

Genética de las colestasis crónicas en la infancia

P. Jara^a y L. Álvarez^b

^aServicio de Hepatología Infantil. Hospital Infantil La Paz. ^bLaboratorio de Hepatología Molecular. Unidad de Investigación. Hospital Universitario La Paz. Madrid.

INTRODUCCIÓN

Se utiliza el término colestasis para describir situaciones en las que existe una alteración del flujo biliar. Puede ser el resultado de alteraciones en la funcionalidad del hepatocito, que dan lugar a una reducción en la síntesis o secreción de la bilis. Se caracteriza por la retención de bilirrubina, ácidos biliares y otros componentes de la bilis.

La colestasis del recién nacido no es un fenómeno benigno y se produce por la incidencia de cualquier factor que altere el flujo biliar. Generalmente sus rasgos clínicos, bioquímicos e histológicos se solapan, por lo que es difícil el diagnóstico de las diferentes entidades.

La colestasis es un hecho relativamente frecuente en las primeras edades de vida, por las especiales características del metabolismo de los componentes biliares y por el defecto de maduración de las funciones hepáticas en el recién nacido y el lactante pequeño. El flujo biliar depende de la circulación enterohepática de ácidos biliares, un proceso que es inmaduro al nacer. En el feto, la función excretora hepática está inactiva y la reemplaza la función excretora de la placenta, existiendo una transición gradual de la función placentaria a la hepática en el paso de la vida fetal a la extrauterina.

El factor que contribuye a una disminución del flujo biliar en el recién nacido es el déficit cuantitativo y cualitativo de ácidos biliares. Hay concentraciones más elevadas de ácidos biliares en suero, que disminuyen a las concentraciones del adulto después de los 6 meses de vida. Desde el punto de vista cualitativo se observan ácidos biliares atípicos y alteración en el cociente cólico-quenodeoxicólico, reflejando una inmadurez en la 12- α -hidroxilación. Otras alteraciones están representadas por defectos de síntesis, captación, conjugación y excreción de los ácidos biliares. Asimismo, en la bilis se encuentran ácidos biliar

res con grupos hidroxilo en las posiciones C1, C2 y C6, que indican una vía de síntesis diferente de la del adulto. En el hígado fetal también se producen cambios morfológicos que atañen al tamaño, la forma y motilidad del canalículo biliar. No sabemos con exactitud en qué consisten todos estos defectos de maduración, ni a veces podemos precisar si esta alteración llega a través de un sustrato bioquímico o anatómico. En todo caso, las causas de síndrome colestásico en el recién nacido son numerosas. A las anteriormente mencionadas hay que añadir las colestasis de origen metabólico definido, cuya deficiencia enzimática está establecida y origina una afección hepática donde impera otra sintomatología (p.e., daño neurológico) sobre los signos clásicos de ictericia colestásica. En otros pacientes que desarrollan colestasis sin una causa exógena evidente, existe una base genética. A este grupo pertenecen, principalmente, los afectados del síndrome de Alagille y de colestasis intrahepática familiar progresiva.

SÍNDROME DE ALAGILLE

Es una enfermedad de herencia autosómica dominante, caracterizada por la escasez de conductos biliares intrahepáticos, alteraciones cardíacas, defectos vertebrales, embriotoxon posterior y una *facies* peculiar con abombamiento de la frente, mentón prominente e hipertelorismo¹. Con menos frecuencia se observan anomalías renales, genitales, dentales, en el oído interno o en la capacidad intelectual. La patogenia de las lesiones hepáticas es desconocida, aunque una alteración genética es evidente. En estudios iniciales se identificaron en niños con síndrome de Alagille deleciones en el brazo corto del cromosoma 20^{2,3}. Más recientemente, dos grupos de trabajo independientes han descrito que este síndrome es consecuencia de mutaciones en uno de los genes localizados en este cromosoma, concretamente *Jag1* (el homólogo humano del gen *Jagged1* de rata)^{4,5}. Este gen codifica un ligando del receptor transmembrana Notch, cuya ruta de señalización intracelular está involucrada en los procesos de diferenciación celular y morfogénesis durante el desarrollo embrionario⁶. Es, por tanto, presumible que la falta de ac-

Correspondencia: Dra. P. Jara.
Servicio de Hepatología Infantil. Hospital Infantil La Paz.
P.º de la Castellana, 261. Madrid 28046.

Recibido el 7-1-2002; aceptado para su publicación el 9-1-2002.

tivación de Notch, por deficiencia del ligando, *Jag1*, pueda conducir a malformaciones como las observadas en el síndrome de Alagille. De hecho, estudios recientes han demostrado, mediante técnicas de hibridación *in situ*, que *Jag1* es expresado en las mismas estructuras que se encuentran afectadas en este síndrome^{7,8}. En lo que respecta al hígado, los resultados descritos apuntan a que este gen está implicado en el desarrollo de los conductos biliares^{8,9}. El espectro de mutaciones en *Jag1* identificadas hasta la fecha es amplio^{10,11}. La mayoría consiste en pequeñas deleciones, inserciones o mutaciones puntuales, que dan lugar a una proteína truncada o incapaz de unirse al ligando. Una minoría de pacientes presenta una deleción de todo el gen. Cabe destacar que, en la serie más grande de mutaciones de *Jag1* analizada, se ha observado una alta frecuencia (70%) de casos esporádicos, que no son consecuencia de transmisión hereditaria, sino que aparecen *de novo*¹¹.

En el síndrome de Alagille, la hepatopatía tiene manifestaciones clínicas tempranas, desde la edad neonatal o de lactante pequeño, en el 80% de los casos. Hay retraso de crecimiento, ictericia, hipocolia y coluria. La hepatomegalia es lisa y de consistencia ligeramente aumentada. A partir del segundo trimestre de vida o en el curso del primer año iniciarán un prurito intenso y liquenificación de la piel y las manos. Desde una edad temprana pueden desarrollar xantomas confluentes de predominio en flexuras, periorificiales y en el área del pañal. En ausencia de tratamiento, la intensa colestasis da lugar a raquitismo, fracturas de repetición, retinopatía pigmentaria, arreflexia, estrabismo, malnutrición grave y hemorragia por deficiencia de vitamina K. Aun con tratamiento de la colestasis, suplementos nutricionales y de vitaminas, el crecimiento en talla es inferior al normal, siendo frecuentes la osteoporosis, las fracturas patológicas y los signos menores de deficiencia de vitamina E. El perfil analítico evidencia hiperbilirrubinemia, elevación de ácidos biliares séricos, hipercolesterolemia, aumento de γ -glutamyltranspeptidasa (GGT) y elevación moderada de transaminasas. Con suplementos de vitamina K la coagulación es normal¹².

El diagnóstico de certeza se realiza cuando el paciente tiene al menos tres de los siguientes rasgos: escasez de los conductos biliares interlobulares, colestasis crónica, estenosis periféricas de arteria pulmonar, embriotoxon posterior, vértebras en mariposa, *facies* peculiar y antecedente familiar. Los conductos biliares son visibles en número normal en muchas de las biopsias realizadas en el lactante pequeño. La escasez (menos del 50% de espacios porta con conducto biliar) suele evidenciarse en edades posteriores y ello podría apoyar la presencia de un proceso de destrucción, aunque no hay signos inflamatorios asociados. Otra explicación es el reducido tamaño de las muestras obtenidas por punción, que presentan un número pequeño de tractos portales y, por tanto, no permite asegurar si existe escasez de conductos biliares. En una proporción de pacientes se producirá progresión con fibrosis portal y cirrosis; otros mantienen únicamente escasez ductal.

El tratamiento con fenobarbital, resinolesoteramina, ácido ursodeoxicólico (UDCA) y vitaminas mejora la evolución espontánea de la enfermedad, disminuyendo la intensidad de los síntomas. En niños con colestasis temprana, predomina una evolución marcada por la mala calidad de vida ocasionada por la malabsorción, malnutrición, prurito e hiperlipemia, con hepatomegalia lisa y firme, sin esplenomegalia. Hasta un 50% de los niños tienen una colestasis grave que indica la realización de trasplante antes de la edad adulta, y en un tercio de ellos se añaden signos de hipertensión portal o insuficiencia hepatocelular¹³.

El estudio histológico del hígado en los niños candidatos a trasplante pone de manifiesto cirrosis biliar o fibrosis portal asociada a ausencia de conductos biliares interlobulares^{14,15}. Sin embargo, el trasplante está también indicado para mejorar la calidad de vida afectada por la colestasis, aunque no haya signos de insuficiencia o hipertensión portal.

Otro grupo de niños inicia síntomas de colestasis pasado el período de lactante, generalmente con prurito leve o moderado y subictericia fluctuante. Estas formas más leves de afección hepática pueden detectarse tras consulta por la afección más prominente de otros órganos (tetralogía de Fallot, estenosis pulmonar, nefropatías). El pronóstico vital por la hepatopatía es generalmente bueno sin necesidad de trasplante durante la infancia o adolescencia. A lo largo de la adolescencia pueden remitir el prurito y la hiperlipemia.

La indicación de trasplante hepático en el síndrome de Alagille se basa en la necesidad de mejorar la calidad de vida del niño, y en pocas ocasiones por síntomas de hipertensión portal o insuficiencia hepática. Sin embargo, en el curso clínico de la colestasis puede sufrir un brusco deterioro con insuficiencia hepática disparado por procesos infecciosos. La prolongación del deterioro global del paciente conduce a repercusiones cardiovasculares de la hipercolesterolemia, a un retraso de talla muy pronunciado e incluso a un riesgo vital determinado por infecciones. El momento adecuado para indicar el trasplante debe individualizarse. Si el niño no tiene signos de insuficiencia o complicaciones de hipertensión portal, puede ser una actitud prudente esperar a una edad superior a los 3 años para conseguir la mejor tolerancia y supervivencia postrasplante.

En el estudio pretrasplante es necesario valorar cuidadosamente la anatomía cardíaca. La cardiopatía más frecuente son estenosis periféricas de la arteria pulmonar, pero pueden presentar estenosis valvulares, ductus arterioso persistente u otras. En ocasiones es preciso corregir estas cardiopatías antes de efectuar el trasplante y, en cualquier caso, exigen medidas de profilaxis de endocarditis. En niños más mayores es necesario evaluar la repercusión cardiovascular de la hiperlipemia crónica. Asimismo, deben explorarse la función y la anatomía renales. Son frecuentes las duplicidades, el reflujo vesicoureteral, el riñón en herradura, las hipoplasias graves e incluso las lesiones debidas a la sobredosificación de vitamina D por raquitismo refractario. La función intelectual puede infravalorarse durante la enfermedad por la alteración global

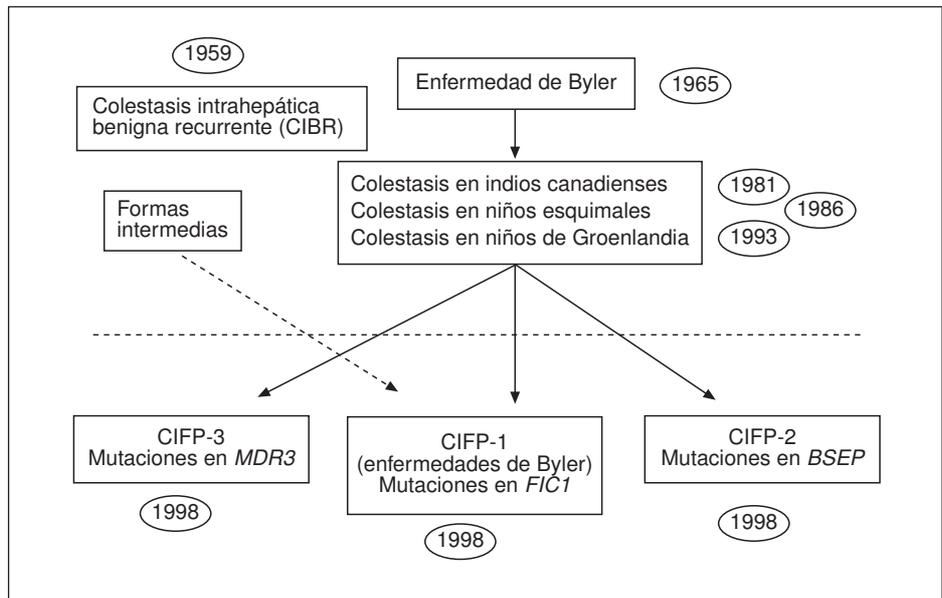


Fig. 1. Descripciones históricas referentes a la colestasis intrahepática familiar progresiva (CIFP). Véanse detalles en el texto.

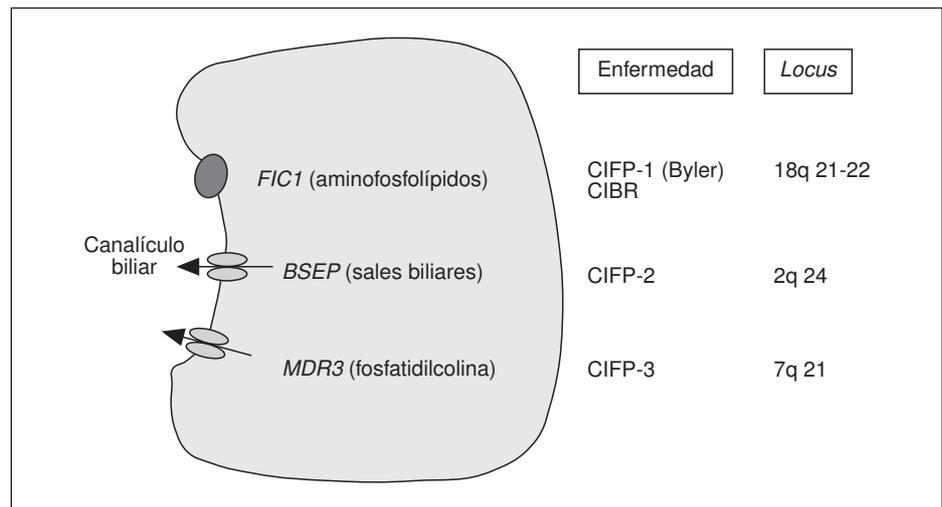


Fig. 2. Bases genéticas de la colestasis intrahepática familiar progresiva (CIFP). CIBR: colestasis intrahepática benigna recurrente.

del niño. El prurito causa además dificultad para el descanso y para las actividades que requieren concentración.

COLESTASIS INTRAHEPÁTICA FAMILIAR PROGRESIVA (CIFP)

El acrónimo «CIFP» hace referencia a un grupo heterogéneo de enfermedades de herencia autosómica recesiva que comparten ciertas manifestaciones clínicas, pero presentan características diferenciales propias de entidades específicas. Las descripciones de diferentes, aunque similares, entidades se han sucedido desde la primera comunicación¹⁶. Muchas se identifican a partir de la aparición en grupos étnicos diferenciados: niños amish de Pensilvania (enfermedad de Byler), niños esquimales de Groenlandia, niños indios canadienses, etc. Sin embargo, ha sido la reciente identificación de las bases genéticas de los síndromes más comunes de CIFP lo que ha permitido una mejor

definición y clasificación del grupo, acorde con el genotipo y fenotipo. En la figura 1 se presenta una relación cronológica de las descripciones más relevantes asociadas a esta enfermedad. Actualmente está generalizada la subdivisión de CIFP en tres entidades con características propias: CIFP-1, también llamada enfermedad de Byler, CIFP-2 y 3. La patogenia de estas enfermedades ha sido recientemente aclarada, confirmando la sospecha inicial de un defecto en la secreción de componentes biliares¹⁷. La secreción hepática de sales biliares, fosfolípidos y aniones orgánicos es un proceso dependiente de la ATP y mediado por proteínas transportadoras localizadas en la membrana canalicular, que pertenecen a la superfamilia de transportadores con dominio de unión a ATP (denominadas proteínas ABC)¹⁸. La presencia de mutaciones en transportadores canaliculares específicos, y su consiguiente pérdida de expresión o funcionalidad, da lugar a las formas definidas de CIFP y la colestasis intrahepática benigna recurrente (CIBR) (fig. 2).

TABLA I. Clasificación funcional y características de los pacientes con colestasis intrahepática familiar progresiva (CIFP)

Nomenclatura	Defecto funcional	Patogenia	GGT	Manifestaciones clínicas
CIFP-1	Translocación de aminofosfolípidos	Alteración de la membrana, transporte o solubilización de ácidos biliares	Normal	Aumento de sales biliares en suero y disminución en bilis. Malabsorción
CIFP-2	Transporte de sales biliares	Acumulación de ácidos biliares en el hepatocito	Normal	Aumento de sales biliares en suero y disminución en bilis. Hepatitis neonatal
CIFP-3	Transporte de fosfatidilcolina	Daño canalicular	Elevada	Disminución de fosfatidilcolina biliar. Proliferación de conductos biliares

La colestasis intrahepática familiar tipo 1 (CIFP-1) está asociada a mutaciones en el gen *FIC1*¹⁹, que codifica una ATPasa tipo P, que parece estar implicada en la traslocación de aminofosfolípidos (fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina) desde la cara externa a la interna de la bicapa lipídica. Se desconoce la implicación directa de esta proteína en la secreción biliar y cómo su pérdida funcional puede dar lugar a colestasis. Las hipótesis más plausibles aluden a su papel en el mantenimiento de una correcta composición lipídica de la membrana canalicular. Se ha planteado que una alteración en la misma puede impedir el anclaje de otros transportadores, o que una anormal composición lipídica en la cara externa de la membrana no permita la formación de micelas con los ácidos biliares monoméricos, que, consecuentemente, serían reabsorbidos²⁰.

Además de en la membrana canalicular del hepatocito, *FIC1* es expresado en el colangiocito²¹ y diversos tejidos, como intestino, páncreas y riñón¹⁹, lo que puede explicar ciertos trastornos clínicos que persisten en algunos pacientes incluso después de un satisfactorio trasplante hepático, como pancreatitis y malabsorción intestinal. Las mutaciones en el gen *FIC1* se han asociado asimismo a la colestasis intrahepática benigna recurrente (CIBR)¹⁹, caracterizada por episodios colestásicos intermitentes, que no suelen producir un daño hepático progresivo.

La colestasis intrahepática familiar tipo 2 (CIFP-2) ha sido relacionada con mutaciones en el gen que codifica una bomba canalicular de exportación de sales biliares (BSEP), expresado únicamente en el hígado²². En algunos pacientes se ha observado, mediante técnicas de inmunohistoquímica, una ausencia total de BSEP en la membrana canalicular, con la consiguiente incapacidad para excretar ácidos biliares al canaliculo²³. Los mecanismos responsables de dicho efecto no han sido explorados, si bien algunas mutaciones identificadas pueden dar lugar a la producción de una BSEP truncada, y se ha propuesto que otras mutaciones pueden derivar en un cambio conformacional de la proteína que impida su migración o anclaje a la membrana plasmática^{22,24}. También se ha planteado la posibilidad de un defecto en la transcripción del gen o en traducción del ARNm²³. La pérdida de funcionalidad de este transportador lleva a la acumulación de sales biliares en el hepatocito, lo que produce un daño celular progresivo debido a sus propiedades detergentes. Adicionalmente, dado que las sales biliares son necesarias para la solubilización de lípidos, la ausencia de su secreción al canaliculo biliar se traduce en malabsorción intestinal de colesterol y vitaminas liposolubles.

El tercer tipo de colestasis intrahepática familiar progresiva, la CIFP-3, incluye a pacientes que presentan mutaciones en un translocador de fosfolípidos, la proteína de resistencia a multifármacos MDR3, expresada predominantemente en la membrana canalicular del hepatocito^{24,25}. El espectro de mutaciones identificadas en MDR3 comprende desde sustituciones de diversos aminoácidos a la producción de una proteína truncada. En casi todos los casos, las concentraciones de proteína detectadas en el hígado son muy bajas o nulas. Mutaciones en el dominio de unión a ATP parecen producir la retención de la proteína en el retículo endoplasmático y su acelerada degradación²⁶. Algunas mutaciones no comportan pérdida de la proteína, sino que parecen afectar a la función de la misma²⁶. En cualquier caso, el resultado es una disminución en la secreción de fosfolípidos, particularmente fosfatidilcolina, a la bilis. Debido a su capacidad para formar micelas con los ácidos biliares, un déficit en la secreción de fosfolípidos origina un predominio de sales biliares monoméricas no micelares que, debido a sus propiedades detergentes, producen daño canalicular¹⁸.

Acorde con los defectos funcionales en los diferentes transportadores canaliculares, los pacientes con CIFP manifiestan también distintas características clínicas (tabla I). El CIFP-1 se caracteriza por presentar altas concentraciones en suero de sales biliares y valores normales de GGT y colesterol. La CIFP-2 es clínicamente parecida a la anterior, presentando títulos normales de GGT en suero, pero sufre una progresión más rápida hacia cirrosis. Finalmente, los pacientes con CIFP-3 presentan valores altos de GGT en suero y proliferación ductal²⁷.

En estas enfermedades el hígado es el único órgano afectado. La aparición de síntomas sucede en el período neonatal o en el lactante, como ictericia e hipocolia, que es seguida en pocos meses de prurito intenso. El hígado es grande, duro y liso, la esplenomegalia es poco marcada en general, incluso tras años de evolución. El deterioro nutricional y especialmente el retraso de talla serán progresivos y refractarios al tratamiento médico. En algunos niños se observa diarrea crónica. Algunos autores describen episodios de tos y sibilancias que podrían suponer una manifestación de prurito. Otros niños presentan epistaxis graves con coagulación normal. También se han descrito telangiectasias malares en algunas familias, similares a las de las colestasis de niños indios²⁸.

La biopsia hepática no presenta lesiones específicas. Se observa frecuentemente transformación gigantocelular incluso en biopsias realizadas después del primer año de vida. Aunque en la descripción original de la enfermedad

de Byler no se describían lesiones en los conductos biliares interlobulares, en los pacientes con CIFP se ha descrito desaparición ductal hasta en el 70% de los casos. La mayoría desarrolla evolutivamente fibrosis portal y esclerosis pericentral²⁹.

El pronóstico de la CIFP es globalmente malo, con colestasis crónica grave y fallecimiento debido a insuficiencia hepática durante la infancia. Los tratamientos con rifampicina, fenobarbital o rescolesteramina no cambian el pronóstico de la enfermedad, aunque pueden atenuar los síntomas. En niños con CIFP-1 se ha descrito que el tratamiento con UDCA puede mejorar algunos parámetros clínicos, bioquímicos e histológicos³⁰. Los pacientes con CIFP-3 que presentan mutaciones que acarrear una pérdida de expresión o función de MDR3 desarrollan colestasis grave en la infancia y no responden al tratamiento con UDCA. En cambio, los pacientes con mutaciones que permiten una expresión y/o función limitada de MDR3 manifiestan la enfermedad más tardíamente y responden al tratamiento con UDCA^{31,32}. Si las lesiones histológicas no están avanzadas, según la experiencia de Whittington et al, un 65% se beneficia de la realización de una derivación biliar parcial mediante anastomosis de una asa yeyunal de 10-14 cm a la vesícula biliar con derivación externa de la bilis³³. El impacto sobre la supervivencia que puede derivar de la aplicación de cirugía está aún en evaluación.

El trasplante hepático está indicado ante la falta de respuesta clínica al tratamiento médico y quirúrgico, o si se desestima la cirugía derivativa por la presencia de graves lesiones histológicas. La alteración nutricional grave, el prurito incapacitante y/o el retraso en el crecimiento deben hacer plantear el trasplante antes de que existan signos de insuficiencia hepatocelular.

El trasplante hepático permite la normalización de la función sin recidiva de la enfermedad original, pero estos niños presentan a veces una diarrea crónica postrasplante de etiología no definida, con esteatorrea y repercusión nutricional de muy difícil tratamiento. Esta diarrea crónica postrasplante afecta más a aquellos niños con una clínica superponible a la enfermedad de Byler, con GGT normal. No es predecible antes del trasplante ni se relaciona con la presencia de diarrea crónica durante los años de enfermedad colestásica.

PERSPECTIVAS FUTURAS

El correcto diagnóstico de los síndromes de CIFP es aún un tema por resolver. En un estudio reciente realizado con 31 pacientes, se ha descrito que casi la mitad de quienes habían sido clínicamente diagnosticados de CIFP-3 no presentaban alteraciones en la expresión de MDR3³¹. Una descripción similar es recogida en otro estudio realizado con pacientes diagnosticados de CIFP-2: un tercio de los mismos presentaba una expresión normal de BSEP²³. La identificación de mutaciones asociadas con CIFP será, por tanto, aconsejable para facilitar el diagnóstico, la prognosis y predecir la respuesta al tratamiento con UDCA.

Queda también por determinar si los defectos en *FIC1*, *BSEP* y *MDR3* son la causa de todos los tipos de CIFP, o si hay otros genes implicados en la patogenia de la enfermedad. En este sentido, aún no se ha aportado una explicación al hecho de que mutaciones en un solo gen, *FIC1*, den lugar a dos enfermedades con distinta patología y evolución, como CIFP y colestasis intrahepática recurrente (CIRB). Asimismo, de acuerdo con nuestra experiencia, hay niños de raza gitana afectados de CIFP que presentan características clínicas diferenciales, indicativas de una entidad distinta de las tres definidas. En consecuencia, parece probable que aún están por identificar alteraciones moleculares adicionales que contribuyan al fenotipo CIFP. También parece probable la implicación de otros genes y/o factores en la patogenia del síndrome de Alagille, dado que algunos pacientes que poseen idénticas mutaciones en *Jag1* presentan distintas manifestaciones clínicas^{34,35}.

Como expectativas futuras, es de suponer que un mayor conocimiento de las bases moleculares y genéticas de la CIFP permita el diagnóstico prenatal y que, en esta enfermedad, la terapia celular o génica pueda representar una alternativa al trasplante hepático.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alagille E, Estrada A, Hadchouel M, Gautier M, Odievre M, Dommergues JP. Syndromic paucity of interlobular bile ducts (Alagille syndrome or arteriohepatic dysplasia). Review of 80 cases. *J Pediatr* 1987;109:195-200.
2. Byrne JLB, Harrod MJE, Friedman JM, Howard-Peebles PN. Del(20p) with manifestations of arteriohepatic dysplasia. *Am J Med Genet* 1986;24:673-8.
3. Schnittger S, Hofers C, Heideman P, Beerman F, Hansmann I. Molecular and cytogenetic analysis of an interstitial 20p deletion associated with syndromic intrahepatic ductular hypoplasia (Alagille syndrome). *Hum Genet* 1989;83:239-44.
4. Oda T, Elkahoul AG, Pike BL, Okajima K, Krantz ID, Genin A, et al. Mutations in the human *Jagged1* gene are responsible for Alagille syndrome. *Nat Genet* 1997;16:235-42.
5. Li L, Krantz ID, Deng Y, Genin A, Banta AB, Collins CC, et al. Alagille syndrome is caused by mutations in *Jagged1*, which encodes a ligand for Notch1. *Nat Genet* 1997;16:243-51.
6. Artavanis-Tsakonas S, Matsuno K, Fortini ME. Notch signaling. *Science* 1995;268:225-32.
7. Jones EA, Clement-Jones M, Wilson DI. *Jagged1* expression in human embryos: correlation with the Alagille syndrome phenotype. *J Med Genet* 2000;37:663-8.
8. Crosnier C, Attie-Bitach T, Encha-Razavi F, Audollent S, Soudy F, Hadchouel M, et al. *Jagged1* gene expression during human embryogenesis elucidates the wide phenotypic spectrum of Alagille syndrome. *Hepatology* 2000;32:574-81.
9. Louis AA, Van Eyken EP, Harber BA, Hicks C, Weinmaster G, Taub R, et al. Hepatic jagged expression studies. *Hepatology* 1999;30:1269-75.
10. Krantz ID, Colliton RP, Genin A, Rand EB, Li L, Piccoli DA, et al. Spectrum and frequency of *jagged1* (JAG1) mutations in Alagille syndrome patients and their families. *Am J Human Genet* 1998;62:1361-9.
11. Crosnier C, Driancourt C, Raynaud N, Dhorme-Pollet S, Pollet N, Bernard O, et al. Mutations in *Jagged1* gene are predominantly sporadic in Alagille syndrome. *Gastroenterology* 1999;116:1141-8.
12. Jara P. Patología pediátrica. En: Bruguera M, Miño G, Pons F, Moreno R, editores. Tratamiento de las enfermedades hepáticas. Madrid: AEEH, 1997; p. 337-45.

13. Hoffenberg EJ, Narkewicz MR, Sondheimer JM, Smith DJ, Silverman A, Sokol RJ. Outcome of syndromic paucity of interlobular bile ducts (Alagille syndrome) with onset of cholestasis in infancy. *J Pediatr* 1995;127:220-4.
14. Tzakis AG, Reyes J, Tepetes K, Tzoracoleftherakis V, Todo S, Starzl T. Liver transplantation for Alagille's Syndrome. *Arch Surg* 1993;128:337-9.
15. Cardona J, Houssin D, Gauthier F, Devictor D, Losay J, Hadchouel M, et al. Liver transplantation in children with Alagille syndrome -a study of twelve cases. *Transplantation* 1995;60:339-42.
16. Clayton RJ, Iber FL, Ruebner BH, McKusick VA. Byler disease: fatal familial intrahepatic cholestasis in an Amish kindred. *Am J Dis Child* 1969;117:112-24.
17. Jaquemin E, Dumont M, Bernard O, Erlinger S, Hadchouel M, et al. Evidence for defective primary bile acid secretion in children with progressive familial intrahepatic cholestasis (Byler disease). *Eur J Pediatr* 1994;153:424-8.
18. Kullak-Ublick GA, Beuers U, Paumgartner G. Hepatobiliary transport. *J Hepatol* 2000;32:3-18.
19. Bull LN, Van Eijk MJT, Pawlikowska L, De Young J, Juiun J, Liao M, et al. Identification of a P-type ATPase mutated in two forms of hereditary cholestasis. *Nat Genet* 1998;18:219-24.
20. Thompson R, Jansen P. Genetic defects in hepatocanalicular transports. *Semin Liver Dis* 2000;20:365-72.
21. Eppen EF, Van Mil SW, De Vree JM, Mok KS, Juijn JA, Elferink RP, et al. FIC1, the protein affected in two forms of hereditary cholestasis is localized in the cholangiocyte and the canalicular membrane of the hepatocyte. *J Hepatol* 2001;35:436-43.
22. Strautnieks SS, Bull LB, Knisely AS, Kocoshis SA, Dahl N, Arnell H, et al. A gene encoding a liver-specific ABC transporter is mutated in progressive familial intrahepatic cholestasis. *Nat Genet* 1998;20:233-8.
23. Jansen PLM, Strautnieks SS, Jaquemin E, Hadchouel M, Sokal EM, Guido JE, et al. Hepatocanalicular bile salt export pump deficiency in patients with progressive familial intrahepatic cholestasis. *Gastroenterology* 1999;117:1370-9.
24. Deleuze JF, Jacquemin E, Dubuisson C, Cresteil D, Dumont M, Erlinger S, et al. Defect of multidrug-resistance 3 expression in a subtype of progressive familial intrahepatic cholestasis. *Hepatology* 1996;23:904-8.
25. De Vree JM, Jacquemin E, Sturm E, Cresteil D, Bosma PJ, Alen J, et al. Mutations in the *MDR3* gene cause progressive familial intrahepatic cholestasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:282-7.
26. Dixon PH, Weerasekera N, Linton KJ, Donaldson O, Chambers J, Egginton E, et al. Heterozygous *MDR3* missense mutation associated with intrahepatic cholestasis of pregnancy: evidence for a defect in protein trafficking. *Hum Mol Genet* 2000;9:1209-17.
27. Bezerra JA, Ballasteri WF. Intrahepatic cholestasis: order out of chaos. *Gastroenterology* 1999;117:1496-8.
28. Erlinger S. Cholestasis. En: Schiff ER, Sorrel MF, Maddrey WC, editors. Schiff's diseases of the liver. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1999; p. 611-29.
29. Alonso EM, Snover DC, Montag A, Freese EK, Whittington PF. Histologic pathology of the liver in progressive familial intrahepatic cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994;18:128-33.
30. Dinler G, Kocak N, Ozen H, Yuce A, Gurakan F. Ursodeoxycholic acid treatment in children with Byler disease. *Pediatr Int* 1999;41:662-5.
31. Jacquemin E, De Vree JML, Cresteil D, Sokal EM, Sturm E, Dumont M, et al. The wide spectrum of multidrug resistance 3 deficiency: from neonatal cholestasis to cirrhosis of adulthood. *Gastroenterology* 2001;120: 1448-57.
32. Rosmorduc O, Hermelin B, Poupon R. *MDR3* gene defect in adults with symptomatic intrahepatic and gallbladder cholesterol cholelithiasis. *Gastroenterology* 2001;120:1459-67.
33. Whittington PF, Freese DK, Alonso EM, Schwarzenberg SJ, Sharp HL. Clinical and biochemical findings in progressive familial intrahepatic cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994;18:134-41.
34. Krantz ID, Rand EB, Genin A, Hunt P, Piccoli DA, Spinner NB. Alagille syndrome. *J Med Genet* 1997;34:152-7.
35. Shneider BL. Genetic cholestatic syndromes. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;28:124-31.