

# Behazun-gatzen garraioaren fisiologia

*Yuri Rueda, Patricia Aspichueta eta Olatz Fresnedo*

Fisiologia Saila (UPV/EHU)

**Laburpena:** Heste mehera isurtzen diren behazun-gatzek lipidoen digestioan eta xurgapenean laguntzen dute. Behazun-gatzak hepatozitoei sintetizatzen dituzte kolesterola erabiliz; beren izaera anfipatikoa eta egitura molekularra direla-eta, detergente gisa jokatzen dute, eta beraz toxikoak izan daitezke kontzentrazio handietan. Hori horrela izanda, beren sintesia eta garraioa oso modu finean erregulatu behar dira, bai gibelean bai behazun-gatzen garraioan parte hartzen duten beste ehunetan. Lan honetan gainbegirada bat egin diegu behazun-gatzen metabolismoari eta garraio-prozesuei, azken hauen transkripzio mailako kontrolari buruz argitaratu diren azken lanak ere bilduz.

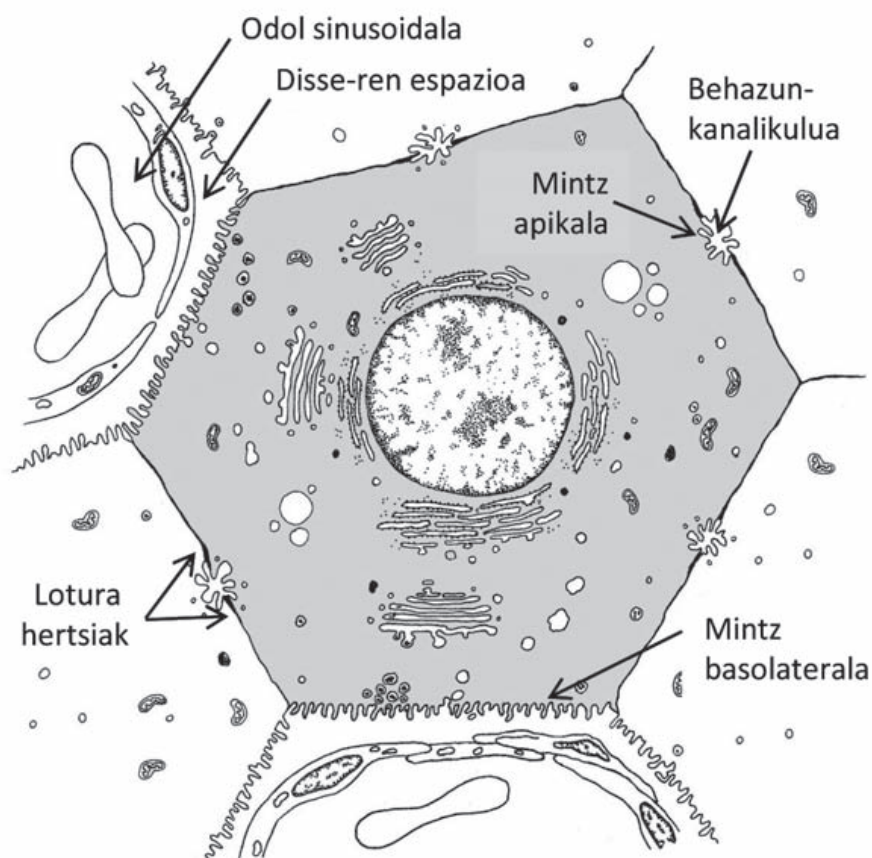
**Abstract:** Bile is poured into duodenum, where bile salts help in the digestion and absorption of lipids. Bile salts are synthesised by hepatocytes using cholesterol, and given their amphipathic nature and molecular structure they act as detergents, causing the emulsion of lipids during digestion. However, their detergent nature makes them toxic at high concentrations, that is why their synthesis and transport must be tightly regulated, not only in liver but also in all tissues taking part in bile salt transport. In this work we will give a brief review of bile salt metabolism and transport and of the transcriptional control of those processes.

## 1. SARRERA

Behazuna gibelak ekoizten du, ondoren behazun-zuhaitzaren bidez heste mehera isurtzeko. Bertan dietan hartutako lipidoen digestio eta xurgapena ahalbidetzen ditu, batez ere behazun-gatzen (BG) ahalmen detergenteari esker. Kolesterola eliminatzeko biderik garrantzitsua da, gorputzeko kolesterolaren homeostasian parte hartzen duelarik. Gorotzetan iraitzi behar diren beste konposatu batzuen eramailea ere bada: konposatu endogenoak eta metabolismoan ekoizkinak (bilirrubina edo hormonen deribatuek, adibidez) eta xenobiotiko destoxifikatuak (toxinak, drogak eta abar). Behazuna gibela zelula parenkimalek (hepatozitoei) ekoizten dute eta behazun-hodietatik igarotzean, haien epitelioko zelulek (kolangiozitoei) bere konposaketa alda dezakete.

Hepatozitoa da gibela funtzio nagusiak betetzen dituen zelula mota. Epitelioko zelulen oinarriko egitura dauka, hau da, bere mintz plasmati-

koan osaketa biokimiko eta ezaugarri funtzional ezberdineko bi eremu bereiz daitezke (**1 irudia**). Mintz sinusoidala (edo basolaterala) odolarekin dago kontaktuan, Disseren espazioaren bitartez, eta mintz kanalikularra (edo apikala) hepatozitoen arteko kontaktu-zonaldeetan dago; zonalde horien tolesdurek osatzen dute behazun-kanalikulua. Hepatozitoaren jariatzen-prozesuak bi norabidetan gertatzen dira: kanalikulura, behazunaren osagaiak jariatzen dira eta odolera albumina bezalako proteinak, lipoproteinak eta metabolito asko.

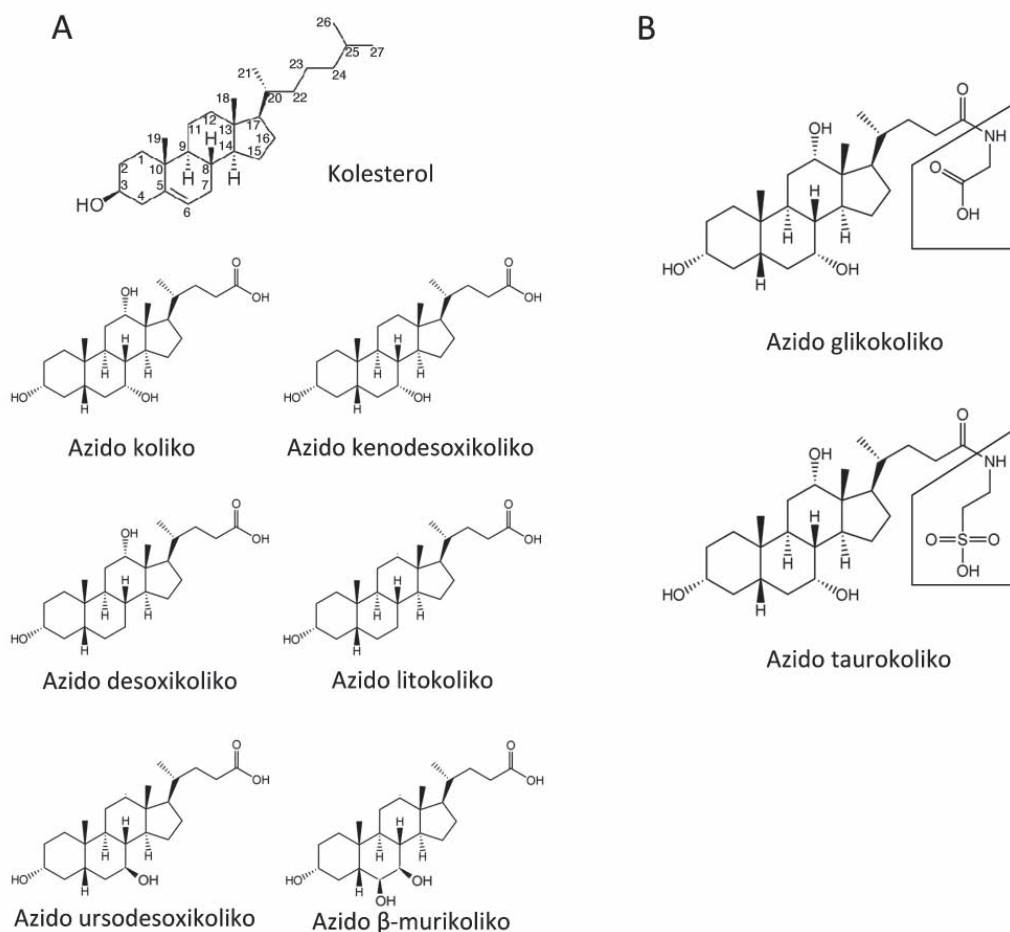


**1. irudia.** *Hepatozito baten egituraren eskema.* Mintzeko eremu ezberdinak, lotura hertsia, behazun kanalikulua eta sinusoide hepatikoa beha daitezke.

Hepatozitoek kanalikulura jariatutako solutuek sortutako osmosi-gradienteak ur eta elektrolitoen irteera bultzatzen du, eta horrela behazunaren fluxua eragiten du. BG-ak, fosfolipidoak eta kolesterola dira behazuneko konposatu garrantzitsuenak. Beste osagai garrantzitsu batzuk glutatona eta bikarbonatoa dira; azken hau kolangiozitoek jariatzen dute batez ere.

## 2. BEHAZUNAREN OSAGAIK

Behazuneko solutu garrantzitsuenak BG-ak, fosfolipidoak eta kolesterola dira (behazuneko lipidoak). Behazun-gatzak gibelean sintetizatzen diren konposatu esteroide anfiptikoak dira (**2 irudia**). Kolesterola aitzindari bezala erabiliz, lehenik behazun-azidoak sortzen dira eta haien konjokape-nez (glizina edo taurina lotuz) behazun-gatzak. Azken hauen pK 4 inguru-koa izategatik, pH fisiologikoan beren forma desprotonatuan agertzen dira (eta hidrofiliakoagoak eta eraginkorragoak dira ondorioz); konjokatu gabeko behazun-azidoen pK, aldiz, pH fisiologikoaren ingurukoa da eta horregatik, izaera azidoagoa daukate pH horretan.



**2. irudia.** Behazun-azido eta behazun-gatz ohikoenak. **(A)** Kolesterola eta behazun-azido primario (azido koliko eta azido kenodesoxikoliko), sekundario (azido desoxikoliko eta azido litokoliko) eta hidrofiliakoak (azido ursodesoxikoliko eta karraskarien azido  $\beta$ -murikolikoa). **(B)** Azido glikokolikoa eta azido taurokolikoa aldaera konjokatuaren adibide bezala. Trapezioekin glizinatik eta taurinatik eratorritako zatiak adierazi dira, hurrenez hurren.

Gibelean sintetizatutakoei behazun-azido eta behazun-gatz primario deitzen zaie. Behazuna hestera jariatu ondoren, bertako bakterioek BG primarioak metabolizatu eta behazun-azido sekundarioak sortzen dituzte. Kolatoaren eta kenodesoxikolatoaren deribatu konjokatuak deskonjokatuz eta desoxigenatuz azido desoxikolikoa eta azido litokolikoa sortzen dira, hurrenez hurren.

Gibel eta hestearen artean dagoen zirkulazioa dela-eta, jariatzen diren BG-en gehiengoa hepatozitoen mintz basolateralean zehar sinusoidetik jaso (ikus beherago) eta ondoren, birjariatu egingo da. Jariatutako BG-en %3-5 baino ez da *de novo* sintetizatu behar, gorotzetan galdutakoaren neurri berean [1].

Behazun-gatzekin gertatzen denaren antzera, behazunera jariatutako kolesterolaren %5 baino gutxiago dator *de novo* sintesitik: gehienaren jatorria odoletik barneratutako lipoproteinak dira [2]. Behazun-fosfolipidoei dagokienez, %95a, konposaketa aziliko bereziko fosfatidilkolina da [3]. Jariatzen den fosfatidilkolina gehiena gibelean aurretik sintetizatuta dago edo beste ehun batzuetatik dator, eta ez *de novo* sintesitik [4].

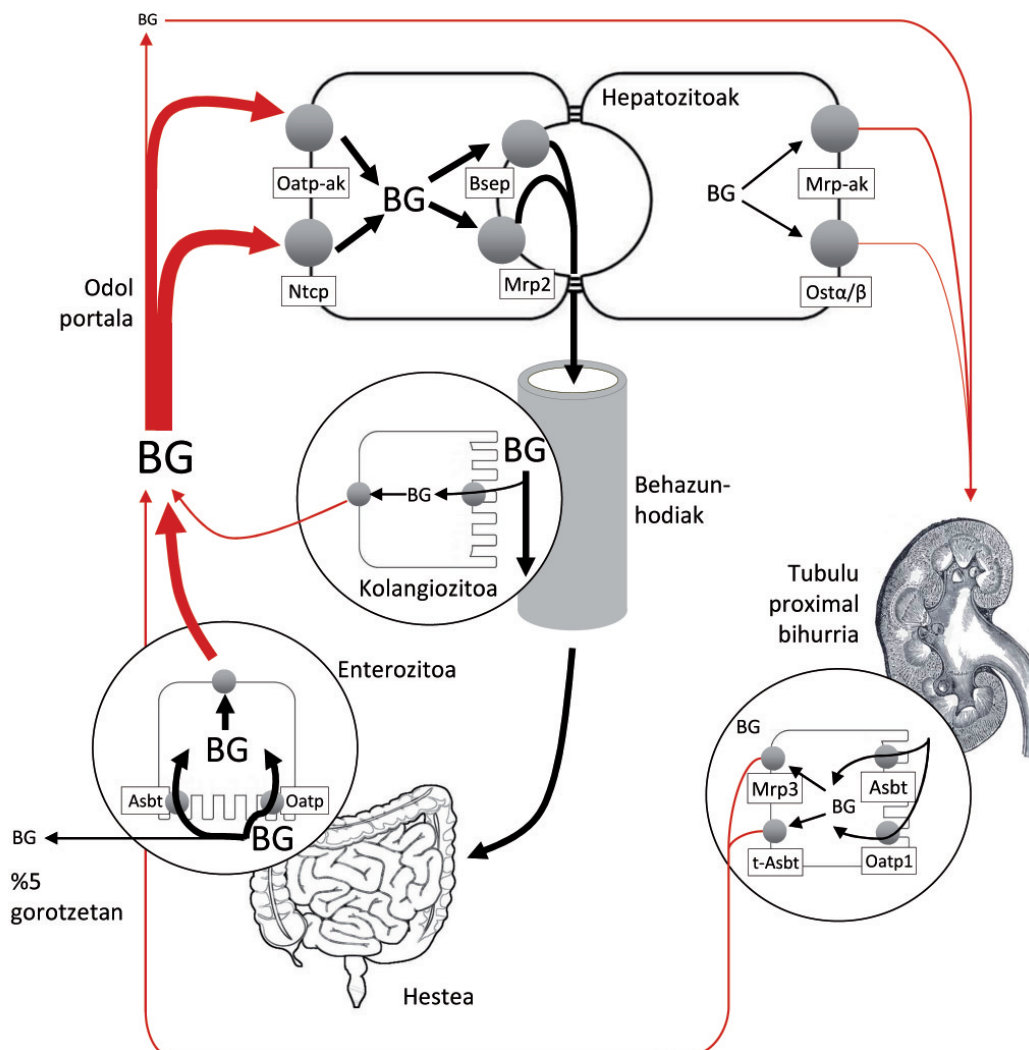
Lipidoez gain, behazunaren fluxua eragiten duten konposatuen artean, garrantzitsuak dira glutationa eta bikarbonatoa. Behazunaren osagai dira era berean, elektrolito inorganikoak, endo- eta xenobiotiko konjokatuak eta, batzuetan, glukosa eta proteinak ere.

### 3. BEHAZUN-GATZEN ZIRKULAZIOA GORPUTZEAN ZEHAR

Behazun-gatzak gibelean sintetizatzen dira baina gorputzean zehar zirkulatzen dute. BG-ak hestera isuri eta bertan birxurgatzen dira, eta ondorioz, ehun eta organo ezberdinetatik igarotzen dira. Igarotzen dituzten ehunen arabera 3 zirkuitu ezberdin gerta daitezke: zirkulazio enterohepatikoa (gibela-hestea-gibela), desbideratze kolehepatikoa (hepatozittoa-kolangiozittoa-hepatozittoa) eta zirkulazio nefrohepatikoa (gibela-giltzurruna-gibela). Atal honetan zirkulazio hauen azalpen motza emango da.

#### 3.1. Zirkulazio enterohepatikoa

Behazuna heste mehearen lehen atalera (duodenora) isurtzean hasten da zirkulazio enterohepatikoa (**3 irudia**). Hestean zehar behazuneko lipidoek dietako lipidoen digestioan eta xurgapenean lagundu ondoren BG gehienak ileonean birxurgatzen dira, enterozitoen mintz apikaleko Asbt garraiatzaileari esker [5]. Asbt proteinak Na<sup>+</sup>-menpeko garraioa egiten du [6, 7]. Na<sup>+</sup>-menpekoa ez den garraio-mekanismoa ere gertatzen da jeiunoan [8]; Oatp proteinek egin lezakete garraioa [9, 10]. Ez dago argi enterozitoren mintz basolateraleko BG-en kanporaketa zein garraiatzailek egiten duen; edonola, hesteko benetako odolera heltzen dira (zirkulazio portala).



**3. irudia.** *Behazun-gatzen zirkulazioa egoera fisiologikoan.* Behazun-gatzek (BG) organismoan jasaten dituzten zirkulazio-prozesuak adierazten dira eskematikoki. Gezi gorriek odola adierazten dute. Hiru ibilbide ezberdin bereiz daitezke: zirkulazio enterohepatikoa (gibel-heste-gibel), zirkulazio nefrohepatikoa (gibel-giltzurrun-gibel) eta desbideratze kolehepatikoa (hepatozito-behazun-hodi-hepatozito). Irudian zenbait garraiatzaile aipatzen dira; horiei buruzko xehetasun gehiago testuan aurki daitezke.

Behazun-gatzetako batzuk ileoneko birxurgapenetik ihes egin eta kolonera iritsiko dira. Bertako mikrobiota anaerobikoak deskonjokatu eta desoxigenatu egingo ditu, eta azido desoxikoliko eta azido litokoliko behazun-azido sekundarioak sortzen ditu [11]. Horietako gehienek difusio pasiboz enterozitoak zeharkatu eta zirkulazio portalera heltzen dira.

Zirkulazio portaleko bena-odolak gibela zeharkatzen du zirkulazio sistemikora iritsi aurretik. Beste konposatu askorekin gertatzen den bezala, hepatozitoek BG-ak barneratzen dituzte ondoren birkonjokatzeko; horrela birjariatzeko prest gelditzen dira, eta zirkulazio enterohepatikoa ixten da.

Azido litokolikoa behazun-azido hidrofobikoenetarikoa da eta bai toxikoa ere; sulfatatu egingo da hidrofilikoa bihurtzeko eta berriz ere jariatua izan ondoren hesteko birxurgapena zailtzeko.

Prozesu honetan guztian jariatutako BG-en %95a birxurgatuko da hestean. Gainerako %5a gorotzetan galtzen da: hauxe da giza-gorputzak kolesterola (BG-en aitzindaria) iraitzeko duen bide nagusia [12].

### **3.2. Desbideratze kolehepatikoa**

Nahiz eta gibelaren masaren %3-5a baino ez izan, kolangiozitoek zeregin garrantzitsua daukate behazunaren sorreran. Bikarbonatoa jariatzeaz gain BG-ak barnera ditzakete behazun-hodien lumenetik, ondoren kapilar periduktularren plexuaren bidez gibelera itzul daitezten. Horri desbideratze kolehepatiko deritzo (**3 irudia**). Bide horrek garrantzia izan dezake behazun-hodiak buxatzen direnean (kolestasi obstruktiboa) edo behazun patogenikoak eragindako behazun-hodien patologietan, non behazun-hodien proliferazioa gertatzen den.

Desbideratze kolehepatikoaren bidez BG-ak aurreztu egiten dira eta behazun hiperkoleretikoa (fluxu handikoa) eragin daiteke hepatozitoek BG-ak berriro xurgatu eta jariatuz gero, elektrolitoen eta uraren jariapen berria dakartelako. Konjokatu gabeko behazun-azidoek errazago eragiten dute behazun hiperkoleretikoa konjokatuak baino [13, 14]. Behazun hiperkoleretikoa garrantzitsua izan daiteke kolelitiasia (hots, behazun-harrien sorrera) ekiditeko.

### **3.3. Zirkulazio nefrohepatikoa**

Behazun-gatzek jasaten duten beste zirkulazioa giltzurrunen eta gibelaren artekoa da (**3 irudia**). Egoera fisiologiko normalean, zirkulazio enterohepatikoan datozen BG gehienak jasotzen dituzte hepatozitoek odol portaletik, mintz basolateralean dauzkaten afinitate altuko proteina garraiatzaileei esker. BG gutxi batzuek gibeledako xurgapenetik ihes egiten dute, eta giltzurrunetako glomeruloen iragazkia zeharkatu eta iragazkin glomerularrera aldatzen dira; ondoren tubulu proximal bihurrietan birxurgatzen dira, eta odolera itzulita zirkulazio nefrohepatikoa betetzen dute. Horretarako tubulu proximal bihurriek epitelioan badauzkate zenbait garraiatzaile, hala nola Asbt eta Oatp1 (ikus beheago), hurrenez hurren BG-en Na<sup>+</sup>-menpeko eta ez-menpeko barneraketa bidera dezaketanak, eta Mrp3 edo t-Asbt, xurgatutako BG-ak odolera jariatuko dituztenak [7, 15].

Kolestasia behazunaren fluxuaren murrizketa da; BG-en jariapena eta irazketa moztuta edo motelduta daudenean, plasmako BG-kopurua emendatu egiten da. Egoera horretan mintzetako garraiatzaileen adierazpena erregulatuz giltzurruneko jariapen aktiboa sustatu eta birxurgapena erreprimitu egiten da [16, 17]. Eraitza gertuaren bidezko BG-en irazketaren emendioa da.

#### 4. BEHAZUNEN KONPOSATUEN GARRAIATZAILEAK

Egoera fisiologiko normalean behazuneko osagaien gibeletako garraio prozesua bektoriala izaten da, hots, norantza jakin batean gertatzen da: odoletik behazunera igarotzen dira *de novo* sintesitik ez datozen konposatu guztiak. Hepatozitoen mintz basolateralera zeharkatuta sinusoidetiko osagaiak barneratuko dira, zelula barruko garraioa jasango dute zitoplasman barrena, eta ondoren, kanalikura jariatuko dira.

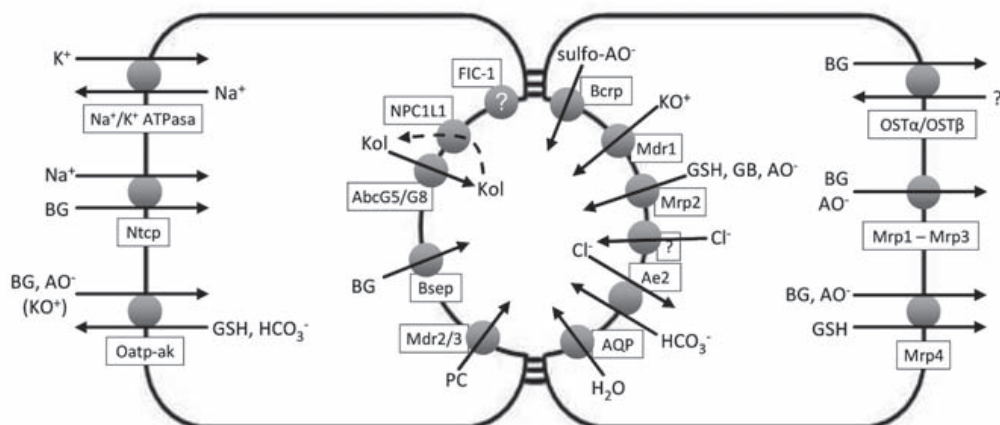
Prozesua gradiente handi baten aurkakoa da eta, beraz, ATP-gastua-ekin gertatzen da [14]. Kolestasia bezalako egoera patologikoetan behazunaren osagaiak odolera itzul ditzake hepatozitoak. Horrelako egoeretan behazunaren jariapena eten edo moteldu egiten da, eta zitotoxikoak izan daitezkeen konposatuak (esate baterako BG-ak edo bilirrubina) zitoplasman metatzen dira. Hori ekiditeko, areagotu egiten da mintz basolateralean konposatu horiek kanporatuko dituzten garraiatzaileen adierazpena.

##### 4.1. Hepatozitoetako barneraketa basolateralera

Prozesu garrantzitsua da, zirkulazio enterohepatikoa betetzen duten BG-ak modu honetan jasotzen dituztelako hepatozitoek. Konjokatu gabeko BG-ek ez dute kargarik pH fisiologikoaren inguruan eta mintzak difusio pasiboz zeharka ditzakete. Hala ere, konjokatutako BG-ek eta behazunera jariatuko diren bestelako anioi organikoek garraiatuak behar dute izan; horretarako mintz basolateralean badaude hainbat garraiatzaile, hepatozitoan BG-ak eta bestelako konposatu bai fisiologikoak bai xenobiotikoak barneratzen dituztenak.

Behazun-gatzak barneratzeko  $\text{Na}^+$ -menpeko eta menpekotasunik gabeko mekanismoak daude.  $\text{Na}^+$ -menpeko barneraketaren erantzulea Ntcp da (*Na<sup>+</sup>-taurocholate cotransporting polypeptide*; dagokion genea Slc10a1 da), 2  $\text{Na}^+$  kogarraiatzen dituena BG molekula bakoitzeko (**4 irudia**). Ntcp da BG-en gibeletako bilketaren zatirik handiena egiten duena [18]. Garraio hori  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa batek sortutako  $\text{Na}^+$ -gradienteari esker gertatzen da [14]. Bere jarduera maximoa glizina eta taurinarekin konjokatutako dihidroxi- eta trihidroxi-BG-ekin erakusten du [14, 19].

$\text{Na}^+$ -menpekota ez den BG-barneraketa berriz Oatp (*organic anion transporting polypeptide*, Slc21 familia) proteinek gauzatzen dute (**4 iru-**



**4. irudia.** *Garraiatzaile hepatobiliar garrantzitsuenak.* Bi hepatozito, tartean behazun-kanalikulua dutenak. Ezkerrekoaren mintz basolateralean BG-en barneraketan parte hartzen duten garraiatzaileak daude, eta eskumakoarenean BG-en kanporaketa burutzen dutenak. Mintz apikaletan behazunaren konposatu ezberdinen garraiatzaileak daude. Laburdurak: BG-behazun-gatz, AO<sup>-</sup>-anioi organiko, KO<sup>+</sup>-katioi organiko, GSH-glutation erreduzitu, kol-kolesterol, PC-fosfatidilkolina.

**dia).** Oatp-ak garraiatzaile poliespezifikoak dira: lekuz aldatzen dituzte karga eta egitura ezberdinetako konposatuak, hala nola BG-ak, anioi organikoak, bilirrubina aske eta konjokatua, tiroideko hormonak eta abar [14, 20, 21]. Oatp askok bikarbonato- eta glutation-trukatze funtzioa daukate [22, 23] eta gradiente elektrokimikoaren arabera kanporaketa funtzioa bete dezakete, zelularen barruko kontzentrazio toxikoen aurrean segurtasuneko kanporaketa-sistema bezala [24].

Ntcp eta Oatp-ak dira gehien ikertu diren garraiatzaileak, baina badaude beste batzuk, Oat (*organic anion transporter*) eta Oct (*organic cation transporter*) adibidez (Slc22a familia). Slc22a familiako kideak harremanetan daude drogen barneraketarekin eta giltzurruneko BG-en garraiatzaile gisa ere deskribatu dira [25-28].

#### 4.2. Hepatozitoetako jariapen kanalikularra

Sinusoideko odolaren eta behazunaren artean dagoen kontzentrazio-gradiente oso handia da. Hori dela-eta, kanporaketa kanalikularrerako garraio-sistema gehienak ATP-erabileraren menpekoak dira, eta Abc (*ATP-binding cassette*) garraiatzaileen familiakoak, aniztasun handiko lotugai bai organikoak bai inorganikoak dituztenak.

Balentzia bakarreko behazun-gatzak Bsep-ek (*bile salt export pump*, AbcB11; Spgp ere deituak) kanporatzen ditu [29-31] (**4 irudia**). Garraiatzaile hori hepatozitoen mintz kanalikularrean kokatzen da eta bertan BG-



ak jariatzen ditu behazun-kanalikulura. Gizakian, akats genetikoren baten-gatik BSEP (giza geneak letra larriz adierazi ohi dira) proteina funtzionala adierazten ez denean, adibidez PFIC-2 gaixotasunean (gibel barruko kolestasi intrahepatiko progresibo familiarra, *progressive familial intrahepatic cholestasis*), behazuneko BG-mailak %1era jaisten dira (gizaki osasuntsu batekin erkatuta) [32], eta horrek behazunaren fluxuaren murrizketa izugarria eragiten du.

Karraskarietan Bsep-ez gain beste garraiatzailerren bat egon litekeela iradoki da [33]. Adibidez Mdr1 (*multidrug resistance protein 1*, AbcB1), garraiatzaile poliespezifikoa da [34] eta behatu da gai dela *in vitro* saioetan afinitate baxuarekin taurokolatoa garraiatzeko [35]. Bestalde, Mrp2 (*multi-drug resistance related protein 2*; AbcC2; cMoat ere deitua) garraiatzaileak hepatozitoaren kanalikulan anioi organikoak esportatzen ditu eta gai da zenbait BG garraiatzeko ere [36-40].

Behin BG-ak kanalikulura jariatuta, haien presentziak kanpoko hemimintzetik erazuta fosfatidilkolina eta kolesterolaren jariapena eragiten du [41]. Behazuneko fosfolipidoak, bereziki fosfatidilkolinak [42,43], Mdr2 proteinak (karraskarietan, eta gizakietan MDR3; AbcB4/ABCB4) transferitzen ditu barneko hemimintzetik kanpoko hemimintzera [44].

Kolesterola da hirugarren behazun-lipidoa. Kolesterolaren eta beste-lako esterolen garraiorako AbcG5 eta AbcG8 [45] proteinek heterodimero bezala funtzionatzen dute, tandemean lan eginez [46,47]. AbcG5/G8 bikoteak kolesterola garraiatzeko erabiltzen duen mekanismoa ez da guztiz argitu oraindik. Ziurrenik, AbcG5/G8-k, ATP hidrolizatuta, kanalikuluko lipidoek kolesterola eraztea errazten du, ur-ingurunerantz nolabait bultza eginez [44,48]. Edozein kasutan, AbcG5/G8-ren jarduera berez ez da nahikoa kolesterolaren jariapenerako: kolesterola erazteko beharrezkoa da aurretik fosfolipidoak jariatzea [49].

Behazuna ekoizkin fisiologiko eta xenobiotiko lipofiliko asko irazitako bidea da. Mrp2 proteina horien garraioa egiten duen garraiatzaile kanalikular garrantzitsua da (**4 irudia**). Besteak beste glutathiona eta bere konjokatuak, BG batzuk eta zenbait farmakoren eratorri konjokatuak jariatzen ditu behazunera. Behazunaren fluxuaren eragile garrantzitsua da, glutathiona kanporatzen duelako. Bcrp [50] eta Mdr1 [44] dira xenobiotikoak garraia ditzaketen beste garraiatzaile kanalikular batzuk. Bcrp-k (*breast cancer related protein*, AbcG2) sulfato-konjokatuak garraiatzeko zaletasun berezia dauka [51], eta Mdr1-ek (*multi-drug resistance protein 1*; AbcB1; Pgp ere deitua) katioi organikoak eta endo- eta xenobiotiko hidrofobiko asko garraia ditzake.

Ae2-k (*anion-exchanger 2*, Slc4a2) bikarbonatoaren jariapena egiten du [52]: Cl<sup>-</sup>/bikarbonato trukatzaileria da. ATP hidrolizatzen ez duen garraiatzaile kanalikular garrantzitsu bakarra da, baina Cl<sup>-</sup>-gradientea behar du bi-

karbonatoa jariatzeko; hepatozitoan gradiente hori sortzen duen Cl<sup>-</sup>-kanala ezezaguna da. Gainera, A<sub>e2</sub>-k akuaporina batekin (Aqp, *aquaporine*) koordinatuta dihardu, uraren jariapena gerta dadin osmosi-indarraren emendioarekin batera.

#### 4.3. Hepatozitoetako kanporaketa basolateralala

Behazun-gatzen eta bestelako anioi organikoen kanporaketa basolateralala (**4 irudia**) toxikoak izan daitezkeen behazuneko konposatu horiek hepatozitoan metatzea ekiditeko helburuarekin burutzen da. Sinusoiderako atzeranzko garraio hori, eskuarki, egoera patologikoetan gertatzen da.

Funtzio hori Oatp-ek bete dezakete, anioi organiko/glutation antiportea bi norantzatan egin dezakete-eta [24]. Horietaz gain, zenbait Mrp proteinek (AbcC familiako kideak) ere behazuneko osagaiak kanpora ditzakete sinusoidera. Mrp proteina horien adierazpen genikoa egoera fisiologikoan oso urria den arren, egoera kolestatikoan beren adierazpena induzitu egiten da [53-57]. Aurkitutako mintz basolateraleko azken garraiatzaileen artean Ost $\alpha$ /Ost $\beta$  (*organic solute transporter*) heterodimeroa dago (**4 irudia**). Ost proteinak gibelean adierazten dira gizakian, eta Na<sup>+</sup>-ren beharrik gabe garraiatzen dituzte esteroideak, taurokolatoa eta eikosanoideak [58].

### 5. BEHAZUNAREN SORRERA

Kolesterolak, fosfolipidoek eta BG-ek bai besikulak bai mizela mistoak osa ditzakete behazunean [59]. Forma mizelarra egonkorragoa da, eta bi formen arteko oreka BG-en kontzentrazioa eta mota bezalako faktore ezberdinen menpekoa da [59, 60]. BG-en jariapena, Bsep-ek bideratutakoa, behazuneko beste lipidoena baino lehenago egiten da. Smallek proposatzen duen ereduan [48] bi egoera bereizi behar dira, jariatzen diren BG-en mailaren arabera.

Behazun-gatzen jariapen-tasa txikia denean (baraualdietan, adibidez), BG-ek fosfolipidoz eta kolesterolez osatutako besikulen sorrera bultzatzen dute. Egoera honetan BG-ak kontzentrazio mizelar kritikotik urrun daude. Behazun-hodietan zehar eta behazun-xixkuan behazuneko solutuen kontzentrazioa handituz doa: BG-en kontzentrazioak kontzentrazio mizelar kritikoa gainditu ahala, kolesterol, fosfolipido eta BG-en mizela misto gehiago osatuko dira. BG-ek ez dute ia kolesterola solubilizatzeke ahalmenik, baina fosfolipidoekin osatutako mizela mistoek bai [61]. Horregatik, fosfolipido-transferentzia kolesterolarena baino lehenago gertatzen dela uste da. Behazuneko BG-en kontzentrazioa txikia denean sortzen diren besikuletan kolesterola gehiegizkoa bada behazuna gainsaturatu eta kolesterol-kristalak sortzea gerta daiteke [62].

Aldiz, BG-en jariapena handia denean (janondoko fasean, adibidez), fosfolipidoak baino 5-10 aldiz BG gehiago jaria daiteke, eta kontzentrazio mizelar kritikoa gainditzen da hasieratik. Beraz, kolesterola jasoko luketen mizela misto txikien sorrera ahalbidetzen da behazun-hodi txikienetan [48].

Garrantzizkoa da behazunaren konposaketa egokia mantentzea (lipidoen arteko proportzioa, pH, BG hidrofobikoen mailak eta abar), ez soilik behazun-harriak sortzeko arriskua dagoelako, baita hepatozito eta kolangiozitoei kalteak eragitea gerta daitekeelako. Mizela mistoen sorrera, uraren jariapena (eta sortzen den fluxua) eta alkalinizazioa (bikarbonatoaren jariapena) ezinbestekoak dira BG-en toxikotasuna murrizteko. Hepatozito eta kolangiozitoak kolesterol eta esfingomielina ugariko mintz apikal bereziki babesten dira baina batzuetan hori ez da nahikoa [63] eta kolangitisak edo bestelako kalteak gertatzen dira behazun-hodietan.

## **6. BEHAZUN-GATZEN METABOLISMO ETA GARRAIOAREN TRANSKRIPZIO MAILAKO ERREGULAZIOA**

Behazun-gatzen ekoizpenaren eta garraioaren ahalmena prozesu horiekin harremanetan dagoen proteinen adierazpen genikoaren menpe dago. Dagozkien geneen transkripzioaren erregulaziorako II motako hartzaile nuklearrak dira (NR1 superfamilia) transkripzio-faktore garrantzitsuenak. DNA-ren sekuentzia espezifikoek lotu ahal izateko, mota horretako hartzaileek ligando baten bidezko aktibazioa jasan behar dute eta bai RXR-rekin (*retinoid X receptor*, NR2B familia) heterodimeroak sortu ere. Heterodimeroen sorrera RXR nahikoa egotearen menpekoa denez, horren kontzentrazioa mugatzeak hartzaile guztien funtzioaren inhibizioa ekar dezake. Hartzaile horiez gain badira era berean ligandorik gabe diharduten beste transkripzioaren erregulatzaile batzuk ere, besteak beste, hepatozitoetako faktore nuklearren (HNF, *hepatocyte nuclear factor*) familiako kide batzuk.

1 taulan adierazi dira aipatutako transkripzioaren erregulatzaileak eta beren ligandoak eta itu-geneak. Hurrengo azpiataletan transkripzioaren erregulatzaile nagusien jardura azalduko da laburrean.

### **6.1. FXR eta SHP**

FXR (*farnesoid X receptor*, NR1H4) BG-en garraio-prozesuak egiten dituzten ehunetan adierazten da, gibela, hestea eta giltzurruna barne. Behazun-azidoak eta behazun-gatzak dira bere ligando aktibatzaileak. Zenbait lanetan azido eta BG ezberdinen eraginkortasun diferentziala aztertu da [64-67], bai aktibaziorako indarrari dagokionez bai gene ezberdinen adierazpena sustatzeko gaitasunari dagokionez ere. Orokorrean, esan daiteke BG hidrofobikoek askoz ere indar handiagoz lotu eta aktibatzen dutela FXR.

**1. taula.** Behazun-gatzen metabolismoaren eta garraio hepatikoaren transkripzio-mailako erregulazioaren laburpena. Laburdurak: CDCA-azido kenodesoxikoliko, LCA-azido litokoliko, DCA-azido desoxikoliko, CA-azido koliko, PCN-pregnenolona 16-karbonitrilo, BG-behazun-gatz, GA-gantz-azido, UDCA-azido ursodesoxikoliko

*A. Hartzaille nuklearrak eta transkripzio-faktoreak*

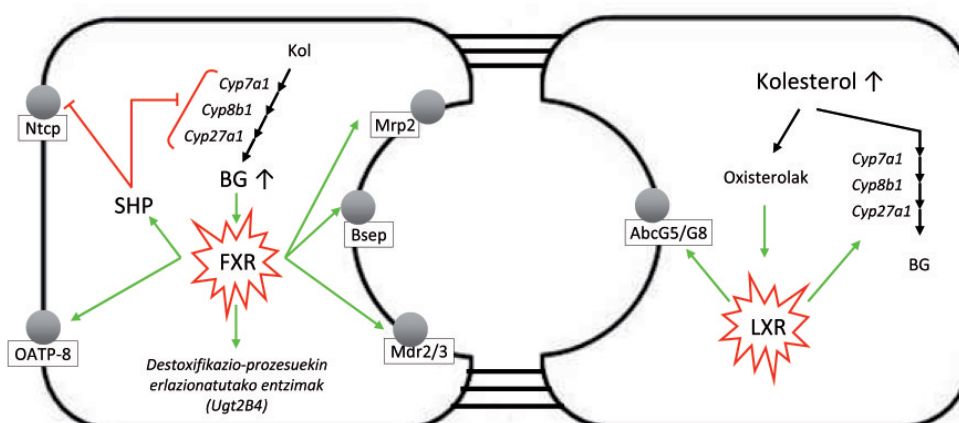
	Ligandoak	Itu-geneak
RXR $\alpha$ (NR2B1)	Azido erretinoikoa	II motako hartzaille nuklearren (NR1 superfamilia) derrigorrezko kidea: horien guztien itu-geneak, beraz
FXR (NR1H4)	CDCA, (LCA, DCA, CA), GW4064	Bsep, Mdr2/MDR3, Mrp2, OATP-8, Ugt2B4, SHP Hestean: I-Babp, Ost $\alpha$ /Ost $\beta$ SHP bidezko errepresioa: Cyp7a1, Cyp8b1, Cyp27a1, Ntcp, Asbt Transerrepresioa: RXR $\alpha$ : RAR $\alpha$ , HNF-4 $\alpha$ , PXR, CAR
LXR (BR1H1/2)	Oxisterolak	Cyp7a1 (soilik karraskarietan), AbcG5, AbcG8
PXR (NR1I2)	Xeno/endobiotiko ugari: drogak (errifanpizina...), esteroideak (PCN, hormona esteroideoak...), BG hidrofobikoak (LCA, 3-zeto-LCA)...	Mdr1, Mrp1(?), Mrp2, Mrp3, Mrp4 (?), Mrp5 (?), Oatp2, Cyp3a4, Cyp3a11, Cyp2b10 (?), Ugt1a1, Sult2a1 Errepresioa: Cyp7a1 (HNF-4 $\alpha$ transerreprimatuz)
CAR (NR1I3)	Konstitutiboki aktiboa. Agonistak: xeno/endobiotikoak (bilirrubina, fenobarbital, TCPOBOP...) Antagonistak: androstenoaren metabolitoak	Mrp2, Mrp3, Mrp4, Oatp2, Oatp3, Cyp2b familiako kideak, Cyp3a familiako kideak, Ugt1a1, Sult2a1, Gsta
HNF-4 $\alpha$ (NR2A1)	—	HNF1 $\alpha$ , Cyp27a1, Cyp7a1 (gaueko indukzioa), Cyp8b1, Oatp1 (?), Ntcp (?), Scp-x (?)
RAR $\alpha$ (NR1B1)	Erretinoideak	Mrp2, Ntcp, Oatp4, Asbt
VDR (NR1I1)	D-bitamina, LCA	Cyp3a familiako kideak, Sult2a1, Asbt
PPAR $\alpha$	GA-k, eikosanoideak, zenbait farmako	Asbt
GR (NR3C1)	Glukokortikoideak, UDCA	CAR, Ntcp, Asbt

	Ligandoak	Itu-geneak
HNF-1 $\alpha$	—	Ntcp, Oatp1, Oatp2, Oatp4, OATP-C, OATP-8, Asbt Transerrepresioa: HNF-4 $\alpha$
HNF-3 $\beta$	—	Oatp4 (?). Errepresioa: Ntcp
C/EBP-ak	—	Mrp2, Ntcp, Oatp4

B. Zelula barruko seinalizazio-bideak

	Faktore aktibatzailea	Itu-geneak
JNK	Zitokina proinflamatorioak edo BG-ak	Errepresioa: Cyp7a1 (SHP bidez, SHP-rekiko bide independenteaz (?)), Ntcp (RXR inhibituz)
Stat5	Prolaktina	Ntcp

Behazun-gatzak toxikoak izan daitezke beren ahalmen detergentea-  
rengatik; horregatik, euren zelula barruko kontzentrazioak kontrol zeha-  
tza behar du. Horretarako, FXR-k BG-en sentsore bezala funtzionatzen du.  
Behazun-azidoek eta behazun-gatzek FXR aktibatzean, azken honek BG-en  
sintesarako eta barneraketa sinusoidalera beharrezkoak diren proteinen  
adierazpenaren inhibizioa eragin eta kanporaketa egiten duten garraiatzai-  
leen adierazpena bultzatuko du (**5 irudia**). FXR-ren garrantzia azpimarratu  
zuten lehenengo lanetako batean esandakoaren arabera [68], Ntcp-ren eta



**5. irudia.** FXR-ren eta LXR-ren efektu nagusiak behazun-gatzen metabolismoaren gain hepatozitoan. Laburdurak: kol-kolesterol, BG-behazun-gatz.

Cyp7a1-en azpiadierazpena behatu zen kolatodun dietaz (%1) elikatutako sagu basatietan; aldiz, FXR adierazten ez zuten saguetan ez zen horrelako moldaerarik gertatu, eta ondorioz nekrosi hepaticoa garatu zuten.

FXR-k Mdr2-ren [69,70] eta Bsep-en [71, 72] adierazpen genikoa sustatzen du. Horrela, FXR-k BG-en jariapena eta mizela mistoen sorrera bultzatzen du. Gainera, BG hidrofobikoenen (kolestatikoen) aurkako mekanismoak pizten ditu: behazun-azidoen konjokapenean [73] eta glukuronidazioan [74] parte hartzen duten entzimen adierazpena bultzatzen duela dirudi. Hepatozitoa babesteaz gain, FXR-ren jardueraren atzerako elikatzeko negatiboa gertatzen da horrela, BG hidrofilikoenek ez baitute FXR aktibatzen [74]. FXR-k MRP2-ren transkripzioa ere eragin dezake [75].

FXR-ren eragin inhibitzaileak SHP-ren (*small heterodimer partner-1*, NR0B2) bidez gauzatzen dira; FXR-k SHP-ren adierazpena indar handiz sustatzen du [76]. SHP hartzaile nuklear atipikoa da DNA lotzeko domeinua falta baitaio [77]. Hala ere, gaitasuna dauka beste hartzaile nuklear batzuekin dimerizatzeko [78] eta horrela bigarren hartzaile horien jarduera oztokatzen du. SHP-k bere buruaren adierazpena erreprimitzen du [79], eta SHP-ren bidezko errepresio genikoa beraz, oso modu finean erregulatuta dago.

Cyp7a1 kolesterola BG bihurtzeko sintesi bidearen urrats mugatzailerak katalizatzen duen entzimari dagokion genea da. Jakina da BG-ek beren sintesi propioa inhibititu eta Cyp7a1-en adierazpena erreprimitzen dutela. FXR-SHP ardatza da errepresio horren erantzulea [76,80]. Badira BG-en sintesian parte hartzen duten SHP-ren beste iturriak, hala nola esterol 12 $\alpha$ -hidroxilasa (Cyp8b1) [81] eta esterol 27-hidroxilasa (Cyp27a1) [82].

Ntcp garraiatzailearen transkripzioa ere erreprimitzen du SHP-k, horretarako bere adierazpena eragiten duten transkripzio faktore ezberdinen jarduera oztokatuz [83, 84]. Bestalde, behatu da SHP-k gero aipatuko diren PXR-ren [85] eta CAR-en [86] jarduera transaktibatzaileak inhibi ditzakeela; hori horrela izanda, SHP-ren bidez erreprimi daitezkeen geneen aukera are zabalagoa bilakatzen da.

## 6.2. LXR

Kolesterola oso konposatu garrantzitsua da, BG-ak eta hormona esteroideak bezalako molekulen aitzindaria eta mintzetako osagaia baita. Zelulen kolesterol-edukia era finean erregulatzea garrantzi handikoa da, bere forma askearen kontzentrazio zelular handiegiak kaltegarriak izan baitaitezke. Kolesterolaren homeostasiaren mekanismoen artean LXR (*liver X receptor*) nukleoko hartzaileak egindakoa daukagu. Bi isoforma daude: LXR $\alpha$  (NR1H3) eta LXR $\beta$  (NR1H2); LXR $\alpha$  gibelean adierazten da batez ere, eta LXR $\beta$  ehun guztietan [87]. Beren agonistak oxisterolak dira

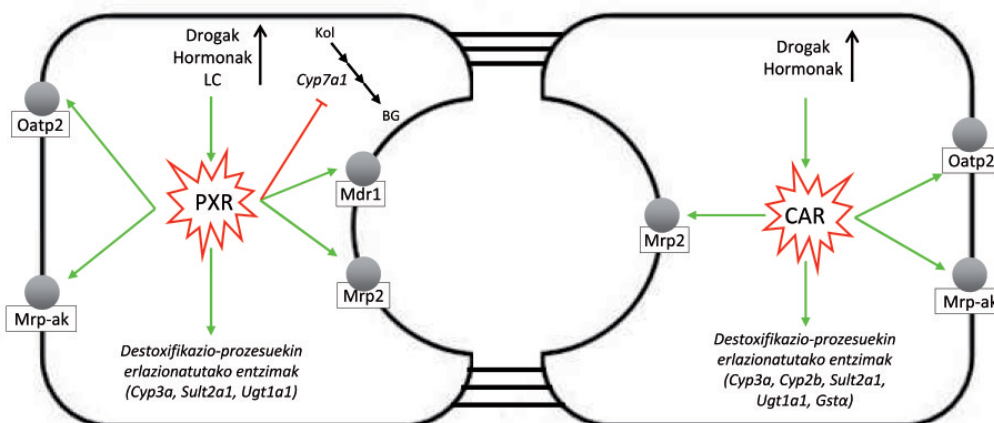
(24,25(*S*)-epoxikolesterola eta 24(*S*)-hidroxikolesterola, besteak beste). LXR-ak lipidoen homeostasiaren funtsezko erregulatzaileak dira [88].

Kolesterola metatzen denean kolesterolaren deribatu oxigenatuen (oxisterolen) kontzentrazioa handitu egiten da. Oxisterolek LXR $\alpha$  aktibatzen dute, eta azken hau Cyp7a1-en promotoreko erantzun-elementu bati lotu eta bere adierazpena bultzatzen du [89]; erregulazio hori saguan eta arra-toian gertatzen da, baina ez gizakian [90]. Horrekin, BG-en biosintesia aktibatu eta kolesterola kontsumitzen da (**5 irudia**). Gainera, kolesterolaren behazun-jariapena ere areagotuko da BG-en jariapenarekin.

LXR-k gainera AbcG5 eta AbcG8-ren adierazpena erregulatzen du. Kolesterol ugariako dietak edo LXR-ren agonistek garraiatzaile horien mRNA mailen emendioa eragiten dute [91]. Lerro berean, LXR adierazten ez duten saguetan AbcG5/G8-ren gaineko efektu hori desagertu egiten da, kolesterola eta kolesterol esterrak gibelean metatzen direlarik [92].

### 6.3. PXR eta CAR

Nukleoko PXR eta CAR hartzaileek xenobiotikoen sentsore bezala jokatzen dute [93] (**6 irudia**). Cyp3a eta Cyp2b familietako geneak dira beren iturri tipikoak, droga eta endobiotiko askoren destoxifikaziorako bidezidoretan parte hartzen dutenak [94,95].



**6. irudia.** PXR-ren eta CAR-en efektu nagusiak behazun-gatzen metabolismoaren gain hepatozitoan. Laburdurak: kol-kolesterol, BG-behazun-gatz, LC-litokolato, Cyp-P450 zitokromo, Sult-sulfotransferasa, Ugt-UDP-glukuronosiltransferasa, Gst-glutation-transferasa.

PXR (*pregnane X receptor*, NR1I2) hartzaileak agonista ezberdin asko dauzka: zenbait droga, hormona esteroideak eta haien deribatuak, BG hidrofobikoenak [96] eta bai BG hidrofilikoenak, ursodesoxikolatoa [56]

edo norursodesoxikolatoa adibidez [T. Claudel, argitaratu gabeko emaitzak]. PXR aktibatzean endo/xenobiotikoen destoxifikazio eta kanporaketan parte hartzen duten entzimen eta garraiatzaileen adierazpena aktibatzen da, besteak beste Cyp3a11-ren [97], Oatp2-ren [96], Mrp familiako kideen [14, 98, 99] eta Mdr1-en [100] adierazpena. Aldi berean, PXR-k Cyp7a1-en transkripzioa erreprimitzen du [101]. Horrelako aldaketei esker, BG-en sintesia murriztu eta hepatozitoaren barneko toxikotasuna arindu egiten da (**6 irudia**).

CAR (*constitutive androstane receptor*; NR1I3) ere RXR $\alpha$ -rekin dime-rizatzen da DNA-ri lotzeko; hala ere, lotugairik gabe ere aktiboa da [102]. Konstitutiboki aktibo izan arren badauka zenbait agonista, hala nola bilirrubina (kolestasian hepatozitoan metatu ohi dena) edo zenbait esteroide eta endo/xenobiotiko. Antagonistak ere baditu (androstenoaren metabolito batzuk) [103].

CAR-ek tipikoki Cyp2b familiako geneen adierazpena bultzatzen du [104]; Cyp3a familiako kideena ere bultza dezake [94]. Gainera, CAR-en eraginez BG-en, bilirrubinaren eta xenobiotikoen metabolismo eta iraitzekan parte hartzen duten zenbait generen adierazpena sustatzen da: Cyp2b10, Cyp3a11, Mrp2, Mrp3, Mrp4, Oatp2 eta destoxifikatu behar diren molekulen konjokatu hidrofiliakoak sortzen dituen zenbait entzima [99, 105, 106] (**6 irudia**).

## 7. BIBLIOGRAFIA

- [1] MEIER, P.J. eta STIEGER, B. (2002). «Bile salt transporters». *Annu.Rev Physiol* **64**, 635-661.
- [2] KRIEGER, M. (1999). «Charting the fate of the “good cholesterol”: identification and characterization of the high-density lipoprotein receptor SR-BI». *Annu.Rev Biochem.* **68**, 523-558.
- [3] HAY, D.W., CAHALANE, M.J., TIMOFEYeva, N. eta CAREY, M.C. (1993). «Molecular species of lecithins in human gallbladder bile». *J Lipid Res.* **34**, 759-768.
- [4] CHANUSSOT, F., LAFONT, H., HAUTON, J., TUCHWEBER, B. eta YOUSEF, I. (1990). «Studies on the origin of biliary phospholipid. Effect of dehydrocholic acid and cholic acid infusions on hepatic and biliary phospholipids». *Biochem.J* **270**, 691-695.
- [5] WONG, M.H., OELKERS, P., CRADDOCK, A.L. eta DAWSON, P.A. (1994). «Expression cloning and characterization of the hamster ileal sodium-dependent bile acid transporter». *J Biol Chem.* **269**, 1340-1347.
- [6] OELKERS, P., KIRBY, L.C., HEUBI, J.E. eta DAWSON, P.A. (1997). «Primary bile acid malabsorption caused by mutations in the ileal sodium-dependent bile acid transporter gene (SLC10A2)». *J Clin.Invest.* **99**, 1880-1887.



- [7] CRADDOCK, A.L., LOVE, M.W., DANIEL, R.W., KIRBY, L.C., WALTERS, H.C., WONG, M.H. eta DAWSON, P.A. (1998). «Expression and transport properties of the human ileal and renal sodium-dependent bile acid transporter». *Am.J Physiol.* **274**, G157-G169.
- [8] AMELSBURG, A., JOCHIMS, C., RICHTER, C.P., NITSCHKE, R. eta FOLSCH, U.R. (1999). «Evidence for an anion exchange mechanism for uptake of conjugated bile acid from the rat jejunum». *Am.J Physiol.* **276**, G737-G742.
- [9] WALTERS, H.C., CRADDOCK, A.L., FUSEGAWA, H., WILLINGHAM, M.C. eta DAWSON, P.A. (2000). «Expression, transport properties, and chromosomal location of organic anion transporter subtype 3». *Am.J Physiol.Gastrointest. Liver Physiol.* **279**, G1188-G1200.
- [10] NOZAWA, T., IMAI, K., NEZU, J., TSUJI, A. eta TAMAI, I. (2004). «Functional characterization of pH-sensitive organic anion transporting polypeptide OATP-B in human». *J Pharmacol.Exp Ther.* **308**, 438-445.
- [11] RIDLON, J.M., KANG, D.J. eta HYLEMON, P.B. (2006). «Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria». *J Lipid Res.* **47**, 241-259.
- [12] RUSSELL, D.W. (2003). «The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis». *Annu.Rev Biochem.* **72**, 137-174.
- [13] YEH, H.Z., SCHTEINGART, C.D., HAGEY, L.R., TON-NU, H.T., BOLDER, U., GAVRILKINA, M.A., STEINBACH, J.H. eta HOFMANN, A.F. (1997). «Effect of side chain length on biotransformation, hepatic transport, and choleric properties of chenodeoxycholy homologues in the rodent: studies with dinorchenodeoxycholic acid, norchenodeoxycholic acid, and chenodeoxycholic acid». *Hepatology* **26**, 374-385.
- [14] TRAUNER, M. eta BOYER, J.L. (2003). «Bile salt transporters: molecular characterization, function, and regulation». *Physiological Reviews* **83**, 633-671.
- [15] BERGWERK, A.J., SHI, X., FORD, A.C., KANAI, N., JACQUEMIN, E., BURK, R.D., BAI, S., NOVIKOFF, P.M., STIEGER, B., MEIER, P.J., SCHUSTER, V.L. eta WOLKOFF, A.W. (1996). «Immunologic distribution of an organic anion transport protein in rat liver and kidney». *Am.J Physiol.* **271**, G231-G238.
- [16] SCHAUB, T.P., KARTENBECK, J., KONIG, J., SPRING, H., DORSAM, J., STAEBLER, G., STORKEL, S., THON, W.F. eta KEPPLER, D. (1999). «Expression of the MRP2 gene-encoded conjugate export pump in human kidney proximal tubules and in renal cell carcinoma». *J Am.Soc.Nephrol.* **10**, 1159-1169.
- [17] TANAKA, Y., KOBAYASHI, Y., GABAZZA, E.C., HIGUCHI, K., KAMISAKO, T., KURODA, M., TAKEUCHI, K., IWASA, M., KAITO, M. eta ADACHI, Y. (2002). «Increased renal expression of bilirubin glucuronide transporters in a rat model of obstructive jaundice». *Am.J Physiol.Gastrointest.Liver Physiol.* **282**, G656-G662.
- [18] KOUZUKI, H., SUZUKI, H., STIEGER, B., MEIER, P.J. eta SUGIYAMA, Y. (2000). «Characterization of the transport properties of organic anion transporting polypeptide 1 (oatp1) and Na(+)/taurocholate cotransporting polypeptide (Ntcp): comparative studies on the inhibitory effect of their possible sub-

- strates in hepatocytes and cDNA-transfected COS-7 cells». *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **292**, 505-511.
- [19] MEIER, P.J., ECKHARDT, U., SCHROEDER, A., HAGENBUCH, B. eta STIEGER, B. (1997). «Substrate specificity of sinusoidal bile acid and organic anion uptake systems in rat and human liver». *Hepatology* **26**, 1667-1677.
- [20] KAKYO, M., SAKAGAMI, H., NISHIO, T., NAKAI, D., NAKAGOMI, R., TOKUI, T., NAITOH, T., MATSUNO, S., ABE, T. eta YAWO, H. (1999). «Immunohistochemical distribution and functional characterization of an organic anion transporting polypeptide 2 (oatp2)». *FEBS Lett.* **445**, 343-346.
- [21] ARRESE, M. eta TRAUNER, M. (2003). «Molecular aspects of bile formation and cholestasis». *Trends Mol.Med.* **9**, 558-564.
- [22] SATLIN, L.M., AMIN, V. eta WOLKOFF, A.W. (1997). «Organic anion transporting polypeptide mediates organic anion/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exchange». *J Biol Chem.* **272**, 26340-26345.
- [23] LI, L., LEE, T.K., MEIER, P.J. eta BALLATORI, N. (1998). «Identification of glutathione as a driving force and leukotriene C<sub>4</sub> as a substrate for oatp1, the hepatic sinusoidal organic solute transporter». *J.Biol.Chem.* **273**, 16184-16191.
- [24] LI, L., LEE, T.K., MEIER, P.J. eta BALLATORI, N. (2000). «Oatp2 mediates bidirectional organic solute transport: a role for intracellular glutathione». *Molecular Pharmacology* **58**, 335-340.
- [25] MEIJER, D.K., SMIT, J.W., HOOIVELD, G.J., VAN MONTFOORT, J.E., JANSEN, P.L. eta MULLER, M. (1999). «The molecular basis for hepatobiliary transport of organic cations and organic anions». *Pharm.Biotechnol.* **12**, 89-157.
- [26] SUZUKI, H. eta SUGIYAMA, Y. (1999). «Transporters for bile acids and organic anions». *Pharm.Biotechnol.* **12**, 387-439.
- [27] ST.-PIERRE, M.V., KULLAK-UBLICK, G.A., HAGENBUCH, B. eta MEIER, P.J. (2001). «Transport of bile acids in hepatic and non-hepatic tissues». *J Exp Biol* **204**, 1673-1686.
- [28] MAHER, J.M., SLITT, A.L., CALLAGHAN, T.N., CHENG, X., CHEUNG, C., GONZALEZ, F.J. eta KLAASSEN, C.D. (2006). «Alterations in transporter expression in liver, kidney, and duodenum after targeted disruption of the transcription factor HNF1alpha». *Biochemical Pharmacology* **72**, 512-522.
- [29] GERLOFF, T., STIEGER, B., HAGENBUCH, B., MADON, J., LANDMANN, L., ROTH, J., HOFMANN, A.F. eta MEIER, P.J. (1998). «The sister of P-glycoprotein represents the canalicular bile salt export pump of mammalian liver». *Journal of Biological Chemistry* **273**, 10046-10050.
- [30] BYRNE, J.A., STRAUTNIEKS, S.S., MIELI-VERGANI, G., HIGGINS, C.F., LINTON, K.J. eta THOMPSON, R.J. (2002). «The human bile salt export pump: characterization of substrate specificity and identification of inhibitors». *Gastroenterology* **123**, 1649-1658.
- [31] NOE, J., STIEGER, B. eta MEIER, P.J. (2002). «Functional expression of the canalicular bile salt export pump of human liver». *Gastroenterology* **123**, 1659-1666.

- [32] JANSEN, P.L., STRAUTNIEKS, S.S., JACQUEMIN, E., HADCHOUEL, M., SOKAL, E.M., HOOIVELD, G.J., KONING, J.H., DE JAGER-KRIKKEN, A., KUIPERS, F., STELLAARD, F., BIJLEVELD, C.M., GOUW, A., VAN GOOR, H., THOMPSON, R.J. eta MULLER, M. (1999). «Hepatocanalicular bile salt export pump deficiency in patients with progressive familial intrahepatic cholestasis». *Gastroenterology* **117**, 1370-1379.
- [33] WANG, R., SALEM, M., YOUSEF, I.M., TUCHWEBER, B., LAM, P., CHILDS, S.J., HELGASON, C.D., ACKERLEY, C., PHILLIPS, M.J. eta LING, V. (2001). «Targeted inactivation of sister of P-glycoprotein gene (spgp) in mice results in nonprogressive but persistent intrahepatic cholestasis». *Proc.Natl.Acad. Sci.U S A* **98**, 2011-2016.
- [34] SCHINKEL, A.H., SMIT, J.J., VAN TELLINGEN, O., BEIJNEN, J.H., WAGENAAR, E., VAN DEEMTER, L., MOL, C.A., VAN DER VALK, M.A., ROBANUS-MAANDAG, E.C., TE RIELE, H.P. eta . (1994). «Disruption of the mouse mdr1a P-glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drugs». *Cell* **77**, 491-502.
- [35] LAM, P., WANG, R. eta LING, V. (2005). «Bile acid transport in sister of P-glycoprotein (ABCB11) knockout mice». *Biochemistry* **44**, 12598-12605.
- [36] KUIPERS, F., ENSERINK, M., HAVINGA, R., VAN DER STEEN, A.B., HARDONK, M.J., FEVERY, J. eta VONK, R.J. (1988). «Separate transport systems for biliary secretion of sulfated and unsulfated bile acids in the rat». *J Clin Invest.* **81**, 1593-1599.
- [37] KUIPERS, F., RADOMINSKA, A., ZIMNIAK, P., LITTLE, J.M., HAVINGA, R., VONK, R.J. eta LESTER, R. (1989). «Defective biliary secretion of bile acid 3-O-glucuronides in rats with hereditary conjugated hyperbilirubinemia». *J Lipid Res* **30**, 1835-1845.
- [38] TAKIKAWA, H., SANO, N., NARITA, T., UCHIDA, Y., YAMANAKA, M., HORIE, T., MIKAMI, T. eta TAGAYA, O. (1991). «Biliary excretion of bile acid conjugates in a hyperbilirubinemic mutant Sprague-Dawley rat». *Hepatology* **14**, 352-360.
- [39] AKITA, H., SUZUKI, H., ITO, K., KINOSHITA, S., SATO, N., TAKIKAWA, H. eta SUGIYAMA, Y. (2001). «Characterization of bile acid transport mediated by multidrug resistance associated protein 2 and bile salt export pump». *Biochimica et Biophysica Acta* **1511**, 7-16.
- [40] GERK, P.M., LI, W., MEGARAJ, V. eta VORE, M. (2007). «Human multidrug resistance protein 2 transports the therapeutic bile salt tauroursodeoxycholate». *J Pharmacol.Exp Ther.* **320**, 893-899.
- [41] OUDE ELFERINK, R.P. eta GROEN, A.K. (2000). «Mechanisms of biliary lipid secretion and their role in lipid homeostasis». *Semin.Liver Dis.* **20**, 293-305.
- [42] SMIT, J.J., SCHINKEL, A.H., OUDE ELFERINK, R.P., GROEN, A.K., WAGENAAR, E., VAN, D.L., MOL, C.A., OTTENHOFF, R., VAN DER LUGT, N.M., VAN ROON, M.A. eta . (1993). «Homozygous disruption of the murine mdr2 P-glycoprotein gene leads to a complete absence of phospholipid from bile and to liver disease». *Cell* **75**, 451-462.

- [43] VAN HELVOORT, A., SMITH, A.J., SPRONG, H., FRITZSCHE, I., SCHINKEL, A.H., BORST, P. eta VAN MEER, G. (1996). «MDR1 P-glycoprotein is a lipid translocase of broad specificity, while MDR3 P-glycoprotein specifically translocates phosphatidylcholine». *Cell* **87**, 507-517.
- [44] POHL, A., DEVAUX, P.F. eta HERRMANN, A. (2005). «Function of prokaryotic and eukaryotic ABC proteins in lipid transport». *Biochimica et Biophysica Acta* **1733**, 29-52.
- [45] GRAF, G.A., YU, L., LI, W.P., GERARD, R., TUMA, P.L., COHEN, J.C. eta HOBBS, H.H. (2003). «ABCG5 and ABCG8 are obligate heterodimers for protein trafficking and biliary cholesterol excretion». *J.Biol.Chem.* **278**, 48275-48282.
- [46] KLEIN, I., SARKADI, B. eta VARADI, A. (1999). «An inventory of the human ABC proteins». *Biochimica et Biophysica Acta* **1461**, 237-262.
- [47] KIDAMBI, S. eta PATEL, S.B. (2008). «Cholesterol and non-cholesterol sterol transporters: ABCG5, ABCG8 and NPC1L1: a review». *Xenobiotica*. **38**, 1119-1139.
- [48] SMALL, D.M. (2003). «Role of ABC transporters in secretion of cholesterol from liver into bile». *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **100**, 4-6.
- [49] LANGHEIM, S., YU, L., VON, B.K., LUTJOHANN, D., XU, F., HOBBS, H.H. eta COHEN, J.C. (2005). «ABCG5 and ABCG8 require MDR2 for secretion of cholesterol into bile». *J.Lipid.Res.* **46**, 1732-1738.
- [50] SCHINKEL, A.H. eta JONKER, J.W. (2003). «Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview». *Adv.Drug.Deliv.Rev.* **55**, 3-29.
- [51] SUZUKI, M., SUZUKI, H., SUGIMOTO, Y. eta SUGIYAMA, Y. (2003). «ABCG2 transports sulfated conjugates of steroids and xenobiotics». *Journal of Biological Chemistry* **278**, 22644-22649.
- [52] ARANDA, V., MARTINEZ, I., MELERO, S., LECANDA, J., BANALES, J.M., PRIETO, J. eta MEDINA, J.F. (2004). «Shared apical sorting of anion exchanger isoforms AE2a, AE2b1, and AE2b2 in primary hepatocytes». *Biochem.Biophys. Res.Comm.* **319**, 1040-1046.
- [53] VOS, T.A., HOOVELD, G.J., KONING, H., CHILDS, S., MEIJER, D.K., MOSHAGE, H., JANSEN, P.L. eta MULLER, M. (1998). «Up-regulation of the multidrug resistance genes, Mrp1 and Mdr1b, and down-regulation of the organic anion transporter, Mrp2, and the bile salt transporter, Spgp, in endotoxemic rat liver». *Hepatology* **28**, 1637-1644.
- [54] SOROKA, C.J., LEE, J.M., AZZAROLI, F. eta BOYER, J.L. (2001). «Cellular localization and up-regulation of multidrug resistance-associated protein 3 in hepatocytes and cholangiocytes during obstructive cholestasis in rat liver». *Hepatology* **33**, 783-791.
- [55] DONNER, M.G. eta KEPPLER, D. (2001). «Up-regulation of basolateral multidrug resistance protein 3 (Mrp3) in cholestatic rat liver». *Hepatology* **34**, 351-359.
- [56] SCHUETZ, E.G., STROM, S., YASUDA, K., LECUREUR, V., ASSEM, M., BRIMER, C., LAMBA, J., KIM, R.B., RAMACHANDRAN, V., KOMOROSKI, B.J., VENKATA-

- RAMANAN, R., CAI, H., SINAL, C.J., GONZALEZ, F.J. eta SCHUETZ, J.D. (2001). «Disrupted bile acid homeostasis reveals an unexpected interaction among nuclear hormone receptors, transporters, and cytochrome P450». *J Biol Chem.* **276**, 39411-39418.
- [57] PEI, Q.L., KOBAYASHI, Y., TANAKA, Y., TAGUCHI, Y., HIGUCHI, K., KAITO, M., MA, N., SEMBA, R., KAMISAKO, T. eta ADACHI, Y. (2002). «Increased expression of multidrug resistance-associated protein 1 (mrp1) in hepatocyte basolateral membrane and renal tubular epithelia after bile duct ligation in rats». *Hepatol.Res.* **22**, 58-64.
- [58] SEWARD, D.J., KOH, A.S., BOYER, J.L. eta BALLATORI, N. (2003). «Functional complementation between a novel mammalian polygenic transport complex and an evolutionarily ancient organic solute transporter, OSTalpha-OSTbeta». *J Biol Chem.* **278**, 27473-27482.
- [59] SOMJEN, G.J. eta GILAT, T. (1985). «Contribution of vesicular and micellar carriers to cholesterol transport in human bile». *J Lipid Res.* **26**, 699-704.
- [60] SOMJEN, G.J. eta GILAT, T. (1986). «Changing concepts of cholesterol solubility in bile». *Gastroenterology* **91**, 772-775.
- [61] OUDE ELFERINK, R.P., OTTENHOFF, R., VAN WIJLAND, M., SMIT, J.J., SCHINKEL, A.H. eta GROEN, A.K. (1995). «Regulation of biliary lipid secretion by mdr2 P-glycoprotein in the mouse». *J Clin Invest.* **95**, 31-38.
- [62] VAN ERPECUM, K.J. (2005). «Biliary lipids, water and cholesterol gallstones». *Biol Cell* **97**, 815-822.
- [63] TRAUNER, M., FICKERT, P., HALILBASIC, E. eta MOUSTAFA, T. (2008). «Lessons from the toxic bile concept for the pathogenesis and treatment of cholestatic liver diseases». *Wien.Med Wochenschr.* **158**, 542-548.
- [64] MAKISHIMA, M., OKAMOTO, A.Y., REPA, J.J., TU, H., LEARNED, R.M., LUK, A., HULL, M.V., LUSTIG, K.D., MANGELSDORF, D.J. eta SHAN, B. (1999). «Identification of a nuclear receptor for bile acids». *Science* **284**, 1362-1365.
- [65] PARKS, D.J., BLANCHARD, S.G., BLEDSOE, R.K., CHANDRA, G., CONSLER, T.G., KLIEWER, S.A., STIMMEL, J.B., WILLSON, T.M., ZAVACKI, A.M., MOORE, D.D. eta LEHMANN, J.M. (1999). «Bile acids: natural ligands for an orphan nuclear receptor». *Science* **284**, 1365-1368.
- [66] YU, J., LO, J.L., HUANG, L., ZHAO, A., METZGER, E., ADAMS, A., MEINKE, P.T., WRIGHT, S.D. eta CUI, J. (2002). «Lithocholic acid decreases expression of bile salt export pump through farnesoid X receptor antagonist activity». *J Biol Chem.* **277**, 31441-31447.
- [67] LEW, J.L., ZHAO, A., YU, J., HUANG, L., DE PEDRO, N., PELAEZ, F., WRIGHT, S.D. eta CUI, J. (2004). «The farnesoid X receptor controls gene expression in a ligand- and promoter-selective fashion». *J Biol Chem.* **279**, 8856-8861.
- [68] SINAL, C.J., TOHKIN, M., MIYATA, M., WARD, J.M., LAMBERT, G. eta GONZALEZ, F.J. (2000). «Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis». *Cell* **102**, 731-744.
- [69] GUPTA, S., TODD STRAVITZ, R., PANDAK, W.M., MULLER, M., RENO VLAHCEVIC, Z. eta HYLEMON, P.B. (2000). «Regulation of multidrug resistance

- 2 P-glycoprotein expression by bile salts in rats and in primary cultures of rat hepatocytes». *Hepatology* **32**, 341-347.
- [70] HUANG, L., ZHAO, A., LEW, J.L., ZHANG, T., HRYWNA, Y., THOMPSON, J.R., DE, P.N., ROYO, I., BLEVINS, R.A., PELAEZ, F., WRIGHT, S.D. eta CUI, J. (2003). «Farnesoid X receptor activates transcription of the phospholipid pump MDR3». *J Biol Chem.* **278**, 51085-51090.
- [71] ANANTHANARAYANAN, M., BALASUBRAMANIAN, N., MAKISHIMA, M., MANGELSDORF, D.J. eta SUCHY, F.J. (2001). «Human bile salt export pump promoter is transactivated by the farnesoid X receptor/bile acid receptor». *J Biol Chem.* **276**, 28857-28865.
- [72] PLASS, J.R., MOL, O., HEEGSMAN, J., GEUKEN, M., FABER, K.N., JANSEN, P.L. eta MULLER, M. (2002). «Farnesoid X receptor and bile salts are involved in transcriptional regulation of the gene encoding the human bile salt export pump». *Hepatology* **35**, 589-596.
- [73] PIRCHER, P.C., KITTO, J.L., PETROWSKI, M.L., TANGIRALA, R.K., BISCHOFF, E.D., SCHULMAN, I.G. eta WESTIN, S.K. (2003). «Farnesoid X receptor regulates bile acid-amino acid conjugation». *J Biol Chem.* **278**, 27703-27711.
- [74] BARBIER, O., TORRA, I.P., SIRVENT, A., CLAUDEL, T., BLANQUART, C., DURAN-SANDOVAL, D., KUIPERS, F., KOSYKH, V., FRUCHART, J.C. eta STAELS, B. (2003). «FXR induces the UGT2B4 enzyme in hepatocytes: a potential mechanism of negative feedback control of FXR activity». *Gastroenterology* **124**, 1926-1940.
- [75] KAST, H.R., GOODWIN, B., TARR, P.T., JONES, S.A., ANISFELD, A.M., STOLTZ, C.M., TONTONAZ, P., KLIEWER, S., WILLSON, T.M. eta EDWARDS, P.A. (2002). «Regulation of multidrug resistance-associated protein 2 (ABCC2) by the nuclear receptors pregnane X receptor, farnesoid X-activated receptor, and constitutive androstane receptor». *J Biol Chem.* **277**, 2908-2915.
- [76] GOODWIN, B., JONES, S.A., PRICE, R.R., WATSON, M.A., MCKEE, D.D., MOORE, L.B., GALARDI, C., WILSON, J.G., LEWIS, M.C., ROTH, M.E., MALONEY, P.R., WILLSON, T.M. eta KLIEWER, S.A. (2000). «A regulatory cascade of the nuclear receptors FXR, SHP-1, and LRH-1 represses bile acid biosynthesis». *Mol Cell* **6**, 517-526.
- [77] SEOL, W., CHOI, H.S. eta MOORE, D.D. (1996). «An orphan nuclear hormone receptor that lacks a DNA binding domain and heterodimerizes with other receptors». *Science* **272**, 1336-1339.
- [78] LEE, Y.S., CHANDA, D., SIM, J., PARK, Y.Y. eta CHOI, H.S. (2007). «Structure and function of the atypical orphan nuclear receptor small heterodimer partner». *International Review of Cytology* **261**, 117-158.
- [79] KANAYA, E., SHIRAKI, T. eta JINGAMI, H. (2004). «The nuclear bile acid receptor FXR is activated by PGC-1 $\alpha$  in a ligand-dependent manner». *Biochem.J* **382**, 913-921.
- [80] CHIANG, J.Y., KIMMEL, R., WEINBERGER, C. eta STROUP, D. (2000). «Farnesoid X receptor responds to bile acids and represses cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase gene (CYP7A1) transcription». *J Biol Chem.* **275**, 10918-10924.

- [81] DEL CASTILLO-OLIVARES, A. eta GIL, G. (2000). «Alpha 1-fetoprotein transcription factor is required for the expression of sterol 12alpha-hydroxylase, the specific enzyme for cholic acid synthesis. Potential role in the bile acid-mediated regulation of gene transcription». *J Biol Chem.* **275**, 17793-17799.
- [82] CHEN, W. eta CHIANG, J.Y. (2003). «Regulation of human sterol 27-hydroxylase gene (CYP27A1) by bile acids and hepatocyte nuclear factor 4alpha (HNF4alpha)». *Gene* **313**, 71-82.
- [83] DENSON, L.A., STURM, E., ECHEVARRIA, W., ZIMMERMAN, T.L., MAKISHIMA, M., MANGELSDORF, D.J. eta KARPEN, S.J. (2001). «The orphan nuclear receptor, shp, mediates bile acid-induced inhibition of the rat bile acid transporter, ntcp». *Gastroenterology* **121**, 140-147.
- [84] ELORANTA, J.J., JUNG, D. eta KULLAK-UBLICK, G.A. (2006). «The human Na<sup>+</sup>-taurocholate cotransporting polypeptide gene is activated by glucocorticoid receptor and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1alpha, and suppressed by bile acids via a small heterodimer partner-dependent mechanism». *Mol Endocrinol.* **20**, 65-79.
- [85] OURLIN, J.C., LASSERRE, F., PINEAU, T., FABRE, J.M., SA-CUNHA, A., MAUREL, P., VILAREM, M.J. eta PASCUSI, J.M. (2003). «The small heterodimer partner interacts with the pregnane X receptor and represses its transcriptional activity». *Mol Endocrinol.* **17**, 1693-1703.
- [86] BAE, Y., KEMPER, J.K. eta KEMPER, B. (2004). «Repression of CAR-mediated transactivation of CYP2B genes by the orphan nuclear receptor, short heterodimer partner (SHP)». *DNA Cell Biol* **23**, 81-91.
- [87] LO SASSO, G., PETRUZZELLI, M. eta MOSCHETTA, A. (2008). «A translational view on the biliary lipid secretory network». *Biochimica et Biophysica Acta* **1781**, 79-96.
- [88] KALAANY, N.Y. eta MANGELSDORF, D.J. (2006). «LXRS and FXR: the yin and yang of cholesterol and fat metabolism». *Annual Review of Physiology* **68**, 159-191.
- [89] LEHMANN, J.M., KLIEWER, S.A., MOORE, L.B., SMITH-OLIVER, T.A., OLIVER, B.B., SU, J.L., SUNDSETH, S.S., WINEGAR, D.A., BLANCHARD, D.E., SPENCER, T.A. eta WILLSON, T.M. (1997). «Activation of the nuclear receptor LXR by oxysterols defines a new hormone response pathway». *J Biol Chem.* **272**, 3137-3140.
- [90] CHIANG, J.Y., KIMMEL, R. eta STROUP, D. (2001). «Regulation of cholesterol 7alpha-hydroxylase gene (CYP7A1) transcription by the liver orphan receptor (LXRalpha)». *Gene* **262**, 257-265.
- [91] REPA, J.J., BERGE, K.E., POMAJZL, C., RICHARDSON, J.A., HOBBS, H. eta MANGELSDORF, D.J. (2002). «Regulation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 by the liver X receptors alpha and beta». *J Biol Chem.* **277**, 18793-18800.
- [92] VAN DER VEEN, J., HAVINGA, R., BLOKS, V.W., GROEN, A.K. eta KUIPERS, F. (2007). «Cholesterol feeding strongly reduces hepatic VLDL-triglyceride production in mice lacking the liver X receptor alpha». *J Lipid Res.* **48**, 337-347.

- [93] TIMSIT, Y.E. eta NEGISHI, M. (2007). «CAR and PXR: the xenobiotic-sensing receptors». *Steroids* **72**, 231-246.
- [94] XIE, W., BARWICK, J.L., SIMON, C.M., PIERCE, A.M., SAFE, S., BLUMBERG, B., GUZELIAN, P.S. eta EVANS, R.M. (2000). «Reciprocal activation of xenobiotic response genes by nuclear receptors SXR/PXR and CAR». *Genes Dev* **14**, 3014-3023.
- [95] HANDSCHIN, C. eta MEYER, U.A. (2003). «Induction of drug metabolism: the role of nuclear receptors». *Pharmacological Reviews* **55**, 649-673.
- [96] STAUDINGER, J.L., GOODWIN, B., JONES, S.A., HAWKINS-BROWN, D., MACKENZIE, K.I., LATOUR, A., LIU, Y., KLAASSEN, C.D., BROWN, K.K., REINHARD, J., WILLSON, T.M., KOLLER, B.H. eta KLIEWER, S.A. (2001). «The nuclear receptor PXR is a lithocholic acid sensor that protects against liver toxicity». *Proc.Natl.Acad.Sci.U S A* **98**, 3369-3374.
- [97] RIPP, S.L., FITZPATRICK, J.L., PETERS, J.M. eta PROUGH, R.A. (2002). «Induction of CYP3A expression by dehydroepiandrosterone: involvement of the pregnane X receptor». *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* **30**, 570-575.
- [98] SCHRENK, D., BAUS, P.R., ERMEL, N., KLEIN, C., VORDERSTEMANN, B. eta KAUFFMANN, H.M. (2001). «Up-regulation of transporters of the MRP family by drugs and toxins». *Toxicol Lett.* **120**, 51-57.
- [99] WAGNER, M., HALILBASIC, E., MARSCHALL, H.U., ZOLLNER, G., FICKERT, P., LANGNER, C., ZATLOUKAL, K., DENK, H. eta TRAUNER, M. (2005). «CAR and PXR agonists stimulate hepatic bile acid and bilirubin detoxification and elimination pathways in mice». *Hepatology* **42**, 420-430.
- [100] SYNOLD, T.W., DUSSAULT, I. eta FORMAN, B.M. (2001). «The orphan nuclear receptor SXR coordinately regulates drug metabolism and efflux». *Nat.Med* **7**, 584-590.
- [101] LI, T. eta CHIANG, J.Y. (2005). «Mechanism of rifampicin and pregnane X receptor inhibition of human cholesterol 7 alpha-hydroxylase gene transcription». *Am.J Physiol.Gastrointest.Liver Physiol.* **288**, G74-G84.
- [102] MOTTINO, A.D. eta CATANIA, V.A. (2008). «Hepatic drug transporters and nuclear receptors: regulation by therapeutic agents». *World J Gastroenterol.* **14**, 7068-7074.
- [103] FORMAN, B.M., TZAMELI, I., CHOI, H.S., CHEN, J., SIMHA, D., SEOL, W., EVANS, R.M. eta MOORE, D.D. (1998). «Androstane metabolites bind to and deactivate the nuclear receptor CAR-beta». *Nature* **395**, 612-615.
- [104] WEI, P., ZHANG, J., EGAN-HAFLEY, M., LIANG, S. eta MOORE, D.D. (2000). «The nuclear receptor CAR mediates specific xenobiotic induction of drug metabolism». *Nature* **407**, 920-923.
- [105] CHERRINGTON, N.J., HARTLEY, D.P., LI, N., JOHNSON, D.R. eta KLAASSEN, C.D. (2002). «Organ distribution of multidrug resistance proteins 1, 2, and 3 (Mrp1, 2, and 3) mRNA and hepatic induction of Mrp3 by constitutive androstane receptor activators in rats». *J Pharmacol.Exp Ther.* **300**, 97-104.



- [106] GUO, G.L., LAMBERT, G., NEGISHI, M., WARD, J.M., BREWER, H.B., JR., KLIEWER, S.A., GONZALEZ, F.J. eta SINAL, C.J. (2003). «Complementary roles of farnesoid X receptor, pregnane X receptor, and constitutive androstane receptor in protection against bile acid toxicity». *J Biol Chem.* **278**, 45062-45071.