

A SZERVES ANIONOK HEPATIKUS TRANSPORTJA

FISCHER EMIL

POTE Gyógyszertani Intézet, Pécs

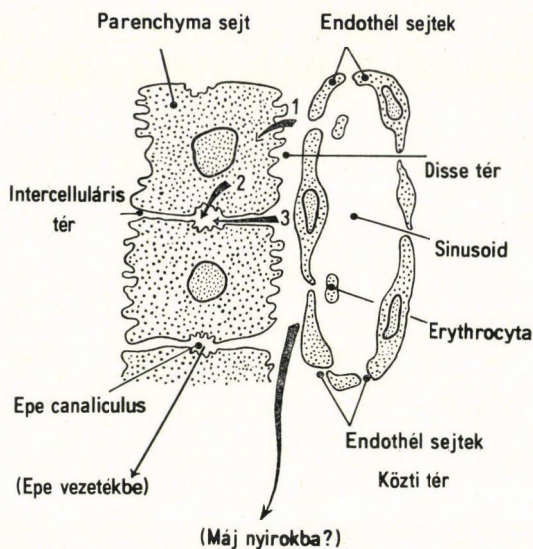
A gázhalmazállapotú vegyületektől eltekintve a farmakonok szervezetből történő kiválasztásában a vese után a májnak van a legfontosabb szerepe. A máj szekréciós tevékenysége sokrétű: az epével választja ki a különböző endogén és exogén anyagokat, többek között például az epesavakat, illetve gyógyszereket [88, 83, 93, 7, 78]. Az epével a vékonybélbe jutott vegyületek onnan vagy végleg eltávoznak a szervezetből a székklettel, vagy ismét felszívódnak. Az utóbbi esetben egy körforgás alakul ki a bél és a máj között, amit entero-hepatikus cirkulációnak nevezünk [82].

Az epével kiürülő exogén természetű anyagok igen különböző kémiai szerkezettel rendelkeznek [83, 78, 38]. Csak abban közösek ezek a vegyületek, hogy molekulásúlyuk 300-nál nagyobb, és rendszerint erősen polárosak. A 150-nél kisebb molekulásúlyú vegyületek elsősorban a vesén keresztül távoznak a szervezetből [82, 104, 1]. A 150 és 300 közötti molekulásúlyúak mind a májon, mind a vesén át kiválasztódhatnak [83].

A vegyületek kémiai szerkezetének [30, 29], molekulásúlyának, illetve polaritásának [56] a megváltoztatása, valamint az endogén metabolizmusa nagy mértékben befolyásolja azok kiválasztódását [92, 55, 74, 2, 35, 9]. Szépen demonstrálja ezt VAN LOON és munkatársainak [51] fenotiazinokkal végzett vizsgálata. A klórpromazin kb. 1 : 1 arányban jelenik meg az epében és a vizeletben, a proklórperazinnál ez az arány már 8 : 1-hez, míg a trifluoperazin esetében 30-szor nagyobb mennyiség ürül az epével, mint a vizelettel.

Biológiai hatékonyságukat tekintve nagyon eltérő típusúak ürülnek az epével, például a kábító-fájdalomcsillapító morfin, antibiotikumok (penicillin, klóramfenikol, tetraciklinek, erythromycin), trunkvilláns hatású fenotiazinok stb. [83].

Az epével kiválasztódó vegyületek egyik lehetséges felosztása aszerint történik, hogy milyen az illető anyag epében és plazmában mért koncentrációjának a hányadosa [7, 78]. Ebből a szempontból három csoport különíthető el: 1. az epében mért koncentráció nagyobb a plazmáénál, azaz a hányados értéke egynél nagyobb, például epesavak, bilirubin, brómszulfalein, penicillinek, tetraciklinek, fenotiazinok; 2. epe/plazma arány megközelítőleg egy,



I. ábra. A vegyületek plazmából epébe való jutásának lehetséges útjai. ASHWORTH és SANDERS [4] nyomán vázlatosan

többek között a Na, a K, és a glukóz esetében; 3. az anyag epében mért koncentrációja kisebb, mint a plazmáé, azaz a hányados egynél kisebb, például foszfátok, fehérjék.

A hepatikus transzfer folyamatok tanulmányozása szempontjából elvileg és a különböző vegyületek eliminációjának gyakorlati vonatkozásai miatt is az 1. pontban említettek a legfontosabbak. Ezeknél az epében mért koncentráció sokszorosa, néha esetleg száz- vagy ezerszerese is lehet a plazmában mért koncentrációnak. Az idesorolt vegyületek lehetnek: a) szerves anionok vagy olyan vegyületek, melyek glutationnal, glukuronsavval, glicinnel stb. való konjugáció után válnak azzá, például morfin-glukuronid; vagy pedig b) szerves kationok, kvaterner ammónium-vegyületek [78].

Igazolt és általánosan elfogadott az a nézet, hogy más transzport-mechanizmussal választódnak ki az organikus anionok, és más transzport-rendszerrel a szerves bázisok [75, 83, 84]. Emellett szól például az, hogy a bázikus tulajdonságú prokainamid-etobromid hepatikus transzportját egyéb kvaterner aminok gátolják, de a szerves savak nem befolyásolják [77].

A továbbiakban csak az organikus anionok aktív transzferével kívánok foglalkozni. Ezek epébe történő kiválasztódása három fő lépésből áll: a vegyületek májsejtbe való felvételéből, az esetleges metabolizusból és az epe-csatornácskába irányuló aktív transzferből. A vegyületek epébe kerülésének útját az 1. ábra szemlélteti vázlatosan.

Minthogy a máj vérkapillárisainak endotélje csak az alakos elemek számára nem átjárható, az extracelluláris térben az anyag koncentrációja praktikusán azonosnak vehető a plazma anyag koncentrációjával [76]. A májsejt vérkapilláris felé néző membránja lipoid-oldékony anyagok számára könnyen átjárható [42]. A lipoidban gyakorlatilag oldhatatlan nádcukor is bejut azonban az epébe [76], bár ezzel kapcsolatban nem lehet kizárni egy esetleges intercelluláris út lehetőségét. Az ureáról, a kreatininről, az eritritolról, a szorbitolról és a mannitolról kimutatták, hogy a máj összvízterében egyenlően oszlanak meg [10]. Ezek az adatok arra utalnak, hogy a májsejt vérkapilláris felé néző membránja porózusabb, mint más sejtek citomembránja [76]. Emellett a májsejtbe könnyen bejutnak olyan anyagok is, melyek molekulásúlya 1000 fölött van, például a biligráfin.

A májsejtbe jutott anyagok egy része átalakulhat, melynek eredményeképpen polárisabbá válik [82, 83]. Ez részben az endoplazmás retikulumban történik NADP. H és citokrom P-450-dependens enzimatis reakció segítségével [23], részben a citoplazmában [22, 81, 103, 65, 28]. A következő lépés az intracelluláris térből az epekapillárisokba való transzlokáció.

A koncentráció grádienssel szembeni anyagáramlás magyarázatára — legalábbis elméletileg — több transzfer folyamat különböző kombinációja jöhet szóba. A vegyületek bejutásának módja SCHANKER [78] szerint:

<i>a májsejtbe</i> (1. membrán)		<i>az epébe</i> (2. membrán)
1. diffúzió	—	aktív transzport
2. aktív transzport	—	diffúzió
3. aktív transzport	—	facilitált diffúzió
4. pinocitózis	—	facilitált diffúzió
5. facilitált diffúzió	—	aktív transzport

Mai ismereteink alapján azt mondhatjuk, hogy az 1. számú kombináció nagyon valószínűtlen, mert ha a májsejt membránjának egy része szabadon permeábilis lenne nagy, 500—1500 molekulásúlyú anionok és kationok számára, akkor nehezen érthető, miként tudja a sejt akkumulálni a káliumot és távol-tartani a nátriumot. A 2. számú kombináció a tapasztalat szerint szintén valószínűtlen. In vivo fluoreszcens mikroszkóppal megfigyelhető, hogy a fluorescein az epekapillárisokban nagyobb koncentrációban van jelen, mint a májsejtekben [27]. A p-acetyl-aminohippursavról pedig kimutatták, hogy koncentrációja az epében 20—30-szor magasabb, mint a máj intracelluláris vízterében [41]. Ezek alapján a 3. számú lehetőség sem látszik megalapozottnak.

Pinocitózissal is kerülhetnek anyagok a máj parenchyma sejtekbe [4, 31]. Biztosra vehető azonban, hogy számos esetben a pinocitózis önmagában nem

lehet felelős az intracelluláris akkumulációért. Például brómszulfaleinből annyival magasabb a koncentráció a májban, mint a plazmában, hogy ennek létrehozására a sejtnak az extracelluláris térből saját volumenének többszörösét kellene felvennie percek alatt. Legvalószínűbb, hogy a felvételben elsősorban facilitált diffúzió játszik szerepet, az intracelluláris térből az epecsatornácákba történő transzlokációban pedig aktív transzfer.

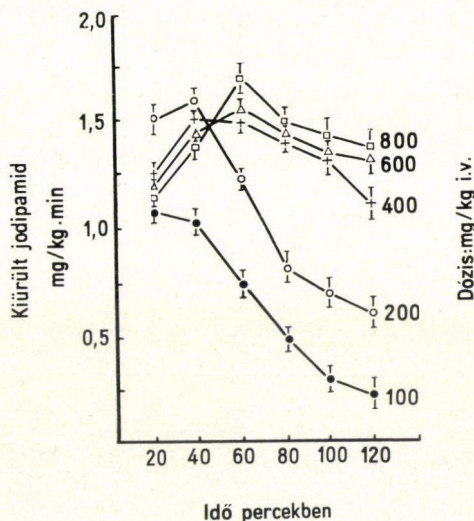
A membrán morfológiájáról [69, 72], kémiájáról és biokémiájáról [19, 85], az egyes transzport- mechanizmusokról [93, 21, 24] kitűnő összefoglaló munkák jelentek meg, ezért e kérdésekre szükségtelen kitérni.

A hepatikus transzport- folyamatok vizsgálata a máj anatómiai szerkezete [71, 64], speciális vérellátása [8, 15], összetett funkciója, valamint az epetermelés mechanizmusára vonatkozó hiányos ismereteink miatt nehézségekbe ütközik [98, 100, 80, 87, 90, 38, 52, 12]. Sok vegyület vagy gyógyszer a toxikus hatás miatt kísérleti állatnak nem adható olyan nagy dózisban, melynél a transzport folyamatok egyik jellemző paramétere, a transzport- maximum (Tm) elérhető lenne. A máj szekréciós tevékenységével kapcsolatos folyamatok tanulmányozására ezért rendszerint olyan atoxikus vegyületeket — többnyire különböző festékeket, mint például indocyanin zöldet [97, 36, 25, 26, 91, 37], brómszulfaleint [26, 95, 14], bengálvöröst [48, 17, 94], azofestékeket [63, 61, 73, 74, 32] stb. — választanak, melyek lehetőleg nem metabolizálódnak, vagy nincs sok metabolitjuk, meghatározásuk viszonylag könnyű és megbízható, és magas koncentrációt érnek el az epében [70, 96].

A továbbiakban elsősorban saját kísérleteinkről szeretnék beszámolni. Vizsgálataink során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy mi a limitáló lépés az epével történő kiválasztásban; a májsejtekbe történő bejutás, a metabolizmus vagy a kiválasztó rendszer funkcionális kapacitása?

Kísérleteinket aldatott patkányokon végeztük. A vizsgálandó anyagokat a vena femoralisba adtuk. A közös epevezetékbe polietilén kanült kötöttünk és az epét 20 perces periódusokban gyűjtöttük. A kísérlet végén az állatokat elvéreztettük és meghatároztuk a vizsgált anyag koncentrációját az epében, a plazmában és a májban. A meghatározásokkal kapcsolatos metodikai részletekre (spektrofotometriás meghatározások, izotópos mérések, metabolitok szétválasztása stb.) nem térünk ki, ezeket másutt már ismertettük [16, 17, 18, 94, 95]. Az epekoncentráció és az epevolumen alapján kiszámítható a kiürült anyag mennyisége, melyet μg , ill. $\text{mg}/\text{kg} \cdot \text{min}$ vagy $\mu\text{mol}/\text{kg} \cdot \text{min}$ értékben fejeztük ki.

Az első kérdés, melyet vizsgáltunk, az volt, hogy a szerves anionok transzfer maximum értékei milyen mértékben hasonlítanak vagy térnek el egymástól. A kontrasztanyagként használt jodipamid (Biligrafin^R) igen nagy koncentrációban ürül az epével [16, 20, 39, 43]. Amint a 2. ábrán látható, a dózis növelésével az epével kiválasztott jodipamid mennyisége egy maximum felé tendál. Lényegében erre a következtetésre jutunk akkor is, ha mindegyik



2. ábra. A jodipamid kiválasztódása az epével különböző dózisosok adása után. Egy-egy pont 5–8 patkány átlagértéke \pm S. E.

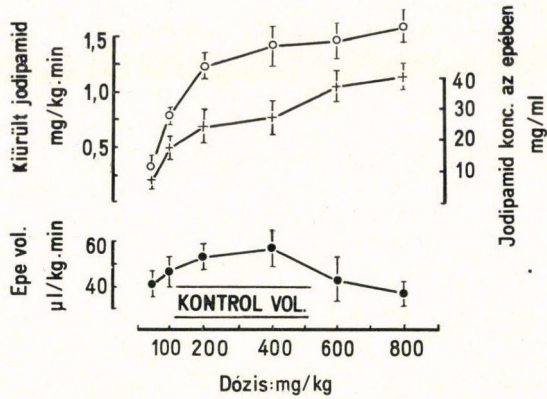
dózisnál kiszámítjuk a három legnagyobb ürülést mutató periódus átlagát és ezt ábrázoljuk a dózis függvényében (3. ábra). Ezen adatok alapján a jodipamid transzfer maximuma kb. 1,5 mg/kg · min értéknek felel meg. LINEWEAVER és BURK [49] szerint ábrázolva adatainkat — ahol az abszcisszán az alkalmazott dózis reciproka, az ordinátán pedig a kiválasztási értékek reciproka van feltüntetve — egyenest kapunk (4. ábra). Az egyenes és az Y-tengely metszéspontja felel meg a T_m reciprok értékének. A T_m ezen ábrázolási módnál 1,59 mg/kg · min-nak adódik.

Hasonló kísérletsorozattal vizsgáltuk még néhány más vegyület epével történő kiválasztódását is. Széles dózistartományban adtuk az anyagokat, majd a kiválasztási értékek adataiból WILKINSON [102] módszerével számítottuk ki a transzfer maximumot és annak standard hibáját (I. táblázat).

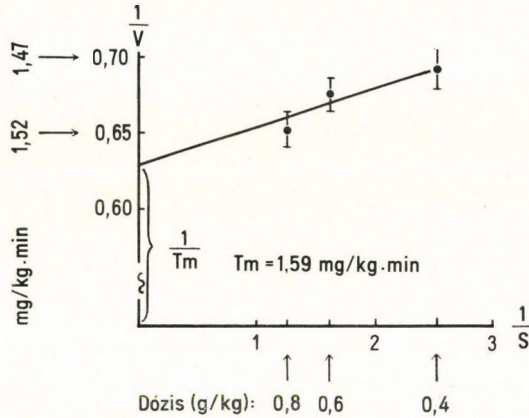
I. táblázat

	Transzfer maximum	
	$\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{min}$	$\mu\text{mol}/\text{kg} \cdot \text{min}$
Indocyanin zöld	$102 \pm 9,42^1$	$0,119 \pm 0,011^1$
Bengálvörös	$127 \pm 11,1$	$0,125 \pm 0,011$
Eozin	$548 \pm 45,4$	$0,790 \pm 0,083$
Brómszulfalein	$605 \pm 49,0$	$0,722 \pm 0,058$
Amaranth	$1130 \pm 82,0$	$1,880 \pm 0,137$
Jodipamid	1590 ± 197	$1,390 \pm 0,173$

¹ A transzfer maximumot (T_m) és annak S. E.-jét WILKINSON (102) szerint számítottuk 4–8 különböző dózis, dózisonként 5–12 patkány átlagértékei alapján.

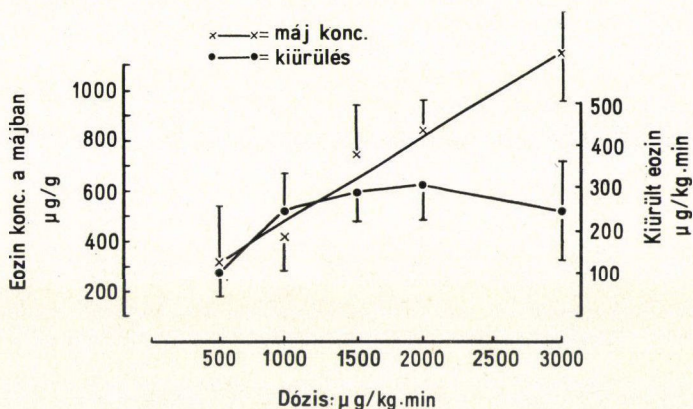


3. ábra. A jodipamid kiválasztódása patkányepével különböző dózisok adása esetén. Az adatok 5–8 állat átlagértékét és S. E.-jét jelentik. ●—● = epevolumen, ○—○ = kiválasztott mennyiség, +—+ = koncentráció az epében



4. ábra. A jodipamid kiválasztódása patkányban LINEWEAVER és BURK [49] szerint feltüntetve: abszcisszán a dózis reciproka, ordinátán a kiválasztott mennyiség reciproka. Egy-egy pont 6–8 patkány átlagértéke \pm S. E.

A táblázat adataiból kitűnik, hogy legkisebb a T_m -érték az indocyanin zöldnél, nagyobb már a bengálvörösnél, a brómszulfaleinnél és az eoziinnál, és a legmagasabb értékeket a jodipamidnál, valamint az amarantnál tapasztaltuk. A T_m -értékek összehasonlításánál még az is szembetűnő, hogy a legkisebb és a legnagyobb adatok között igen nagy különbség van, akár a $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{min}$ -ban, akár a $\mu\text{mol}/\text{kg} \cdot \text{min}$ -ban kifejezett értékeket vesszük tekintetbe. Ez már önmagában is felveti azt a nagyon érdekes elvi kérdést, hogy az organikus anionok valóban azonos transzport-rendszerrel választódnak-e ki. A vegyületek kiválasztódásában észlelt nagy különbségek természetesen sok más tényezővel is összefügghetnek, például azzal, hogy az egyik vegyület nagyobb koncentrációban halmozódik fel a májban, mit a másik.

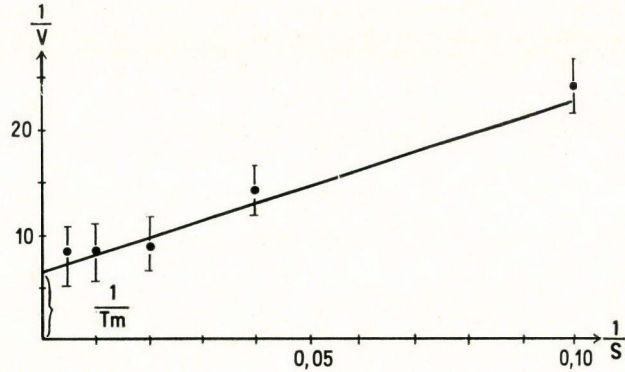


5. ábra. Az eozin epével történő kiválasztódása és koncentrációja a májban, különböző dózisos i. v. infundálásakor. Egy-egy pont 5 állat átlagértéke \pm S. E.

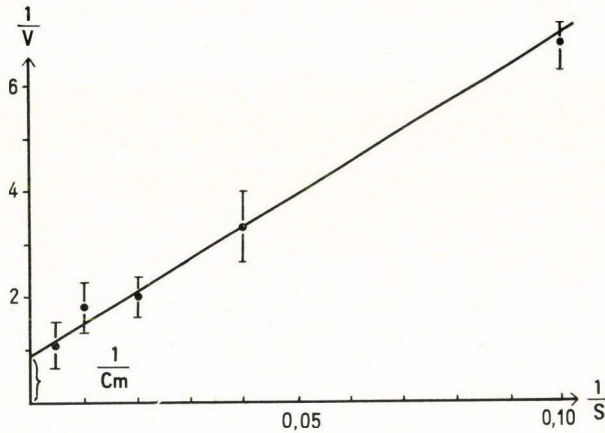
A májban mérhető koncentráció és a kiválasztás viszonyára vonatkozó kísérleteinkből szeretnék néhány adatot ismertetni az alábbiakban.

Az 5. ábrán az epével ürült eozin mennyisége van feltüntetve, valamint az eozin májban mért koncentrációja. Látható, hogy a dózis növelésével párhuzamosan emelkedik a vegyület koncentrációja a májban. Ugyanakkor a kiválasztási érték csak egy bizonyos határig nő, és tovább már nem emelkedik nagyobb dózisok adása esetén sem. Mindez arra utal, hogy az eozin májba történő felvétele, illetve a máj eozin-koncentrációja nem lehet limitáló faktora a transzfer maximumnak. Lényegében ugyanezt találtuk — természetesen más-más abszolút értékkel — további öt vegyület vizsgálata kapcsán is. Kivételt képez a bengálvörös. Éppen ezért erről kissé részletesebben kívánok beszámolni. Ez azért is indokoltnak látszik, mert a bengálvörös egyike azon festékeknek, melyek állatkísérletekben és a klinikai diagnosztikában igen gyakran használnak mind a máj vérellátásának, mind pedig kiválasztási funkciójának a meghatározására. Széles körű alkalmazását annak köszönheti, hogy meghatározása viszonylag egyszerű és megbízható, nem toxikus és zömmel az epével választódik ki. Minthogy nem, illetve akut kísérletek ideje alatt csak elhanyagolhatóan kis mértékben metabolizálódik [34], a hepatikus felvétel és a kiválasztás közti kapcsolat vizsgálatára különösen alkalmas [94, 17, 54, 89].

A bengálvörös Tm-je $127 \mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{min}$ -nak felel meg (6. ábra). A máj bengálvörös tárolási kapacitása is telíthető, azaz egy meghatározott mennyiségnél többet már nem tud felvenni. Ez az érték $1050 \mu\text{g}/\text{g}$ -nak felel meg (7. ábra). A tárolási kapacitás azonban nem lehet limitáló tényezője a transzfer maximumnak, mert a legnagyobb kiválasztási érték (Tm) már olyan dózisonál elérhető (50 mg/kg-nál), melynél a máj bengálvörös-tárolási kapacitása még



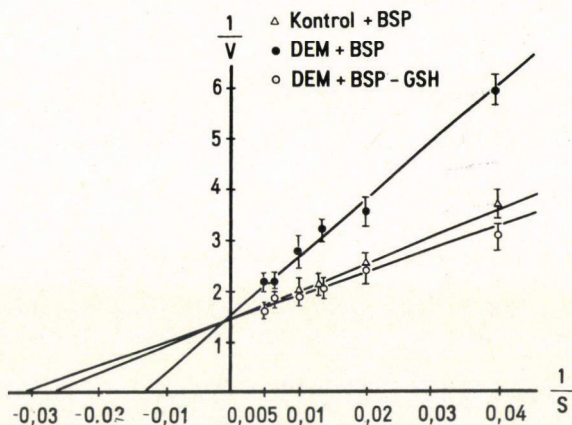
6. ábra. A bengálvörös kiválasztódása az epével. Abszcisszán a mg/kg-ban kifejezett dózis reciproka, ordinátán a mg/kg · min-ban kifejezett kiválasztási érték reciproka van feltüntetve. A pontok 6–10 patkány átlagértékei \pm S. E.



7. ábra. A bengálvörös koncentrációja a májban különböző dózisok adása után. Abszcisszán a mg/kg-ban kifejezett dózis reciproka, ordinátán a mg/g-ban kifejezett koncentráció érték reciproka van feltüntetve. A pontok 6–8 állat átlagértékét és a S. E.-t jelentik

korántsem telített. Az 50 mg/kg adag után ugyanis a máj bengálvörös-koncentrációja nem magasabb 550 μ g/g-nál.

Az irodalomban vitatott kérdés az, hogy a biotranszformációnak mi a szerepe a kiválasztásban: előfeltétele-e a kiürülésnek vagy sem, limitáló lépése-e a T_m -nek vagy sem? A bilirubinból ismert, hogy csak glukuroniddal konjugálva ürül [12]. A biotranszformáció tehát előfeltétele a kiválasztódásnak. Azonban akár bilirubint, akár bilirubin-glukuronidot adnak a patkányoknak, a T_m ugyanaz [3], vagyis a konjugálás, bár előfeltétele a kiválasztódásnak, de nem limitáló faktora a T_m -nek. A bilirubinnal szerzett tapasztalatokat azonban általánosítani nem lehet [60].

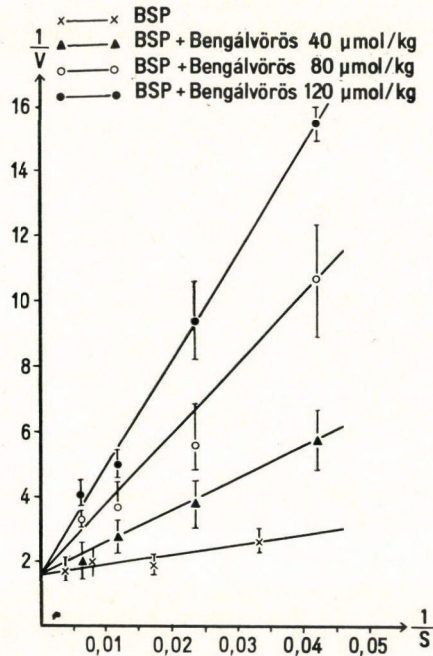


8. ábra. A brómszulfalein és a brómszulfalein glutation kiválasztódása az epével LINEWEAVER és BURK [49] szerint ábrázolva. Abszcisszán a dózis (mg/kg) reciproka van feltüntetve. A dietilmaleátot (DEM) az anyag beadása előtt fél órával kapták az állatok. Egy-egy pont 6–8 patkány átlagértéke \pm S. E.

E kérdés vizsgálatára kiválóan alkalmas a brómszulfalein (BSP). A BSP kutyánál [6, 53, 33], patkányánál [11], embernél [53] a májban glutationnal konjugálódik. Patkányánál a BSP kb. 70–80%-a mint BSP-glutacion konjugátum ürül, és csak a fennmaradó kisebb hányada választódik ki szabad formában [40]. Ez utóbbi arra utal, hogy BSP esetén a konjugálás nem előfeltétele a transzportnak.

Minthogy a BSP a májban folyamatosan konjugálódik glutationnal, a szabad és konjugált BSP intracelluláris koncentrációja pillanatról pillanatra változik, ezért a szabad és konjugált BSP (BSP–GSH) transzfer maximuma nem határozható meg. Ennek vizsgálata csak olyan kísérleti körülmények között lehetséges, ha a BSP nem metabolizálódik. Ilyen kísérleti feltétel létrehozására két út kínálkozik: vagy csökkentjük a máj glutacion-koncentrációját, vagy a glutation-S-aryl transzferázt gátoljuk [11, 62]. Kísérleteinkben mi az első lehetőséget választottuk. BOYLAND és CHASSEAUD [5] vizsgálatai szerint patkányokon az i. p. adott dietilmaleát a máj GSH koncentrációját egy óra alatt a kontroll érték 1/10-ére csökkenti. Saját kísérleteinkben azt találtuk, hogy dietilmaleát adása után az epével ürült össz-BSP-nek legfeljebb 10%-a volt konjugálva [95].

A dietilmaleáttal előkezelt patkányoknak BSP-t vagy nyúlepéből izolált, tehát exogén BSP–GSH-t adtunk. A két vegyület transzfer maximuma nem tért el egymástól (8. ábra). A konjugálódás tehát nem determinálja a T_m értékét sem. A két vegyület között az eltérés csupán annyi, hogy a BSP–GSH nagyobb affinitást mutat a transzfer rendszer iránt, mint a BSP: alacsonyabb adagoknál a BSP–GSH-ból több ürül, mint a BSP-ből [95].



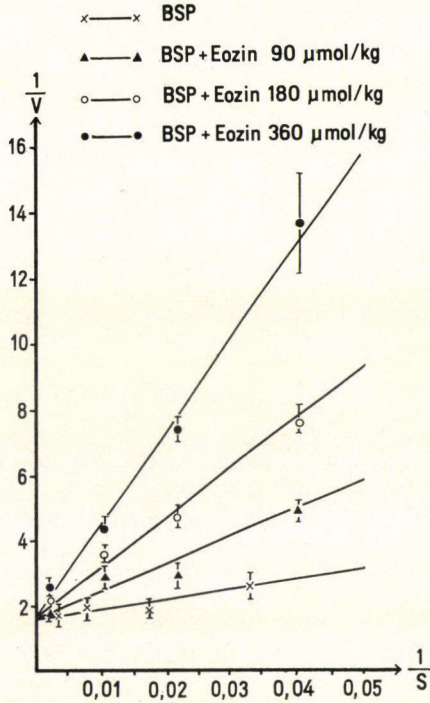
9. ábra. A brómszulfalein kiválasztódása az epével bengálvörös egyidejű adása után. Az Y-tengelyen a BSP-ürülés ($\mu\text{mol}/\text{kg} \cdot \text{min}$) reciprokát, az X-tengelyen a BSP dózisának (mmol/kg) reciprokát ábrázoltuk. Egy-egy pont 6–8 állat átlagát és a S. E.-t jelenti

A transzcelluláris transzport egyes szakaszai (felvétel, metabolizmus, szekréció) jelentőségének további vizsgálatára olyan kísérleteket végeztünk, melyek során az említett vegyületeket kombinálva adtuk, és vizsgáltuk azok epébe történő kiválasztódását, valamint koncentrációjukat a májban és a plazmában.

A BSP és a különböző dózisu bengálvörös adása során nyert kísérleti eredményeinket a 9. ábrán tüntettük fel. A 40, 80 és 120 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ -os dózisban adott bengálvörös jelentős mértékben és az adagtól függően gátolta a BSP kiválasztódását az epével.

A 10. ábra a BSP eoizzal történő együttes adása során kapott eredményeket foglalja össze. Az eoizin is gátolja a BSP ürülését az epével, az alkalmazott dózistól függően. Ami a BSP kiválasztódásában észlelt gátlást illeti, a görbék lefutásából megállapítható, hogy a gátlás — a BSP bengálvörössel történő kombinációjánál észleltekhöz hasonlóan — kompetitív jellegű.

Az amaranth is gátolta a BSP kiürülését (11. ábra), a gátlás jellege azonban más volt, mint amit az előző két vegyületnél láttunk. A különböző dózisu amaranth-tal történő kombinálás során a BSP ürülési értékek görbéi csaknem párhuzamosan tolódtak el, és így más-más pontban metszik az ordi-



10. ábra. A brómszulfalein kiválasztódása az epével eozin egyidejű adása esetén. Az Y-tengelyen a BSP-ürülés ($\mu\text{mol}/\text{kg} \cdot \text{min}$) reciprokát, az X-tengelyen a BSP dózisának (mmol/kg) reciprokát ábrázoltuk. Egy-egy pont 6–8 állat átlagát és a S. E.-t jelenti

nátát, ami azt jelenti, hogy az amaranth nem kompetitíve gátolta a BSP kiválasztódását.

A kombinációs kísérletekben nyert eredményeinket a 12. ábrán foglaltuk össze. Az amaranth, eozin és bengálvörös azonos dózisainak kombinálása BSP-vel különböző mértékben és módon gátolta a BSP kiválasztódását. A bengálvörös és az eozin kompetitíve gátolta a BSP kiürülését. Megállapítható az is, hogy a bengálvörös gátló hatása nagyobb, mint az eoziné. Az amaranth gátló effektusa kisebb mértékű és nem kompetitív jellegű.

A kompetíció lehetséges a májba való felvételnél, a metabolizmusnál és a kiválasztódásnál. E kérdés tisztázására megvizsgáltuk a kombinációban adott vegyületek koncentrációját a plazmában és a májban, illetve tanulmányoztuk a BSP konjugálódásának mértékét.

Amint a II. táblázat adataiból megállapítható, a brómszulfalein koncentrációja a plazmában és a májban nem kisebb, sőt még magasabb is annál az értéknél, melyet akkor kaptunk, ha a BSP-t önmagában adtuk.

A 13. ábra a konjugált és szabad BSP százalékos arányát tünteti fel a különböző kombinációk alkalmazása esetén. Az adatokból kiderül, hogy a

II. táblázat

A brómszulfalein kiválasztódása, valamint a plazmában és a májban mért koncentrációja, bengálvörössel, eozinnal és amarant-hal történő egyidejű adás után

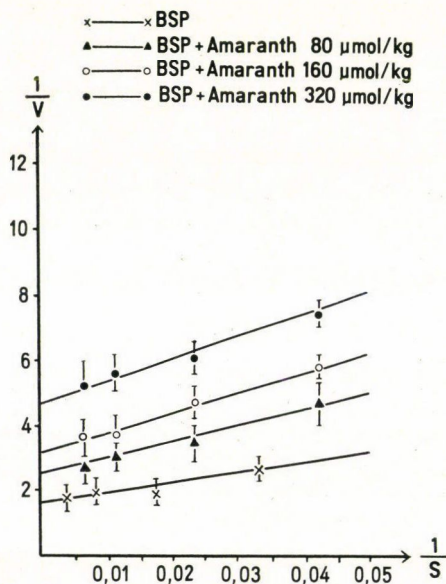
	Dózis $\mu\text{mol/kg}$ i. v.	Brómszulfalein kiválasztódás $\text{nmol/kg} \cdot \text{min}$	Brómszulfalein koncentráció	
			a plazmában nmol/ml	a májban nmol/g
Brómszulfalein	60	548 ± 43^1	39 ± 4	98 ± 12
Brómszulfalein + Bengálvörös	60	285 ± 15	86 ± 6	239 ± 28
Brómszulfalein + Eozin	100	306 ± 27	95 ± 12	322 ± 36
Brómszulfalein + Amaranth	60	263 ± 24	135 ± 15	271 ± 34
	400			

¹ A kiválasztási adatok az anyag beadása utáni 60. és 80. perc közötti ürülésre vonatkoznak. A plazma- és májmintákat a 80. percen vettük.

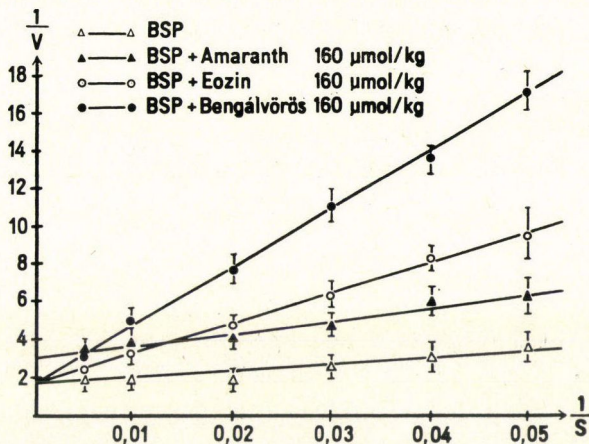
Az adatok 6–9 állat átlagértékeit és a S. E.-t jelentik.

konjugált BSP aránya nem csökken a bengálvörös, eozin és amarant-hal történő kombináció során, pedig a BSP kiválasztódását mind a három anyag gátolja az alkalmazott dózisokban.

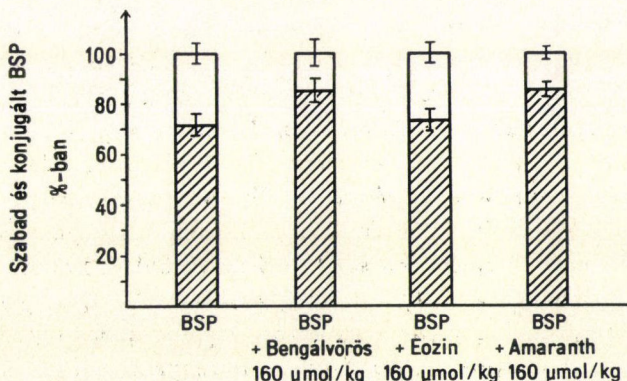
Az ismerttetett adatok alapján megállapítható tehát, hogy a kombinációs kísérletek során a BSP kiürülésében tapasztalt gátlás nem magyarázható sem



II. ábra. A brómszulfalein kiválasztódása az epével amarant-hal történő együttes adagolás esetén. Az Y-tengelyen a BSP-ürülés ($\mu\text{mol/kg min}$) reciprokát, az X-tengelyen a BSP dózisének (mmol/kg) reciprokát ábrázoltuk. Egy-egy pont 6–8 állat átlagát és a S. E.-t jelenti



12. ábra. A brómszulfalein epével történő kiválasztódása 160 $\mu\text{mol/kg}$ bengálvörössel (●—●), vagy 160 $\mu\text{mol/kg}$ eozinnal (○—○), vagy 160 $\mu\text{mol/kg}$ amaranth-al (▲—▲) történő együttes adás esetén. \triangle — \triangle = kontroll BSP-értékek. Az adatok a BSP kiválasztás reciprokát ($\mu\text{mol/kg}$ min). és a S. E.-t jelölik (n = 6). Az abszcisszán a BSP dózisát (mmol/kg) tüntették fel



13. ábra. Szabad és konjugált brómszulfalein aránya a patkányepében. Üres oszlop: szabad BSP százalékban kifejezett átlagértéke \pm S. E.; sátirozott oszlop: konjugált BSP átlagértéke százalékban \pm S. E. (n = 6). A BSP dózisa mindegyik esetben: 50 $\mu\text{mol/kg}$ volt

azzal, hogy a BSP májba történő felvétele gátolt, sem azzal, hogy a BSP konjugálódása csökkent. Így a kompetíció minden bizonnyal az utolsó lépésnél, az epecsatornácskákba irányuló transzfernél keresendő.

Mivel a plazmából az epébe való transzlokáció lényegében három lépésből áll [79, 93, 58]: a májba való felvételből, az esetleges metabolizációból és az aktív transzferből, felvetődik a kérdés, hogy ezek közül melyik limitálhatja a Tm-et.

Az első lépés a májba való felvétel. Kísérleti eredményeink szerint ez nem lehet limitáló tényező. A máj még azután is vesz fel anyagot, amikor az epébe történő kiválasztás már elérte maximumát, a máj felvevő, illetve tároló kapa-

citása tehát nagy, in vivo kísérletekben meg sem határozható. A többi vegyületnél is ezt találtuk a bengálvörös kivételével. Azonban még ennél az anyagnál sem a máj tárolási kapacitása limitálja a Tm-et, mert a legnagyobb kiválasztási érték már olyan dózisoknál elérhető, amelyeknél a máj tárolási kapacitása legfeljebb félig telített. Kombinációs kísérleteinkben a kiürülésben gátolt vegyület koncentrációja a májban nem alacsonyabb, hanem inkább még magasabb is, mint ha csak egyedül adtuk volna a vizsgált anyagot.

A második lépés a metabolizáció. Vizsgálataink szerint ez sem lehet limitáló tényező, legalábbis a BSP esetében. Ugyanis akár a BSP-t, akár a BSP—GSH-t adtuk a dietilmaleáttal előkezelt állatoknak, a Tm érték ugyanaz volt. Az eozin, a bengálvörös, az amaranth gátolták a BSP kiválasztódását, de nem befolyásolták a BSP konjugálódását glutationnal. A BSP konjugálódásának valószínűleg az a jelentősége, hogy az átalakulás során keletkezett metabolit affinitása nagyobb a transzport rendszerhez, mint magának az anyavegyületnek, a BSP-nek [95].

A fentiek alapján tehát azt mondhatjuk, hogy fiziológias körülmények között a májba való felvétel és az esetleges metabolizáció megelőzi az epekapillárisokba irányuló aktív transzfert, de nem limitáló tényezője annak.

Az utóbbi években igen élénk vitát váltott ki LEVI és munkatársainak [45] vizsgálata. E szerzők ugyanis különböző specicsok májából két fehérjét izoláltak, melyeket Y-nak (illetve újabban ligandinnak) és Z-nek neveztek el [47]. Szerintük ez a két citoplazmatikus fehérje lenne felelős a különböző organikus anionok hepatikus felvételéért, illetve megkötéséért. Kimutatták ugyanis, hogy e fehérjék in vitro és in vivo is képesek organikus anionokat kötni. A ligandin nem kovalens kötéssel köti meg többek között a bilirubint, indocyanin zöldet, bengálvöröst, kortizolt, oestradiolt, stilboestrolt, thyroid hormonokat, haematint [50]; kovalens kötéssel pedig karcinogen azo-festékeket. A Z nem kovalens kötéssel köt bilirubint, indocyanin zöldet, bengálvöröst, BSP-t, kolecisztoграфиára használt jódtartalmú vegyületeket és újabb vizsgálatok szerint szabad zsírsavakat is [57, 59].

A ligandin a máj citoplazmatikus fehérjéinek közel 5%-át adja ki, izoelektromos pontja 8,7, molekulasúlya 44—45 000 [50]. A Z molekulasúlya 10000, izoelektromos pontja alacsonyabb, mint a ligandiné, és aminosavösszetételében is különbözik attól [47].

A ligandin szintézise indukálható fenobarbital ismételt adásával, és így az organikus anionok hepatikus felvétele növelhető [67, 68], a Z azonban nem indukálható [47]. Újszülött majmokon az Y fehérje hiányzik még és csökkent a BSP hepatikus felvétele is [46]. A BSP és a bilirubin között kompetíció mutatható ki a Z fehérjekötési helyeihez [45]. Mindezen adatok közvetve arra utalnak, hogy a ligandin és a Z fehérje szerepet játszhat az organikus anionok májsejtekbe való felvételében és tárolásában. Olyan kísérleti adatokat azonban még nem ismerünk, melyek az említett transzport fehérjék és a különböző

anyagok májba történő felvétele közti kapcsolatot vagy összefüggést direkt bizonyítanak [47]. WHELAN és munkatársai [101] 2 napos tengerimalacokon azt találták, hogy a BSP hepatikus felvétele $\mu\text{mol/g}$ máj nedves súlyban kifejezve a felnőtt állatokéval azonos, jöllehet ebben az időpontban a ligandin 1 g májra számított mennyisége még csak töredéke a felnőtt állatokénak. LEVI és munkatársai [45] egy birka mutánsal (Southdown sheep) kapcsolatban figyelték meg, hogy az Evans kéket i. v. beadva nem veszi fel a máj annak ellenére, hogy az Y és a Z normális mennyiségben jelen van, illetve, hogy az Evans kék in vitro kötődik az Y-hoz és a Z-hez. Ily módon tehát valószínűtlen, hogy az anyagok plazmából májsejtbe való jutásában és ottani felhalmozódásában az említett fehérjék (Y és Z) egyedüli és kizárólagos szerepet játszanának. Érdekesképpen említjük meg, hogy sem az Y, sem a Z nem köt meg epesavakat [47].

Számos egyéb irodalmi adat is ellene szól annak a hipotézisnek, hogy a ligandin és a Z fehérje meghatározó szerepet játszanának a szerves anionok transzcelluláris transzportjában [99, 13, 24], és biztosan nem lehet meghatározó jelentőségük a Tm elérésében sem, amint erre a fentiekben említett adatok is utalnak.

Az általunk vizsgált vegyületek egymás kiválasztódását egyes esetekben kompetitíve, más esetekben nem kompetitíve gátolták. E megfigyelés azt a hipotézist támasztja alá, mely szerint az organikus anionok carrierje legalább két különböző kötőhellyel rendelkezik, vagy pedig, hogy az organikus anionok nem egy, hanem több carrierrel szekretálódnak [18, 60, 101].

A vesén át aktív transzporttal kiválasztódó szerves vegyületek vizsgálata során figyelték meg, hogy a tubuláris sejtekhez erősen kötődő anyagok kis mértékben szekretálódnak, a nagy mennyiségben kiválasztódó vegyületek ellenben lazán kötődnek a tubulushámhoz [44]. A transzport-rendszer leghatásosabb inhibitorai — pl. a cyanin-863 jelzésű bázis — igen erősen kötődnek a tubulushámhoz. Lényegében ugyanezt írták le az organikus anionok renális szekréciójával kapcsolatban is [86, 66]. Hasonló irányú vizsgálatokat a máj aktív transzportjára vonatkozólag tudomásunk szerint nem végeztek.

Kísérleteinkben a BSP kiválasztódását a bengálvörös gátolta a legerősebben, kevésbé az eozin és leggyengébben az amaranth. Ugyanakkor legalacsonyabb a Tm-je a bengálvörösnek volt, nagyobb már az eozin és legmagasabb az amaranthé. Vagyis fordított reláció van az egyes anyagok Tm értékének nagysága és az inhibitoros hatás között. Az erősebb inhibitorok (például a bengálvörös) magasabb koncentrációt érnek el a májban. Ezzel szemben a májban legalacsonyabb koncentrációt mutató amaranth bizonyult egyben a leggyengébb inhibitornak is. Úgy látszik tehát, hogy e tekintetben a máj aktív transzport-rendszere hasonló a vese szerves anionokat és kationokat kiválasztó transzport-rendszeréhez.

IRODALOM

1. ABOU-EL-MAKAREM, M. M., MILLBURN, P., SMITH, R. L., WILLIAMS, R. T.: Biliary excretion of foreign compounds: Benzene and its derivatives in the rat. *Biochem. J.* **105**, 1269—1274 (1967).
2. ABOU-EL-MAKAREM, M. M., MILLBURN, P., SMITH, R. L., WILLIAMS, R. T.: Biliary excretion of foreign compounds: Species differences in biliary excretion. *Biochem. J.* **105**, 1289—1293 (1967).
3. ARIAS, I. M., JOHNSON, L., WOLFSON, S.: Biliary excretion of injected conjugated and unconjugated bilirubin by normal and Gunn rats. *Amer. J. Physiol.* **200**, 1091—1094 (1961).
4. ASHWORTH, C. T. and SANDERS, E.: Anatomic pathway of bile formation. *Amer. J. Pathol.* **37**, 343—350 (1960).
5. BOYLAND, E. and CHASSEAUD, L. F.: The effect of some carbonyl compounds on rat liver glutathione levels. *Biochem. Pharmacol.* **19**, 1526 (1970).
6. BRAUER, R. W. and PESOTTI, R. L.: Hepatic uptake and biliary excretion of bromsulphthalein in the dog. *Amer. J. Physiol.* **162**, 565—574 (1950).
7. BRAUER, R. W.: Mechanism of bile secretion. *J. Amer. Med. Assoc.* **169**, 1462—1466 (1959).
8. BRAUER, R. W.: Liver circulation and function. *Physiol. Rev.* **43**, 115—213 (1963).
9. BRODIE, B. B. and HOGBEN, C. A. M.: Some physicochemical factors in drug action. *J. Pharm. Pharmacol.* **9**, 345—380 (1957).
10. CAHILL, G. F., JR., ASHMORE, J., EARLE, A. S., ZOTTU, S.: Glucose penetration into liver. *Amer. J. Physiol.* **192**, 491—496 (1958).
11. COMBES, B. and STAKELUM, G. S.: Conjugation of sulphobromophthalein sodium with glutathione in thioether by the rat. *J. clin. Invest.* **39**, 1214—1222 (1960).
12. COMBES, B.: Excretory function of the liver. In: *The Liver* edited by Rouiller, Ch., New York: Acad. Press Vol. pp. 1—35 (1964).
13. DHUMEAUX, D. and BERTHELOT, B.: Chronic jaundice due to hepatic storage impairment: a new entity. *Proc. E. A. S. L.* **7**, 25 (1972).
14. FEKETE, T., DIMITRESCU, I., SOPON, E., GIURGIA, A.: A BSP-teszt és a biligrafín kiválasztás összefüggésének vizsgálata krónikus májbetegségekben. *Orv. Hetil.* **109**, 242—243 (1968).
15. FISCHER, A.: Dynamics of the circulation in the liver. In: *The Liver*, edited by Rouiller, Ch., New York: Acad. Press Vol. pp. 330—378 (1964).
16. FISCHER, E. and VARGA, F.: Hepatic transport of iodipamide in various species. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* **38**, 135—142 (1970).
17. FISCHER, E. and VARGA, F.: Biliary excretion and hepatic concentration of rose bengal in the rat. *Farmakol. i Toksikol. (Közlés alatt)*
18. FISCHER, E. és VARGA, E.: Nem közölt vizsgálatok.
19. FONYÓ, A.: A mitochondrium membránok permeabilitása. *MTA Biol. Oszt. Közl.* **11**, 281—307 (1968).
20. FROMMHOLD, W., BRABAND, H.: Zwischenfälle bei Gallenblasenuntersuchungen mit Biligrafin. *Fortschr. Röntgenstr.* **92**, 47—49 (1960).
21. GÁRDOS, GY.: Ion-transport mint a sejtmembrán specifikus funkciója. *MTA Biol. Oszt. Közl.* **11**, 179—198 (1968).
22. GILLETTE, J. R.: Metabolism of drugs and other foreign compounds by enzymatic mechanisms. *Fortschr. Arzneimittelforsch.* **6**, 11—73 (1963).
23. GILLETTE, J. R., DAVIS, D. C. and SASAME, H. A.: Cytochromic P-450 and its role in drug metabolism. *Ann. Rev. Pharmacol.* **12**, 57—84 (1972).
24. GORESKY, C. A.: The transport and net removal of substances by the intact liver. In: *The Liver, Quantitative Aspects of Structure and Function*, edited by Paumgartner, G. and Preisig, R., Karger, Basel pp. 125—132 (1973).
25. GÓGL, Á. and JÁVOR, T.: Excretion of the cholephilic bromosulphophthalein (BSP) and indocyanine green (ICG) after enzyme induction by barbiturate in normal subjects. *Acta Physiol. Acad. Sci. hung.* **39**, 188 (1971).
26. GÓGL, Á.: Changes in bromosulphophthalein (BSP) and indocyanin-green (ICG) metabolism in man after barbital induction. *Acta Physiol. Acad. Sci. hung.* **40**, 367—372 (1971).
27. HANZON, V.: Liver cell secretion under normal and pathologic conditions studied by fluorescence microscopy on living rats. *Acta Physiol. Scand.* **28**, Suppl. **101**, 1—268 (1952).
28. HARGREAVES, T.: The liver and bile metabolism. *North Holland Publ., Amsterdam*, p. 317 (1968).
29. HEARSE, D. J., POWELL, G. M., OLAVESSEN, A. H., DODGSON, K. S.: The influence of some physico-chemical factors on the biliary excretion of a series of structurally related aryl sulphate esters. *Biochem. Pharmacol.* **18**, 181—195 (1969).

30. HIROM, P. C., MILLBURN, P., SMITH, R. L., WILLIAMS, R. T.: Studies on relationship between molecular structure and the biliary excretion of organic compounds. *Biochem. J.* **113**, 27—28 (1969).
31. HOLTER, H.: Pinocytosis. *Intern. Rev. Cytol.* **8**, 481—504 (1959).
32. IKEDA, M. and UESUGI, T.: Studies on the biliary excretion mechanism of drugs — I. Biliary excretion of azo dyes in the rat. *Biochem. Pharmacol.* **22**, 2743—2751 (1973).
33. JAVITT, N. B., WHEELER, H. O., BAKER, K. J., RAMOS, O. L., BRADLEY, S. E.: The intrahepatic conjugation of sulfobromophthalein and glutathione in the dog. *J. clin. Invest.* **39**, 1570—1577 (1960).
34. JIRSA, M. and RABAN, P.: Metabolism of rose bengal. *Nature (Lond.)* **195**, 1100—1101 (1962).
35. JIRSA, M., DICKINSON, J. P., RAMOS, O. L., BRADLEY, S. E.: Effect of bilirubin excretion of blocking the carboxyl sites of glucuronide conjugation by methylation. *Nature (Lond.)* **220**, 1322—1334 (1968).
36. KETTERER, S. G., WIEGAND, B. D. and RAPAPORT, E.: Hepatic uptake and biliary excretion of indocyanine green and its use in estimation of hepatic blood flow in dogs. *Amer. J. Physiol.* **199**, 481—484 (1960).
37. KLAASSEN, C. D.: Plasma disappearance and biliary excretion of indocyanine green in rats, rabbits and dogs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **15**, 374—384 (1969).
38. KLAASSEN, C. D.: Comparison of the toxicity of chemicals in newborn rats to bile duct-ligated and sham-operated rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **24**, 37—44 (1973).
39. KNOEFEL, P. K.: Radiopaque diagnostic agents. *Ann. Rev. Pharmacol.* **5**, 321—334 (1965).
40. KREBS, J. S. and BRAUER, R. W.: Metabolism of sulfobromophthalein sodium (BSP) in the rat. *Amer. J. Physiol.* **194**, 37—43 (1958).
41. KUPFERBERG, H. J., SOLOMON, H. M., SCHANKER, L. S.: Biliary excretion of para-acetylaminohippuric acid (PAAH) in the rat. *Pharmacologist* **6**, 177 (1964).
42. KURZ, H.: Die Permeation von Giften in die Leber. *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **247**, 164—169 (1964).
43. LANGECKER, H., HARVART, A., JUNKMANN, K.: 2,4,6-Trijod-3-acetaminobenzoessäure-Abkömmlinge als Kontrastmittel. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **220**, 195—206 (1953).
44. LAWRENCE, P.: Renal tubular excretion of organic bases. *Pharmacol. Rev.* **12**, 1—35 (1960).
45. LEVI, A. J., GATMAITAN, Z. and ARIAS, I. M.: Two hepatic cytoplasmic protein fractions, Y and Z, and their possible role in the hepatic uptake of bilirubin, sulfobromophthalein, and other anions. *J. clin. Invest.* **48**, 2156—2167 (1969).
46. LEVI, A. J., GATMAITAN, Z. and ARIAS, I. M.: Deficiency of hepatic organic anion-binding protein: impaired hepatic uptake by liver and 'physiologic' jaundice in newborn monkeys. *New Engl. J. Med.* **283** (1970).
47. LEVI, J.: The function of Y (Ligandin) and Z proteins. In: *The Liver, Quantitative Aspects of Structure and Function*, edited by Paumgartner, G. and Preisig, R., Karger, Basel pp. 118—124 (1973).
48. LÉVAI, F., TÓTH, Cs.: Májbetegség direkt májfunkciós próbáinak összehasonlítása Radio-Bengalrose teszttel. *Orv. Hetil.* **109**, 1753—1754 (1968).
49. LINEWEAVER, H. and BURK, D.: Idézte Dawes, E. A.: *Quantitative Problems in Biochemistry*, p. 96—121. E. S. Livingstone, Edinburgh and London (1956).
50. LITWACK, G., KETTERER, B. and ARIAS, I. M.: Ligandin: a hepatic protein which binds steroids, bilirubin, carcinogens and a number of exogenous organic anions. *Nature (Lond.)* **234**, 466—467 (1971).
51. VANLOON, E. J., FLANAGAN, T. L., NOVICK, W. J., MAASS, A. R.: Hepatic secretion and urinary excretion of three S³⁵-labelled phenothiazines in the dog. *J. Pharmaceut. Sci.* **53**, 1211—1213 (1964).
52. LUDÁNY, Gy.: Májfunkciós vizsgálatok. In: *A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei*, edited by Kovách, A. Akadémiai Kiadó, Budapest Vol. III, pp. 451—453 (1957).
53. MELTZER, J. I., WHEELER, H. O., CRANSTON, W. I.: Metabolism of sulfobromophthalein sodium (BSP) in dog and man. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **100**, 174—179.
54. MENDELOFF, A. I.: Fluorescence of intravenously administered rose bengal appears only in hepatic polygonal cells. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **70**, 556—558 (1949).
55. MICHEL, W. R.: Metabolism on linear alkylate sulfonate and alkyl benzene sulfonate in albino rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **12**, 473—485 (1968).
56. MILLBURN, P. and WILLIAMS, R. T.: Biliary excretion of foreign compounds: Biphenyl stilboestrol and phenolphthalein in the rat: Molecular weight, polarity and metabolism as factors in biliary excretion. *Biochem. J.* **105**, 1275—1281 (1967).

57. MISHKIN, S., STEIN, L., GAMAITAN, Z. and ARIAS, I. M.: The binding of fatty acids cytoplasmic proteins: binding to Z protein in liver and other tissues of the rat. *Biochim. Biophys. Res. Commun.* **47**, 997—1003 (1972).
58. NELSON, E.: Kinetics of drug absorption, distribution, metabolism and excretion. *J. Pharmaceut. Sci.* **50**, 181—192 (1961).
59. OCKNER, R. K.: A binding protein for fatty acids in cytosol of intestinal mucosa, liver and other tissues. *J. clin. Invest.* **51**, (1972).
60. PREISIG, R.: Evaluation of the action of foreign compounds on biliary excretion. In: *Liver and Drugs*, edited by Orlandi, F. and Jezequel, A. M., Academic Press, London and New York p. 107 (1972).
61. PRIESTLY, B. G. and O'REILLY, W. J.: Protein binding and the excretion of some azo dyes in rat bile. *J. Pharm. Pharmacol.* **18**, 41—45 (1966).
62. PRIESTLY, B. G. and PLAA, G. L.: Effects of benziodarone on the metabolism and biliary excretion of sulfobromophthalein and related dyes. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **132**, 881 (1969).
63. RADOMSKI, J. L. and MELLINGER, T. J.: The absorption, fate and excretion in rats of te water-soluble azo dyes, FD&-C Red No. 2, FD&-C Red No. 4, and FD&-C Yellow No. 6. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* **136**, 259—266 (1962).
64. RAPPAPORT, A. M.: Acinar units and the pathophysiology of the liver. In: *The Liver*, edited by Rouiller, Ch., Acad. Press. New York Vol. I. pp. 265—328 (1963).
65. REMMER, H.: Die Verstärkerung der Abbaugeschwindigkeit von Evipan durch Glykocorticoide. *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **233**, 184—191 (1958).
66. RENNICK, B. B.: Renal excretion of drugs: tubular transport and metabolism. *Ann. Rev. Pharmacol.* **12**, 141—156 (1972).
67. REYES, H., LEVI, A. J., GATMAITAN, Z. and ARIAS, I. M.: Organic anion-binding protein in rat liver: drug induction and its physiologic consequence. *Proc. nat. Acad. Sci. Wash.* **64**, 168—170 (1970).
68. REYES, H., LEVI, A. J., GATMAITAN, Z. and ARIAS, I. M.: Studies of Y and Z, two hepatic cytoplasmatic organic anion-binding proteins: effect of drugs, chemicals, hormones and cholestasis. *J. clin. Invest.* **50**, 2242—2252 (1971).
69. ROMHÁNYI, GY.: A citomembránok ultrastruktúrájáról. *MTA Biol. Oszt. Közl.* **11**, 127—149 (1968).
70. ROSENTHAL, S. M. and WHITE, E. C.: Studies in hepatic function. VI. A. The pharmacological behavior of certain phtalein dyes. B. The value of selected phtalein compounds in the estimation of hepatic function. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* **24**, 265—268 (1925).
71. ROULLER, C. and JEZEQUEL, A. M.: Electron microscopy of the liver. In: *The Liver*, edited by Rouiller, C., New York, Acad. Press Vol. I. pp. 195—264 (1963).
72. RÖHLICH, P.: A membránszerkezet problémái. *MTA Biol. Oszt. Közl.* **11**, 151—175 (1968).
73. RYAN, A. J. and WRIGHT, S. E.: The excretion of some azo dyes in rat bile. *J. Pharm. Pharmacol.* **13**, 492—495 (1961).
74. RYAN, A. J. and WRIGHT, S. E.: Biliary excretion of some azo dyes related to tartrazine. *Nature (Lond.)* **195**, 1009 (1962).
75. SCHANKER, L. S.: Concentrative transfer of organic cation from blood into bile. *Biochem. Pharmacol.* **11**, 253—254 (1962).
76. SCHANKER, L. S.: Passage of drugs across body membranes. *Pharmacol. Rev.* **14**, 501—530 (1962).
77. SCHANKER, L. S.: Hepatic transport of organic cations. In: *The Biliary System*, edited by Taylor, W. Oxford: Blackwell, pp. 469—490 (1965).
78. SCHANKER, L. S.: Secretion of organic compounds in bile. In: *Handb. of Physiology-Alimentary Canal*, Section 6, Vol. **5**, 2433—2449 (1968).
79. SEGRE, G.: Kinetics of drugs in the hepatobiliary system. In: *Liver and Drugs*, edited by Orlandi, F. and Jezequel, A. M. Acad. Press. London and New York, pp. 85—105 (1972).
80. SHOEMAKER, W. C.: Methods and techniques for measurement of hepatic physiology and metabolism. In: *The Liver*, edited by Rouiller, C. Acad. Press, New York Vol. II. pp. 244—266 (1963).
81. SHUSTER, L.: Metabolism of drugs and toxic substances. *Ann. Rev. Biochem.* **33**, 571—596 (1964).
82. SMITH, R. L.: The biliary excretion and enterohepatic circulation of drugs and other organic compounds. *Fortschr. Arzneimittelforsch.* **9**, 299—360 (1966).
83. SMITH, R. L.: Excretion of drugs in bile. In: *Handb. exp. Pharm.*, edited by Brodie, B. B. and Gillette, J. R. Springer, Berlin Vol. **28**, pp. 354—389 (1971).
84. SOLOMON, H. M. and SCHANKER, L. S.: Hepatic excretion of organic basis. *Fed. Proc.* **21**, 150 (1962).

85. SOMOGYI, J.: Az aktív iontranszport enzimátikus mechanizmusa (transzport adenoizintifoszfátáz). *MTA Biol. Oszt. Közl.* **11**, 239—278 (1968).
86. SPERBER, I.: Competitive inhibition and specificity of renal tubular transport mechanisms. *Arch. int. Pharmacodyn.* **97**, 221 (1954).
87. SPERBER, I.: Secretion of organic anions in the formation of urine and bile. *Pharmacol. Rev.* **11**, 109—134 (1959).
88. STOVE, C. M. and PLAA, G. L.: Extrarenal excretion of drugs and chemicals. *Ann. Rev. Pharmacol.* **8**, 337—357 (1968).
89. TAPLIN, C. V., MEREDITH, O. M., JR., KADE, H.: The radioactive (¹³¹J-tagged) rose bengal uptake-excretion test for liver function using external gamma-ray scintillation counting techniques. *J. Lab. clin. Med.* **45**, 665—678 (1955).
90. TAYLOR, W.: *The Biliary System*. Blackwell, Oxford (1965).
91. TEICHMANN, W., BRÜGMANN, E., SCHULZ, H.: Az indocyaninzöld kiválasztási sebessége különböző súlyosságú májbetegségekben. *Orv. Hetil.* **114**, 1170—1171 (1973).
92. VARGA, F.: Gyógyszerek felszívódásának, metabolizmusának és kiválasztásának problémái. *Magy. Farm. Társ. Exp. Szekciójának Kiadványai* **4**, 1—24 (1966).
93. VARGA, F.: A testidegen anyagok biológiai hártványon át történő transzlokációja. *MTA Biol. Oszt. Közl.* **11**, 199—234 (1968).
94. VARGA, F. and FISCHER, E.: Biliary excretion of rose bengal in the dog. *Acta Physiol. Acad. Sci. hung.* **38**, 143—149 (1970).
95. VARGA, F. and FISCHER, E. and SZILY, T.: Biliary excretion of bromsulphthalein and glutathione conjugate of bromsulphthalein. *Biochemical Pharmacol.* **23**: 2617—2623 (1974).
96. WEBB, J. M., FONDA, M. and BROUWER, E. A.: Metabolism and excretion patterns of fluorescein and certain halogenated fluorescein dyes in rats. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* **137**, 141—147 (1962).
97. WHEELER, H. O., CRANSTON, W. I. and MELTZER, J. I.: Hepatic uptake and biliary excretion of indocyanine green in the dog. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **99**, 11—14 (1958).
98. WHEELER, H. O. and RAMOS, O. L.: Determinants of the flow and composition of bile in the unanesthetized dog during constant infusions of sodium taurocholate. *J. clin. Invest.* **39**, 161—170 (1960).
99. WHEELER, H. O., MELTZER, J. I. and BRADLEY, S. E.: Biliary transport and hepatic storage of sulfobromophthalein sodium in the unanesthetized dog, in normal man and patients with hepatic disease. *J. clin. Invest.* **39**, 1131 (1960).
100. WHEELER, H. O.: Determinants of the flow and composition of bile. *Gastroenterology* **40**, 584—586 (1961).
101. WHELAN, G., HOCH, J., SCHENKER, S. and COMBES, B.: Impaired hepatic disposition of sulfobromophthalein sodium in neonatal guinea pigs: Nature of defect. *J. Lab. Clin. Med.* **76**, 775 (1970).
102. WILKINSON, G. N.: Statistical estimation in enzym kinetics. *Biochem. J.* **80**, 324 (1961).
103. WILLIAMS, R. T., PARKE, D. V.: The metabolic fate of drugs. *Ann. Rev. Pharmacol.* **4**, 85—114 (1964).
104. WILLIAMS, R. T., MILLBURN, P., SMITH, R. L.: The influence of enterohepatic circulation on toxicity of drugs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **123**, 110—122 (1965).