

# Síndromes colestáticos familiares

Richard Thompson

Hepatología Pediátrica, Facultad de Medicina del King's College, Londres, Reino Unido

## Palabras clave

Síndromes colestáticos familiares · Síndrome de Alagille · Síndrome de artrogriposis, disfunción renal y colestasis · Deficiencia colestática intrahepática familiar 1 · Deficiencia de la bomba exportadora de sales biliares · Deficiencia de la proteína de resistencia a fármacos múltiples 3

## Resumen

El término 'familiar' es, en realidad, desafortunado. Aunque en la definición se incluye la palabra 'hereditario', la inferencia es que tendrá que aparecer habitualmente en otros miembros de la familia. En muchos de los procesos que se describen en este artículo esto a menudo no sucede y, por este motivo, las condiciones 'familiares' pueden ser pasadas por alto cuando se alcanza un diagnóstico. La colestasis es definida de manera diferente por médicos, anatomopatólogos y bioquímicos. Además, lo que se entiende por hepatopatía colestática varía muy frecuentemente entre los hepatólogos pediatras y los hepatólogos de adultos. No obstante, los mecanismos patogénicos son cada vez más similares. La atresia biliar, que es la hepatopatía colestática más frecuente que afrontan los pediatras, es llamativamente diferente de la mayoría de las enfermedades, dado que parece no ser equivalente a 'inicio tardío' y casi nunca es familiar. En la actualidad se han constituido varias colaboraciones internacionales con la esperanza de superar estos obstáculos (<http://www.barcnetwork.org/>, <http://www.orpha.net/nestasso/EFBAR/>, [http://www.biliary-atresia.com/index\\_frame-set\\_ebar.html](http://www.biliary-atresia.com/index_frame-set_ebar.html)). De manera cotidiana, los hepatólogos pediatras tienen que vérselas con un grupo de lactantes cuya ictericia tiene una causa que no es fácilmente evidente. En muchos aspectos esto

ha empeorado por el conocimiento adquirido desde hace tiempo de que una proporción significativa mejorará espontáneamente mientras que otros evolucionarán desfavorablemente. En los primeros meses de vida todavía tenemos dificultades para prever los desenlaces de ciertos pacientes. La causa subyacente, por lo menos en el grupo con desenlace ominoso, se está haciendo ahora evidente en un número creciente de casos. La mayoría de las mejoras en nuestra comprensión de este grupo de niños se han producido como consecuencia de los progresos en nuestro conocimiento de la etiología genética. También ha llegado a ser evidente que la hepatopatía colestática genética no se limita sólo a los pediatras. Sólo ahora se ha llegado a aclarar la medida exacta en la cual la genética contribuye a la enfermedad de 'inicio tardío'.

Copyright © 2009 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel

La genética no es todavía el primer puerto de escala en el establecimiento de un diagnóstico en un lactante colestático, aunque podría llegar a serlo pronto [4]. El hecho de que las enfermedades colestáticas se estén clasificando actualmente basándose en su causa genética facilita la identificación de las variaciones fenotípicas. Estas diferencias fenotípicas mejoran tanto el diagnóstico como el pronóstico. Contribuyen a nuestra decisión sobre el proceso que afecta a un niño o, por lo menos, dejan entrever qué gen o proteína debe investigarse. El fenotipo se extiende al pronóstico y particularmente a los resultados terapéuticos; un mejor conocimiento de estos factores ayuda tanto al médico como a la familia. Los principales síndromes colestáticos familiares se recopilan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Principales síndromes colestáticos familiares

Nombre de la enfermedad	Sinónimos	Gen	Proteína	Características
Síndrome de Alagille	Displasia arteriohepática	<i>JAG1</i> <i>NOTCH2</i>	Jagged 1 Notch 2	Trastorno multisistémico, fenotipo variable, mutaciones heterocigóticas en ambos genes Penetrancia variable
Síndrome ARC	Síndrome de Nezelof	<i>VPS33B</i>	VPS33B	Trastorno multisistémico, colestasis leve
Deficiencia de CIF1	Enfermedad de Byler, CIFP1	<i>ATP8B1</i>	CIF1	Trastorno multisistémico, amplio margen de gravedad
Deficiencia de BESB	Síndrome de Byler, CIFP2	<i>ABCB11</i>	BESB	Sólo está afectado el hígado; espectro de gravedad
Deficiencia de PRFM3	CIFP3	<i>ABCB4</i>	PRFM3	Sólo está afectado el hígado; amplio margen de gravedad

### Síndrome de Alagille

El diagnóstico de síndrome de Alagille ha sido siempre clínico. En la mayoría de los casos, la genética no sería necesaria para diagnosticar a un paciente concreto. Las mutaciones se identificaron primero en *JAGGED1*, que codifica un ligando en la vía de transmisión de señales Notch [5, 6]. Subsiguientemente, en otros pacientes, las mutaciones se identificaron en el gen que codifica uno de los receptores Notch, *NOTCH2* [7]. En suma, las mutaciones se han hallado solamente en un alelo único del gen en cuestión. Se supone que una pérdida de ambos alelos sería letal y, en realidad, datos obtenidos en ratones respaldarían esta hipótesis [8]. Actualmente es evidente la posibilidad de establecer un diagnóstico genético en la inmensa mayoría de estos pacientes [9]. En muchos aspectos, esto únicamente ha complicado las cosas, sobre todo teniendo en cuenta que todos los datos publicados referentes a la frecuencia de las diferentes características y, lo que es más importante, los datos de los desenlaces, están relacionados con pacientes diagnosticados clínicamente. Aunque la mayoría de los pacientes presentan una ‘causa’ genética identificable, se ha sabido desde hace tiempo que los miembros de la familia pueden presentar características similares, aunque más leves. Actualmente es evidente que estos parientes comparten a menudo la misma anomalía genética. Sin forzar la imaginación podría afirmarse que estos individuos presentan el síndrome de Alagille. Este problema es tanto más importante cuando se tiene en cuenta que en la población general no conocemos ni remotamente la frecuencia de las mutaciones en los genes implicados. En consecuencia, es probable que el diagnóstico deba seguir siendo clínico hasta que se establezca la penetrancia real de las mutaciones y se comprendan los mecanismos que determinan el fenotipo.

### Síndrome de artrogriposis, disfunción renal y colestasis

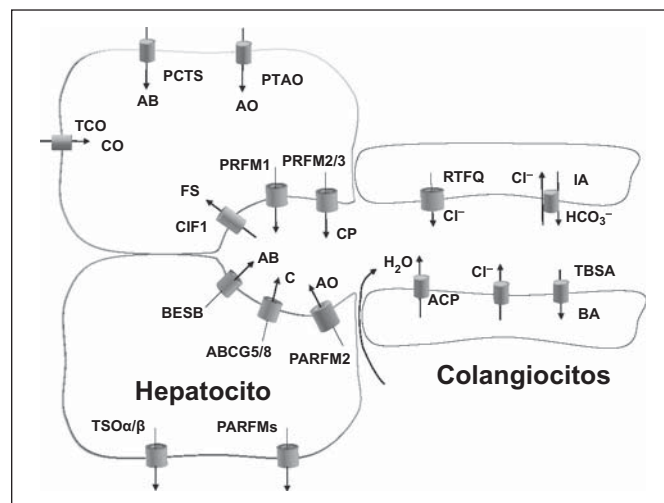
Afortunadamente, el síndrome de artrogriposis, disfunción renal y colestasis (ARC) es raro. No obstante, representa un mecanismo patológico importante. Del mismo modo que el síndrome de Alagille, fue descrito clínicamente. El fenotipo que se describió era muy grave, particularmente en términos de la artrogriposis, a pesar de que la hepatopatía era relativamente leve. El gen mutado fue identificado en la mayoría de los casos como *VPS33B* [10]. Junto con todas las condiciones descritas en el resto de este artículo, las mutaciones son recesivas. Se sabe desde hace tiempo que muchas de las funciones del hepatocito son muy polarizadas, teniendo lugar funciones muy diferentes en las membranas basolateral y canalicular (fig. 1). La proteína codificada por *VPS33B* parece participar en la selección correcta de algunas proteínas para el dominio canalicular y no es de por sí un transportador transmembránico. Parece altamente probable que se manifiesten otros fenotipos (posiblemente similares) si otras proteínas presentes en esta vía son defectuosas. No obstante, igual que acontece en el síndrome de Alagille, han sido ya identificados pacientes que no presentan el fenotipo completo [11]. Esto es importante, dado que tales pacientes no habrían sido clasificados previamente de ARC al no satisfacer los criterios clínicos. Nuevamente, esto plantea la pregunta, todavía sin respuesta, de cómo numerosos pacientes con fenotipos menos graves albergan mutaciones en estos genes.

### Deficiencia de colestasis intrahepática familiar 1

La colestasis intrahepática familiar 1, o CIF1, es la denominación que se aplica en general a la proteína codificada por *ATP8B1* [12]. Esta nomenclatura genética prosaica indica la previsión de que la proteína es una ATPasa de tipo P y, por tanto, un pariente del gen de la enfermedad de Wilson. No obs-

tante, tal como se comentará más adelante, es probable que su función sea bastante diferente. La deficiencia de CIF1 ha sido descrita como causa, tanto de la colestasis intrahepática recurrente benigna (CIRB), como de la colestasis intrahepática familiar progresiva (CIFP). En realidad, es evidente que algunos pacientes se sitúan entre estas dos enfermedades definidas y que la deficiencia de CIF1 consiste en realidad en un espectro que fluctúa entre una hepatopatía leve y una hepatopatía grave [13]. Se trata de una observación clínicamente importante, dado que la hepatopatía puede progresar incluso en pacientes diagnosticados inicialmente de CIRB, a menudo basándose en una presentación tardía. En consecuencia, el término 'CIRB' es algo equívoco y, de hecho, puede tranquilizar falsamente tanto a los pacientes como a sus cuidadores.

Numerosas ATPasas de tipo P son transportadores de iones, como es el caso de la proteína asociada a la enfermedad de Wilson. Por otra parte se cree que CIF1 es una de las diversas flipasas aminofosfolípídicas. El requisito del mantenimiento de la asimetría lipídica en membranas biológicas es evidente, de tal manera que probablemente tengamos varias de estas proteínas expresadas en diversos tejidos. La distribución correcta de los lípidos entre las bicapas puede ser esencial para la selección de proteínas destinadas al compartimento adecuado. Asimismo, es probable que la composición correcta de lípidos de la membrana plasmática sea esencial para la función normal de otras proteínas en la membrana. La deficiencia de CIF1 no sólo se manifiesta como hepatopatía colestática sino también con un conjunto muy variable de otras características. Las más corrientes son diarrea, pérdida auditiva, disfunción tubular renal y retraso del crecimiento. De manera en cierto modo sorprendente, los pacientes pueden presentar una manifestación grave de uno de los aspectos de la enfermedad con síntomas mínimos en otro sistema. La naturaleza multisistémica de la enfermedad viene respaldada por la expresión generalizada del gen *ATP8B1* [12]. En el hígado, varias proteínas no están presentes en la membrana canalicular de pacientes con deficiencia de CIF1, o están presentes sólo en cantidades significativamente reducidas. Esto es consistente con la hipótesis de que los lípidos membránicos anormales dan lugar a la anomalía de la proteína cuya naturaleza es similar a la del síndrome ARC. Sin embargo, ninguna de las proteínas ausentes es conocida como crucial en la formación de bilis ni asociada a la colestasis. En particular, la tinción inmunohistoquímica para la bomba exportadora de sales biliares (BESB, que se comenta con mayor detalle más adelante) parece normal en la deficiencia de CIF1; no obstante, datos recientes sustentan otra hipótesis [14]. Aunque basándose en gran medida en un modelo de ratón, este trabajo deja entrever que la proteína CIF1 facilita el movimiento de los aminofosfolípídicos desde la capa externa hasta la capa interna de la membrana plasmática [14], tal como se había supuesto. La membrana canalicular normal tiene que mantener un grado elevado de resistencia al efecto detergente con objeto de evitar el daño de este efecto detergente de la bilis en sí. La presencia de un exceso de aminofosfolípídicos en la capa externa



**Fig. 1.** Los principales transportadores participantes en la formación de bilis en el hepatocito y las membranas colangiocíticas, muchos de los cuales se asocian actualmente a colestasis familiar. ABCG5/8 = Transportador heterodimérico de colesterol; IA = intercambiador de aniones; TBSA = transportador de ácidos biliares dependiente del sodio apical; ACP = acuaporina; AB = ácidos biliares; RTFQ = regulador de la conductancia transmembránica de la fibrosis quística; C = colesterol; CIF1 = proteína de colestasis intrahepática familiar 1; PRFM = proteína de resistencia a fármacos múltiples; PCTS = polipéptido co-transportador de taurocolato sódico; AO = aniones orgánicos; PTAO = polipéptido transportador de aniones orgánicos; CO = cationes orgánicos; TCO = transportador de cationes orgánicos; TSO = transportador heterodimérico de solutos orgánicos; FS = fosfatidilserina.

reduciría esta resistencia al efecto detergente. En un ensayo de infusión de ácidos biliares ex vivo a corto plazo, estos investigadores hallaron la evidencia de que la disponibilidad de aminofosfolípídicos para extracción por los ácidos biliares aumenta considerablemente en el modelo *knockout* (ratón con una mutación dada). Además, algunos de las ectoenzimas canaliculares en los hígados *knockout* son eluidas de una forma que depende de las sales biliares. Se había observado previamente que algunas de estas mismas enzimas estaban ausentes en el hígado humano. Esto suscita la posibilidad de que estas proteínas hubieran sido eliminadas de la membrana canalicular del hígado humano afectado en lugar de estar sujetas a un trastorno de transportación o selección de objetivos. Esta hipótesis no ha sido verificada todavía en el humano y aún no explica la colestasis, dado que no se ha comprobado la ausencia de ningún transportador crucial para la formación de bilis. Con respecto a estas grandes proteínas, parece más probable que sea su función la afectada por la composición anormal de lípidos de la membrana canalicular. Lo mismo puede suceder en los demás órganos afectados. En el oído, el riñón o el páncreas, es

evidente que no es la acción de eliminación de proteínas por los ácidos biliares la que da lugar al fenotipo; parece poco dudoso que la composición correcta de los lípidos de la membrana sea crucial para numerosas funciones. Nos hemos quedado con la complicación adicional del fenotipo altamente variable. Sabemos que existen otros varios transportadores de amino-fosfolípidos en el proteoma humano. Parece probable que en la deficiencia de CIF1, la enfermedad se manifieste únicamente donde otras proteínas no compensan adecuadamente la pérdida de la función de CIF1. Las manifestaciones extrahepáticas de la deficiencia de CIF1 limitan la utilidad del trasplante hepático. En particular, la diarrea puede empeorar y el retraso del crecimiento puede no ser influido en absoluto. Aunque el prurito debilitante puede ser suficiente para justificar el procedimiento, no puede considerarse como una cura.

La deficiencia de CIF1 fue denominada con anterioridad 'enfermedad de Byler', por la familia Amish en la cual se describió por vez primera. La bilis de Byler es la descripción del contenido canalicular observado en la deficiencia de CIF1 por el microscopio electrónico de transmisión. Aunque estos agregados inusitados no son completamente diagnósticos de este proceso, sin duda son muy indicativos. El ratón *knockout* desarrolla una morfología indicativa de bilis de Byler cuando es alimentado con ácido cólico [14]. En el ratón, los aspectos son muy indicativos de los componentes granulares que se forman a partir de microvellosidades dañadas, derivadas de la membrana canalicular. Esta pérdida de superficie membránica puede, de por sí, contribuir a la colestasis. Si el mecanismo principal por el cual la ausencia de CIF1 ejerce su efecto sobre el hígado consiste en inducir una propensión de la membrana canalicular a la lesión causada por las sales biliares, resulta sorprendente que el grado de trastorno morfológico, observado por microscopía, no sea mayor. Sin embargo, de nuevo parece probable que incluso aquí, en el hígado, el impacto de la pérdida de la función de la CIF1 disminuya por la presencia de otros transportadores de lípidos y que una pérdida completa de la internalización de los aminofosfolípidos probablemente daría lugar a una hepatopatía significativamente más grave.

### Deficiencia de BESB

El transportador principal de sales biliares de la membrana canalicular, denominado actualmente BESB, es codificado por el gen *ABCB11*. De un modo similar a lo que se observa en la deficiencia de CIF1, los pacientes han sido identificados tanto por fenotipos leves (CIRB) [15] como por fenotipos graves (CIFP) [16, 17]. La nomenclatura vuelve a ser desafortunada, dado que indudablemente existen pacientes a lo largo de todo el espectro entre los dos extremos. Esto es sumamente importante en términos clínicos, puesto que varios de los llamados pacientes CIRB presentan características que apuntan a una hepatopatía progresiva, y el hecho de que una enfermedad se presente en una fase tardía, y pueda parecer que está en remi-

sión, no debe considerarse como evidencia de que no causará problemas ulteriores. Los mecanismos fisiopatológicos que conducen a la deficiencia de BESB son en cierto modo más fáciles de entender. Un fallo completo o parcial del transporte de ácidos biliares en la membrana canalicular producirá un efecto obvio sobre la función hepatocelular. Es evidente que la desorganización de los hepatocitos es mayor que la observada en la deficiencia de CIF1, mostrando frecuentemente una importante transformación de células gigantes en la infancia. La BESB no parece expresarse fuera del hígado y, en consecuencia, el cuadro clínico puede explicarse por completo por un fallo del transporte de sales biliares en la membrana canalicular. Aunque las manifestaciones clínicas son las de colestasis grave, dado que la bilirrubina es transportada completamente por separado de las sales biliares, el grado de ictericia puede subestimar notablemente el grado de colestasis. El trasplante hepático es una forma excelente de tratamiento de la deficiencia de BESB.

En niños, el carcinoma hepatocelular (CHC) es extremadamente raro. El colangiocarcinoma es más raro todavía. Por otra parte, el hepatoblastoma es la neoplasia más común derivada de hepatocitos, junto con el aun más raro CHC fibrolaminillar. Ambas neoplasias emergen frente al trasfondo de un hígado normal y no en el contexto de una hepatopatía crónica. En niños, el CHC se observa con algunas enfermedades específicas, notablemente la tirosinemia clásica y, en menor medida, las enfermedades de almacenamiento de glucógeno. Se han descrito los casos de 10 niños pequeños con CHC y deficiencia de BESB tras una indagación de niños con CHC frente al trasfondo de un cuadro de hepatitis neonatal grave [18]. El riesgo exacto para cada uno de los pacientes es difícil de evaluar, sobre todo porque numerosos pacientes son trasplantados antes de presentar esta complicación. En un estudio subsiguiente se halló que dos niños con colangiocarcinomas, presentados nuevamente frente al trasfondo de una hepatitis neonatal, tenían una deficiencia de BESB [19]. En un análisis subsiguiente de 128 niños con deficiencia de BESB grave y mutación confirmada se halló que 19 presentaban una de las dos neoplasias [17]. El riesgo parece muy superior si el paciente presenta dos mutaciones de proteína truncada (38% frente a 10% en otros genotipos). Numerosos pacientes habían sido sometidos a un trasplante temprano sin presentar neoplasia. En ausencia de trasplante, el riesgo debe ser considerablemente superior. Todos estos pacientes presentaban una enfermedad grave en términos clínicos; no se registró ninguna correlación manifiesta entre la gravedad de la enfermedad y el riesgo de neoplasia. Considerando que otros niños con colestasis persistente no parecen desarrollar neoplasia, surge obligatoriamente la pregunta de cuál es el mecanismo por el que aparece la alteración neoplásica. El candidato obvio de la lesión inducida por las sales biliares retenidas suscita dudas por varias de las observaciones anteriores. Sólo es posible especular con respecto al mecanismo verdadero. No obstante, es ciertamente posible que la BESB transporte normalmente niveles bajos de algo distinto de

las sales biliares, que se acumule en su ausencia o, quizás, la BESB ejerza alguna otra función cuya ausencia completa dé lugar a la neoplasia. Independientemente del mecanismo, el riesgo es real y debe tenerse en cuenta al considerar todas las modalidades terapéuticas, distintas del trasplante, sean farmacológicas, quirúrgicas o genéticas. Todas presumiblemente dejarán un riesgo de neoplasia, que requerirá una monitorización muy estrecha.

### Deficiencia de la proteína de resistencia a fármacos múltiples 3

En el curso de la evolución humana, hemos llegado a ser extremadamente eficientes en la extracción de grasa de nuestra alimentación. En una gran parte del mundo, donde las calorías son abundantes, estamos pagando el precio. No obstante, al ser tan eficientes en la extracción de grasa de nuestra alimentación hemos desarrollado la capacidad de sintetizar ácidos biliares altamente detergentes. Los ácidos biliares, en función de su naturaleza, son tóxicos. Cuando quedan retenidos en el hígado dan lugar a una enfermedad grave, tal como hemos observado en la deficiencia de BESB. Sin embargo, después de su transportación dentro de la bilis alcanzan concentraciones milimolares. En consecuencia, la propia bilis tiene el potencial de causar una lesión grave en el árbol biliar. De hecho, independientemente de los desencadenantes de la colangitis esclerosante o la atresia biliar, la bilis, en forma de ácidos biliares, contribuye en gran medida a la lesión. El humano y numerosos mamíferos han tenido que desarrollar mecanismos para reducir al mínimo los efectos tóxicos de los ácidos biliares. El mecanismo principal por el cual cumplimos esta función es permitiendo la formación de micelas mixtas. Estas se componen de ácidos biliares y otros lípidos, predominantemente fosfatidilcolina (FC). La entrada de lípidos, particularmente de FC, dentro de la bilis para formar micelas se asocia estrechamente al flujo de ácidos biliares. Los datos referentes a la deficiencia de CIF1, comentados anteriormente, permiten suponer que los ácidos biliares pueden extraer lípidos de la membrana canalicular, de una manera más bien inespecífica siempre que estén disponibles. Normalmente, esto no sucede dado que la mayor parte de la membrana es resistente al efecto detergente. Por el contrario, parece ser que la FC se extrae de una manera muy específica. Actualmente hemos descubierto que la proteína de resistencia a fármacos múltiples 3 (PRFM3) es esencial con respecto a la penetración de la FC dentro de la bilis [20]. La disponibilidad de FC en la capa externa de la membrana canalicular parece estar sometida a un control riguroso por parte de la PRFM3. En consecuencia, se esperaría que incluso un menoscabo menor de la función de la PRFM3 alterara la composición de la bilis. De hecho, se ha descrito toda una gama de fenotipos asociados a una reducción de la función de la PRFM3, incluyendo la propensión a la formación de cálculos biliares [21, 22]. Los pacientes con sólo una copia defectuosa pueden manifestar

síntomas en determinadas circunstancias, por ejemplo, durante el embarazo [23, 24], con un estado de salud por lo demás satisfactorio. El extremo grave del espectro, la CIFP, parece relativamente rara. Este proceso se distingue fácilmente de la deficiencia de CIF1 y la deficiencia de BESB, dado que se asocia a niveles elevados de  $\gamma$ -glutamyltransferasa circulante. No obstante, dado que se indagan crecientemente las mutaciones de PRFM3, está siendo identificada la enfermedad relacionada con PRFM3 de inicio tardío, incluyendo la colangitis esclerosante de conductillos, la cirrosis biliar primaria AMA-negativa e incluso la cirrosis criptogenética. No se ha determinado todavía si la PRFM3 desempeña realmente un papel importante en la colelitiasis por colesterol. No obstante, en árboles genealógicos con numerosos individuos afectados, sobre todo si los cálculos son intrahepáticos, las mutaciones dentro de este gen no son infrecuentes [25].

### Conclusiones

En los últimos 10 años, nuestro conocimiento de los mecanismos moleculares que participan en la formación de bilis y la colestasis ha mejorado espectacularmente. El análisis de familias que segregan diferentes formas de hepatopatías ha desempeñado un papel significativo en estos progresos. Además, podemos observar actualmente que algunos procesos de inicio tardío tienen, en algunos casos, una causa genética y en otros, una propensión genética. Desconocemos todavía la medida exacta en la cual las hepatopatías de inicio tardío son realmente versiones más leves de estos procesos; es probable que hasta la fecha apenas hemos tocado la superficie. En pediatría, es ahora esencial convertir este conocimiento en mejores resultados para los pacientes. En Estados Unidos, una cooperación multicéntrica está tratando de satisfacer precisamente este objetivo [26]. Una gran parte de los datos retrospectivos publicados incluye a pacientes que actualmente consideraríamos deficientemente caracterizados. Con nuestras técnicas y conocimientos considerablemente mejorados estaríamos ahora capacitados para establecer diagnósticos más rápidamente, comprender mejor los procesos patológicos y planificar tratamientos y ensayos a la luz de este conocimiento.

### Bibliografía

- 1 Biliary Atresia Research Consortium. <http://www.barcnetwork.org/>.
- 2 European Federation of Biliary Atresia Research. <http://www.orpha.net/nestasso/EFBAR/>.
- 3 European Biliary Atresia Registry. [http://www.biliary-atresia.com/index\\_frameset\\_ebar.html](http://www.biliary-atresia.com/index_frameset_ebar.html).
- 4 Liu C, Aronow BJ, Jegga AG, et al: Novel resequencing chip customized to diagnose mutations in patients with inherited syndromes of intrahepatic cholestasis. *Gastroenterology* 2007;132:119–126.

- 5 Oda T, Elkahloun AG, Pike BL, et al: Mutations in the human *Jagged1* gene are responsible for Alagille syndrome. *Nat Genet* 1997; 16:235–242.
- 6 Li L, Krantz ID, Deng Y, et al: Alagille syndrome is caused by mutations in human *Jagged1*, which encodes a ligand for Notch1. *Nat Genet* 1997;16:243–251.
- 7 McDaniel R, Warthen DM, Sanchez-Lara PA, et al: NOTCH2 mutations cause Alagille syndrome, a heterogeneous disorder of the notch signaling pathway. *Am J Hum Genet* 2006;79:169–173.
- 8 Xue Y, Gao X, Lindsell CE, et al: Embryonic lethality and vascular defects in mice lacking the Notch ligand *Jagged1*. *Hum Mol Genet* 1999;8:723–730.
- 9 Warthen DM, Moore EC, Kamath BM, et al: *Jagged1* (*JAG1*) mutations in Alagille syndrome: increasing the mutation detection rate. *Hum Mutat* 2006;27:436–443.
- 10 Gissen P, Johnson CA, Morgan NV, et al: Mutations in *VPS33B*, encoding a regulator of SNARE-dependent membrane fusion, cause arthrogyriposis-renal dysfunction-cholestasis (ARC) syndrome. *Nat Genet* 2004;36:400–404.
- 11 Bull LN, Mahmoodi V, Baker AJ, et al: *VPS33B* mutation with ichthyosis, cholestasis, and renal dysfunction but without arthrogyriposis: incomplete ARC syndrome phenotype. *J Pediatr* 2006;148:269–271.
- 12 Bull LN, van Eijk MJ, Pawlikowska L, et al: A gene encoding a P-type ATPase mutated in two forms of hereditary cholestasis. *Nat Genet* 1998;18:219–224.
- 13 van Mil SW, Klomp LW, Bull LN, et al: *FIC1* disease: a spectrum of intrahepatic cholestatic disorders. *Semin Liver Dis* 2001;21:535–544.
- 14 Paulusma CC, Groen A, Kunne C, et al: *Atp8b1* deficiency in mice reduces resistance of the canalicular membrane to hydrophobic bile salts and impairs bile salt transport. *Hepatology* 2006;44:195–204.
- 15 van Mil SW, van der Woerd WL, van der Brugge G, et al: Benign recurrent intrahepatic cholestasis type 2 is caused by mutations in *ABCB11*. *Gastroenterology* 2004;127:379–384.
- 16 Strautnieks SS, Bull LN, Knisely AS, et al: A gene encoding a liver-specific ABC transporter is mutated in progressive familial intrahepatic cholestasis. *Nat Genet* 1998;20:233–238.
- 17 Strautnieks SS, Byrne JA, Pawlikowska L, et al: Severe bile salt export pump deficiency: 82 different *ABCB11* mutations in 109 families. *Gastroenterology* 2008;134:1203–1214.
- 18 Knisely AS, Strautnieks SS, Meier Y, et al: Hepatocellular carcinoma in ten children under five years old with bile salt export pump deficiency. *Hepatology* 2006;44:478–486.
- 19 Scheimann AO, Strautnieks SS, Knisely AS, et al: Mutations in bile salt export pump (*ABCB11*) in two children with progressive familial intrahepatic cholestasis and cholangiocarcinoma. *J Pediatr* 2007;150:556–559.
- 20 de Vree JM, Jacquemin E, Sturm E, et al: Mutations in the *MDR3* gene cause progressive familial intrahepatic cholestasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:282–287.
- 21 Rosmorduc O, Hermelin B, Poupon R: *MDR3* gene defect in adults with symptomatic intrahepatic and gallbladder cholesterol cholelithiasis. *Gastroenterology* 2001;120:1459–1467.
- 22 Jacquemin E, De Vree JM, Cresteil D, et al: The wide spectrum of multidrug resistance 3 deficiency: from neonatal cholestasis to cirrhosis of adulthood. *Gastroenterology* 2001;120:1448–1458.
- 23 Dixon PH, Weerasekera N, Linton KJ, et al: Heterozygous *MDR3* missense mutation associated with intrahepatic cholestasis of pregnancy: evidence for a defect in protein trafficking. *Hum Mol Genet* 2000;9:1209–1217.
- 24 Jacquemin E, Cresteil D, Manouvrier S, et al: Heterozygous non-sense mutation of the *MDR3* gene in familial intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Lancet* 1999;353:210–211.
- 25 Rosmorduc O, Poupon R: Low phospholipid associated cholelithiasis: association with mutation in the *MDR3/ABCB4* gene. *Orphanet J Rare Dis* 2007;2:29.
- 26 Cholestatic Liver Disease Consortium. <http://rarediseasesnetwork.epi.usf.edu/clic/index.htm>.