

Safra oluşumunda rol oynayan transport proteinleri

Transport proteins in bile production

Bilge Ceydilek, Ali Reşit Beyler

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Son yıllarda safra oluşumuyla ilgili yeni görüşler ortaya çıkmış ve yeni bilgiler ışığında hastalıkların oluşum mekanizmaları aydınlanmaya başlamıştır. Bu derlemede, safra oluşumunda rol oynayan taşıyıcı proteinleri tanımlamak ve bugüne kadar bu konuda elde edilmiş olan bilgi birikimini sunmak amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: **safra oluşumu, transport proteinler, kolestaz**

New opinions in the production of bile have been reporting today. In the light of these opinions, the mechanism of development of bile ducts diseases has gradually become clear. In this review, it was aimed to determine the transport proteins in bile production and present the recent literature about them.

Key words: **bile production, transport proteins, cholestasis**

Safra asitleri

Safra, karaciğerde safra kanaliküllerinde oluşan, plazmayla izo-ozmotik, sarımsı yeşil renkte bir sıvıdır. Günde ortalama 600-1200 mL salgılanır, pH'sı 7.8'dir (1). Safra tuzları safranın en önemli organik bileşimidir. Safra asitleri hepatositte taurin ve glisin ile konjuge edilir. Oluşan primer safra asitleri kolik asit ve kenodeoksikolik asittir; safrada 2:1 oranında bulunurlar. Safra asitleri çok basamaklı bir yolla kolesterolden sentezlenirler ve 24 karbon atomu içerirler. Yapısında 2 veya 3 adet hidroksil ve 1 adet karboksil grubu bulunur. Karboksil grubunun pKa'sı 6 civarında olduğu için, fizyolojik pH'da tam olarak iyonize olmazlar. Safra asitlerinin yapısına taurin ve glisin eklenmesiyle pKa düşer ve fizyolojik pH'da tam iyonize olurlar; safrada bulunan form da safra tuzlarıdır. Glisin formunun taurin formuna oranı 3:1'dir. Kolonda bulunan bakteriler, 7 α -hidroksilaz enzimi ile primer safra asitlerinden bir hidroksil grubu çıkararak sekonder safra asitlerini (deoksikolik asit ve litokolik asit) oluşturur veya glisin ve taurini safra tuzlarından ayırabilirler. Safra tuzlarının yaklaşık % 90'ı terminal ince barsaktan reabsorbe olur. Bunun yaklaşık 1/3'ü proksimal ince barsaktan difüzyonla, geri kalanı da distal ileumdan aktif transportla gerçekleşir. Portal sisteme geçen safra tuzları, sinüzoidlerden tekrar hepatosite alınır (2). Enterohepatik sirkülasyon günde 6-12 kez tekrarlanır ve böylece 3-4 g'lık bir safra asiti havuzu oluşur. Dışkıyla günde sadece 0.5 g. safra tuzu atılır. İdrarla kaybedilen 0.5 g.'la birlikte günlük toplam safra asiti kaybı 1 gramı bulmaktadır. Bu kayıp, karaciğerde kolesterolden "de novo" safra asiti sentezi ile kompanse edilir. Yeni sentezlenen safra asitleri safranın sadece % 3' ünü oluşturmaktadır. Safra tuzlarından ursodeoksikolik asit kolehepatik şant yoluna katılabilmektedir (Safra kanalı hücrelerine tekrar emilir ve periduktular kapiller pleksusa geri dönerek hepatosite alınır ve yeniden safraya karışır).

Geliş tarihi: 09.11.2004 • Kabul tarihi: 14.02.2005

Yazışma adresi

Bilge Ceydilek

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı,

Ankara

Tel : 0505 263 5853

Faks : (312) 3103446

E-mail : bilge_neydilek@myinet.com

Tablo 1. Hepatik taşıyıcı proteinler

Taşıyıcı protein	Lokalizasyonu	Substratı	Genin ismi
NTCP-insan	Bazolateral	Safra asitleri(SA)	SLC10A1
Ntcp-sıçan	Bazolateral	SA	Slc10a1
OATPB-insan	Bazolateral	Organik anyonlar(OA)	SLC21A9
OATPC-insan	Bazolateral	SA, bilirubin, diğer OA	SLC21A6
OATP8-insan	Bazolateral	SA,OA	SLC21A8
Oatp1-sıçan	Bazolateral	SA,OA	Slc21a1
Oatp2-sıçan	Bazolateral	SA,OA	Slc21a5
Oatp4-sıçan	Bazolateral	SA,OA	Slc21a10
MRP3-insan	Bazolateral	OA, SA, bilirubin	ABCC3
Mrp3-sıçan	Bazolateral	SA,OA	Abcc3
MRP2-insan	Kanaliküler	OA, bilirubin	ABCC2
Mrp2-sıçan	Kanaliküler	OA, bilirubin	Abcc2
BSEP-insan	Kanaliküler	SA	ABCB11
Bsep-sıçan	Kanaliküler	SA	Abcb11

Safra tuzları ve bilirubin transport aşamaları

1. Hepatosit içine alınma
1. Hepatosit içinde transport
2. Hepatositten safra kanalikülüne atılma

Hepatosit içine alınma

Karaciğer sinüzoidlerinin spesifik yapısı, endotelial pencerelerden proteine bağlı maddelerin “Disse” aralığına geçişine izin verir. Hepatositin bazolateral “uptake” sistemi albuminden safra tuzlarını ve bilirubini ayırıp alabilir (3).

Enterohepatik sirkülasyondan gelen safra tuzlarının sinüzoidal kandan ilk geçişte alımı, safra tuzunun yapısına bağlı olarak, sistemik safra tuzu konsantrasyonundan bağımsız %75-90 arasında değişir (4-5). Fizyolojik koşullarda, safra tuzlarının hepatosit içine alınımı periportal hepatositlerde daha belirgin olarak gerçekleşir. Bunun sonucunda, zon 1 (periportal) ve zon 3 (perivenöz) hepatositler arasında bir gradiyent farkı ortaya çıkar (6).

Safra tuzları ve organik anyonların hepatosite alınımında 2 önemli taşıyıcı sistem bulunmaktadır. Birincisi Na-taurokolat kotransport proteini (NTCP) tarafından gerçekleştirilen Na bağımlı transporttur. Na/K ATPase’in oluşturduğu elektrokimyasal gradiyent sayesinde, 2 Na ve bir safra asiti hücre içine alınır. İkinci sistem Na’dan bağımsız çalışmaktadır ve organik anyon taşıyıcı polipeptid ailesi (OATP) ismiyle adlandırılmaktadır.

Na-taurokolat kotransport protein (NTCP)

Bu protein sıçanlarda (Ntcp→Slc10a1) (7), farelerde (Ntcp1/2→Slc10a1) (8), tavşanlarda (9) ve insanlarda (10) (NTCP→SLC10A1) karaciğer dokusundan izole edilmiş

tir. Sıçanlarda Ntcp 362 aa, insanlarda NTCP ise 349 aa içermekte ve aminoasitler arasında %77 oranında benzerlik bulunmaktadır (11). Bu taşıyıcı protein hepatositin bazolateral (sinüzoidal) membranında yerleşmiştir. Proteinin N terminali hücre dışında, C terminali ise sitoplazmada yerleşmiştir, NTCP hücre membranını 7-9 kez katetmektedir (7,10). Her seferinde 2 Na ve bir safra tuzu molekülü taşınır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, gestasyonun 18-20. günlerinde Ntcp ekspresyonu ve Na bağımlı safra tuzu alımı birbirine paralel olarak bulunmuş (12,13), başka bir çalışmada ise, in situ sıçan karaciğerinde rejenerasyon sırasında ve sıçan hepatosit primer kültürlerinde Ntcp ekspresyonu ile Na- taurokolat transportunda paralel düşüşler görülmüştür (14). *Xenopus laevis* oositlerinde, Ntcp ekspresyonunun spesifik inhibisyonu sonrasında Na- taurokolat kotransportunun %95 azaldığı belirlenmiştir (15). NTCP proteininin geni insanlarda 14, farelerde 12, sıçanlarda 6q24 üzerinde yerleşmiştir. Gen ekspresyonu ile protein sentezi üzerinden regülasyon sağlanır. Ntcp promoteri Hex geni üzerinde gösterilmiş, Hex proteininin, hepatosit oluşum ve diferansiyasyonunda önemli bir transkripsiyonel faktör olduğu bildirilmiştir (16). Sıçanlarda endotoksinle indüklenmiş kolestazda HNF1 α (hepatosit nükleer faktör 1 α) aktivitesinde düşüklük, buna paralel olarak da Ntcp gen ekspresyonunda azalma görülmüştür (17). HNF1 α ve HNF4 α bulundurmayan farelerde de Ntcp gen ekspresyonunun düşük olduğu saptanmıştır (18,19). HNF3 β ’nin artışı ise Ntcp’yi baskılamaktadır (20). Kolestazda artan safra asitleri Farnesoid X reseptör ya da safra asit reseptörünü (FXR/BAR) indükler, indüklenen FXR/BAR SHP-1’i

aktive eder ve sonuçta Ntcp geni down regüle olur (21). Ayrıca FXR/BAR, Ntcp gen aktivasyonunda transaktivatör olan RXR:RAR'ı (retinoid X reseptör ve retinoik asit reseptör heterodimeri) inhibe eder ve sonuçta yine Ntcp baskılanır. Bu olay, kolestazda tekrarlayan hepatoselüler safra asiti hasarından koruyan negatif "feedback" bir etki oluşturur.

Sıçanlardaki bulgulara benzer şekilde, ekstrahepatik biliyer atrezili çocuklarda NTCP mRNA düzeyleri düşük bulunmuş ve başarılı bir portoenterostomi ile biliyer drenaj yeniden sağlandığında mRNA artışı gözlenmiştir (23).

Ntcp regülasyonunun gen transkripsiyonu ile düzenlenmesi, uzun süren bir olaydır. Hızlı bir regülasyon istendiğinde hücre içi cAMP artışı gereklidir. Hücre içinde cAMP arttığında, önceden varolan Ntcp veziküller havuzundan plazma membranındaki aktin sitoskeletonlara hızlı bir Ntcp transportu olmaktadır (22). Böylece, fizyolojik uyarılara cevapta hepatosite bazolateral safra tuzu alımının kısa süreli regülasyonu sağlanmış olmaktadır.

Organik anyon taşıyıcı polipeptidler (OATPs)

Multispesifik proteinlerdir. Safra tuzları, bromosülfotalein, bilirubin, steroidler, tiroid hormonları, peptidler, çok sayıda ilaç OATP'lerin substratı arasındadır. NTCP'nin tersine sadece karaciğer dokusunda değil, beyin, böbrek, akciğer ve barsaklarda da gösterilmişlerdir.

Sıçanlarda, substrat olarak safra tuzlarını kullanan karaciğer yerleşimli 3 adet Oatp tanımlanmıştır: 1. Oatp1 (Slc21a1), 2. Oatp2 (Slc21a5), 3. Oatp4 (Slc21a10). Oatp1 670 aa içeren, membranı 12 kez kateden, 80 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Sadece karaciğer bazolateral membranında bulunmaktadır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, postnatal ilk 15 günde karaciğerde Oatp1 ekspresyonu gösterilememiştir. Bu da Oatp1'nin ekstrahepatik sirkülasyon oluşumunun erken dönemlerinde bir rolü olmadığını düşündürmektedir. Ntcp gen regülasyonunda olduğu gibi, HNF1 α ve HNF4 α inhibe edilince Oatp gen ekspresyonu da inhibe olmaktadır (18,19). Ekstraselüler matrikste bulunan ATP ile Oatp1 molekülünün serin grubunun fosforillenmesi, membranda Oatp1 bulunmasına rağmen fonksiyonel "down regülasyon"a neden olmaktadır ki patolojik durumlarda bu da göz önünde bulundurulmalıdır (24). Oatp2, Oatp1 ile %77 aa benzerliği göstermektedir ve substrat spesifiteleri aynıdır. Sıçanların beyinde ve karaciğer bazolateral membranında izole edilmiştir. Oatp1 lobülde homojen dağılırken Oatp2 perivenöz hepatositlerde daha yoğun olarak bulunmaktadır (santral veni çevreleyen 1. ve 2. sıra hücreler hariç). Sıçanlarda östrojenle oluşturulan kolestaz modelinde Ntcp ve Oatp1 down regüle olurken, perivenöz hepatositlerde safra tuzu trans-

portunun devam ettiği görülmüştür (25). HNF1 α blokajı Oatp2'de de down regülasyona yol açmaktadır (18). Oatp4 hepatosit bazolateral membranında bulunmakta ve Oatp1 ve 2 ile % 43-44 benzerlik göstermektedir. Afiniteleri farklı olsa da substratları benzerdir. Oatp4'ün gen ekspresyonu konusunda yeterli veri yoktur.

İnsan karaciğerinde bulunan organik anyon taşıyıcı polipeptidler OATPA, OATPB, OATPC ve OATP8'dir. OATPC en önemlisidir (SLC21A6); bugüne kadar OATP2-OATP6-LST-1 gibi değişik isimlendirmeler yapılmıştır. OATPC sadece insan hepatositlerinin bazolateral membranında izole edilmiştir. Diğer OATP'lerden farklı olarak, substratları arasında bilirubin de bulunmaktadır (26). OATP8 hepatosit bazolateral membranında bulunmaktadır; digoksin gibi çok sayıda substratı olmasına rağmen safra tuzu ve bilirubin taşınmasında rolü yoktur. OATP8 ve OATPC'nin genleri 12p12'de yerleşmiştir ve %80 identiftirler. Ekspresyonları HNF1 α ile kontrol altındadır. Beyin dokusunda gösterilen OATPA (SLC21A3), ilaç ve opioidlerin kan beyin bariyerinden geçişinde önemli rolü bulunmaktadır. Ancak, hepatosit bazolateral membranında da gösterilmiştir ve safra tuzu transportunda küçük bir rolü vardır. OATPB (SLC21A9) hepatosit bazolateral membranında bulunur, ancak substratları içinde safra tuzları ya da bilirubin yoktur. OATPA, OATPC, OATP8 ile Oatp2 ve Oatp4 benzer genomik organizasyona sahiptir.

Klinik çalışmalar, primer sklerozan kolanjitli hastalarda OATPA mRNA ekspresyonunun arttığını göstermiştir. Kolestazda OATPA ters bir etkiyle kolestatik hepatositlerden organik anyonları dışarı atıyor olabilir (27). Alkol ve inflamasyonun indüklediği kolestatik hepatositte, primer sklerozan kolanjitte, primer biliyer sirozda OATPC molekülü azalmaktadır.

Bazolateral yerleşimde bir taşıyıcı protein daha bulunmaktadır. MRP3 (ABC-C3) olarak isimlendirilen bu protein, hepatositten portal kana safra tuzu akışına neden olmaktadır. Fizyolojik şartlarda bu durum ihmal edilebilir düzeydedir. Ancak, kolestatik durumlarda MRP3 ekspresyonu artmakta ve kesintiye uğrayan safra kanalikülüne safra akışını kompanse etmektedir. İnsanlarda "Dubin Johnson sendromu"nda bu olay görülmektedir (28).

Hepatosit içinde bilirubin ve safra tuzu transportu

Fizyolojik koşullarda safra tuzları hepatosit içindeki sitozolik proteinlere bağlanmaktadır. Bazolateral ve kanaliküler membranlar arasındaki konsantrasyon farkından dolayı, safra tuzları kanaliküler membran boyunca yayılmaktadır. Sıçanlarda 3 α -hidroksisteroid dehidrogenaz (3 α -HSD), glutatyon S-transferaz (ligandin-Yprotein), "liver-fatty acid binding protein" (L-FABP, Zprotein) ve in-

sanlarda 36-kDa ağırlığında bir safra asiti bağlayan protein tanımlanmıştır. İnsanlarda tanımlanan protein diğerlerine göre safra tuzlarına daha yüksek afiniteyle bağlanmaktadır, ancak bu proteinin fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Sıçanlarda HNF1 α kaybı, L-FABP ve 3 α -HSD'de azalma ile sonuçlanmaktadır. Yine FXR/BAR'dan yoksun farelerde L-FABP ekspresyonu tamamen kaybolmaktadır.

Hepatosit içinde safra tuzu yükünün arttığı durumlarda hidrofobik safra tuzları membranla çevrili veziküller içinde birikmekte ve veziküller yardımıyla taşınmaktadır. Bir mikrotübül inhibitörü olan kolşisin, litokolat ve ursodeoksikolatın vezikül içinde birikimini azaltmaktadır, ancak kolat ve kenodeoksikolat üzerinde çok az bir etkisi bulunmaktadır (29, 30).

Bilirubin hepatosit içinde ligandin ve Z proteine bağlanmaktadır. Ligandin (GST izomeri) bilirubine en yüksek afiniteyle bağlanmaktadır. Ligandinle birlikte bilirubin endoplazmik retikuluma taşınmakta, burada UDP-glukronil transferaz enzimi ile konjuge edilmektedir. Crigler-Najjar Sendromu tip1'de bu enzimin komplet yokluğu, tip2'de ise enzimin %10 aktivitesi bulunmaktadır. Gilbert's Sendromunda da enzim %30 aktivite ile çalışmaktadır. Safra tuzu ve bilirubin hepatosit içindeki transport mekanizmaları hakkındaki bilgilerimiz bugün hala yetersiz kalmaktadır.

Kanaliküler safra tuzu ve bilirubin sekresyonu

Kanaliküler membranda 2 önemli taşıyıcı bulunmaktadır: 1. "Bile salt export pump" (BSEP), 2. "Multidrug rezistans protein 2" (MRP2). BSEP safra asitlerinin taşınmasında, MRP2 ise bilirubin taşınmasında önemli role sahiptir. Progresif intrahepatik kolestazda BSEP'de çok sayıda mutasyon tarif edilmiştir (31). Progresif intrahepatik kolestaz serum GGT düzeyi düşüklüğü, serum safra tuzu düzeyi artışı olan kalıtsal, progresif bir karaciğer hastalığıdır. Kanaliküler BSEP ekspresyon yokluğu, safrada normal safra tuzu miktarının %1'i kadar safra tuzu ile sonuçlanmaktadır. Farelerde Bsep bloke edildiğinde büyüme geriliği, hepatosteatoz ve ılımlı bir kolestaz tablosu oluşmaktadır (32). Bsep'den yoksun farelerde taurokolatın kanaliküler sekresyonu tamamen durmaktadır. Kanaliküler sekresyon kandan aşırı safra tuzu transportu olan durumlarda hız kısıtlayıcı bir basamaktır. Metabolik ihtiyaca göre, transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel regülasyonla adaptasyon sağlanmaktadır. Safra akışına neden olan bir yemekten sonra, FXR/BAR bağımlı mekanizmayla kanaliküler Bsep gen ekspresyonu artmaktadır. HNF1 α 'nın Bsep

ekspresyonu üzerinde bir etkisi bulunmamaktadır. Kolestatik ilaçlarla (siklosporinA, rifampisin, glibenklamid) kanaliküler Bsep fonksiyonu inhibe edildiğinde serumda safra tuzu konsantrasyonu, tıpkı kolestatik karaciğer hasarında olduğu gibi artmaktadır (33).

MRP2 ilk olarak kanaliküler multispesifik organik anyon transporter (CMOAT) olarak adlandırılmıştır. 1996 yılında sıçan karaciğerinde insan MRP1 proteini ile %47.6 benzerlik gösteren bir protein izole edilmiş ve bunun cmoat ile aynı protein olduğu görülmüştür. Daha sonra insan cMOAT (MRP2) 'si tanımlanmıştır. 1545 aa içeren, 190 kDa ağırlığında, MRP1 ile %46 benzerlik gösteren bir moleküldür. MRP2'nin substratları bilirubin monoglukronat ve bilirubin diglukronattır. Dubin Johnson sendromlu hastalarda, MRP2 kanaliküler membranda gösterilememiştir (34). Yine Dubin Johnson sendromlu hastalarda MRP2'de 13 adet gen mutasyonu rapor edilmiştir. İnsanlarda 6 adet MRP tanımlanmıştır. Rotor Sendromu'nda ise, membranda taşıyıcı protein olmasına rağmen bilirubin bu proteine bağlanamamaktadır.

Kanaliküler membranda MDR3 denilen bir protein taşıyıcı daha bulunmaktadır. MDR3/Mdr2 fosfolipidlerin kanaliküle geçişini sağlamaktadır. MDR3 ekspresyon defekti insanlarda görülen progresif familial intrahepatik kolestaz tip3 ile ilişkilidir (35). Progresif familial intrahepatik kolestaz tip3 serum safra tuzu ve GGT yüksekliği ile giden kalıtsal bir karaciğer hastalığıdır. Heterozigot MDR3 mutasyonunun gebelerde görülen intrahepatik kolestaz ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir (23). Obstrüktif kolestazda MRP3 artışı olduğu gibi kanaliküler MDR3 de artmaktadır; bu olay kolestatik karaciğer hasarını sınırlandırmaya yardımcı olabilir.

Sonuç

Safra oluşumunda rol oynayan transport proteinleri hakkındaki bilgilerimiz arttıkça, enterohepatik fizyoloji ve patofizyolojiyi anlamamız da kolaylaşmaktadır. Kolestazda taşıyıcı proteinlerde meydana gelen değişikliklerin moleküler düzeyde tanımlanması, spesifik tedavi olanakları için potansiyel hedef noktalar ortaya koymaktadır. Bu sayede, gelecekte herediter transport defektlerinin gen tedavisi ile çözüme ulaşması umut edilmektedir. Transport proteinlere yönelik çalışmalar devam ettikçe kolestatik karaciğer hastalıklarında yeni tedavi seçeneklerinin de ortaya çıkması kaçınılmaz bir durum gibi görünmektedir.

Kaynaklar

1. Saunders WB. editor. Guyton & Hall Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1996; p.886.
2. Champe PC, Harvey RA. editors. Lippincott's Biyokimya. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1997; p. 210-213.
3. Reichen J. The role of the sinusoidal endothelium in liver function. *News Physiol. Sci.* 1999; 14:117-21.
4. Feldman M, Schorschmidt BF, Sleiseger MH. editors. *Gastrointestinal and Liver Disease*. Philadelphia/London:Saunders, 1998; p.937-48.
5. Meier PJ. Molecular mechanisms of hepatic bile salt transport from sinusoidal blood into bile. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1995; 269:G801-G12.
6. Groothuis GM, Hardonk MJ, Keulemans KP et al. Autoradiographic and kinetic demonstration of acine heterogeneity of taurocholate transport. *Am.J.Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1982; 243:G455-G62.
7. Hagenbuch B, Steiger B, Foguet M et al. Functional expression cloning and characterization of the hepatocyte Na/bile acid co-transport system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*1991; 88:10629-33.
8. Cattori V, Eckhardt U, Hagenbuch B. Molecular cloning and fonctional characterization of two alternatively sliced Ntcp isoforms from Mouse liver. *Biocim. Biophys. Acta.* 1999; 1445:154-59.
9. Kramer W, Stengelin S, Baringhaus KH et al. Substrate specificity of the ileal and the hepatic Na/bile acid cotransporters of the rabbit 1. transport studies with membrane vesicles and cell lines expressing the cloned transporters. *J. Lipid Res.* 1999; 40:1604-17.
10. Hagenbuch B, Meier PJ. Molecular cloning chromosomal localization and function characterization of human liver Na/bile acid cotransporter. *J. Clin. Invest.* 1994; 93:1326-31.
11. Meier PJ, Eckhardt U, Schroder A, et al. Substrate specificity of sinusoidal bile acid and organic anion uptake systems in rat and human liver. *Hepatology.* 1997; 26:1667-77.
12. Hardikar W, Anonthanarayanan M, Suchy FJ. Differential oncogenic regulation of basolateral and canalicular bile acid transport proteins in rat liver. *J. Biol. Chem.* 1995; 270:20841-46.
13. Suchy FJ, Bucuvalas JC, Goodrich AL et al. Taurocholate transport and Na-K-ATP ase activity in fetal and liver plasma membrane vesicles. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1986; 251:G665-73.
14. Gren RM, Gollon JL, Hagenbuch B, et al. Regulation of hepatocyte bile salt transporters during hepatic regeneration. *Am.J.Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1997; 273:G621-G27.
15. Hagenbuch B, Scharschmidt BF, Meier PJ. Effect of antisense oligonucleotides on the expression of hepatocellular bile acid and organic anion uptake systems in *Xenopus laevis* oocytes. *Biochem.J.* 1996; 316:901-4
16. Keng VW, Yagi H, Ikkva M, et al. Homeobox gene Hex is essential for onset of Mouse embrionic liver development and differentiation of the monocyte lineage. *Biochem. Biophys. Res. Common.* 2000; 276:1155-61
17. Traziner M, Arrese M, Lee YH et al. Endotoxin downregulates rat hepatic Ntcp gene expression via decreased activity of critical transcription factors. *J.Clin.Invest.* 1998; 101:2092-100.
18. Shih DQ, Busen M, Sehayek E et al. Hepatocyte nuclear factor-1x is an essential regulator of bile acid and plasma cholesterol metabolism. *Nat.Genet.* 2001; 27:375-82
19. Hayhurst GP, Lee YH, Lambert G et al. Hepatocyte nuclear factor 4 x (nuclear factor 2 A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis. *Mol.Cell.Biol.* 2001; 21:1393-403.
20. Rausa FM, Tan Y, Zhou H et al. Elevated levels of hepatocyte nuclear factor 3B in mouse hepatocytes influence expression of genes involved in bile acid and glucose homeostasis. *Mol. Cell. Biol.* 2000; 20:8264-82.
21. Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M et al. Targeted disruption of the nuclear receptor FXR / BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell.* 2000; 102:731-44.
22. Dranoff JA, Mc Clure M, Burgstahler AD et al. Short term regulation of bile acid uptake by microfilament – dependent translocation of rat Ntcp to the plasma membrane. *Hepatology.* 1999; 30:223-29.
23. M. Trauner. Genetic disorders and molecular mechanism in cholestatic liver disease. *Semin. Gastrointest. Dis.* 2001; 12:66-88.
24. Glavy JS, Wu SM, Wang PJ et al. Down-regulation by extracellular ATP of rat hepatocyte organic anion transport is mediated by serine phosphorylation of Oatp1. *J.Biol.Chem.* 2000;275:1479-84.
25. Lee JL, Boyer JL. Molecular alterations in hepatocyte transport mechanism in acquired cholestatic liver disorders. *Semin.Liver Dis.* 2000;20:373-84.
26. CuimY, König J, Leier I et al. Hepatic uptake of bilirubin and its conjugates by the human organic anion transporting polipeptide SLC 21A6. *J.Biol.Chem.* 2001;276:9626-30.
27. Kullack-Ublick GA, Beuers U, Fahney C et al. Identification and functional characterization of the promoter region of the human organic anion transporting polypeptide gene. *Hepatology.* 1997;26: 991- 997.
28. König J, Rost D, Cui Y et al. Characterization of the human multidrug resistance protein isoform MRP-3 localized to the basolateral hepatocyte membrane. *Hepatology.* 1999;29:1156-63.
29. Wilton JC, Mattheus GM, Burgoyre RD et al. Flourescent choleretic and bile salt take different paths across the hepatocyte: transcytosis of glycolithocholate leads to on extensive redistribution of annexin II. *J.Cell Biol.* 1994; 127:401-10.
30. El Seaidy AZ, Mills CO, Elias E et al. Lack of evidence for vesicle trafficking of flourescent bile salts in rat hepatocyte couplets. *Am.J.Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1997;272:G298-G309.
31. Strautnikes 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;20:233-38.
32. Wang R, Salem M, Yousef IM et al. Targeted inactivation of sister of P-glycoprotein gene (spgp) in mice results in nonprogressive but persistent intrahepatic cholestasis. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* 2001;98:2011-16.
33. Stieger B, Fattinger K, Madon J et al. Drug and estrogen-induced cholestasis through inhibition of the hepatocellular bile salt export pump of rat liver. *Gastroenterology.* 2000;118:422-30.
34. Kartenbeck J, Leuschner U, Mayer R et al. Absence of the canalicular isoform of the MRP gene-encoded conjugate export pump from the hepatocytes in Dubin-Johnson Syndrome. *Hepatology.* 1996; 23:1061-6.
35. De Vree JM, Jacquemin E, Sturm E et al. Matation in the MDR 3 gene cause progressive familial intrahepatic cholestasis. *Proc.Natl. Acad.Sci.USA.* 1998;95:282-87.
36. Kamisako T, Kobayashi Y, Takeuchi K et al. Recent advances in bilirubin metabolism research: the molecular mechanism of hepatocyte bilirubin transport and its clinical relevance. *J. Gastroenterol.* 2000; 35:659-664.
37. Meier PJ, Stieger B. Bile salt transporter. *Annu. Rev. Physiol.* 2002; 64:635-61.
38. Takikawa H. Hepatobiliary transport of bile acids and organic anions. *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* 2002; 9:443-447.
39. Trauner M, Boyner JL. Bile salt transporters: molecular characterization, function, and regulation. *Physiological Reviews.* 2003,83(2).633-71.