



RESPOSTA DOS ÁCIDOS BILIARES NA CIRCULAÇÃO SISTÊMICA  
A DIFERENTES ESTÍMULOS DA CIRCULAÇÃO ENTEREPÁTICA

SÉRGIO G. SILVA DE BARROS

Dissertação de Mestrado

apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Gastroenterologia  
da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Porto Alegre, 1982

ERRATA

1) pág. VIII, 2º parágrafo, aonde se lê :

... " pode diminuir a absorção deste em virtude de provável competição com ácidos biliares endógenos " ...

leia-se :

... " pode diminuir a absorção de ácidos biliares endógenos em virtude de / provável competição na absorção " ...

2) pág. 22, aonde se lê:

... " o aumento de "q" foi apenas de 77% para o pico médio " ...

leia-se :

... " o aumento de "q" foi de 77% para o pico médio" ...

3) pág. 22, aonde se lê :

... " isto é, a resposta foi abaixo do que se esperava"...

desconsidere-se a sentença

*Orientadores:*

*Roger D. Soloway M.D.*

*Dr. José Cutin*

*Orientador estadístico:*

*Keith Soaper*

À Candida, à Laura e à Olga,  
pela inquietude intelectual,  
pelo estímulo constante  
e pelo amor.

*Agradecimentos*

*Ao Dr. Roger D. Soloway  
e Dr. José Cutin,  
pela amizade e pelo estímulo;*

*Ao Dr. Sidney Cohen, Dr. Frank P. Brooks  
e colegas da Secção de Gastroenterologia  
do Hospital da Universidade da Pensilvânia,  
pelo convívio amigável e contagiante entusiasmo  
pela investigação científica.*

## SUMÁRIO

|   |     |
|---|-----|
| Resumo .....                                  | vi  |
| Abstract .....                                | ix  |
| Terminologia, abreviaturas e convenções ..... | xii |
| INTRODUÇÃO .....                              | 1   |
| MATERIAL E MÉTODOS .....                      | 5   |
| População e coleta das amostras .....         | 6   |
| Estimulação da circulação enterepática .....  | 7   |
| Análise dos ácidos biliares séricos .....     | 9   |
| Análise estatística .....                     | 10  |
| RESULTADOS .....                              | 12  |
| DISCUSSÃO .....                               | 23  |
| CONCLUSÕES .....                              | 29  |
| Referências bibliográficas .....              | 31  |

RESUMO

Estudam-se as variações dos ácidos biliares na circulação sistêmica após estímulos endógenos e exógenos da circulação enterepática.

Procedeu-se aos seguintes estímulos: ingestão de água deionizada ("H<sub>2</sub>O"); ingestão de uma Refeição; ingestão de ácido quenodesoxicólico ("Q"); ingestão combinada de uma Refeição e ácido quenodesoxicólico (Combinação); e infusão intravenosa contínua de colecistocinina ("CCK").

Os experimentos se desenvolveram no Centro de Pesquisas Clínicas do Hospital da Universidade da Pensilvânia (Filadélfia, Estados Unidos) entre janeiro e dezembro de 1978, com seis indivíduos normais do sexo masculino.

Obtiveram-se, durante três horas, amostras de sangue venoso periférico que foram analisadas com o fim de se verificarem: "ts" - concentração total dos sais biliares, mediante método enzimático; "cg" - concentração específica do ácido glicocólico por radioimunoensaio; e "q" - concentração específica do ácido quenodesoxicólico e seus derivados, também por radioimunoensaio. A Refeição produziu significativo aumento dos ácidos biliares em estudo, em contraste com os níveis inalterados ou decrescentes após a "H<sub>2</sub>O". Os níveis mais ele-



vados ocorreram após a "CCK". A ingestão de ácido quenodesoxicólico produziu uma elevação em "q" e "ts", mas não em "cg", o que indica ter sido o aumento devido somente à administração exógena, e não à contração da vesícula biliar. Da Combinação não decorreu maior elevação em "ts" nem em "cg" do que as elevações ocorridas em cada estímulo, separadamente. Surpreendentemente, todavia, a Combinação resultou em níveis inferiores de "q", quando o pico e área sob a curva foram comparados, em cada indivíduo.

Este estudo coincide com a tese de que a variação das concentrações de ácidos biliares na circulação sistêmica são reflexo de variações na circulação enterepática, e que a administração de ácido quenodesoxicólico na refeição pode diminuir a absorção deste, em virtude de provável competição com ácidos biliares endógenos.

ABSTRACT

The response of total non-sulfated serum bile acids, cholyglycine and chenodeoxycholyl species was examined every 20 min for 3 hr in 6 subjects at the Clinical Research Center of the Hospital of the University of Pennsylvania, in Philadelphia, U.S.A., between January and December of 1978. Non-caloric feeding led to a progressive decline or no change in bile acids, while there was a progressive rise in response to a standard liquid meal. After reaching a peak at 60 min, total bile acids declined progressively but cholyglycine and chenodeoxycholyl species remained elevated. Continuous infusion of cholecystokinin led to significantly greater levels most probably due to more rapid enterohepatic recirculation. Oral administration of 250 mg of chenodeoxycholic acid with water resulted in a rise in total bile acids and chenodeoxycholyl species, but not cholyglycine, indicating the rise was due to the administered bile acid and not gallbladder contraction. Administration of a meal and chenodeoxycholic acid simultaneously caused no greater rise of total serum bile acids cholyglycine than either stimulus alone. Peak response and area under the curve were compared for each patient. The increase for chenodeoxycholyl species was lower than expected

when the 2 stimuli were given simultaneously suggesting that free chenodeoxycholic acid, when administered with a meal, decreased the absorption of endogenous conjugated bile acids. This study is compatible with the thesis that serum bile acids accurately reflect enterohepatic cycling and that administration of chenodeoxycholic acid with a meal may decrease its efficacy because it may compete with endogenous bile acids for absorption.

## TERMINOLOGIA, ABREVIATURAS E CONVENÇÕES

## ÁCIDOS BILIARES

São o produto final da degradação do colesterol e constituem importante fração da bile humana. Podem ser primários ou secundários; conjugados e não-conjugados; trihidroxilados, dihidroxilados e monohidroxilados. O poder detergente dos ácidos biliares aumenta com a conjugação e com o número de hidroxilas. (Fig.1)

### Ácidos biliares primários

São aqueles sintetizados pelo fígado a partir do colesterol.

### Ácidos biliares secundários

São aqueles produzidos no intestino delgado distal e cólon proximal pela ação de uma enzima bacteriana ( $7\alpha$  desidroxilase) sobre as moléculas dos ácidos biliares primários.

### Ácidos biliares conjugados

São os ácidos biliares, primários ou secundários, que se combinam com um aminoácido, seja glicina, seja taurina.

### Ácidos biliares não-conjugados

São os que, primários ou secundários, não se combinam com um aminoácido.



Ácidos biliares dihidroxilados

São os que possuem duas hidroxilas em sua estrutura molecular.

Ácidos biliares trihidroxilados

São os que possuem três hidroxilas em sua estrutura molecular.

"CCK"

Colecistocinina.

"cg"

Concentração específica do ácido glicocólico (ou colilglicina) na circulação sistêmica.

#### CIRCULAÇÃO ENTEREPÁTICA

É o circuito anatômico - fígado, trato biliar, intestinos e sistema venoso porta-hepático - em que são reciclados os ácidos biliares.

#### COMBINAÇÃO

Refeição combinada com ácido quenodesoxicólico.

#### FRAÇÃO SISTÊMICA (ÁCIDOS BILIARES SÉRICOS)

É a parcela do "pool" dos ácidos biliares presente na circulação sistêmica.

"H<sub>2</sub>O"

Água deionizada ou refeição simulada ("sham feeding").

#### MICELAS

São pequenos agregados polimoleculares de ácidos biliares, colesterol e fosfolipídios, que permitem a solubilização destes últimos na bile.

"POOL"

É a quantidade total de ácidos biliares exis-

tentes no organismo, em um determinado momento. É inversamente proporcional à litogenicidade da bile vesicular.

"Q"

Ácido quenodesoxicólico na forma não-conjugada.

"q"

Concentração específica do ácido quenodesoxicólico (ou quenodiol) e seus conjugados na circulação sistêmica.

#### REFEIÇÃO

Mistura que contém óleo comercial de milho, um suplemento dietético (Meritene<sup>R</sup>) e água deionizada, formando um volume líquido final de 250 ml. A composição foi de 40% de lipídios, 40% de glicídios e 20% de proteínas.

#### SAIS BILIARES

Constituem a forma em que, "in vivo", existem os ácidos biliares. Sendo ácidos fracos ao pH do organismo, encontram-se na forma ionizada, combinando-se com sódio para formar um sal.

#### TRANSPORTE ATIVO DE ÁCIDOS BILIARES

É o movimento dos ácidos biliares contra um gradiente de concentração e mediante a utilização da energia; ocorre no íleo distal e nos canalículos biliares.

#### TRANSPORTE PASSIVO DE ÁCIDOS BILIARES

É o movimento dos ácidos biliares de uma área de maior para uma de menor concentração, por difusão. Acontece principalmente ao longo do jejuno.

"ts"

Concentração total dos ácidos biliares na circulação sistêmica.



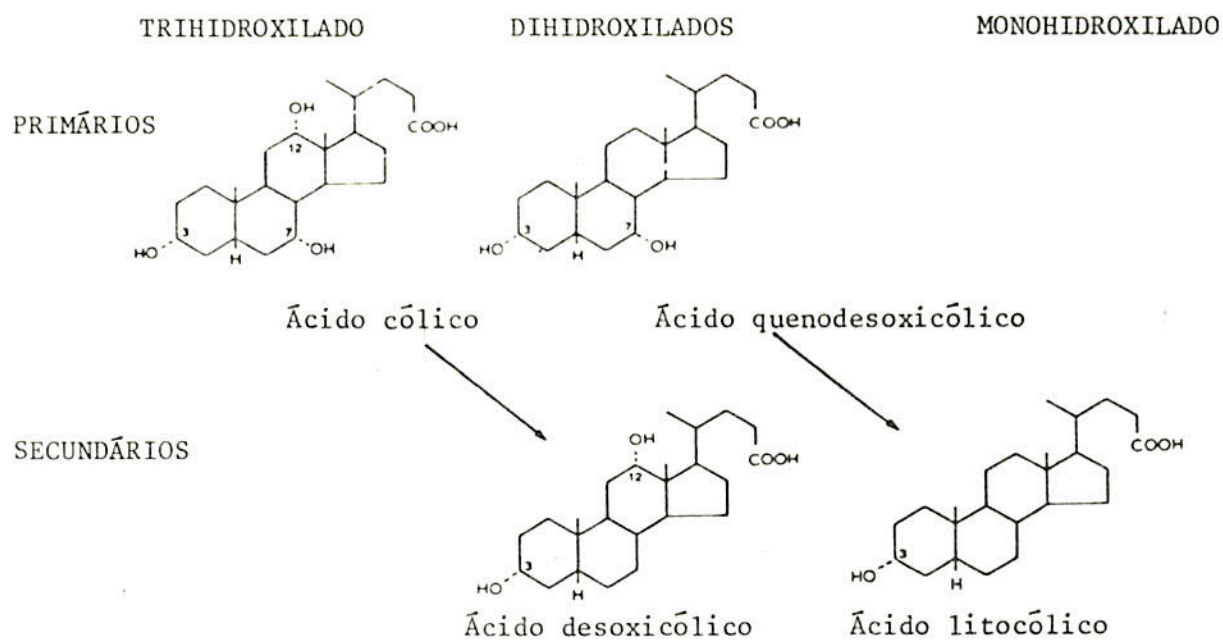


FIG. 1 - PRINCIPAIS ÁCIDOS BILIARES HUMANOS

## INTRODUÇÃO

O corpo humano sintetiza, de forma contínua, o colesterol. Uma parte dele se converte, no retículo endoplasmático e mitocôndrias hepáticos, em ácidos biliares.

Logo após a conversão do colesterol em ácidos biliares, são estes conjugados com um aminoácido (taurina ou glicina) e secretados, por um processo ativo, através dos canalículos biliares.

Essa secreção induz ao transporte dos outros principais componentes da bile - bilirrubinas, colesterol, fosfolipídios, água e eletrólitos - desde os hepatócitos até o sistema biliar. Esse transporte é o principal mecanismo de secreção biliar (secreção biliar dependente de ácidos biliares).

No sistema biliar, os ácidos biliares cumprem a importante tarefa de solubilizar, num meio aquoso, o colesterol e a lecitina, mediante a formação de uma estrutura físico-química peculiar, que se denomina micela.<sup>5</sup>

A maior parte da bile de origem hepática é desviada, estocando-se na vesícula biliar durante os períodos interdigestivos,<sup>12</sup> fluindo apenas uma pequena parcela para o duodeno.

Com a alimentação, inicia-se uma vigorosa contração da vesícula biliar, sincronizada com o relaxamento do esfíncter de Oddi.<sup>3</sup> Os ácidos biliares, então, penetram no duodeno e, devido a sua capacidade detergente (anfipática), participam do processo de emulsão e digestão das gorduras.<sup>5</sup> Participam, igualmente, do processo de absorção dos lipídios ao carrearem, novamente por intermédio da estrutura micelar, os produtos dessa digestão - isto é, os monoglicerídios e os ácidos graxos - através da camada de água estacionária que recobre a mucosa intestinal.<sup>5,10</sup>

Ao cumprirem essa última função, os ácidos biliares são também absorvidos, o que ocorre mediante, pelo menos, dois processos, correspondentes a dois segmentos do intestino delgado:

1º - a absorção passiva, a nível do jejuno, dos ácidos dihidroxilados tanto dos conjugados com a glicina, quanto de uma parcela variável dos não-conjugados;

2º - a absorção ativa dos ácidos biliares restantes, que ocorre no íleo terminal, quando sucede a maior parcela da absorção.<sup>6,11</sup>

Após penetrarem na mucosa intestinal, caem os ácidos biliares no sistema porta-hepático, dirigindo-se, fortemente ligados às proteínas, para os sinusóides intra-hepáticos, onde são captados ativamente pelos hepatócitos, quando então se fecha o ciclo.<sup>5</sup>

A captação hepática depende de vários fatores: do fluxo sanguíneo-hepático, do grau de derivação porto-sis-

têmico (shunting), da integridade dos hepatócitos e da afinidade específica de extração diferencial para cada tipo de ácido biliar.<sup>1,19</sup> Essa captação é, em geral, elevada, como ocorre, por exemplo, com o ácido quenodesoxicólico, em que chega a 60% na primeira passagem pela superfície dos hepatócitos.

Portanto, em condições fisiológicas, apenas uma fração escapa para a circulação sistêmica (fração sistêmica), de onde posteriormente retornará, via artéria hepática, para o fígado, submetendo-se a novas captações. Tal fração sistêmica, em condições fisiológicas, é determinada pelo balanço entre a absorção intestinal (afluxo ao sistema porta-hepático) e a captação hepática. A fração sistêmica, em indivíduos normais, reflete com menor magnitude o que sucede na circulação enterepática dos ácidos biliares.<sup>2,12</sup>

Constitui objetivo do presente trabalho estudar o efeito que ocorre nos ácidos biliares da circulação sistêmica em resposta a diferentes estímulos sobre a circulação enterepática.

## MATERIAL E MÉTODOS



## POPULAÇÃO E COLETA DAS AMOSTRAS

O trabalho foi realizado no Centro de Pesquisas Clínicas do Hospital da Universidade da Pensilvânia (Filadélfia, Estados Unidos), entre os meses de janeiro a dezembro de 1978.

Selecionaram-se, de início, seis voluntários assintomáticos, do sexo masculino, com idades entre 22 e 42 anos, idade média de 30 anos.

A história e o rigoroso exame físico a que se submeteram não revelaram quaisquer anormalidades presentes ou passadas. Foram também realizados os seguintes exames laboratoriais, cujos resultados se apresentaram nos limites da normalidade ou negativos: hemograma, exame qualitativo de urina, transaminases pirúvica e oxalacética, fosfatase alcalina, bilirrubina direta e total, proteinograma sérico e antígeno de superfície do vírus da hepatite tipo B por radioimunoensaio.

Cada indivíduo foi estudado em cinco situações, com intervalo de, no mínimo, uma semana cada uma, tendo-se realizado, portanto o total de 30 experimentos com o grupo.

Após jejum noturno de 12 horas, cada indivíduo,

após admissão no Centro de Pesquisas Clínicas, manteve-se em repouso, em decúbito dorsal, durante três horas, tempo de duração do experimento.

A retirada de sangue, de modo seriado, ocorreu a cada 20 minutos, mediante a inserção de um "butterfly" de calibre 18 numa das veias do antebraço esquerdo. A fim de manter a permeabilidade da agulha, foi gotejada solução fisiológica, a 20 gotas/min.

De cada amostra de sangue, foram removidos 2ml, através de uma seringa adaptada a uma cânula, a fim de descartar o sangue diluído em solução fisiológica. Após, com nova manipulação da cânula, retiraram-se 3 ml de sangue, com outra seringa, que passaram à centrifugação. O soro foi congelado, a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para análise laboratorial.

#### ESTIMULAÇÃO DA CIRCULAÇÃO ENTEREPÁTICA

Em estudos seriados, com intervalo de, pelo menos, uma semana, cada indivíduo recebeu um dos seguintes estímulos:

Experimento 1: " $\text{H}_2\text{O}$ "

Uma refeição não-calórica que consistiu na ingestão de 250 ml de água deionizada, à temperatura ambiente. Essa ingestão, durando no máximo 5 min, serviu como refeição simulada ("sham feeding").



### Experimento 2: Refeição

Consistiu na ingestão de uma mistura contendo óleo comercial de milho, um suplemento dietético comercial (Meritene<sup>r</sup>) e água deionizada, formando um volume líquido final de 250 ml. A composição foi de 40% de lipídios, 40% de glicídios e 20% de proteínas.

O valor calórico foi calculado para conter 10 cal/kg do peso ideal de cada indivíduo, sendo que nenhum deles apresentava variação superior a 5% do peso ideal calculado. A mistura se manteve à temperatura-ambiente (20 a 25°C), tendo sido ingerida em até 5 min.

### Experimento 3: "Q"

Administrou-se ácido quenodesoxicólico por via oral, sob a forma de duas cápsulas, de 125 mg cada uma, com 250 ml de água deionizada, sendo a dose fixa para todos os indivíduos. Utilizou-se o ácido quenodesoxicólico não-conjugado, com purificação de 90%, por cromatografia gasosa, e de camada fina.\*

---

\*Cortesia do Dr. V. Parks. Canada Packers. Toronto, Canadá.

#### Experimento 4: Combinação

Consistiu em ácido quenodesoxicólico e Refeição, combinados.

#### Experimento 5: "CCK"

Infusão intravenosa contínua de colecistocinina, em velocidade calculada para 0,0625 unidades Crick-Harper-Raper por quilograma de peso corporal e por minuto. Utilizou-se uma bomba do tipo Holter.<sup>3</sup> A administração ocorreu numa veia do antebraço do lado oposto ao que se instalava a entrada da solução fisiológica para amostragem sangüínea. A "CCK" foi obtida da Vitrum Co., Estocolmo, Suécia.

#### ANÁLISE DOS ÁCIDOS BILIARES

As concentrações dos ácidos biliares séricos foram determinadas por dois métodos independentes:

- a) Espectrofotofluorimetria de duplo feixe, utilizando uma modificação do método enzimático de Siskos, Cahill e Javitt e um espectrofotofluorímetro modelo Mark VIII, de Perkins Elmers Co. (Japão);<sup>24</sup>
- b) Radioimunoensaio do ácido glicocólico ("cg") e dos conjugados do ácido quenodesoxicólico ("q"), utilizando anticorpos específicos, desenvolvidos e comercializados pelos labora-

tórios Abbott (Chicago, EUA).<sup>15,26</sup>

#### ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como a média dos resultados individuais para cada período da amostragem mais ou menos o erro-padrão das médias ( $\bar{X} \pm$  E.P.M.).

As diferenças entre os diversos grupos de experimentos foram avaliadas pelo teste "t" emparelhado de Student.<sup>25</sup>

Para verificar se a resposta à Refeição mais o ácido quenodesoxicólico era aditiva, examinou-se cada resposta de cada um dos indivíduos, calculando-se a área sob a curva, mediante uso da régua trapezoidal,<sup>23,28</sup> e examinando-se a elevação máxima, ou pico.

Para o nível inicial ( $R_1$ ) e níveis subsequentes ( $R_2 - R_{10}$ ), a área total foi definida como  $1/9 \sum_1^9 = 2R_1$ . A área ajustada para o nível inicial foi:

$$\text{Área ajustada} = \text{área total} - R_1$$

Testou-se da mesma maneira a elevação máxima total e ajustada. Houve suspeita de que a resposta da combinação era menor do que a soma das respostas de cada estímulo em separado. Para exame da depressão (D) foi usada a seguinte equação:

$$D = (\text{Refeição}^R + Q^R) - \text{Combinação}^R$$

em que

$\text{Refeição}^R$  = resposta média a duas Refeições;

$Q^R$  = resposta ao ácido quenodesoxicólico ou "Q";

Combinação<sup>R</sup> = resposta a Combinação.

A hipótese nula era de que D tivesse média igual a zero.

O teste foi "two sided". A área sob a curva e a resposta máxima (pico) foram as mais sensíveis devido à variabilidade de  $R_1$ .

## RESULTADOS

### Resposta a "H<sub>2</sub>O"

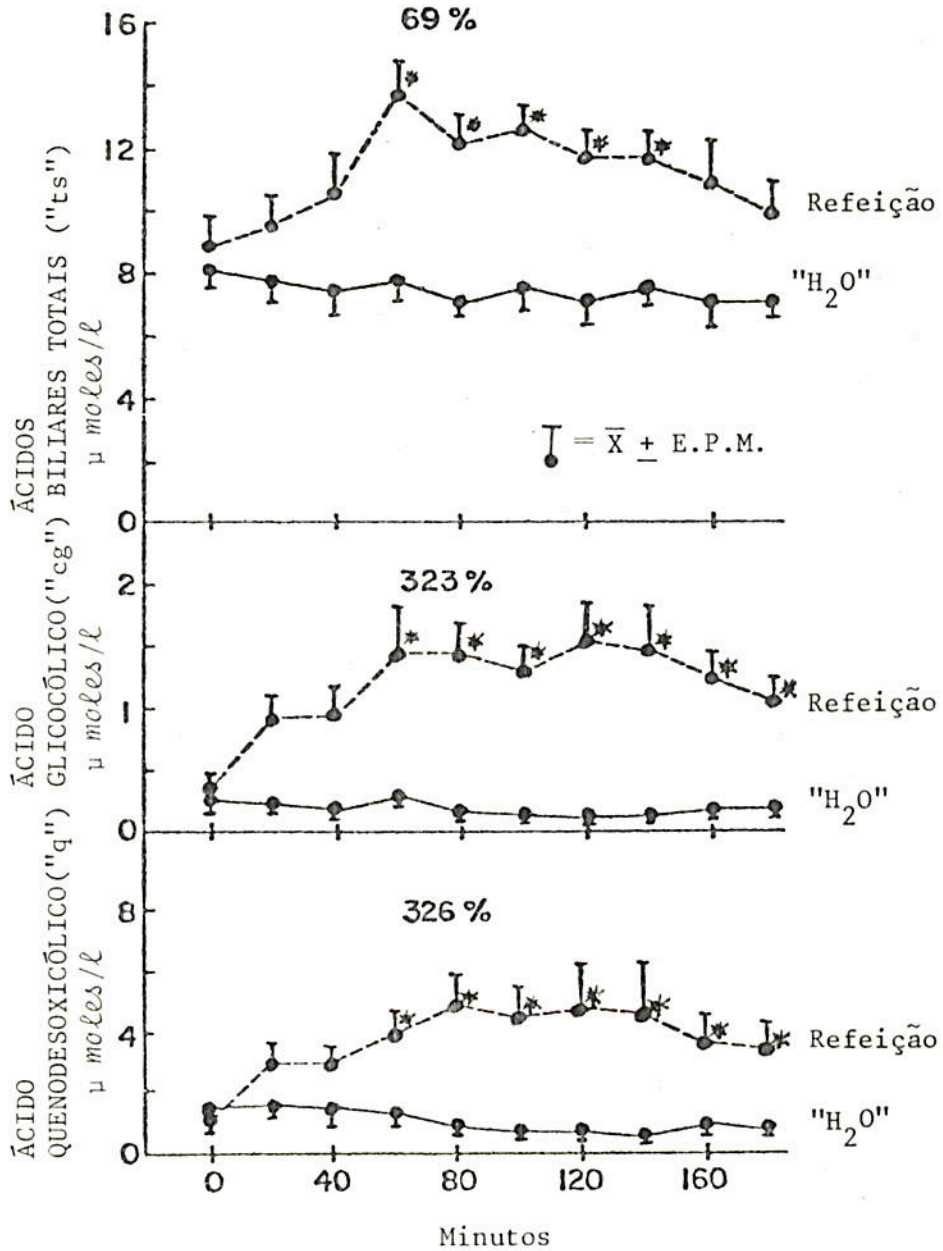
Não se verificou aumento nas concentrações de ácidos biliares na circulação sistêmica, seja de "ts", "cg" ou "q". Ao invés, usando-se o Teste de Spearman,<sup>25</sup> observou-se significativo declínio em um dos seis indivíduos, com relação a "ts", e em três indivíduos com referência a "cg" e "q" (Fig. 2).

### Resposta à Refeição

Houve progressiva elevação de todos os componentes mensurados, a qual atingiu significância estatística aos 60 min para "ts", "cg" e "q" ( $p < 0,05$ ). Apesar de o aumento de "ts" ter sido, em termos absolutos, maior, a média do aumento percentual de "cg" (323%) e "q" (326%) nos níveis basais excedeu em muito o valor de "ts" (69%). Com referência a "ts", os níveis declinaram subsequentemente, de forma que aos 160 min não apresentavam elevação significativa em relação aos níveis basais. Em contraste, os níveis ainda eram significativamente elevados com relação a "cg" ( $p < 0,05$ ) e "q" ( $p < 0,01$ ) três horas após a ingestão da refeição (Fig. 2).



FIGURA 2

RESPOSTA COMPARADA ENTRE A REFEIÇÃO E "H<sub>2</sub>O"\* =  $p < 0,05$

## Resposta à "CCK"

Foram atingidos, em relação a "ts" níveis significativos já aos 60 min, chegando ao pico em 120 min. Também "cg" revelou níveis significativamente elevados aos 60 min, chegando ao pico em 100 min. Os níveis significativos de "q" ocorreram já aos 20 min, sendo atingido o pico aos 80 min.

Os níveis de cada ácido biliar medido mantiveram-se persistentemente elevados, em platô, durante todo o período de infusão da colecistocinina. Os picos de "ts", "cg" e "q" foram significativamente mais elevados do que os correspondentes no experimento com a Refeição ( $p < 0,05$ ) (Fig. 3).

## Resposta a "Q"

A administração de "Q" levou a um progressivo aumento de "ts", que atingiu valores significativos já aos 60 min, chegando ao pico aos 100 min. Após, os níveis retornaram em direção à linha de base. Idêntica ocorrência verificou-se com relação aos níveis de "q", cuja significância se deu aos 80 min, chegando ao pico em 100 min. Não se verificou alteração nos níveis séricos de "cg" (Fig. 4).

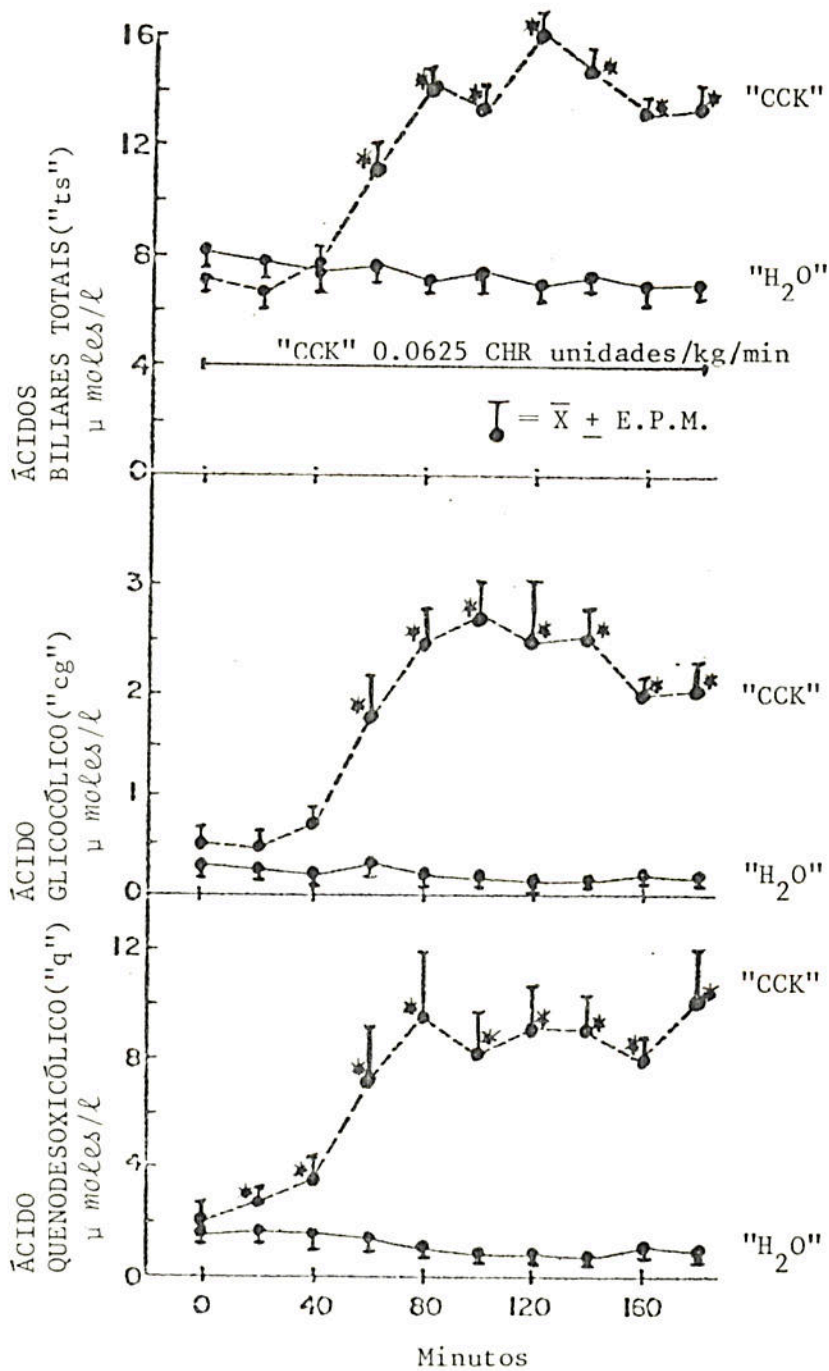
## Resposta à Combinação

A administração da Combinação não causou maior aumento nos níveis médios dos ácidos biliares - "ts", "cg", "q" - do que o que ocorreu com cada estímulo em separado (Tabela 1).

Apesar de, ao final do estudo, terem os níveis persistido acima da linha de base, também não houve significância estatística a esse nível.



FIGURA 3

RESPOSTA COMPARADA ENTRE "CCK" E "H<sub>2</sub>O"

\* = p &lt; 0.05

FIGURA 4

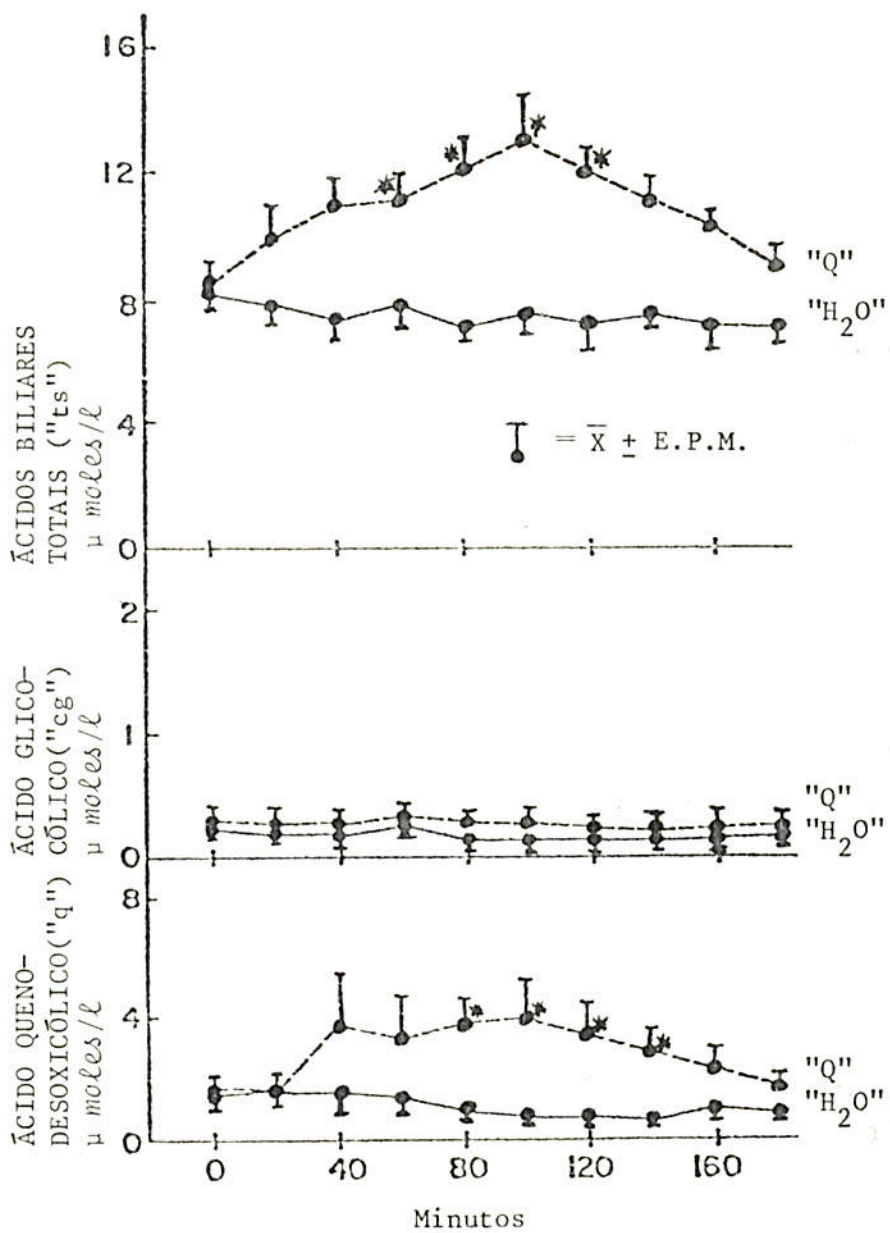
RESPOSTA COMPARADA ENTRE "Q" E "H<sub>2</sub>O"\* =  $p < 0.05$

TABELA 1  
 CARACTERIZAÇÃO DA RESPOSTA MÉDIA DOS ÁCIDOS BILIARES SÉRICOS  
 À REFEIÇÃO, A "Q" E À COMBINAÇÃO

| <u>ÁCIDO BILIAR</u> | <u>ESTÍMULO</u> | <u>n</u> | <u>INICIAL (R<sub>1</sub>)</u> | <u>PICO AJUSTADO</u> | <u>ÁREA AJUSTADA</u> |
|---------------------|-----------------|----------|--------------------------------|----------------------|----------------------|
| Total               | Refeição        | 11       | 8.5 ± 1.9                      | 7.4 ± 3.8            | 3.0 ± 2.9            |
|                     | "Q"             | 6        | 8.1 ± 1.5                      | 8.2 ± 3.9            | 3.2 ± 1.1            |
|                     | Combinação      | 6        | 8.8 ± 2.0                      | 9.5 ± 4.8            | 4.7 ± 3.0            |
| "cg"                | Refeição        | 11       | 0.32 ± 0.27                    | 1.9 ± 1.3            | 0.95 ± 0.53          |
|                     | "Q"             | 6        | 0.28 ± 0.15                    | 0.21 ± 0.24          | 0.02 ± 0.12          |
|                     | Combinação      | 6        | 0.25 ± 0.23                    | 1.8 ± 0.74           | 0.93 ± 0.52          |
| "q"                 | Refeição        | 11       | 1.1 ± 0.85                     | 5.7 ± 4.0            | 2.0 ± 1.9            |
|                     | "Q"             | 6        | 1.7 ± 1.0                      | 4.5 ± 3.4            | 1.2 ± 0.9            |
|                     | Combinação      | 6        | 1.4 ± 0.8                      | 7.9 ± 4.9            | 3.7 ± 2.5            |

n = número de estudos

"q" = conjugados do ácido quenodesoxicólico

\* =  $\bar{X} \pm$  D.P.

"cg" = ácido glicocólico

"Q" = ácido quenodesoxicólico

A resposta média de "cg" à Combinação foi mais elevada do que a resposta a "Q", ocorrência que demonstrou a especificidade do teste (Tabela 1). Essa resposta à Combinação não foi superior à obtida com a Refeição isolada. O pico médio de "q", após a Refeição, foi maior ( $p < 0,01$ ) do que após "Q". Novamente, porém, a resposta média à Combinação não pareceu ser potencializada (Fig. 5).

Para se verificar se a resposta à Combinação envolvia adição, somaram-se as respostas que cada indivíduo deu à Refeição e a "Q", separadamente. Do total da soma, subtraiu-se a resposta à Combinação, tendo como hipótese nula que o resultado seria igual a zero (ver seção de Métodos), ou seja: Combinação - (Refeição + "Q") = zero.

A Tabela 2 apresenta os dados individuais e a média para o pico e para a área sob a curva.

Pelo método utilizado, demonstra-se, através do teste t de Student a hipótese de que um efeito aditivo é rejeitado. Assim, para "ts" não houve adição no pico, mas a área sob a curva é limítrofe. No caso de "cg", não se rejeita a hipótese de um efeito aditivo, mas o indivíduo B tem o pico desviado 3,2 erros-padrão para baixo da média, e uma área sob a curva de 5,5 erros-padrão abaixo da média. Desconsiderado esse indivíduo, rejeita-se a possibilidade de um efeito aditivo nos outros cinco casos, seja no que se refere ao pico, seja no que respeita à área sob a curva (Tabela 2).

Não se rejeita a ocorrência de efeito aditivo em "q". Não se alterou "ts", nem provavelmente "cg", quando o ácido quenodesoxicólico foi combinado com a Refeição. Entre-

FIGURA 5

RESPOSTA COMPARADA ENTRE OS DIVERSOS ESTÍMULOS

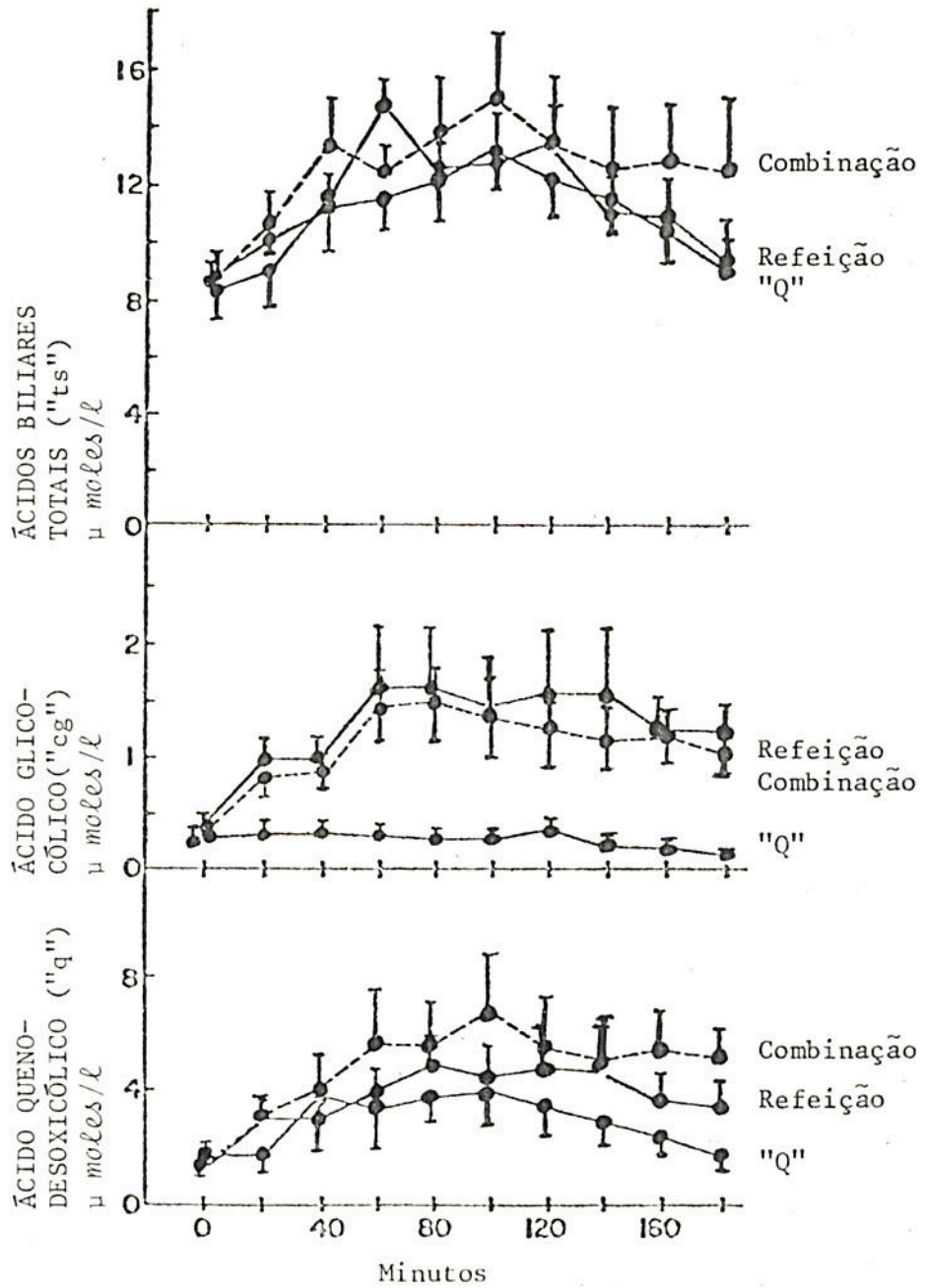




TABELA 2

## TESTE PARA A SOMA DA RESPOSTA DOS ÁCIDOS BILIARES SÉRICOS À REFEIÇÃO E A "Q"

Estatística "t" - Respostas individuais e médias  
 Probabilidade de que a resposta média à equação  $\frac{\text{Refeição 1} + \text{Refeição 2} + \text{"Q"}}{2}$  - (Refeição + "Q")=0 esteja correta

| ÁCIDO BILIAR | PARÂMETRO | INDIVÍDUO (t) |      |      |      |       |       | MÉDIA    | PROBABILIDADE |
|--------------|-----------|---------------|------|------|------|-------|-------|----------|---------------|
|              |           | B             | A    | C    | D    | E     | F     |          |               |
| "ts"         | Pico*     | 14.80         | 8.10 | 7.00 | 3.34 | 0.0   | 7.50  | 3.34     | p<0.025       |
|              | Área**    | 4.46          | 5.83 | 2.07 | 0.31 | -0.39 | 1.17  | 2.25     | p<0.1, ns     |
| "cg"         | Pico      | -2.12         | 1.26 | 0.52 | 0.30 | 0.87  | 1.13  | 0.06***  | ns            |
|              | Área      | -1.21         | 0.23 | 0.21 | 0.48 | 0.36  | 0.02  | 0.64**** | ns            |
| "q"          | Pico      | 2.50          | 1.76 | 0.14 | 6.90 | -4.85 | 6.66  | 0.47     | ns            |
|              | Área      | 0.25          | 0.34 | 0.57 | 2.77 | -1.93 | -0.28 | 1.22     | ns            |

"cg" = ácido glicocólico

"q" = conjugados do ácido quenodesoxicólico

"Q" = ácido quenodesoxicólico

ns = não-significativo

\* = pico ajustado

\*\* = área ajustada sob a curva

\*\*\* = sem B, pico médio = 4.49, p&lt;0.025

\*\*\*\* = área média = 3.39 p&lt;0.05

tanto, o aumento de "q" foi ~~apenas~~ de 77% para o pico médio e de 92% para a área média sob a curva, quando em confronto com a soma das respostas médias dos estímulos em separado. ~~Isto é,~~  
~~a resposta foi abaixo da que se esperava.~~

## DISCUSSÃO



A capacidade de mensuração dos ácidos biliares na circulação sistêmica torna possível o estudo das mínimas variações de suas concentrações em resposta a inúmeros estímulos sobre a circulação enterepática.

A detecção de tais variações exige duas condições:

- a) a ocorrência de estímulos apropriados na circulação enterepática que causem um afluxo dos ácidos biliares para o intestino delgado e sistema porta-hepático - seja por contração da vesícula biliar, seja por ingestão de ácidos biliares exógenos;
- b) a amostragem seriada de sangue periférico.

Os métodos utilizados neste estudo atendem a essas exigências e manifestam novas ocorrências em indivíduos normais porque definem a resposta da fração sistêmica, ou seja, da fração do "pool" de ácidos biliares presentes na circulação sistêmica num determinado momento.

A análise das diferentes respostas aos vários estímulos no grupo estudado comporta as seguintes considera-

ções:

#### Experimento 1: "H<sub>2</sub>O"

Presumivelmente não houve contração da vesícula biliar, tal como se esperava, confirmando os estudos que demonstram que a infusão salina intraduodenal não produz elevação significativa dos ácidos biliares na luz intestinal.<sup>3</sup> O discreto declínio que se verificou em alguns indivíduos, ao longo do período estudado, sugere um desvio contínuo de ácidos biliares para a vesícula biliar em repouso. Entretanto, não é possível afastar-se a hipótese de que ocorra uma captação mais eficiente pelo fígado, na medida em que se tornam disponíveis mais locais de absorção, pela decrescente circulação de ácidos biliares no estado de jejum.

A ausência de elevação dos ácidos biliares em face de estímulo "H<sub>2</sub>O" apóia o conceito de que a concentração sistêmica de ácidos biliares representa a fração não-captada pelo fígado e que escapa para a circulação sistêmica, sendo diretamente proporcional à absorção intestinal.<sup>12,21</sup>

#### Experimento 2: Refeição

Em resposta a esse estímulo, sabe-se que a vesícula biliar se contrai, enquanto se relaxa o esfíncter de Oddi, entrando um "bolus" de ácidos biliares na luz intestinal.<sup>3</sup>

A liberação concomitante de hormônios estimula a motilidade intestinal que, por sua vez, carrega aquela porção do "pool" dos ácidos biliares remanescentes no intestino

delgado em repouso para o local de maior absorção, ou seja, o íleo terminal. A elevação pós-prandial pode resultar de dois componentes: o primeiro, representando a absorção de ácidos biliares que estavam lentamente transitando no intestino, durante a fase de jejum; o segundo, representando os ácidos biliares expelidos pela vesícula biliar. É interessante notar que a resposta do ácido quenodesoxicólico e seus conjugados ("q") seguiu paralela à resposta a "cg", sugerindo que a Refeição não causou excessiva recirculação preferencial de ácidos biliares dihidroxilados sobre trihidroxilados (Fig. 1).

O aumento percentual da resposta máxima (pico) sobre os níveis basais de "cg" e "q" também foi idêntico, apesar de os níveis absolutos terem sido maiores em "q". As respostas corrigidas dos níveis máximos e da área sob a curva foram muito maiores em "q" do que em "cg", fato que provavelmente reflete a extração hepática menos eficiente de "q".<sup>9</sup> Essa ocorrência é confirmada pelos níveis mais elevados de "q" no estado de jejum, o que também se verificou em outros estudos.<sup>17,22</sup>

### Experimento 3: "CCK"

A infusão contínua de colecistocinina permitiu uma persistente descarga de ácidos biliares nos intestinos, com recirculação constante. Disso resultaram níveis de ácidos biliares séricos significativamente mais elevados, o que se verificou pelos três métodos. Essa ocorrência ficou mais evidente na última etapa do estudo, contrastando com a resposta à Refeição, que durante o mesmo período foi nitidamente decrescente.



## Experimento 4: "Q"

O aumento dos níveis de "ts" provavelmente representa a absorção desse ácido biliar administrado exogenamente. Não houve contração da vesícula biliar após esse estímulo, fato que se evidenciou pela resposta achatada dos níveis de "cg". Essa resposta para "cg" corrobora "in vivo" o que foi observado "in vitro", ou seja, que não há reação cruzada do ácido quenodesoxicólico e seus conjugados com o radioensaio para "cg".

## Experimento 5: Combinação

O exame da resposta máxima (pico) e da área sob a curva indica que a administração de "Q" mais Refeição não produziu efeito aditivo, seja para os níveis de "ts", seja para os de "cg", e que, surpreendentemente, ocasionou uma subtração dos níveis esperados para "q".

Os dados sugerem que o ácido quenodesoxicólico não-conjugado foi absorvido adequadamente, mas que os ácidos biliares endógenos, compreendendo a maior parte de "ts", foram absorvidos em menor quantidade nessa situação. Os dados relativos a "cg" confirmam essa evidência.

A implicação é que se o "pool" de ácidos biliares fosse predominantemente composto por ácido quenodesoxicólico - como durante sua administração continuada para dissolução de cálculos do colesterol<sup>4,22,29</sup> - o uso de "Q", quando ingerido com as refeições, não expandiria o "pool" de ácidos biliares de forma eficaz.

Esse dado está de acordo com a sugestão, ante-

riormente feita, de que a administração de ácido quenodesoxi-  
cólico entre as refeições ou à noite expandiria o "pool" de á-  
cidos biliares de forma mais eficiente.<sup>14</sup>

## CONCLUSÕES



## CONCLUSÕES

1. Todos os estímulos empregados ativaram a circulação enterepática dos ácidos biliares , significativamente, como evidenciado pela elevação desses últimos na circulação sistêmica;
2. A infusão intravenosa contínua de colecistocinina produziu o maior efeito, com significancia estatística, quando comparada com os outros estímulos empregados;
3. Não houve potencialização na resposta dos ácidos biliares na circulação sistêmica quando o ácido quenodesoxicólico foi combinado com a Refeição. Surpreendentemente, houve uma aparente diminuição na absorção de outros ácidos biliares de origem endógena; prouvébe
4. A análise das respostas dos ácidos biliares na circulação sistêmica, tanto utilizando o método enzimático quanto o método por radioimunoensaio, permitiu observar elevações significativas sobre os seus níveis basais;
5. O método por radioimunoensaio parece ser o mais sensível pois detectou efeitos proporcionalmente mais elevados do que o método enzimático, na observação dos mesmos fenômenos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ACCATINO, L. & SIMON F.R. Identification and characterization of a bile acid receptor in isolated liver surface membranes. J. Lipid. Res., 18:666-671, 1977.
- 2 - AHLBERG, J.; ANGELIN, B.; BJORKHEM, I. et al. Individual bile acids in portal venous and systemic blood serum of fasting man. Gastroenterology, 73:1377-82, 1977.
- 3 - ASHKIN, J.R.; LYON, D.T.; SHULL, S.D. et al. Factors affecting the delivery of bile to the duodenum in man. Gastroenterology, 74:450-565, 1978.
- 4 - DANZINGER, R.G.; HOFMANN, A.F.; SCHOENFIELD, L.J. et al. Dissolution of cholesterol gallstones by chenodeoxycholic acid. New Engl. J. Med., 286:1-8, 1972.
- 5 - DAVENPORT, H.W. Physiology of the digestive tract. 4.ed. Chicago, Year Book Med. Publ., 1977.
- 6 - DIETSCHY, J.M. Mechanisms for the intestinal absorption of bile acids. J. Lipid. Res., 9:297-309, 1968.
- 7 - EINARSSON, K.A.; GRUNDY, S.M.; HARDISON, W.G.M. Enterohepatic circulation rate of cholic acid and chenodeoxycholic acid in man. Gut, 20:1078-1082, 1979.
- 8 - GLASINOVIC, J.C.; DUMONT, M.; DUVAL, M. et al. Hepatocellular uptake of taurocholate in the dog. J.Clin.Invest., 55:419-426, 1975.
- 9 - HOFMANN, A.F. The enterohepatic circulation of bile acids. Clinics in Gastroenterology, 6:3-24, 1977.

- 10 - HOFMANN, A.F. Fat absorption and malabsorption: physiology, diagnosis and treatment. In View Points Dig. Dis., 9(4), 1977.
- 11 - KRAG, E. & PHILLIPS, S.F. Active and passive bile acid absorption in man. Perfusion studies of the ileum and jejunum. J. Clin. Invest., 53:1686-1694, 1974.
- 12 - LARUSSO, N.F.; KORMAN, M.G.; HOFFMAN, N.E. et al. Dynamics of the enterohepatic circulation of bile acids: Post-prandial serum concentration of conjugate of cholic acid in healthy, cholecystectomized patients, and patients with bile acid malabsorption. N.Engl.J.Med., 291:689-692, 1974.
- 13 - LARUSSO, N.F.; HOFFMAN, N.E.; KORMAN, M.G. et al. Determinants of fasting and post-prandial serum bile acid levels in healthy man. Dig. Dis., 23:385-381, 1978.
- 14 - MAUDGAL, D.P.; BIRD, R.; NORTHFIELD, T.C. Optimal timing of doses of chenodeoxycholic acid in patients with gallstones. Br. Med. J., 1:922-923, 1979.
- 15 - MILLER, P.C.; WEISS, S.G.; BALISTRETI, W.F. Development and clinical application of a specific <sup>125</sup>I radioimmunoassay for cholyglycine. Clin. Chem., 1981.
- 16 - PENNINGTON, C.K.; ROSS, P.E.; BOUCHIER, I.A.D. Fasting and post-prandial serum bile acid concentrations in normal persons using an improved GLC method. Digestion, 17:56-62, 1978.
- 17 - PONZ DE LEON, M.; MURPHY, G.M.; DOWLING, R.H. Physiologic factors influencing serum bile acid levels. Gut, 19:32-39, 1978.
- 18 - PONZ DE LEON, M.; LORIA, P.; CARULLI, N. et al. Intestinal solubilization absorption, pharmacokinetics and bio-availability of chenodeoxycholic acid. Eur.J.Clin., 10:261-271, 1980.
- 19 - PRIES, J.M.; SHERMAN, C.A.; WILLIAMS, G.C. et. al. Hepatic extraction of bile salts in the conscious dog. Am.



- J. Physiol., 236:E191-E197, 1979.
- 20 - REICHEN, J.; PAUMGARTNER, G. Uptake of bile acids by perfused rat liver. Am. J. Physiol., 231:734-742, 1976.
- 21 - SHAFFER, E.A.; GORDON, E.R. Serum bile acids as related to bile acid secretion in liver disease. Dig. Dis., 23:392-397, 1978.
- 22 - SCHALM, S.N.; LARUSSO, N.F.; HOFMANN, A.F. et al. Diurnal serum levels of primary bile acids assessment by specific radioimmunoassays for conjugates of cholic and chenodeoxycholic acid. Gut, 19:1006-1014, 1978.
- 23 - SHULL, J.H. Jr.; WILKINSON, G.R.; JOHNSON, R. Normal disposition of oxazepam in acute viral hepatitis. Ann. Intern. Med., 84:420-425, 1976.
- 24 - SISKOS, P.A.; CAHILL, P.T.; JAVITT, N.B. Serum bile acid analysis: a rapid direct enzymatic method using dual-beam spectrophotofluorimetry. J. Lipid. Res., 18:666-671, 1977.
- 25 - SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. Statistical methods. 6th ed. Ames, Iowa, Iowa State University Press, 1967. p. 32-65.
- 26 - SUCHY, S.J.; BALISTRERI, W.F.; HEUBI, J.E. et al. Physiologic cholestasis: Elevation of the primary serum bile acid concentration in normal infants. Gastroenterology, 80:1037-1041, 1981.
- 27 - THISTLE, J.L.; SCHÖENFIELD, L.J. Induced alterations in composition of bile of persons having cholelithiasis. Gastroenterology, 61:488-496, 1971.
- 28 - URIBE, M.; SCHALM, S.W.; SUMMERSKILL, W.H.J. et al. Oral prednisone for chronic active liver disease: dose responses and bioavailability studies. Gut, 19:1131-1135, 1978.
- 29 - VAN BERGE-HENEGOUWEN, G.P. & HOFMANN A.F. Pharmacology of chenodeoxycholic acid. II Absorption and metabolism. Gastroenterology, 73:300-309, 1977.