaires fécaux. VANBERGE HENEGOUWEN et al. 1974 ont utilisé l'acide 7 Céto désoxycholique pour l'analyse des acides biliaires de la bile et du sérum. Enfin YUNKER et al. 1981 proposent une analyse quantitative simultanée (en C.P.G.) des acides biliaires, du cholestérol et des phospholipides, mais cette méthode présente les mêmes inconvénients que celle de SUBBIAH, ci précédemment.

Nous pouvons dire, que chaque méthode a ses propres avantages et inconvénients. Celle d'IRVIN et al. 1944 est une technique colorimétrique, relativement spécifique pour l'acide cholique et ses conjugués, mais non pour les autres. La méthode de chromatographie sur papier, de SJOVALL en 1959 a l'avantage de mesurer séparément chaque acide biliaire mais présente l'inconvénient d'être très longue. Le travail de KLAASSEN, 1971 sur la bile de lapin, propose une méthode qui semble donner beaucoup de satisfactions, c'est une modification de celle de SANDBERG et al, 1965 et d'OKISHIO et al 1967.

La technique de C.P.G. de KLAASSEN, 1971 a l'avantage d'être rapide et permet d'avoir des temps de rétention du cholate de 5 minutes au lieu de 20 ou 45 minutes pour les autres techniques. Mais elle ne permet pas une analyse d'acides biliaires variés.

Une étude détaillée de la comparaison des phases stationnaires pour la C.P.G. - spectrométrie de masse des méthylesters d'acétates d'acides biliaires a été faite par SZCZEPANIK et al, 1978.

LEVIN et al, 1961 n'approuvent pas les méthodes analytiques comportant une hydrolyse à très haute température qui détruirait une partie des acides biliaires. Ils proposent un dosage par spectrophotométrie des acides biliaires conjugués de la bile ; mais là aussi leur travail repose essentiellement sur le dosage du cholate et du désoxycholate. Cette méthode est longue et comporte trop d'étapes d'extraction : ce qui la rend très compliquée.

Les techniques par C.C.M. ont été largement étudiées et plusieurs systèmes de solvants ont été utilisés (SIEGFRIED et ELIOTT, 1968 - ENEROTH, 1968). Certains préfèrent les solvants alcalins (SUBBIAH et KUKSIS, 1968) et d'autres, des systèmes de solvants neutres ou acides (HOFFMAN, 1964, SJÖVALL, 1964).

La détermination des acides biliaires plasmatiques est difficile à cause de leur faible concentration (SANDBERG et al, 1965 - KARLAGANIS et al, 1980 - MASHIGE et al, 1978 et 1981 - SKREDE et al. 1978).

Le dosage des acides biliaires urinaires exige une hydrolyse-solvolyse adéquate des sulfates (MAHOWALD et al, 1957 - HOFMANN, 1967 - MAKINO et al, 1974 - ALME, 1977).

Les méthodes enzymatiques pour la détermination du taux des acides biliaires, par la 3 $\alpha$  hydroxystéroïde déhydrogénase, ont été étudiées par DOMINGO et al, 1972 dans la bile, par DEWAELE et al. 1977 dans les fèces, par BARTH et al, 1981 dans les hépatocytes et, par PALMER, 1969 dans les liquides biologiques. Une étude comparative entre les méthodes chromatographiques et enzymatiques, spécifiques des groupes hydroxy en 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$  et 12 $\alpha$ , a été faite par MAC DONALD et al, 1980.

L'utilisation des acides biliaires marqués est assez fiable (SCHÖENFIELD et SJÖVALL, 1966).

Si les études systématiques d'analyse des acides biliaires sont difficiles, celles limitées à la détermination d'un ou deux acides biliaires particuliers, du taux des glyco et tauroconjugués et du taux des sulfatés sont relativement plus faciles (PODESTA et al, 1980 - LE PAGE et al, 1981 - TAYLOR, 1981).

Nous ne terminerons pas cette étude, sans mentionner les excellentes publications d'ENEROTH et SJÖVALL, 1969 et 1971 - HÖRNING, 1963, et tout dernièrement STREET, 1983 qui résume l'ensemble des questions techniques d'extraction et de dosage dont malheureusement nous n'avons pas profité, car notre travail était déjà très engagé quand la publication est parue. A la suite de toutes ces considérations, nous jugeons utile de donner de façon détaillée les protocoles d'extraction que nous avons utilisés (voir chapitre techniques analytiques).

*utilise de grandes quantités d'acides biliaires.*

- *Un taux élevé d'acides biliaires sanguins, en comparaison avec les autres espèces, expliquerait peut être la nécessité de l'étude de l'artériosclérose chez cet animal.*

*Ce taux montre, peut être, la grande capacité de mobilisation des lipides circulants et la facilité de dépôts<sup>de</sup> lipides que posséderait cet animal.*

- *Des recherches nouvelles sur la digestion des fibres cellulosiques montrent l'importance des acides biliaires, qui auraient ainsi un rôle encore plus original (FISCHER et al. 1974 - KEZN et al. 1978 - CAROLL et al., 1978 - FALCONER et CAROLL, 1979).*

*+ = + = + = + = + = + =*

II - T R A V A U X   P E R S O N N E L S

## OBJET DE NOS RECHERCHES

L'étude précédente, à travers sa conclusion, nous a montré des particularités assez importantes sur la sécrétion biliaire chez le lapin. Celles-ci sont variées et très originales et concernent aussi bien l'anatomie du système biliaire que la biochimie des acides biliaires. Nous nous sommes posés un certain nombre de questions découlant de ces particularités qui nous ont amené à entreprendre ce travail.

- une modification de l'abouchement du canal cholédoque au niveau du canal pancréatique (supprimer la distance de 35 cm qui les sépare) est-elle compatible avec la vie de l'animal ? Quelles sont les conséquences sur la biochimie des acides biliaires ?

- comment réagit le lapin à une perturbation fonctionnelle de son système biliaire (ligatures des canaux biliaires) ? Quelles sont les modifications biochimiques des acides biliaires ?

- variation journalière du taux d'acides biliaires de la bile, du plasma, des fèces, de l'urine, et des contenus intestinaux ? Y a-t-il une relation avec la caecotrophie ? Cette variation apporte-t-elle une idée sur l'absorption des acides biliaires ? Nos travaux comportent quatre expériences. Nous les représenterons par les numéros 1-2-3-4 tout au long de notre exposé.

EXPERIENCE 1 : Etude du taux des acides biliaires, en fonction des heures de la journée, dans la bile, le plasma, l'urine, les fèces dures et molles, et dans les différentes portions du tube digestif (estomac, duodénum, jéjunum, iléon, caecum, côlon proximal et côlon distal).

EXPERIENCE 2 : Ligature du canal cholédoque

EXPERIENCE 3 : Ligatures conjointes du canal cholédoque et du canal cystique.

EXPERIENCE 4 : Dérivation biliaire, totale et prolongée, intra-duodénale.

## II.1. TECHNIQUES UTILISEES

### II.1.1. Techniques physiologiques et chirurgicales

#### II.1.1.1. Animaux

Les expériences ont été réalisées sur des lapins mâles de race néo-Zélandaise, ayant des poids de 2,5 - 3,5 Kgs.

#### II.1.1.2. Régime alimentaire

Il est constitué d'un aliment du commerce "EXTRALABO" C17 largement utilisé dans les animaleries et dont les approvisionnements réguliers et l'efficacité nutritionnelle sont confirmés. L'aliment et l'eau sont donnés ad libitum.

Composition : orge, avoine, maïs, mélasse, issues et germes de blé, farine de luzerne déshydratée, tourteaux de soja, de tournesol, de lin, de palmiste, levure de bière. Complément minéral vitaminé (A.D.E.).

Composition et analyse selon les indications du fabricant en pourcentage de la matière sèche (sauf humidité) :

- Eau	: 11,3
- Matières minérales	: 7,1
- Matières azotées totales	16,9
- Matières grasses	: 4,0
- Cellulose brute	: 10,7
- Extrait non azoté	: 50,0

### II.1.1.3. Conditions expérimentales et hébergement

Les animaux sont placés dans des cages à métabolisme et dès leur installation, ils sont pesés régulièrement. La consommation alimentaire, l'excrétion fécale et urinaire sont mesurées quotidiennement.

Cette étape pré-opératoire (seulement pour les expériences 2-3-4) ou avant le sacrifice (pour l'expérience 1), correspond à une période d'adaptation et de contrôle de l'état général permettant l'élimination d'animaux inaptes à une expérimentation.

Chaque animal est son propre témoin. Ainsi on aura des mesures pré-opératoires pour chaque animal et de ce fait les comparaisons sont moins sujettes aux particularités individuelles.

Dans les expériences (-2-3-4) les lapins sélectionnés sont mis au jeûne alimentaire de 24 à 48 heures avant l'opération chirurgicale. Cependant ils boivent à volonté. Après l'opération, les animaux morts sont immédiatement autopsiés, alors que d'autres sont sacrifiés à des temps post-opératoires plus ou moins longs.

### II.1.1.4. Recueil des échantillons

- Fèces dures : les fèces dures émises par lapin, par jour, sont pesées, après avoir ôté les débris alimentaires et les poils et séparé les quelques fèces molles (caecotrophes) excrétées.
- Fèces molles : Elles sont récoltées, après 24 heures de jeûne stercoral (pose de collier autour du cou empêchant la pratique de la caecotrophie). Certains lapins sont mis sur un collecteur de fèces par fraction afin de mesurer quantitativement les caecotrophes par rapport à l'heure d'émission.

Les fèces molles et dures sont broyées, lyophilisées (la matière sèche mesurée) et conservées au congélateur, ainsi que tous les autres échantillons.

- Urines : elles sont prélevées quotidiennement et le volume mesuré. Dans l'EXPERIENCE 1, l'urine est recueillie pendant le sacrifice.
- Le Plasma : il est pris une ou deux fois avant et après les opérations chirurgicales, au niveau de la veine marginale externe de l'oreille. 3 à 5 ml sont recueillis 15 à 30 minutes avant l'opération ou le sacrifice. Ce sang hépariné est centrifugé, et le plasma conservé au congélateur jusqu'à analyse.
- La bile vésiculaire : elle est recueillie pendant l'autopsie ou le sacrifice. Des ascites abdominales sont prélevées dans certains cas dont on reparlera plus loin.
- Contenus digestifs (seulement pour l'EXPERIENCE 1) : ils sont pesés (estomac et caecum) broyés ou mélangés (fèces molles), lyophilisés et la matière sèche mesurée. 7 compartiments digestifs ont été individualisés :
  - Estomac : échantillon de quelques grammes après homogénéisation
  - Duodénum : tout le contenu de la portion (40 cm en aval du pylore)
  - Jejunum : Contenu de la portion de 20 cm au milieu
  - Iléon : tout le contenu de la portion des 20 cm en amont de la valvule iléo-caecale

- - Caecum : échantillon de quelques grammes après homogénéisation
- - Côlon proximal : tout son contenu
- - Côlon distal : tout son contenu

#### II.1.1.5. Techniques opératoires (EXPERIENCES : 2-3-4)

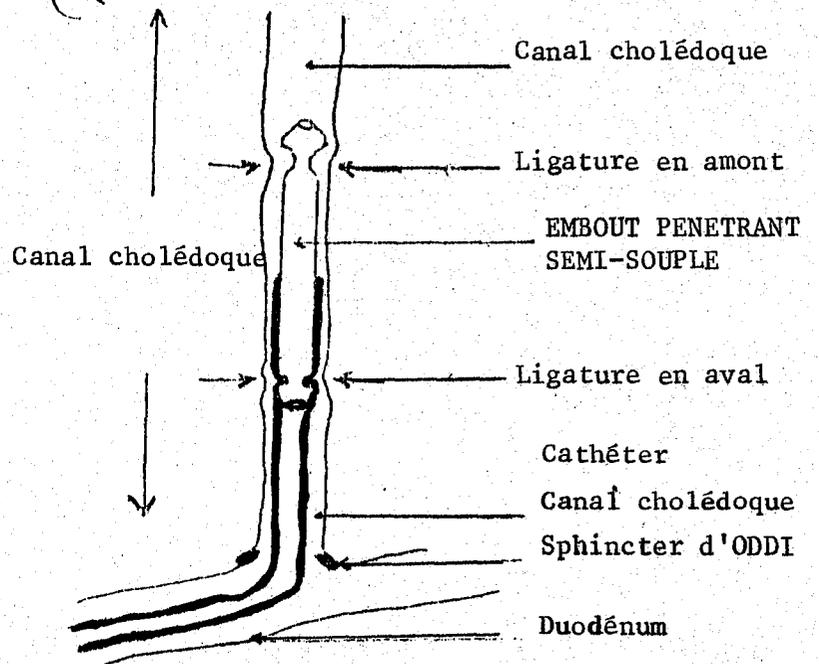
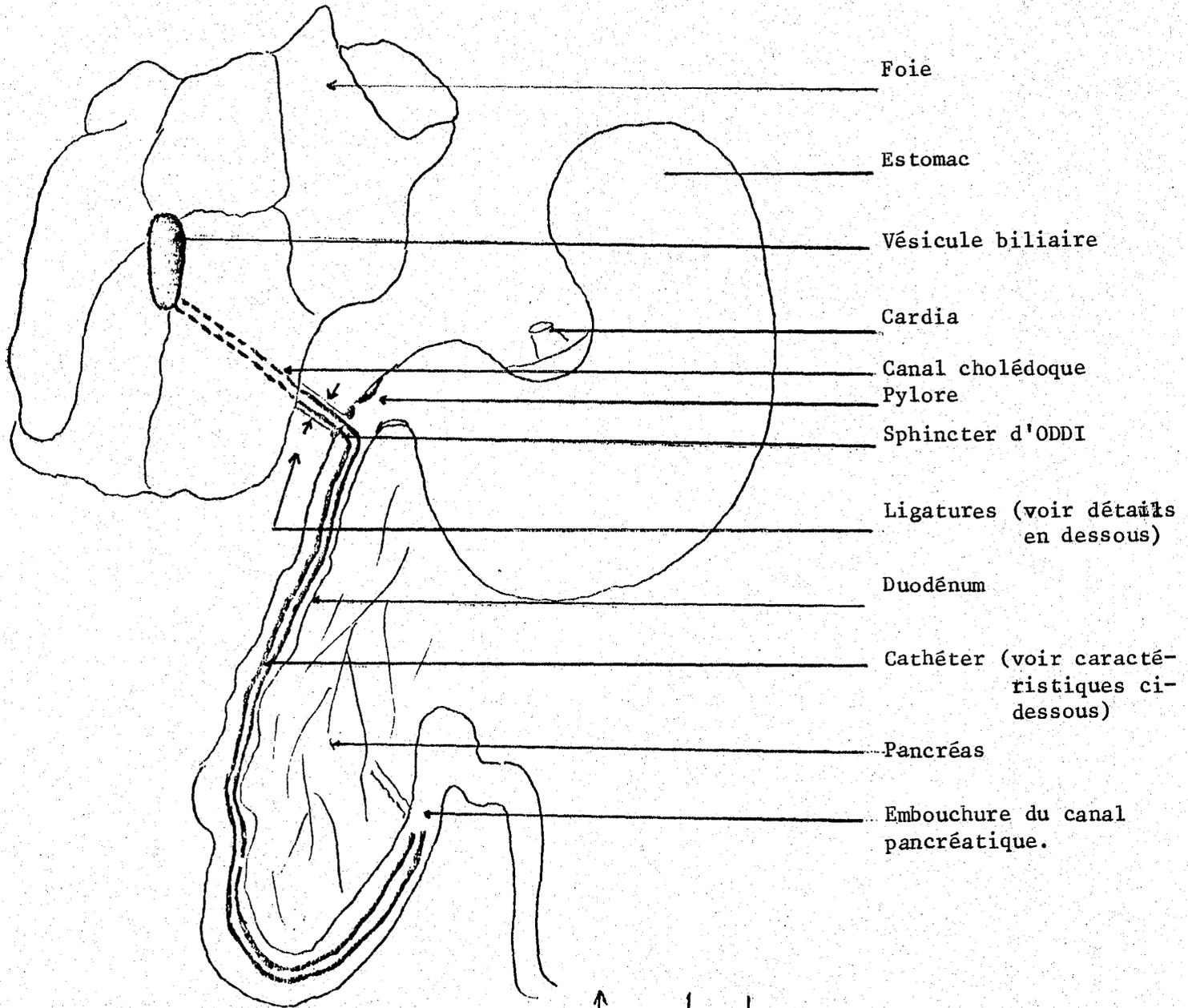
Une injection de NOZINAN<sup>®</sup> (spécia solution à 25 mg/ml) à raison de 0,5 à 1 ml correspondant à 25 mg de LEVO MEPROMAZINE, est faite en intra-musculaire, 30 à 45 minutes avant l'anesthésie générale obtenue par injection d'une solution diluée de PENTO-BARBITAL sodique (Laboratoire LATHEVET, solution à 6 %) à la dose de 20 mg par kilogramme de poids vif, dans la veine marginale externe de l'oreille après sa dépilation. L'animal est placé en décubitus dorsal, attaché par ses membres antérieurs et postérieurs. La tonte de la région abdominale est suivie d'une dépilation totale.

Après désinfection et mise en place du champ opératoire, la peau est incisée sur une longueur de 7 cm sur la ligne blanche\*, à 3 cm à partir de la projection de l'emplacement de l'estomac. La région pylorique et une partie de l'anse duodénale sont extériorisées ; le canal cholédoque, le canal cystique et la vésicule biliaire repérés.

#### - EXPERIENCE 4 (Schéma n°6 )

Des pinces à intestin non traumatisantes sont placées, l'une à côté du pylore, l'autre sur le début de l'anse duodénale (à 6 cm du pylore). Une incision d'1 cm est faite à 6 ou 7 mm du sphincter d'ODDI, sur le duodénum. L'embout du cathéter est placé à travers

SCHEMA N° 6 : TECHNIQUE CHIRURGICALE



Cathéter :  
 Silastic® N° 602-175  
 Ø Ext. : 1,65 mm  
 Ø Int. : 0,75 mm  
 Longueur : 35 cm

le sphincter, dans le canal cholédoque ; 2 ligatures de lin sont faites selon le schéma n° 6 . Le cathéter long de 35 cm est introduit à l'intérieur du duodénum jusqu'aux environs de l'embouchure du canal pancréatique. La suture de la plaie duodénale est pratiquée à l'aide de soie naturelle avec des points simples séparés et serrés.

#### - EXPERIENCES 2-3

Les canaux cholédoque et cystique sont dégagés minutieusement du tissu conjonctif adhérent. Une ligature en fil de lin est faite solidement sur l'un ou les deux selon l'expérience.

#### - Dernière étape

Les sutures des plans musculaires, comme celles de la peau sont faites point par point. Les pansements sont larges et ne présentent ni plis, ni bouts libres afin d'éviter aux lapins de les arracher. Le temps opératoire est d'environ une heure. Les lapins sont mis dans une cage propre et désinfectée. Les recueils d'échantillons et les mesures physiologiques se font généralement 5 à 7 jours après l'opération, ce qui correspond à une période d'adaptation expérimentale.

### II.1.2. Techniques analytiques

#### II.1.2.1. Extraction des échantillons

Le schéma n° 7 qui suit, présente les différentes étapes d'extraction des acides biliaires d'un milieu biologique complexe. La justification de ces étapes est décrite brièvement, dans des

schémas pour chaque protocole d'extraction (selon la nature du milieu). Les différences importantes de nature et composition entre les matériels biologiques traités, nous ont imposé des protocoles légèrement modifiés par rapport au schéma général précédent. Nous donnons ci-dessous le détail de chacun des protocoles utilisés.

#### II.1.2.1.1. Fèces et contenus intestinaux

Nous suivons toutes les étapes indiquées au schéma général indiqué précédemment (schéma n°7).

Une quantité de 100 à 500 mg mise dans un tube à centrifuger de 50 Ml et de 30 mm de diamètre. On ajoute 1 ml d'une solution méthanolique d'acide UDOC à 1 mg/ml, comme étalon interne.

- EXTRACTION ALCOOLIQUE : On ajoute 30 ml de méthanol dans lequel baigne un barreau magnétique. On installe des réfrigérants à air sur les tubes à centrifuger. Le tout est placé sur des plaques chauffantes à agitation magnétique. On règle la température à 50°C et on laisse agiter pendant toute la nuit (16 à 17 heures).

- HYDROLYSE ALCALINE : Les tubes à centrifuger sont placés dans un cristalliseur rempli d'eau distillée et sont mis sur une plaque chauffante à agitation, à une température de 70°C.

SCHEMA N°7

Extraction grossière des stérols,  
Élimination de tous solides,  
Précipitation des protéines

Saponification (déestérification  
des stérols), glycérol libre,  
élimination des résidus et protéines

Etape pour écarter les stérols  
neutres qui interferaient dans  
les déterminations analytiques  
d'acides biliaires

Solubilisation des acides biliaires  
dans l'éther

Déconjugaison des acides biliaires  
restants. Hydrolyse spécifique.

Tous les acides biliaires libres  
sont récupérés dans l'éther.

permet de rendre volatils les acides  
biliaires, indispensables pour la  
chromatographie en phase gazeuse (CPG)

élimination des produits de  
méthylation et autres produits.  
Récupération exclusive des esters  
méthylés d'acides biliaires

EXTRACTION ALCOOLIQUE  
(méthanol)

↓  
HYDROLYSE ALCALINE  
(NaOH 1N 95 %)

↓  
ELIMINATION DES STEROL  
NEUTRES

(éter de pétrole)

↓  
EXTRACTION ETHEREE

(éter éthylique)

↓  
HYDROLYSE ENZYMATIQUE

(choloylglycine hy-  
drolase)

↓  
EXTRACTION FINALE

(éter éthylique)

↓  
METHYLATION

(diazométhane et  
méthanol)

↓  
PURIFICATION  
(Alumine)

↙  
C.C.M.

(Analyse qualita-  
tive)

↘  
C.P.G.

(Analyse qu-  
titative)

Ainsi on évite les surchauffes et les projections. On évapore à sec et on ajoute 25 ml de NaOH 1N dans l'éthanol à 95 % (PODESTA, 1980). On replace les réfrigérants à air et on laisse au bain-marie à 70°C pendant une heure. On refroidit et on centrifuge à 3500 tours /minute pendant 10 minutes. Le surnageant est versé dans une ampoule à décanter de 125 ml dont le robinet est en Téflon. On lave le culot de centrifugation avec 15 ml de NaOH 1N dans de l'éthanol à 50 %. On centrifuge à nouveau et l'on joint le second surnageant au premier.

- Elimination des stérols neutres :

On utilise la méthode de PODESTA 1980 que nous avons légèrement modifiée.

Dans l'ampoule à décanter, on ajoute 30 ml d'éther de pétrole (30-40°C). On agite et on recueille la phase inférieure (solution de soude alcoolique aqueuse) dans un ballon. La phase supérieure est lavée avec 15 ml de Na OH 1N dans l'éthanol à 50 %. La phase inférieure aqueuse est ajoutée à la première dans le ballon. La phase éthérée surnageante est éliminée. On réduit le volume dans un évaporateur rotatif sous vide.

- Extraction des acides biliaires :

On ajoute dans le ballon 6 ml de NaCl 20g% (P/V) et on amène le pH à 1 avec 5 ml d'HCl concentré. On extrait 3 fois avec 15 ml d'éther éthylique dans une ampoule à décanter. Les phases éthérées surnageantes sont recueillies dans des erlenmeyers, évaporées à sec, et conservées au réfrigérateur.

- Déconjugaison enzymatique (selon NAIR et al. 1967, modifiée par PARQUET, 1983).

On ajoute à l'extrait sec (précédent) 1 ml de tampon phosphate de pH : 5,6 (95 % de  $\text{PO}_4\text{KH}_2$  M/15 + 5 %  $\text{PO}_4$   $\text{Na}_2\text{H}$  M/15) et 4 ml de suspension enzymatique préparée extemporainement à raison de 10 mg d'enzyme choloxylglycine hydrolase (SIGMA ref: C 3636 ; 25 U.I. par mg) pour 4 ml de solution tampon. Les erlenmeyers sont placés dans un Bain-Marie avec agitation, à 37°C pendant une demi-heure.

- Extraction définitive :

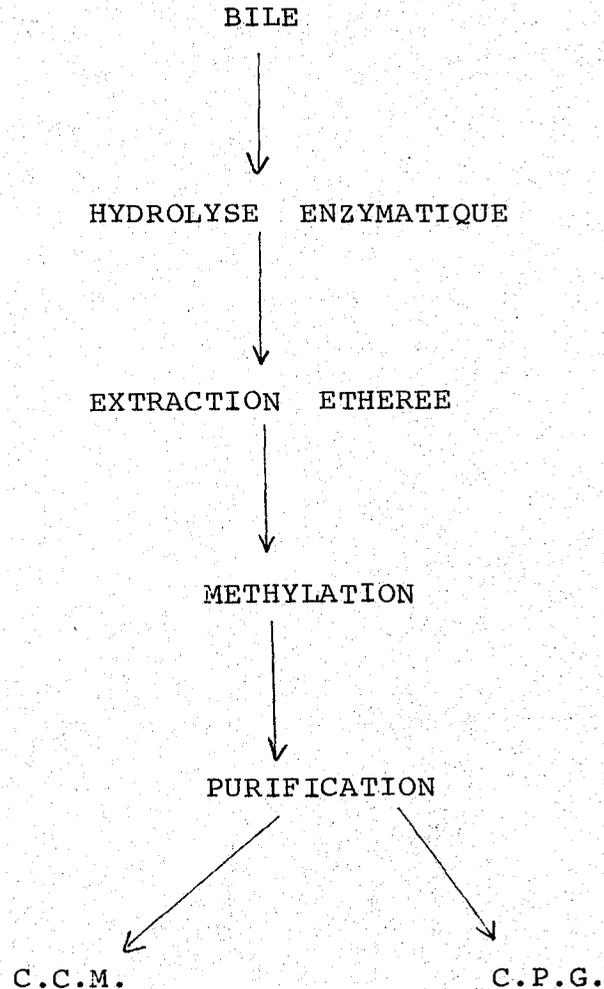
On acidifie l'hydrolysate avec de l'HCL concentré (0,2 ml) et on ajuste le pH à 1, après addition de 6 ml de NaCL à 20 g% (P/V). On extrait 3 fois avec 15 ml d'éther éthylique. On évapore à sec. Les extraits sont prêts à être méthylés.

#### II.1.2.1.2. Bile

La technique utilisée, de même que celle suivie pour le plasma nous ont été aimablement communiquées par le Docteur PARQUET que nous remercions. Celle-ci est une modification de celle de NAIR et al. 1967 et ROOVERS et al. 1968.

Dans un erlenmeyer, on met 100  $\mu\text{l}$  de bile, on ajoute 9 ml de solution tampon pH 5,6 et 4 ml de suspension d'enzyme (les mêmes que précédemment). On ajoute l'étalon interne, soit 50  $\mu\text{l}$  d'acide 6 Cété lithocholique (Acide  $3\alpha$  hydroxy 6 Cété 5  $\beta$  cholanique) à 1mg/ml .

On extrait 3 fois à l'éther éthylique comme au chapitre II.1.2.2.1 à la dernière étape.



#### II.1.2.1.3. Plasma

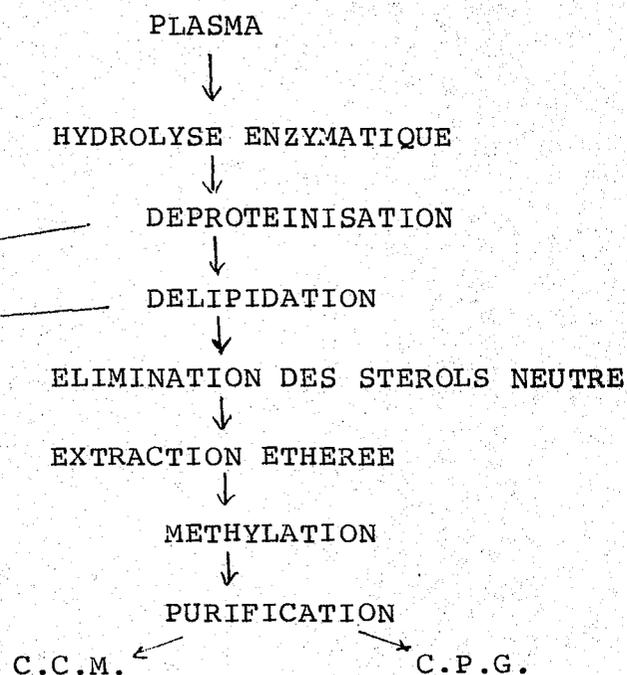
2 à 4 ml de plasma, dans un erlenmeyer, subissent une hydrolyse enzymatique décrite précédemment ; l'étalon interne étant l'acide ursodésoxycholique : 100  $\mu$ l à 1 mg/ml.

- La déprotéinisation se fait avec 80 ml d'une solution alcoolique barytée (100 ml d'éthanol absolu + 4 ml de solution barytée, aqueuse, saturée en baryte à 0,4 % d'acétate de baryum). Ces 80 ml sont versés avec précaution (goutte à goutte et en agitant) à l'hydrolysate. Les erlenmeyers sont mis dans un bain-Marie bouillant pendant 5 minutes. Puis ils sont refroidis dans de la glace. On centrifuge à faible vitesse. On prend le surnageant dans un bécher puis on évapore à sec.

- La délipidation se fait en dissolvant l'extrait dans 1 ml d'eau distillée et en ajoutant 3 ml du mélange suivant : Toluène (10 ml) + Isopropanol (20 ml) + méthanol (20 ml) + soude aqueuse 30 % (6 ml). Le tout est mis dans une ampoule à décanter ; le bécher est lavé avec 2 ml de ce mélange. L'élimination des stérols neutres se fait avec 4 fois 5 ml d'éther de pétrole. Les phases inférieures aqueuses sont recueillies et subissent une extraction finale avec 3 fois 10 ml d'éther éthylique. Les phases étherées réunies sont évaporées à sec. Ces extraits sont prêts à être méthylés.

#### Description des étapes

Le plasma est particulièrement riche en protéines  
Là aussi, le plasma est un milieu riche en lipides.



#### II.1.2.1.4. Urine

Les urines subissent une purification préalable à l'extraction proprement dite des acides biliaires pour éliminer les substances et corps complexes interférants. Pour cela 15 à 30 ml d'urine sont déposés sur la surface d'une colonne d'AMBERLITE X AD<sub>2</sub> après avoir été filtrés sur papier. L'Amberlite est préparée selon ALME et al, 1977, à savoir lavage avec 5 volumes de chacun des solvants suivants (dans l'ordre) :

1) Méthanol

2) Acétone<sup>3</sup>/eau. C'est une colonne de 10 g d'amberlite, et de 20 cm X 1cm. Le débit est réglé à 1 goutte toutes les 2 secondes. On lave avec 60 ml d'eau puis on élue avec 60 ml de méthanol, puis on évapore à sec.

- la solvolysse se fait avec 30 ml d'éthanol-acétone (1/9 , V/V)

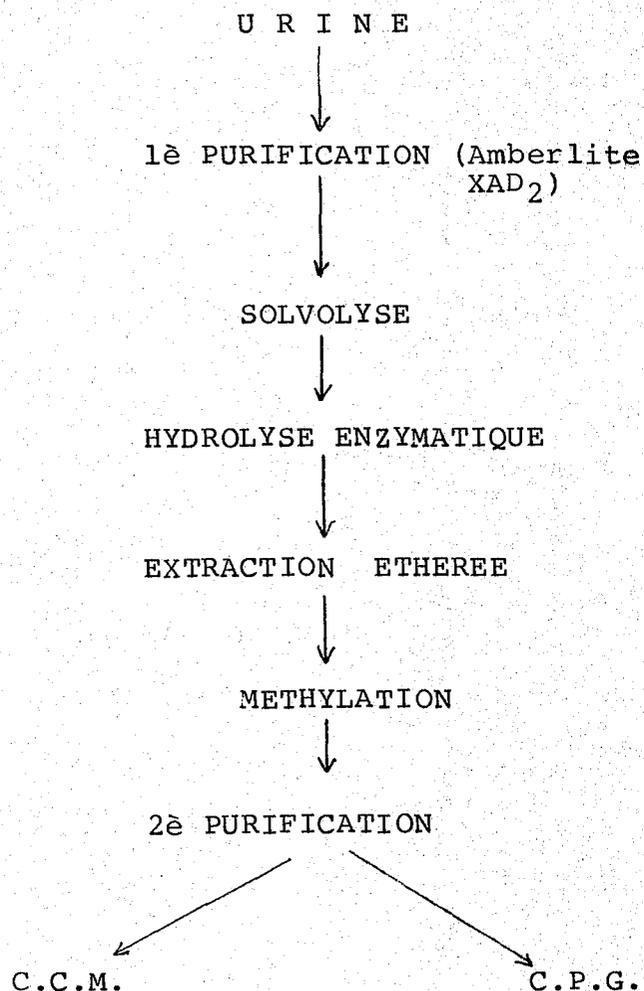
, puis acidification à pH =1 avec Hcl concentré et on laisse 2 jours à température ambiante. On neutralise avec 0,4 ml de NaOH 2M puis on évapore à sec.

- La déconjugaison enzymatique se fait comme pour tous les échantillons précédents, ainsi que l'extraction à l'éther éthylique 3 X 15 ml.

Les extraits d'urine sont prêts à être méthylés.

Cette lère purification permet d'éliminer un grand nombre de métabolites

Déconjugaison et désulfatation des acides biliaires.



#### II.1.2.2. Méthylation des échantillons

Dans une première étape, nous avons essayé la méthylation au méthanol-acétyl chlorure : préparée extemporainement en versant avec précaution au goutte à goutte, 5 ml d'acétyl chlorure dans 100 ml de méthanol anhydre, (la réaction est exothermique et se fait sous hotte bien ventilée).

Chacun des extraits étherés secs précédemment obtenus est repris par 1 ml de méthanol anhydre et on ajoute 4 ml du mélange précédent. On laisse en contact une nuit (15 à 18 heures) et on évapore à sec. Cette méthode nous a donné de piètres résultats quant au rendement (vraisemblablement parce que le méthanol n'était pas parfaitement anhydre ?).

Nous avons donc utilisé la méthode au diazométhane. La solution de diazométhane a été préparée par l'équipe du Docteur PARQUET à l'hôpital Saint-Antoine de Paris, que nous remercions). La solution doit rester au congélateur jusqu'à son utilisation et être maintenue dans la glace pendant son utilisation qui se fait sous hotte et sous courant d'azote.

A l'extrait étheré, on ajoute 1 ml de méthanol et 1 ml de solution étherée de diazométhane. On laisse agir 15 à 30 minutes, puis on évapore à sec sous flux d'azote (SCHLENK et GULLERMAN 1960 cités par NAIR, 1967).

#### II.1.2.3. Purification des esters méthyliques

Cette étape est de grande importance, car toutes les réactions chimiques résultant des différentes étapes et particulièrement de la méthylation, produisent des composés chimiques qui doivent être écartés pour ne pas interférer dans les analyses. Nous avons emprunté la technique de BEREZIAT et al, 1977. On met deux grammes d'alumine activée à 500°C pendant 2 heures ; on rééquilibre avec 0,2 ml d'eau distillée, puis homogénéise. L'alumine est mise dans une ampoule à décanter garnie à sa partie inférieure d'une boule de laine de verre (et dont le robinet est en téflon). On équilibre avec du benzène pour homogénéiser et vérifier s'il n'y a pas de bulles d'air.

L'extrait sec est redissout dans 8 ml de benzène, qu'on dépose doucement sur la surface de la colonne d'alumine. On laisse écouler cette solution benzénique. Un anneau brunâtre contenant les impuretés, se forme à la surface de la colonne. On rajoute 40 ml de benzène qu'on dépose doucement à la surface de la colonne, on règle le robinet d'écoulement à une goutte toutes les 8 secondes. On recueille le benzène et on l'écarte. On élue avec 40 ml de méthanol-acétone (1 : 9) qu'on dépose délicatement à la surface de la colonne. L'éluat est recueilli et évaporé à sec (50°C sous flux d'air). L'extrait sec est prêt pour l'analyse en C.C.M. et en C.P.G.

#### II.1.2.4. Chromatographie sur couche mince (C.C.M.)

On a choisi la méthode de FORMAN et al, 1968. Les extraits secs d'échantillons sont dissous dans 1 ml de méthanol. La couche mince est un gel de silice G 60 de 0,2 mm d'épaisseur, sans indicateur fluorescent sur plaque de 20 X 20 cm (MERCK ou POLYGRAM).

10 ml sont déposés sur la plaque, le front est à 150 mm. Au milieu de chaque plaque, une solution de 7 acides biliaires témoins est déposée (SIGMA CHEMICAL COMPAGNY, U.S.A.). Le développement se fait dans un mélange : chloroforme ; acide acétique ; acétone (70 ; 20 ; 10). Après migration du solvant jusqu'au front, les plaques sont retirées des cuves et sont mises à sécher pendant quelques minutes à l'air libre sous hotte. La révélation se fait avec l'acide phosphomolybdique à 5 % dans un mélange d'éther-éthanol (1 : 1), selon ENEROTH, 1963 et TAYLOR 1977.

Les plaques sont chauffées à 100°C pendant 10 minutes. Les tâches apparaissent bleues sur un fond jaune verdâtre.

II.1.2.5. Chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.)  
(figure 2).

Après plusieurs essais de colonnes différentes, avec des paramètres variés, nous avons arrêté notre choix sur une colonne d'1,40 m de long, de 2 mm de diamètre.

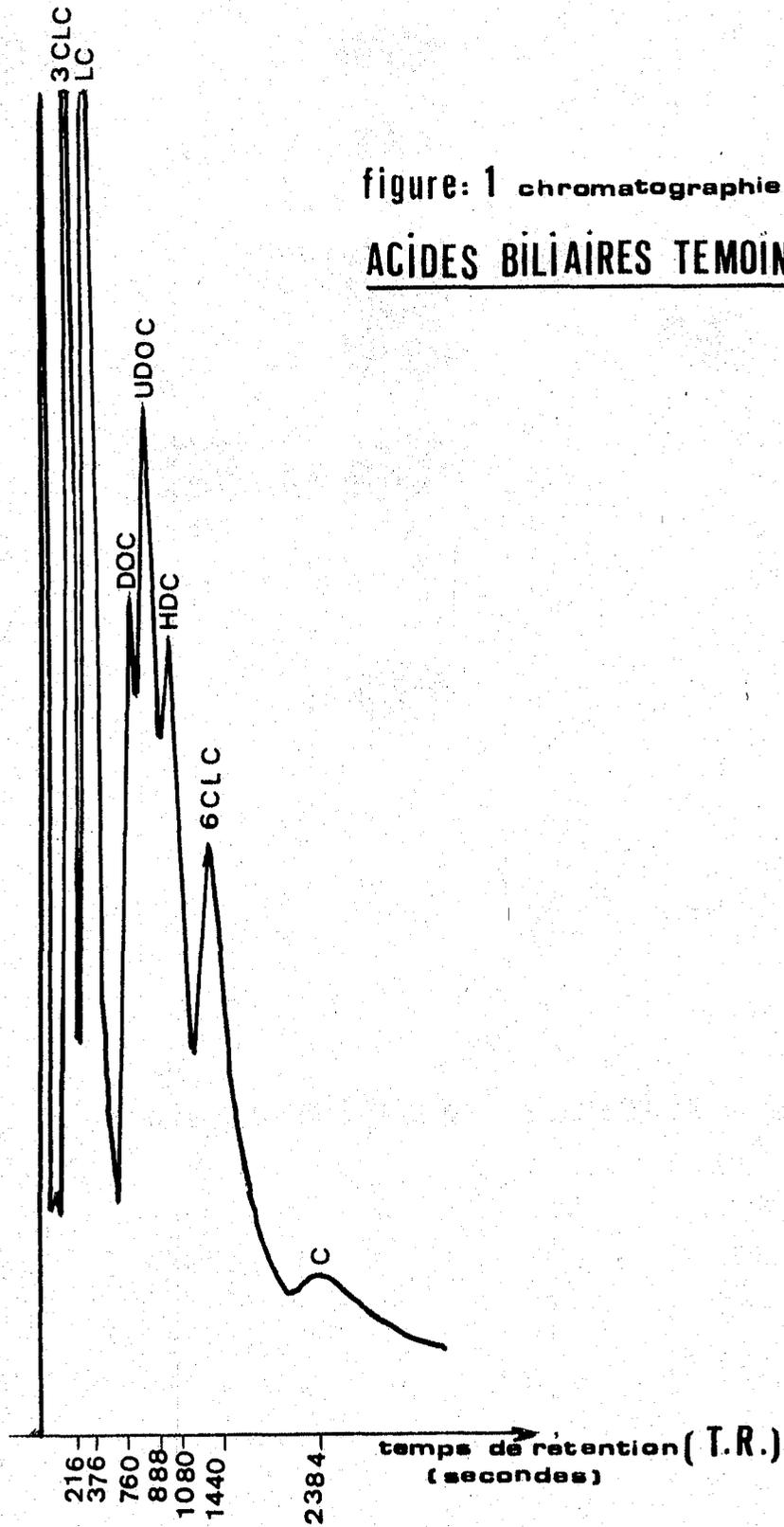
La phase stationnaire est composée de 3 % QF<sub>1</sub> sur Gas-Chrom Q 100-120 mesh. La température du four est 230°C, celle de l'injecteur 250°C, celle du détecteur 300°C. Le débit du gaz vecteur (Azote) est de 80 ml par minute.

L'appareil de chromatographie est un GIRDEL 3000 avec détection à ionisation de flamme (hydrogène)- Les calculs sont faits sur un intégrateur DELSI-ENICA 10 (méthode avec étalon interne).

La quantité injectée étant de 2  $\mu$ l.

+ = + = + = + = + = + = + =

figure: 1 chromatographie en phase gazeuse  
ACIDES BILIAIRES TEMOINS



### II.2.1.2. Résultats analytiques

15 lapins au total sont sacrifiés par groupe de 3, toutes les trois heures de 9h30 le matin à 21h30 le soir. On prélève le sang (avant sacrifice) la vésicule biliaire, la vessie et l'ensemble du tractus digestif (voir partie technique au chapitre II.1.)

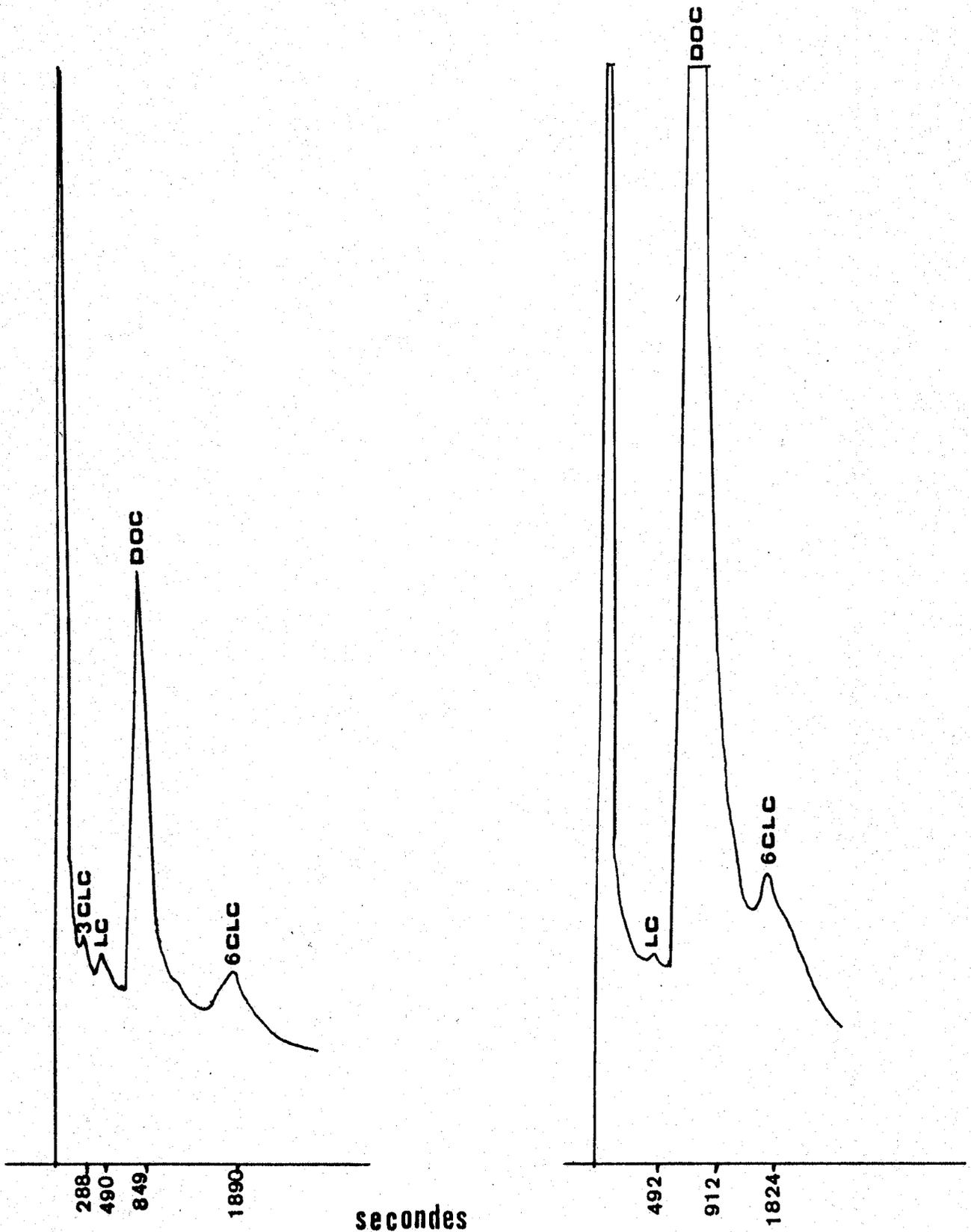
Les résultats sont exprimés dans les unités suivantes :

- BILE	mg par ml de bile vésiculaire
- PLASMA	$\mu$ g par ml de plasma
- ESTOMAC	mg par g de matière sèche
- DUODENUM	"
- JEJUNUM	"
- ILEON	"
- CAECUM	"
- COLON PROXIMAL	"
- COLON DISTAL	"
- FECES DURES	"
- FECES MOLLES	"
- URINE	$\mu$ g par ml d'urine vésicale

#### II.2.1.2.1. Concentration en acides biliaires dans la bile

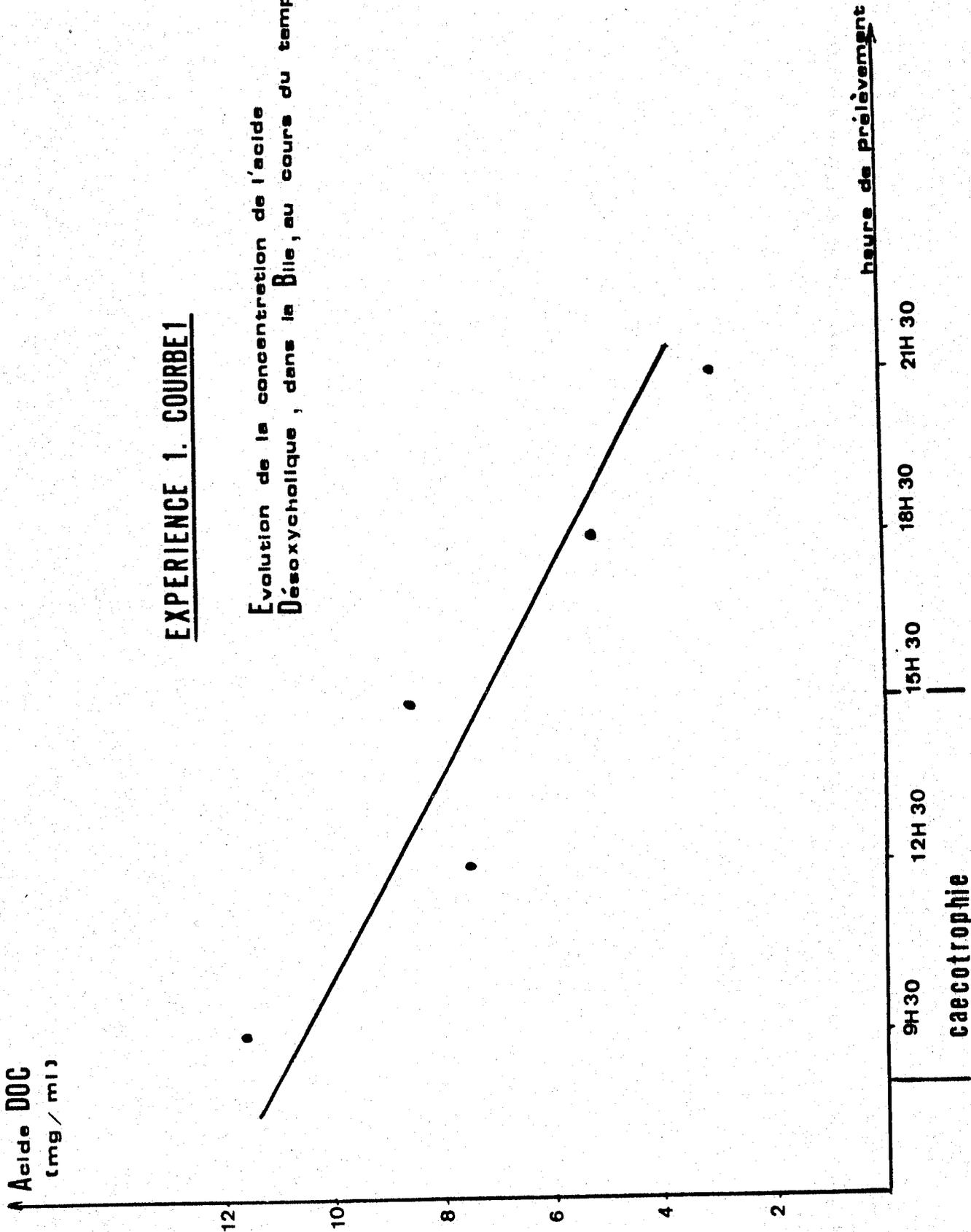
La concentration moyenne de l'acide DOC dans la bile vésiculaire est de 6,10 mg par ml, mais varie beaucoup de 1 à 12 fois . Elle est plus élevée le matin (9h30) 11,67 mg par ml que le soir (21h30) 3,18 mg. Les variations de cette concentration pendant la journée sont résumées dans les (.courbe 1 . et figure 3.)

figure:3 .EXPERIENCE 1 .Acides biliaires dans la BILE à 12h 30



### EXPERIENCE 1. COURBE 1

Evolution de la concentration de l'acide  
Désoxycholique, dans la Bile, au cours du temps



caecotrophie

Nous constatons que la plus élevée correspond à la période de caecotrophie (voir chapitre précédent II.2.1.1.).

L'acide C se présente sous forme de traces en C.C.M. et en C.P.G., sauf à 15h30 où sa concentration est à 0,62 mg par ml.

L'acide lithocholique (L.C.) se présente avec une moyenne de 0,25 mg par ml mais varie largement (0,05-0,56) au cours de la journée. La plus élevée se situe le matin à 9h30 (0,31 mg/ml) et à 12h30 (0,56 mg/ml) alors que la plus basse est l'après-midi et le soir (0,05 mg/ml).

L'acide CDC considéré comme primaire est présent sous forme de traces, il en est de même pour l'acide HDC

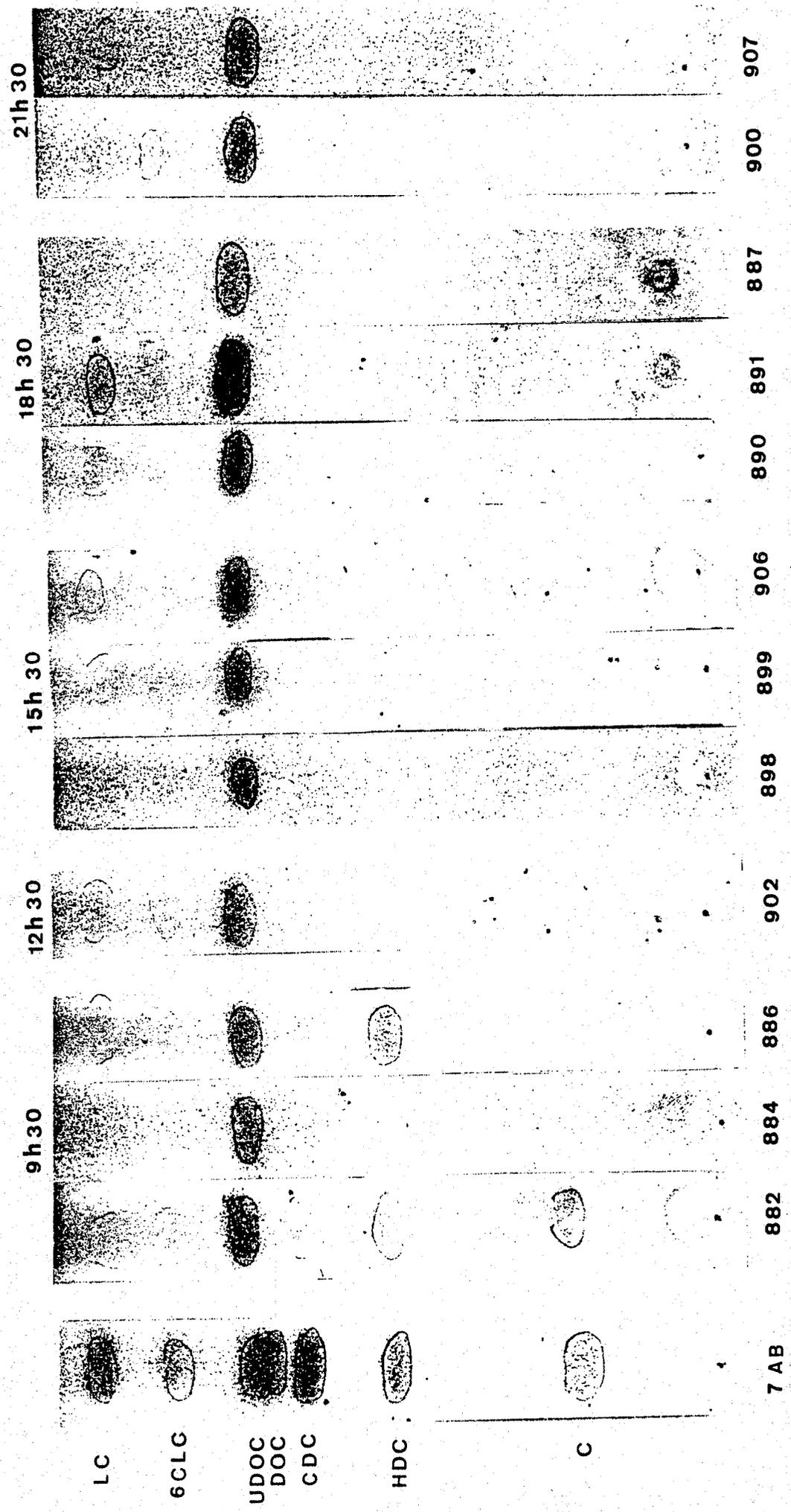
L'acide 3CLC, forme cétonique du lithocholate n'est présent qu'à la concentration très faible de 0,02 mg par ml et seulement à 12h30.

*D' une manière générale on note des concentrations plus élevées en acides biliaires dans la bile le matin que le soir ; il y a donc variation au cours du nyctémère avec des taux plus élevés au début de la période de caecotrophie (9h30) et allant en diminuant.*

#### II.2.1.2.2. Concentration en acides biliaires plasmatiques

La concentration moyenne de l'acide DOC plasmatique des lapins opérés est de 7,06  $\mu$ g par ml. Comme le montre les tableaux 13a et 17, l'évolution au cours de la journée est variable ; la concentration la plus élevée se situe dans l'après-midi (15h30 et 18h30) alors qu'il est absent le matin à 9h30 et le soir à 21h30.

FIGURE 4 Expérience 1



Acides biliaires du plasma

L'acide LC n'est présent qu'à 15h30 à la concentration de 0,67  $\mu\text{g/ml}$  et à 21h30 sous forme de traces.

L'Acide HDC présente une concentration de 30,61  $\mu\text{g/ml}$  mais seulement à 9h30. (Figure 4)

Enfin l'Acide C a une concentration moyenne de 0,47  $\mu\text{g/ml}$  cette concentration varie de 0,08  $\mu\text{g/ml}$  (à 15h30), à 1,21  $\mu\text{g/ml}$  (à 18h30).

#### II.2.1.2.3. Concentration en acides biliaires dans l'estomac

L'évolution de la concentration de l'acide DOC est la suivante :

- 9h30	Traces
- 12h30	1,70 mg par g sec
- 15h30	1,42 mg par g sec
- 18h30	1,73 mg par g sec
- 21h30	Traces

On peut donc faire deux remarques : la première est que l'acide DOC est toujours présent dans l'estomac, toutefois les quantités décelées sont plus importantes de 12h30 à 18h30 ; la seconde est que pendant ce laps de temps la concentration de cholate (C) est de 0,04 mg par g de M.S. On se rappellera que cet horaire correspond à celui où les caécotrophes accumulées dans le fundus de l'estomac, sont en digestion lente.

Les acides L.C. et 6 CLC ne sont présents que sous forme de traces aux heures de l'après-midi.

La concentration de l'acide 3CLC est de 0,91 mg/g de M.S. mais sa présence n'est décelée qu'à 12h30 et 21h30.

#### II.2.1.2.4. Concentration en acides biliaires dans le duodénum.

L'acide DOC est présent en permanence dans le duodénum et à toutes les heures (C.C.M.). Une manipulation défectueuse ne nous permet pas d'en préciser la concentration, sauf pour un échantillon à 21h30 qui donne 1,59 mg par g de M.S. L'évolution nycthémérale de cet acide n'a pu être quantifiée. Présent à la fois dans la bile et dans l'estomac, il est intéressant de voir si la vidange stomacale constituait un apport notable en cet acide et à quelle période du nycthémère.

Les acides LC et HDC sont présents sous forme de traces (C.C.M.) à 15h30 pour le premier et à 12h30 pour le second.

L'acide cholique (C) n'est présent qu'à 12h30 à la concentration de 0,22 mg/g de M.S.

#### II.2.1.2.5. Concentration en acides biliaires dans le jéjunum

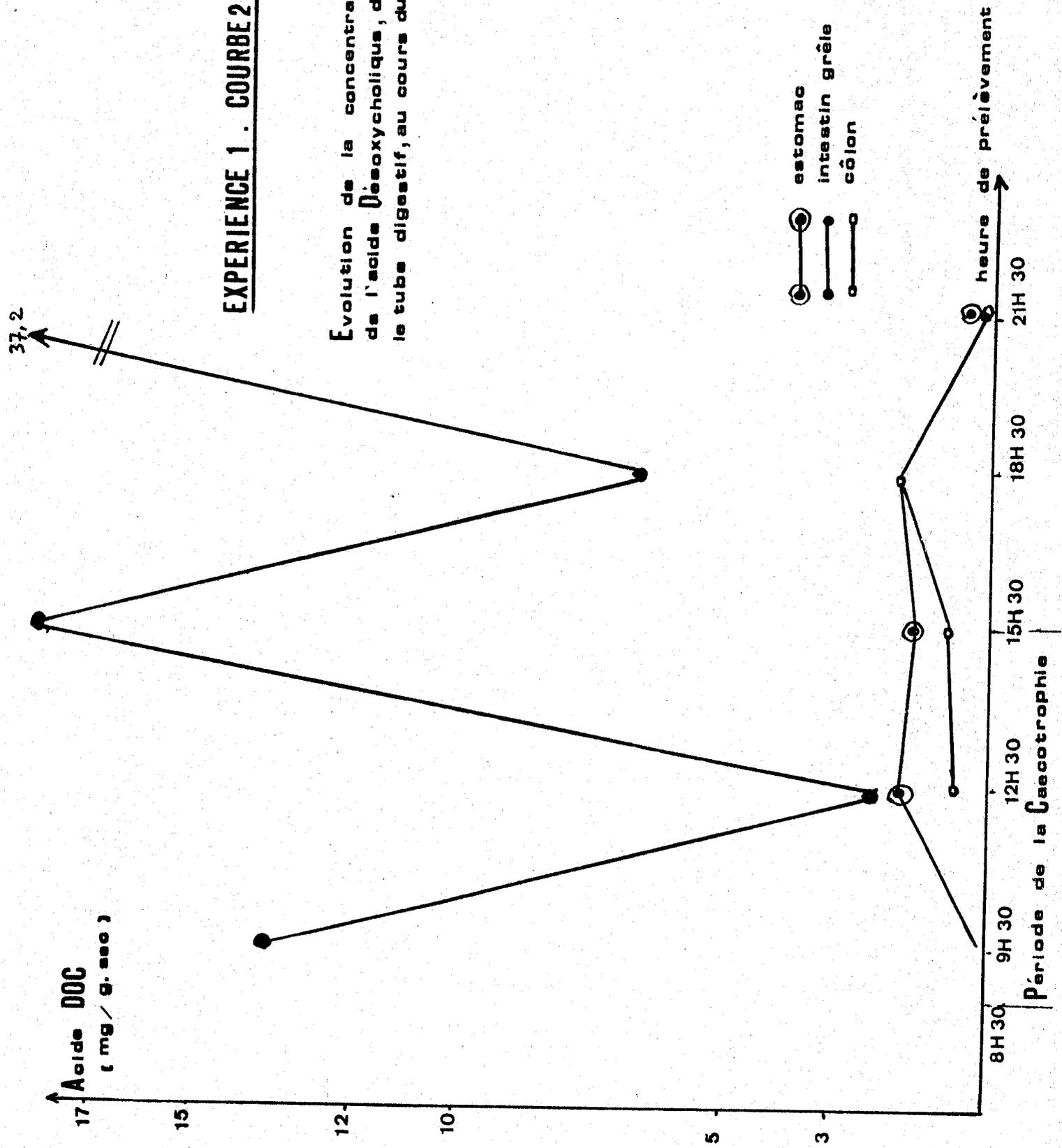
L'acide DOC est toujours présent dans le jéjunum mais sa concentration varie au cours du nycthémère.

Si on relève des concentrations de 1,07 et 3,08 mg/g M.S. à 12h30, celle-ci atteint 20,4 et 45,30 mg/g M.S. à 15<sup>h</sup>30.

Cette concentration peut encore être plus élevée à 21h30 (37,2 mg /g M.S.) ; la concentration moyenne (heures confondues) de cet acide est de 13,6 mg/g M.S.

### EXPERIENCE 1 . COURBE 2

Evolution de la concentration de l'acide Desoxycholique, dans le tube digestif, au cours du temps



estomac  
intestin grêle  
côlon

Période de la Cæcotropie

L'acide cholique apparaît seulement à 15h30 (0,80 mg/g M.S.) et à 18h30 (0,38 mg/g M.S.).

L'acide HDC apparaît dans les prélèvements de 9h30 et dans ceux de 18h30. Sa concentration est importante et comparable à celui du DOC (13,3 mg/g M.S. à 9h30 ; 14,1 et 9,2 mg/g M.S. à 18h30). Nous aurons à revenir sur ce point dans la discussion de nos résultats.

#### II.2.1.2.6. Concentration en acides biliaires dans l'Iléon

Nous n'avons retrouvé l'acide DOC que le matin à la concentration de 1,64 mg/g M.S. et à 15h30 à la concentration de 2,14 mg/g M.S.

L'acide HDC est présent à 12h30 et à 15h30 à une concentration non négligeable de 3,63 mg/g M.S. (à 15h30).

L'acide cholique se trouve à une concentration de 0,13 mg/g M.S. mais seulement à 21h30.

#### II.2.1.2.6. Concentration en acides biliaires dans le caecum

Le seul acide identifié en quantité chiffrable est le DOC. Encore ne l'avons nous retrouvé qu'à 15h30.

La concentration de 0,79 et 0,67 mg/g de M.S. a été relevée. Des traces de 6 CLC sont notées à 9h30 et de CDC à 21h30.

*On s'étonnera de cette pauvreté en acides biliaires dans ce contenu alors que le reste du tube digestif et les fèces en sont riches comme on va le voir par la suite.*

II.2.1.2.8. Concentration en acides biliaires dans le côlon proximal.

L'acide DOC est présent mais à une concentration non déterminée chez un animal à 9h30, il faut attendre 18h30 et 21h30 pour le retrouver, toujours sans pouvoir en déterminer la concentration, il est possible que cette lacune soit due à notre technique (voir discussion). Il en est de même pour l'acide LC qui n'apparaît qu'à 21h30 et de l'acide 6 CLC à 12h30, 15h30 et de nouveau à 21h30.

La concentration de l'acide HDC atteint 1,72 mg/g de M.S. et 1,46 mg/g M.S. à 15h30. Cet acide est décelée aussi à 18h30.

II.2.1.2.9. Concentration en acides biliaires dans le côlon distal.

L'acide DOC est présent à 12h30 à la concentration de 0,65 mg/g M.S. et à 18h30 à la concentration de 1,68 mg/g M.S. Il est sous forme de traces à 21h30.

L'acide 6CLC est retrouvée à 9h30 à la concentration de 0,06 mg/g M.S., à 15h30 (0,55 mg/g M.S.) à 18h30 à la concentration de 0,02 mg/g M.S.

L'acide HDC n'est présent qu'à 12h30 (0,86 mg/g de M.S.)

L'acide C est présent chez 8 des 11 animaux sacrifiés entre 12h30 et 21h30 dont la concentration moyenne est de 0,36 mg/g sec l'évolution de cette concentration au cours du nycthémère est :

- 12h30 : 0,36 et 1,45 mg/g M.S.
- 15h30 : 0,63 et 0,06 "
- 18h30 : 0,14, 0,05 et 0,04 "
- 21h30 : 0,12 "

II.2.1.2.10 Concentration en acides biliaires dans les  
fèces dures. (Figure 5).

La collecte des fèces dures a été faite à 16h00 la veille du jour de sacrifice. La totalité de l'émission correspondant à une période de 24 heures est ramassée, pesée à l'état frais. Après mélange du recueil, on prélève une aliquote qui est broyée et lyophilisée. C'est sur cet échantillon que seront faites les analyses ultérieures.

L'acide DOC n'est retrouvé que dans 3 échantillons sur 13 analysés. Présent à l'état de traces non mesurables chez un lapin, sa concentration moyenne atteint 0,78 mg/g de M.S.

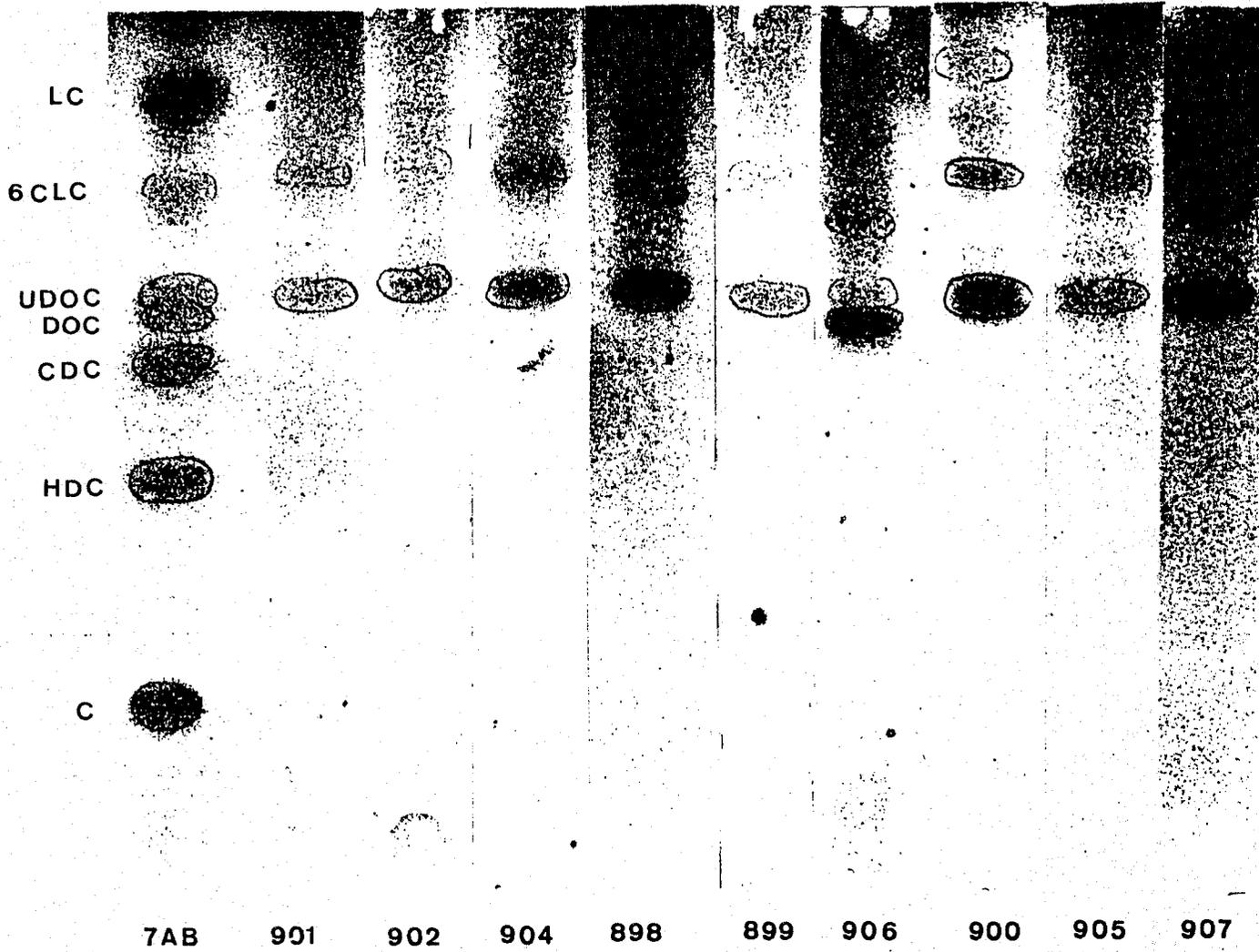
L'acide LC se reconnaît à l'état de traces dans 5 échantillons sur 13, il en est de même pour le 6 CLC qui est présent dans 10 échantillons.

L'acide HDC apparaît dans un seul échantillon sur 13 analysés et sa concentration est de 1,42 mg/g de M.S.

L'acide cholique n'est présent que dans 2 échantillons à la concentration de 0,06 mg/g de M.S.

L'acide 3 CLC est retrouvé en plus grande quantité dans les fèces dures de nos animaux. Le taux d'élimination fécale de cet acide varie de 6,13 mg/g de M.S. à 18,35 mg/g de M.S.

FIGURE 5 Expérience 1



Acides biliaires des fèces dures

Cet acide est un dérivé de l'acide lithocholique (forme cétonique) nous paraît être celui auquel conduisent préférentiellement les dégradations par la flore microbienne.

Nous avons déjà dans l'examen de nos résultats de cette expérience signalé sa présence dans d'autres segments du tube digestif.

#### II.2.1.2.11. Concentration en acides biliaires dans les caecotrophes (Figures 6 et 7).

Nous avons recherché les acides biliaires dans les caecotrophes de 8 de nos lapins. Il s'agit de l'émission obtenue après une période de jeûne stercoral de 24 heures la veille du jour du sacrifice.

L'acide DOC est présent dans tous les échantillons analysés. Mis à part une faible concentration chez un animal 0,009 mg/g M.S. la concentration moyenne de cet acide est de 114 mg/g sec. Ceci explique la présence en quantité importante de cet acide dans le contenu duodéal. Il y a en effet à ce niveau, deux apports, celui de la bile et celui du contenu de l'estomac. Rappelons nous, que nous n'avons pas pu quantifier son taux dans le contenu duodéal (voir plus haut).

L'acide LC est retrouvé à l'état de traces dans tous les échantillons sauf un seul. Un échantillon présente une concentration notable de 0,11 mg/g de M.S.

figure: 6 .EXPERIENCE 1 . Acides Biliaires dans les  
FECES MOLLES (CAECOTOPHES )

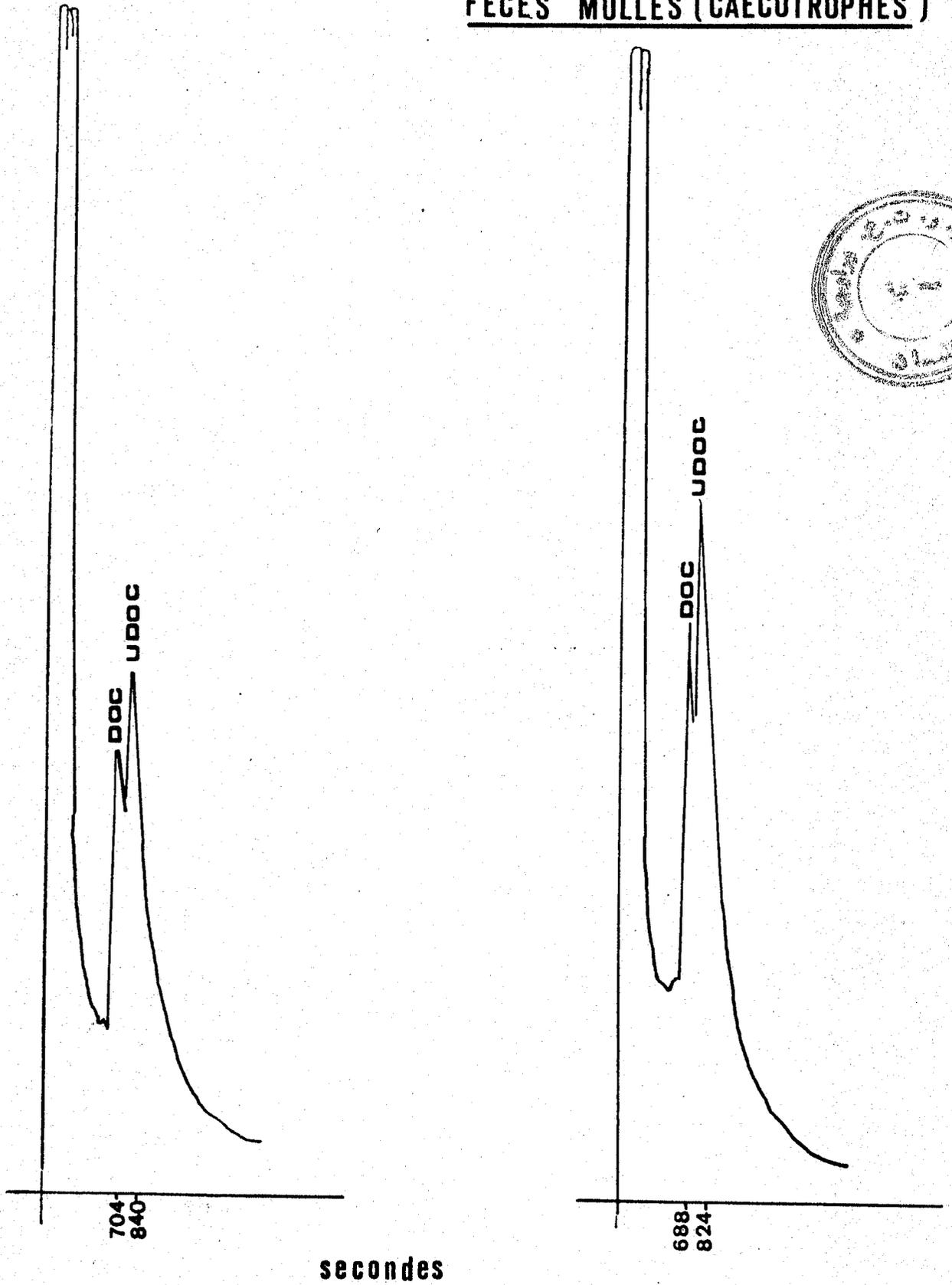
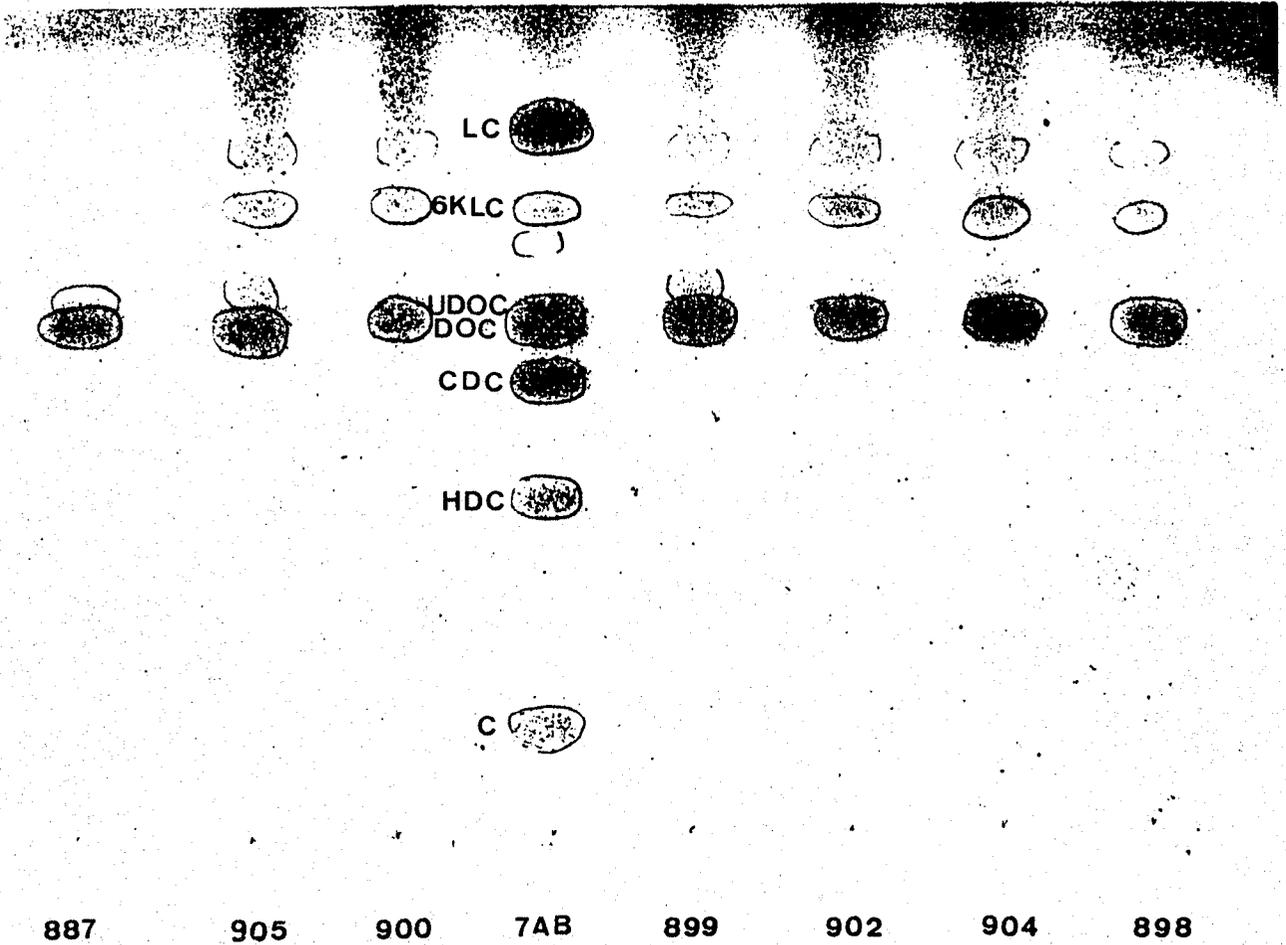


FIGURE: 7 . Expérience 1



**Acides biliaires des caecotrophes**

L'acide 6 CLC apparaît partout à l'état de traces et de façon quantifiable chez un animal 0,04 mg/g de M.S.  
Un seul échantillon contient l'acide HDC à la concentration de 0,26 mg/g de M.S.

L'acide 3 CLC n'apparaît que dans deux échantillons dont l'un à l'état de traces et l'autre à la concentration de 0,63 mg/g de M.S. Dès maintenant nous attirons l'attention sur les résultats des caecotrophes du lapin ayant cet acide ; en effet l'échantillon contient peu d'acide DOC (0,009 mg/g de M.S.) mais par contre les acides LC et 3 CLC y apparaissent à des taux bien supérieurs à ceux des autres animaux.

#### II.2.1.2.12. Concentration en acides biliaires dans l'urine

---

9 échantillons d'urine ont été analysés correspondants à des animaux sacrifiés entre 12h30 et 21h30. Il s'agit toujours de l'urine vésicale, recueillie en totalité, dont le volume est mesuré et dont nous prélevons une aliquote de 15 ml à 30 suivant les possibilités pour l'analyse ultérieure.

L'acide DOC est retrouvé à 12h30 à la concentration moyenne de  $2,83 \mu\text{g/ml}$ , à 15h30 à la concentration moyenne de  $1,04 \mu\text{g/ml}$ , à 18h30 à l'état de traces et à 21h30 à la concentration moyenne de  $1,74 \mu\text{g/ml}$

L'acide LC est présent dans tous les prélèvements mais il n'est en quantité dosable <sup>que</sup> chez un seul animal  $1,30 \mu\text{g/ml}$ .

TABLEAU N°10 - EXPRIENCE N° 1

## ASPECTS QUALITATIFS (C.C.M.)

CONTENU	LC	SCLC	DOC	CDC	HDC	C
BILE	(14) +	ETALON INTERNE	(14) +	(13) TRACES	(3) TRACES	(14) +
PLASMA	(3) +	(3) +	(6) +	(1) TRACES	(2) +	(2) +
ESTOMAC	(14) +	(7) +	(8) +	-	-	(3) +
DUODENUM	(2) TRACES	-	(14) +	-	(1) TRACES	(2) +
JEJUNUM	-	-	(13) +	-	(3) +	(3) +
ILEON	-	-	(4) +	-	(3) +	(1) +
CAECUM	-	(1) TRACES	(3) +	(1) TRACES	-	-
COLON PROXIMAL	(1) TRACES	(6) +	(4) +	-	(2) +	-
COLON DISTAL	(1) TRACES	(3) +	(6) +	-	(1) TRACES	(8) +
FECES DURES	(5) +	(10) +	(3) +	-	(1) TRACES	(2) +
FECES MOLLES	(8) +	(10) +	(9) +	-	(1) TRACES	-
URINE	(9) +	(3) +	(6) +	(8) TRACES	(4) +	(4) +

- : Absence de l'acide indiqué  
+ : Présence de l'acide indiqué  
( ) : Nombre de résultats positifs

TABLEAU n° M - EXPERIENCE 1 - TAUX MOYEN EN ACIDES BILIAIRES.  
TOUTES HEURES CONFONDUES

- : absence de l'acide indiqué

: acide non dosé

( ) : nombre de résultats entrant dans la moyenne.

CONTENU	LC	CLC	DOC	CDC	HDC	C	3CLC
BILE mg/ml	(4) 0,25 0,05-0,56	ETALON INTERNE	(9) 6,10 1,79-1,67	(8) TRACES	(4) TRACES	(1) 0,62	(1) 0,02
PLASMA µg/ml	(1) 0,67	(2) 0,22 0,16-0,27	(5) 7,06 1,05-26,23		(1) 30,61	(3) 0,47 0,08-1,21	-
ESTOMAC mg/ml	TRACES	TRACES	(5) 1,60 0,86-2,61		-	(2) 0,04 0,04-0,07	(4) 0,91 0,36-1,56
DUODENUM mg/g sec	-	-	(1) 1,60 s/estimé		TRACES	(2) 0,21 0,09-0,34	-
JEJUNUM mg/g sec	-	-	(7) 13,63 1,07-37,20		(3) 12,25 9,28-14,1	(2) 0,59 0,38-0,8	-
ILEON mg/g sec	-	-	(3) 1,98 1,64-2,64		(3) 3,24 1,20-4,90	(1) 0,13	-
CAECUM mg/g sec	-	-	(2) 0,73 0,67-0,78		-	-	-
COLON PROXIMAL mg/g sec	-	-	(5) non évalué		(2) 1,60 1,46-1,73	-	-
COLON DISTAL mg/g sec	-	(3) 0,21 0,02-0,55	(4) 1,42 0,65-2,1		(1) 0,86	(8) 0,36 0,04-1,50	-
FECES DURES mg/g sec	TRACES	TRACES	(2) 0,78 0,57-0,99		(1) 1,45	(2) 0,06 0,009-0,1	(5) 11,51 7,8-18;4
FECES MOLLES mg/g sec	0,11	(2) 0,03 0,01-0,04	(9) 1,14 0,009-1,79		(1) 0,26	-	(1) 0,63
URINE µg/ml	(1) 1,30	-	(4) 2,11 1,04-3,53		-	-	(9) 18,37 1,16-81,2

## EXPERIENCE 1

TABLEAU N° 12 - QUANTITE TOTALE DE DOC DANS L'ESTOMAC

N° LAPINS	904	898	906	890	891
DOC (mg/g sec)	1,74	1,93	0,91	0,86	2,61
Contenu Stomacal	aliment+ F.M.	aliment+ F.M.	aliment+ F.M.	aliment	aliment
Poids de ce contenu en M.S. en grammes	30,5	19,4	22,1	12,61	17,1
DOC total en mg	53,0	37,4	20,11	10,84	44,6

TABLEAU N° 13 - QUANTITES D'ACIDE DOC INGEREES PAR LES LAPINS EN PERIODE STERCORALE.

N° LAPINS	901	902	904	898	899	906	905	907
DOC (mg/gsec)	1,32	0,62	1,78	1,66	0,69	0,09	1,64	1,38
Caecotrophes (en g de M.S.)	20,1	8,87	19,9	27,8	18,5	29,7	18,6	24,6
DOC Total (mg/g sec)	26,53	5,50	35,42	46,15	12,77	2,67	30,5	33,95

L'acide 6 CLC est décelé dans les prélèvements de 15h30 et de 21h30 sans pouvoir le quantifier.

La chromatographie en couche mince nous a révélé la présence d'acide CDC dans 8 prélèvements sur 9 analysés.

L'acide HDC apparaît dans les prélèvements de 15h30, 18h30, 21h30, toujours à l'état de traces ; il en est de même pour l'acide C, à 15h30 et à 18h30.

Enfin l'acide 3CLC est présent dans toutes les urines à la concentration moyenne de 18,40  $\mu\text{g/ml}$ . Cet acide est également celui que nous avons retrouvé dans les prélèvements de fèces dures en quantité pouvant atteindre 18,35  $\mu\text{g/g}$  de M.S.

### II.2.1.3. Discussion

*Nous avons utilisé l'acide ursodésoxycholique (UDOC) pour témoin interne dans le cas des fèces et des contenus intestinaux : or lors de la séparation chromatographique le pic de l'UDOC, étalon interne, empêchait la différenciation et de là, le calcul. Soulignons ici, une des difficultés de notre travail expérimental : nous voulions faire apparaître des acides biliaires dont les taux risquaient d'être faibles donc nous avons été obligés de travailler avec des quantités de matériel de départ plus importantes. Dès lors, la concentration des acides biliaires les plus abondants devenaient incompatibles avec les normes que nous nous étions données en C.C.M. en C.P.G. nous privant ainsi des valeurs chiffrées dans certains cas.*

### Composition de la bile vésiculaire

Nous avons mis en évidence la présence de 7 acides biliaires parmi ceux-ci. Le LC, le DOC, le CDC et le C apparaissent le plus souvent. Ces résultats sont en accord avec ceux de la plupart des auteurs parmi lesquels nous citerons TAYLOR 1977, YAHIRO, 1980, FISCHER et al., 1974 qui ont étudié la bile vésiculaire. Nous trouvons aussi le HDC (4 cas), le 3 CLC (3 cas) et même l'UDOC (1 seul cas). L'importance des phénomènes microbiens dans la digestion chez le lapin explique la présence de ces acides, notamment le 3 CLC que nous avons d'ailleurs retrouvé en quantité notable dans l'urine et les fèces dures. En ce qui concerne le taux relatif de chacun des acides, le DOC est toujours l'acide le plus important, parfois atteignant 97 % du total ; les autres acides ne sont que rarement quantifiables. On peut s'étonner de ne pas retrouver davantage d'acide cholique ou d'acide chéno-désoxycholique, Cependant si YAHIRO 1980 retrouve les deux, FISCHER 1974 et TAYLOR 1977 ne signalent que le cholique. Les concentrations en acides biliaries que nous avons retrouvées dans nos échantillons sont inférieures à celles données par TAYLOR, 1977 (environ 33 mg/ml) qui lui aussi étudie la bile vésiculaire. Des différences dans les techniques d'extraction et d'analyses interviennent sans doute mais ne sont probablement pas suffisantes pour expliquer ces résultats discordants. On peut aussi voir que le taux d'acides biliaries évolue au cours du nyctémère. Les taux de l'acide DOC sont moins élevés à 18h30 et à 21h30 que le matin. Il y aurait donc lieu de tenir compte de variations diurnes de la composition de la bile vésiculaire dans les études ultérieures. Nous reviendrons sur ce problème plus loin en examinant l'apport des caecotrophes au cycle entéro-hépatique des acides biliaries; notons seulement ici que 9h30 correspond au début de la période d'ingestion des caecotrophes, tandis qu'à 18h30 et 21h30, nous sommes en

période de reprise de l'alimentation normale. Y a-t-il concentration de la bile vésiculaire pendant la nuit et la matinée et au contraire la vésicule n'a-t-elle plus ce rôle en fin de journée et le début de la période nocturne quand l'animal s'alimente de granulés ? Les questions resteront sans réponse tant que deux problèmes ne seront pas résolus : celui de la vidange vésiculaire est-elle continue ou épisodique chez le lapin ? Celui de la vidange stomacale : l'estomac est toujours plein, soit d'aliments, soit de caecotrophes, soit des deux. On sait que les aliments ne séjournent pas très longtemps dans l'estomac mais que par contre la digestion des caecotrophes se poursuit longuement puisque ceux-ci n'arrivent que progressivement dans ce réservoir.

L'arrivée dans le duodénum du résultat de la digestion des caecotrophes pourrait également provoquer une vidange vésiculaire mais comme nous le verrons cette bile n'a pas besoin d'être chargée en DOC puisque les caecotrophes en apportent. Il se pourrait que ce soit même ce DOC libéré dans l'estomac et transitant dans le duodénum qui soit à la base de la "chasse" biliaire elle-même puisque cet acide est lui-même cholérétique (SHAW et HEATH, 1974).

En ce qui concerne l'apparition des sels biliaires dans l'estomac on a déjà souligné sa présence en quantité importante entre 12h30 et 18h30. Si nous nous référons au contenu stomacal global, les tableaux 12,13 nous donnent (pour les lapins où ces taux sont mesurables) la teneur en DOC susceptible de passer dans le duodénum. Comme nous l'avons signalé dans l'examen des résultats l'acide DOC est bien l'acide principal du contenu duodénal.

Nous confirmons pleinement l'hypothèse de HELLSTRÖM et SJÖVALL, 1962 qui émettaient l'idée que la présence d'acides biliaires dans l'estomac du lapin pouvait être due au fait que l'animal "mangeait une partie de ses fèces prises directement à l'anus".

Les quantités d'acide DOC ingérées par les lapins peuvent être déduites des quantités retrouvées dans leurs caecotrophes (tableau n°13)

La comparaison des taux ne peut être poussée beaucoup plus loin car les caecotrophes pour lesquelles nous calculons le taux de DOC global ne sont pas celles qui ont été ingérées par l'animal (ramassage 24 heures avant le sacrifice-) et que comme on le constate, la teneur en DOC est très variable d'un animal à l'autre de même que les quantités de caecotrophes émises (tableau n° 13)

Au-delà du duodénum les quantités de DOC sont toujours importantes dans le jéjunum quelle que soit l'heure du prélèvement, par contre nous ne le retrouvons dans l'iléon terminal que chez un animal à 9h30 et un animal à 15h30 ; partout ailleurs il n'apparaît plus. L'absorption doit donc s'être produite dans les portions finales du jéjunum et la première partie de l'iléon. Il apparaît aussi dans les deux segments considérés de l'acide HDC, témoin de l'activité microbienne qui s'y déroule.

Le caecum nous apparaît comme particulièrement pauvre en acides biliaires, ce qui nous semble paradoxal, étant donné que les segments ultérieurs en contiennent et que les 2 formes d'excrétion : fèces dures et caecotrophes contiennent des acides biliaires. Il est vrai semblable que notre technique d'extraction ne convenait pas à ce milieu extrêmement complexe. NORMAN, 1961 a montré que les microorganismes intestinaux peuvent retenir très fortement certains acides biliaires et l'on connaît également l'affinité des fibres cellulosiques pour ces composés : or le caecum est justement très riche en l'un et en l'autre. HELLSTRÖM et SJÖVALL, 1962, préconisent l'utilisation des isotopes pour les déterminations quantitatives d'acides biliaires dans les fèces en soulignant les difficultés et l'imprécision des extractions à effectuer.

En ce qui concerne le côlon proximal et distal, nous y voyons apparaître principalement les formes d'élimination des acides LC, 6 CLC et HDC, résultats des actions bactériennes dans le caecum.

Le cœlon ne contient pas ou peu de DOC avant les prélèvements de 18h30 ou 21h30. Les contenus qui se trouvent dans le cœlon distal, à ce moment, sont destinés à donner des fèces dures. Pouvons-nous aller jusqu'à suggérer une sorte de récupération préférentielle de l'acide DOC dans les fèces molles mettant ainsi en évidence un rôle original de la caecotrophie ? Mais nous posons de nouveau le problème de savoir exactement où et quand se forment les caecotrophes. Si l'on considère que 9h30 à 15h30 représente la période d'émission des fèces molles, devons-nous penser que le matériel qui sort du caecum et qui transite dans le cœlon proximal à ce moment, est, lui, destiné à former des fèces dures, il est alors normal que nous n'y trouvions pas de DOC ? Quand le taux d'acides biliaires est élevé le soir (18h30 et 21h30) dans le cœlon, il est bas dans la bile vésiculaire et vice versa, ceci rejoint des résultats d'HELLSTRÖM et SJÖVALL 1962.

En ce qui concerne les formes d'élimination des acides biliaires, nous avons trouvé dans les fèces dures comme dans l'urine, l'acide 3 CLC qui paraît être la forme préférentielle d'élimination chez le lapin, alors que son taux est faible ou nul dans les fèces molles récupérables. L'acide LC qui n'apparaît qu'à l'état de traces et chez 5 animaux sur 13 dans les fèces dures est décelé aussi dans l'urine.

Notons que l'élimination dans l'urine se chiffre en  $\mu\text{g/ml}$  alors qu'il s'agit de  $\text{mg/g}$  sec dans les fèces dures, et représenterait près de 5 % de l'élimination totale des acides biliaires, le reste se trouvant dans les fèces dures.

TABLEAU N° 14 - EXPERIENCE N° 1

## TAUX D'ACIDES BILIAIRES A 9h30

CONTENU	LC	6CLC	DOC	CDC	HDC	C	3CLC
BILE mg/ml	(2) 0,31 traces-0,31	ETALON INTERNE	(2) 11,67 traces- 11,67	TRACES	-	TRACES	TRACES
PLASMA µg/ml	-	-	(1) 1,25		(1) 30,61	TRACES	-
ESTOMAC mg/g sec	-	-	TRACES		-	-	-
DUODENUM mg/g sec	-	-	+		-	-	-
JEJUNUM mg/g sec	-	-	(1) 12,19		(1) 13,36	-	-
ILEON mg/g sec	-	-	(1) 1,65		-	-	-
CAECUM mg/g sec	-	TRACES	-		-	-	-
COLON PROXIMAL mg/g sec	-	-	+		-	-	-
COLON DISTAL mg/g sec	-	(1) 0,06	-		-	-	-

- : Absence de l'acide indiqué

: Acide non dosé

+ : Présence de l'acide indiqué mais non évaluée

TABLEAU N° 15 - EXPERIENCE 1

## TAUX D'ACIDES BILIAIRES A 12h30

CONTENU	LC	6CLC	DOC	CDC	HDC	C	3CLC
BILE mg/ml	(1) 0,56	ETALON INTERNE	(2) 4,50 1,8-7,2	TRACES	TRACES	TRACES	(1) 0,02
PLASMA µg/ml	-	(1) 0,03	TRACES		-	-	-
ESTOMAC mg/ml	TRACES	TRACES	(1) 1,70		-	TRACES	(2) 0,87 0,8-0,9
DUODENUM mg/g sec	-	-	+		TRACES	(2) 0,21 0,09-0,3	-
JEJUNUM mg/g sec	-	-	(2) 2,08 1,07-3,08		-	-	-
ILEON mg/g sec	-	-	-		(1) 4,90	-	-
CAECUM mg/g sec	-	-	-		-	-	-
COLON PROXIMAL mg/g sec	-	TRACES	-		-	-	-
COLON DISTAL mg/g sec	-	-	(1) 0,65		(1) 0,86	(2) 0,90 0,4-1,4	-
URINE µg/ml	+	-	(2) 2,83 2,09-3,60		-	-	(2) 13,14 12,6-13,70

- : Absence de l'acide indiqué  
: Acide non dosé  
+ : Présence de l'acide indiqué mais non évalué  
( ) : Nombre d'échantillons entrant dans la moyenne

## TAUX D'ACIDES BILIAIRES A 15h30

CONTENU	LC	GCLC	DOC	CDC	HDC	C	3CLC
BILE mg/ml	(1) 0,06	ETALON INTERNE	(2) 8,71 7,5-9,9	TRACES	-	(1) 0,62	-
PLASMA µg/ml	(1) 0,67	-	(3) 9,63 1,05-26,3		-	(1) 0,08	-
ESTOMAC mg/g sec	TRACES	TRACES	(3) 1,42 0,91-1,93		-	(2) 0,04 0,004-0,07	-
DUODENUM mg/g sec	TRACES	-	+		-	-	-
JEJUNUM mg/g sec	-	-	(2) 17,84 15,2-20,4		-	(1) 0,80	-
ILEON mg/g sec	-	-	(2) 2,14 1,64-2,64		(1) 3,63	-	-
CAECUM mg/g sec	-	-	(3) 0,73 0,67-0,79		-	-	-
COLON PROXIMAL mg/g sec	-	TRACES	-		(2) 1,60 1,46-1,73	-	-
COLON DISTAL mg/g sec	TRACES	(1) 0,55	-		-	(3) 0,35 0,06-0,6	-
URINE µg/ml	(1) 1,30	TRACES	(1) 1,04		TRACES	TRACES	(1) 4,25

- : Absence de l'acide indiqué

+ : Présence de l'acide indiqué mais non évalué

: Acide non dosé

( ) : Nombre d'échantillons

TABLEAU N° 17 - EXPERIENCE 1

## TAUX D'ACIDES BILIAIRES A 18h30

CONTENU	LC	GCLC	DOC	CDC	HDC	C	5CLC
BILE mg/ml	TRACES	ETALON INTERNE	(2) 5,25 2,1-8,5	TRACES	TRACES	TRACES	-
PLASMA μg/ml	TRACES	-	(1) 5,16		-	(1) 1,21	-
ESTOMAC mg/g sec	-	TRACES	(2) 1,73 0,86-2,61		-	-	-
DUODENUM mg/g sec	-	-	+		-	-	-
JEJUNUM mg/g sec	-	-	(1) 6,24		(2) 11,70 9,28-14	(1) 0,38	
ILEON mg/g sec	-	-	-		-	-	-
CAECUM mg/g sec	-	-	-		-	-	-
COLON PROXIMAL mg/g sec	-	-	+		TRACES	-	-
COLON DISTAL mg/g sec	-	(1) 0,02	(3) 1,68 1,22-2,1		-	(3) 0,08 0,04-0,14	-
URINE μg/ml	+	-	TRACES		TRACES	TRACES	(2) 47,27 14-81,2

+ : Présence de l'acide indiqué mais non évalué

- : Absence de l'acide indiqué

: Acide biliaire non dosé

( ) : Nombre d'échantillons entrant dans la moyenne

TABLEAU N° 18 - EXPERIENCE 1

## TAUX D'ACIDES BILIAIRES A 21h30

CONTENU	LC	6CLC	DOC	CDC	HDC	C	3CLC
BILE mg/ml	(1) 0,05	ETALON INTERNE	(2) 3,18 2-4,4	TRACES	-	TRACES	TRACES
PLASMA µg/ml	TRACES	(1) 0,16	-		-	(1) 0,13	-
ESTOMAC mg/g sec	-	TRACES	TRACES		-	-	(2) 0,96 0,37-1,56
DUODENUM mg/g sec	-	-	1,59 s/estimé		-	-	-
JEJUNUM mg/g sec	-	-	(1) 37,21		-	-	-
ILEON mg/g sec	-	-	TRACES		-	(1) 0,13	-
CAECUM mg/g sec	-	-	-		-	-	-
COLON PROXIMAL mg/g sec	TRACES	TRACES	+		-	-	-
COLON DISTAL mg/g sec	-	-	TRACES		-	(1) 0,12	-
URINE µg/ml	+	+	(1) 1,75		+	-	(1) 11,99

- : Absence de l'acide indiqué  
+ : Présence de l'acide indiqué mais non évalué  
: Acide biliaire non dosé  
( ) : Nombre d'échantillons entrant dans la moyenne

II.2.2. EXPERIENCE 2

LIGATURE DU CANAL CHOLEDOQUE

### II.2.2.1. Mesures physiologiques

L'ensemble des résultats de cette expérience se trouve dans le tableau 19 et les courbes 3-4).

- l'évolution pondérale est négative ; la perte de poids est de 296 g à 702 g.

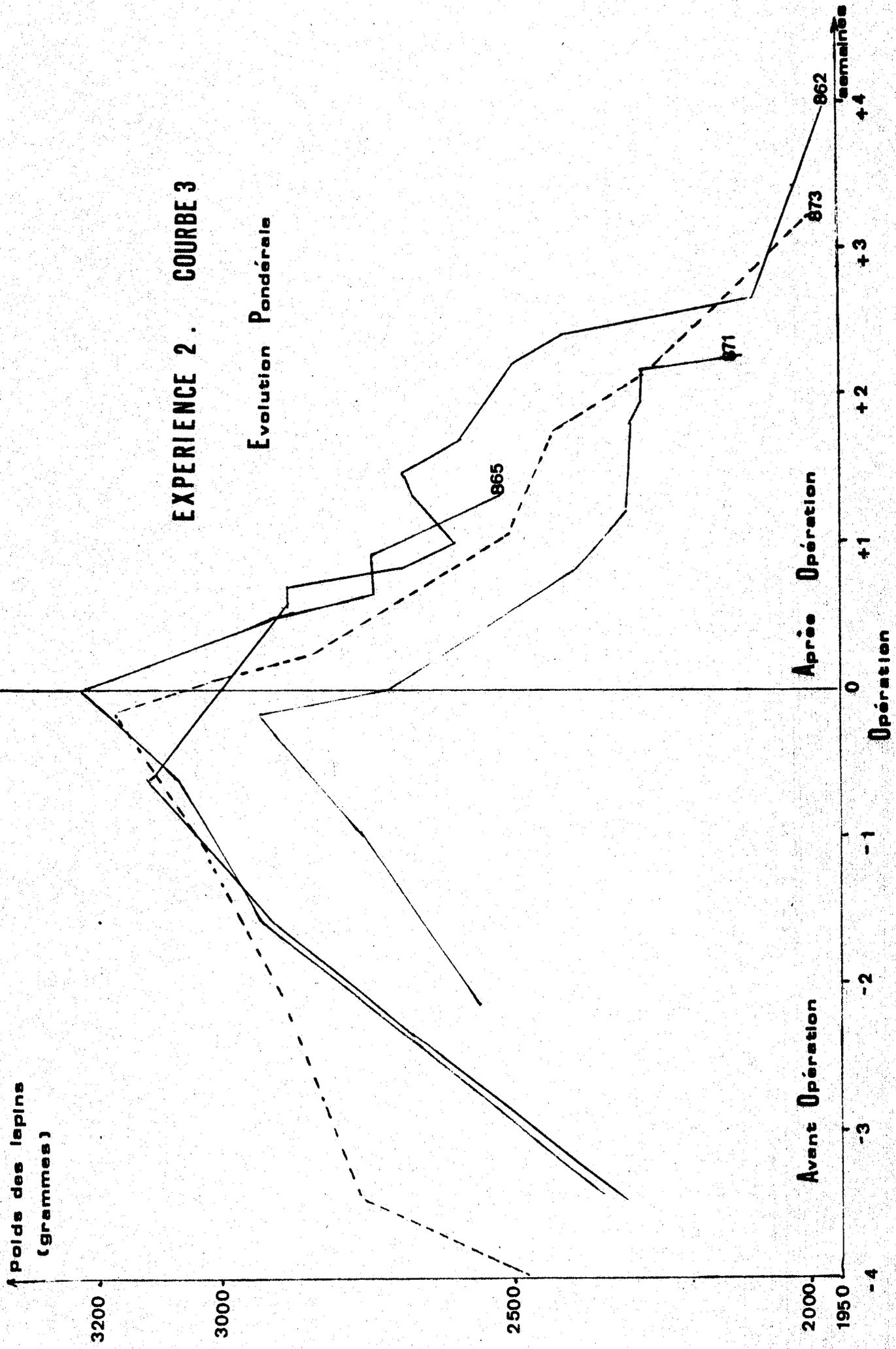
- l'évolution des consommations alimentaire et hydrique se traduit par une diminution importante.

- l'évolution des émissions de fèces dures, de fèces molles et d'urine : les lapins excrètent des fèces dures en faible quantité (20g/jour), il en est de même des fèces molles (10g/jour). Les fèces dures ont un aspect anormal : certaines sont blanches et de taille uniforme alors que d'autres sont grises, petites et de tailles variables. Ces deux sortes de fèces seront analysées distinctement pour évaluer l'aspect qualitatif et quantitatif de l'élimination des acides biliaires. Il est à noter aussi que certains lapins ont présenté une diarrhée après un jeûne stercoral (privation de caecotrophie) de 24 heures au 15<sup>e</sup> jour post-opératoire.

Enfin le lapin 873 n'a pu émettre que 5g/jour de fèces dures. Leur aspect et celui des caecotrophes est le même que celui des lapins précédents.

# EXPERIENCE 2. COURBE 3

Evolution Pondérale



poids des lapins (grammes)

Avant Opération

Après Opération

semaines

Opération

3200

3000

2500

2000

1950

-4

-3

-2

-1

0

+1

+2

+3

+4

865

871

873

862

# EXPERIENCE 2 . COURBE 4

## Evolution de la Consommation Alimentaire

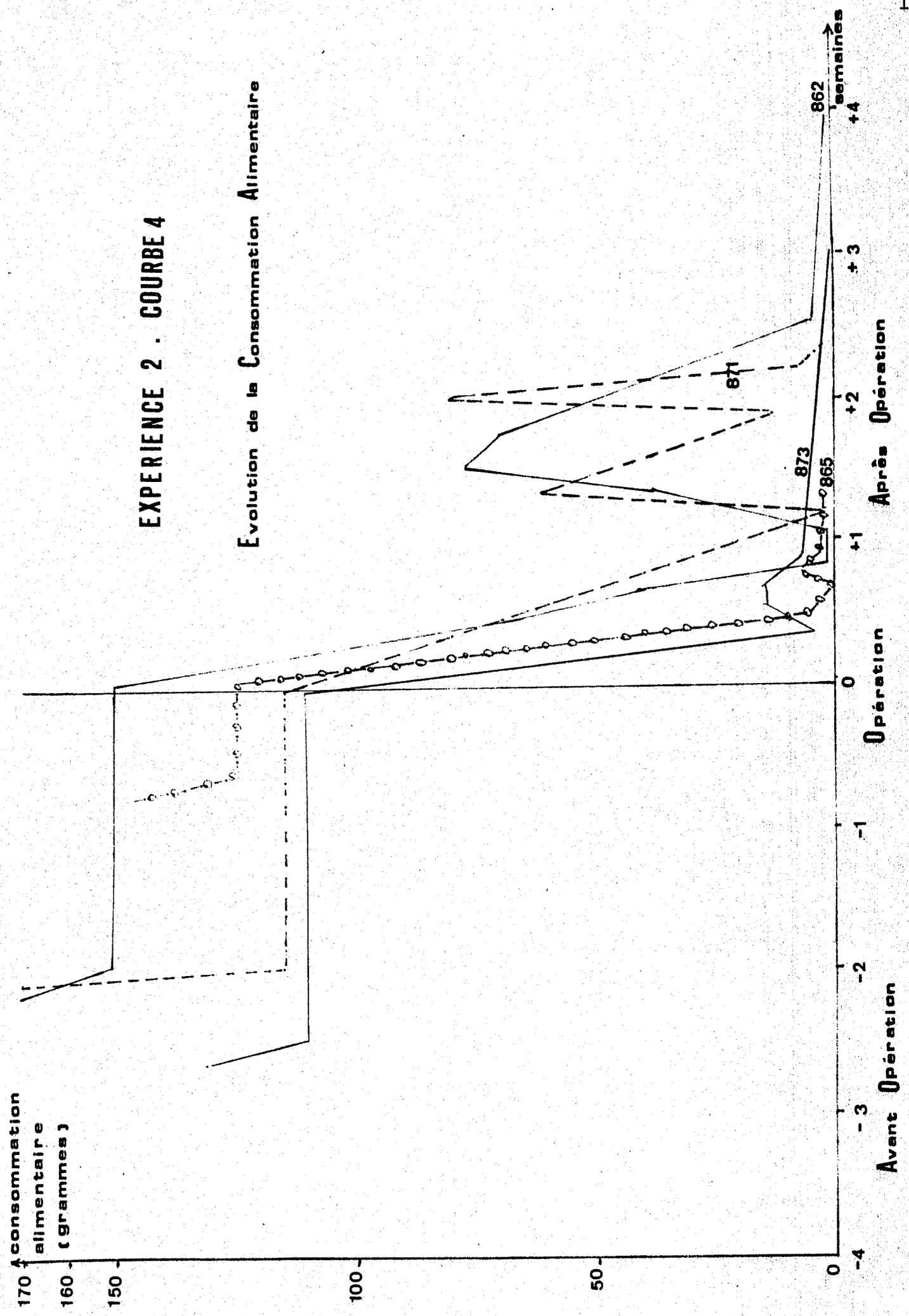


TABLEAU N° 19

RECAPITULATIF DES MESURES PHYSIOLOGIQUES

EXPERIENCE 2

N° des LAPINS	POIDS (g)		EMISSION FECES (en g)								Consommation Alimentaire	
	Au jour de l'opéra- tion.	A la fin de l'expé- rience.	M.Q. Avant opération				M.Q. Après opération				M.Q. en g. de M.F. g. de M.F. avant opération	M.Q. en g. de M.F. g. de M.F. après opération
			F.D.	M.S.%	M.F.	M.S.%	F.D.	M.S.%	M.F.	M.S.%		
862	2 974	1 980	90	53,8	83	33,2	13	79,1	10	79,9	164	37,5
865	3 232	2 530	73	72,2	46	32,4	10	41,6	08	60,2	142,5	4
871	2 731	2 115	62	61,1	92	33,7	17	74,4	18	85,9	136	28
873	3 068	2 006	86	44,8	35	35,5	05	90,9	00	00	122	7

M.Q. = Moyenne quotidienne

M.S. = Matière sèche

M.F. = Matière fraîche

F.D. = Fèces dures

F.M. = Fèces molles

#### II.2.2.2. Résultats d'autopsie

Sur 6 lapins choisis pour cette opération, 2 sont morts le lendemain de l'intervention (872 et 874), 4 ont survécu de 10 à 30 jours (voir tableau n° 20). Les résultats d'autopsie de ces 4 lapins sont :

- 862 et 873 : le foie est nécrosé et une stéatose importante s'y est installée. La vésicule biliaire est énorme et se présente comme une poche parfois aussi importante que l'estomac. Les canaux cholédoque et cystique ont un diamètre comparable à celui du duodénum, avec des parois épaisses.

- 865 : les mêmes lésions hépatiques sont observées . La vésicule biliaire est légèrement gonflée, mais les canaux biliaires sont volumineux et les parois très épaisses.

La cavité abdominale est remplie d'ascite dont nous avons recueilli environ 450 ml, de couleur brun verdâtre. Nous avons conservé un échantillon de l'ascite pour une analyse qualitative et quantitative en acides biliaires. La paroi et les organes abdominaux sont teints par ce liquide. La ligature est restée en place avec de très fortes adhérences conjonctives hépato-duodénales.

871 : Un lobe hépatique est complètement décomposé, renfermant une bouillie brunâtre (liquide de décomposition hépatique). La vésicule biliaire affaissée est remplie de ce même liquide.

## TABLEAU :20. EXPERIENCE 2

DUREES DE VIE POST-OPERATOIRES ET MORTALITE

N° 862	:	1 MOIS
N° 865	:	10 JOURS
N° 871	:	17 JOURS
N° 873	:	25 JOURS

+++++

### II.2.2.3. Résultats analytiques

#### II.2.2.3.1. Concentration en acides biliaires dans la bile :

Les résultats sont ceux d'échantillons de bile vésiculaire prélevés tous à l'autopsie. Le DOC est présent à la concentration de 5,12 mg/ml de bile, concentration voisine du taux moyen de cet acide dans la bile de lapins normaux (6,10 mg/ml de bile).

Dans cette expérience, nous avons déjà relevé la présence d'une ascite abdominale. Son analyse révèle une concentration faible de DOC : 0,39 mg/ml d'ascite et une teneur en HDC de 0,05 mg/ml d'ascite. Notons que cette faible concentration de DOC et d'HDC pourrait s'expliquer par une grande dilution (450 ml d'ascite au moins).

Nous déduisons que ce liquide a une composante biliaire qui sera discutée plus loin.

Constatons que la concentration en acides biliaires de la bile vésiculaire des lapins opérés est presque la même que celle des lapins normaux, mais le volume de la première citée est 20 fois plus élevé, la quantité totale en sels biliaires serait d'autant plus grande.

#### II.2.2.3.2. Concentration en acides biliaires plasmatiques

L'acide désoxycholique a une concentration de 1,42  $\mu\text{g/ml}$  de plasma des lapins expérimentaux alors que celui des témoins est de 0,43  $\mu\text{g/ml}$ .

figure: 8 . EXPERIENCE 2 . Acides Biliaires dans :

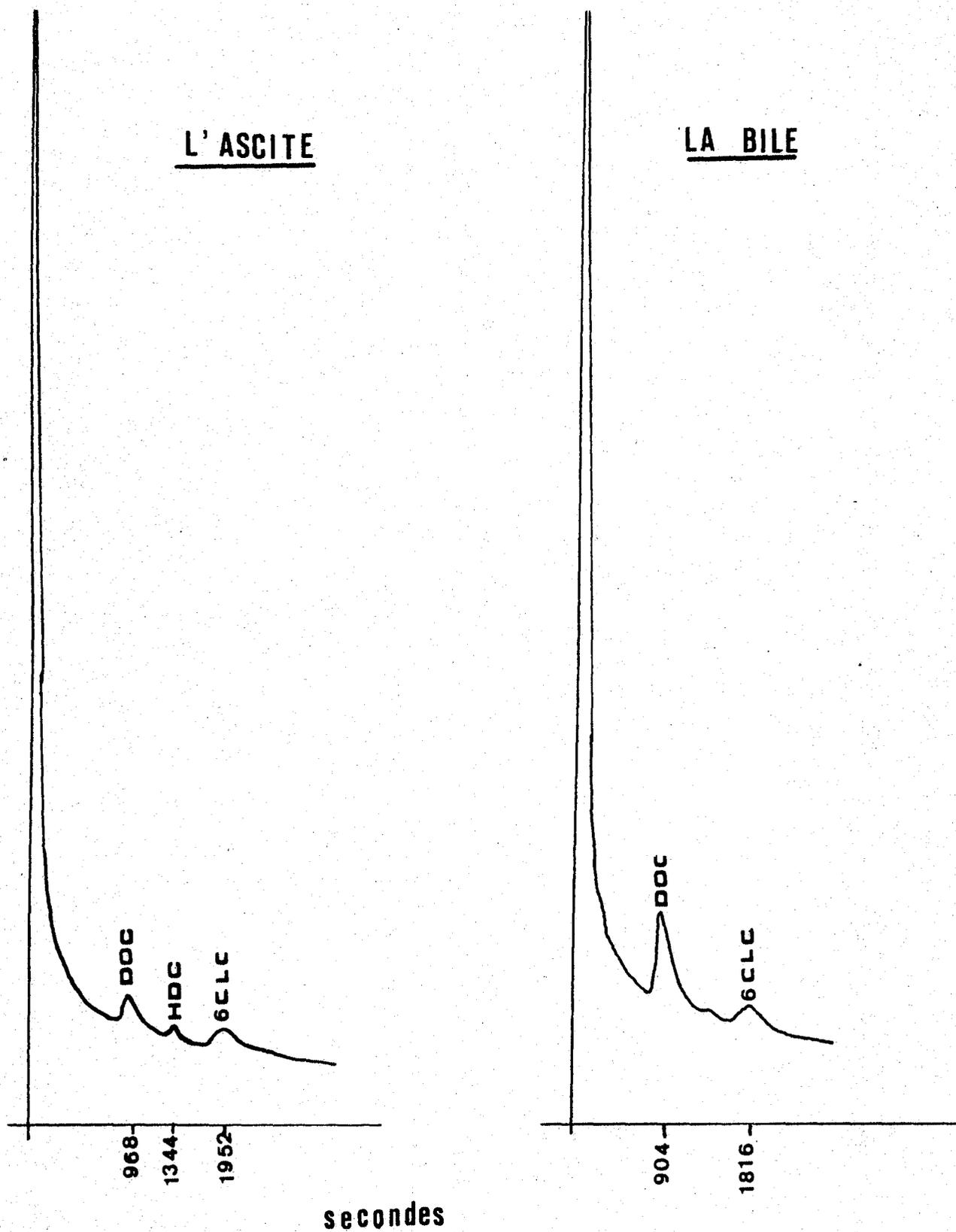
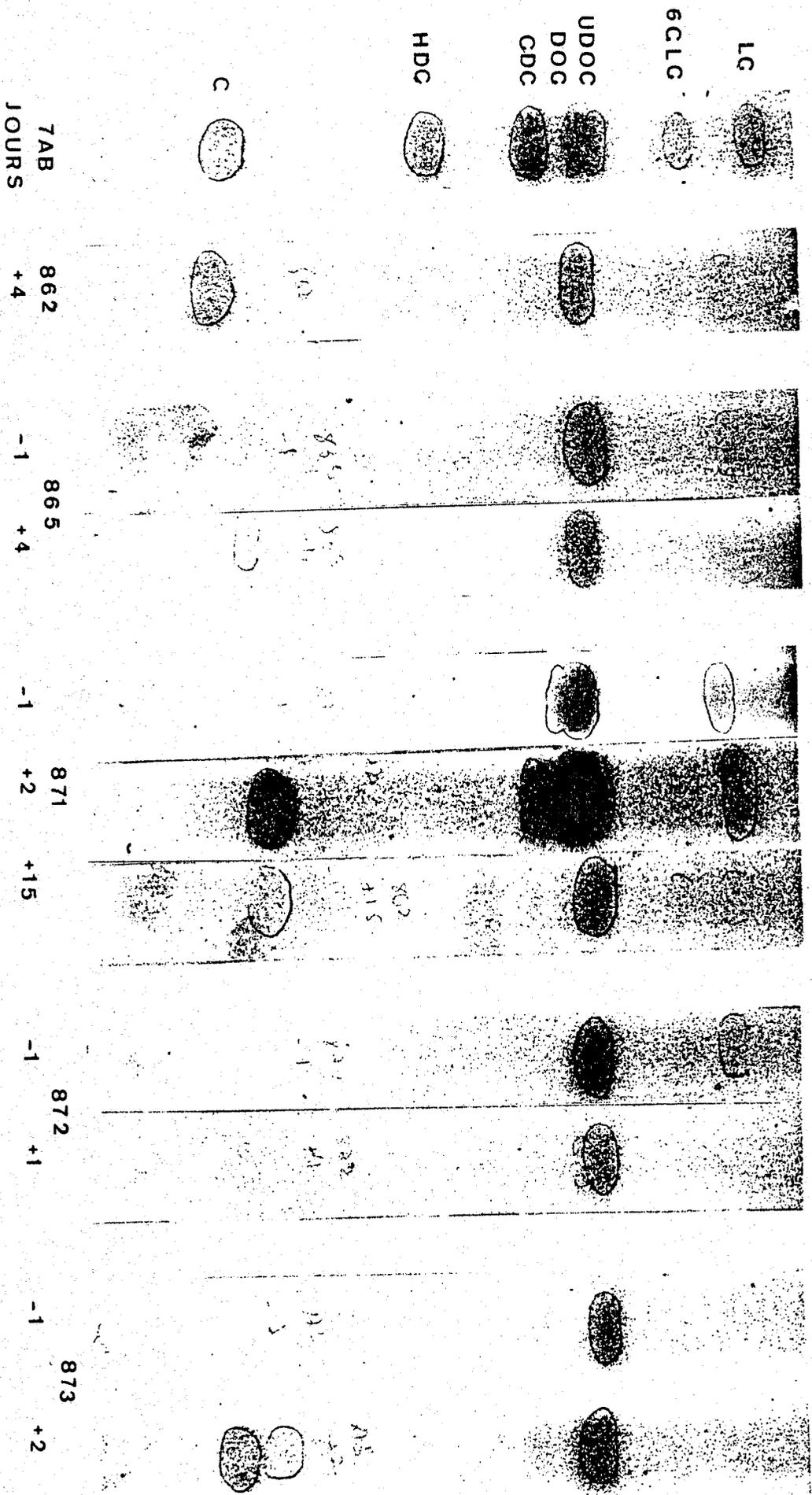


FIGURE 9 Expérience 2



Acides biliaires du plasma

L'acide cholique est présent dans le plasma des lapins expérimentaux avec une concentration de  $0,18 \mu\text{g/ml}$  alors que celle des témoins est de  $0,01 \mu\text{g/ml}$ .

Enfin on note la présence de 3 CLC, mais en très faible quantité ( $0,001 \mu\text{g/ml}$ ) (voir tableau n° 21)

*La ligature du canal cholédoque a ainsi provoqué une augmentation de la concentration plasmatique en DOC, de 3 fois celle du C, de 18 fois par rapport à celle du plasma des lapins normaux.*

#### II.2.2.3.3. Concentration en acides biliaires dans les fèces dures.

La concentration en DOC excrété dans les fèces dures des lapins expérimentaux est de  $0,15 \text{ mg/g}$  de matière sèche (M.S.) alors que celle des témoins est de  $0,29 \text{ mg/g}$  de M.S. Il est à noter que seules les fèces de 2 lapins sur 4 ont de l'acide DOC (les lapins 871 et 865).

L'acide LC n'est présent que dans les fèces du lapin n° 865 a une concentration de  $1,25 \text{ mg/g}$  de M.S. Ce qui est de même pour l'acide C chez le lapin 871, à une concentration de  $0,024 \text{ mg/g}$  de M.S.

L'acide 3 CLC est présent chez tous les lapins avec une concentration de  $2,40 \text{ mg/g}$  de M.S. Nous rappelons que les lapins 865 et 871 n'ont pas présenté les mêmes lésions que celles des lapins 862 et 873. Les fèces anormales décrites précédemment sont dépourvues d'acides biliaires.

TABLEAU N° 21 - EXPERIENCE 2 - TAUX D'ACIDES BILIAIRES AVANT ET APRES L'OPERATION

	LC	6 CLC	DOC	CDC	HDC	C	3CLC
BILE mg/ml	Témoins (4) 0,25 0,05-0,56	ETALON INTERNE	(9) 6,10 1,8-11,7			(1) 0,62	(1) 0,02
	Après opération	ETALON INTERNE	(1) 0,39		0,05	TRACES	-
mg/ml ASCITE ABDOMINALE	Après opération	TRACES	(5) 0,29 0,09-0,55		TRACES	TRACES	-
	Avant opération	TRACES	(2) 0,15 0,05-0,25	TRACES	(2) 0,66 0,63-0,68	(1) 0,001	(6) 2,40 1,9-2,9
FECES DURES mg/g sec	Après opération	(1) 1,25	(4) 1,02 0,7-1,8			(1) 0,024	(9) 2,99 0,2 - 7,4
	Avant opération	-	-				(3) 2,10 0,9-3,6
FECES MOLLES mg/g sec	Après opération	-	(3) 0,43 0,2-0,6				(1) 3,68
	Avant opération	TRACES	(2) 1,42 0,51-2,3			(2) 0,01 0,007-0,02	
PLASMA mg/ml	Après opération	-				(3) 0,18	(1) 0,001
	Avant opération	-				0,06-0,33	

- : Absence de l'acide indiqué  
( ): nombre d'échantillons entrant dans la moyenne

#### II.2.2.3.4. Concentration en acides biliaires dans les fèces molles.

L'acide DOC est absent dans les fèces molles des lapins opérés ; seul l'acide 3CLC y est présent avec une concentration de 3,68 mg/g de M.S., alors que celle-ci est de 2,10 mg/g de M.S., chez les témoins

#### II.2.2.4. Discussion

*La ligature du canal cholédoque et la rétention hépatique de la bile, chez le lapin a pour conséquence une détérioration importante et fatale de l'état général : baisse des consommations alimentaire et hydrique, asthénie, fèces dures anormales, grises, de petites tailles et diarrhéiques, perte de la pratique de la caecotrophie. Les lésions hépatiques sont spectaculaires : une vésicule biliaire 10 à 20 fois plus volumineuse qu'usuellement, canaux biliaires énormes et épais, nécrose importante du foie, présence d'ascite abdominale (près de 500 ml). Toutefois et malgré ces conséquences physiologiques et histologiques, un lapin a pu supporter cette intervention pendant un mois, quoique plusieurs autres espèces animales survivent dans ces limites de temps (travaux sur le rat par FRANCO et al, 1979).*

*L'analyse qualitative et quantitative des acides biliaires a montré les observations suivantes :*

*- Vu que les quantités d'acides biliaires dans la bile des lapins expérimentaux ont considérablement augmenté sans que la concentration ait changé, nous pouvons dire que la sécrétion des acides biliaires n'a pas été interrompue. Mais la présence de quantités significatives d'acides biliaires dits "secondaires" ne peut être expliqué, du moment où le cycle entérohépatique est arrêté "seraient-ils des témoins d'une pathologie hépatobiliaire grave".*

Dans le plasma, l'énorme quantité de cholate parait logique puisque cet acide est considéré comme "primaire" chez le lapin, donc synthétisé continuellement par le foie. La présence de DOC et d'HDC en grande quantité dans l'ascite abdominale du lapin n° 865, pourrait provenir de microfuites parenchymateuses à partir de la vésicule biliaire et des canaux biliaires distendus par le volume anormal ou par écoulement continu d'une sécrétion biliaire hépatique à travers des canaux biliaires déchirés.

L'ascite peut être expliquée par une hypertension portale.

La présence d'acides biliaires fécaux chez 2 lapins, mais avec une faible concentration pourrait s'expliquer par une perméabilité de la ligature : ce qui nous fait penser que nous aurions dû faire une double ligature et sectionner franchement le canal cholédoque. Notons enfin que les fèces molles ne contiennent pas d'acides biliaires sauf le 3 CLC qui serait absent dans les fèces molles des témoins. Une discussion sur la présence de cet acide se trouve dans l'expérience 1.

Cette expérimentation montre que la ligature du canal cholédoque, ainsi que la rupture du cycle entérohépatique est incompatible avec une survie prolongée de l'animal, ce qui n'est pas le cas d'une rupture de la sécrétion pancréatique (CATALA, 1978).

Nos résultats sont en désaccord avec ceux d'IVY et SCHMIDT, 1937 qui pensent que la vésicule biliaire a une faible capacité en volume, et que lors d'une interruption du cycle entérohépatique les parois des canaux restent minces, et la vésicule biliaire peu distendue, mais sont en accord avec ceux de FRANCO et al, 1979.

## II.2.3. EXPERIENCE 3

LIGATURES CONJOINTES DES CANAUX CHOLEDOQUE ET CYSTIQUE

Remarque préliminaire :

Etant donné que le système biliaire chez le lapin présente quelques particularités et que plusieurs canaux arrivent au cholédoque (voir chapitre I.1.1.), nous avons pensé qu'en ligaturant à la fois le canal cholédoque et le canal cystique, la bile ne pourrait pas remonter vers la vésicule biliaire qui se présenterait affaissée, ce qui n'est pas le cas dans l'expérience n° 2 où seul le canal cholédoque est ligaturé. Il est à noter que ces deux expériences auraient pu être mieux conduites si les canaux étaient entièrement sectionnés. Nos résultats<sup>ne</sup> doivent être interprétés qu'en fonction de ces conditions expérimentales et de la technique chirurgicale.

II.2.3.1. Mesures physiologiques

Nous n'avons pris que les résultats de lapins ayant survécu plus de 8 jours : le n° 870 (27 jours) et le n° 875 (8 jours). Ces résultats sont résumés dans le tableau n° 22 .

- l'évolution pondérale se traduit par une perte de 1142 g pour le lapin 870 et de 762 g pour le lapin 875, en 27 jours pour le premier et en 8 jours pour le second.
- l'évolution des consommations alimentaire et hydrique est pratiquement négative : le 875 n'a rien ingéré, alors que le 870 s'est remis à consommer du 7<sup>e</sup> jour jusqu'au 15<sup>e</sup> jour (48 g/jour) mais après il n'a plus consommé jusqu'au 27<sup>e</sup> jour.
- l'excrétion fécale suit la même évolution que la précédente. Les fèces sont diarrhéïques et peu nombreuses. L'urine moins foncée au début devient très brunâtre après les 5 premiers jours.

TABIEAU N° 22

RECAPITULATIF DES MESURES PHYSIOLOGIQUES

EXPERIENCE 3

N° des LAPINS	POIDS (g)		EMISSION FECES (en g)								Consommation Alimentaire	
	Au jour de l'opération...	A la fin de l'expérience.	M.Q. Avant opération		M.Q. Après opération		F.D.		F.M.		M.Q. en g. de M.F. avant opération	M.Q. en g. de M.F. après opération
			M.F.	M.S.%	M.F.	M.S.%	M.F.	M.S.%	M.F.	M.S.%		
870	3 331	2 185	78	58,0	08,5	88,5	/	/	/	/	141	17,7
875	3 362	2 600	83	63,5	DIARRHEE		DIARRHEE		DIARRHEE		153	02

M.Q. = Moyenne quotidienne  
M.S. = Matière sèche  
M.F. = Matière fraîche  
F.D. = Fèces dures  
F.M. = Fèces molles

### II.2.3.2. Résultats d'autopsie

Les lésions sont presque identiques à celles de l'expérience précédente (nécrose hépatique, vésicule biliaire énorme, canaux biliaires épaissis, stéatose et adhérences conjonctives hépato-duodénales).

### II.2.3.3. Résultats analytiques

#### II.2.3.3.1. Concentration en acides biliaires dans la bile

Il s'agit de la bile vésiculaire prélevée au moment de l'autopsie (voir tableau n° 23 et figures 10a,b).  
L'acide désoxycholique (DOC) est présent à la concentration moyenne de 2,67 mg/ml (6,10 mg par ml dans les biles des témoins).  
L'acide cholique (C) a une concentration moyenne de 0,39 mg/ml (0,62 mg par ml dans les biles des témoins).  
Quelques traces de LC, de CDC, d'HDC et de 3 CLC sont décelées.

#### II.2.3.3.2. Concentration en acides biliaires plasmatiques

La concentration en DOC plasmatique est plus élevée chez les lapins expérimentaux (17,40  $\mu\text{g/ml}$ ) que chez les témoins (6,35  $\mu\text{g/ml}$ ).  
L'acide cholique présente une concentration élevée (5,97  $\mu\text{g/ml}$ ) par rapport au plasma des lapins normaux où cet acide existe sous forme de traces. Le LC est lui aussi présent à la concentration de 0,04  $\mu\text{g/ml}$  alors qu'il est absent dans le plasma des témoins.

figure :10<sup>a</sup> EXPERIENCE 3 . Acides Biliaires dans la BILE

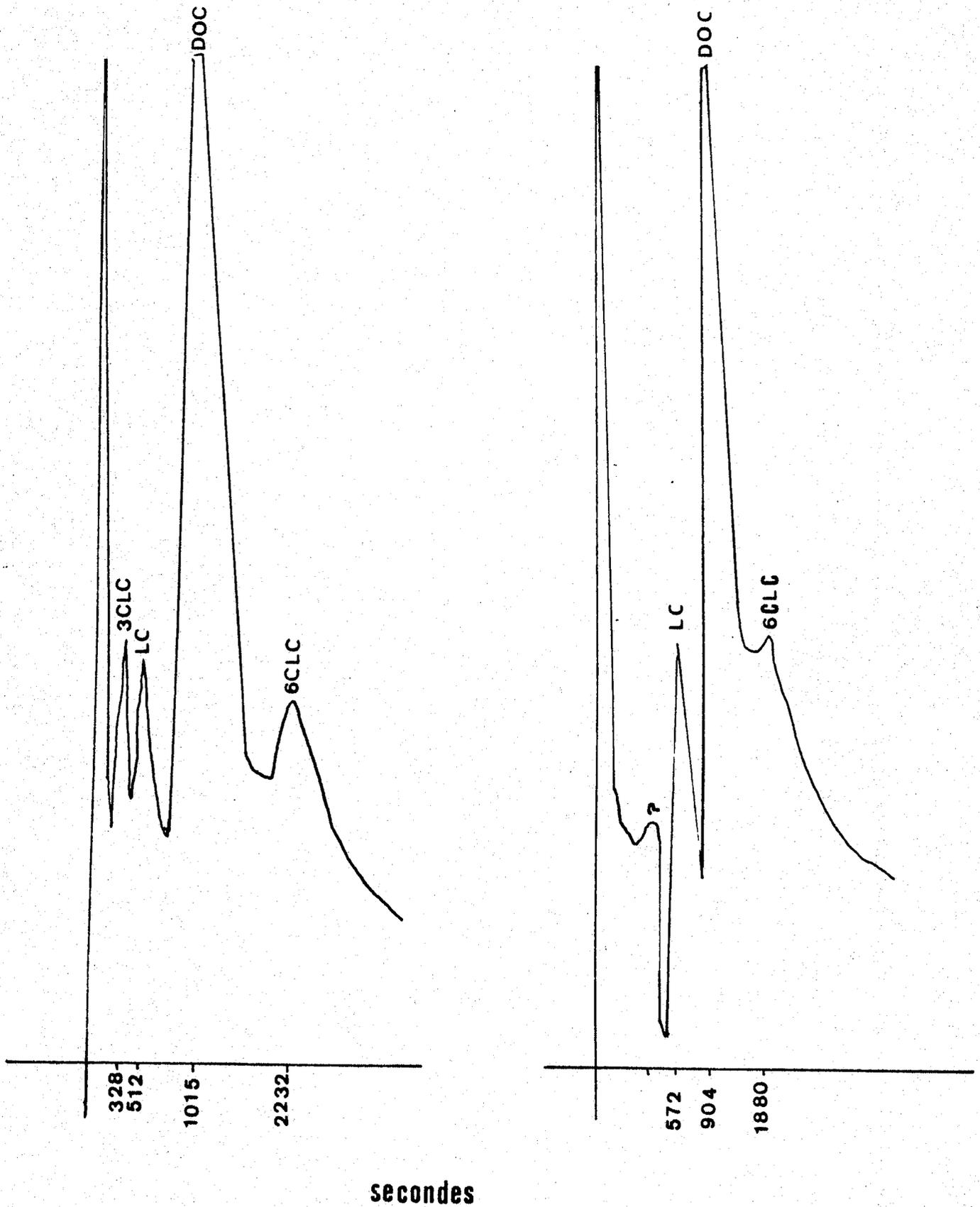


figure:10<sup>b</sup> EXPERIENCE 3. Acides Biliaires dans la BILE

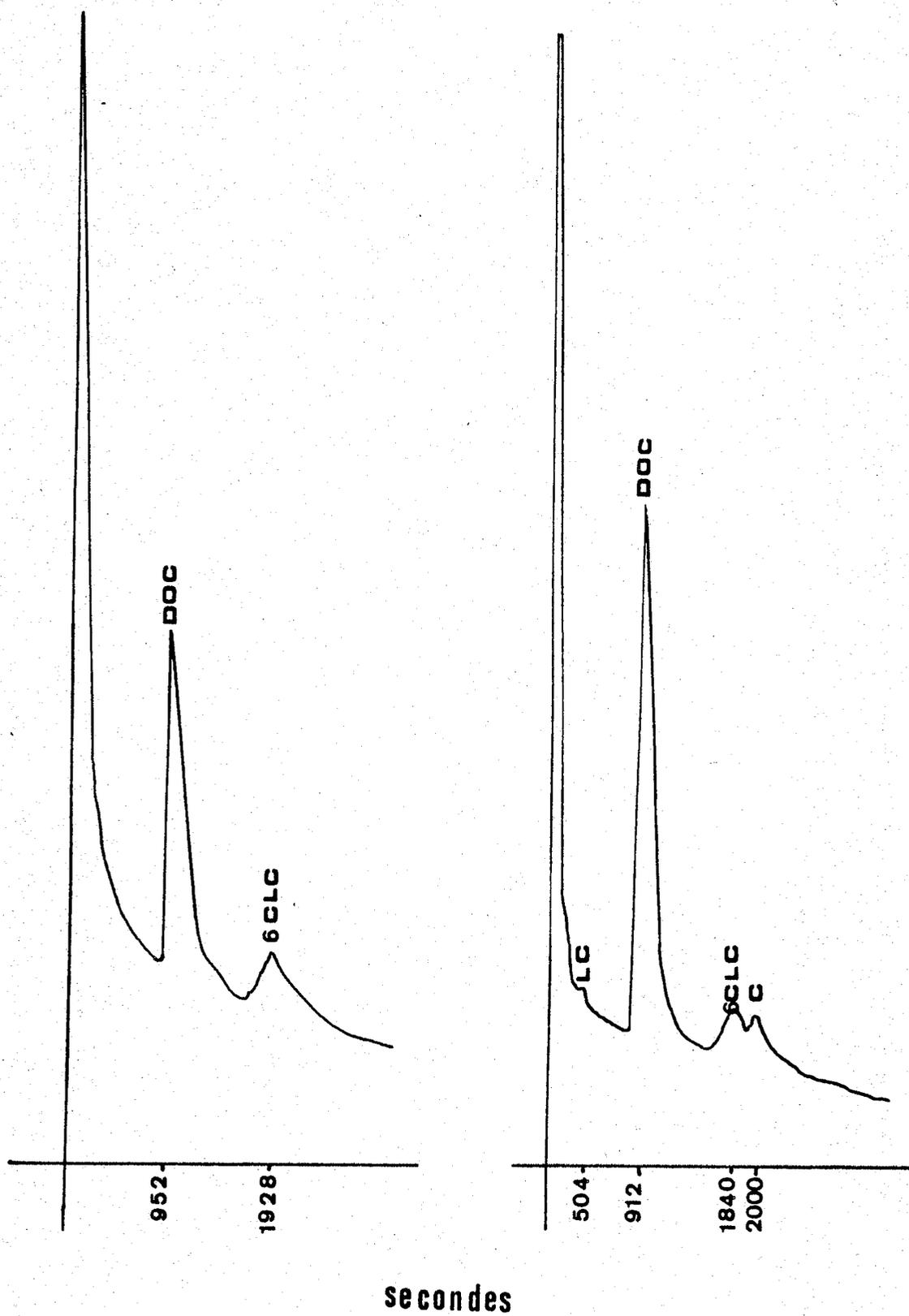


figure:11 . EXPERIENCE 3 . Acides Biliaires Plasmatiques

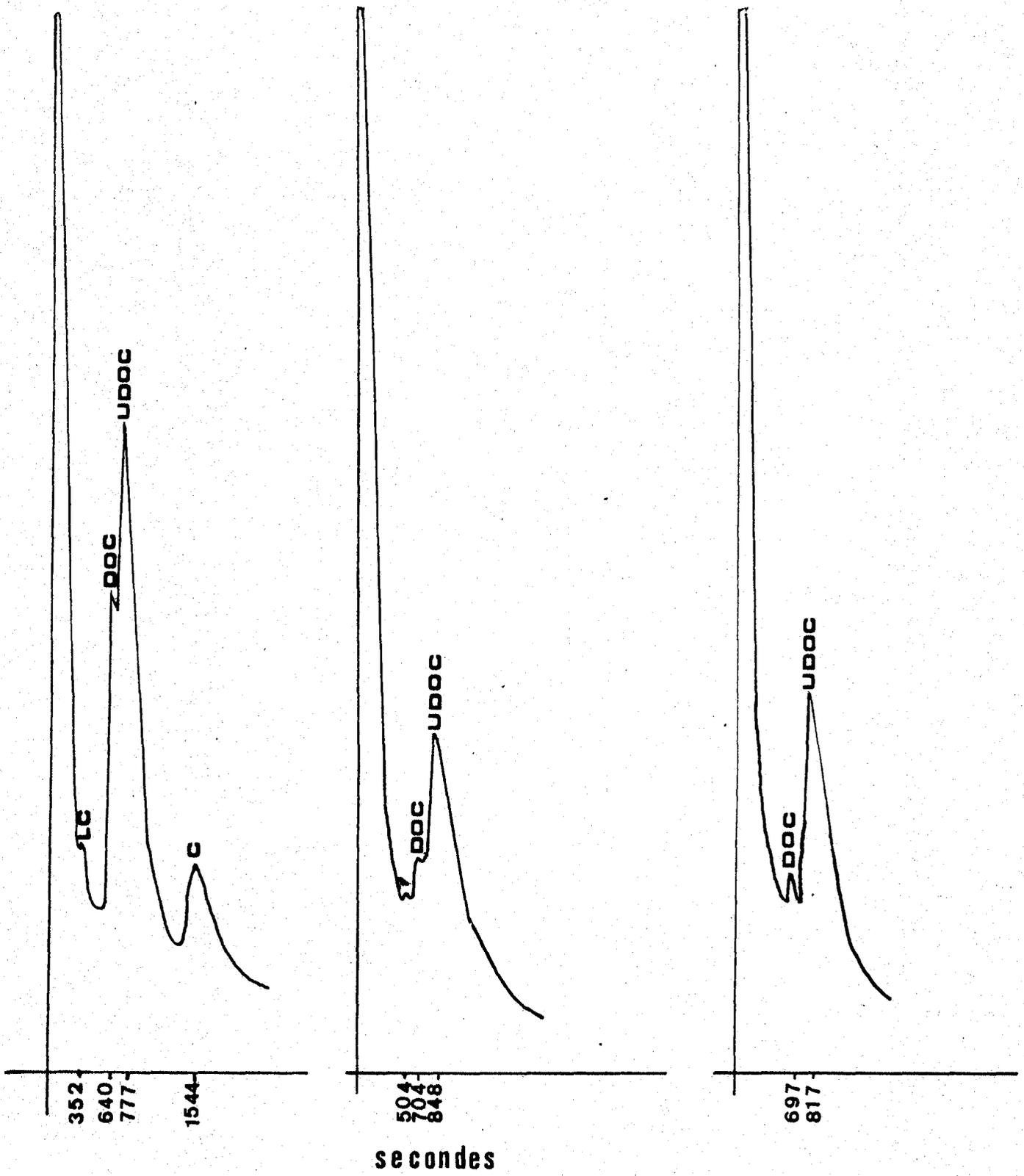
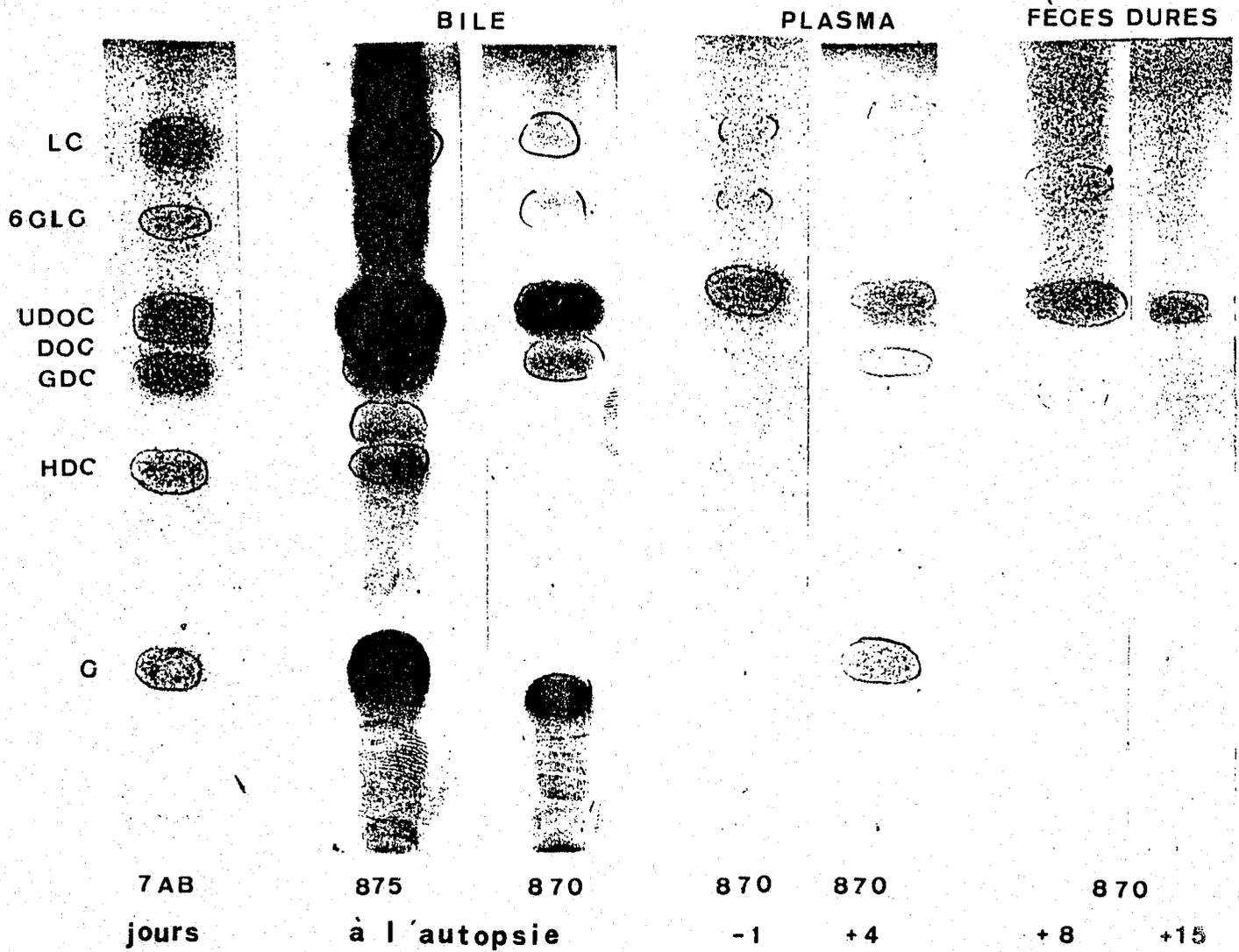


FIGURE 12 Expérience 3



**Acides biliaries avant et après opération**

Enfin le 6 CLC est absent dans le plasma des lapins expérimentaux (voir tableau n° 23 et figures 11 et 12.).

#### II.2.3.3.3. Concentration en acides biliaires fécaux

Au 15<sup>e</sup> jour post-opératoire, nous avons relevé la présence de LC, 6 CLC et de 3 CLC sous forme de traces (voir tableau n° 23 et figure 12).

#### II.2.3.4. Discussion

*Les conséquences des ligatures conjointes des canaux cholédoque et cystique sur la vie de l'animal sont identiques à celles où seul le cholédoque est ligaturé. Le fait que la vésicule biliaire soit énorme, suppose soit que la ligature du canal cystique s'est perméabilisée, sans qu'elle soit défaite complètement, soit qu'il existe une sécrétion par la vésicule biliaire.*

*Les conséquences biochimiques sont, elles aussi, relativement semblables à celles de l'expérience 2 (ligature du cholédoque).*

*Toutefois, il serait intéressant de reprendre cette expérimentation et de noter les conséquences physiologiques, anatomiques et biochimiques.*

TABLEAU N° 23 EXPERIENCE N° 3 - TAUX MOYEN D'ACIDES BILIAIRES AVANT ET APRES OPERATION

	LC	6CLC	DOC	CDC	HDC	C	3CLC
BILE VESICULAIRE mg/ml	TEMOIN (1 <sup>è</sup> expérience) 0,25 0,05-0,56	ETALON INTERNE	(9) 6,10 1,8-11,7	-	-	(1) 0,62	(1) 0,02
	APRES OPERATION	ETALON INTERNE	(3) 2,67 2,5 - 2,8	TRACES	TRACES	(1) 0,39	TRACES
FECES DURES mg/ 8 sec	TEMOIN (1 <sup>è</sup> expérience)	TRACES	(2) 0,78 0,57-0,99	-	(1) 1,45	(2) 0,06 0,009- 0,11	(5) 11,51 7,8-18,4
	APRES OPERATION	TRACES	-	-	-	-	0,003
P L A S M A μg/ml	AVANT OPERATION	(1) 0,13	(2) 6,35 2,23-10,5	-	-	-	-
	APRES OPERATION	(1) 0,04	(1) 17,40	-	-	5,97	-

- : absence de l'acide indiqué  
( ) : nombre d'échantillons entrant dans la moyenne.

## II.2.4. EXPERIENCE 4

DERIVATION BILIAIRE INTRADUODENALE TOTALE

ET CONTINUE

#### II.2.4.1. Mesures physiologiques

L'ensemble des résultats de cette expérience se trouve dans les tableaux 24, 25 et les courbes 5-6-7-8.

##### - Evolution pondérale

Sur les 5 lapins ayant survécu entre 14 jours et 6 mois (n° 829, 830, 833, 844 et 845), seul un animal (n° 845) n'a pas gagné de poids après une période de convalescence post-opératoire.

##### - Evolution de la consommation alimentaire

Sans atteindre la consommation initiale (pré-opératoire) 3 lapins (N° 844, 830 et 833) ont ingéré une quantité significative, les 2 autres lapins (829 et 845) n'ingèrent que quelques grammes d'aliment.

##### - Evolution des émissions de fèces dures et d'urine

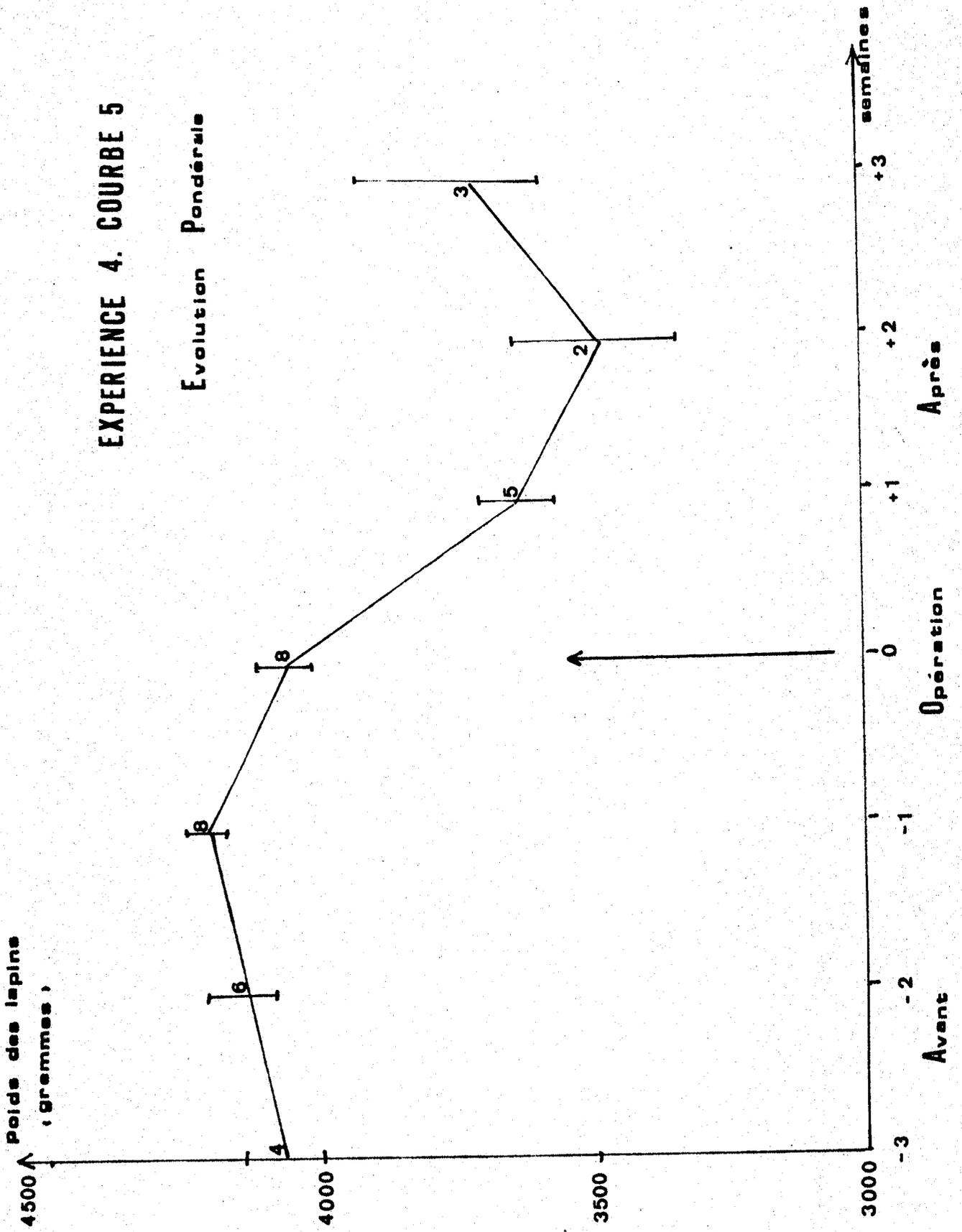
Elle est identique à la précédente ; cependant une particularité est à relever, quant aux n°s 830 et 833, dont l'état général est satisfaisant mais dont l'émission urinaire est faible.

#### II.2.4.2. Résultats d'autopsie

Sur 8 lapins opérés, 3 sont morts 3 jours après l'opération (N° 838, 839 et 842), 3 ont survécu de 14 jours à 27 jours et 2 ont été sacrifiés à plus de 6 mois (voir tableau n° 26).

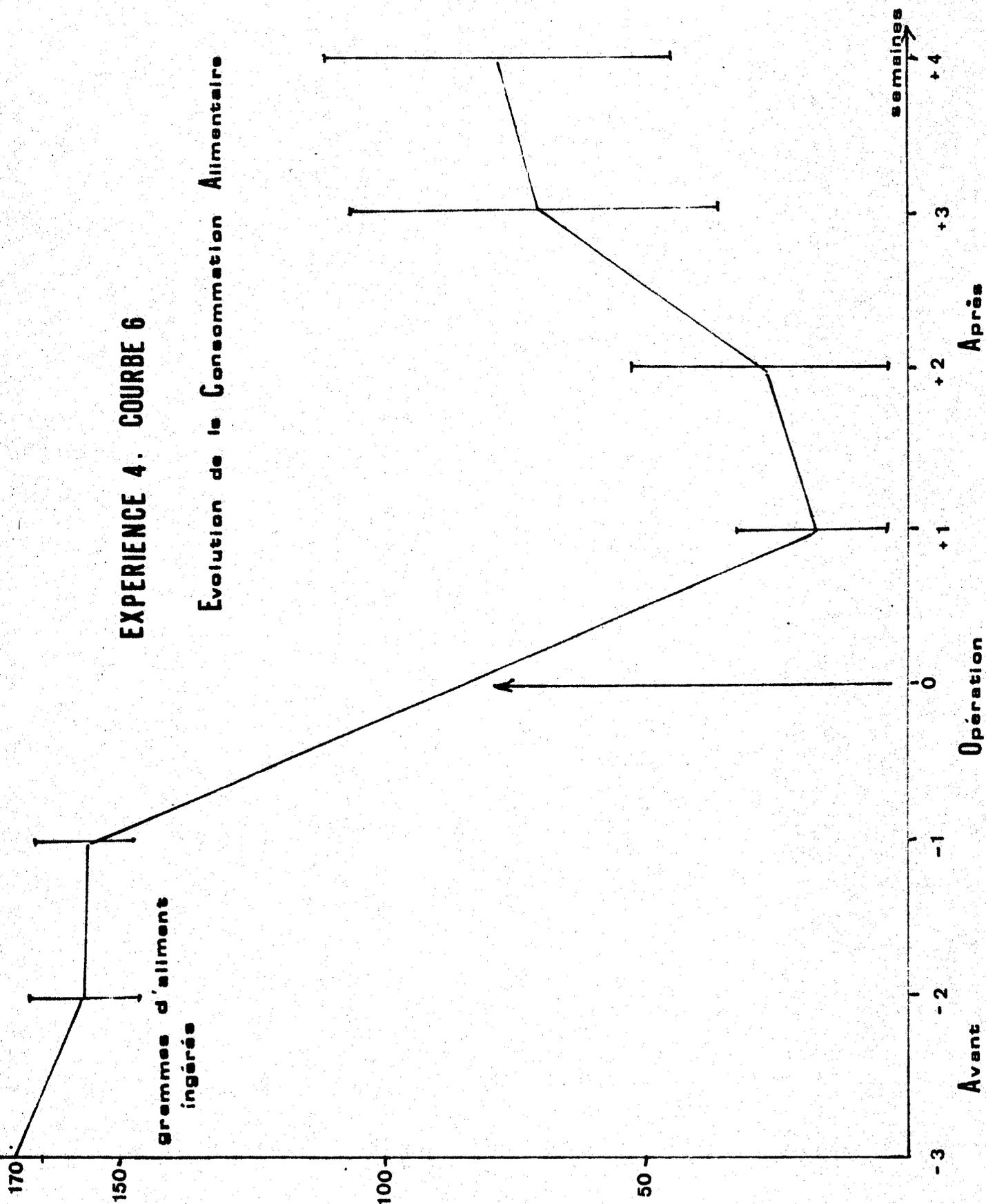
# EXPERIENCE 4. COURBE 5

Evolution Ponderale



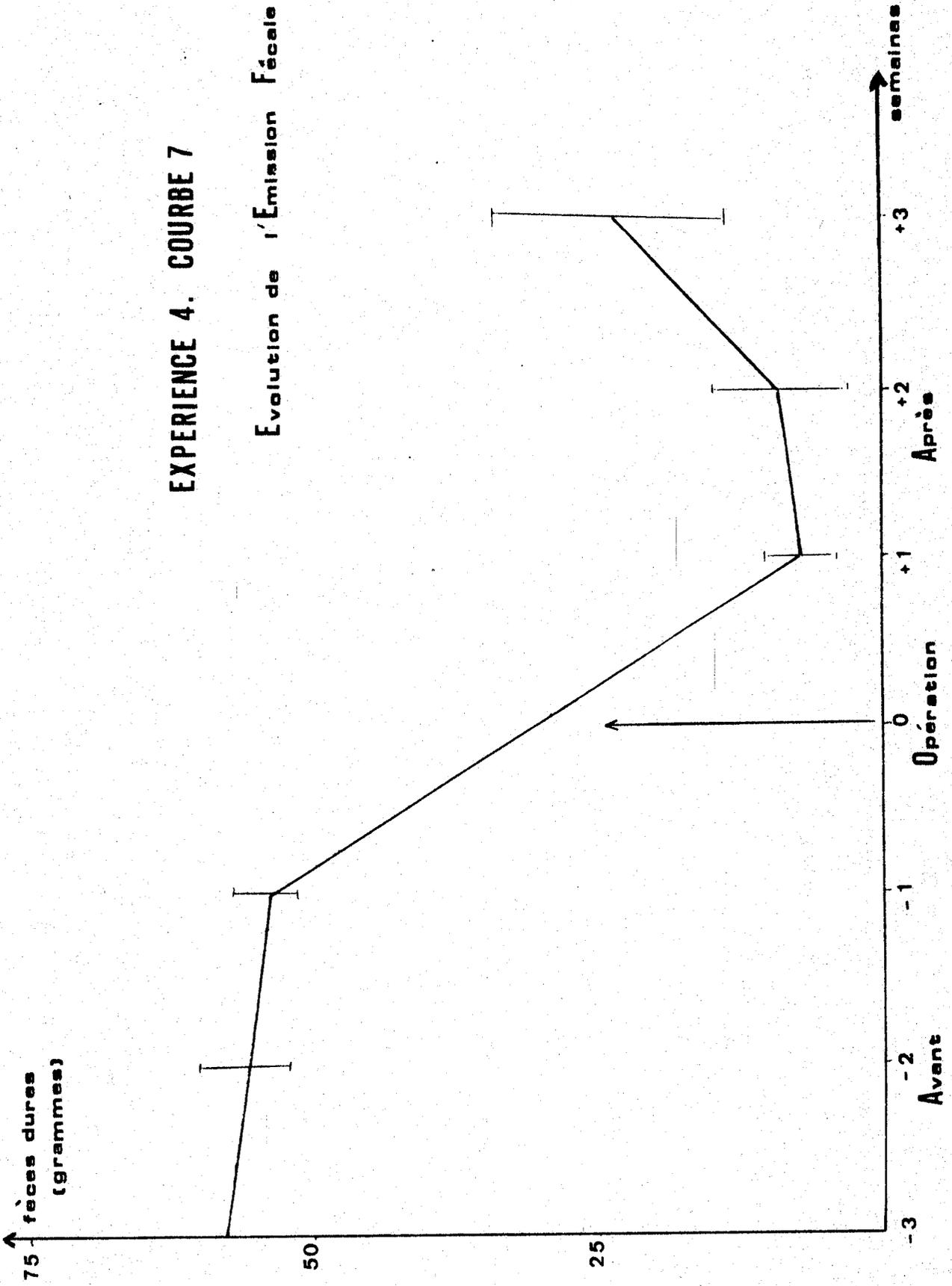
# EXPERIENCE 4. COURBE 6

Evolution de la Consommation Alimentaire



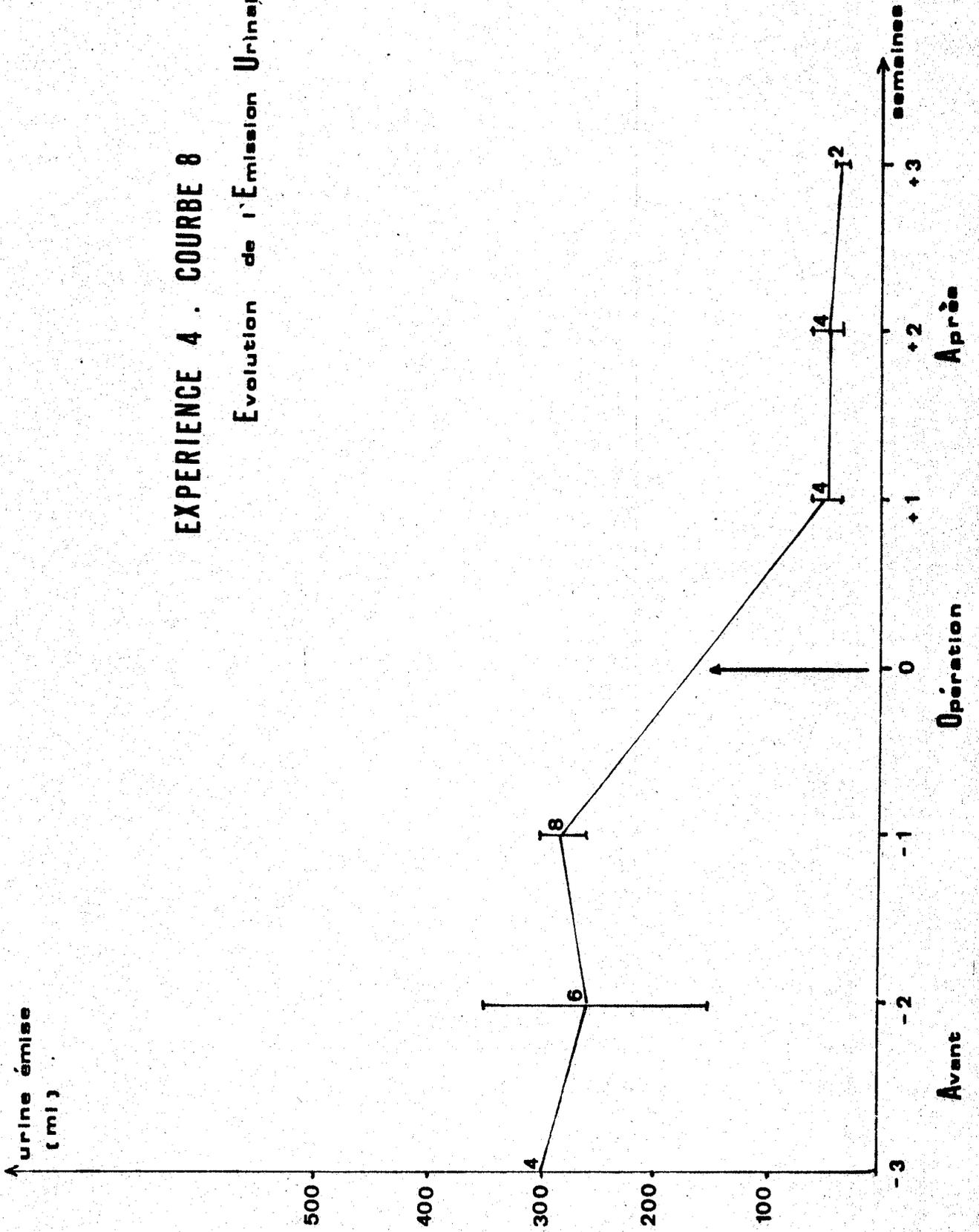
### EXPERIENCE 4. COURBE 7

Evolution de l'Emission Fécale



### EXPERIENCE 4 . COURBE 8

Evolution de l'Emission Urinaire



Avant

Opération

Après

semaines

RECAPITULATIF DES RESULTATS AVANT ET APRES L'OPERATION

Tableau N° 24

EXPERIENCE 4

P O I D S (g)	VOLUME URINAIRE (ml)		EXCRETION		FECALÉ (g)		CONSUMMATION ALIMENTAIRE (g)							
	Au jour de l'opération	A la fin de l'expérience ou la mort.	M.Q. avant l'opération	M.Q. après l'opération	M.Q. avant l'opération	M.Q. Après l'opération	M.F.	M.S.	M.F.	M.S.	M.Q. avant l'opération	M.Q. après l'opération	M.F.	M.S.
829	4 127	3 346	276	44	91	55,3	4	3,2	179	163,6	2	1,56		
830	3 858	4 145	259	68	74,1	49	43	29	142	130,5	116,3	106,7		
833	4 086	3 496	199	46	86	60,3	9,93	8	184	168,3	28	25,3		
844	3 964	3 613	254	28	87	57,4	19	13,3	195,2	178,6	43	39,4		
845	4 018	3 376	267	75	78	58,1	5	3,5	172,5	158,1	2,5	2,2		

M.S. = Matière sèche  
M.F. = Matière fraîche  
M.Q. = Moyenne quotidienne

GAIN MOYEN ET INDICE DE CONSOMMATION

Tableau n° 25

- E X P E R I E N C E 4 -

CMQ = Consommation Moyenne Quotidienne (g)

GMQ = Gain Moyen Quotidien (g)

IC = Indice de Consommation

N° DES LAPINS	AVANT OPERATION	NOMBRE DE JOURS DE RECUPERATION	APRES OPERATION
829	CMQ = 163,59 GMQ = 7 IC = +23,37 du 15 au 29 avril	07 JOURS	CMQ = 1,56 GMQ = -63,6 IC = -0,02 du 07 mai au 14 mai
830	CMQ = 130,5 GMQ = 15,6 IC = +8,37 du 15 au 29 avril	07 JOURS	CMQ = 106,7 GMQ = 20,48 IC = +5,21 du 07 mai au 28 mai
833	CMQ = 168,3 GMQ = -34,8 IC = -4,84 du 15 au 20 avril	06 JOURS	CMQ = 25,3 GMQ = -5,91 IC = -4,28 du 26 avril au 28 mai
844	CMQ = 178,6 GMQ = -7,38 IC = -24,20 du 15 au 28 avril	05 JOURS	CMQ = 39,4 GMQ = 5,19 IC = +7,59 du 03 au 19 mai
845	CMQ = 158,1 GMQ = -42,20 IC = -3,73 du 15 au 20 avril	06 JOURS	CMQ = 2,2 GMQ = -32 IC = -0,07 du 26 avril au 03 mai

Le n° 844 a eu une mort subite au 27<sup>e</sup> jour post-opératoire, alors que l'évolution favorable de son état général se faisait rapidement. On remarque une légère dégénérescence du foie, insuffisante à elle seule pour expliquer cette mort brutale ; il nous semble que la dérivation biliaire n'est pas impliquée d'une manière directe.

Les lapins 829 et 845 présentent des lésions de dégénérescence graisseuse du foie et d'ulcère duodéal perforé, ainsi qu'une légère distension de la vésicule biliaire.

### II.2.4.3. Mesures analytiques

#### II.2.4.3.1. Concentration en acides biliaires dans la bile

Toutes les biles ont été prélevées au sacrifice ou à l'autopsie. Nous avons pris les résultats de l'expérience n° 1 pour les taux d'acides témoins.

Seul l'acide désoxycholique (DOC) est présent, mais à une concentration faible (1,13 mg/ml de bile) par rapport à celle des témoins (6, 0 mg/ml de bile).

Des traces de lithocholate (LC) et de cholates sont décelées en C.C.M. mais non dosables en C.P.G. (voir tableau 27 et figure 12 ).

Cette expérience semble montrer que la dérivation biliaire intra-duodénale, totale et continue chez le lapin, provoque une diminution de l'acide désoxycholique (DOC) dans la bile vésiculaire. Rappelons que chez cet animal, l'acide DOC représente 80 à 90 % des acides biliaires totaux de la bile.

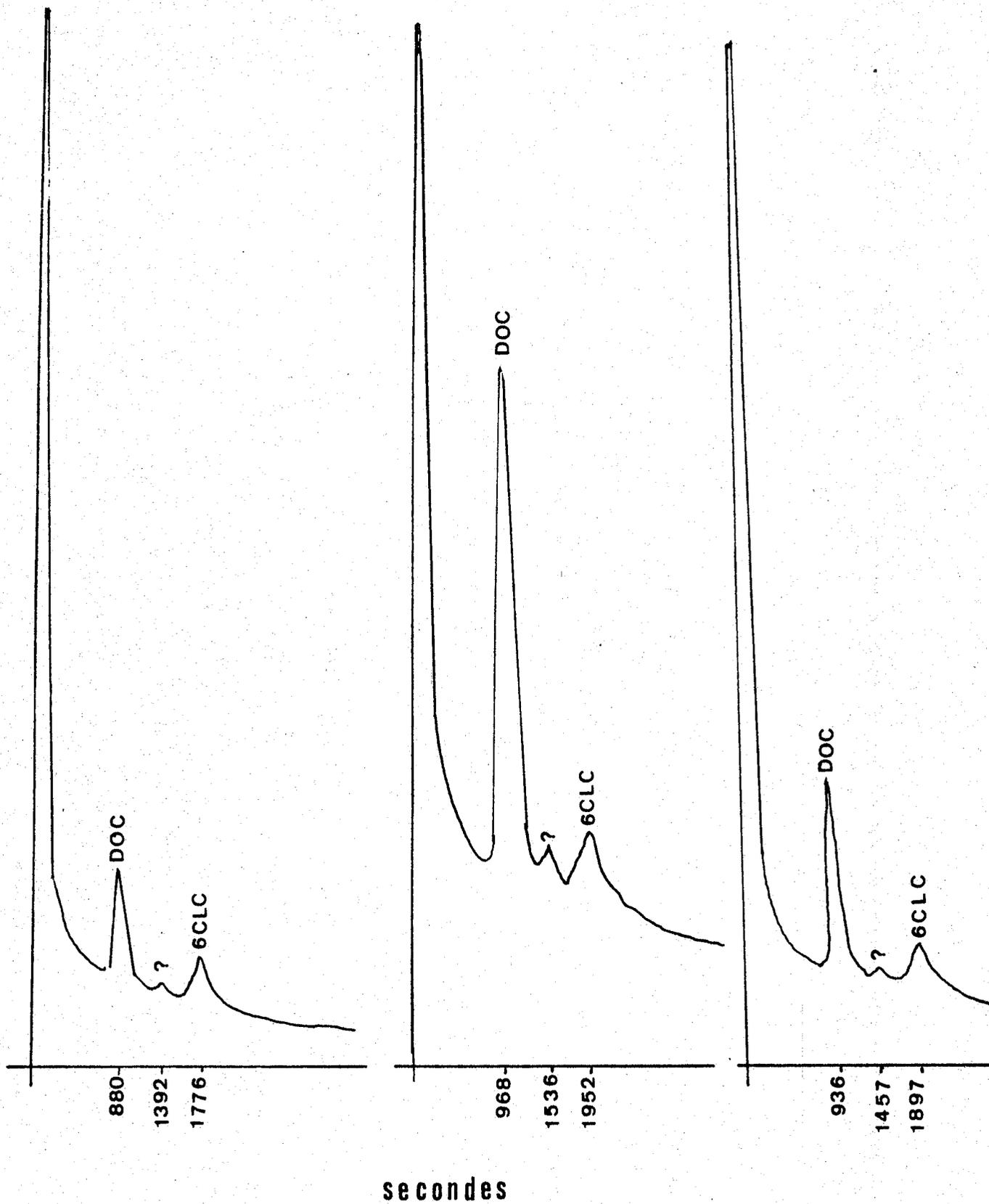
EXPERIENCE 4

DUREES DE VIE POST-OPERATOIRES ET MORTALITES

TABLEAU N° 26

N° DES LAPINS	DUREE DE VIE POST-OPERATOIRE ET OBSERVATIONS
829	17 JOURS
830	Plus de 6 mois, Sacrifié
833	Plus de 6 mois, Sacrifié
842	3 JOURS
844	27 JOURS
845	14 JOURS

figure:12. EXPERIENCE 4 . Acides Biliaires dans la BILE



#### II.2.4.3.2. Concentration en acides biliaires dans les fèces dures.

La moyenne de la concentration en acide DOC dans les fèces dures avant l'opération est de 0,11 mg/g de M.S., alors que celle observée après l'opération est de 0,20 mg/g de M.S. (tableau n°27 et figure 13).

Il apparaît donc que l'excrétion fécale de l'acide DOC des lapins ayant subi une dérivation biliaire intraduodénales est 2 fois plus élevée que celle des lapins normaux.

D'autres acides biliaires sont présents après l'opération :

l'acide hyodésoxycholique (HDC) à une concentration de 2,07 mg par g de M.S., alors que chez les lapins normaux il est absent.

L'acide cholique présente une concentration de 0,01 mg/g M.S.

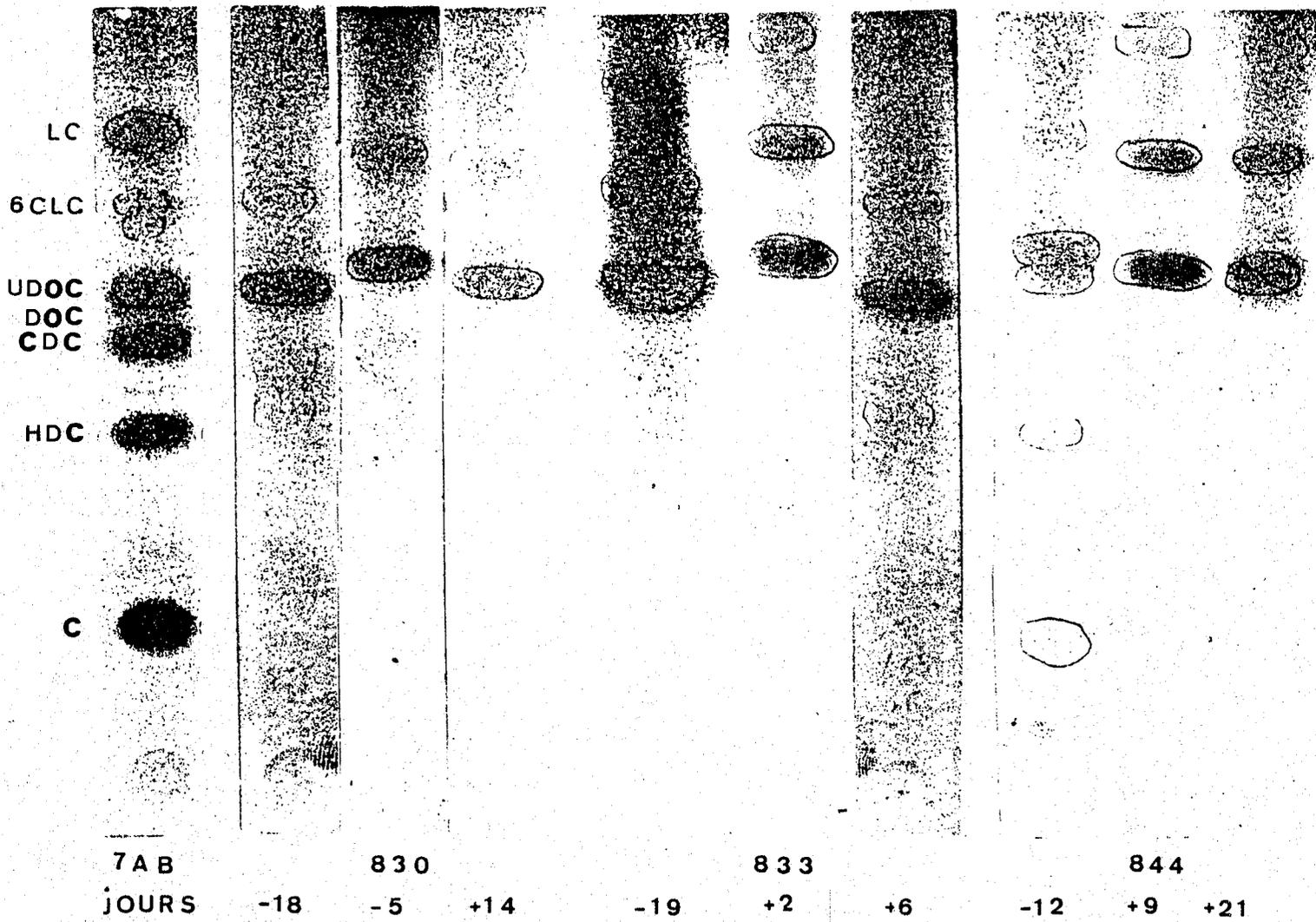
et l'acide déhydrolithocholique (3 CLC) 1,86 mg/g M.S. Les concentrations de ces 2 derniers acides sont assez proches de celles des lapins normaux, quoique celle du 3 CLC est en augmentation continue au cours du temps post-opératoire.

#### II.2.4.3.3. Concentration en acides biliaires urinaires

Comme les biles, les urines ont été prélevées au sacrifice ou à l'autopsie. L'acide DOC est présent dans l'urine des lapins opérés et sa concentration est de 1,23  $\mu$ g/ml d'urine alors que celle des témoins est environ 2 fois plus élevée (2,11  $\mu$ g/ml d'urine).

L'acide déhydrolithocholique (3 CLC) est présent dans l'urine des lapins opérés avec une concentration de 6,01  $\mu$ g/ml d'urine, 3 fois moins élevée que celle des animaux normaux (18,37  $\mu$ g/ml d'urine).

FIGURE 13 Expérience 4



**Acides biliaires des fèces dures**

figure :14 . EXPERIENCE 4 . Acides Biliaires dans l'urine

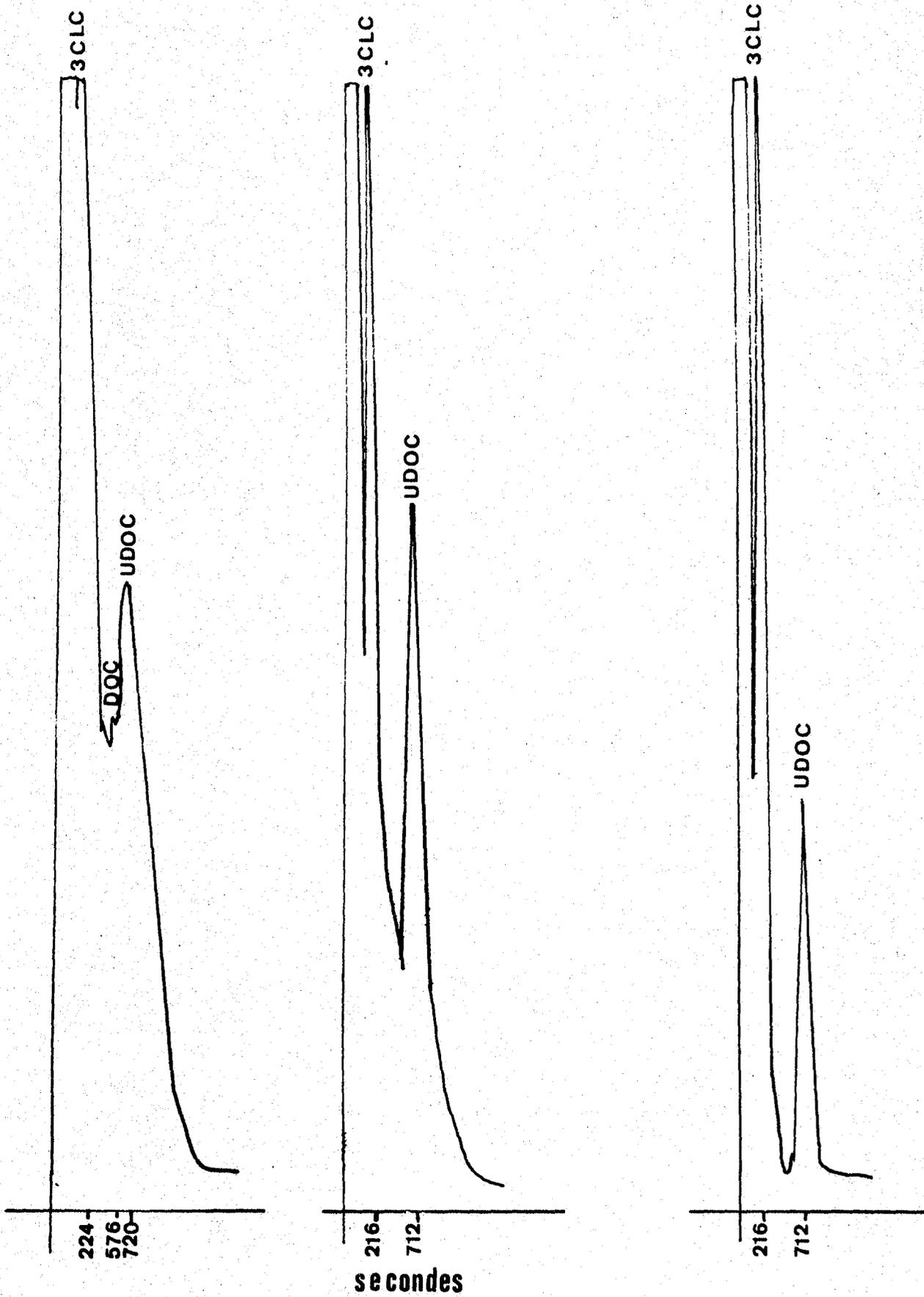


TABLEAU N° 27 - EXPERIENCE N° 4 - TAUX MOYEN D'ACIDES BILIAIRES AVANT ET APRES OPERATION

	LC	6CLC	DOC	CDC	HDC	C	3CLC
B I L L E VESICULAIRE mg / ml	T E M O I N S (1 <sup>e</sup> expérience) 0,25 0,05-0,56	ETALON INTERNE	(9) 6,10 1,8-11,7	-	-	(1) 0,62	0,02
	APRES OPERATION	ETALON INTERNE	(3) 1,13 0,5-1,6	-	-	TRACES	-
	AVANT OPERATION	TRACES	(3) 0,11 0,05-0,20	-	-	TRACES	(4) 2,05 0,21-4,12
F E C E S D U R E S mg / g sec	APRES OPERATION	TRACES	(4) 0,20 0,04-0,38	-	(1) 2,07	(1) 0,01	1,86 0,20-4,54
	T E M O I N S (1 <sup>e</sup> expérience)	TRACES	(4) 2,11 1,04-3,58	-	-	-	(9) 18,37 1,16-81,2
U R I N E μg / ml	APRES OPERATION	-	(1) 1,23	TRACES	TRACES	TRACES	(3) 6,01 5,03-7,79
	T E M O I N S (1 <sup>e</sup> expérience)	-	(1) 1,23	TRACES	TRACES	TRACES	(3) 6,01 5,03-7,79

- : Absence de l'acide indiqué

( ) : Nombre d'échantillons entrant dans la moyenne

Enfin, on note la présence sous formes de traces en C.C.M., des acides C, CDC et HDC, alors qu'ils sont absents chez les lapins normaux. Par contre l'acide lithocholique (LC) est absent chez les lapins expérimentaux alors que chez les témoins, sa concentration est très significative 1,30 mg/ml d'urine (voir tableau n°27 et figure 14).

#### II.2.4.4. Discussion

##### Dérivation biliaire continue et totale, intraduodénale

*A notre connaissance, aucune expérience similaire n'a été publiée. L'intérêt qu'elle pourrait porter est celui de la curiosité de comprendre mieux les phénomènes biochimiques et digestifs, les mécanismes d'absorption, l'aspect qualitatif et quantitatif de la microflore, au niveau de cette portion duodénale (35 cm entre le sphincter d'ODDI et l'embouchure du canal pancréatique).*

*Dans ce travail nous avons essayé de répondre à la première question qu'on s'est posée. Est-ce que cette dérivation est compatible avec la vie de l'animal ? Au vu des résultats et quoique certains lapins soient morts après 14 et 27 jours de survie, 2 lapins ont vécu plus de 6 mois, ce qui nous laisse penser que cette modification de l'appareil digestif que nous avons mise en place est compatible avec la vie de l'animal. De cette constatation, on peut se demander quels sont les mécanismes de compensation et d'adaptation mis en jeu par cet animal.*

*L'étude faite par CATALA en 1978 sur le lapin, montre que la fonction pancréatique apparaît d'une importance très limitée, et son exclusion est largement compensée par une microflore abondante et particulièrement adaptée aux phénomènes de digestion. Notre expérimentation, ainsi que celle qui vient d'être citée font ressortir une importance des fonctions digestives*

postérieures (caecum et c<sup>o</sup>lon) susceptibles, peut-être de compenser les déficiences ou les anomalies des parties antérieures (estomac et intestin grêle) et cela par la présence d'une microflore abondante, que l'on ne connaît toujours pas assez. D'autres travaux et notamment par GALLOUIN en 1979 tendent à le prouver, en montrant que l'ablation du c<sup>o</sup>lon proximal est beaucoup plus conséquente qu'une expérimentation au niveau de l'intestin grêle.

Une étude sur les modifications de la digestion et de l'absorption des lipides serait souhaitable, à la suite de cette expérimentation.

Les conséquences sur le cycle entero-hépatique et sur le taux des acides biliaires sont :

- la bile des lapins expérimentaux est moins riche en acides biliaires : 4 fois moins d'acide DOC que <sup>dans</sup> la bile des lapins normaux.

- L'élimination fécale, par contre, est plus riche en acides biliaires (qualitativement et quantitativement : 2 fois plus de DOC dans les fèces dures des lapins expérimentaux que chez les animaux normaux. L'HDC n'est présent que dans les fèces des lapins opérés).

- L'élimination urinaire est 2 fois plus faible chez les animaux expérimentaux ou l'acide LC est absent. Par contre des traces de CDC, HDC, C sont présentes dans l'urine de ces lapins par rapport aux normaux.

Nous pouvons dire en résumé que la dérivation biliaire intraduodénale, totale et continue provoque une chute de la concentration des acides biliaires dans la bile dont la composition est moins variée.

De cette constatation, peut-on dire qu'il y a eu des troubles d'absorption ou que le duodénum est un site d'absorption significatif chez le lapin ?

*L'élimination fécale des acides biliaires est plus importante, alors que dans l'urine, celle-ci est assez faible. Nous constatons que lors de cette expérimentation le lapin compense la faible excrétion urinaire par une élimination fécale plus accrue. Y-a-t-il eu des troubles rénaux assez graves ? Pour répondre à cette question une étude histologique rénale, une détermination des acides biliaires plasmatiques seraient nécessaires.*

*D'une manière générale, et malgré ces conséquences biochimiques sur les acides biliaires, le lapin supporte cette dérivation biliaire.*

*Une expérimentation inverse permettant, cette fois de dériver le suc pancréatique en amont et au niveau du sphincter d'ODDI pourrait donner d'autres renseignements quant à l'importance de cette portion duodénale où la microflore qui y siège serait étudiée.*

+++++

III - CONCLUSION

GENERALE

En ce qui concerne l'aspect "inventaire" de notre expérience n°1, la composition en acides biliaires est en accord avec ceux d'autres auteurs. Au point de vue quantitatif, nous croyons pouvoir montrer qu'il y avait des variations diurnes de la concentration en acides biliaires de la bile vésiculaire sans doute en rapport avec la caecotrophie. L'apport de la caecotrophie au pool des acides qui rentrent dans le cycle entérohépatique, nous paraît confirmé. Le point intéressant à revoir est la présence massive du DOC dans les caecotrophes alors que les fèces dures n'en sont pas riches. Celles-ci contiennent de l'acide 3 CIC (forme cétonique de l'acide LC) que les fèces molles ne contiennent pas ; il existe donc une différenciation qui se fait peut être au moment où le matériel caecal, qui donnera des caecotrophes passe dans le côlon.

Les ligatures des canaux cholédoque et, ou, cystique provoquent des lésions hépatiques drastiques, mais l'animal arrive à survivre, plus ou moins longtemps.

La sécrétion vésiculaire n'est pas arrêtée, loin de là puisque nous trouvons des vésicules biliaires extrêmement dilatées. Par contre la bile contient des acides biliaires dits secondaires, alors que le cycle entéro-hépatique étant interrompu, elle ne devait contenir que des acides dits primaires (taux d'acide cholique très élevé dans le sérum). Le problème de la classification des acides en primaires (synthétisés dans le foie à partir du cholestérol) et en secondaires (résultat de dégradation bactérienne) évoqué dans notre étude préalable se pose ici pour nous.

La dérivation de la sécrétion biliaire au niveau du débouché du canal pancréatique est une opération chirurgicale compatible avec la vie de l'animal. Elle ne paraît pas entraîner de grosses perturbations dans les phénomènes digestifs du lapin. L'acide DOC reste le principal constituant de la bile, toutefois son taux est plus faible que dans les biles témoins. Par contre cet acide est éliminé en plus grande quantité par les fèces dures. Le problème du lieu d'absorption, dans ce cas reste imprécis. Si l'acide DOC est éliminé dans les fèces dures, l'animal n'en aura peut-être plus autant à sa disposition dans les fèces molles. Il en retournera moins au foie par ce biais, donc on en retrouvera moins dans la bile.

Nous n'avons pas grâce à cette dérivation pu mettre en évidence d'effet sur le mécanisme de la vidange stomacale.

Au terme de ce travail, nous sommes conscients de ne pas avoir répondu de façon définitive aux questions que nous posions au départ. Nous proposons de poursuivre les recherches sur la dérivation biliaire dont nous n'avons sans doute pas tiré tous les renseignements.

Nous voudrions également reprendre le problème du rôle de la caecotrophie dans le cycle entéro-hépatique des acides biliaires et comprendre comment et pourquoi le DOC est l'acide biliaire prépondérant chez le lapin.

## B I B L I O G R A P H I E

1. AFFOLTER, H. ; PILLER, M. et GUBLER, A. - 1964. Tierexperimentelle untersuchungen über die wirkung von gereinigtem sekretin und cholecystokinin - pankreozymin, sowie von decholin auf die gallen sekretion. *Gastroenterologia*, 101, 247-258
  
2. ALME, B. ; BREMELGAARD, T. ; SJÖVALL, J. ; THOMASSEN, P. - 1977. Analysis of metabolic profiles of bile acids in urine using a lipophilic anion exchanger and computerized G.L.C. mass spectro. *J. Lipid. Res.*, 18, 339-362
  
3. ALME, B. ; SJÖVALL, J. - 1980. Analysis of bile acid glucuronides in urine. Identification of 3 $\alpha$ , 6 $\alpha$ , 12 $\alpha$  trihydroxy - 5 $\beta$  cholanoic acid. *J. Steroid. Biochem.*, 13, 907-916
  
4. BACK, P. ; SPACZYNSKI, K. et GEROK, W. - 1974. Bile salt glucuronides in urine. *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.*, 355, 749-752
  
5. BARTH, C. A. ; WIRTHENSOHN, K. - 1981. Enzymatic determination of bile acids from liver cells with 3 $\alpha$  hydroxysteroid dehydrogenase - a warning. *J. Lipid. Res.*, 22, 1025-1027
  
6. BATTÀ, A. K. ; SHEFER, S. ; SALÉN, G. - 1981. Thin-layer chromatographic separation of conjugates of ursodeoxycholic acid from those of litho-, chenodeoxydeoxy, and cholic acids. *J. Lipid. Res.*, 22, 712-714
  
7. BEAUVILLE, M. ; PRADAL, G. ; RAYNAUD, P. - 1966. Influence du jeûne sur les constituants du suc gastrique chez le lapin. *C.R. Soc. Biol.*, 160, 404-408
  
8. BEREZIAT, G. ; PEPIN, D. ; WOLF, C. ; POLONOVSKI, S. - 1977. Fractionnement par chromatographie gazeuse des acides biliaries plasmatiques. Application à l'étude d'atteintes cellulaires hépatiques. *Path. Biol.*, 25 (n° 8), 559-564
  
9. BERGSTRÖM, S. ; DANIELSSON, H. ; SAMUELSSON, B. - 1960. Formation and metabolism of bile acids. *J. Biol. Chem.*, 235, 983-988

10. BERTHELOT, P. ; ERLINGER, S. ; DHUMEAUX, D. ; PAVAU, A. M. - 1970. Mechanism of phenobarbital induced hypercholeresis in the rat. *Am. J. Physiol.*, 219, 809-813
11. BIZARD, G. ; ROBELET, S. ; BIZARD, G. N. - 1962. Actions des barbituriques sur la sécrétion biliaire. *Revue internationale d'hépatologie*, 12, 587-600
12. BOGLI, R. G. ; HALL, I. H. - 1969. A surgical external biliary fistula for the total collection of bile from rabbits. *Lab. Anim. Care*, 19, 657-658
13. BONNAFOUS, R. ; RAYNAUD, P. - 1967. Recherches sur le rôle du côlon dans la dualité de l'excrétion fécale du lapin. *Arch. Sc. Physiol.*, 21, 261-270
14. BORGMAN, R. F. ; HASELDEN, F. H. - 1969. Cholelithiasis in rabbits : effects of bile constituents and hormones on dissolution of gallstones. *Am. J. Vet. Res.*, 30, 107-112
15. BRADFIELD, R. B. ; MAYNARD, L. A. - 1958. Protein and caloric efficiency of rabbits. *Brit. J. Nutr.*, 12, 13-18
16. BREMMELGAARD, A. ; SJÖVALL, J. - 1979. Bile acid profiles in urine of patients with liver disease. *Eur. J. Clin. Invest.*, 9, 341-348
17. BUCHWALD, H. ; GEBHARD, R. L. - 1968. Localization of bile salts absorption in vivo in the rabbit. *Am. Surgery*, 167, 191-198
18. CAMILLERI, M. ; MURPHY, R. ; CHADWICK, V. S. - 1982. Pharmacological inhibition of chenodeoxycholate-induced fluid and mucus secretion and mucosal injury in the rabbit colon. *Dig. Dis. Sc.*, 27, (n° 10), 865-869
19. CAROLL, K. K. ; HAMILTON, R.M.G. ; HUFF, M. W. ; FALCONER, A. D. - 1978. Dietary fiber and cholesterol metabolism in rabbits and rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31 (1), 5203-5207

20. CATALA, J. - 1978. Recherches sur la physiologie digestive chez le lapin par une étude expérimentale de la fonction pancréatique.  
Thèse doctorat d'état, Toulouse
21. COOK, J. W. ; KENNAWAY, E. C. ; KENNAWAY, N. M. - 1940.  
Cann. Med. Assoc. J., 98, 590-
22. CRAIGIE, E. H. - 1960. Bensley's practical anatomy of the rabbit.  
8ème Ed., 391 p., Toronto University of Toronto Press
23. CRONHOLM, T. ; SJÖVALL, J. - 1967. Bile acids in portale blood of rats fed different diets and cholestyramine.  
Eur. J. Biochem., 2, 375-383
24. DANIELSSON, H. - 1963. Present status of research on catabolism and excretion of cholesterol.  
Advan. Lipid. Res., I, 335-385
25. DANIELSSON, H. ; KALLNER, A. ; SJÖVALL, J. - 1963. On the composition of the bile acid fraction of rabbit feces and the isolation of a new bile acid : 3  $\alpha$  , 12  $\alpha$  dihydroxy 5  $\alpha$  cholanic acid.  
J. Biol. Chem., 238, 3846-3852
26. DANIELSSON, H. ; ENEROTH, P. ; HELLSTRÖM, K. ; LINDSTEDT, S. ; SJÖVALL, J. - 1963. On the turnover of cholic and chenodeoxycholic acid in man and the nature of their excretion products in feces.  
J. Biol. Chem., 238, 2299-
27. DANIELSSON, H. - 1976. Fundamental and pathological mechanisms.  
In : Hepatobiliary system ; Taylor, W. ed., 389-404 p., Plenum press, New York and London.
28. DAVIS, J. R. ; PETERSON, G. E. ; BROWN, R. I. ; LEWIS, H. - 1962. The use of enrichment cultures to entrance the cholesterol utilization of a soil streptomycete.  
Rev. Latinoam. Microbiol., 5, 161-167
29. DEMAUX, G. ; GALLOUIN, F. ; GUEMON, L. ; PAPANTONAKIS, C. - 1980. Effet de la privation prolongée du comportement de caecotrophie chez le lapin.  
Reprod. Nutr. Dévelop., 20 (5B), 1651-1659

30. DEWAELE, J. ; PAAYMAKERS, C. E. ; ENDEMAN, H. I. - 1977. Simplified quantitative determination of total fecal bile acids.  
Clinica Chimica Acta, 79, 465-470
31. DHUMEAUX, D. ; ERLINGER, S. ; BENHAMOU, J. P. ; FAUVERT, R. - 1970. Effects of Rose Bengal on bile secretion in the rabbit : inhibition of a bile salt independent fraction.  
Gut, 11, (n° 2), 132-140
32. DIAMOND, J. M. - 1964. Transport of salt and water in rabbit and guinea pig gall bladder.  
J. of General. physiology, 48, 1-14
33. DIETSCHY, J. M. ; SALOMON, H. S. ; SIPERSTEIN, M. D. - 1966. Bile acid metabolism. I. studies on the mechanisms of intestinal transport.  
J. Clin. Invest., 45, 832-846
34. DIETSCHY, J. M. - 1968. Mechanisms for the intestinal absorption of bile acids.  
J. Lip. Res., 9, 297-383
35. DOMINGO, N. ; AMIC, J. ; HAUTON, J. - 1972. Dosage automatique des sels biliaries conjugués de la bile par la 3 $\alpha$  hydroxysteroïde déshydrogénase.  
Clinica Chimica Acta, 37, 399-404
36. DUMONT, M. ; ERLINGER, S. ; UCHMAN, S. - 1980. Hypercholerisis induced by ursodeoxycholic acid and 7-ketholithocholic acid in the rat : possible role of bicarbonate transport.  
Gastroenterology, 79 (1), 82-89
37. EKLUND, A. ; NORLANDER, A. ; NORMAN, A. - 1980. Bile acid synthesis and excretion following release of total extrahepatic cholestasis by percutaneous transhepatic drainage.  
Eur. J. Clin. Invest., 10 (5), 349-355
38. ELLIOTT, W. H. - 1971. Allo bile acids. In : The Bile Acids. 1971, vol. 1, p. 47-93 - Edited by NAIR, B.P. and KRITCHEVSKY, D. New York : Plenum Press
39. ELLIOTT, W.H. - 1976. Fundamental and pathological mechanisms. In : the hepatobiliary system ; p. 469-481 ; edited by Taylor W., Plenum Press, New York

40. ENEROTH, P. - 1963. Thin-layer chromatography of bile acids.  
J. Lip. Res., 4, 11-16
41. ENEROTH, P. ; GORDON, B. ; RYHAGE, R. ; SJÖVALL, J. - 1966. Identification of mono and dihydroxy bile acids in human feces by gas - liquid chromatography and mass spectrometry.  
J. Lipid. Res., 7, 511-523
42. ENEROTH, P. ; GORDON, B. ; SJÖVALL, J. - 1966. Characterization of trisubstituted cholanoic acids in human feces.  
J. Lipid. Res., 7, 524-530
43. ENEROTH, P. ; HELLSTRÖM, K. ; SJÖVALL, J. - 1968. A method for quantitative determination of bile acids in human feces. Bile acids and steroids 195.  
Acta. Chem. Scand., 22, 1729-1744
44. ENEROTH, P. ; SJÖVALL, J. - 1969. Methods of analysis in the biochemistry of bile acids. Steroids and terpenoids.  
In methods in enzymology, 15, 237-270
45. ENEROTH, P. ; SJÖVALL, J. - 1971. Extraction, purification, and chromatographic analysis of bile acids in biological materials.  
In the bile acids. I., Ed., P.P., Nair. Chapter 5, 121-171, p.p., plenum press, New York, London
46. ERLINGER, S. ; DHUMEAUX, D. ; BENHAMOU, J. P. ; FAUVERT, R. - 1969. La sécrétion biliaire du lapin : preuves en faveur d'une importante fraction indépendante des sels biliaires.  
Rev. Franç. Et. Clin. Biol., 14, 144-150
47. ERLINGER, S. ; DHUMEAUX, D. ; BERTHELOT, P. ; DUMONT, D. - 1970. Effect of inhibitors of *Na* transport on bile formation in the rabbit.  
Am. J. Physiol., 219, 416-422
48. ESTELLER, A. ; LOPEZ, M. A. ; MURILLO, A. - 1977. The effect of secretin and cholecystinin - pancreozymin on the secretion of bile in the anaesthetized rabbit.  
Quarterly Journal of experimental physiology, 62, 353-359

49. ESTELLER, A. ; JIMINEZ, R. ; LOPEZ, M. A. - 1981. Biliary secretion in conscious rabbits : role of the enterohepatic circulation of bile salts and of the gall bladder.  
Quaterly J. Exp. Physiol., 66, 349-357
50. ESTELLER, A. ; JIMINEZ, R. ; LOPEZ, M. A. - 1981. Biliary response to food in rabbits. Role of the gall bladder and the enterohepatic circulation of bile salts.  
Quaterly J. Exp. Physiol., 66, 359-366
51. EVRARD, E. ; JANSSEN, G. - 1968. Gas-Liquid chromatographic determination of human fecal bile acids.  
J. Lipid. Res., 9, 226-236
52. FALCONER, A. D. ; CAROLL, K. K. - 1979. Effects of dietary carbohydrate on cholesterol metabolism in rats and rabbits.  
Can. J. Biochem., 57 (6), 645-649
53. FISCHER, C. D. ; COOPER, N. S. ; ROTHSCHILD, M. A. ; MOSBACH, E. H. - 1974. Effect of dietary chenodeoxycholic acid and lithocholic acid in the rabbit.  
Am. J. Dig. Dis., 19, 877-886
54. FROHLING, W. ; STIEHL, A. - 1976. Bile salt glucuronides : identification and quantitative analysis in the urine of patients with cholestasis.  
Eur. J. Clin. Invest., 6, 67-74
55. GALLOUIN, F. ; DEMAUX, G. ; LE BARS, H. - 1979. Déterminisme de la dualité de l'excrétion fécale chez le lapin. Effets de l'ablation totale du côlon proximal.  
Ann. Biol. Anim. Boch. Biophys., 19 (38), 975-981
56. GALLOUIN, F. ; DEMAUX, G. ; LE BARS, H. ; GUEMON, L. - 1979. Isolement du caecum chez le lapin.  
Ann. Zoot., 28 (1), 121-142
57. GALLOUIN, F. - 1981. Intérêt nutritionnel et déterminisme de la caecotrophie chez le lapin.  
Thès doctorat d'état, 187 p., Paris VI
58. GONZALES, M. D. ; SUTHERLAND, E. ; SIMON, F. R. - 1979. Regulation of hepatic transport of bile salts. Effects of protein synthesis inhibition on excretion of bile salts and their binding to liver surface membrane fractions.  
J. Clin. Invest., 63, 684-694

59. GREGG, J. A. ; POLEY, J. R. - 1966. Excretion of bile acids in normal rabbits. *Am. J. Physiology*, 211 (5), 1147-1151
60. GRUNDY, S. M. ; AHRENS, E.H.Jr. ; MIETTINEN, T. A. - 1965. Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total fecal bile acids. *J. Lip. Res.*, 6, 397-410
61. GUSTAFSSON, B. E. ; NORMAN, A. ; SJÖVALL, J. - 1960. *Arch. Biochem. Biophys.*, 91, 93-
62. GUSTAFSSON, J. - 1979. Metabolism of 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$  dihydroxy - 5 $\beta$  cholestanic acid by rat liver in vivo and in vitro. *J. Lipid. Res.*, 20, 265-270
63. HANSON, R.F. ; PRIES, J. M. - 1977. Synthesis and enterohepatic circulation of bile salts. *Gastroenterology*, 73, 611-618
64. HASLEWOOD, G.A.D. - 1962. Bile salts : structure, distribution, and possible biological significance as a species character. In : *Comparative Biochemistry*, Edited by M. FLORKIN and H. MASON. New York : Acad. press, p. 205
65. HASLEWOOD, G.A.D. - 1964. The biological significance of the chemical differences in bile salts. *Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc.*, 39, 537-574
66. HELLSTRÖM, K. ; SJÖVALL, J. ; WIGAND, G. - 1962. Influence of semi-synthetic diet and type of fat on the turnover of deoxycholic acid in the rabbit. *J. Lip. Res.*, 3 (4), 405-412
67. HELLSTRÖM, K. ; SJÖVALL, J. - 1962. Turnover of deoxycholic acid in the rabbit. *J. Lip. Res.*, 3 (4), 397-404
68. HERMANN, H. ; CIER, J. F. - 1970. La sécrétion biliaire et physiologie des voies biliaires. Dans : *Précis de physiologie* ; Tome 2, p. 63-81, Masson & Cie, Edit., 1970
69. HISLOP, I. G. ; HOFMANN, A. F. ; SCHOENFIELD, L. J. - 1967. Determinants of the rate and site of bile acid absorption in man. *J. Clin. Invest.*, 46, 1070-

70. HOFMANN, A. F. ; MOSBACH, E. H. - 1964. Identification of allodeoxycholic acid as the major component of gallstones induced in the rabbit by 5  $\alpha$  cholestan- 3  $\beta$  ol.  
J. Biol. Chem., 9, 2813-2821
71. HOFMANN, A. F. ; MOSBACH, E. H. ; SWEeley, C. C. - 1969. Bile acid composition of bile from germ free rabbits.  
Biochim. Biophys. Acta, 176, 204-207
72. HOLT, P. R. - 1964. Intestinal absorption of bile salts in the rat.  
Am. J. Physiol., 207, 1-7
73. HOLT, P. R. - 1966. Competitive inhibition of intestinal bile salt absorption in the rat.  
Am. J. Physiol., 210, 635-639
74. HORNING, E. C. ; VANDENHEUVEL, W.J.A. ; GREECH, B. G. - 1963. Separation and determination of steroids by gas-chromatography.  
Methods of biochemical analysis, 11, 69-147
75. IRVIN, J. L. ; JOHNSTON, C. J. ; KAPALA, J. - 1944.  
J. Biol. Chem., 153, 493-
76. JACOBS, P. - 1972. Continuous bile collection in rabbit.  
South Africa Med. J., 46, 782-784
77. JIMENEZ, R. ; LISBONA, F. ; ESTELLER, A. ; LOPEZ, M. - 1982. Effets de la prise alimentaire sur la sécrétion biliaire chez le lapin.  
Repro. Nutr. Dévelop., 22, 363-370
78. JONES, R. S. ; GROSSMAN, M. I. - 1969. The choleric response to feeding in dogs.  
Proc. Soc. Expt. Biol. Med., 132, 708-711
79. JUSTE, C. ; CORRING, T. ; BREANT, P. - 1979. Excretion biliaire chez le porc : niveau et réponse au repas.  
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 19 (1A), 79-90

80. JUSTE, C. ; CORRING, T. - 1979. Effet d'une interruption et de restitutions partielles du recyclage entérohépatique sur le niveau de l'excrétion biliaire chez le porc.  
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 19, (2A), 405-412
81. KARLAGANIS, G. ; SCHWARZENBACH, R. P. ; PAUMGARTNER, G. - 1980. Analysis of serum bile acids by capillary gaz-liquid chromatography - mass spectrometry.  
J. Lip. Res., 21, 377-385
82. KARLAGANIS, G. ; PAUMGARTNER, G. ; SCHWARZENBACH, R. P. - 1979. Gas-liquid chromatography of serum - bile acids using glass capillary columns.  
J. of High Resolution Chromatography and Chromatography Communications, 2, 293-296
83. KEZN, F. ; BIRKNER, H. ; OSTROWER, V. - 1978. Binding of bile acids by dietary fiber.  
Am. J. Clin. Nutr., 31, 5175-5179
84. KIRCHMAYER, S. ; TARNAWSKI, A. DROZDZ, H. ; CICHECKA, K. - 1972. Effect of cholecystokinin - pancreozymin and secretion on volume composition and enzymatic activity of hepatic bile in rabbits.  
Gut, 13, 709-712
85. KLAASSEN, C. D. - 1971. Does bile acid secretion determine canalicular bile production in rats ?  
Am. J. Physiol., 220 (3), 667-672
86. KLAASSEN, C. D. - 1971. Gas-liquid chromatographic determination of bile acids in bile.  
Clinica Chimica Acta, 35, 225-229
87. KLAASSEN, C. D. - 1972. Species differences in the choleric response to bile acids.  
J. Physiol., 224, 259-269
88. KOK, E. ; BURSTEIN, S. ; JAVITT, N. B. ; GUT, M. ; BYON, C. Y. - 1981. Bile acid synthesis metabolism of  $3\beta$  . hydroxy-5- cholenoic acid in the hamster.  
J. Biol. Chem., 256, 6155-6159
89. KOLB, E. - 1965. La sécrétion biliaire.  
Dans : Physiologie des animaux, p. 572-573 - VIGOT Frères, Ed. ; PARIS.

90. LACK, L. ; WEINER, I. M. - 1961. In vitro absorption of bile salts by small intestine of rats and guinea pigs.  
Am. J. Physiol., 200, 313-317
91. LACK, L. ; WEINER, I. M. - 1966. Intestinal bile salt transport : structure activity relationships and other properties.  
Am. J. Physiol., 210, 1142-1152
92. LE BARS, H. ; DEMAUX, G. ; GUEMON, L. - 1973. Etude du transit digestif du lapin. Emploi du polyéthylèneglycol 4000.  
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 13, 712-713
93. LE BAS, F. - 1969. L'alimentation du lapin. Données nouvelles concernant la physiologie digestive et les besoins alimentaires. Etude des mécanismes de coprophagie.  
Bull. Soc. Sci. Hyg. Aliment, France, 57 (n° 10-12), 245-265
94. LESTER, R. ; PYREK, J. St. ; LITTLE, J. M. ; ADCOCK, E. W. - 1983. What is meant by the term "bile acid" ?  
Am. J. Physiol., 244, G 107-110
95. LEVIN, S. J. ; JOHNSTON, C. G. ; BOYLE, A. I. - 1961. Spectrophotometric determination of several bile acids as conjugates.  
Analytical chemistry, 33, 1407-1411
96. LINDSTEDT, S. ; NORMAN, A. - 1955. On the excretion of bile acids derivatives in feces of rats fed cholic acid - 24 - C<sup>14</sup> and chenodeoxycholic acid - 24 - C<sup>14</sup>  
Acta Physiol. Scand., 34, 1-10
97. LINDSTEDT, S. ; SJÖVALL, J. - 1957. On the formation of deoxycholic acid from cholic acid in the rabbit : bile acids and steroids.  
Acta Chem. Scand., 11, 421-426
98. LINDSTEDT, S. ; 1957. The turnover of cholic acid in man.  
Acta. Physiol. Scand., 40, 1-9
99. LINDSTEDT, S. ; SAMUELSSON, B. - 1959. On the interconversion of cholic and deoxycholic acid in the rat.  
J. Biol. Chem., 234, 2026-2030

100. MAC DONALD, I. A. ; WILLIAMS, C. N. ; MUSICAL, B. C. - 1980. 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , and 12 $\alpha$  - OH groupe specific enzymatic analysis of biliary bile acids : comparison with gas-liquid chromatography.  
J. Lip. Res., 21, 381-385
101. MASHIGE, F. ; TANAKA, N. ; MAKI, A. ; KAMEI, S. ; YAMANAKA, M. - 1981.  
Direct spectrophotometry of total bile acids in serum.  
Clin. Chem., 27 (8), 1352-1356
102. MATON, P. N. ; MURPHY, G. M. ; DOWLING, R. H. - 1977. Ursodeoxycholic acid treatment of gallstones. Dose - response study and possible mechanisms of action  
Lancet., 2, 1297-1301
103. MIETTINEN, T. A. ; AHRENS, E.H.Jr. ; GRUNDY, S. M. - 1965. Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total dietary and fecal neutral steroids.  
J. Lipid. Res., 6, 411-424
104. MITROPOULOS, K. A. ; MYANT, N. B. - 1967  
Biochem. J., 103, 472-479
105. MITROPOULOS, K. A. ; MYANT, N. B. - 1967  
Biophys. Acta., 144, 430-439
106. MIYAI, K. ; RICHARDSON, A. L. ; MAYR, W. ; JAVITT, N. B. - 1977. Subcellular pathology of rat-liver in cholestasis and choleresis induced by bile salts. I. Effects of lithocholic 3 $\beta$ -hydroxy - 5 - cholenoic, cholic and dehydrocholic acids.  
Lab. Invest., 36, 249-258
107. MIYAI, K. ; JAVITT, N. B. ; GOCHMAN, N. ; JONES, M. ; BAKER, D. - 1982.  
Hepatotoxicity of bile acids in the rabbits.  
Lab. Invest., 46 (4), 428-437
108. MOSBACH, E. H. ; BEVANS, M. - 1956. Formation of gallstones in rabbits fed 3 $\beta$ -cholestanol.  
Arch. Biochem. Biophys., 63, 258-259
109. MOSBACH, E. H. ; BOKKENHEUSER, V. ; HOFMANN, A. F. ; HOSHITA, T. ; FROST, S.-1967.  
Circulation, 36, 11-29

110. NAIR, P. P. ; GORDON, M. ; REBACK, J. - 1967. The enzymatic cleavage of the carbon-nitrogen bond in  $3\alpha$ ,  $7\alpha$ ,  $12\alpha$  trihydroxy -  $5\beta$ - cholane - 24 - oylglycine.  
J. Biol. Chem., 242 (1), 7-11
111. NARISAWA, T. ; MAGADIA, N. E. ; WEISBURGER, J. H. ; WYNDER, E. L. - 1974.  
J. Natl. Cancer Inst., 53, 1093-
112. NORMAN, A. - 1954. On the conjugation of bile acids in the rat.  
Acta. Physiol. Scand., 32, 1-9
113. NORMAN, A. ; SJÖVALL, J. - 1958. On the transformation and enterohepatic circulation of cholic acid in the rat.  
J. Biol. Chem., 233, 872-885
114. NORMAN, A. ; SJÖVALL, J. - 1960. Formation of lithocholic acid from chenodeoxycholic acid in the rat.  
Acta. Chem. Scand., 14, 1815-1818
115. OKISHIO, T. ; NAIR, P. P. ; GORDON, M. - 1967.  
Biochem. J., 102, 654-
116. O'MAILLE, E.R.L. - 1980. The influence of micelle formation on salt secretion.  
J. Physiol., 302, 107-120
117. PALMER, R. H. - 1969. The enzymatic assay of bile acids and related  $3\alpha$  hydroxysteroids ; Its application to serum and other biological fluids.  
Methods in enzymology (steroids and terpenoids), Ed. Clayton, 15, 280-288
118. PALMER, R. H. - 1967. The formation of bile acid sulfates : a new pathway of bile acid metabolism in human.  
Proc. Natl. Acad. Sci., 58, 1047-1050
119. PALMER, R. H. - 1976. Fundamental and pathological mechanisms.  
In : The hepatobiliary system ; Taylor, W. ed. ; p. 227-240 ; plenum press, New York and London
120. PERIC-GOLIA, L. ; JONES, R. S. - 1960. Cholic acid in guinea pig bile.  
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 105, 337-339

121. PODESTA, M. T. ; MURPHY, G. M. ; DOWLING, R. H. - 1980. Measurement of fecal bile acid sulfates.  
J. of. Chromatography, 182, 293-300
122. PUGH, M. P. ; STONE, S. L. - 1969. The ionic composition of bile.  
J. of. Physiol., 201, 50-51
123. ROOVERS, J. ; EVRARD, E. ; VANDERHAEGHE, H. - 1968. An improved method for measuring human blood bile acids.  
Clin. Chim. Acta., 19, 449-457
124. RUCKEBUSCH, Y. - 1977. Fonction digestive et glandes annexes. Dans : Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales ; p. 113-136, Maloine S.A. Editeur, Paris, 1977
125. SAMUEL, P. ; SAYPOL, G. M. ; MEILMAN, E. ; MOSBACH, E. H. ; CHAFIZADEH, M. - 1968. Absorption of bile acids from the large bowel in man.  
J. Clin. Invest., 47, 2070-2078
126. SANDBERG, D. H. ; SJÖVALL, J. ; SJÖVALL, K. ; TURNER, D. A. - 1965. Measurement of human serum bile acids by gas-liquid chromatography.  
J. Lipid. Res., 6, 182-192
127. SARLES, J. C. ; AWAD, R. - 1983. Action de la baralgin et de ses constituants sur l'activité électromyographique du sphincter d'Oddi - Etude expérimentale sur le lapin.  
Médecine et chirurgie digestives, 12, 375-378
128. SCHMIDT, C. R. ; IVY, A. C. - 1937. The general function of the gall-bladder. Do species lacking a gall-bladder possess its functional equivalent? The bile and pigment output of various species of animals.  
J. Cell. Physiol., 10, 365-383
129. SCHOENFIELD, L. J. ; SJÖVALL, J. - 1966. Identification of bile acids and neutral sterols in guinea pig bile. Bile acids and steroids. 163.  
Acta. Chem. Scand., 20 (5), 1297-1303
130. SCHOENFIELD, L. J. ; SJÖVALL, J. - 1966. Bile acids and cholesterol in guinea pigs with induced gall stones.  
Am. J. Physiol., 211, 1067-1074

131. SCHULTZ, S. G. ; STRECKER, C. K. - 1971. Cholesterol and bile salt influxes across brush border of rabbit jejunum. *Am. J. Physiol.*, 220, 59-
132. SCRATCHERED, T. - 1965. Electrolyte composition and control of biliary secretion in the cat and rabbit. In the *Biliary System* : p. 515-530 ; Edited by Taylor, W. Blackwell scientific publication, Oxford, 1965
133. SHAW, H. M. ; HEATH, T. J. - 1974. Regulation of bile formation in rabbits and guinea pigs. *Quarterly J. Exp. Physiol.*, 59, 93-102
134. SHAW, H. M. ; HEATH, T. J. - 1975. Bile salts and bile formation in rats, rabbits and guinea pigs. *Comparative biochemistry and physiology*, 50 (A), 615-619
135. SHIFF, S. J. ; SOLOWAY, R. D. ; SNAPE, W.J.Jr. - 1980. Effect of deoxycholic acid on colonic motility in the rabbit, a neural mechanism. *Clin. Res.*, 28 (n° 3), 631 A
136. SIEGFRIED, C. M. ; ELIOTT, W. H. - 1968. Separation of bile acids of rat bile by thin-layer chromatography. *J. Lipid. Res.*, 9, 394-395
137. SJÖVALL, J. - 1959. The determination of bile acids in bile and duodenal contents by quantitative paper chromatography. *Bile acids and steroids*.71. *Clin. Chem. Acta.*, 4, 652-654
138. SKREDE, S. ; SOLBERG, H. E. ; BLOMHOFF, J. P. ; GJONE, E. - 1978. Bile acid measured in serum during fasting as a test for liver disease. *Clin. Chem.*, 24 (7), 1095-1099
139. SMALL, D. M. - 1971. The physical chemistry of cholanic acids. In the *bile acids*. I. Edited by Nair, P.P., and Dritchevsky. New York, plenum, vol. 1, p. 249-355
140. SPRITZ, N. ; AHRENS, E. H. - 1963. Direct measurement of sterols and bile acids in human feces. In ; *Biochemical problems of lipids*, edited by A. C. Frazer, Amsterdam ; Elsevier.

141. STIEHL, A. ; CZYGAN, P. ; FROHLING, W. ; LIERSCH, M. ; KOMMERELL, B. - 1977. Sulfation of bile acids. In : Liver and bile ; p. 129-138 ; Edited by L. Bianchi ; Gerok, W. ; Scikinger ; Baltimore ; University park press.
142. STRANSKY, E. - 1931. Untersuchungen über die pharmakologie der gallensekretion. I.V. Mitteilung ; Ausscheidung von stoffen durch die galle. Z. Ges. Exptl. Med., 77, 807-841
143. STREET, J. M. ; TRAFFORD, D.J.H. ; MAKIN, H.L.J. - 1983. The quantitative estimation of bile acids and their conjugates in human biological fluids. J. Lipid. Res., 24, 491-511
144. SUBBIAH, M.T.R. - 1973. Stigmasterol as internal standard for simultaneous quantitation of biliary cholesterol and bile acids by gas-liquid chromatography. Clinica Chimica Acta., 48, 19-21
145. SUBBIAH, M.T.R. ; KUKSIS, A. - 1968. Alkaline solvent systems for thin-layer chromatography of bile acids. J. Lipid. Res., 9, 288-290
146. SULLIVAN, M. - 1965. Bile salt absorption in the irradiated rat. Am. J. Physiol., 209, 158-164
147. SZCZEPANIK, A. P. ; HACHEY, D. L. ; KLEIN, P. D. - 1978. Evaluation of poly S. 179 as a stationnary phase for the gas-liquid chromatography-mass spectrometry of bile acid methyl ester acetates. J. Lipid. Res., 19, 280-283
148. TAYLOR, W. - 1977. The bile acid composition of rabbit and cat gall-bladder bile. J. Steroïd Chem., 8, 1077-1084
149. TAYLOR, W. ; ELLIS, W. R. ; BELL, G. D. - 1981. The effect of cholesterol feeding on gall bladder bile acids of the rabbit. Biochem. J., 198, 639-643
150. TEO, N. H. ; SCOTT, J. M. ; NEALE, G. ; WEIR, D. G. - 1980. Effect of bile on vitamine B 12 absorption. British Med. J., 281, 831-833
151. THOMASSEN, P. A. - 1979. Urinary bile acids during developpement of recurrent cholestasis of pregnancy. Eur. J. Clin. Invest., 9, 417-423
152. THOMSON, A.B.R. ; O'BRIEN, B. D. - 1981. Uptake of cholesterol into rabbit jejunum using three in vitro techniques : importance of bile acid micelles and unstirred layer resistance. Am. J. Physiology, 241 (n° 3), G 270-G 273

153. VAN BERGE HENEGOUWEN, G. P. ; ANNIE RUBEN, BRANDT, K. H. - 1974. Quantitative analysis of bile acids in serum and bile acids in serum and bile, using gas-liquid chromatography.  
Clinica Chemica Acta, 54, 249-261
154. VIALLARD, V. ; RAYNAUD, P. - 1968. Présence d'un agent bactériolytique dans le contenu de l'estomac de lapin.  
J. de Physiol., 60 (suppl. 1), 323-324
155. VLAHCEVIC, Z. R. ; SCHWARTZ, C. C. ; GUSTAFSSON, J. ; HALLORAN, L. G. ; DANIELSSON, H. ; SWELL, L. - 1980. Biosynthesis of bile acids in man. Multiple pathways to cholic acid and chenodeoxycholic acid.  
J. Biol. Chem., 255, 2925-2933
156. WEINER, I. M. ; LACK, L. - 1968. Bile salt absorption : enterohepatic circulation  
In : Handbook of Physiology. Alimentary Canal. Washington ; D.C. ; Section 6, volume III, chapitre 73, p. 1439-1455
157. WEINER, I. M. ; GLASSER, J. E. ; LACK, L. - 1964. Renal excretion of bile acids, taurocholic, glycocholic, and cholic acids.  
Am. J. Physiol., 207 (A), 964-970
158. WHITLOCK, R. T. ; WHELLER, H. O. - 1964. Coupled transport of solute and water across rabbit gall-bladder epithelium.  
J. Clin. Invest., 43 (n° 12), 2249-2265
159. WILSON, J. D. - 1962. Relation between dietary cholesterol and bile acid excretion in the rat.  
Am. J. Physiol., 203, 1029-1032
160. WYATT, 1967.  
J. Physiol., 193, 225-245
161. YAHIRO, K. ; SETOGUCHI, T. ; KATSUKI, T. - 1980. Effet of caecum and appendix on  $7\alpha$  dehydroxylation and  $7\beta$ -epimerization of chenodeoxycholic acid in the rabbit.
162. YOUSEF, I. M. ; TUCHWEBER, B. ; VONK, R. J. ; MASSE, D. ; AUDET, M. ; ROY, C.C.-1981  
Lithocholic cholestasis sulfated glycolithocholate induced intrahepatic cholestasis in rats.  
Gastroenterology, 80, 233-241
163. FRANCO, D. ; GIGOU, M. ; SZEKELY, A. M. ; BISMUTH, H. - 1979. Portal hypertension after bile duct obstruction. Effect of bile diversion on portal pressure in the rat.  
AR. CH. SURG, 114, 1064-1067