

FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

Année 2014

N°

Thèse

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'Etat

Par

LE BESCO Matthieu

Né le 22 Avril 1985 né à Lille

Présentée et soutenue publiquement le 22 septembre 2014

TITRE

Traitement médical de la Cholestase Intra hépatique Gravidique.

Mise au point et analyse d'une cohorte de 96 malades traitées
par l'acide ursodésoxycholique.

Jury

Président de Jury : Monsieur le Professeur Christian ANDRES

**Membres du jury : Monsieur le Professeur Thierry LECOMTE
Monsieur le Professeur Elie SALIBA
Monsieur le Docteur Jérôme POTIN
Monsieur le Docteur Yannick BACQ**

Medical treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy. Review and analysis of a cohort of 96 patients treated with ursodeoxycholic acid.

Summary:

Intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP) is a specific liver disease of pregnancy, manifested by pruritus in the second or third trimester that improves spontaneously after childbirth. The ICP is a complex and multifactorial disease. The main risk of the ICP is the fetal risk (spontaneous and induced prematurity and rarely sudden intrauterine fetal death). Medical treatment is based on Ursodeoxycholic acid (UDCA).

The aim: To evaluate the effectiveness of the UDCA and characterize the Predictive factors of response to treatment.

Material and methods: This is a retrospective cohort study of 96 patients with an ICP treated by UDCA. The judgment of the effectiveness of the UDCA criteria were: the improvement of pruritus, the decrease of serum ALT activity, and the decrease of the bile acid level. Response factors epidemiologic, clinical, biological and genetic were studied.

Results: The UDCA improved of pruritus in 78% of cases, decreased the bile acid level in 59% of cases, and decreased the serum activity of the ALT in 69.4% of cases. Level of ALT ≥ 175 UI/l (RR, 1,81; IC 95% 1,34-2,45; $p < 0,0001$) and the bile acid level ≥ 40 $\mu\text{mol/l}$ (RR, 1,35; IC 95% 1,17-1,55; $p = 0,0334$) are predictive factors of response to the UDCA.

Conclusion: This study confirms the effectiveness of UDCA in the ICP. Level of ALT ≥ 175 UI/l and bile acid level ≥ 40 $\mu\text{mol/l}$ are predictive factors of response to the UDCA in support of the ICP.

Keywords:

Intrahepatic cholestasis of pregnancy

Ursodeoxycholic acid

ABCB4 mutation

Traitement médical de la Cholestase Intra-hépatique Gravidaïque.

Mise au point et analyse d'une cohorte de 96 malades traitées par l'acide ursodésoxycholique.

Résumé:

La cholestase intra-hépatique gravidaïque (CIG) est une hépatopathie spécifique de la grossesse, se manifestant par un prurit au deuxième ou au troisième trimestre, et s'améliorant spontanément après l'accouchement. La CIG est une maladie complexe et multifactorielle. Le principal risque de la CIG est le risque fœtal (prématurité spontanée et induite, et rarement mort fœtale in utero). Le traitement médical repose sur l'acide ursodésoxycholique (AUDC).

Objectif : Evaluer l'efficacité de l'AUDC et caractériser les facteurs prédictifs de réponse au traitement.

Matériel et méthodes : Il s'agit d'une étude de cohorte rétrospective de 96 malades atteintes d'une CIG traitée par l'AUDC. Les critères de jugement de l'efficacité de l'AUDC étaient : l'amélioration du prurit, la diminution de l'activité sérique de l'ALAT, et la diminution de la concentration sérique des acides biliaires (AB). Des facteurs épidémiologiques, cliniques, biologiques, et génétiques de réponse au traitement par l'AUDC ont été étudiés.

Résultats : L'AUDC a permis une amélioration du prurit dans 78% des cas, une amélioration du taux des AB dans 59% des cas, et une amélioration de l'activité sérique de l'ALAT dans 69.4% des cas. L'activité sérique de l'ALAT ≥ 175 UI/l (RR, 1,81; IC 95% 1,34-2,45; $p < 0,0001$) et le taux sérique des AB ≥ 40 $\mu\text{mol/l}$ (RR, 1,35; IC 95% 1,17-1,55; $p = 0,0334$) apparaissent comme des facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC.

Conclusion : Cette étude confirme l'efficacité du traitement par AUDC dans la CIG. L'activité sérique des ALAT ≥ 175 UI/l et le taux sérique des AB ≥ 40 $\mu\text{mol/l}$ sont des facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC dans la prise en charge de la CIG.

Mots-clés :

Cholestase intra-hépatique gravidaïque

Acide ursodésoxycholique

Mutation d'ABCB4

Table des matières.

1^{ère} partie : Mise au point.	p.7
1. La sécrétion biliaire et la cholestase.	p.8
1.1. Rôle physiologique de la bile.	p.8
1.2. Composition de la bile.	p.8
1.3. Le métabolisme des acides biliaries.	p.10
1.3.1. La synthèse et la conjugaison des acides biliaries.	p.10
1.3.2. Le cycle entéro-hépatique des acides biliaries.	p.11
1.3.3. La régulation de la synthèse des acides biliaries	p.12
1.4. Les transporteurs impliqués dans la sécrétion biliaire.	p.13
1.4.1. Au niveau de l'hépatocyte.	p.13
1.4.1.1. Au pôle sinusoidal.	p.13
1.4.1.1.1 Na ⁺ Taurocholate Co-transporting polypeptide.	
1.4.1.1.2. Organic anion transporters.	
1.4.1.1.3. Les autres transporteurs.	
1.4.1.2. Dans le cytoplasme.	p.17
1.4.1.3. Au pôle canaliculaire.	p.18
1.4.1.3.1. Bile salt export pump.	
1.4.1.3.2. Multidrug resistance protein-1.	
1.4.1.3.3. Multidrug resistance protein-3.	
1.4.1.3.4. Multidrug resistance-associated protein-2.	
1.4.1.3.5. ATP-binding cassette, sub-family G, members 5 and 8.	
1.4.1.3.6. Familial intrahepatic cholestasis-1.	
1.4.2. Au niveau du cholangiocyte.	p.23
1.4.3. Au niveau de l'entérocyte.	p.24
1.4.3.1. Au pôle apical.	p.25
1.4.3.1.1. Apical sodium-dependent bile salt transporter.	
1.4.3.1.2. Organic anion transporter 1A2.	
1.4.3.2. Dans le cytoplasme.	p.26
1.4.3.3. Au pôle basolatéral.	p.26
1.4.3.3.1. Organic solute transporter α/β .	
1.4.3.3.2. Multidrug resistance-associated protein-3.	
1.4.4. Au niveau de la cellule tubulaire proximale rénale.	p.27
1.4.4.1. Au pôle apical.	p.28
1.4.4.1. Au pôle basolatéral.	p.28
1.4.5. Au niveau du placenta.	p.28
1.5. Les récepteurs nucléaires.	p.30
1.5.1. Farnesoid X receptor.	p.31
1.5.1.1. Rôle dans la régulation de la synthèse des acides biliaries.	p.31
1.5.1.2. Rôle dans l'absorption hépatique des acides biliaries.	p.31
1.5.1.3. Rôle dans la détoxification des acides biliaries.	p.32
1.5.1.4. Rôle dans l'externalisation biliaire des acides biliaries.	p.32
1.5.1.5. Rôle au niveau iléal.	p.32

1.5.1.6. Rôle au niveau placentaire.	p.33
1.5.2. Pregnane X receptor.	p.34
1.5.3. Constitutive androstane receptor.	p.34
1.5.4. Liver X receptor.	p.35
1.5.5. Glucocorticoïd receptor.	p.35
1.5.6. Vitamin D receptor.	p.36
1.5.7. Peroxisome proliferator-activated receptor α .	p.37
1.6. La cholestase et son action sur les transporteurs biliaires.	p.39
2. La cholestase intrahépatique gravidique.	p.41
2.1. L'histoire.	p.41
2.2. L'épidémiologie.	p.41
2.3. Les manifestations cliniques.	p.42
2.4. Les anomalies biologiques.	p.42
2.5. L'histologie.	p.43
2.6. L'imagerie.	p.43
2.7. Le diagnostic.	p.44
2.8. Le pronostic.	p.44
2.8.1. Le pronostic maternel.	p.44
2.8.2. Le pronostic fœtal et la prise en charge obstétricale.	p.45
2.8.2.1. Le pronostic fœtal.	p.45
2.8.2.2. La prise en charge obstétricale.	p.46
2.9. La physiopathologie de la cholestase intrahépatique gravidique.	p.47
2.9.1. Les facteurs hormonaux.	p.47
2.9.1.1. Les œstrogènes.	p.47
2.9.1.2. La progestérone et les progestatifs.	p.48
2.9.2. Les facteurs génétiques.	p.49
2.9.2.1. Le gène ABCB4.	p.50
2.9.2.2. Le gène ABCB11.	p.53
2.9.2.3. Le gène ATP8B1.	p.56
2.9.2.4. Le gène ABCC2.	p.57
2.9.2.5. Le gène NR1H4.	p.57
2.9.2.6. Le gène NR1I2.	p.58
2.9.3. Les autres facteurs.	p.58
2.9.3.1. L'Infection virale C.	p.59
2.9.3.2. La carence en Sélénium.	p.59
2.9.3.3. La carence en Vitamine D.	p.59
2.9.3.4. La perméabilité intestinale.	p.60
2.10. Le retentissement placentaire.	p.61
2.11. La physiopathologie des complications.	p.62
2.11.1. La souffrance fœtale et la mort fœtale <i>in utero</i> .	p.62
2.11.2. La prématurité.	p.63
2.11.3. La détresse respiratoire néonatale.	p.64

3. Le traitement médical de la cholestase intrahépatique gravidique.	p.65
3.1. Le phenobarbital.	p.65
3.2. La dexaméthasone.	p.65
3.3. La S-adénosylméthionine.	p.66
3.4. La cholestyramine.	p.67
3.5. L'acide ursodésoxycholique.	p.68
3.5.1. Les généralités.	p.68
3.5.2. La pharmacocinétique.	p.69
3.5.3. L'efficacité dans la Cholestase intrahépatique gravidique.	p.69
3.5.4. Les recommandations.	p.71
3.5.5. Les mécanismes d'action de l'acide ursodésoxycholique.	p.72
3.5.5.1. La protection contre la cytotoxicité des acides biliaires.	p.72
3.5.5.2. L'inhibition de l'apoptose des hépatocytes.	p.72
3.5.5.3. La stimulation de la sécrétion biliaire.	p.73
3.5.5.4. L'inhibition de la synthèse des acides biliaires.	p.73
3.5.5.5. La stimulation de la métabolisation des acides biliaires.	p.74
3.5.5.6. L'inhibition de la réabsorption des acides biliaires.	p.74
3.5.5.7. L'action anti-inflammatoire et immunomodulatrice.	p.75
3.5.5.8. La stimulation de l'excrétion de la progestérone.	p.76
3.5.5.9. L'amélioration du passage placentaire des acides biliaires.	p.76
4. Les perspectives.	p.78
2^{ème} partie : Etude de cohorte.	p.79
Efficacité et critères de réponse au traitement par l'acide ursodésoxycholique dans la cholestase intrahépatique gravidique. Etude d'une cohorte de 96 malades.	
1. Introduction.	p.80
2. Matériel et méthode.	p.81
3. Résultats.	p.89
4. Discussion.	p.106
5. Conclusion.	p.111
Bibliographie	p.112
Annexe 1. Liste des abréviations.	p.130
Annexe 2. Lexique.	p.131
Annexe 3. Liste des figures et des tableaux.	p.132

Première partie :

Mise au point

1. La sécrétion biliaire et la cholestase.

1.1. Rôle physiologique de la bile.

La formation de la bile est l'une des principales fonctions du foie. La bile permet l'assimilation des graisses alimentaires et des vitamines liposolubles. Les sels biliaires présents dans la bile sont amphiphiles avec une face hydrophile et une face hydrophobe. Cette conformation tridimensionnelle leur permet de fractionner et d'émulsionner les lipides alimentaires.¹ Ces graisses émulsionnées vont être dégradées par les lipases intestinales et pancréatiques pour permettre leur absorption par la muqueuse intestinale. La bile permet également l'élimination dans les selles des substances xénobiotiques et endobiotiques potentiellement toxiques comme le cholestérol, la bilirubine, les anions inorganiques (fer, cuivre), et les acides biliaires (AB). Cette fonction nécessite le passage du secteur vasculaire au secteur biliaire via la cellule polarisée qu'est l'hépatocyte. Deux pôles sont définis au niveau de l'hépatocyte : le pôle sinusoidal et le pôle canaliculaire. Le pôle sinusoidal ou basolatéral, représente 80% de la surface membranaire. Il est riche en microvillosités et est au contact des sinusoides via l'espace de Disse. Le pôle canaliculaire ou apical, représente 20% de la surface membranaire. Il permet l'excrétion de substances via les voies biliaires.

La diminution ou à l'arrêt de la sécrétion biliaire entraîne des manifestations cliniques et biologiques que l'on regroupe sous le terme de cholestase.²

1.2. Composition de la bile.

Les hépatocytes synthétisent la bile primaire, solution aqueuse iso-osmotique, composée à 85% d'eau, 11% de sels biliaires, 3% de phospholipides (principalement sous forme de phosphatidylcholine), 0.5% de cholestérol, et à 1% d'autres composés comme les anions anorganiques, les peptides dont le glutathion, et les pigments biliaires dont le principal est la bilirubine.³ La composition de la bile varie au cours de son passage dans les canaux biliaires. Les cholangiocytes sécrètent du bicarbonate, des protéines glycosylées et réabsorbent de l'eau, du chlore, du glucose, des AB, de la bilirubine conjuguée, et des acides

aminés. Ceci induit une concentration et une alcalinisation de la bile.⁴ La bile est ensuite stockée et concentrée dans la vésicule biliaire par absorption d'eau et d'électrolytes, et adjonction de mucine. La bile sécrétée dans le duodénum contient en moyenne 80% de sels biliaires, 15% de phosphatidylcholine, et 5% de cholestérol. Ces trois composés s'associent sous forme de micelles simples, de micelles mixtes, et de vésicules uni-lamellaires pour être maintenu en solution. La toxicité membranaire des AB s'observe quand leur concentration est augmentée ce qui induit une augmentation du taux de micelles simples. Les micelles mixtes permettent une solubilisation d'une grande quantité de cholestérol.⁵ Le flux biliaire est un processus osmotique engendré à la fois par la sécrétion des AB, appelé flux dépendant de la fraction en AB, et par d'autres molécules osmotiquement actives comme le glutathion, appelé flux indépendant de la fraction des AB. La sécrétion moyenne de la bile chez l'homme est de 620ml/jour.⁴

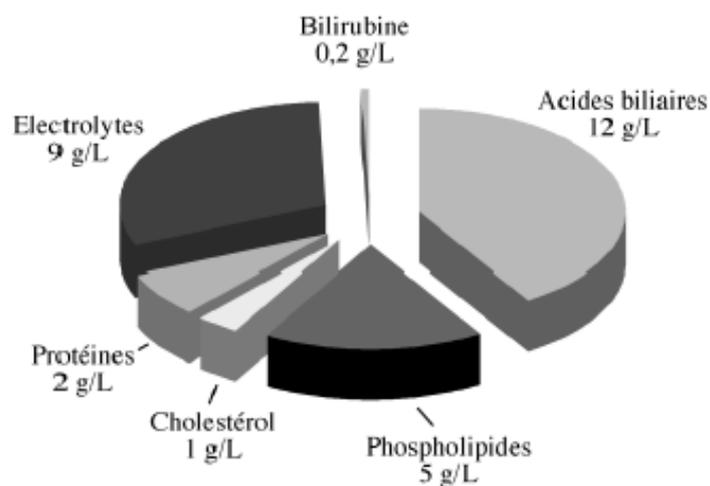


Figure n°1 : composition de la bile.

(Selon N. Chignard, O. Chazouillères, C. Housset. Sécrétion biliaire. EMC - Hépatologie 2006)

1.3. Le métabolisme des acides biliaires.

1.3.1. La synthèse et la conjugaison des acides biliaires.

Les AB sont des stéroïdes endogènes synthétisés dans les hépatocytes à partir du cholestérol. Deux voies de synthèse sont possibles : la voie classique ou neutre et la voie alterne ou acide. Chez l'homme la voie classique permet la synthèse de plus de 90% des AB primaires.⁶ La première étape enzymatique de chacune des deux voies est catabolisée respectivement par la *cholesterol-7 α -hydroxylase* (CYP7A1) et la *stérol-27-hydroxylase* (CYP27A1). Les AB synthétisés dans l'hépatocyte par ces deux voies sont l'acide cholique (*3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-cholanoic acid*, AC) et l'acide chénodesoxycholique (*3 α , 7 α -dihydroxy-5 β -cholanoic acid*, ACDC). Les AB sont ensuite conjugués à un acide aminé : la glycine ou la taurine par la *bile acid coenzyme A synthetase* et la *bile acid amino acid transferase*. Chez l'homme, le ratio entre la conjugaison à la glycine et à la taurine est de 3 pour 1.^{6,7} Les AB conjugués s'associent alors à des ions sodium et potassium pour former des sels biliaires. Tous les jours, 12 à 20 g d'AB sont excrétés dans la bile.⁸

Dans l'intestin grêle, les AB sont déconjugués, puis transformés en AB secondaires par l'action de la *7 α -reductase* bactérienne. L'acide cholique et l'acide chénodesoxycholique sont respectivement transformés en acide déoxycholique (*3 α , 12 α -dihydroxy-cholanoic acid*, ADC) et en acide lithocholique (*3 α -hydroxy-5 β -cholanoic acid*, ALC).⁷ Ces AB secondaires sont plus toxiques et plus hydrophobes que les AB primaires.⁶ Chez l'homme, la répartition moyenne des AB dans la vésicule biliaire est la suivante : AC 40%, ACDC 35%, ADC 18%, ALC 4%, AUDC 2%.⁶

Certains AB sont transformés par modification de leur conformation. L'acide ursodésoxycholique (*3 α ,7 β -dihydroxycholanoic acid*, AUDC) est l'épimère 7 β de l'acide chénodésoxycholique, et ne représente que 1 à 4% des AB.⁷

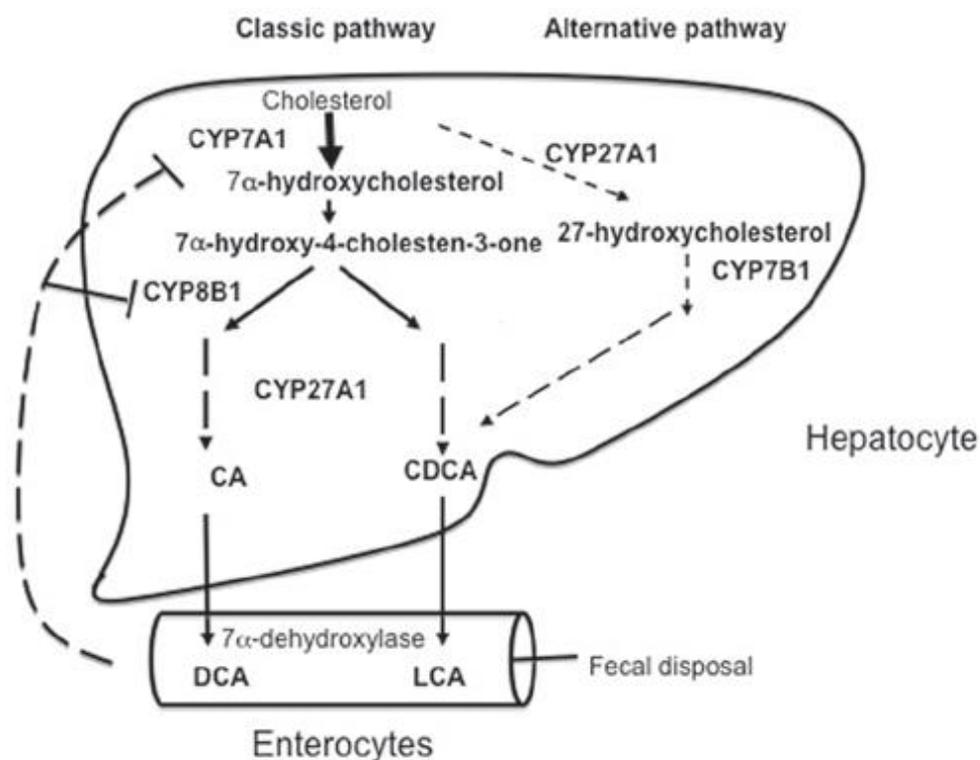


Figure n°2 : Voies classique et alterne de synthèse des acides biliaires.
 Flèches pleines : voie classique, flèches en pointillé : voie alterne, traits en pointillé : rétrocontrôle négatif.
 (Selon LI and CHIANG Nuclear receptors in bile acid metabolism. Drug metabolism reviews, 2013)

1.3.2. Le cycle entéro-hépatique des acides biliaires.

La synthèse des AB est un phénomène continu et régulé, qui ne participe que faiblement au pool d'AB circulants. La quantité d'AB sécrétée dans le duodénum au moment du repas est de 5 mmol/h, alors que la synthèse *de novo* des AB n'est que de 0,02 mmol/h.⁹ 90% des AB secondaires sont réabsorbés activement dans l'iléon. Les AB transitent via le système porte, en grande majorité lié à l'albumine plasmatique jusqu'au foie. Entre 60 et 90% des AB sont réabsorbés lors du premier passage hépatique. Seulement 0,5 g d'AB métabolisés sont excrétés dans les selles chaque jour.¹⁰

1.3.3. La régulation de la synthèse des acides biliaires.

L'action du CYP7A1 est l'étape limitante de la voie classique de la synthèse des AB primaires. La voie alterne ne représentant qu'environ 10% de la production *de novo* d'AB. Les AB régulent négativement la transcription du gène de CYP7A1, pour prévenir la cytotoxicité secondaire à l'accumulation des AB. Ce feed-back négatif est assuré par l'activation directe du récepteur nucléaire *Farnesoid X Receptor* (FXR) par les AB. FXR activé va se fixer à l'hétérodimère *Retinoic X Receptor α* (RXR α). Le dimère FXR/RXR va activer la transcription de *Small Heterodimer Partner* (SHP), qui va inhiber un troisième récepteur nucléaire : *Liver Receptor Homologue-1* (LRH-1), facteur de transcription nécessaire à l'expression du gène de CYP7A1. En inhibant LRH-1 par l'intermédiaire de FXR, les AB vont inhiber la transcription de CYP7A1 et donc la voie classique de la synthèse des AB. D'autres voies indépendantes de FXR-SHP régulent également négativement la synthèse des AB. L'activation de *Pregnant X Receptor* (PXR) réduit l'interaction entre *Hepatocyte Nuclear Factor-4 α* (HNF4 α) et *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Coactivator 1 α* (PGC-1 α), ce qui va inhiber CYP7A1. *Vitamin D Receptor* (VDR) en inhibant *Liver X Receptor* (LXR) et en interagissant avec HNF4 α , inhibe la synthèse des AB. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α* (PPAR α) régule également négativement CYP7A1 en inhibant HNF4 α . Les AB par l'activation de la *C-jun-N-terminal Kinase* (JNK) par le complexe TNF α /TNF-Receptor inhibent CYP7A1.^{11,12} L'augmentation de la synthèse des AB est régulée par l'accumulation du cholestérol, via le récepteur nucléaire LXR.^{10,12,13}

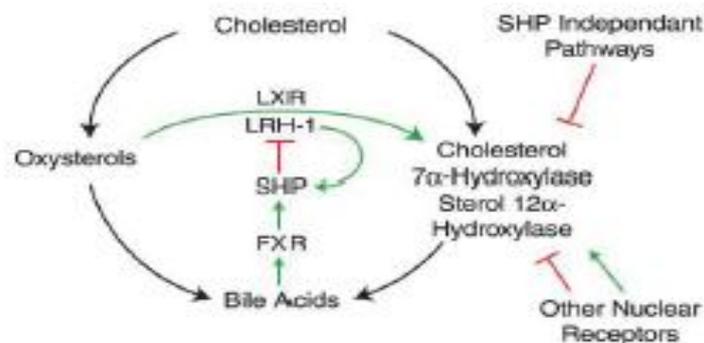


Figure n°3 : Régulation de la synthèse des AB par les récepteurs nucléaires
Flèches noires conversion du cholestérol en acides biliaires, flèches vertes : régulation positive, barres rouges : régulation négative (Selon Russell, David W. *The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis* 2003)

1.4. Les transporteurs impliqués dans la sécrétion biliaire.

Des transporteurs sont nécessaires au passage des AB au travers des membranes cellulaires. Le rôle de ces transporteurs a fait l'objet de plusieurs mises au point.¹⁴⁻²⁰

1.4.1. Au niveau de l'hépatocyte.

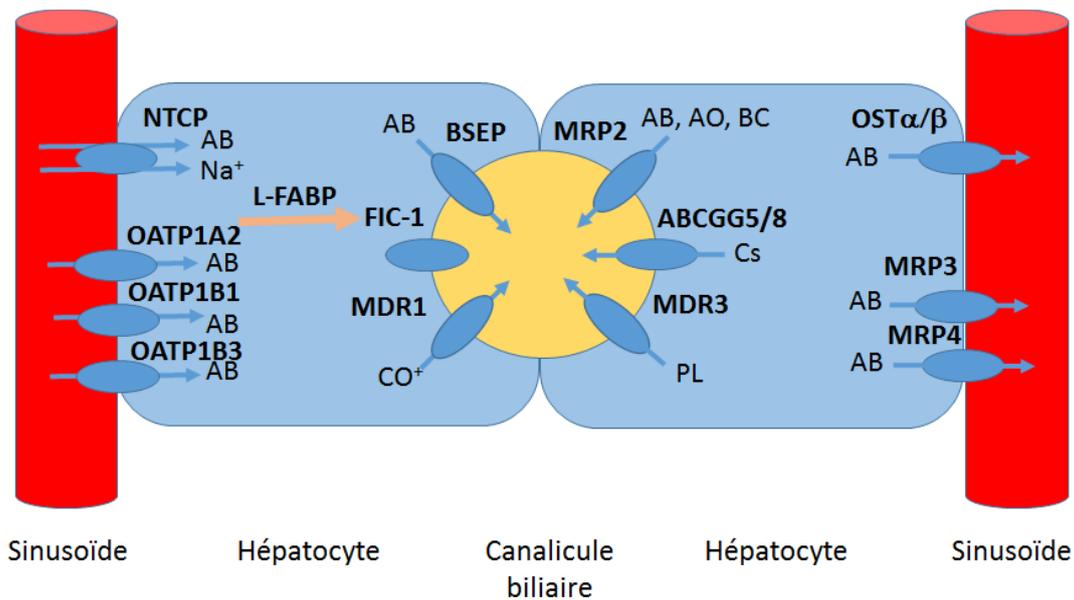


Figure n°4 : principaux transporteurs de l'hépatocyte

1.4.1.1. Au pôle sinusoïdal.

Le transport des AB au pôle sinusoïdal est soit sodium-dépendant, soit sodium-indépendant. Les transporteurs *Organic anion transporter* (OATP) et *Na+ Taurocholate Co-transporting polypeptide* (NTCP) sont des membres de la famille des *solute carriers* (SLC).

1.4.1.1.1. Na⁺ Taurocholate Co-transporting polypeptide

Le transporteur *Na⁺ Taurocholate Co-transporting polypeptide* (NTCP) est codé par le gène SLC10A1, situé sur le chromosome 14q24. C'est une glycoprotéine membranaire de 349 acides aminés ayant une masse moléculaire de 51kDa. Ce transporteur, spécifique du pôle sinusoidal de l'hépatocyte, utilise le gradient sodique pour faciliter l'entrée des AB. Deux ions sodium sont nécessaires à l'entrée d'une molécule. Le gradient sodique est maintenu grâce à une pompe Na⁺/K⁺ ATPase. Près de 75% des AB conjugués sont internalisés dans l'hépatocyte via NTCP, et moins de la moitié des AB non-conjugués sont transportés par NTCP. Il est le principal responsable de la faible concentration sérique des AB. Ses principaux substrats sont les AB, mais il peut transporter d'autres substances telles que les œstrogènes conjugués, les hormones thyroïdiennes, et certains médicaments (estrone-3-sulfate, HMG-CoA-reductase-inhibitor). Ce transporteur est régulé par les cytokines inflammatoires (TNF α , IL-1, IL-6), les hormones (œstrogènes, et hormones thyroïdiennes), et certains médicaments comme les statines. Les AB induisent un feed-back négatif sur la transcription de ce transporteur, par des mécanismes FXR-dépendants et des mécanismes FXR-indépendants. La régulation de NTCP est complexe. NTCP est activé entre autre par le dimère *Retinoic acid Receptor/Retinoic X Receptor* (RAR/RXR). Les mécanismes FXR-dépendants induisent une inhibition de HNF4 α , de HNF1 α et de *Glucocorticoid Receptor* (GR) via SHP ; tout ceci induisant une diminution de la transcription de NTCP.²⁰ SHP induit également une diminution de la liaison entre RAR/RXR et diminue par cette autre voie, la transcription de NTCP.²¹ La voie de régulation FXR-indépendante n'est pas encore clairement définie. Les AB activent la voie JNK, qui induit une inhibition de l'expression de NTCP.²¹ D'autres voies de régulation post-transcriptionnelles régulent également NTCP. Cette régulation post-transcriptionnelle permet la mobilisation rapide des transporteurs de la membrane cellulaire vers des vésicules cytoplasmiques, et inversement. La *Cyclic Adénosine Monophosphate* (AMPc) augmente le taux de calcium intra-cellulaire ce qui activerait la *Protein Phosphatase 2B* (PP2B) et induirait une augmentation de l'expression de NTCP au pôle apical de l'hépatocyte. *Phosphoinositol-3-Phosphate* (PI₃K), molécule nécessaire à la migration de NTCP des vésicules intracellulaire à la membrane basale, est également une voie de régulation post-transcriptionnelle de NTCP.

1.4.1.1.2. Organic anion transporters.

Les *Organic anion transporters* (OATPs) sont des protéines de 642 à 722 acides aminés. Ce sont des transporteurs indépendants du transport sodique.²¹ Les protéines OATP transportent un large spectre de molécules parmi lesquelles les AB, principalement les non-conjugués, mais aussi des anions et des cations organiques, de la bilirubine, des substances xénobiotiques, certains médicaments, des stéroïdes et des hormones thyroïdiennes. Ceux-ci sont présents dans de nombreux tissus dont le rein, la barrière hémato-encéphalique, l'intestin, le poumon et le placenta. Quatre transporteurs OATPs ont été caractérisés au pôle sinusoidal de l'hépatocyte : OATP1A2, OATP1B1, OATP1B3, et OATP2B1. Ces transporteurs sont significativement moins nombreux que les transporteurs sodium-dépendants. Ils ne représentent qu'une faible partie du transport des AB au pôle sinusoidal.²²

Le transporteur OATP1A2, anciennement OATP-A, codé par *SLCO1A2*, est une glycoprotéine de 670 acides aminés, ayant une masse moléculaire de 85 kDa. C'est un transporteur non spécifique du foie retrouvé dans de nombreux tissus. Il permet le transport des AB, mais également des stéroïdes conjugués, des hormones thyroïdiennes, des prostaglandines, et de médicaments. OATP1A2 est présent en très faible quantité dans l'hépatocyte, et ne semble donc pas jouer un rôle important dans le transport des AB. Au cours de la cholestase, la transcription et la post-transcription sont inhibées, ce qui induit une diminution de l'activité du transporteur OATP1A2²².

Le transporteur OATP1B1, anciennement OATP-C, codé par *SLCO1B1*, est une glycoprotéine de 691 acides aminés, ayant une masse moléculaire de 84 kDa. Elle est uniquement retrouvée sur la membrane sinusoidale des hépatocytes. Elle semble jouer un rôle crucial dans la clairance hépatique de composés organiques amphiphiles liée à l'albumine. Cette glycoprotéine permet le passage dans l'hépatocyte des AB conjugués, mais surtout non conjugués, de la bilirubine, des stéroïdes conjugués, des hormones thyroïdiennes et de certains médicaments comme la benzylpenicilline (Pénicilline G) et le méthotrexate²².

Le transporteur OATP1B3, anciennement OATP-8, codé par *SLCO1B3*, est une glycoprotéine de 702 acides aminés, ayant une masse moléculaire de 120 kDa. Ce transporteur prédomine

au niveau hépatique, sans en être spécifique. Il est également exprimé sur certaines cellules cancéreuses d'origine colique, pancréatique, gastrique, pulmonaire et cérébrale. Le gène qui code cette glycoprotéine est similaire à 80% au gène d'OATP1B1. Il permet de transport des AB, de la bilirubine, des stéroïdes conjugués comme le 17 β -glucuronide-oestadiol, et de certains médicaments comme la digoxine, la rifampicine.²²

Le transporteur OATP2B1, anciennement OATP-B, codé par SLC02B1, est une glycoprotéine de 709 acides aminés, ayant une masse moléculaire de 85 kDa. Il est exprimé au pôle sinusoidal des hépatocytes. Il ne transporte pas les AB.²²

OATP1B1 et OATP1B3, sont les deux principaux transporteurs sodium-indépendants des AB au pôle sinusoidal.²³ La cholestase quel qu'en soit sa cause induit une diminution de l'expression de ces transporteurs, pour diminuer l'internalisation des AB et leur action cytotoxique. L'expression de ces deux transporteurs est activée par les facteurs de transcription HNF1 α et HNF4 α .^{24,25} L'activation de FXR induit une diminution de l'activité de ces transporteurs.^{24,25}

1.4.1.1.3. Les autres transporteurs.

D'autres transporteurs permettent le passage des AB de l'hépatocyte vers le sinusoides : l'hétérodimère *Organic Solute Transporter* (OST α/β), et des transporteurs ATP-dépendants *Multidrug resistance-associated proteins* (MRP3 et MRP4). Leur expression est très faible chez le sujet sain, et est augmentée au cours de la cholestase. Ces transporteurs permettent de diminuer la concentration intracellulaire en AB, lors de la cholestase.

Organic Solute Transporter (OST α/β) est un hétérodimère protéique composé de deux différentes sous-unités : OST α (340 acides aminés) et OST β (128 acides aminés), codées respectivement par SCL51A et SCL51B. Cet hétérodimère est retrouvé au pôle basolatéral des hépatocytes, des cholangiocytes, des entérocytes, et des cellules tubulaires proximales rénales. Il s'agit d'un transporteur non spécifique, qui permet le passage des AB, des stéroïdes endogènes et exogènes, des écosanoïdes, des prostaglandines E2, et de la digoxine. Son rôle est de faciliter la diffusion d'une substance au travers de la membrane

basolatérale. Son action n'est pas médiée par un gradient énergétique, ni par le pH ou la concentration électrolytique.²⁷ Lors de la cholestase, son rôle au niveau hépatique est l'externalisation des AB vers le sang, pour dans un second temps induire une élimination urinaire. Ce transporteur est régulé positivement par FXR.²⁸

Multidrug resistance-associated protein 3 (MRP3), codée par ABCC3, est une protéine de 1527 acides aminés, localisée au pôle sinusoidal de l'hépatocyte, et sur la membrane du cholangiocyte, de l'entérocyte et des cellules rénales.^{29,30} MRP3 permet le transport du glutathion, de composé endogène ou exogène, et des AB conjugués. Au cours de la cholestase, l'expression de MRP3 est augmentée, via l'activation des récepteurs nucléaires *Constitutive Androstane Receptor* (CAR), VDR, PPAR α et PXR augmentant la concentration sanguine des AB.³¹

Multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4), codée par ABCC4, est une protéine de 1325 acides aminés, située dans de nombreux organes dont le cerveau, le rein, les testicules, les ovaires, les surrénales, et au pôle sinusoidal de l'hépatocyte. Ce transporteur permet l'externalisation de l'hépatocyte vers le secteur vasculaire des AB associés à un glutathion réduit.³² Son expression est augmentée au cours de la cholestase, via une activation des récepteurs nucléaires CAR, PXR et PPAR α .

1.4.1.2. Dans le cytoplasme.

La diffusion des AB sous forme libre dans le cytoplasme n'est pas possible. Les AB sont donc transportés par des protéines d'un pôle à l'autre de l'hépatocyte. Il semblerait que la *Liver Fatty Acid Binding Protein* (L-FABP) soit la protéine de transport des AB, mais les données dans la littérature sont insuffisantes pour confirmer cette hypothèse.³³

1.4.1.3. Au pôle canaliculaire.

Au pôle canaliculaire de l'hépatocyte, les transporteurs sont des transporteurs ATP-dépendants. Ils permettent l'externalisation des AB, des phospholipides, du cholestérol, de la bilirubine et des xénobiotiques. Ces transporteurs appartiennent à la famille des *ATP Binding Cassette* (ABC).

1.4.1.3.1. Bile salt export pump.

Bile salt export pump (BSEP) est codée par le gène ABCB11 localisé sur le chromosome 2q24. C'est une protéine de 1321 acides aminés, dont la masse moléculaire est de 160kDa. BSEP est quasi exclusivement exprimée à la membrane apicale de l'hépatocyte. Il est le principal transporteur des AB au niveau des microvillosités canaliculaires. Sa demi-vie sur cette membrane est de 4 à 6 jours.^{34,35} Ce transporteur a comme principal substrat les AB conjugués, et il ne transporte que très peu les AB non conjugués.⁸ Ce transporteur présente une affinité pour son substrat dans cet ordre : tauro-chenodesoxycholate ou tauro-cholate > tauro-deoxycholate > tauro-ursodesoxycholate > glyco-cholate. Il semblerait que BSEP soit également un transporteur de la pravastatine. Et il semble que la pravastatine induise une augmentation de l'expression de BSEP.^{7,14,18,34} Une altération de la fonction de BSEP peut altérer directement ou indirectement la régénération hépatique, l'hémostase glucidique, favorise l'athérosclérose, et la carcinogénèse.⁸ Au cours de la cholestase, les AB induisent une augmentation de l'expression de BSEP, via l'activation des récepteurs nucléaires FXR, PXR, et GR. Il existe également une régulation post-transcriptionnelle, qui permet une régulation fine. L'AMPC, P₃K, P³⁸-*Mitogen-Activated Protein Kinase* (P³⁸MAPK) et *Protein Kinase C* (PKC) sont les voies de régulation post-transcriptionnelle permettant d'augmenter l'expression de BSEP sur la membrane canaliculaire.^{17,35} L'œstradiol, l'inflammation, l'hypoxie et l'acide lithocholique induisent une diminution de l'expression membranaire, par internalisation des transporteurs et donc une diminution de l'excrétion canaliculaire des AB.³⁵

Le déficit en BSEP, secondaire à une mutation du gène ABCB11 est responsable de :

- La cholestase intrahépatique familiale progressive de type 2
- La cholestase intrahépatique récurrente bénigne de type 2

La cholestase intrahépatique familiale progressive de type 2 (PFIC-2), est une maladie rare, qui survient en cas de mutation à l'état homozygote* d'ABCB11. La PFIC-2 est caractérisée par une cholestase sévère pouvant conduire à l'insuffisance hépatocellulaire. Les patients atteints de PFIC-2 sont exposés au risque de cancer hépatocellulaire et de cholangiocarcinome.⁸ Au niveau histologique, il existe une cholestase associée à une hépatite à cellules géantes sans réaction ductulaire. Les lésions de nécrose hépatocytaire et d'inflammation lobulaire sont souvent marquées. Une trentaine de mutations ont été retrouvées dans la PFIC-2. Deux semblent plus fréquentes en Europe : E297G (remplacement d'un glutamate par une glycine en position 297) et D482G (remplacement d'un aspartate par une glycine en position 482). D482G est la mutation faux-sens* la plus fréquente.³⁵ Les mutations génétiques induisent une diminution de l'activité de BSEP.

La cholestase intrahépatique récurrente bénigne de type 2 (CRB de type 2) correspond à une forme atténuée de la PFIC-2. Elle évolue par poussées parfois intenses mais le bilan hépatique se normalise toujours en quelques semaines voire quelques mois.¹⁷ Les mutations prédominantes dans la CRB type 2 sont A570T (remplacement d'une alanine par une thréonine en position 507), et R1050C (remplacement d'une arginine par une cystéine en position 1050).^{8,35}

La corrélation génotype-phénotype n'est pas encore clairement définie dans ces pathologies. La distinction entre les maladies semble être basée sur le degré d'expression de BSEP à la surface membranaire.³⁶ Il semble que la PFIC-2 corresponde plus à des mutations non-sens*, des insertions*, ou des délétions* de nucléotides. Les mutations faux-sens peuvent être associées à la PFIC, si elles touchent un domaine fonctionnel de la protéine. Pour la CRB de type 2, les mutations faux-sens prédominent, mais ces mutations ne semblent pas ou peu toucher un domaine fonctionnel de la protéine.³⁷

1.4.1.3.2. Multidrug resistance protein-1.

Multidrug resistance protein-1 (MDR1), codée par ABCB1, est une glycoprotéine ayant une masse moléculaire de 160 kDa, située au pôle canaliculaire des hépatocytes et des

cholangiocytes, permet le passage des cations organiques dont des substances xénobiotiques et de nombreux médicaments tels que la colchicine, la doxorubicine, le tamoxifène, et le tacrolimus. Il semble jouer un rôle dans les cholestases induites par des médicaments. L'expression de ce transporteur est régulée par PXR.

1.4.1.3.3. Multidrug resistance protein-3.

Multidrug resistance protein-3 (MDR3), codée par le gène ABCB4 situé sur le chromosome 7q21, est une protéine de 1286 acides aminés, ayant une masse moléculaire de 150 kDa. C'est une translocase/flippase de la phosphatidylcholine dont l'activité est dépendante de l'ATP et du magnésium. Il assure le transport des phospholipides. Une baisse du taux de phospholipides induit une modification de la composition de la bile, avec une majoration de la proportion de micelles simples. Ces derniers ont une toxicité directe sur les membranes canaliculaires des hépatocytes et des cholangiocytes. Le transporteur MDR3 a donc un rôle de protection du pôle apical des hépatocytes et des cholangiocytes. La diminution de la concentration biliaire en phosphatidylcholine peut induire également une précipitation du cholestérol et favoriser la lithiase cholestérolique.³⁸ Les AB via FXR et LXR induisent une augmentation de MDR3 par activation transcriptionnelle. AB induit aussi une activation post-transcriptionnelle via PPAR α , PKC, et PI $_3$ K. L'activation de la *HMG-CoA reductase* induit une inhibition de l'expression de MDR3.⁹

Les mutations du gène ABCB4 sont associées à plusieurs maladies ou syndromes :

- La cholestase intrahépatique familiale progressive de type 3
- Le low phospholipid associated cholelithiasis syndrome
- La cholestase intrahépatique gravidique

La cholestase intrahépatique familiale progressive de type 3 (PFIC-3) est caractérisée par un taux de GGT élevé et survient plus tardivement que la PFIC de type 1 et de type 2. Histologiquement, il y a une importante réaction ductulaire, évoluant vers la cirrhose biliaire. Au moins 30 mutations de MDR3 ont été objectivées dans la PFIC-3. Ces mutations ont été caractérisées sur les deux allèles dans la plupart des cas. Dans un tiers des cas, ces mutations donnent naissance à des protéines tronquées, non fonctionnelles. Dans les autres cas, la

mutation est une mutation faux-sens, associée à une diminution du taux de protéine MDR3 sur la membrane canaliculaire.³⁷

Le *low phospholipid associated cholelithiasis* (LPAC) syndrome a été défini initialement par au moins deux de ces trois critères : des douleurs de types biliaires débutant avant 40 ans, la récurrence des symptômes après cholécystectomie, des images en queue de comète à l'échographie. Dans environ la moitié des cas il existe une mutation hétérozygote* du gène ABCB4.³⁸

Des mutations hétérozygotes du gène ABCB4 ont été observées chez des malades présentant des hépatites médicamenteuses, des cirrhoses biliaires, et des cholestases inexplicables.³⁸

1.4.1.3.4. Multidrug resistance-associated protein-2.

Multidrug resistance-associated protein-2 (MRP2) est une protéine codée par le gène ABCC2 situé sur le chromosome 10q24. C'est un transporteur d'anion organique multispécifique, pouvant transporter un grand nombre de substrats dont la bilirubine, le glutathion, et les AB sulfoconjugués ou glucuronoconjugués. L'expression de MRP2 est régulée par FXR, CAR, et PXR.

Une mutation du gène ABCC2 est liée au syndrome de Dubin-Johnson, caractérisé par un ictère sans prurit, une hyperbilirubinémie à prédominance conjuguée chronique ou intermittente. Histologiquement il s'agit d'une accumulation d'un pigment intralysosomal proche des lipofuscines au pôle canaliculaire de l'hépatocyte et dans les zones centrolobulaires.

1.4.1.3.5. ATP-binding cassette, sub-family G, members 5 and 8.

ATP-binding cassette, sub-family G, members 5 and 8 (ABCG5/ABCG8), est un hétérodimère permettant la sécrétion biliaire du cholestérol. En cas de déficit en ABCG5/ABCG8, il y a une diminution de l'excrétion biliaire en cholestérol, et une augmentation de l'absorption intestinale en stérol*. Ces transporteurs sont régulés par LXR et FXR, qui favorisent

l'élimination du systostérol au niveau des entérocytes et l'augmentation de l'excrétion biliaire du cholestérol. Le déficit en LXR est responsable d'une accumulation de cholestérol dans les hépatocytes, entraînant des lésions de stéatose et de fibrose, qui peuvent évoluer vers la cirrhose.

1.4.1.3.6. Familial intrahepatic cholestasis-1.

Familial intrahepatic cholestasis-1 (FIC-1), est une protéine codée par le gène ATP8B1 située sur le chromosome 18q21-22. Cette protéine est localisée au pôle apical de l'hépatocyte et du cholangiocyte, mais aussi à une plus forte concentration au niveau de l'intestin grêle. Il s'agit d'une P-type ATPase, ayant un rôle de flippase pour les phospholipides, permettant le passage de la phosphatidylsérine du feuillet externe au feuillet interne de la membrane plasmique. Cette asymétrie membranaire pour la phosphatidylsérine induit une protection contre la toxicité des AB, et semble également indispensable au bon fonctionnement des transporteurs canaliculaires.³⁹ L'absence de FIC-1 induirait une désorganisation des micro-domaines lipidiques de la membrane apicale de l'hépatocyte et empêcherait l'activité de certaines protéines comme BSEP.⁴⁰

Le déficit en FIC-1 est associé à :

- La cholestase intrahépatique familiale progressive de type 1
- La cholestase intrahépatique récurrente bénigne de type 1

La maladie de Byler ou Cholestase intrahepatique familiale progressive de type 1 (PFIC-1), est secondaire au déficit en FIC-1, caractérisée par une cholestase associée à un prurit et avec un taux de GGT normal. Il peut s'y associer une diarrhée aqueuse, une pancréatite, et une surdité.⁴⁰ Histologiquement, il y a une cholestase centrolobulaire à prédominance canaliculaire, évoluant vers la fibrose, mais sans réaction ductulaire. Lors de la PFIC-1, il a été trouvé une diminution de l'activité de FXR.⁴¹ La modification de l'asymétrie membranaire des phospholipides serait responsable d'une modification de l'excrétion biliaire du cholestérol et de l'activité de BSEP.³⁹

La Cholestase intrahépatique récurrente bénigne de type 1 (CRB de type 1) est une forme bénigne et atténuée de la PFIC-1, secondaire à une mutation du gène de ATP8B1.³⁷

1.4.2. Au niveau du cholangiocyte.

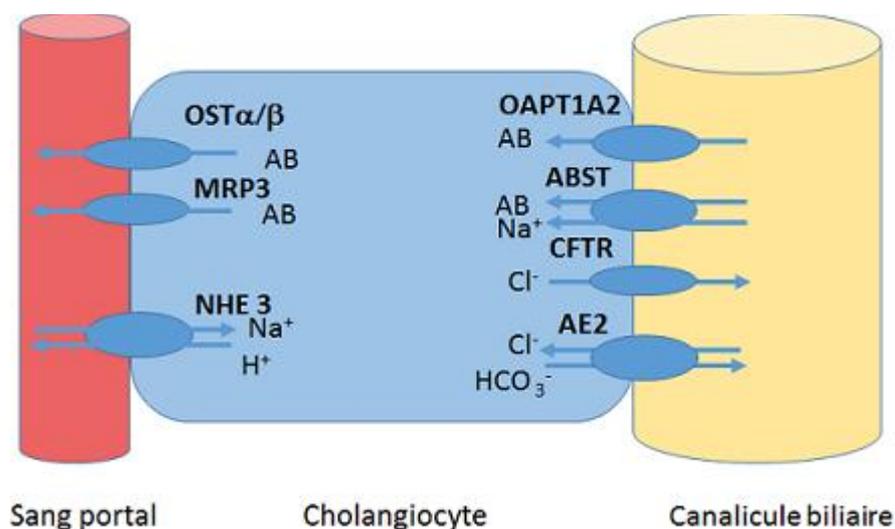


Figure n°5 : principaux transporteurs du cholangiocyte.

Les transports, présents sur la membrane du cholangiocyte, permettent de réguler le volume et la composition de la bile, par l'absorption ou la sécrétion d'électrolytes et de protéines glycosylées. Sur la membrane luminale, on retrouve principalement des transporteurs impliqués dans la sécrétion et réabsorption d'électrolytes :

- *Anion Exchanger 2*
- *Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*

Anion Exchanger 2 (AE2) est un transporteur permettant l'entrée de chlore dans le cholangiocyte et la sortie de bicarbonate. Il est présent au pôle canaliculaire de l'hépatocyte et du cholangiocyte. Ce transporteur régule donc le pH intracellulaire et l'excrétion biliaire du bicarbonate. L'AUDC et les corticoïdes stimulent, via HNF1 α et GR, la transcription et donc l'expression d'AE2.

Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR) appartient à la famille des *ATP Binding Cassette*. C'est un canal chlore AMP-c dépendant permettant la sortie d'ion chlore dans la lumière de la voie biliaire. CFTR facilite l'échange chlore/bicarbonate d'AE2. Le déficit

en CFTR est responsable de la mucoviscidose. En cas de mutation du gène codant CFTR, on observe des anomalies de l'arbre biliaire à type d'inflammation et de fibrose.

L'échangeur Na^+/H^+ (NHE 3) codé par SLC9A3, facilite la sortie d'ion hydrogène, en internalisant un ion sodium. Le gradient sodique est maintenu par une pompe Na^+/K^+ ATPase au pôle basolatérale. L'entrée d'ions chlore et sodium dans le cholangiocyte induit une absorption d'eau secondaire à l'augmentation de l'osmolarité. L'action de ces transporteurs permet donc une concentration et une alcalinisation de la bile.

Des transporteurs des AB sont présents dans le cholangiocyte permettant un cycle cholé-hépatique. ABST et OAPT1A2 sont présents au pôle apical, dans des proportions bien moindres qu'au niveau de l'entérocyte, il en va de même au pôle basolatéral pour les transporteurs $\text{OST}\alpha/\beta$ et MRP3.

1.4.3. Au niveau de l'entérocyte.

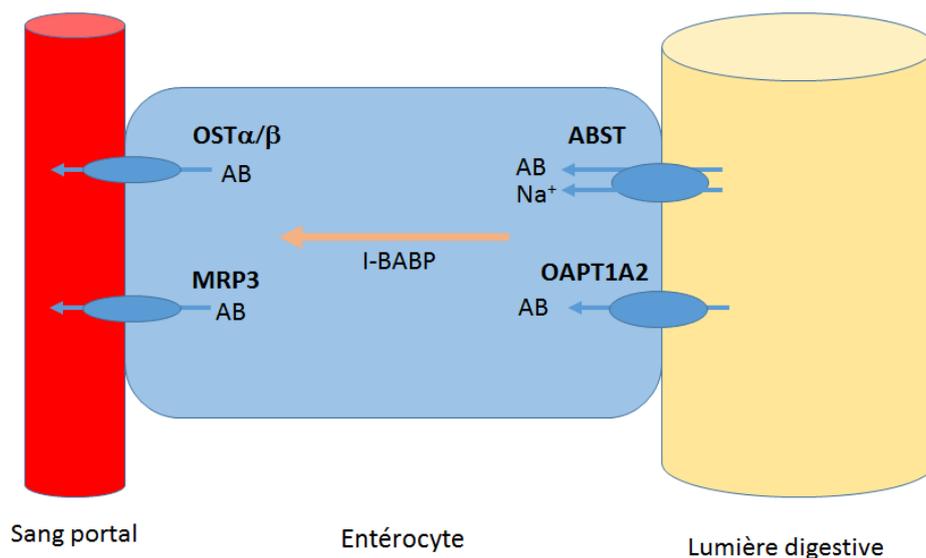


Figure n°6 : principaux transporteurs de l'entérocyte.

La majeure partie des AB est réabsorbée au niveau iléal, via un transporteur sodium-dépendant. Il existe également un transporteur sodium-indépendant, retrouvé principalement au niveau jéjunal. Une diffusion passive des AB non conjugués est possible

dans l'intestin grêle et le colon. La réabsorption secondaire à cette diffusion représente une très faible quantité des AB réabsorbés.

1.4.3.1. Au pôle apical.

1.4.3.1.1. Apical sodium-dependent bile salt transporter.

Apical sodium-dépendent bile salt transporter (ASBT) est un membre de la famille des SLC codé par le gène SLC10A2, situé sur le chromosome 13q33.⁴² C'est une glycoprotéine, de 348 acides aminés, située sur la bordure en brosse de la membrane apicale des entérocytes iléaux, des cellules tubulaires proximales rénales, et des cholangiocytes. C'est un transporteur sodium-dépendant, le gradient sodique étant maintenu dans l'entérocyte par une pompe Na⁺/K⁺ATPase située sur la membrane basolatérale. Ses substrats sont les AB, et principalement les AB non conjugués. Ce transporteur permet donc l'internalisation des AB de la lumière digestive dans l'entérocyte. Il est responsable de la réabsorption de la majeure partie des AB conjugués. Il est présent au niveau digestif quasiment exclusivement dans l'iléon.

Des mutations du gène SLC10A2, ont été objectivées dans certaines maladies comme le syndrome de malabsorption idiopathique des AB, la diarrhée post-cholécystectomie, et la maladie de Crohn. Un déficit d'expression d'ABST induit une diminution de l'expression du transporteur basolatéral OST α/β au niveau iléal, et induit une activation de la synthèse des AB *de novo* pour maintenir l'homéostasie biliaire. L'expression d'ABST est principalement iléale, sa transcription étant inhibée à la partie proximale de l'intestin grêle.⁴³ Le récepteur nucléaire LRH-1 via RAR α est indispensable à l'expression d'ABST. Il existe deux voies de régulation, une voie dépendante de FXR et une voie indépendante de FXR. Les AB induisent une régulation négative via le dimère FXR/SHP, qui vient inhiber RAR α et donc diminue la transcription d'ABST. La régulation FXR-dépendante a donc pour mécanisme d'action la voie RAR/RXR.⁴⁴⁻⁴⁶ La voie de régulation indépendante de FXR implique l'*Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) et le *Mitogen-activated protein Extracellular signal regulated Kinase*. Une voie paracrine semble exister ; l'accumulation des AB induit une activation de FXR qui active le *Fibroblast Growth Factor 19* (FGF19), induisant une inhibition de la dégradation de

SHP, qui va induire une inhibition de RAR α , et donc diminuer la transcription d'ABST. Les récepteurs nucléaires PPAR α et VDR semblent activer la transcription d'ABST.^{42,47,48}

1.4.3.1.2. Organic anion transporter 1A2.

Organic anion transporter 1A2 (OATP1A2), glycoprotéine de 670 acides aminés, est un transporteur retrouvé dans de nombreux tissus dont la bordure en brosse de la membrane apicale de l'entérocyte. Il permet le transport des AB, mais également des stéroïdes conjugués, et de certains médicaments. Il s'agit d'un transporteur échangeur d'anion sodique indépendant, retrouvé principalement au niveau jéjunal. Son expression au niveau intestinal est très faible comparativement à ABST. Les récepteurs nucléaires VDR et PXR semblent induire une augmentation de son expression, et FXR induirait une diminution de son expression.⁴⁹

1.4.3.2. Dans le cytoplasme.

Les AB ne diffusent pas librement dans le cytoplasme de l'entérocyte. L'*Ileal bile acid-binding protein* (I-BABP), principalement présent au niveau iléal, pourrait être le transporteur des AB dans le cytoplasme de l'entérocyte.^{33,50}

1.4.3.3. Au pôle basolatéral.

1.4.3.3.1. Organic solute transporter α/β .

Organic solute transporter α/β (OST α/β) est un hétérodimère protéique composé de deux sous-unités : OST α (340 acides aminés) et OST β (128 acides aminés). Cet hétérodimère est retrouvé au pôle basolatéral des entérocytes. Il est très fortement exprimé au niveau iléal, où la réabsorption des AB est maximale. Son rôle est l'externalisation des AB vers le sang portal. Ce transporteur semble avoir une plus grande affinité pour AB tauroconjugués que pour les AB glycoconjugués.²⁷

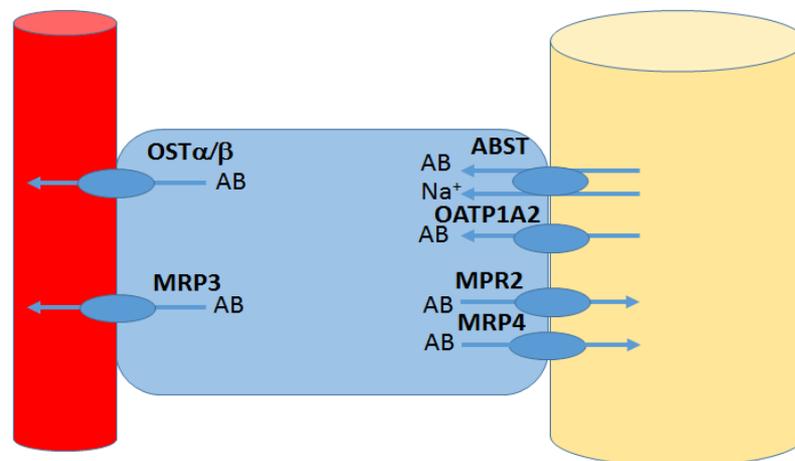
L'activation de FXR induit une augmentation de la transcription puis de l'expression d'OST α/β .²⁸ Un déficit en OST α/β au pôle basolatéral de l'entérocyte induit une

augmentation de la synthèse de FGF19 qui va induire une inhibition de la synthèse des AB par inhibition de CYP7A1 et de CYP8B1.⁵¹

1.4.3.3.2. Multidrug resistance-associated protein-3.

Multidrug resistance-associated protein-3 (MRP3) est également retrouvée au pôle basolatéral de l'entérocyte.⁵² Il permet le transport des AB conjugués. Son mode d'action et sa régulation sont similaires à ceux décrits au pôle basolatéral de l'hépatocyte.

1.4.4. Au niveau de la cellule tubulaire proximale rénale.



Branche de la veine rénale Cellule rénale tubulaire Tubule contournée proximale

Figure n°7 : principaux transporteurs de la cellule rénale tubulaire proximale.

Les AB sont filtrés par le glomérule, et une grande partie est réabsorbée au niveau des cellules tubulaires proximales rénales. Le rein filtre en moyen 100 μmol d'AB par jour, et seulement 1 à 2 μmol sont excrétés dans les urines.

L'excrétion rénale des AB conjugués se majore en cas de cholestase, par l'augmentation de la filtration passive glomérulaire, par l'augmentation de l'excrétion active tubulaire, et par la diminution de la réabsorption tubulaire.⁵³

1.4.4.1. Au pôle apical.

Le pôle apical correspond à la bordure en brosse luminale de la cellule. Les transporteurs présents à ce niveau, permettent la réabsorption et l'excrétion des AB. Les transporteurs ABST et OATP1A2 permettent la réabsorption des AB. L'expression d'OATP1A2 au niveau rénal est faible comparativement à ABST. Les transporteurs MRP2 et MRP4 permettent l'excrétion des AB. L'expression de ces derniers est augmentée en cas de cholestase.

1.4.4.2. Au pôle basolatéral.

OST α/β et MRP3 sont présents au pôle basolatéral des cellules tubulaires proximales et assurent le transport des AB de la cellule rénale vers la circulation sanguine. En cas de cholestase l'expression d'OST α/β est augmentée via l'activation de FXR, et l'expression de MRP3 est augmentée via l'activation de PXR et CAR.

1.4.5. Au niveau du placenta.

Dès la douzième semaine de gestation, le foie du fœtus est capable de synthétiser des AB primaires.⁵³ L'excrétion des AB primaires se fait majoritairement dans le sang maternel via le placenta, et accessoirement via le rein dans le liquide amniotique. Des AB secondaires sont présents dans la circulation fœtale, ce qui prouve le passage des AB de la mère au fœtus à l'état physiologique. En effet, leur synthèse nécessite un cycle entéro-hépatique, qui n'est pas fonctionnel chez le fœtus en raison de l'absence de bactérie dans la lumière du tube digestif. La concentration en AB secondaires est plus faible dans le sérum fœtal que dans le sérum maternel.⁵⁴ Le foie fœtal peut métaboliser les AB primaires et secondaires par hydroxylation grâce aux enzymes CYP3A4 et CYP3A7.⁵⁵ Le placenta peut métaboliser les AB, par les mêmes enzymes.⁵³ La glucuronoconjugaison et la sulfoconjugaison ont également lieu dans le placenta, dans le but d'augmenter la solubilité des AB, pour favoriser leur excrétion dans le sang maternel.⁵⁵

Le passage transplacentaire est un mécanisme complexe faisant intervenir de nombreux transporteurs, dont les rôles ne sont pas clairement définis. Au pôle fœtal, le passage de l'AB

du fœtus vers le trophoblaste semble se faire principalement via des transporteurs de type OATP. Au pôle maternel, le passage des AB se fait via des canaux ATP-dépendants et ATP-indépendants.^{54,56} Les transporteurs OATP sont présents aux deux pôles du placenta.⁵⁷ Ils sont présents à de très faibles concentrations à l'état physiologique. Au pôle maternel, ils pourraient correspondre aux canaux ATP-indépendants.^{53,54} Entre le 1^{er} et le 3^{ème} trimestre de grossesse, l'expression de ces transporteurs diminue⁵⁸. Les principaux transporteurs OATP retrouvés dans le placenta sont OATP1A2, OATP2B1, OATP1B3, et OATP4A1. Le transporteur OATP4A1, dont un des substrats sont les AB, est fortement exprimé au pôle maternel du placenta.⁵⁹ Le transporteur OST α/β est retrouvé au pôle maternel du placenta et semble favoriser le passage des AB du trophoblaste vers le sang maternel.⁵⁹

Les transporteurs actifs ATP-dépendants sont représentés par les membres de la famille des ABC. Ils permettent le passage de substance exogène, mais aussi endogène comme les AB, les dérivés des stérols, et les lipides. MDR1, MDR3, BSEP, MRP1, MRP2, MRP3 et FIC-1 sont présents dans le placenta.⁶⁰

L'expression des transporteurs MDR3 et MDR1 diminue au cours de la différenciation du trophoblaste. Le transporteur MDR1 est fortement exprimé dans le trophoblaste et semble jouer un rôle de protecteur envers les substances xénobiotiques au moment où le fœtus est le plus vulnérable, c'est-à-dire en début de grossesse.^{53,59}

Le transporteur BSEP est exprimé très faiblement dans le placenta au 1^{er} trimestre et est quasi indétectable au 3^{ème} trimestre. Il ne semble donc pas jouer un rôle important dans le transport ATP-dépendant des AB au pôle apical du trophoblaste.⁶¹

L'expression de FIC-1 baisse entre le 1^{er} et le 3^{ème} trimestre. Il pourrait, comme dans l'hépatocyte, permettre le passage de la phosphatidylsérine du feuillet externe au feuillet interne de la membrane, et ainsi jouer un rôle sur la stabilité de la membrane cellulaire et les insertions des transporteurs sur cette dernière.^{54,60}

Les transporteurs MRP1, MRP2, MRP3 et MRP4 sont présents aux deux pôles du trophoblaste.^{59,60,61} L'expression placentaire de MRP3 et MRP4 est faible, tandis que l'expression de MRP1 est plus importante.⁵³ Ces transporteurs semblent augmenter au cours de la grossesse.⁶⁰

1.5. Les récepteurs nucléaires.

Les récepteurs nucléaires constituent une superfamille de facteurs de transcription. Ces protéines contiennent une partie centrale hautement conservée, de 70 acides aminés, constituant le motif de liaison à l'ADN. La plupart de ces récepteurs résident dans le noyau, et sont liés à des séquences d'ADN situées dans les régions 5' des gènes régulés. Ces récepteurs sont associés à des corépresseurs qui maintiennent l'inactivation du gène. Après la liaison avec le ligand, les récepteurs nucléaires subissent une modification conformationnelle permettant de larguer le corépresseur et de lier une protéine coactivatrice qui permet l'interaction avec le complexe de transcription du gène cible.⁴⁰ Les principaux récepteurs nucléaires impliqués dans l'homéostasie des AB, du cholestérol, et de l'élimination de substances endogènes et exogènes sont :

- *Farnesoid X receptor*
- *Pregnane X receptor*
- *Constitutive androstane receptor*
- *Liver X receptor*
- *Glucocorticoid receptor*
- *Vitamin D receptor*

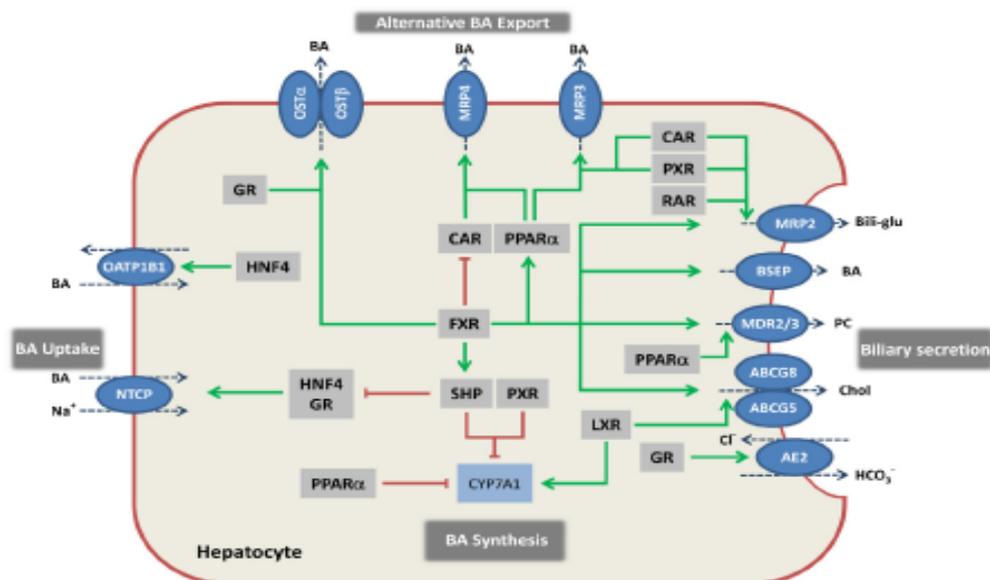


Figure n°8 : Rôles et fonctions des récepteurs nucléaires dans la synthèse et le métabolisme des AB dans l'hépatocyte. (Selon HALILBASIC, Emina, and al. Bile acid transporters and regulatory nuclear receptors in the liver and beyond. Journal of Hepatology, 2012)

1.5.1. Farnesoïd X receptor.

Farnesoïd X receptor est codé par le gène NR1H4 localisé sur le chromosome 12q23.1. Ce récepteur nucléaire est retrouvé dans le foie et les glandes surrénales. Il joue un rôle majeur dans l'homéostasie des AB, mais aussi des triglycérides, du cholestérol, et du glucose. FXR module également la régénération hépatique, la carcinogénèse, la pullulation bactérienne intestinale et l'inflammation. Le ligand physiologique de FXR est l'acide chénodésoxycholique, mais il peut également se lier aux autres AB dans cette ordre : ACDC>ADC>ALC>AC>AUDC.^{8,50} FXR est souvent lié à l'hétérodimère RXR.^{12,40}

1.5.1.1. Rôle dans la régulation de la synthèse des acides biliaires.

Les AB vont activer FXR, qui active secondairement un second récepteur nucléaire dénommé SHP. Ce dernier inhibe LRH-1, facteur de transcription indispensable à la transcription de CYP7A1 et de CYP8B1. Le récepteur nucléaire HNF4 α est un activateur de CYP7A1, CYP8B1, et de CYP27A1. FXR via l'activation SHP peut inhiber HNF4 α . FXR peut donc inhiber les deux voies de synthèse des AB en inhibant LRH-1 et HNF4 α .^{11,50}

FXR active la synthèse de FGF19 au niveau entérocytaire, ce dernier est libéré dans le système porte, puis se fixe à son récepteur *Fibroblast Growth Factor Receptor 4* (FGFR4) sur la membrane basolatérale de l'hépatocyte, ce qui induit une inhibition de la synthèse des AB par inhibition de CYP7A1 et de CYP8B1.^{12,13,50}

1.5.1.2. Rôle dans l'absorption hépatique des acides biliaires.

L'activation de SHP, via FXR par les AB, inhibe les deux voies d'activation de la synthèse du transporteur NTCP : la voie médiée par le GR et la voie médiée par HNF4 α , induisant une baisse de l'expression de NCTP.⁵⁰ En bloquant HNF4 α , FXR inhibe également la synthèse et donc l'expression d'OATP1B1 et d'OATP1B3.¹² L'activation de FXR induit donc l'inhibition des voies sodium-dépendantes et sodium-indépendantes nécessaire à l'internalisation des AB au pôle apical de l'hépatocyte.

1.5.1.3. Rôle dans la détoxification des acides biliaires.

FXR est impliqué dans la régulation de la voie de détoxification des AB. L'activation de FXR induit une augmentation de l'expression du CYP3A4, enzyme permettant l'hydroxylation des AB hydrophobes. FXR induit également une augmentation de l'expression de l'*UDP-glucuronosyltransferase* (UGT2B4) et de la *dehydroepiandrosterone-sulfotransferase* (SULT2A1), enzymes responsables de la glucuronoconjugaison et de la sulfoconjugaison.^{12,50} L'activation de FXR induit une augmentation de la détoxification par augmentation de l'hydroxylation et de la conjugaison des AB.

1.5.1.4. Rôle dans l'externalisation biliaire des acides biliaires.

L'activation des transporteurs biliaires canaliculaires par FXR est une action directe non médiée par SHP, contrairement aux effets inhibiteurs de FXR qui sont le plus souvent médiés par SHP.¹² FXR induit une augmentation du nombre de transporteurs au pôle basolatéral, et au pôle canaliculaire. Au niveau basolatéral, FXR induit une augmentation de l'expression d'OST α/β .¹² Par l'activation de PPAR α , FXR induit une augmentation de l'expression de MRP3 et MRP4.⁵⁰ Au niveau canaliculaire, FXR induit une augmentation de la transcription de la quasi-totalité des transporteurs. L'expression de BSEP, de MRP2, de MDR3, et également d'ABCG5/8 est augmentée via l'activation de FXR.^{8,50} Tout cela induit une augmentation du flux biliaire, par augmentation de l'élimination des AB, mais également du cholestérol, des phospholipides et de la bilirubine pour éviter la formation de calculs intra-canaliculaires, et pour diminuer la proportion de micelles simples excrétés dans la bile.

1.5.1.5. Rôle au niveau iléal.

FXR induit une inhibition de l'expression d'ABST, mais le mécanisme d'action n'est pas élucidé. Les AB activent FXR/SHP, ce dimère viendrait inhiber la régulation positive de RAR/RXR.^{44,50} FXR induit une régulation positive de la protéine de transport intra-entérocytaire I-BABP, facilitant ainsi le transport des AB vers le pôle basolatéral.^{11,50} L'activation de FXR induit également une augmentation de l'expression d'OST α/β , au pôle basolatéral, pour éviter l'accumulation des AB dans les entérocytes.⁵⁰

1.5.1.6. Rôle au niveau placentaire.

Le récepteur nucléaire FXR est également synthétisé par le foie foetal, probablement pour permettre l'assimilation des graisses alimentaires par le nouveau-né dès la naissance.⁵⁵ L'action de FXR sur les transporteurs biliaires au niveau placentaire semble être la même que sur les autres tissus.^{61,63}

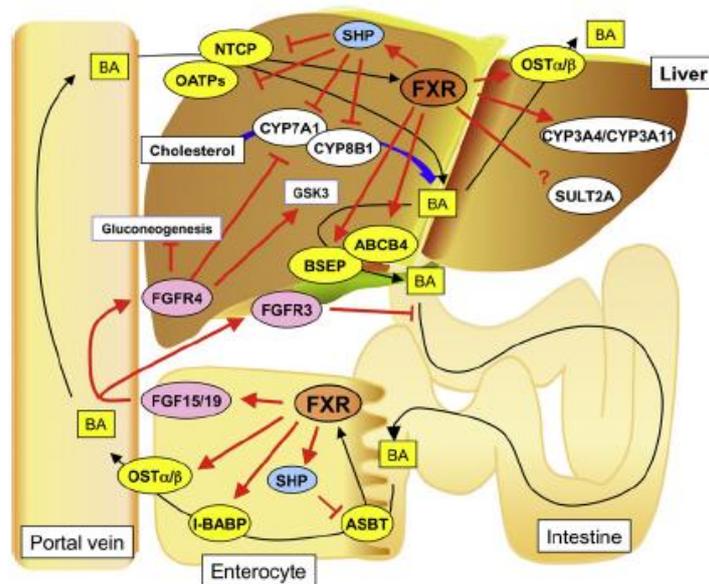


Figure n°9 : Principaux rôles de FXR.

Flèches noires : cycle entérohépatique des AB, flèche bleu : voie de synthèse des AB, flèche rouge : voie d'activation, traits rouges : voie d'inhibition. (MATSUBARA, Tsutomu, and al. FXR signaling in the enterohepatic system. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2013)

1.5.2. Pregnane X receptor.

Pregnane X receptor ou *Steroid and xenobiotic sensing nuclear receptor*, est codée par le gène NR1I2 situé sur le chromosome 3q12-q13.3. C'est une protéine de 434 acides aminés. Son rôle est de réguler l'expression des gènes impliqués dans la détoxification cellulaire, comme celui du cytochrome P450.⁶⁴ Ce récepteur nucléaire est localisé dans le cytoplasme, puis internalisé dans le noyau après la liaison à son ligand. PXR présente de nombreux ligands endobiotiques et xénobiotiques, dont certains qui sont communs avec CAR. L'acide lithocholique est un des ligands de PXR, mais pas de CAR. PXR forme un hétérodimère avec RXR.¹² PXR joue un rôle dans la régulation de la synthèse des AB en inhibant CYP7A1, en réduisant l'interaction entre PCG1 α et HNF4 α .¹¹ PXR inhibe également la synthèse des AB par l'activation de FGF19 au niveau iléal.⁶⁵

Avec CAR et FXR, PXR est un des principaux régulateurs de la détoxification des AB en activant l'hydroxylation via CYP3A4, et en activant la sulfoconjugaison et la glucuronoconjugaison via UGT2B4 et SULT2A1. PXR induit une augmentation de l'expression de MRP2, et de MRP3, permettant ainsi l'élimination des AB détoxifiés. Par ses actions sur la synthèse, la détoxification, et l'excrétion des AB, PXR a donc un rôle protecteur contre la cytotoxicité des AB.²¹

1.5.3. Constitutive androstane receptor.

Constitutive androstane receptor est une protéine de la superfamille des récepteurs nucléaires, codée par le gène NR1I3 situé sur le chromosome 1q23.3. Il agit sous forme d'un hétérodimère CAR/RXR. CAR a pour principale fonction la régulation du métabolisme de la bilirubine et des médicaments.⁴⁰ CAR est un des principaux régulateurs de la détoxification des AB avec PXR et FXR, par l'activation de CYP3A4, d'UGT2B4 et de SULT2A1.⁶⁵ CAR semble être le principal régulateur de la sulfoconjugaison des AB et de l'élimination des AB sulfoconjugués, car CAR régule positivement SULT2A1 et MRP4 (transporteur basolatéral principal des AB sulfoconjugués).²¹ Comme PXR, l'activation de CAR induit une augmentation de l'expression de MRP2 et MRP3.

FXR, PXR, et CAR protègent contre la cytotoxicité induite par l'accumulation des AB.⁶⁶ Leurs modes de régulation sont complémentaires. Dans le modèle expérimental, un déficit de deux de ces trois récepteurs nucléaires quels qu'ils soient, induit une cholestase plus importante et des lésions hépatocytaires plus importantes que lors du déficit d'un seul de ces récepteurs nucléaires.¹²

1.5.4. Liver X receptor.

Liver X receptor est une protéine dont il existe deux isoformes LXR α et LXR β , présentant 80% d'homologie entre elles. Ces deux protéines sont codées respectivement par le gène NR1H3 situé sur le chromosome 11p11.2, et le gène NR1H2 situé sur le chromosome 19q13.6. Elles sont exprimées dans les hépatocytes, les cellules rénales, les entérocytes, les adipocytes, et les macrophages. Son principal rôle est la régulation de l'homéostasie des lipides en général et du cholestérol en particulier. La forme active et fonctionnelle du récepteur LXR est un hétérodimère formé par l'association de LXR et de RXR. Les oxystérols, dérivés oxydés du cholestérol, sont les principaux ligands de LXR. Il existe également d'autres ligands, tel que le glucose, et certains acides gras insaturés. LXR induit une activation de CYP7A1 responsable de la synthèse des AB à partir du cholestérol, pour diminuer la concentration de ce dernier.²¹ LXR régule également d'autres gènes impliqués dans le métabolisme lipidique dont les gènes qui codent pour ABCG5 et ABCG8, qui forment un transporteur hétérodimérique du pôle canaliculaire de l'hépatocyte, responsable de l'excrétion biliaire du cholestérol. L'activation de LXR induit une augmentation de la transcription de ABCG5 et ABCG8 et donc de l'excrétion biliaire du cholestérol.⁶⁷

1.5.5. Glucocorticoïd receptor.

Glucocorticoïd receptor, codée par le gène NR3C1 situé sur le chromosome 5q31, est une protéine de 778 acides aminés. Elle est exprimée de façon ubiquitaire dans l'organisme. Cette protéine est localisée dans le cytoplasme, une fois activée elle est internalisée dans le noyau, puis se dimérise avec un autre récepteur activé, avant de se fixer au niveau du

promoteur des gènes régulés. Le ligand naturel est le cortisol. L'AUDC peut également se lier à GR. GR active la transcription de NTCP au niveau hépatique, mais également la transcription d'ABST au niveau iléal et cholangiocytaire. GR favorise donc l'internalisation des AB dans la cellule. L'activation de GR augmente l'expression d'AE2. GR semble activer la transcription d'OST α/β .²¹

L'action de ce récepteur nucléaire, permet d'expliquer en partie l'action des glucocorticoïdes dans les maladies cholestatiques ; mais les glucocorticoïdes induisent également une augmentation de l'expression de PXR et CAR, qui semble correspondre à une autre voie d'action des corticoïdes dans le traitement de la cholestase.¹²

1.5.6. Vitamin D receptor.

Vitamin D receptor, codé par le gène NR1H1 localisé sur le chromosome 12q13.11, est une protéine de 427 acides aminés. Ce récepteur nucléaire permet la régulation de l'homéostasie calcique, de la prolifération et de la différenciation cellulaire. VDR a un rôle immunitaire en induisant la synthèse de peptide anti-microbien, dans les voies biliaires.¹⁸ L'expression VDR est élevée au niveau intestinal, mais faible au niveau hépatique. La vitamine D et l'acide lithocholique sont les ligands de ce récepteur nucléaire. Après activation avec son ligand, VDR forme un hétérodimère avec RXR.⁶⁸ L'activation de VDR induit une activation de CYP3A4 et de SULT2A1, permettant ainsi une augmentation de la détoxification des AB, via l'augmentation de l'hydroxylation et de la sulfoconjugaison.²¹ Tout ceci concourant à augmenter l'excrétion urinaire des AB.⁶⁹ L'activation de VDR diminue la synthèse des AB par inhibition de CYP7A1 via HNF4 α , et par inhibition de LXR.^{70,71} Au niveau iléal, les AB permettent via l'activation de VDR, une augmentation de l'expression d'ABST, et donc leur internalisation dans l'entérocyte.¹² VDR peut également inhiber FXR.⁷² Tout ceci suggère que VDR joue un rôle non négligeable dans l'homéostasie des AB et du cholestérol. Cette voie de régulation pourrait avoir un intérêt thérapeutique dans la prise en charge des cholestases.⁶⁸

1.5.7. Peroxisome proliferator-activated receptor α .

Peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) est exprimé dans le foie, les reins, le cœur, les muscles, et le tissu adipeux. Ce récepteur nucléaire régule de nombreux gènes impliqués dans l'homéostasie des lipides, des glucides, et des AB. Il y a trois types de PPAR : PPAR α , PPAR γ , et PPAR δ . Seul PPAR α joue un rôle dans l'homéostasie des AB. Les ligands principaux de ce récepteur sont les fibrates. Cette liaison induit une activation de PPAR α , secondairement PPAR α se lie à RXR pour former un hétérodimère. PPAR α régule la synthèse des AB en inhibant CYP7A1, par blocage de HNF4 α .²¹ Il régule le métabolisme des AB en activant la glucuronoconjugaison, et la sulfoconjugaison en augmentant l'expression d'UGT2B4 et de SULT2A1.¹² PPAR α augmente également la transcription et donc l'expression de MRP3 et MPR4 au pôle basolatéral de l'hépatocyte, permettant ainsi la sortie des AB détoxifiés. PPAR α module la sécrétion biliaire des phospholipides, en augmentant l'expression de MDR3 au pôle apical. Cette augmentation de la sécrétion des phospholipides est nécessaire pour la formation des micelles, et permet donc une protection de l'épithélium des canaux biliaires contre les propriétés détergentes des AB.¹² PPAR α est lui-même régulé par FXR, montrant ainsi la coordination entre la régulation de l'homéostasie des AB et la régulation de l'excrétion des phospholipides.²¹

Tableau n°1 : Cibles et actions des récepteurs nucléaires.

Récepteurs nucléaires	Protéines cibles	Fonction	Régulation
FXR	NTCP	Transporteur sinusoidal des AB (internalisation)	Inhibition
	OST α/β	Transporteur sinusoidal des AB (externalisation)	Activation
	I-BABP	Transporteur intracellulaire des AB	Activation
	ABST	Transporteur apical des AB (internalisation entérocytaire)	Inhibition
	BSEP	Transporteur canaliculaire des AB (externalisation)	Activation
	FGF19	Inhibiteur de la synthèse des AB	Activation
	SHP	Inhibiteur de la synthèse et de l'internalisation des AB	Activation
	CYP3A4	Détoxification des AB (hydroxylation)	Activation
	UGT1A	Détoxification des AB (glucuroconjugaison)	Activation
SULT2A1	Détoxification des AB (sulfoconjugaison)	Activation	
PXR	CYP3A4	Détoxification des AB (hydroxylation)	Activation
	UGT1A	Détoxification des AB (glucuroconjugaison)	Activation
	SULT2A1	Détoxification des AB (sulfoconjugaison)	Activation
	MRP2	Transporteur canaliculaire des AB (externalisation)	Activation
	MRP3	Transporteur sinusoidal des AB (externalisation)	Activation
	MRP4	Transporteur sinusoidal des AB (externalisation)	Activation
	FGF19	Inhibiteur de la synthèse des AB	Activation
CAR	CYP3A4	Détoxification des AB (hydroxylation)	Activation
	SULT2A1	Détoxification des AB (sulfoconjugaison)	Activation
	UGT1A	Détoxification des AB (glucuroconjugaison)	Activation
	MRP2	Transporteur canaliculaire des AB (externalisation)	Activation
	MRP3	Transporteur sinusoidal des AB (externalisation)	Activation
	MRP4	Transporteur sinusoidal des AB (externalisation)	Activation
LXR	CYP7A1	Synthèse des AB	Activation
	ABCG5/8	Excrétion biliaire du cholestérol	Activation
GR	NTCP	Transporteur sinusoidal des AB (internalisation hépatique)	Activation
	ABST	Transporteur apical des AB (internalisation entérocytaire)	Activation
VDR	CYP3A4	Détoxification des AB (hydroxylation)	Activation
	SULT2A1	Détoxification des AB (sulfoconjugaison)	Activation
	CYP7A1	Synthèse des AB	Inhibition
	ABST	Transporteur apical des AB (internalisation entérocytaire)	Activation
PPARα	CYP7A1	Synthèse des AB	Inhibition
	UGT1A	Détoxification des AB (glucuroconjugaison)	Activation
	SULT2A1	Détoxification des AB (sulfoconjugaison)	Activation
	ABST	Transporteur apical des AB (internalisation entérocytaire)	Activation
	MDR3	Transporteur canaliculaire des phospholipides	Activation
	MRP3	Transporteur sinusoidal des AB (externalisation)	Activation
	MRP4	Transporteur sinusoidal des AB (externalisation)	Activation

1.6. La cholestase et son action sur les transporteurs biliaires.

La cholestase correspond à l'ensemble des manifestations liées à la diminution ou à l'arrêt de la sécrétion biliaire. Les mécanismes et les causes responsables d'une cholestase sont multiples. La cholestase peut être due, soit à l'obstruction des voies biliaires intra ou extra hépatiques, soit à l'arrêt ou à la diminution de la synthèse de l'un de ces constituants par l'hépatocyte.² La cholestase extrahépatique est secondaire à l'obstruction des voies biliaires extrahépatiques (observable en imagerie). La cholestase intrahépatique est secondaire soit à une obstruction des canaux biliaires de petits ou moyens calibres, soit à un arrêt ou à une diminution de la production de la bile secondaire à une atteinte de l'hépatocyte.²

Les principales causes sont rapportées dans le tableau n°2. La cholestase qu'elle qu'en soit sa cause induit une modification de l'expression des transporteurs biliaires. La CIG est un modèle de cholestase intrahépatique pure par arrêt ou diminution de la production des composants de la bile par l'hépatocyte. Elle est associée à un déficit d'un ou de plusieurs transporteurs canaliculaires.

Dans l'hépatocyte, la cholestase induit une diminution de la synthèse *de novo* des AB via une diminution de l'expression de CYP7A1 et CYP8B1. Au pôle basolatéral, l'expression de NTCP et des OATPs est diminuée, induisant une diminution de l'internalisation cellulaire des AB, pour prévenir la cytotoxicité. L'expression des transporteurs MRP3, MPR4 et OST α/β est augmentée, permettant l'externalisation des AB de l'hépatocyte. La cholestase induit une activation de la voie de détoxification des AB hydrophobes, par augmentation de l'expression du CYP3A4, du SULT2A1, et de l'UGT2B4. Au pôle apical, l'expression des transporteurs MRP2 et BSEP est augmentée, induisant une majoration de l'élimination biliaire des AB.

Dans le cholangiocyte, au pôle apical, l'expression d'ABST est diminuée, diminuant la réabsorption des AB et donc le cycle hépato-cholangyocytaire. Au pôle basolatéral, l'expression d'OST α/β est augmentée, diminuant l'accumulation intracellulaire des AB.

Dans l'entérocyte, au pôle apical, l'expression d'ABST et d'OATP1A2 est diminuée. Au pôle basolatéral, l'expression d'OST α/β et de MRP3 est augmentée. L'activation de FGF19 induit une inhibition de la synthèse *de novo* des AB par inhibition de CYP7A1 et de CYP8B1.

Dans la cellule tubulée proximale rénale, au pôle apical, l'expression de d'ABST et d'OATP1A2 est diminuée, réduisant la réabsorption rénale des AB. L'expression de MRP2 et de MRP4 est augmentée, majorant l'excrétion rénale des AB. Au pôle basolatéral, l'expression d'OST α/β et de MPR3 est augmentée, diminuant l'accumulation intracellulaire des AB.

Tableau n°2 : Etiologie de la cholestase.

Cholestase extrahépatique	Cholestase intrahépatique	
	Atteinte de la voie biliaire principale	Atteinte des voies biliaires intrahépatiques
Lithiase Parasites Cancer des voies biliaires Cancer du pancréas Pancréatite auto-immune Sténose post-opératoire	Cirrhose biliaire primitive Cholangites sclérosantes primitive ou secondaire Cholangiopathie auto-immune Cholangite à IgG4 Ductopénie médicamenteuse Syndrome d'Alagille Mucoviscidose Lithiase intrahépatique (LPAC syndrome)	Médicaments et toxiques Hépatites virales Hépatite auto-immune Infection bactérienne Déficit d'un transporteur canaliculaire Cholestase intrahépatique gravidique

2. La cholestase intrahépatique gravidique.

De nombreuses mises au point ont été réalisées pour cette maladie.⁷³⁻⁸¹

2.1. L'historique.

La CIG fut initialement décrite en 1883 par Ahfeld, par l'apparition d'un prurit associé à une jaunisse au dernier trimestre de la grossesse, se résolvant spontanément à l'accouchement et pouvant être récurrent.⁸² A partir des années 1950, des médecins scandinaves ont précisé les caractéristiques cliniques et les conséquences fœtales de cette maladie.⁸³ Plusieurs termes furent utilisés pour cette affection : pruritus gravidarum, jaunisse récurrente de la grossesse, hepatitis gravidarum, cholestase gravidique, cholestase obstétricale. Depuis la dixième classification internationale des maladies (CIM-10) le terme de cholestase intrahépatique gravidique doit être utilisé.

2.2. L'épidémiologie.

La CIG est l'hépatopathie gravidique la plus fréquente, exception faite de l'atteinte hépatique de la pré-éclampsie. Elle est ubiquitaire, mais son incidence varie d'un pays à l'autre et d'une ethnie à l'autre dans un même pays.^{78,84} Une prévalence élevée fut rapportée au Chili et en Bolivie, dans les années soixante-dix. Elle représentait 14% de toutes les grossesses au Chili avant 1975, et près de 28% des grossesses chez les indiens Araucanos.⁷⁶ De nos jours, la prévalence dans ces pays varie entre 2% et 4%, sans que les causes de cette diminution soient clairement identifiées.^{85,86} Aux Etats-Unis la prévalence est fonction de l'ethnie d'origine et varie entre 0.3% et 5.6%.⁸⁷ Dans les pays scandinaves, elle représente 1 à 1.5% des grossesses.⁸⁸ Elle est de 0,7% au Royaume-Uni avec une prévalence plus importante dans la communauté indo-pakistanaise, aux alentours de 1.3%.⁸⁹ En France la prévalence de la CIG est d'environ 0.5%.⁹⁰ La CIG est plus fréquente au cours des grossesses multiples.⁹¹ Le taux de récurrence de la CIG est de 40 à 60% selon les malades, avec une grande variation d'intensité de la maladie au cours des grossesses successives.⁸⁵

2.3. Les manifestations cliniques.

La CIG survient au deuxième ou au troisième trimestre de la grossesse. Le prurit est le principal symptôme, il commence généralement à la plante des pieds et dans la paume des mains, s'étant progressivement aux bras et aux jambes, puis au tronc et au visage. L'intensité du prurit est variable. Le prurit est à prédominance nocturne, ce qui induit une privation de sommeil, une irritabilité et une altération de la qualité de vie. Il n'y a pas de lésions dermatologiques associées au prurit à l'exception des lésions d'excoriation.

Dans moins de 10% des cas, un ictère est associé au prurit, il survient en moyenne entre 1 et 4 semaines après le début du prurit. Quelques cas d'ictère seul ont été rapportés dans la littérature.⁸⁴ Le prurit et l'ictère disparaissent habituellement en quelques jours après l'accouchement. Il n'y a pas de signe d'insuffisance hépatocellulaire, ni de signe d'encéphalopathie au cours de la CIG.

2.4. Les anomalies biologiques.

L'augmentation des transaminases, et principalement de l'alanine amino-transferase (ALAT), est un test sensible pour le diagnostic de la CIG. L'ALAT augmente entre deux et trente fois la normale. Cette augmentation serait secondaire à l'augmentation de la perméabilité membranaire des hépatocytes. Les phosphatases alcalines (PAL) sont augmentées au cours de la grossesse physiologique, par synthèse placentaire.⁹² L'augmentation des PAL ne peut donc pas être un critère diagnostique dans la CIG.

Le taux de γ -glutamyl transpeptidase (GGT) est normal, ou peu augmenté chez environ la moitié des malades. Le taux de bilirubine peut être augmenté, mais il excède rarement 100 $\mu\text{mol/l}$.

Le taux sérique des AB est augmenté. Cette augmentation peut être le seul signe biologique. Le profil des AB est modifié pendant la CIG, avec une augmentation de l'acide cholique, une diminution de la proportion de l'acide chénodesoxycholique, de l'acide lithocholique et de l'acide désoxycholique, par diminution du cycle entéro-hépatique. Au cours de la CIG, l'excrétion urinaire des AB est augmentée, mais cette mesure n'est pas utilisée pour le diagnostic ou le suivi.⁹³ La concentration urinaire des AB primaires est augmentée et pas

celle des AB secondaires, probablement en raison de la diminution du cycle entéro-hépatique au cours de la CIG.

Le taux de prothrombine (TP) est habituellement normal. Il peut être abaissé en cas de cholestase sévère. Il pouvait également être abaissé lors de la prise de cholestyramine, traitement utilisé antérieurement dans la CIG. Une baisse du TP doit être recherchée et traitée pour prévenir le risque d'hémorragie de la délivrance et du post-partum.

Les anomalies du bilan biologique s'améliorent habituellement en quelques semaines après l'accouchement.

2.5. L'histologie.

L'aspect histologique est caractérisé par une cholestase pure, avec accumulation de bilirubine dans les hépatocytes, les canalicules biliaires et les cellules de Kupffer. Cette accumulation prédomine autour des veines centrolobulaires. Dans le foie normal, le canalicule n'est pas visible en microscopie optique. Au cours de la CIG, le canalicule peut être visualisé, car il se distend et la bilirubine s'y accumule réalisant un thrombus biliaire intracanaliculaire. Cette lésion prédomine généralement dans la région péri-centrolobulaire. Une faible inflammation est parfois associée. Il n'y a pas habituellement de nécrose associée. Les espaces portes ne sont pas affectés par la CIG. La biopsie hépatique est très rarement nécessaire au diagnostic.

2.6. L'imagerie.

L'échographie retrouve un foie normal, mais des calculs peuvent être visualisés dans la vésicule. La présence d'un syndrome douloureux abdominal doit faire réaliser une échographie à la recherche d'une migration lithiasique, car l'incidence des calculs biliaires est augmentée chez les femmes ayant une CIG.

2.7. Le diagnostic.

Le diagnostic de CIG se pose devant un prurit associé à une perturbation des tests hépatiques sur au moins deux prises de sang au cours des deuxième et troisième trimestres de la grossesse. Devant une perturbation du bilan hépatique les autres hépatites gravidiques (l'atteinte hépatique de la pré-éclampsie, et la stéatose hépatique aigue gravidique), et les hépatites intercurrentes (l'infection bactérienne, les hépatites virales à virus hépatotropes, et à virus non hépatotropes, et les hépatites médicamenteuses) doivent être recherchées. Des cas de coexistence entre la CIG et d'autres pathologies hépatopathies gravidiques ont été rapportés, comme par exemple l'association entre une CIG et une pré-éclampsie,^{94,95} ou entre une CIG et une stéatose hépatique aiguë gravidique.⁹⁶

2.8. Le pronostic.

2.8.1. Le pronostic maternel.

La CIG ne met pas en jeu le pronostic vital maternel. Le prurit est invalidant. Il disparaît rapidement en quelques jours après l'accouchement.

La femme est exposée à un risque de récurrence de la CIG entre 40 et 60%, avec une grande variabilité dans l'intensité de la symptomatologie et dans le pronostic foetal.⁸⁵ Les malades s'exposent à un risque de cholestase iatrogène induite par les œstrogènes et/ou les progestatifs de synthèse.

Le pronostic à long terme est généralement bon. Cependant les femmes ayant eu une CIG, ont plus de risque de présenter une maladie lithiasique à type de migration, de cholécystite, et de pancréatite non-alcoolique.^{97,98} Ce sur-risque par rapport à la population générale, pourrait être lié à la présence de mutations sur les gènes codants pour les transporteurs biliaires (MDR3, BSEP, FIC-1).⁹⁸ L'étude de Glantz et collaborateurs rapportait une prévalence plus importante de maladie lithiasique chez les malades ayant présentées une CIG sévère (40 $\mu\text{mol/l}$).⁸⁸ Des délétions, des mutations faux-sens d'ABCB4 ont été décrites dans des familles de cas présentant des LPAC syndromes, des cholestases induites par des contraceptifs, et des CIG.⁹⁹

Les malades ayant présenté une CIG ont un risque relatif augmenté de développer une cirrhose sur stéatose non alcoolique.^{97,98} Cependant, la survenue d'une cirrhose reste un évènement exceptionnel. L'association ou l'évolution vers la cirrhose pouvant s'expliquer par l'existence de mutation génétique des transporteurs biliaires et/ou des récepteurs nucléaires.⁹⁸

Plusieurs études rapportent une association entre CIG et hépatite C.^{100,101} Il semblerait que ce soit l'hépatite C qui favoriserait la CIG par réduction du transporteur MRP2.¹⁰²⁻¹⁰⁴ Devant toute suspicion de CIG, il faut donc réaliser une sérologie virale C.^{81,101}

Des études rapportent une association entre CIG et diabète gestationnel.^{105,106} Une étude rapporte un risque relatif de développer un diabète gestationnel après l'apparition d'une CIG, augmenté d'un facteur 4 par rapport à la population générale.¹⁰⁷ Cela pouvant probablement s'expliquer par l'action des AB sur FXR. Car FXR joue un rôle dans l'homéostasie glucidique et principalement dans la néoglucogenèse hépatique. Le déficit en FXR dans la CIG, induirait une hyperglycémie et une insulino-résistance.¹⁰⁸⁻¹¹⁰

Une cholestase sévère et prolongée peut exposer la parturiente à un risque d'hémorragie de la délivrance et /ou du post-partum, par déficit en facteurs vitamine K dépendants. En raison de ce risque, l'hémostase doit être régulièrement surveillée durant la CIG. Et si besoin la patiente doit être supplémentée en vitamine K.¹¹¹

2.8.2. Le pronostic foetal et la prise en charge obstétricale.

2.8.2.1. Le pronostic foetal.

La CIG comporte des risques pour le foetus. Ces risques sont : la prématurité, la souffrance foetale, la mort foetale *in utero* (MFIU) et la détresse respiratoire néonatale.

La prématurité est soit spontanée, soit induite par la prise en charge obstétricale. Le risque relatif de prématurité spontané est 4 fois supérieur chez les parturientes présentant une CIG.¹¹² La prématurité spontanée serait secondaire à l'augmentation des contractions utérines.^{86,113} Le risque de prématurité est plus important encore en cas de CIG au cours d'une grossesse multiple et lorsque la CIG est précoce.^{114,115} Un taux d'AB élevé (AB > 40 µmol/l) est un facteur prédictif de prématurité.^{114,115}

La souffrance fœtale, au cours de la CIG serait secondaire à une hypoxie fœtale intra utérine. Les marqueurs d'asphyxie fœtale intra-utérine, tels que la présence de méconium dans le liquide amniotique, et les troubles du rythme cardiaque sont augmentés au cours de la CIG.^{116,117} La physiopathologie de l'asphyxie fœtale dans la CIG n'est pas encore clairement établie. Le taux d'AB, ainsi que la durée d'exposition à la cholestase pour le fœtus sont des facteurs prédictifs d'hypoxie fœtale.¹¹⁸

L'hypoxie fœtale peut évoluer vers la MFIU. Le risque de MFIU est augmenté au cours de la CIG, et sa prévalence est d'environ 1%.⁸¹ MFIU survenant principalement après la 39^{ème} SA pour les grossesses uniques est peut-être plus précoce pour les grossesses multiples.¹¹⁹ La gestion active de la CIG avec déclenchement entre la 37^{ème} et la 38^{ème} SA semble avoir permis de diminuer ce risque, qui était antérieurement au environ de 10 à 15%.⁷⁶ L'étude de Glantz et collaborateurs a montré qu'un taux d'AB supérieur à 40 µmol/l augmentait significativement le risque de complications fœtales à la fois pour la prématurité et pour la souffrance fœtale.⁸⁸ Mais c'est un facteur prédictif imparfait, car des cas de MFIU avec des taux d'AB moindre ont été rapportés.^{116,120}

Les enfants nés de mère présentant une CIG, présente deux fois plus de risque de présenter une détresse respiratoire néonatale.¹²¹ Un âge gestationnel moindre, un taux d'AB élevé à l'accouchement et une durée d'exposition aux AB prolongée semblent être les facteurs favorisant de la détresse respiratoire néonatale.¹²²

2.8.2.2. La prise en charge obstétricale.

La conduite à tenir ne fait pas l'objet à l'heure actuel d'un consensus, en ce qui concerne les modalités de surveillance, d'hospitalisation, et de déclenchement.¹²³ L'objectif principal est d'éviter la survenue d'une MFIU. Il faut donc évaluer le rapport bénéfice/risque de la CIG et de la prématurité. Des auteurs ont proposé un management obstétrical actif, avec une surveillance renforcée, et un déclenchement entre la 37^{ème} et la 38^{ème} SA, en raison du risque de MFIU accru et de la diminution des complications liées à la prématurité.^{78,111,116} Le management obstétrical actif est la pratique courante en France.¹²⁴ A l'heure actuelle, le seul facteur prédictif connu du risque de complications fœtales est le taux d'AB supérieur à 40 µmol/l.⁸⁸ Les résultats de l'étude PITCH évaluant l'AUDC au placebo et la délivrance précoce à une attitude expectative dans la CIG, ne rapportent pas de différence de terme de

délivrance, de prématurité, de type de délivrance, et de poids de naissance.¹²⁵ Une revue de la littérature récente suggère que le management obstétrical actif systématique de la CIG n'a pas fait la preuve de son efficacité, et préconise une prise en charge individualisée avec une information claire et intelligible de la patiente sur les risques de MFIU et de prématurité.¹²⁶ L'AUDC semble diminuer les complications fœtales.^{111,127} Il serait intéressant d'évaluer une attitude obstétricale active à une attitude expectative, chez des malades sans facteur de risque, et ayant normalisé leurs tests hépatiques sous AUDC.

2.9. Physiopathologie de la cholestase intrahépatique gravidique.

La CIG est une maladie complexe et multifactorielle. Les principaux facteurs de la cholestase sont hormonaux, génétiques et environnementaux.

2.9.1. Les facteurs hormonaux.

2.9.1.1. Les œstrogènes.

Le rôle des œstrogènes dans la CIG est démontré depuis longtemps.^{76,128} La CIG survient aux 2^{ème} et 3^{ème} trimestres, lorsque le taux sériques des œstrogènes est maximum. Son incidence est majorée lors des grossesses multiples. La CIG guérit rapidement après l'accouchement, parallèlement à la normalisation du taux des hormones sexuelles.⁷⁹ L'administration d'éthinyl-œstradiol ou la prise de contraceptif œstro-progestatif, chez une patiente avec des antécédents personnels ou familiaux de CIG, peut induire une cholestase.¹²⁹ Dans un modèle expérimental, l'administration d'estradiol-17β-D-glucuronide induit une cholestase, par diminution de l'absorption des AB par la membrane baso-latérale des hépatocytes, via une augmentation de la perméabilité des jonctions serrées, et une diminution de fluidité de la membrane sinusoidale, ce qui induit une diminution de l'activité de la pompe Na⁺/K⁺ ATPase, diminuant le gradient sodique, indispensable à l'internalisation des AB dans l'hépatocyte.¹³⁰ Les œstrogènes induisent donc une diminution de l'absorption sodique-dépendant des AB, via la baisse de l'expression de NTCP.^{16,131} Il y a également une diminution de l'absorption sodique-indépendant, par une baisse de l'expression des

transporteurs OATPs.¹³² L'induction de la cholestase par l'administration de dérivés œstrogéniques induit une diminution de l'expression des transporteurs hépatiques : NTCP et OATPs, mais également de BSEP et MRP2.⁶⁰⁻⁶² L'estradiol-17β-D-glucuronide induit une internalisation des transporteurs BSEP et MRP2, par la régulation post-transcriptionnelle, via l'activation de la voie PKC-Ca²⁺. Le mécanisme d'action précis des œstrogènes n'est pas encore élucidé et l'existence d'autres voies d'action est possible.¹³³

2.9.1.2. La progestérone et les progestatifs.

La progestérone et ses métabolites jouent un rôle dans la CIG. Certaines malades, avec des antécédents de CIG, mises sous progestatif ont développé une cholestase.⁸¹ Des parturientes mises sous progestérone au 3^{ème} trimestre de la grossesse pour prévenir la prématurité ont développé secondairement une CIG.⁸¹ Le profil des métabolites de la progestérone est différent au cours de la CIG et lors de la grossesse normale. Durant la grossesse, 250 à 500mg de progestérone sont synthétisées par jour, par le placenta. La moitié de la production journalière de progestérone est métabolisée par le foie. Le foie est le seul organe qui réduit la progestérone en pregnanolone et en pregnanediol, puis l'hydroxyle en quatre différents isomères (3α/3β et 5α/5β), ensuite ces isomères sont sulfoconjugués ou glucuroconjugués. Les métabolites sulfoconjugués ont des concentrations plus importantes au cours de la grossesse (10-15μmol/l), environ quatre fois la normale.⁹³ Au cours de la CIG, la concentration en métabolites sulfoconjugués de la progestérone est significativement plus importante encore, environ dix fois la normale et principalement sous forme 3α,5α-isomères. Le taux sérique des métabolites de la progestérone se normalise rapidement après l'accouchement, en environ une semaine.^{93,128} Au cours de la CIG, le taux sérique des formes glucuroconjuguées reste normal, mais le taux des formes sulfoconjuguées est augmenté. Ces modifications sont spécifiques à CIG et ne sont pas retrouvés chez la femme enceinte atteintes d'hépatite virale dont le profil des métabolites de la progestérone n'est pas modifié.^{93,134} Les métabolites sulfoconjugués de la progestérone sont principalement éliminés dans la bile.⁷³ Au cours de la CIG, il y a une diminution de l'excrétion biliaire des stéroïdes glucuroconjugués et surtout des stéroïdes sulfoconjugués.¹³⁵ Les formes glucuroconjuguées constituent la majeure partie des stéroïdes urinaires, mais les formes sulfoconjuguées ont une concentration urinaire trois fois

plus importante au cours de la CIG, probablement pour compenser le défaut d'excrétion biliaire. Les taux de métabolites sulfoconjugués de la progestérone, ne sont pas corrélés avec le taux d'AB.^{93,134} Les malades atteintes de CIG semblent présenter un défaut sélectif dans l'excrétion biliaire des métabolites sulfoconjugués.¹³⁴ Il semblerait que le défaut d'élimination des métabolites sulfoconjugués par le foie serait le résultat de la saturation des transporteurs des AB.¹³⁴ Les métabolites sulfoconjugués de la progestérone induisent une inhibition du transporteur BSEP. L'accumulation des AB dans l'hépatocyte altère la fonction mitochondriale, et altère donc la synthèse d'ATP indispensable à l'excrétion des AB et des métabolites sulfoconjugués de la progestérone, induisant un cercle vicieux.¹³⁶ Les métabolites sulfoconjugués induisent une diminution de l'expression des transporteurs NTCP et OATPs.¹³⁷ La 3β -sulfate de progestérone, qui est augmentée pendant la CIG, interagit avec FXR. Elle semble inhiber FXR, et diminuer l'interaction entre les AB et FXR.¹³⁸

2.9.2. Les facteurs génétiques.

Le logiciel de prédiction *in silico* Polyphen-2 est un outil mathématique basé sur des algorithmes permettant de prédire l'impact d'un changement d'acide aminé sur la structure et la fonction d'une protéine humaine.¹³⁹ Cette évaluation est basée sur un certain nombre de caractéristiques comprenant la séquence, des informations structurales et phylogénétiques caractérisant la substitution. Cet outil permet de calculer un score, de 0 à 1, évaluant l'impact d'un changement d'acide aminé sur la structure ou la fonction d'une protéine : le Position-Specific Independent Counts (PSIC) score. Par ce score, une mutation peut être classée « bénigne », « potentiellement dommageable », ou « probablement dommageable ». Plus le PSIC est faible, proche de 0,00, plus la substitution est bénigne. Plus le PSIC est proche de 1,00, plus la substitution d'acide aminé est potentiellement responsable d'un dommage structurel ou fonctionnel sur la protéine. Seules les mutations faux-sens peuvent être évaluées par Polyphen-2. Les PSIC scores rapportés dans cette thèse sont issus du serveur *NHLBI Grand Opportunity Exome Sequencing Project* (<https://esp.gs.washington.edu/drupal/>).

2.9.2.1. Le gène ABCB4.

En 1999, Jacquemin et collaborateurs furent les premiers à décrire l'existence d'une mutation hétérozygote d'ABCB4 (délétion du nucléotide T en position 1712) dans une famille de cas. La mutation d'ABCB4 était hétérozygote chez les malades présentant une CIG et homozygote chez les patients présentant une PFIC-3.¹⁴⁰ Puis d'autres études ont objectivé l'existence d'autres mutations à type de mutation faux-sens, de mutation non-sens, de délétion, et d'insertion chez des malades présentant une CIG, avec ou sans contexte de maladies cholestatiques familiales.^{141,142} Les malades ayant une CIG présentant une mutation d'ABCB4 initialement décrites présentaient une élévation des GGT, mais des cas de CIG avec mutation d'ABCB4 sans élévation des GGT ont été décrits, montrant que l'élévation des GGT n'est pas un facteur prédictif de la présence d'une mutation d'ABCB4.¹⁴³⁻¹⁴⁵ Une étude comparative suédoise portant sur 52 malades présentant une CIG sévère et 52 témoins, rapportait une prévalence de mutation d'ABCB4 dans le CIG de 15%.¹⁴⁶ Deux mutations statistiquement associées à la CIG ont été décrites dans cette étude : c. 711A>T et la délétion de 5 nucléotides dans l'intron 5.¹⁴⁶ La mutation faux-sens c.711A>T a été décrite dans une autre étude,¹⁴⁷ qui objectivait également la mutation faux-sens hétérozygote c.959C>T, déjà rapportée dans un cas clinique de 2001.¹⁴⁸ La mutation c.711A>T correspond à un polymorphisme génétique sans retentissement sur la fonction de MDR3. La délétion des nucléotides dans l'intron 5 fut retrouvée également dans d'autres études, mais à la fois dans le groupe CIG et le groupe contrôle. Cette mutation d'ABCB4 n'apparaît donc pas spécifique de la CIG.¹⁴⁹ Des mutations non-sens ont également été objectivées de manière hétérozygote tel que c.462C>T (remplacement d'une arginine par un codon stop en position 144)^{154,159} et c.709A>G responsable d'une protéine tronquée de 249 acides aminés.¹⁵¹ Des mutations faux-sens peuvent être présentes de manière hétérozygote mais également de manière homozygote comme la mutation c.1769G>A (remplacement d'une arginine par une glutamine en position 590). L'arginine en position 590 est localisée dans le premier domaine de liaison à l'ATP de MDR3.¹⁴³ Une étude italienne portant sur 80 malades présentant une CIG, objectivait trois autres mutations : c.1584A>G (remplacement d'un glutamate par un aspartate en 528), c.1606G>A (remplacement d'une glycine par une arginine en 536), c.1646G>A (remplacement d'une arginine par une histidine en 549). Chacune de ces trois mutations était retrouvée chez seulement une patiente.¹⁴⁴ La mutation faux-sens c.959C>T

est rapportée dans plusieurs études et cas cliniques, elle est responsable du remplacement de la serine par la phénylalanine en position 320.^{154,158,161} Cette mutation semble modifier la conformation de la protéine et donc altérer sa fonction. La mutation hétérozygote faux-sens c.2324C>T induit le remplacement d'une méthionine par une thréonine en position 775, cette position correspond au domaine transmembranaire. La modification du domaine transmembranaire induit probablement une modification de la conformation et donc de la fonctionnalité de MDR3.¹⁴³ L'étude de Dixon et collaborateurs, portant sur 2 cohortes de 563 et 227 malades présentant une CIG, objectivait en analyse multivariée une association entre la CIG et la mutation c.711A>T. Cette mutation est responsable d'une mutation neutre en position 237, qui induirait une modification de l'épissage*, responsable d'une perte de fonction de la protéine.¹⁵³

Toutes ces mutations d'ABCB4 sont donc responsables soit d'une modification de sa conformation, soit d'une protéine tronquée rapidement dégradée, soit d'une diminution de la liaison au substrat ou à l'ATP du transporteur MDR3. Ces mutations induisent une moindre excrétion des phospholipides, et donc une diminution de la formation des micelles mixtes, et une augmentation des micelles simples.

Tableau n°3 : Mutations d'ABCB4 décrites dans la CIG.

Référence	Mutation génétique	Exon	Type de mutation	Retentissement protéique	PSIC score
ANZIVINO and al. 2012	c. 217C>G	4	Faux-sens	L73V (remplacement d'une leucine par une valine en 73)	0,581
GENDROT and al. 2003	c.462C>T	6	Non-sens	R144X (remplacement d'une arginine par un codon stop en 144)	Non évaluable
MÜLLENBACH and al. 2003	c.481G>A	6	Faux-sens	R150K (remplacement d'une arginine par une lysine en 150)	Inconnu
ANZIVINO and al. 2012	c.523A>G	6	Faux-sens	T175A (remplacement d'une thréonine par une alanine en 175)	0,868
TAVIAN and al. 2009	c.709A>G	8	Non-sens	249del (codon stop en 249)	Non évaluable
MÜLLENBACH and al. 2003	c.711A>T	8	Silencieuse	I237I (Isoleucine en 237) Modification de l'épissage	Inconnu
BACQ and al. 2009	c.959C>T	9	Faux-sens	S320F (remplacement d'une serine par une phenylalanine en 320)	0,956
ANZIVINO and al. 2012	c.1529A>G	13	Faux-sens	N510S (remplacement d'une asparagine par une sérine en 510)	0,999
FLOREANI and al. 2006	c.1584A>G	14	Faux-sens	E528D (remplacement d'un glutamate par un aspartate en 528)	0,064
FLOREANI and al. 2006	c.1606G>A	14	Faux-sens	G536R (remplacement d'une glycine par une arginine en 536)	Inconnu
DIXON and al. 2000	c.1638C>A	14	Faux-sens	A546D (remplacement d'une alanine par un aspartate en 546)	Inconnu
FLOREANI and al. 2006	c.1646G>A	14	Faux-sens	R549H (remplacement d'une arginine par une histidine en 549)	Inconnu
JACQUEMIN and al. 1999	1712delT	14	Délétion	571del (codon stop en 571)	Non évaluable
ANZIVINO and al. 2012	c.1758-1759 insG	15	Insertion	604del (codon stop en 604)	Non évaluable
BACQ and al. 2009	c.1769G>A	15	Faux-sens	R590Q (remplacement d'une arginine par une glutamine en 590)	1
FLOREANI and al. 2008	c.1954A>G	16	Faux-sens	R652G (remplacement d'une arginine par une glycine en 652)	0,001
FLOREANI and al. 2008	c.2000C>T	16	Faux-sens	T667I (remplacement d'une thréonine par une isoleucine en 667)	Inconnu
PAULI-MAGNUS and al. 2004	c.2285G>A	18	Faux-sens	G762E (remplacement d'une glycine par un glutamate en 762)	Inconnu
BACQ and al. 2009	c.2324C>T	19	Faux-sens	T775M (remplacement d'une thréonine par une méthionine en 775)	1

PSIC score : score prédictif évaluant l'impact possible d'une substitution d'acide aminé sur la structure et la fonction d'une protéine humaine.

PSIC score \approx 0,01 : substitution bénigne.

PSIC score \approx 1,00 : substitution probablement responsable d'un dommage structurel ou fonctionnel.

2.9.2.2. Le gène ABCB11.

Les mutations du gène de BSEP pourraient jouer un rôle dans la physiopathologie de la CIG. Les premières mutations d'ABCB11 furent décrites dans la PFIC-2 et la CRB de type 2.¹⁴² Plusieurs cas cliniques supposaient qu'une mutation d'ABCB11 pouvait prédisposer à la CIG.^{8,142} Quelques mutations hétérozygotes d'ABCB11, dont c.890A>G, c.1331T>C, c.1445A>G, et c.1772A>G ont été objectivées dans environ 1% des CIG en Europe.^{8,154} Les mutations c.890A>G (remplacement d'un glutamate par une glycine en position 297) et c.1445A>G (remplacement d'un aspartate par une glycine en position 482) induisent une modification de la conformation tridimensionnelle de BSEP, une diminution de son expression sur la membrane canaliculaire de l'hépatocyte et donc une diminution de sa fonction.¹⁵⁴ Ces mutations sont retrouvées à la fois dans la CIG et dans la PFIC-2.³⁴ La mutation c.1772A>G (remplacement d'une asparagine par une sérine en position 591) ne se situe pas dans le domaine hautement conservé de la protéine, mais la présence de cette mutation induit une diminution de 25% de l'expression de BSEP sur la membrane cellulaire.¹⁵⁴ La mutation la plus fréquemment retrouvée est c.1331T>C (le remplacement d'une valine par une alanine en position 444). La présence d'une cytosine de manière homozygote (57% versus 20%) ou hétérozygote (76% versus 51%) est plus fréquente chez les malades présentant une CIG que dans la population générale.^{155,156} La mutation c.1331T>C induit une modification de la fonction de BSEP.³⁴ Cette mutation apparait comme un facteur de risque de CIG.^{20,154} Dans la cholestase induite par les contraceptifs, la mutation c.1331T>C est souvent homozygote.¹⁵⁵ Faisant supposer qu'une faible dose d'œstrogène favorise une cholestase si la mutation est homozygote, alors qu'une plus forte concentration en œstrogène est nécessaire si la mutation est hétérozygote.¹⁵⁵ La biopsie, lorsqu'elle est réalisée, confirme la diminution de l'expression de BSEP au niveau de la membrane plasmatique en cas de mutation c.1331T>C.^{152,155} Deux autres mutations faux-sens c.851T>A (remplacement d'une valine par un aspartate en position 284) et c.1674G>C (remplacement d'une glutamine par une histidine en position 558) ont été mise en évidence dans une étude de cohorte italienne de 33 malades.¹⁵⁶ L'étude de Dixon et collaborateurs, portant sur 2 cohortes de 563 et 227 malades présentant une CIG, objectivait en analyse multivarée une association entre la CIG et la mutation c.1331C>T, et avec deux mutations introniques :

rs3814382 et rs7577650. Le mode d'action de ces mutations introniques n'est pas encore connu.¹⁵³

Une association de mutations homozygotes de BSEP et MDR3 dans la CIG a été décrite. Une patiente présentait une CIG sévère dès la neuvième semaine de gestation. Elle était porteuse de deux mutations homozygotes d'ABCB4 et d'ABCB11. En effet cette patiente présentait une mutation c.1331C>T pour le gène ABCB11 et une mutation c.959C>T pour le gène ABCB4. La mutation de c.1331C>T ne peut expliquer à elle seule la précocité et la sévérité de la CIG dans ce cas, en raison de sa prévalence dans la population générale et de sa non localisation dans un domaine hautement conservé du gène. Mais il est possible que c.959C>T modifie la fonction de MDR3, et induise également une diminution de l'expression de BSEP par modification de la composition lipidique de la membrane plasmique quand la mutation c.1331C>T est présente.¹⁵²

Tableau n°4 : Mutations d'ABCB11 décrites dans la CIG.

Référence	Mutation génétique	Exon	Type de mutation	Retentissement protéique	PSIC score
BYRNE and al. 2009	c.403G>A	6	Faux-sens	E137K (remplacement d'un glutamate par une lysine en 135)	Inconnu
BYRNE and al. 2009	c.593T>C	7	Faux-sens	L198P (remplacement d'une leucine par une proline en 198)	Inconnu
ANZIVINO and al. 2012	c.851T>A	9	Faux-sens	V284D (remplacement d'une valine par un aspartate en 284)	0,95
STRAUTNIEKS and al. 2008	c.890A>G	9	Faux-sens	E297G (remplacement d'un glutamate par une glycine en 297) modification de l'épissage	Inconnu
BYRNE and al. 2009	c.1244G>A	12	Faux-sens	R415Q (remplacement d'une arginine par une glutamine en 415)	0,11
LANG and al. 2007	c.1331T>C	13	Faux-sens	V444A (remplacement d'une valine par une alanine en 444) (polymorphisme)	0,001
BYRNE and al. 2009	c.1445A>G	14	Faux-sens	D482G (remplacement d'un aspartate par une glycine en 482)	Inconnu
ANZIVINO and al. 2012	c.1674G>C	15	Faux-sens	Q558H (remplacement d'une glutamine par une histidine en 558)	Inconnu
PAULI-MAGNUS and al. 2004	c.1772A>G	15	Faux-sens	N591S (remplacement d'une asparagine par une sérine en 591)	0,989
BYRNE and al. 2009	c.1964C>T	16	Faux-sens	T655I (remplacement d'une thréonine par une isoleucine en 655)	Inconnu
LANG and al. 2007	c.2029A>G	17	Faux-sens	M677V (remplacement d'une méthionine par une valine en 677)	0,001
PAULI-MAGNUS and al. 2004	c.2093G>A	18	Faux-sens	R698H (remplacement d'une arginine par une histidine en 698)	0,15
ANZIVINO and al. 2012	c.2191C>T	19	Faux-sens	P731S (remplacement d'une proline par une sérine en 731)	0,001
KEITEL and al. 2006	c.3084A>G	28	Silencieuse	A1028A (Alanine en 1028) modification de l'épissage.	Inconnu

PSIC score : score prédictif évaluant l'impact possible d'une substitution d'acide aminé sur la structure et la fonction d'une protéine humaine.

PSIC score \approx 0,01 : substitution bénigne.

PSIC score \approx 1,0 : substitution probablement responsable d'un dommage structurel ou fonctionnel.

2.9.2.3. Le gène ATP8B1.

Le gène ATP8B1 code la protéine FIC-1, qui est une flippase, localisée au pôle canaliculaire de l'hépatocyte, qui permet le maintien de l'asymétrie membranaire.²⁰ Une mutation d'ATP8B1 induit un déficit de FIC-1, responsable de la PFIC-1 et de la CRB de type 1. Une étude de cohorte de 182 malades présentant une CIG, a retrouvé deux mutations hétérozygotes d'ATP8B1 associées à la CIG : c.208G>A (PSIC score : 1) et c.2599C>T (PSIC score : inconnu) dans quatre cas.¹⁴² Ces deux variations génomiques sont responsables de deux mutations faux-sens : D70N (remplacement d'un aspartate par une asparagine en position 70) et R867C (remplacement d'une arginine par une cystéine en position 867). Il n'a pas été rapporté de mutation homozygote ou d'association de mutations hétérozygotes pour ATP8B1 dans cette étude.¹⁵⁷ La principale mutation objectivée dans près de 80% des CRB de type 1 : I661T (remplacement d'une isoleucine par une thréonine en position 661), n'est pas retrouvée dans la cohorte de CIG étudiée.¹⁵⁷

Une autre étude de cohorte de 176 malades finlandaises présentant une CIG objectivait dix-sept variants d'ATP8B1, douze concernaient des introns et cinq des exons.¹⁵⁸ La mutation la plus fréquente c.2855G>A retrouvée dans 14% des cas semble correspondre à un polymorphisme génétique sans retentissement phénotypique car son incidence est la même dans la population générale. Les mutations c.134A>C (PSIC score : 0,67) et c.607A>G (PSIC score : 0,03) sont responsables de mutations faux-sens respectivement : N45T (remplacement de l'asparagine par la thréonine en position 45) et K203R (remplacement de la lysine par le glutamate en position 203). Ces mutations sont hétérozygotes et retrouvées seulement chacune chez une patiente. Ces mutations semblent modifier la fonction de FIC-1 et pourrait prédisposer à la CIG.¹⁵⁸ L'étude de Dixon et collaborateurs n'objectivait pas d'association entre l'existence d'une mutation d'ATP8B1 et la CIG.¹⁵³ Même si les mutations objectivées semblent induire un retentissement structurel ou fonctionnel de la protéine, leurs faibles fréquences dans les études et l'absence d'association avec la CIG dans l'étude de Dixon et collaborateurs suggèrent que le gène ATP8B1 ne joue pas un rôle majeur dans la CIG.

2.9.2.4. Le gène ABCC2.

Le gène ABCC2 code la protéine MRP2, qui permet le transport de nombreuses substances au pôle canaliculaire de l'hépatocyte, dont les AB, les métabolites des œstrogènes et de la progestérone.^{14,20} La concentration du transporteur MRP2 est diminuée au cours de la grossesse, et dans les cholestases induites par les œstrogènes dans un modèle animal. Une étude portant sur 70 malades présentant une CIG et 112 témoins, rapportait une association entre la mutation c.3972C>T de l'exon 28 et la CIG.¹⁵⁹ Cette mutation à l'état homozygote est quatre fois plus présente chez les malades présentant une CIG que chez les témoins.¹⁶⁰ Ce variant génomique est responsable d'une mutation silencieuse (isoleucine par position 1324), qui induirait une modification de l'épissage, responsable d'une modification de la fonction de MRP2. L'implication d'ABCC2 dans l'étiologie de la CIG semble théoriquement intéressante, mais une seule étude retrouve un lien entre une variation génomique d'ABCC2 et la CIG. L'étude de Dixon et collaborateurs portant sur deux cohortes de 563 et 227 malades présentant une CIG, ne rapportait pas d'association entre les principales mutations d'ABCC2 connues et la CIG.¹⁵³

2.9.2.5. Le gène NR1H4.

Le gène NR1H4 code la protéine FXR, qui est le principal récepteur nucléaire responsable de l'homéostasie des AB, en cela son polymorphisme génétique apparaît comme un facteur crédible à l'étiologie de la CIG.¹⁵³ Dans une étude portant sur 92 malades présentant une CIG, quatre variants hétérozygotes de FXR chez des malades présentant une CIG ont été rapportés : c.-1G>T, c.1A>G, c.238T>C, c.518T>C.¹⁶¹ Parmi ces quatre variants, seule la mutation faux-sens c.518T>C (remplacement d'une méthionine par une thréonine en 173) pourrait être pathogène car son PSIC score est intermédiaire (PSIC : 0,47).¹⁶¹ In vitro cette mutation induirait une modification de la conformation de FXR empêchant une liaison avec RXR.¹⁶¹ Une étude récente, portant sur près de 800 malades ayant une CIG, ne retrouvait pas d'association entre les mutations de NR1H4 et la CIG.¹⁵³ Le gène NR1H4 codant pour le récepteur nucléaire FXR ne semble pas jouer un rôle majeur dans l'étiologie de la CIG.

2.9.2.6. Le gène NR1I2.

Le gène NR1I2 code la protéine PXR, qui est un des récepteurs nucléaires responsable de l'homéostasie des AB.⁶⁴ PXR régule l'hydroxylation des AB par CYP3A4 et leur conjugaison.⁶⁴ Dans une étude comportant 347 malades présentant une CIG, deux mutations faux-sens ont été objectivées : c.106G>A (remplacement d'une glycine par une alanine en position 36) à l'état hétérozygote chez 12 malades, et c.79C>T (remplacement d'une proline par une sérine en position 27) à l'état hétérozygote chez deux malades.¹⁶² La présence de ces mutations n'induit pas de modification de l'activation de CYP3A4. Ces mutations ne semblent pas jouer de rôle dans la CIG.¹⁶² L'étude de Castano et collaborateurs, portant sur 101 malades présentant une CIG, montrait qu'une mutation faux-sens hétérozygote (rs2461823A/G) au niveau du promoteur du gène était un facteur de risque de CIG.⁶⁴ Les malades présentant cette mutation aurait 2,5 fois plus de risque d'avoir une cholestase durant la grossesse que celles qui ne l'ont pas. La mutation rs2461823A/G, en raison de sa localisation induit probablement une modification ou une destruction du site de fixation du facteur de transcription.⁶⁴ La mutation faux-sens du promoteur de PXR pourrait jouer un rôle dans la CIG, mais des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

2.9.3. Les autres facteurs.

La participation d'un facteur environnemental a été suggéré, car le taux de récurrence de la CIG est d'environ 60%, car l'incidence de la CIG varie selon la saison, avec une prédominance hivernale, et car la prévalence et l'incidence de la CIG ont diminué au cours des dix dernières années dans les pays à forte incidence que sont la Suède et le Chili.^{85,102} Plusieurs types de facteurs ont été proposés y compris les polluants présents dans les pesticides, et l'acide érucique (acide gras mono-insaturés à longue chaîne présents dans l'huile de colza).¹⁶³ Mais aucun de ces facteurs ne sont apparus comme des facteurs favorisant la CIG.

2.9.3.1. L'infection virale C.

L'infection par le virus de l'hépatite C est associée à une incidence plus élevée de la CIG et un début des symptômes plus précoce.^{100,101} Il est probable que les modifications membranaires induites par l'infection virale C chronique sur les hépatocytes et les cholangiocytes, créent un environnement favorable à l'apparition de la CIG.¹⁶⁴ Il a été démontré que l'infection virale C induisait une diminution d'environ 30% de l'expression de MRP2.^{103,104} L'infection virale C pourrait favoriser l'apparition de la CIG, via la diminution du transporteur MRP2.¹⁰² L'apparition d'une CIG est une indication de dépistage de l'hépatite C.¹⁰¹

2.9.3.2. La carence en Sélénium.

La concentration plasmatique en sélénium est diminuée pendant la grossesse physiologique, mais encore plus au cours de la CIG.¹⁶⁵ Les concentrations plasmatiques en sélénium ont augmenté entre 1988 et 1996 chez les femmes enceintes présentant ou non une CIG.¹⁶⁵ C'est durant cette période que la prévalence de la CIG a diminué dans les pays de forte incidence comme le Chili et les pays scandinaves. La concentration en sélénium est plus importante au cours de l'été que lors des autres saisons, reflétant peut-être les changements alimentaires saisonniers.¹⁶⁶ Le rôle du sélénium comme cofacteur de plusieurs enzymes liés au métabolisme oxydatif dans le foie et autres tissus est bien documenté, mais aucun lien n'a encore été démontré avec la sécrétion de bile.¹⁶⁷ La carence en sélénium pourrait influencer la synthèse, la mobilisation, et la dégradation de protéine jouant un rôle dans certaines fonctions hépatiques dont la formation de la bile.¹⁶⁶

2.9.3.3. La carence en vitamine D.

La concentration plasmatique en 1,25-OH vitamine D3, est abaissée au cours de la CIG.¹⁶⁸ Cette diminution ne présente pas de variabilité saisonnière¹⁶⁸. Elle ne peut pas être due uniquement à une malabsorption liée au déficit en AB.¹⁶⁹ La 1,25-OH vitamine D3 en se liant à son récepteur VDR, régule l'homéostasie calcique, mais aussi des étapes importantes dans la détoxification des AB. L'acide lithocholique est un ligand de haute affinité pour les

VDR.¹⁶⁸ L'activation du VDR par la vitamine D ou l'acide lithocholique in vitro induit une augmentation de l'expression du CYP3A4, ce qui permet une détoxification des AB. L'expression de VDR est élevée dans l'intestin, et faible dans le foie. L'activation de VDR par la 1,25-OH vitamine D active la détoxification des AB. La carence en vitamine D pourrait donc favoriser l'accumulation des AB dans les cellules. Le traitement par 1,25-OH vitamine D semble, chez la souris, améliorer le métabolisme des AB in vivo, principalement en améliorant l'élimination urinaire des AB via une augmentation de l'expression des transporteurs MRP2, MRP3, MRP4 au niveau rénal.⁶⁹ Des études montrent que VDR joue un rôle de régulateur de la synthèse et du métabolisme des AB, et pourrait constituer une cible thérapeutique dans les maladies cholestatiques.¹²

2.9.3.4. La perméabilité intestinale.

La muqueuse gastro-intestinale est une barrière essentielle, qui permet de limiter le passage de nombreuses molécules de la lumière digestive vers le sang portal.¹⁷⁰ La perméabilité intestinale est augmentée dans de nombreuses pathologies comme la maladie de Crohn, la maladie cœliaque, les infections intestinales, les pancréatites et les hépatopathies chroniques.¹⁷⁰⁻¹⁷² L'augmentation de la perméabilité intestinale ou *leaky gut syndrom* correspond à une augmentation du passage dans la circulation systémique de médiateurs de l'inflammation, de bactéries et de toxines issus de la lumière intestinale. Ces substances et principalement les endotoxines bactériennes telles que le lipopolysaccharide vont induire une cascade inflammatoire au niveau hépatique. Cette dernière est responsable de dommages moléculaires et cellulaires.¹⁷³ Expérimentalement, la sensibilité à l'endotoxine est augmentée au cours de la grossesse, via une augmentation de la perméabilité membranaire intestinale.¹⁷⁴ Une étude rapporte une augmentation de la perméabilité intestinale plus importante lors de la CIG, que lors de la grossesse normale.¹⁷³ Le *leaky gut syndrom* perdure après l'accouchement et on ne peut pas exclure que le *leaky gut syndrom* soit préexistant à la CIG.¹⁷³ Le *leaky gut syndrom* pouvait participer à la physiopathologie de la CIG, en favorisant l'absorption d'endotoxines bactériennes, des œstrogènes, de la progestérone, et des AB.¹⁷³ Des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer le rôle du *leaky gut syndrom* dans la CIG.

2.10. Le retentissement placentaire.

Durant la grossesse normale, le gradient fœto-maternel des AB, facilite le transfert des AB du compartiment fœtal vers le compartiment maternel.¹⁷⁵ Au cours de la CIG, il y a une inversion de ce gradient.¹⁷⁵ La barrière placentaire n'est pas complètement abolie, car malgré l'existence d'une cholestase maternelle marquée, l'accumulation des AB est plus modérée dans le compartiment fœtal. Mais cela suffit à induire des lésions placentaires et fœtales pouvant compromettre le développement gestationnel.⁵⁴ La synthèse des AB fœtaux est réduite au cours de la cholestase maternelle par inhibition de CYP7A1 et de CYP8B1.⁵⁹ Il n'y a pas de métabolisation fœtale des AB, car les taux d'AB dans l'artère et la veine du cordon ombilical sont similaires.¹⁷⁵

Les AB induisent une vasoconstriction des veines chorioniques.¹⁷⁶ Une vasoconstriction importante et prolongée entraîne des dommages placentaires et donc une altération de sa fonction.¹⁷⁶ Les principales lésions histologiques retrouvées sont des lacunes vasculaires dilatées, et une atrophie du trophoblaste.^{177,178} Une étude rapporte une modification du profil génétique du placenta cours de la CIG.¹⁷⁹ L'expression de 112 gènes est diminuée et l'expression de 280 autres gènes est augmentée.¹⁷⁹ Cette altération du profil génétique placentaire dans la CIG pourrait être responsable d'une altération de la tolérance immune de l'interface materno-fœtale, d'une altération du métabolisme lipidique, d'une altération du développement placentaire, et d'un état pro-apoptotique placentaire.¹⁷⁹ Une étude chinoise a évoqué un déficit en VEGF et en EGFR au niveau placentaire au cours de la CIG, mais aucune autre étude n'a confirmé ces données.¹⁸⁰ Le gène *nephroblastoma overexpressed gene*, qui joue un rôle dans la régulation de la migration, la prolifération et la différenciation cellulaire, a une expression significativement moindre dans le placenta lors de la CIG. Ce déficit d'expression pourrait expliquer en partie l'altération du développement placentaire dans la CIG.¹⁷⁹ Au cours de la CIG, il y a une augmentation du stress oxydatif et donc de la peroxydation des lipides, et de la carboxylation des protéines.¹⁷⁸ La cholestase favorise l'apoptose placentaire, en activant la caspase-3 et en déséquilibrant la balance Bax- α /Bcl-2 en faveur de Bax- α , gène pro-apoptotique.¹⁷⁸

L'expression des transporteurs ATP-dépendant MDR3, FIC-1 et BSEP est très faible au niveau placentaire.^{54,179} Lors de la CIG, les transporteurs OATP1A2 et OATP1B3 diminuent, afin de

réduire l'internalisation des AB au pôle maternel.⁵⁷ Les transporteurs MRP1, MRP2, MRP3 sont augmentés, permettant ainsi une diminution de la concentration intracellulaire en AB dans le trophoblaste.⁵⁴ Cela induit une diminution du passage materno-fœtal des AB, et une augmentation de l'excrétion des AB vers le sang maternel. Ces mécanismes sont partiellement efficaces car la concentration en AB est plus faible dans le sérum fœtal que dans le sérum maternel.⁵⁴ Mais l'existence d'autres transporteurs est probable, et leurs mécanismes de régulation restent à définir.

2.11. La physiopathologie des complications.

2.11.1. La souffrance fœtale et la mort fœtale *in utero*.

La corticotrophin-releasing hormone (CRH), peptide de 41 acides aminés, est une hormone impliquée dans la réponse au stress. L'augmentation de la CRH induit, la production de glucocorticoïdes, de minéralocorticoïdes et de DHEA.¹⁸¹ La CRH est également synthétisée dans les tissus périphériques comme le placenta. Lors de la grossesse, le placenta est le principal lieu de synthèse de la CRH sérique.¹⁸² La CRH semble jouer un rôle dans le mécanisme de la grossesse et de la délivrance.¹⁸³ Le taux sérique de la CRH augmente progressivement pendant la grossesse avec un pic dans les cinq à six semaines précédant l'accouchement.¹⁸¹ L'expression normale de la CRH, en fin de grossesse, est essentielle pour prévenir le risque d'hypoxie fœtale au cours des contractions utérines.¹⁸⁴ La CRH peut moduler la vasodilatation et stimuler la production de prostaglandine durant la grossesse.¹⁸⁴ Des études suggèrent que la CRH via le monoxyde d'azote permet la régulation locale du tonus vasculaire utéro-placentaire et fœtal,^{184,185} et favoriser la relaxation du myomètre utérin, via une augmentation de la production d'AMP-c.¹⁸⁶ Lors de la CIG, la réponse au stress médiée par la CRH est altérée.^{184,187,188} Un taux d'acide cholique dans le sérum maternel inférieur à 200µg/dl, induit une augmentation de la concentration sérique fœtale en cortisol et en DHEA. Lorsque le taux maternel en acide cholique est supérieur à 200µg/dl, la concentration fœtale en cortisol et en DHEA est diminuée. La modification du taux fœtal de cortisol par l'augmentation des AB induit une réponse au stress inappropriée.¹⁸⁹

La réponse inappropriée au stress secondaire au dérèglement du système CRH lors de la CIG, pourrait jouer un rôle dans la prématurité, la souffrance fœtale, et donc la MFIU.¹⁸⁹

Les AB induisent une vasoconstriction des veines chorioniques.¹⁷⁶ Une vasoconstriction importante et prolongée entraîne des dommages placentaires et donc une altération de sa fonction.¹⁷⁶ Les principales lésions histologiques retrouvées sont des lacunes vasculaires dilatées, et une atrophie du trophoblaste.^{177,178} Au niveau du trophoblaste, les membranes basales sont épaissies, les villosités choriales sont plus petites pour l'âge gestationnel et il existe un stroma fibreux plus dense. L'espace intervillositaire est diminué et le nombre de bourgeons syncytiaux est augmenté.¹⁹⁰ Les bourgeons syncytiaux sont une agrégation de vieux noyaux syncytiaux à la surface du trophoblaste. Ils correspondent au lieu de l'apoptose du trophoblaste.^{176,191} Cette augmentation des bourgeons syncytiaux semble dû à l'hypoxie induite par la vasoconstriction des veines chorioniques, au stress oxydatif, et à la toxicité cellulaire directe des AB hydrophobes.^{191,192}

Les AB induisent également une altération de la fonction des cardiomyocytes fœtaux. Lors de la CIG, il y a un allongement de la conduction atrio-ventriculaire, et des troubles du rythme à type de tachycardie, de bradycardie, de flutter atrial ou d'arythmie.^{117,193-195} Ces troubles de la conduction et du rythme pourraient être une des causes de la MIFU secondaire à la CIG.

2.11.2. La prématurité.

La prématurité spontanée semble due à une augmentation des contractions utérines lors de la CIG.¹¹³ L'augmentation du taux d'AB sériques induit une sensibilisation du myomètre à l'ocytocine en augmentant le nombre de récepteurs à l'ocytocine. Cette sensibilisation à l'ocytocine pourrait expliquer en partie l'augmentation des contractions utérines.¹⁹⁶ Lors de la CIG, la réponse au stress médiée par le CRH est altérée, ne permettant pas la régulation physiologique locale du tonus vasculaire utéro-placentaire, ce qui favorise les contractions utérines.¹⁸⁴

2.11.3. La détresse respiratoire néonatale.

La physiopathologie de la détresse respiratoire néonatale dans la CIG n'est pas clairement élucidée. Deux mécanismes sont évoqués : une toxicité directe des AB sur l'arbre bronchique et une déplétion en surfactant.^{197,198} Dans un modèle expérimental, l'inhalation de liquide méconial contenant des AB hydrophobes induit un œdème trachéal et pulmonaire, par cytotoxicité direct.¹⁹⁸ La cholestase induirait également une déplétion du surfactant dans les alvéoles bronchiques fœtales, car les AB activent la phospholipase A2, qui catabolise le surfactant.^{121,197}

3. Le traitement médical de la cholestase intrahépatique gravidique.

L'objectif principal du traitement de la CIG est de diminuer le prurit et d'améliorer le pronostic foetal.

3.1. Le phenobarbital.

Cunningham et collaborateurs ont montré le rôle du phénobarbital dans la cholestase.^{199,200} Expérimentalement, le phénobarbital augmente l'excrétion biliaire des AB.²⁰¹ Une étude rapporte une régression du prurit, une amélioration des tests hépatiques par augmentation de l'excrétion biliaire sous phénobarbital dans les cholestases chroniques.²⁰² Le phénobarbital n'a pas d'influence sur le taux sérique de vitamine D et de ses métabolites au cours de la CIG.¹⁶⁹. Une étude de 12 malades ne rapportait pas de modification du taux sérique d'AB après introduction du phénobarbital dans la CIG.²⁰³

Le phénobarbital passe la barrière placentaire et les concentrations sériques maternelle et foetale sont équivalentes. Des associations entre la prise de phénobarbital et l'apparition de malformation cardiaque, de retard psychomoteur, de microcéphalie, et de fente labio-palatine ont été rapportées. A la naissance, le nouveau-né est exposé à un risque d'imprégnation (hypotonie, somnolence) et/ou de sevrage (trouble du sommeil, hyperexcitabilité, trémulation).²⁰⁰ Des cas d'hémorragie maternelle et foetale ont été également rapportés chez des malades sous phénobarbital pour épilepsie.

Ce médicament n'est plus utilisé dans le traitement de la CIG.

3.2. La dexaméthasone.

La dexaméthasone réduit la synthèse maternelle et foetale d'ACTH et de DHEA, précurseurs des œstrogènes.²⁰⁴ En diminuant le taux sérique des œstrogènes, un des facteurs favorisant de la CIG, la dexaméthasone devrait donc diminuer la cholestase. Une étude de 10 cas, a rapporté un effet de la dexaméthasone à la posologie de 12mg par jour pendant une semaine dans la CIG, avec une diminution du prurit, une baisse des transaminases, du taux sérique d'AB, et de l'œstradiol.²⁰⁵ Une autre étude de dix cas chez

des malades non répondantes à l'AUDC rapportait une amélioration faible du prurit et des tests hépatiques dans près de deux tiers des cas.²⁰⁶

Une étude contrôlée, randomisée contre placebo et AUDC, ne rapporte pas de différence significative en termes d'efficacité sur le prurit, le taux d'AB, et les transaminases à trois semaines après l'introduction du traitement contre placebo, contrairement à l'AUDC.²⁰⁷ Ces études ne rapportaient pas d'efficacité sur le pronostic foetal, en partie en raison de leurs faibles effectifs. Expérimentalement, la dexaméthasone, comme l'AUDC, aurait un effet protecteur contre les troubles du rythme cardiaques induit par les AB hydrophobes.²⁰⁸ Des études chez l'animal et chez l'homme suggèrent une possible association entre la prise répétée de corticostéroïdes durant la grossesse et un faible poids de naissance, un effet néfaste sur la croissance des organes du fœtus, et un développement neuronal anormal.^{209,210} Cette exposition anténatale aux corticostéroïdes pourrait favoriser des désordres cardiovasculaires, neuroendocriniens, métaboliques à l'âge adulte,²¹¹ ainsi que des troubles psychiatriques et de l'attention à l'adolescence.²¹²

Ce médicament n'est plus utilisé dans le traitement de la CIG.

3.3. La S-adénosylméthionine.

La S-adenosylméthionine (SAME) est produite à partir de la méthionine et de l'adénosine triphosphate dans toutes les cellules des mammifères.²¹³ Le foie est le principal site de synthèse et de métabolisation de la SAME.²¹³ Cette molécule joue un rôle crucial dans la biosynthèse des phospholipides, qui interviennent dans le maintien de la fluidité des membranes cellulaires hépatiques et dans l'excrétion des AB et des métabolites oestrogéniques. La quantité de la SAME est réduite au cours des cholestases chroniques. La SAME a une activité anti-apoptotique, et réduit le stress oxydatif en augmentant le taux intracellulaire de glutathion et en stabilisant les membranes mitochondriales. La SAME inhibe également l'inflammation en régulant à la baisse les médiateurs pro-inflammatoires que sont le $TNF\alpha$, et *nuclear-factor- κB* (NF- κB). La cholestase est souvent associée à une déplétion en glutathion, et cela interférerait avec le taux de transporteur BSEP sur la membrane canaliculaire de l'hépatocyte.²¹³ Une méta-analyse de Frezza et collaborateurs, incluant 6 études : trois en ouvert et trois contre placebo rapportait une amélioration du

prurit, de l'activité des transaminases, de la bilirubine, et des AB.²¹⁴⁻²¹⁹ Cette méta-analyse incluait 111 patientes traitées par SAME à la posologie de 800mg/jour.²¹⁸ Dans des études randomisées, contrôlées contre AUCD, la SAME et l'AUCD ont la même efficacité sur le prurit, mais l'AUCD permet une diminution significativement plus importante de l'activité des transaminases, et de la concentration sérique des AB.²²⁰⁻²²²

3.4. La Cholestyramine.

La cholestyramine est une résine échangeuse d'ions, qui se lie aux AB dans l'intestin grêle et inhibe leur réabsorption iléale. La cholestyramine permet de diminuer le cycle entéro-hépatique des AB.²⁰⁰ Dans la CIG, la cholestyramine a été utilisée à la posologie de 8 à 12g/jour. Des études observationnelles suggèrent que la cholestyramine pourrait être associée à une amélioration du prurit mais sans effet favorable sur l'évolution fœtale.²²³ Biologiquement la cholestyramine permet une diminution des taux sériques de bilirubine, des AB, et du cholestérol.²²³ Aucune étude randomisée n'a comparé la cholestyramine à un placebo. Ce traitement peut interférer avec l'absorption des vitamines liposolubles, dont la vitamine K, et exposer à risque d'hémorragie de la délivrance ou du post-partum chez la mère et à un risque d'hémorragie intracrânienne chez le fœtus.²²⁴ Pour prévenir ce risque il faut rechercher et supplémer une potentielle carence en vitamine K chez toute femme présentant une CIG traitée par cholestyramine.

Une étude contrôlée randomisée comparant l'AUCD à la cholestyramine, rapportait une diminution significativement moindre du prurit, des transaminases, et des AB dans le groupe sous cholestyramine.²²⁵ Le nombre de naissance à terme est significativement moindre dans le groupe sous cholestyramine.²²⁵ Selon les recommandations de l'European Association for the Study of the Liver (EASL), la cholestyramine n'a pas d'indication dans le traitement de la CIG.¹¹¹

3.5. L'acide ursodésoxycholique

3.5.1. Les généralités.

L'AUDC (*3 α ,7 β -dihydroxy-5 β -cholanic acid*), isomère de l'acide chénodésoxycholique est un acide biliaire hydrophile.⁷ Composant majeur de la bile de l'ours noir de Chine, il est utilisé depuis des siècles dans la médecine traditionnelle chinoise.²²⁶ Cet AB est également présent en faible quantité dans la bile humaine (2-4%). Les premiers cas cliniques de l'utilisation de l'AUDC dans les maladies cholestatiques datent des années 60 au Japon. Depuis la fin des années 80, l'AUDC est utilisé dans la maladie lithiasique, la cirrhose biliaire primitive, la cholangite sclérosante primitive et la mucoviscidose.²²⁷

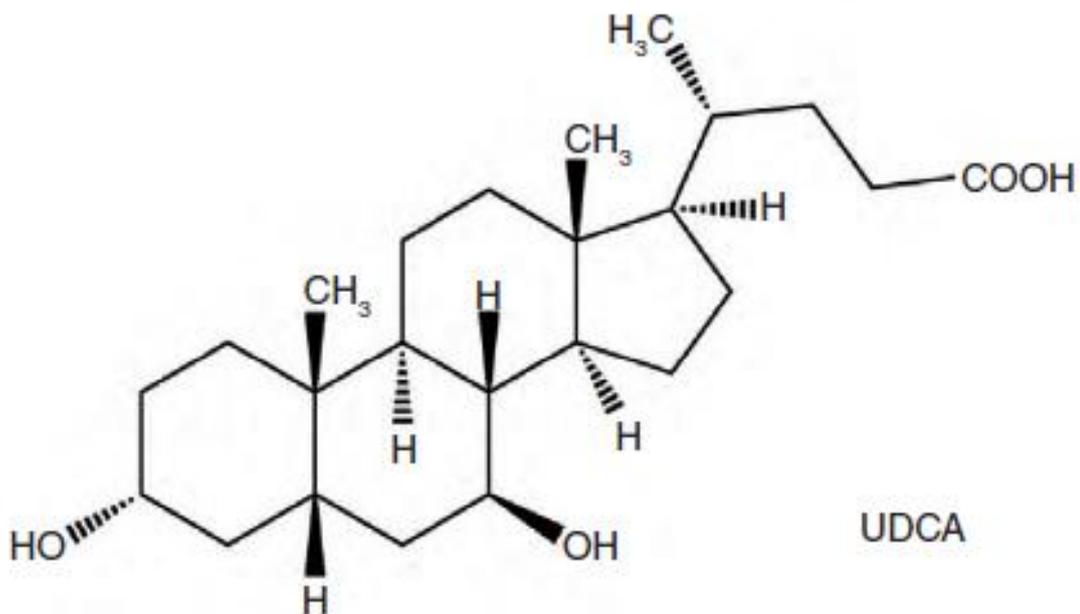


Figure n°10 : Molécule d'acide ursodésoxycholique
(Selon Poupon. *Ursodeoxycholic acid and bile-acid mimetics as therapeutic agents for cholestatic liver diseases: an overview of their mechanisms of action. Clinics and research in hepatology and gastroenterology, 2012*)

3.5.2. La pharmacocinétique.

Après l'administration orale, 90% de la dose d'AUDC est absorbée dans l'intestin grêle.²²⁸ La dissolution de l'AUDC dans le jéjunum proximal se fait par solubilisation grâce aux micelles mixtes. La prise concomitante d'un repas favorise l'absorption de l'AUDC. Chez les patients présentant une cholestase, l'absorption de l'AUDC, peut être diminuée en raison de la diminution de la sécrétion des AB endogènes. Lors du premier passage hépatique, 50% de l'AUDC est extrait.²²⁶ Puis l'AUDC est conjugué, principalement à la glycine et de manière moindre à la taurine. L'AUDC conjugué est excrété activement dans la bile. Le traitement par AUDC induit une majoration de la proportion d'AUDC dans les AB, passant de 3% à 45%.²²⁹ L'AUDC conjugué est absorbé principalement au niveau de l'iléon terminal, par un transporteur actif (ABST), pour lequel il est en concurrence avec les AB endogènes. Les AUDC conjugués non absorbés passent dans le côlon, où ils sont déconjugués, et convertis en acide lithocholique par la flore intestinale. En raison de leur faible solubilité en milieu aqueux, la plupart des acides lithocholiques formés restent insolubles dans le contenu colique. Une partie des acides lithocholiques est réabsorbée, puis sulfo-conjuguée dans le foie et éliminée dans les selles. L'élimination rénale représente une voie mineure d'élimination de l'AUDC. Même au cours de la cholestase, moins de 5% des métabolites de l'AUDC sont retrouvés dans les urines.²³⁰ In vitro, l'AUDC est un AB dépourvu de toute cytotoxicité jusqu'à des concentrations de 500 µmol/l.²²⁶ La demi-vie de l'AUDC est longue, estimée entre 3,5 et 5,8 jours.²²⁸

3.5.3. L'efficacité dans la cholestase intrahépatique gravidique.

Une méta-analyse reprenant 9 études comparant l'AUDC soit à un placebo,²³¹⁻²³³ soit à la cholestyramine,²²⁵ soit à la SAME,^{144,221,222,234} soit à la dexaméthasone,²⁰⁷ a été réalisée en 2012.¹²⁷ Cette méta-analyse portant sur 489 malades, montrait que l'AUDC permettait une diminution significative du prurit contre placebo, et l'ensemble des autres traitements utilisés. L'AUDC permet une amélioration des tests hépatiques (transaminases et AB) significativement plus importante que sous un autre traitement, ou que sous placebo.¹²⁷ Depuis cette méta-analyse deux études contrôlées ont été réalisées.

L'étude PITCH, compare l'AUDC contre placebo puis une attitude obstétricale active avec délivrance précoce à une attitude expectative. 56 malades ont reçu de l'AUDC et 55 malades un placebo. L'AUDC permettait une amélioration significative du prurit, et des transaminases chez les malades sous AUDC.¹²⁵ L'amélioration du prurit bien que statistiquement significative, paraît cliniquement faible pour les auteurs. Pour cette raison, ils ne recommandent pas la prise systématique de l'AUDC dans la CIG, mais proposent ce traitement selon la volonté de la malade après lui avoir donnée une information claire et intelligible.¹²⁵

Une étude prospective randomisée contre placebo en double aveugle, réalisé en 2013, portant sur 20 malades, objectivait une amélioration du prurit et des tests hépatiques sous AUDC.²³⁵ L'AUDC ne modifie pas les concentrations plasmatiques d'œstradiol, de progestérone, et de prolactine, et n'avait donc pas d'effet délétère sur l'unité fœto-placentaire contrairement à la dexaméthasone.²³⁵

Dans la méta-analyse, le nombre de prématurité et de détresses respiratoires fœtales sont moindres dans le groupe AUDC, mais sans qu'il y ait de différence significative.¹²⁷ L'étude Zapata et collaborateurs montre que le poids de naissance est significativement plus grand dans le groupe AUDC que placebo.²³⁶ Dans l'étude PITCH, les enfants nés de mères sous AUDC avaient significativement moins de signes de souffrance fœtale.¹²⁵ Il n'y avait significativement pas de différence entre les malades sous AUDC ou sous placebo en termes de type de délivrance, de poids de naissance, d'hémorragie de la délivrance et/ou du post-partum.¹²⁵

Aucune étude n'a démontré l'intérêt de l'AUDC pour prévenir la MFIU. Il s'agit d'un évènement trop rare, pour qu'il puisse être interprété dans les études réalisées. Le nombre de sujet nécessaire à une étude pour démontrer ou infirmer une efficacité de l'AUDC sur la MFIU serait considérable. Dans la méta-analyse, il y a eu que 2 MFIU sur près de 500 malades incluses.¹²⁷

L'AUDC est un traitement utilisé depuis près de 30 ans, aucun effet indésirable majeur n'a été rapporté (Commission de la transparence 15 février 2012 www.has-sante.fr). Les complications les plus fréquentes sont digestives à type de nausée, de vomissement et de diarrhée. Quelques cas d'urticaire ont également été rapportés. Ces complications sont rares, dans la méta-analyse de 2012, deux effets indésirables furent rapportés dans le

groupe AUCD sur 207 malades traitées, un vomissement et une diarrhée, ne nécessitant pas l'arrêt du traitement.¹²⁷ Aucun effet secondaire sur le fœtus n'a été rapporté.^{127,235}

Dans l'étude de Zapata et collaborateurs, vingt-six enfants nés de mères ayant pris de l'AUCD pour une CIG, ont présenté un développement normal après 12 ans.²³⁶

3.5.4. Les recommandations.

En France, l'AUCD a une autorisation de mise sur le marché pour la prise en charge de la CIG depuis 2012 (Commission de la transparence 15 février 2012 www.has-sante.fr). L'autorisation de mise sur le marché stipule : « Dans la cholestase gravidique, l'efficacité de l'AUCD se limite à un effet sur certains paramètres biochimiques (diminution des taux sériques de bilirubine, des phosphatases alcalines et des acides biliaires) et la diminution du prurit. La posologie est de 10 à 20 mg/kg/jour en traitement continu jusqu'à l'accouchement. La posologie quotidienne maximale dans la cholestase gravidique ne doit pas dépasser 1000 mg/jour, répartie en 2 prises matin et soir, au moment des repas. Ces spécialités entrent dans le cadre d'un traitement à visée curatif. Le rapport efficacité/effets indésirables dans la cholestase intra-hépatiques gravidique est important. Ces spécialités sont des traitements de première intention. »

La Haute Autorité de Santé a suivi les recommandations de l'EASL. Selon l'EASL : « L'AUCD (à la posologie de 10-20mg/kg/j) est le traitement de première intention de la CIG. L'AUCD améliore le prurit et les tests hépatiques dans 67 à 80% des cas, mais la réduction des complications fœtales est incertaine. La SAME est moins efficace que l'AUCD, mais peut avoir un effet complémentaire. En l'absence de réponse clinique et/ou biologique se discute la majoration de la posologie de l'AUCD à 25mg/kg/j ou l'association à la SAME à la posologie de 800mg/j. Les topiques sont sans risques mais leur efficacité est inconnue. »¹¹¹

3.5.5. Les mécanismes d'action de l'acide rsodésoxycholique.

3.5.5.1. La protection contre la cytotoxicité des acides biliaires.

Les AB hydrophobes induisent des dommages sur les membranes cellulaires par deux modes d'action. L'accumulation des AB dans la cellule est responsable d'une instabilité membranaire et d'une synthèse de radicaux libres.²³⁷ L'augmentation de la proportion de micelle simple secondaire à la cholestase, est responsable d'un effet détergent sur les voies biliaires, lors du passage des micelles simples dans ces dernières.⁵ L'AUDC a un effet protecteur de ces membranes par un effet stabilisateur de membrane.²²⁶ L'AUDC modifie la structure et la composition des micelles lipidiques, ce qui induit une diminution du pouvoir détergent de la bile.^{226,238} L'AUDC induit une stimulation de la sécrétion d' HCO_3^- , au niveau du cholangiocyte. L'augmentation de la sécrétion de bicarbonate pourrait avoir un rôle de protection contre la toxicité membranaire des AB hydrophobes.¹⁶ L'AUDC diminue les lésions membranaires, l'inflammation portale, et la prolifération ductulaire.²²⁶ L'AUDC diminue l'absorption apicale des AB via la diminution des transporteurs ABST et stimule l'excrétion baso-latérale des AB via l'augmentation des transporteurs OST α/β , MRP3, MRP4, ce qui réduit la concentration intracellulaire en AB hydrophobes, et donc leur cytotoxicité.²³⁰

3.5.5.2. La protection contre l'apoptose des hépatocytes.

Les AB hydrophobes induisent une modification de la perméabilité membranaire de la mitochondrie, en modifiant la polarité transmembranaire, et en favorisant la synthèse de radicaux libres.²³⁷ Les mécanismes impliqués dans les propriétés anti-apoptotiques de l'AUDC comprennent la préservation de la fonction et de l'intégrité mitochondriale en diminuant la production de radicaux libres, en diminuant la modification de polarité transmembranaire induite par les autres AB, en rééquilibrant la balance Bax- α /Bcl-2, en faveur de Bcl-2, et en diminuant la libération dans le cytoplasme du cytochrome-C.^{227,239} L'AUDC via la voie PI₃K/Nrf2 (*nuclear factor-E2-related factor-2*) augmente la synthèse du glutathion, une des principales molécules anti-oxydantes, ce qui induit une inhibition directe de l'action des radicaux libres.²³⁷ L'AUDC permet également une réduction du stress du

réticulum endoplasmique.²³⁷ L'AUDC favorise l'induction de signaux de survie par les voies : NF- κ B, PI₃K et MAPKinases soit directement, soit par activation de l'EGFR.^{240,226}

3.5.5.3. La stimulation de la sécrétion biliaire.

L'AUDC stimule l'excrétion biliaire des AB et d'autres anions organiques tels que la bilirubine, et le glutathion conjugués. L'AUDC augmente la synthèse, l'insertion apicale, et l'activation des transporteurs membranaires hépato-biliaires tels que BSEP, MRP2, et AE2.^{131,241} L'AUDC agit par les voies de régulation transcriptionnelles et post-transcriptionnelles des transporteurs biliaires. La régulation transcriptionnelle est régulée par les récepteurs nucléaires GR, PXR, et FXR. La régulation post-transcriptionnelle est régulée par les MAPKinase, l'*extracellular-signal-regulated kinase*, et le PKC-Ca²⁺. L'activation des voies de régulations post-transcriptionnelles induit l'exocytose de vésicule contenant les transporteurs BSEP et MRP2 au pôle canaliculaire de l'hépatocyte, leur insertion sur la membrane canaliculaire.^{8,16}

Ces différents modes d'actions permettant une augmentation des transports, tels que BSEP, MRP2 et MDR3, et donc une augmentation de l'excrétion biliaire des AB.^{66,227,241} Cela favorise l'excrétion des AB endogènes.¹⁶

L'AUDC augmente aussi le nombre de transporteurs MRP2 sur la membrane canaliculaire, favorisant ainsi la sécrétion biliaire de nombreux composés dont la bilirubine, le glutathion, et des AB.^{227,238} Dans le modèle expérimental, l'AUDC ne semble pas modifier l'expression du transporteur basolatéral NTCP.^{131,241} Les transporteurs OATP1B1, OATP1B3, et OATP2B1 ne semblent pas jouer un rôle dans l'absorption ou l'action de l'AUDC.²⁴²

L'AUDC stimule également l'excrétion biliaire, intestinale, et urinaire des AB en induisant une augmentation de l'expression de MRP2, MRP3, et MRP4 au niveau des cholangiocytes, des entérocytes et des cellules tubulées proximales rénales.⁶⁶

3.5.5.4. L'inhibition de la synthèse des acides biliaires.

L'AUDC, comme tous les AB, active FXR. FXR via l'activation SHP, inhibe LRH-1 et HNF4 α , ce qui induit un blocage des voies classique et alterne de la synthèse hépatique des acides biliaires.⁵⁰ L'AUDC inhibe donc via FXR les deux voies de synthèse des AB.^{226,243}

3.5.5.5. La stimulation de la métabolisation des acides biliaires.

L'AUDC via PXR et FXR stimule la détoxification des AB.²³⁰ L'AUDC induit une augmentation de l'expression du cytochrome CYP3A4, enzyme indispensable à l'hydroxylation des AB.^{12,244} L'AUDC induit aussi une augmentation de la sulfoconjugaison et la glucuronoconjugaison, ce qui majore la solubilité des AB.²³⁰

3.5.5.6. L'inhibition de la réabsorption des acides biliaires.

L'AUDC active FXR, qui induit une inhibition de l'expression d'ABST et donc une diminution de l'absorption iléale des AB.^{16,50} L'AUDC, via FXR, induit une régulation positive de la protéine IBABP, et augmente l'expression de MRP2 au pôle apical et l'expression de MRP3 et MRP4 au pôle basolatéral, pour éviter l'accumulation des AB dans les entérocytes.^{50,245} L'action de l'AUDC sur OST α/β n'est pas encore clairement démontrée. L'inhibition de la réabsorption des AB associé à la stimulation de la sécrétion biliaire des AB, conduit à une interruption du cycle entéro-hépatique et une baisse du pool d'AB hydrophobes circulant.²²⁶

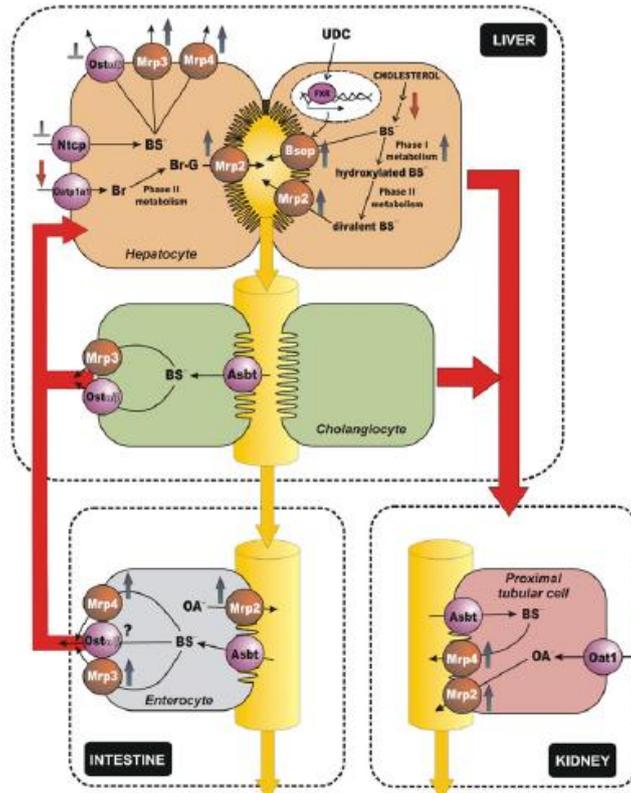


Figure n°11 : Effet de l'AUCD sur les transporteurs, les enzymes impliqués dans la synthèse, l'excrétion biliaire, et le cycle entéro-hépatique de la bile.
 (Selon ROMA M., and al. Hepatocellular transport in acquired cholestasis: new insights into functional, regulatory and therapeutic aspects. *Clinical Science*, 2008)

3.5.5.7. L'action immuno-modulatrice et anti-inflammatoire.

L'accumulation des AB dans le foie induit une augmentation de l'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité* (CMH) de type I et II.²⁴⁶ L'AUCD semble avoir un rôle immuno-modulateur, en induisant une diminution de l'expression du CMH de type I et II, en inhibant plusieurs enzymes impliqués dans la réaction inflammatoire dont la phospholipase A2, la *NO synthase*, et la NF- κ B. L'action sur le CMH de type II semble médiée par GR.²²⁶

L'AUCD semble avoir une action anti-inflammatoire. Au cours de la cirrhose biliaire primitive, l'AUCD inhibe la synthèse d'immunoglobuline par les lymphocytes B, et induit une diminution de l'expression des interleukines pro-inflammatoires (IL-2, IL-6), de l'interferon- γ (IFN γ) et du TNF α . Cette diminution de la synthèse des cytokines et du TNF α par les hépatocytes et les cellules du système immunitaire, induite par l'AUCD, semble médiée par GR et VDR.²²⁶

Les endotoxines sont des activateurs de la réponse immunitaire.²⁴⁷ En cas de cholestase, les lipopolysaccharides s'accumulent dans l'hépatocyte et induit une cascade inflammatoire.²⁴⁷ L'AUDC diminue l'accumulation hépatique et biliaire des endotoxines, responsable d'une diminution de la réaction inflammatoire. L'AUDC diminue aussi l'absorption intestinale des endotoxines.²⁴⁸ L'AUDC favorise le passage des endotoxines du sang vers la bile à travers l'hépatocyte.²⁴⁹ L'AUDC diminue donc l'action des endotoxines et favorise leur élimination biliaire.

L'excrétion biliaire de l'AUDC induit une alcalinisation de la bile. L'AUDC via l'activation de VDR, induit la synthèse de peptides antimicrobiens libérés dans la bile. Ces deux actions inhibent la colonisation bactérienne des voies biliaires.²⁵⁰ L'AUDC inhibe la libération des cytokines pro-inflammatoires induites par les endotoxines.²⁵¹

Ces actions immuno-modulatrice et anti-inflammatoire n'ont été démontrées qu'in vitro dans la cirrhose biliaire primitive.²²⁶ Aucune donnée sur ces actions n'est rapportée dans la littérature concernant la CIG.

3.5.5.8. La stimulation de l'excrétion de la progestérone.

Lors de la CIG, l'AUDC diminue les concentrations sanguine et urinaire des métabolites de la progestérone.¹³⁴ La concentration des métabolites sulfo-conjugués est diminuée, et la concentration des métabolites glucurono-conjuguée n'est pas modifiée.^{134,252} Il n'y a pas de corrélation entre les variations de concentration en AB et les variations de concentrations des métabolites progestatifs au cours du traitement par AUDC, ce qui suppose une excrétion dans la bile par des transporteurs différents.²⁵³ L'AUDC induit une diminution de l'excrétion urinaire des métabolites sulfoconjugués de la progestérone, ce qui est un marqueur indirect de l'augmentation de l'excrétion biliaire de ces métabolites.²⁵⁴ L'AUDC semble donc stimuler l'excrétion biliaire des métabolites sulfoconjugués de la progestérone et ainsi favoriser l'élimination d'un facteur favorisant de la CIG.¹³⁶

3.5.5.9. L'amélioration du passage transplacentaire des acides biliaires

Dans une grossesse normale le gradient fœto-maternel des AB est dans la direction du fœtus à la mère, ce qui facilite ainsi l'élimination de ces composés toxiques du

compartiment fœtal. La CIG induit une inversion de ce gradient, les AB s'accumulent donc au niveau fœtal.¹⁷⁵ Le traitement par AUCD réduit significativement cette inversion du gradient fœto-maternel.¹⁷⁵ Le taux d'AB dans le sang fœtal est moindre lors du traitement par l'AUCD.^{55,134} Le profil des AB dans le sérum fœtal est modifié par l'AUCD, avec une diminution de l'acide cholique, et une augmentation de l'acide chénodésoxycholique, de l'acide déoxycholique, et évidemment de l'AUCD.¹⁷⁵

La CIG induit une atrophie du trophoblaste et une dilatation des lacunes vasculaires.¹⁷⁶ L'introduction d'un traitement par AUCD permet une diminution de l'atrophie trophoblastique et de la dilatation des lacunes vasculaires.^{55,177} Le nombre de bourgeons syncytiaux, augmenté par la cholestase, diminue de manière significative chez les malades traitées par AUCD.¹⁹⁰ Le placenta des malades sous AUCD est moins fibreux.¹⁷⁶

Lors de la CIG, les transporteurs des AB sont augmentés permettant de garder une différence de concentration en AB entre le sang fœtal et le sang maternel.¹⁷⁵ Les transporteurs non ATP-dépendant type OATP sont significativement plus importants pendant la CIG, mais leur nombre augmente encore plus sous AUCD.^{53,177} L'expression de MRP2 placentaire est augmentée par l'AUCD, participant probablement à la réduction du taux des AB et de bilirubine dans le sang fœtal, via son excrétion dans le sang maternel.⁶² MRP3 et MRP4 ne sont pas significativement modifiés par l'AUCD.⁶² La CIG induit une augmentation du degré de peroxydation des lipides et de carboxylation des protéines du placenta, l'AUCD permet une diminution de la peroxydation et de la carboxylation.¹⁷⁷ La CIG favorise l'apoptose en déséquilibrant la balance Bax- α /Bcl-2 en faveur de Bax- α , l'AUCD permet de rééquilibrer cette balance.¹⁷⁸ L'AUCD semble donc modifier l'indice apoptotique placentaire dans la CIG.^{55,190}

4. Les perspectives.

Les points suivants nécessiteraient d'être étudiés :

- Mieux caractériser l'atteinte placentaire, car elle est spécifique de cette maladie et lié au pronostic fœtal.
- Rechercher des facteurs prédictifs de la sévérité de la CIG, pour prévenir le risque de souffrance fœtal.
- Evaluer si le taux sérique maternel de la CRH peut être un marqueur pronostic pour la CIG.
- Evaluer l'histoire naturelle à long terme. Un certain nombre de patients ne normalisent pas leur bilan hépatique à distance sans qu'aucun diagnostic différentiel ne puisse être retenu. L'association à des mutations des transporteurs biliaries, la majoration du risque de maladie lithiasique, et de fibrose, peuvent faire évoquer une maladie chronique révélée au cours de la grossesse.
- Evaluer si l'absence de normalisation du bilan hépatique à distance est associée à une récurrence plus importante et/ou une évolution vers la fibrose.
- Evaluer si l'existence d'une mutation d'ABCB4 ou d'ABCB11 sont associées à une récurrence plus importante et/ou une évolution vers la fibrose.
- Evaluer si la réponse au traitement médical peut modifier l'attitude obstétricale et ainsi permettre la rédaction de recommandations plus précises sur la prise en charge obstétricale.
- Evaluer si la supplémentation en vitamine D comme traitement d'appoint de l'AUDC a un impact sur les symptômes cliniques et le pronostic materno-fœtal.
- En raison de la demi-vie longue du traitement, évaluer si une prise journalière ne serait pas plus opportune.
- Evaluer si l'AUDC a une action sur l'apparition ou le contrôle du diabète gestationnel au cours de la CIG.
- Evaluer s'il existe des facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC.

Seconde partie :

Effacité et critères de réponse au traitement
par l'acide ursodésoxycholique dans la
cholestase intrahépatique gravidique

Etude d'une cohorte de 96 malades.

1. Introduction.

La CIG est une hépatopathie spécifique de la grossesse, survenant au deuxième ou au troisième trimestre, et s'améliorant spontanément après l'accouchement.⁷⁷ En France, sa prévalence est de 0,5%.⁹⁰ Le prurit est le principal et le plus souvent le seul symptôme.⁸¹ L'augmentation des transaminases, et principalement de l'alanine amino-tranferase (ALAT), est un test sensible pour le diagnostic de la CIG.⁸⁰ Dans 10% des cas, un ictère s'y associe.⁸⁴ L'augmentation du taux d'acide biliaire (AB) est parfois le seul signe biologique. Un taux sérique d'AB supérieur à 40 $\mu\text{mol/l}$ est considéré comme un critère de gravité de la CIG.⁸⁸ La CIG est une maladie complexe et multifactorielle. Les principaux facteurs sont hormonaux et génétiques. Les rôles des œstrogènes et de la progestérone ont été clairement démontrés.^{16,132,134,142} Des mutations génétiques portant sur les transporteurs biliaires ont été mis en évidence chez des malades présentant une CIG.¹⁵³ Des mutations du gène ABCB4, codant le transporteur MDR3, sont retrouvées chez 15% des malades présentant une CIG.¹⁴⁶ Des mutations d'ABCB11, codant le transporteur BSEP, sont retrouvées chez 1% des malades présentant une CIG.¹⁵³ La participation de facteurs environnementaux comme une carence en sélénium, une carence en vitamine D, une perméabilité intestinale accrue, et une infection virale C a été suspectée.^{100,165,173,176} La CIG ne met pas en jeu le pronostic vital maternel, mais le prurit est un symptôme invalidant. Le risque relatif de développer un diabète gestationnel après l'apparition d'une CIG est augmenté.¹⁰⁷ A long terme, les malades ayant eues une CIG ont plus de risque de présenter une maladie lithiasique, et une fibrose hépatique.⁹⁷ La CIG est à risque pour le fœtus. Les fréquences de la prématurité, la souffrance fœtale, et la détresse respiratoire néonatale sont augmentées.^{81,112,121} La mort fœtale *in utero* (MFIU) liée à la CIG est un phénomène rare, mais reste la complication la plus redoutée. En raison de cette complication qui reste imprévisible en fin de grossesse, la plupart des auteurs préconisent un management obstétrical actif avec un déclenchement entre la 37^{ème} et la 38^{ème} SA.^{78,111} Le traitement médical repose principal sur l'AUDC, qui diminue significativement le prurit, l'activité des transaminases et le taux d'AB chez les malades atteintes de CIG.¹²⁷ L'AUDC pourrait également améliorer le pronostic fœtal.¹²⁷ Les facteurs prédictifs de réponse au traitement par AUDC ne sont pas connus.

L'objectif de notre étude était d'évaluer l'efficacité de l'AUDC dans le traitement de la CIG dans la vraie vie, et de rechercher des facteurs prédictifs de réponse au traitement.

2. Matériel et méthodes.

Schéma général de l'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique réalisée au Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours. Tous les dossiers médicaux des malades examinées en consultation d'Hépatologie au CHRU au cours d'une grossesse pour une hépatopathie traitée par AUDC ont été revus. Tous les malades ont été examinés en consultation d'hépatologie par le même médecin. Les paramètres cliniques étaient recueillis de manière prospective au moment de la consultation à l'aide d'une fiche standardisée. Toutes les femmes étaient suivies conjointement par l'hépatologue et une équipe obstétricale du CHRU ou de la région Centre.

Toutes les malades étaient revues en consultation d'Hépatologie à distance de l'accouchement (1 à 3 mois) pour un contrôle clinique et des tests hépatiques avec si possible un dosage des acides biliaires sériques à jeun. Les malades qui ne normalisaient pas leurs tests hépatiques dans les 3 mois étaient suivies à plus long terme.

Les critères d'inclusion pour cette étude étaient les suivant :

- Apparition d'un prurit au cours de la grossesse
- Taux sérique d'AB à jeun > 10 $\mu\text{mol/L}$ et/ou ALAT > 35 UI/L sur au moins deux prélèvements
- Traitement par acide ursodésoxycholique débuté au cours de la grossesse
- Malade revue après l'accouchement

Les critères d'exclusion étaient les suivant :

- Dermatose spécifique de la grossesse
- hépatite chronique virale ou auto-immune
- Cirrhose biliaire primitive et cholangite sclérosante primitive
- Cholestase récurrente bénigne
- Traitement médicamenteux potentiellement hépatotoxique
- Infection urinaire au moment du diagnostic
- Infection en cours par les virus des hépatites virales virale A, B, ou C
- Infection liée au cytomégalovirus (CMV) ou à l'Epstein Barr virus (EBV)
- Traitement par AUDC avant la grossesse
- Absence de suivi après l'accouchement

Recueil des données.

Les données de cette étude sont issues des dossiers médicaux de consultations d'hépatologie et du dossier patient partagé (DPP) du CHRU.

Lorsque les malades avaient été traitées par AUDC durant plusieurs épisodes de CIG, seul le premier épisode de CIG traité par AUDC a été pris en compte.

Toutes les malades incluses dans cette étude ont été examinées en consultation d'hépatologie par le même médecin. Les paramètres cliniques et les résultats des principaux examens complémentaires étaient notifiés dans le dossier médical au moment de la consultation à l'aide d'une fiche standardisée.

Le recueil des données pour cette étude a été réalisé de manière rétrospective à partir de cette fiche standardisée. Ces données incluaient :

- Antécédents :
 - Antécédents familiaux de prurit ou cholestase durant la grossesse chez la mère et/ou les sœurs
 - Antécédents personnels de prurit durant la grossesse ou CIG, de mort fœtale in utéro, de cholestase induite par les œstro-progestatifs, de cholécystectomie

- Grossesse actuelle :
 - Gestité et parité
 - Dates des dernières règles et de début présumé de grossesse
 - Grossesse unique ou multiple
 - Présence d'un diabète gestationnel
 - Signes de pré-éclampsie (HTA, protéinurie)
 - Poids en début du traitement
- Évaluation du prurit :
 - Date de début du prurit
 - Évolution du prurit sous traitement
 - Date de disparition du prurit par rapport à l'accouchement
 - Existence d'un ictère associé au prurit
- Résultats des principaux examens complémentaires :
 - Examen cytobactériologique des urines
 - Échographie hépatique et des voies biliaires. La présence d'une lithiase biliaire ou un antécédent de cholécystectomie étaient notés
 - Sérologies des hépatites virales A, B, et C, et du CMV et de l'EBV
 - Auto-anticorps des hépatopathies (anti-nucléaires, anti-LKM1, anti-cytosol, anti-muscle lisses et spécificité anti-actine, antimitochondries)
- Traitements de la CIG :
 - Date de début et d'arrêt de l'AUDC
 - Posologie de l'AUDC
 - Initiation progressive ou non de l'AUDC
 - Prise de cholestyramine et d'hydroxyzine
- Modalités d'accouchement :
 - Date et terme
 - Travail spontané ou déclenché
 - Mode d'accouchement (voie basse ou césarienne)
- Caractéristiques du nouveau-né :
 - Poids
 - Score d'Apgar à la 5^{ème} minute
 - Hospitalisation en néonatalogie ou réanimation néonatale

- Suivi à distance de l'accouchement

Tests hépatiques.

Les tests hépatiques étaient mesurés à jeun dans les laboratoires du CHRU ou dans le laboratoire du centre hospitalier responsable de la prise en charge obstétricale, ou dans un laboratoire de ville. La surveillance biologique hépatique pour les prélèvements effectués au CHRU était standardisée grâce à un protocole "foie et grossesse" et incluait les tests hépatiques de routine (ASAT, ALAT, PAL, GGT, bilirubine totale et conjuguée) et le dosage des acides biliaires sériques. Les tests hépatiques effectués en dehors du CHRU ne comprenaient pas systématiquement le dosage des acides biliaires (test hors nomenclature non remboursable). Ces tests hépatiques étaient effectués avant le début du traitement par AUDC, et régulièrement jusqu'à l'accouchement (le plus souvent une fois par semaine). Les valeurs des tests hépatiques de routine et du taux des acides biliaires sériques mesurées avant le début du traitement par AUDC, puis chaque semaine jusqu'à l'accouchement (si disponibles), et celles mesurées à distance de l'accouchement ont été relevées. Les valeurs du TP effectué avant le début du traitement et avant l'accouchement ont été également relevées

L'activité sérique de l'ALAT, de l'ASAT, de la GGT, des PAL, et le taux sérique de la bilirubine totale et conjuguée ont été mesurés par les techniques de routine et sont données à 37°C. Le taux sérique d'AB était mesuré à jeun selon une méthode enzymatique (Enzabile NYCOMED AS, Oslo, et Total Bile Acids, Biostat diagnostic system, Cheschire).

Les valeurs normales suivantes ont été retenues pour cette étude :

- ASAT \leq 30 UI/l
- ALAT \leq 35 UI/l
- GGT \leq 35 UI/l
- PAL \leq 120 UI/l
- Bilirubine totale \leq 17 μ mol/l
- AB \leq 10 μ mol/l

Détection des variants génomiques du gène ABCB4.

La recherche des variants génomiques du gène ABCB4 a été réalisée chez toutes les malades de cette étude à partir d'une prise de sang veineux périphérique, après les avoir informées et obtenu leur consentement écrit. L'ADN a été extrait à partir de leucocytes par une procédure standard. La recherche des variants génomiques d'ABCB4 a été réalisée par séquençage direct des 27 exons d'ABCB4. L'amplification génique *in vitro* (PCR) a été réalisée dans un volume final de 25 µl en utilisant 100 ng d'ADN dans une solution 50mM de KCl, 10mM Tris/HCl, 1,5mM MgCl₂, 200 µM dNTP 1,5 U Taq polymérase (Promega, Madison, Wisconsin, USA), et 20 à 50 pmoles de chaque amorce encadrant spécifiquement les exons d'ABCB4. Pour le séquençage, les produits de la PCR ont été purifiés sur gel d'agarose, puis séquencés selon la méthode de Sanger à l'aide du kit de réaction ABI prim BigDye terminator cycle sequencing (PE Applied Biosystems). Les produits de séquençage ont ensuite été purifiés par aspiration sur système Millipore puis analysés par électrophorèse capillaire sur un séquenceur ABI Prism 3130XL 16-capillary (PE Applied Biosystems).

Evaluation de l'impact d'un changement d'acide aminé.

Le logiciel de prédiction *in silico* Polyphen-2 est un outil mathématique basé sur des algorithmes permettant de prédire l'impact d'un changement d'acide aminé sur la structure et la fonction d'une protéine humaine.¹³⁹ Cette évaluation est basée sur un certain nombre de caractéristiques comprenant la séquence, des informations structurales et phylogénétiques caractérisant la substitution. Cet outil permet de calculer un score, de 0 à 1, évaluant l'impact d'un changement d'acide aminé sur la structure ou la fonction d'une protéine : le Position-Specific Independent Counts (PSIC) score. Par ce score, une mutation peut être classée « bénigne », « potentiellement dommageable », ou « probablement dommageable ». Plus le PSIC est faible, proche de 0,00, plus la substitution est bénigne. Plus le PSIC est proche de 1,00, plus la substitution d'acide aminé est potentiellement responsable d'un dommage structurel ou fonctionnel sur la protéine. Seules les mutations faux-sens peuvent être évaluées par Polyphen-2. Les PSIC scores rapportés dans cette thèse sont issus du serveur *NHLBI Grand Opportunity Exome Sequencing Project* (<https://esp.gs.washington.edu/drupal/>).

Évaluation de l'efficacité du traitement par AUDC.

- *Évaluation de l'efficacité de l'AUDC sur le prurit.*

Les malades ont été réparties en trois groupes selon l'évolution du prurit au cours du traitement par AUDC : disparition, amélioration sans disparition, ou absence d'amélioration avant l'accouchement. Cette évaluation a été faite selon l'impression ressentie par la malade sans utilisation d'une échelle visuelle analogique. La prise concomitante d'hydroxyzine n'a pas été prise en compte pour cette évaluation.

- *Évaluation de l'efficacité de l'AUDC sur les tests hépatiques.*

Les valeurs des tests hépatiques mesurées chaque semaine durant les 3 premières semaines de traitement, et celles mesurées sur le dernier prélèvement sous traitement ont été comparées aux valeurs mesurées avant le début du traitement.

Les proportions de malades ayant normalisé l'ALAT, et celles dont l'ALAT a diminué d'au moins 50 % (avec ou sans normalisation) après deux à trois semaines de traitement par AUDC ont été évaluées.

La réponse au traitement a été définie par une diminution d'au moins 50% de l'activité de l'ALAT après deux à trois semaines de traitement.

La proportion de malades dont la concentration sérique des AB a diminué d'au moins 50% (avec ou sans normalisation) après deux à trois semaines de traitement par AUDC a été évaluée.

Étude des facteurs prédictifs de réponse au traitement par l'AUDC :

Trois critères de jugements ont été utilisés pour rechercher des facteurs prédictifs de réponse au traitement par l'AUDC :

1. L'amélioration du prurit entre le début du traitement et l'accouchement.

Les malades du groupe "disparition" et celles du groupe "amélioration sans disparition du prurit" ont été réunies en un seul groupe "amélioration" et comparées aux malades du groupe "absence d'amélioration".

2. La diminution de l'activité sérique de l'ALAT.

La réponse au traitement par AUDC était définie par une diminution d'au moins 50% du taux d'ALAT après deux à trois semaines de traitement.

3. La diminution de la concentration sérique des acides biliaires.

La réponse au traitement par AUDC était définie par une diminution d'au moins 50% de la concentration sérique des acides biliaires après deux à trois semaines de traitement.

Les variables explicatives suivantes ont été évaluées :

- L'antécédent personnel de CIG
- La parité (primipare versus multipare)
- La présence ou non d'un diabète gestationnel
- L'existence d'une maladie lithiasique associée. La maladie lithiasique était définie par un antécédent de cholécystectomie pour lithiase, ou par la présence d'au moins un calcul, à l'échographie. L'existence d'un sludge vésiculaire n'était pas à lui seul considéré comme une lithiase.
- Une activité sérique de l'ALAT supérieur à 5 fois la normale (175 UI/l)
- Une activité sérique de la GGT supérieur à 2 fois la normale (70 UI/l)
- Un taux sérique d'AB supérieur à 40 $\mu\text{mol/l}$
- Un taux de bilirubine supérieur à 20 $\mu\text{mol/l}$
- Le délai entre le diagnostic et l'instauration du traitement
- La dose pondérale d'AUDC
- L'initiation à dose progressive ou non de l'AUDC
- L'existence d'une mutation du gène ABCB4

L'analyse statistique :

La saisie des questionnaires a été réalisée via un fichier Excel® et l'analyse des données a été effectuée sous le logiciel SAS®. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm écart-type, avec les extrêmes. Les proportions sont exprimées en pourcentage.

La comparaison des proportions entre groupes a été réalisée avec le test du Khi-2 ou le test exact de Fisher (effectifs théoriques < 5). La comparaison des moyennes entre les groupes a été réalisée avec les tests t de student ou Anova. La valeur des Risques Relatifs (RR) et leur intervalle de confiance à 95% (IC 95%), ont été déterminés par la méthode de Mantel-Haenszel.

Toutes ces mesures ont été réalisées avec un risque de première espèce α à 5% ($p < 0,05$).

3. Résultats.

La population :

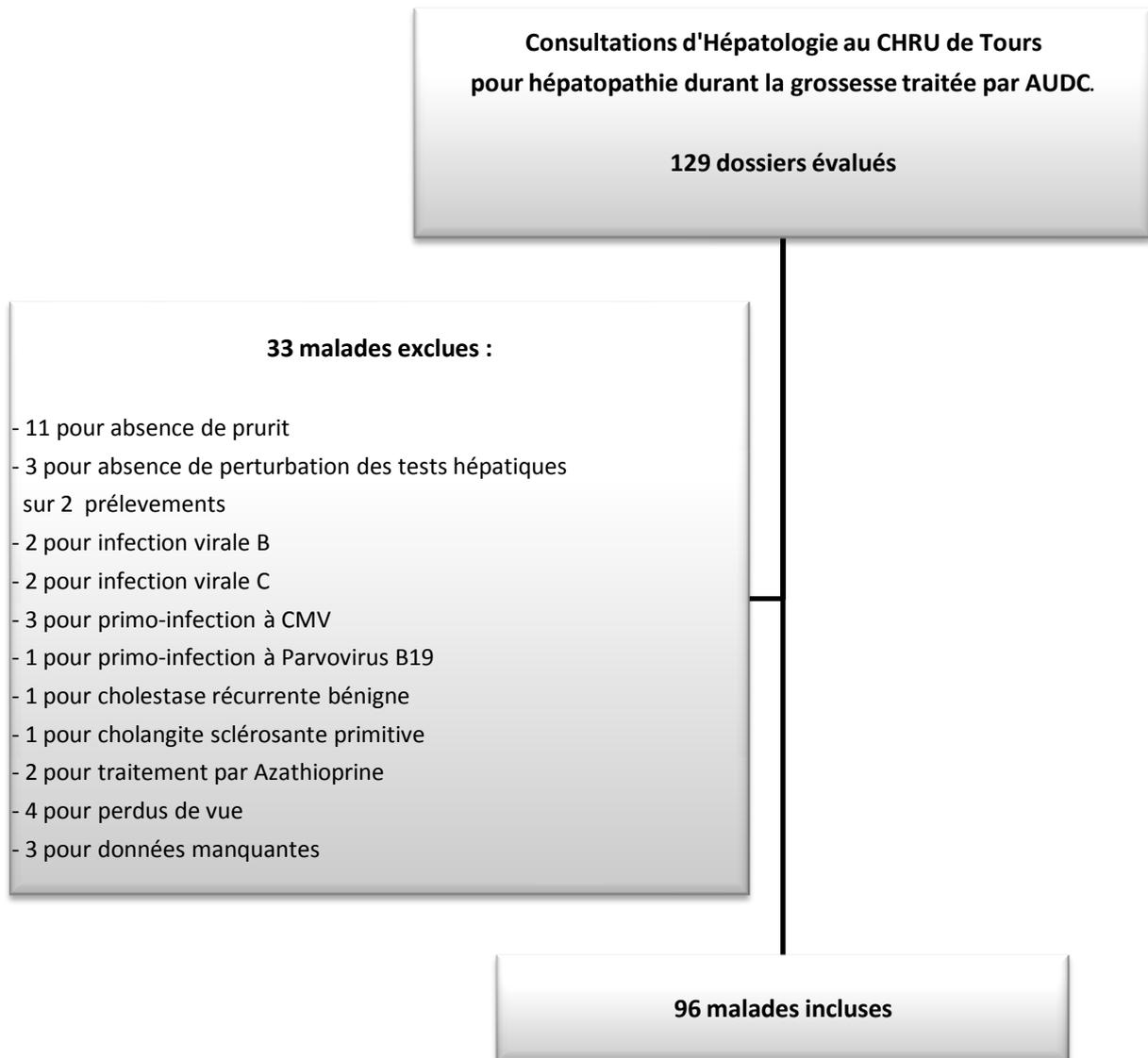


Figure n°12 : Diagramme de flux

Entre Décembre 1998 et Décembre 2013, 129 malades enceintes ont été examinées en consultation d'Hépatologie du CHRU de Tours pour une hépatopathie et traitées par l'AUDC. Parmi ces 129 malades, 33 ont été exclues de l'étude. Les causes d'exclusion de ces 33 malades sont données dans la figure n°12. Les malades étaient suivies conjointement par l'hépatologue et les équipes obstétricales du CHU de Tours, ou des centres hospitaliers de Blois, de Châteaudun, de Châteauroux, de Chinon, d'Orléans, de Vendôme, de Vierzon, et de la clinique du Parc puis du Pôle Santé Léonard de Vinci de Tours.

Quatre-vingt-seize femmes ont été incluses dans cette étude. Les caractéristiques clinico-biologiques de la population sont données dans le tableau n°5. Les caractéristiques du traitement médical des 96 malades sont rapportées dans le tableau n°6. Toutes les malades ont reçu un traitement par AUDC à la posologie de 1000 mg/j, à l'exception de 3 malades traitées par 750 mg d'AUDC par jour.

Les caractéristiques obstétricales sont rapportées dans le tableau n°7. Il y avait 16,67% (16/96) de grossesses multiples. Les 96 malades ont donné naissance à 112 enfants. Une malade présentant une grossesse gémellaire a eu une MFIU à 33 SA. Le poids moyen de naissance des enfants était de $2,92 \pm 0,61$ kg (extrêmes: 1,25-4,49 kg). Parmi les 112 nouveau-nés, 39 (35,71%) sont nés avant 37 SA, dont 22 étaient issus de grossesses multiples. Le score d'Apgar à 5 minutes était de 10/10 pour 90,48% des nouveau-nés (94/104), à 9 pour 8,66% (9/104), et à 8 pour un enfant issu d'une grossesse triple. Aucun nouveau-né n'a présenté un score d'Apgar à 5 minutes ≤ 7 . Parmi les 84 nouveau-nés pour lesquels on disposait de l'information 17 (20,24%) ont été hospitalisés en néonatalogie ou en réanimation néonatale.

Pour 26,04% (25/96) des malades le prurit avait disparu avant l'accouchement, et pour 70,83% (68/96) dans les 7 jours après l'accouchement. Dans les mois 3 mois suivant l'accouchement, le taux sérique d'AB était normalisé chez toutes les femmes pour lesquelles le dosage a été effectué (84/96), et 63,41% (52/82) des femmes avaient normalisé leurs tests hépatiques.

Tableau n°5 : Caractéristiques clinico-biologiques des 96 malades avec une CIG traitée par AUDC.

Age moyen (année)	30,97 ± 4,98 (19,2 - 42,9)
Ethnie	
• Caucasienne	86 (89,58%)
• Non caucasienne	10 (10,42%)
Antécédent familial de CIG	8 (8,33%)
Antécédent personnel de CIG	40 (41,67%)
Antécédent personnel de MFIU secondaire à la CIG	2 (2,08%)
Maladie lithiasique	25 (26,04%)
• Antécédent de cholécystectomie	12 (48%)
• Calcul visualisé à l'échographie	13 (52%)
Mutation du gène ABCB4	17 (17,71%)
Poids moyen	72,89 ± 13,08 (51 - 111)
Diabète gestationnel	14 (14,58%)
Début du prurit (jours)	211,08 ± 26,66 (113 - 242)
Début du prurit (SA)	30+1 (16 - 36)
Ictère	4 (4,16%)
Taux sérique des acides biliaires (µmol/l)	26,61 ± 28,71 (2 - 139)
• acides biliaires ≤ 40 µmol/l	79/95 (83,16%)
• acides biliaires > 40 µmol/l	16/95 (16,84%)
Activité sérique de l'ALAT (UI/l)	308,46 ± 274,2 (22 - 1443)
• ≤ 175 UI/l	42 (43,75%)
• > 175 UI/l	54 (56,25%)
Taux sérique de bilirubine totale (µmol/l)	17,29 ± 11,5 (5 - 77)
• < 20 µmol/l	62/95 (65,28%)
• 20 - 50 µmol/l	31/95 (32,63%)
• > 50 µmol/l	2/95 (2,09%)
Activité sérique de la GGT (UI/l)	37,5 ± 37,96 (5 - 267)
• ≤ 70 UI/l	85/95 (89,47%)
• > 70 UI/l	10/95 (10,53%)
Taux de prothrombine initial (%)	102% ± 7,5 (85 - 120)

Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (extrêmes) ou en nombre (pourcentage) ; SA : semaines d'aménorrhée.

Tableau n°6 : Traitement médical de la CIG chez 96 malades avec une CIG traitée par AUDC.

Début de la prise d'AUDC (jours)	229,8 ± 20,9 (4 - 258)
Délai entre le diagnostic et la prise d'AUDC (jours)	18,7 ± 12,1 (3 - 67)
<ul style="list-style-type: none"> • ≤ 15 jours • > 15 jours 	<p style="text-align: right;">44 (45,83%)</p> <p style="text-align: right;">52 (54,17%)</p>
Dose progressive	11 (11,46%)
Dose-pondérale (mg/kg)	14,0 ± 2,4 (9,0 - 19 ,6)
<ul style="list-style-type: none"> • ≤ 15 mg/kg • > 15 mg/kg 	<p style="text-align: right;">64 (66,67%)</p> <p style="text-align: right;">32 (33,33%)</p>
Durée moyenne de la prise d'AUDC (jours)	30,9 ± 19,2 (6 - 118)
Prise de cholestyramine	9 (9,38%)
Prise d'hydroxyzine	40 (41,67%)

Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (extrêmes) ou en nombre (pourcentage).

Tableau n°7 : Caractéristiques obstétricales des 96 malades avec une CIG traitée par AUDC.

Grossesse	
Parité	
<ul style="list-style-type: none"> • Primipare • Multipare 	<p style="text-align: right;">34 (35,42%)</p> <p style="text-align: right;">62 (64,5%)</p>
Type de grossesse	
<ul style="list-style-type: none"> • Simple • Gémellaire • Triple 	<p style="text-align: right;">80 (83,33%)</p> <p style="text-align: right;">15 (15,63%)</p> <p style="text-align: right;">1 (1,04%)</p>
Accouchement	
Terme (jours)	261,1 ± 9,5 (216 - 273)
Terme (SA)	37+2 SA (30 - 39)
Menace d'accouchement prématuré	14/95 (14,74%)
Type d'accouchement	
<ul style="list-style-type: none"> • Voie basse • Césarienne 	<p style="text-align: right;">57 (59,38%)</p> <p style="text-align: right;">39 (40,62%)</p>
Déclenchement	64 (66,67%)
Type de maternité	
<ul style="list-style-type: none"> • Niveau I • Niveau II • Niveau III (CHRU Tours et CHR Orléans) 	<p style="text-align: right;">10 (10,42%)</p> <p style="text-align: right;">27 (28,12%)</p> <p style="text-align: right;">59 (61,46%)</p>

Les données sont exprimées en moyenne \pm écart-type (extrêmes) ou en nombre (pourcentage) ; SA : semaines d'aménorrhée.

Evaluation de l'efficacité du traitement par AUDC.

L'évolution du prurit sous AUDC.

Le prurit a régressé chez 52,10% (50/96) des malades, et il a disparu chez 26,04% (25/96) des malades. 21,86% (21/96) des malades n'ont pas eu d'amélioration de leur prurit sous traitement. Le prurit a toujours disparu après l'accouchement.

L'évolution des tests hépatiques sous AUDC.

L'évolution de la moyenne des tests hépatiques entre le début du traitement et le dernier prélèvement réalisé sous traitement est rapportée dans le tableau n°8. Il existait une différence significative entre l'initiation et le dernier prélèvement sous traitement pour tous les paramètres à l'exception des PAL.

L'évolution hebdomadaire des tests hépatiques sous traitement par AUDC est rapportée dans les tableaux n°9 et n°10, et les figures de 13 à 17. On observe une diminution significative des transaminases (ALAT et ASAT) entre le début du traitement par l'AUDC et la première semaine de traitement ($p = 0,017$ et $p = 0,0001$) ; et entre la première et la deuxième semaine de traitement ($p = 0,0022$ et $p = 0,0032$). Il y a une diminution significative de la GGT après une semaine de traitement ($p = 0,0054$). Il y a également une diminution significative de la bilirubine totale après une semaine de traitement ($p = 0,0001$). Pour les AB, on ne constate pas de diminution significative entre l'initiation et la première semaine de traitement ou entre deux semaines de traitement successives, mais il y a une diminution significative entre le début de l'AUDC et la deuxième semaine de traitement ($p = 0,0115$).

La normalisation des tests hépatiques est rapportée dans le tableau n°11. Dès la deuxième semaine de traitement près de 32,53% (27/83) des malades ont une activité sérique de l'ALAT ≤ 35 UI/l, 52% (39/75) un taux sérique des AB ≤ 10 $\mu\text{mol/l}$, et 96,25% (77/80) un taux sérique de bilirubine totale ≤ 17 $\mu\text{mol/l}$.

Parmi les 96 malades incluses dans cette cohorte, 85 malades ont eu un bilan biologique à la deuxième et/ou la troisième semaine de traitement. 78,82% (67/85) des malades présentaient une diminution d'au moins 50% de l'activité sérique des ALAT.

Les malades répondeuses à l'AUDC avaient significativement moins d'antécédent personnel de CIG que les non-répondeuses (34,3% (23/67) versus 77,8% (14/18); $p = 0,001$). Elles avaient une activité sérique de l'ALAT plus importante ($369,0 \pm 274,2$ UI/l versus $95,0 \pm 93,0$ UI/l; $p \leq 0,001$). Elles avaient une amélioration du prurit significativement plus importante (86,6% (58/67) versus 44,4% (8/14); $p = 0,001$).

59,38% (57/96) des femmes présentaient une diminution d'au moins 50% du taux sérique d'AB après deux semaines de traitement par AUDC.

Tableau n°8 : Evolution des tests hépatiques entre le début et la fin du traitement.

	Nombre de malades	Début de traitement	Dernier prélèvement sous traitement	p
ALAT (UI/l)	96	308,5 ± 274,2	94,7 ± 104,8	<0,0001
ASAT (UI/l)	96	171,2 ± 165,6	56,33 ± 61,0	<0,0001
GGT (UI/l)	92	37,5 ± 37,9	24,5 ± 30,3	0,0102
PAL (UI/l)	88	228,7 ± 213,3	235,4 ± 66,5	ns
Bilirubine totale (µmol/l)	92	17,3 ± 11,5	10,02 ± 6,4	<0,0001
Acides biliaires (µmol/l)	95	26,6 ± 28,7	18,44 ± 19,9	0,0237

Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type. ns : non significatif.

Tableau n°9 : Evolution des tests hépatiques sous traitement par AUC chez 96 malades avec une CIG traitée par AUC (comparaison entre chaque semaine de traitement)

	Début du TT	1 ^{ère} semaine	p	2 ^{ème} semaine	p	3 ^{ème} semaine	p
ALAT (UI/l)	308,5 ± 274,2 n = 96	193,9 ± 213,7 n = 89	0,0017	107,4 ± 147,5 n = 83	0,0022	88,7 ± 98,9 n = 65	ns
ASAT (UI/l)	171,2 ± 165,6 n = 96	92,1 ± 100,6 n = 88	0,0001	54,4 ± 58,9 n = 82	0,0032	51,5 ± 42,3 n = 65	ns
GGT (UI/l)	37,5 ± 37,9 n = 96	25,1 ± 21,0 n = 88	0,0054	22,3 ± 15,7 n = 82	ns	21,6 ± 16,8 n = 64	ns
PAL (UI/l)	228,7 ± 213,3 n = 96	223,0 ± 70,1 n = 88	ns	220,6 ± 68,4 n = 83	ns	226,7 ± 73,0 n = 64	ns
Bilirubine totale (µmol/l)	17,3 ± 11,5 n = 95	11,3 ± 9,7 n = 88	0,0001	10,6 ± 8,9 n = 80	ns	10,7 ± 8,1 n = 60	ns
Acides biliaires (µmol/l)	26,6 ± 28,7 n = 95	22,0 ± 27,3 n = 80	ns	17,2 ± 19,2 n = 75	ns	15,2 ± 18,8 n = 59	ns

Données exprimées en moyenne ± écart-type. TT : traitement. n : nombre de malades évaluées. ns : non significatif. Les valeurs de p correspondent aux résultats de la comparaison des moyennes entre deux semaines successives de traitement.

Tableau n°10 : Evolution des tests hépatiques sous traitement par AUDC
(comparaison de chaque semaine de traitement par rapport au début du traitement)

	Début du TT	1 ^{ère} semaine	p	2 ^{ème} semaine	p	3 ^{ème} semaine	p
ALAT (UI/l)	308,5 ± 274,2 n = 96	193,9 ± 213,7 n = 89	0,0017	107,4 ± 147,5 n = 83	0,0001	88,7 ± 98,9 n = 65	0,0001
ASAT (UI/l)	171,2 ± 165,6 n = 96	92,1 ± 100,6 n = 88	0,0001	54,4 ± 58,9 n = 82	0,0001	51,5 ± 42,3 n = 65	0,0001
GGT (UI/l)	37,5 ± 37,9 n = 96	25,1 ± 21,0 n = 88	0,0054	22,3 ± 15,7 n = 82	0,0005	21,6 ± 16,8 n = 64	0,0004
PAL (UI/l)	228,7 ± 213,3 n = 96	223,0 ± 70,1 n = 88	ns	220,6 ± 68,4 n = 83	ns	226,7 ± 73,0 n = 64	ns
Bilirubine totale (µmol/l)	17,3 ± 11,5 n = 95	11,3 ± 9,7 n = 88	0,0001	10,6 ± 8,9 n = 80	0,001	10,7 ± 8,1 n = 60	0,0001
Acides biliaires (µmol/l)	26,6 ± 28,7 n = 95	22,0 ± 27,3 n = 80	ns	17,2 ± 19,2 n = 75	0,0115	15,2 ± 18,8 n = 59	0,0032

Données exprimées en moyenne ± écart-type. TT : traitement. n : nombre de malades évaluées. ns : non significatif. Les valeurs de p correspondent aux résultats de la comparaison des moyennes entre le début et chaque semaine de traitement.

Tableau n°11 : Évolution des tests hépatiques au cours du traitement chez 96 femmes avec une CIG.

	1 ^{ère} semaine	2 ^{ème} semaine	3 ^{ème} semaine	Dernier prélèvement sous TT
ALAT ≤ 35 UI/l	9/89 (10,11%)	27/83 (32,53%)	20/65 (30,8%)	33/96 (34,36%)
ASAT ≤ 30 UI/l	24/92 (26,08%)	38/82 (46,34%)	27/65 (41,54%)	39/96 (40,62%)
GGT ≤ 35 UI/l	77/89 (86,52%)	67/82 (81,71%)	53/64 (82,81%)	77/92 (83,70%)
Bilirubine totale ≤ 20 µmol/l	83/88 (94,32%)	77/80 (96,25%)	50/59 (84,7%)	88/92 (95,65%)
Acides biliaires ≤ 10 µmol/l	35/80 (43,75%)	39/75 (52%)	31/59 (52,5%)	44/96 (45,83%)

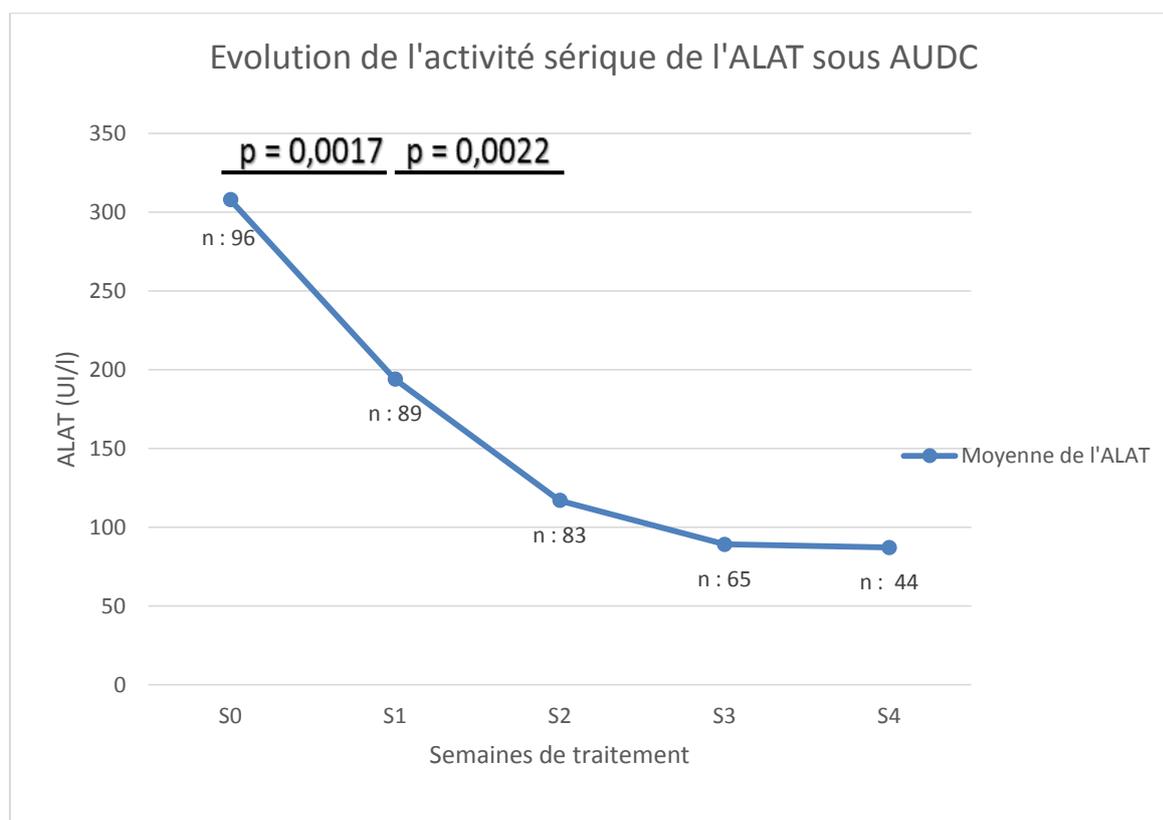


Figure n°13 : Evolution de l'activité sérique de l'ALAT sous AUDC.

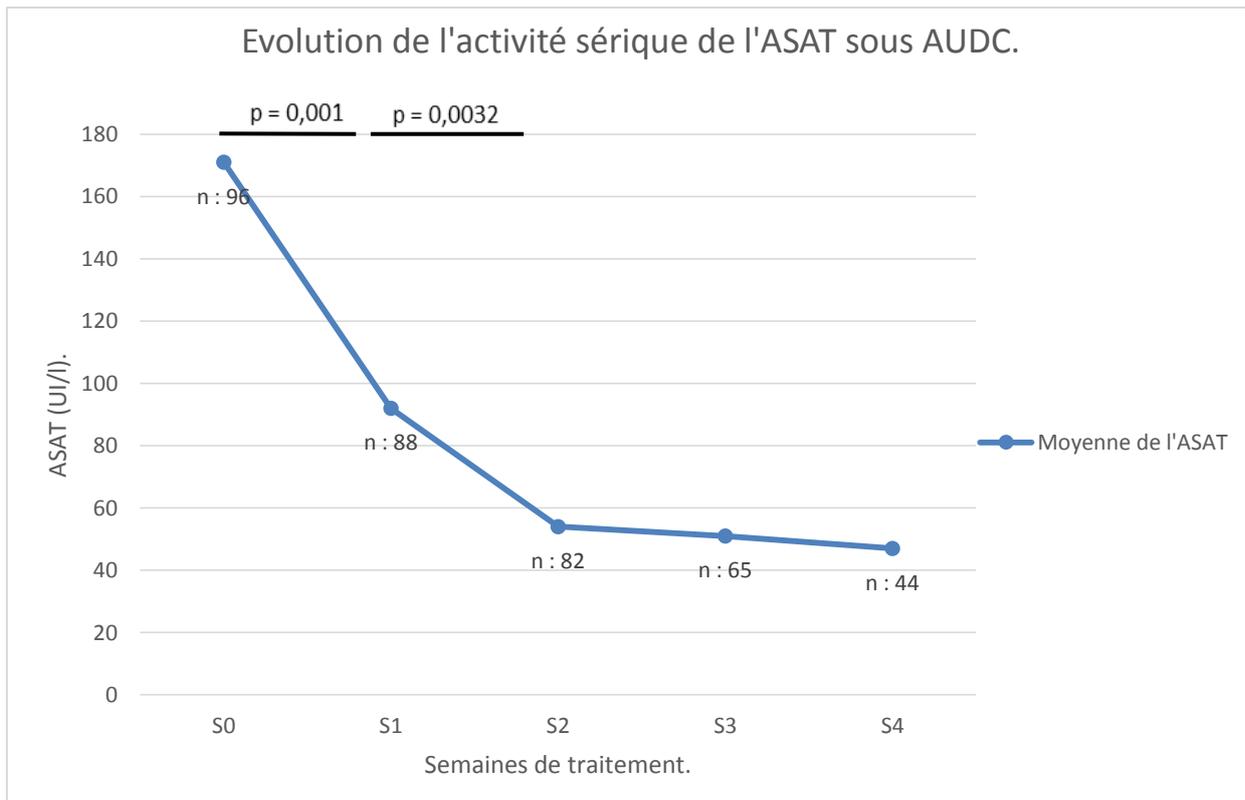


Figure n°14 : Evolution de l'activité sérique de l'ASAT sous AUCD.

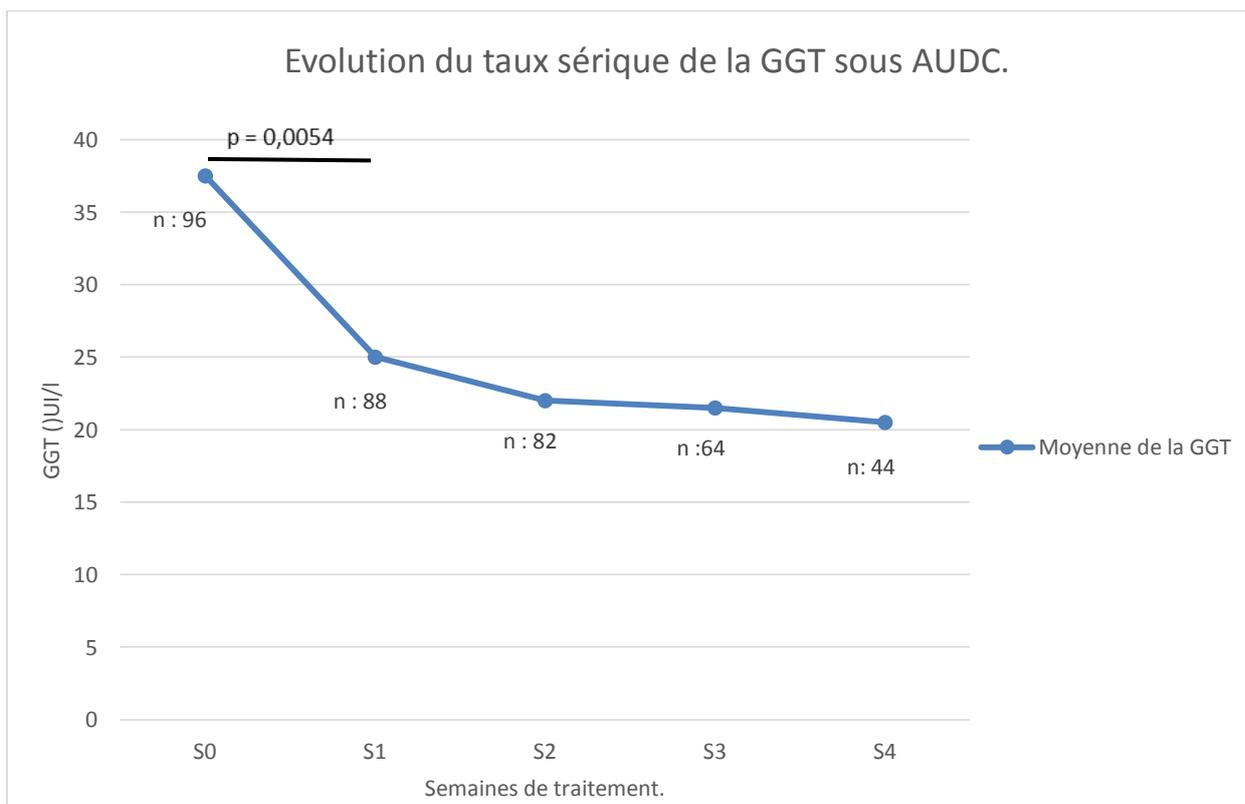


Figure n°15 : Evolution du taux sérique des GGT sous AUCD.

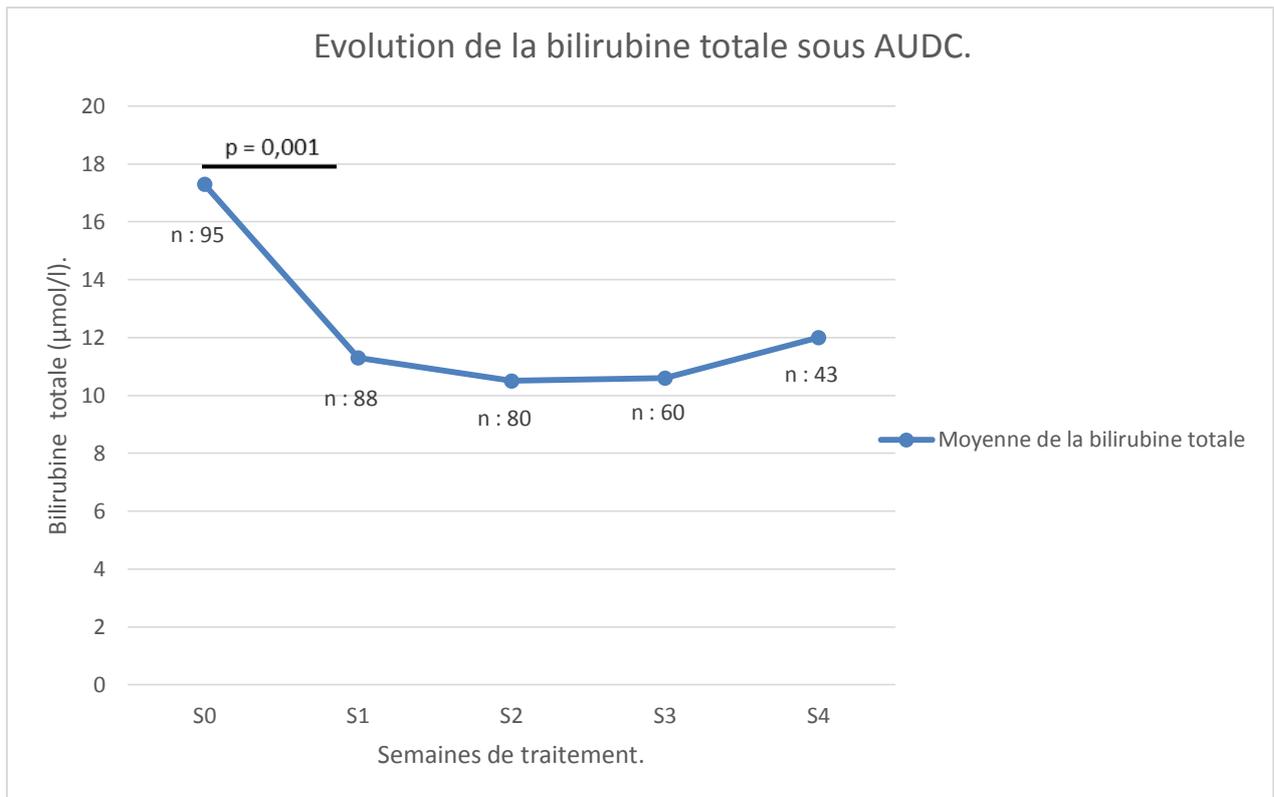


Figure n°16 : Evolution du taux sérique de la bilirubine totale sous AUC.

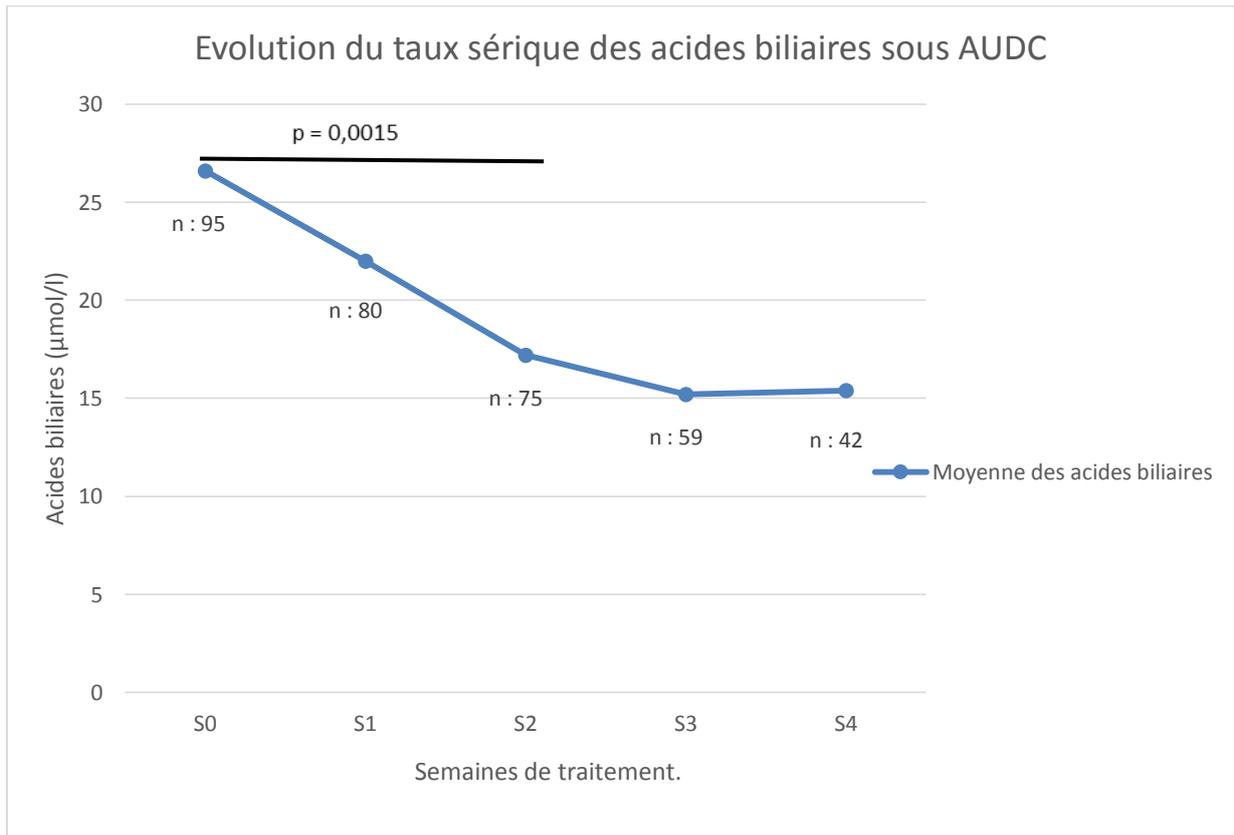


Figure n°17 : Evolution du taux sérique des acides biliaries sous AUC.

Les mutations d'ABCB4.

Les mutations d'ABCB4 mise en évidence chez les 96 malades sont rapportées dans le tableau n°12. Neuf mutations ont été mise en évidence, 6 mutations faux-sens (c.902T>C, c.959C>T, c.1769G>A, c.2144C>T, c.2210C>T, et c.2800G>A), 2 mutations non-sens (c.94insA, et c.462C>T), et une mutation intronique (c.3486+1G>T). Les mutations c.959C>T, et c.1769G>A sont les mutations les plus fréquentes.

Les caractéristiques des femmes présentant une mutation du gène ABCB4 sont rapportées dans le tableau n°13. Parmi les 17 femmes présentant une mutation d'ABCB4, 7 présentaient une cholestase sévère (AB > 40 µmol/l), et 3 d'entre elles avaient un ictère. Les caractéristiques clinico-biologiques des patientes ayant ou non une mutation d'ABCB4 sont rapportées dans le tableau n°14. Le prurit survenait plus précocement, la durée du traitement était significativement plus longue, et le taux sérique des AB était significativement plus élevé chez les femmes présentant une mutation d'ABCB4 (Tableau n°14).

Une malade présentait la mutation c.959C>T à l'état homozygote. Elle avait une CIG sévère avec un prurit dès la 18^{ème} SA, un ictère, et un taux d'AB à 133 µmol/l. Au cours du traitement par AUDC, l'activité sérique de l'ALAT qui était à 919 UI/l avant le début du traitement était à 607 après 2 semaines de traitement, et à 43 UI/l en fin de traitement. Le taux d'AB a régressé sous traitement passant de 133 à 51 µmol/l. Le prurit s'est amélioré sans disparaître sous AUDC. Cette patiente a donné naissance à 36+1 SA par voie basse à un enfant de 2,5 Kg, avec un score d'Apgar à 5 minutes à 10/10.

Tableau n°12 : Les mutations d'ABCB4 mises en évidence.

Mutation d'ABCB4	Fréquence	Retentissement protéique	Statut	PSIC score by Polyphen-2	Référence
c.94insA	1/17 (5,88%)	54del (codon-stop en 54)	Hétérozygote	inconnu	Cette étude
c.462C>T	2/17 (11,76%)	R144X (remplacement d'une arginine par un codon stop en 144)	Hétérozygote	inconnu	GENDROT and al.2003
c.902T>C	1/17 (5,88%)	M301T (remplace d'une méthionine par une thréonine en en 301)	Hétérozygote	Inconnu	ROSMORDUC and al. 2003
c.959C>T	4/17 (23,53%)	S320F (remplacement d'une serine par une phénylalanine en 320)	Hétérozygote Homozygote	0,956	BACQ and al. 2009
c.1769G>A	4/17 (23,53%)	R590Q (remplacement d'une arginine par une glutamine en 590)	Hétérozygote	1,0	BACQ and al. 2009
c.2144C>T	1/17 (5,88%)	T715I (remplacement d'une thréonine par une isoleucine en 715)	Hétérozygote	0,01	DEGIORGIO and al. 2007
c.2210C>T	1/17 (5,88%)	A737V (remplacement d'une alanine par une valine en 737)	Hétérozygote	0,098	DEGIORGIO and al. 2007
c.2800G>A	2/17 (11,76%)	A934T (remplacement d'une alanine par une thréonine en 934)	Hétérozygote	0,994	ROSMORDUC and al. 2003
c.3486+1G>T	1/17 (5,88%)	Mutation intronique responsable d'une anomalie d'épissage	Hétérozygote	inconnu	Cette étude

Tableau n°13 : Caractéristiques des femmes présentant une mutation d'ABCB4.

	Mutation	Statut	Maladie lithiasique associée	Début du prurit (SA)	Ictère	ALAT (UI/l)	AB (µmol/l)	Détresse fœtale	Durée de gestation (SA)	Normalisation du bilan hépatique à 3 mois
1	c.1769G>A	Hétérozygote	Non	30+3	Non	48	18	Non	36+5	Oui
2	c.959C>T	Hétérozygote	Non	30+4	Non	573	67	Oui	35	Oui
3	c.462C>T	Hétérozygote	Non	29+4	Non	262	17	Non	38+1	Non
4	c.2800G>A	Hétérozygote	Non	25+4	Non	596	32	Non	37+3	Oui
5	c.3486+1G>T	Hétérozygote	Non	22+1	Non	336	53	Oui	36+4	Non
6	c.462C>T	Hétérozygote	Non	18+2	Non	421	24	Non	37+4	Non
7	c.2800G>A	Hétérozygote	Non	33+2	Non	32	19	Non	38	Oui
8	c.2144C>T	Hétérozygote	Oui	30+4	Non	352	19	Non	37+6	Oui
9	c.959C>T	Homozygote	Oui	18	Oui	919	133	Non	36+1	Non
10	c.1769G>A	Hétérozygote	Oui	27+6	Non	157	9	Oui	37+2	Oui
11	c.902T>C	Hétérozygote	Non	16+1	Non	455	71	Non	36+4	Non
12	c.94insA	Hétérozygote	Non	27	Non	123	77	Non	30+5	Non
13	c.959C>T	Hétérozygote	Oui	24+2	Oui	1049	108	Non	36+5	Non
14	c.959C>T	Hétérozygote	Oui	34	Non	102	37	Non	38+4	Non
15	c.1769G>A	Hétérozygote	Non	33+1	Non	380	10	Non	36+2	Oui
16	c.1769G>A	Hétérozygote	Non	32+3	Non	52	10	Non	38+3	Oui
17	c.2210C>T	Hétérozygote	Non	33+2	Non	681	27	Non	38	Oui

Tableau n°14 : Caractéristiques clinico-biologiques des malades en fonction de la présence d'une mutation d'ABCB4.

	Présence d'une mutation d'ABCB4 n = 17	Absence de mutation d'ABCB4 n = 79	p
Age (années)	29,3 ± 4,7	31,3 ± 4,9	ns
Ethnie caucasienne	12 (70,6%)	74 (93,7%)	0,014
Antécédent personnel de CIG	8 (47,1%)	32 (40,5%)	ns
Maladie lithiasique	5 (29,4%)	17 (21,5%)	ns
Primipare	7 (41,2%)	27 (34,2%)	ns
Diabète gestationnel	2 (11,8%)	12 (15,2%)	ns
Début du prurit (jours d'aménorrhée)	192,1 ± 40,8	215,2 ± 20,7	0,001
Délai entre le diagnostic et le début de l'AUDC (jours)	20,8 ± 13,4	18,2 ± 11,8	ns
ALAT à S0 (UI/l)	384,6 ± 302,9	292,1 ± 266,9	ns
GGT à S0 (UI/l)	25,5 ± 13,3	40,1 ± 41,0	ns
Bilirubine totale S0 (µmol/l)	23,7 ± 19,4	15,9 ± 8,5	0,011
Acides biliaires S0 (µmol/l)	42,9 ± 36,7	23,1 ± 25,6	0,009
Dose-poids d'AUDC (mg/kg/j)	13,6 ± 2,8	14,1 ± 2,3	ns
Durée du traitement (jours)	44,8 ± 30,8	27,9 ± 14,2	0,001
Amélioration du prurit	12 (70,6%)	62 (78,5%)	ns
Réponse au traitement	12 (70,6%)	54 (68,4%)	ns
Terme (jours d'aménorrhée)	258,1 ± 12,6	261,7 ± 8,6	ns
Césarienne	4 (23,5%)	35 (44,3%)	ns
Apgar à la 5^{ème} minute	9,9 ± 0,3	9,9 ± 0,3	ns
Poids de naissance (Kg)	3055,3 ± 515,9	2896,5 ± 627,9	ns

Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type, et en nombre (pourcentage).
n : population. ns : non significatif.

Les facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC

Facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC en fonction de l'amélioration du prurit.

L'analyse univariée n'objective aucun facteur prédictif de réponse au traitement sur selon l'amélioration du prurit (Tableau n°15).

Tableau n°15 : Facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC en fonction de l'amélioration ou non du prurit chez 96 malades avec un CIG traitée par AUDC.

	Amélioration n = 75	Non-amélioration n = 21	Risque relatif (IC 95%)	p
Antécédent de CIG	27	13	0,788 (0,619 - 1,001)	0,0342
Parité (Multipare)	48	14	0,975 (0,319 - 1,212)	0,8222
Diabète gestationnel	12	2	1,116 (0,874 - 1,425)	0,4597
Mutation d'ABCB4	12	5	0,885 (0,639 - 1,227)	0,4098
Maladie Lithiasique	21	4	1,104 (0,891 - 1,369)	0,4111
ALAT > 175 UI/l	46	8	1,234 (0,979 - 1,554)	0,0591
GGT > 70 UI/l	10	0	1,323 (1,173 - 1,492)	0,0786
Bilirubine totale >20 µmol/l	23	7	0,977 (0,773 - 1,236)	0,8454
Acides biliaires > 40 µmol/l	13	3	1,054 (0,780 - 1,424)	0,7242
Délai diagnostic- traitement	44	8	1,213 (0,965 - 1,524)	0,0842
Dose d'AUDC (≥ 15mg/kg/j)	27	5	1,125 (0,916 - 1,382)	0,2974
Dose progressive d'AUDC	9	2	1,054 (0,780 - 1,424)	0,7541

n : population, IC 95% : intervalle de confiance à 95%.

Facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC en fonction de la diminution de l'ALAT.

En analyse univariée, l'antécédent personnel de CIG et la multiparité étaient des facteurs prédictifs de mauvaise réponse au traitement par AUDC (Tableau n°16). L'activité sérique de l'ALAT ≥ 175 UI/l, et la concentration sérique en AB ≥ 40 $\mu\text{mol/l}$ étaient des facteurs prédictifs de bonne réponse au traitement par AUDC (Tableau n°16).

Tableau n°16 : Facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC en fonction de la diminution de l'activité sérique des ALAT chez 85 malades atteintes de CIG traitée par AUDC.

	Répondeurs n = 67	Non-répondeurs n = 18	Risque relatif (IC 95%)	p
Antécédent de CIG	23	14	0,678 (0,520 - 0,884)	0,001
Multiparité	39	16	0,760 (0,626 - 0,923)	0,0156
Diabète gestationnel	8	4	0,825 (0,545 - 1,250)	0,2689
Mutation d'ABCB4	12	3	1,0182 (0,769 - 1,349)	0,9028
Maladie Lithiasique	21	4	1,104 (0,891 - 1,370)	0,4111
ALAT > 175 UI	47	1	1,812 (1,342 - 2,445)	<0,0001
GGT > 70 UI/l	9	1	1,164 (0,915 - 1,480)	0,3599
Bilirubine totale >20 $\mu\text{mol/l}$	23	3	1,129 (0,910 - 1,402)	0,3122
Acides biliaires > 40 $\mu\text{mol/l}$	14	0	1,346 (1,173 - 1,545)	0,0334
Délai diagnostic- traitement	38	8	1,111 (0,885 - 1,394)	0,3564
Dose d'AUDC ($\geq 15\text{mg/kg/j}$)	23	6	1,009 (0,801 - 1,271)	0,9374
Dose progressive d'AUDC	11	0	1,321 (1,161 - 1,504)	0,067

Parmi les 96 malades incluses, 85 malades ont eu un dosage de l'ALAT à la deuxième et/ou la troisième semaine de traitement.

Réponse : diminution d'au moins 50% du taux d'ALAT après deux à trois semaines d'AUDC.

Non-réponse : absence de diminution d'au moins 50% du taux d'ALAT après deux à trois semaines d'AUDC.

n : population, IC 95% : intervalle de confiance à 95%.

Facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC en fonction de la diminution des acides biliaires.

Pour ce critère de jugement, seul l'activité sérique de l'ALAT ≥ 175 U/l apparaissait comme un facteur prédictif de bonne réponse au traitement par AUDC (Tableau n°17).

Tableau n°17 : Facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC en fonction de la diminution d'au moins 50% du taux sérique des acides biliaires.

	Répondeurs n = 57	Non-répondeurs n = 22	Risque relatif (IC 95%)	p
Antécédent de CIG	26	10	1,002 (0,761 - 1,319)	0,9899
Parité (Multipare)	38	13	1,098 (0,812 - 1,484)	0,5280
Diabète gestationnel	9	2	1,159 (0,843 - 1,593)	0,4437
Mutation d'ABCB4	12	2	1,238 (0,947 - 1,619)	0,2149
Maladie Lithiasique	15	4	1,123 (0,848 - 1,501)	0,4512
ALAT > 5Nle (175UI/l)	37	7	1,472 (1,075 - 2,015)	0,0084
GGT > 2Nle (70 UI/l)	5	3	0,853 (0,490 - 1,486)	0,5233
Bilirubine totale >20 $\mu\text{mol/l}$	22	4	1,281 (0,995 - 1,651)	0,0854
Acides biliaires > 40 $\mu\text{mol/l}$	12	1	1,354 (1.078 - 1.699)	0,0780
Délai diagnostic- traitement	34	9	1,238 (0,926 - 1,654)	0,1363
Dose d'AUDC ($\geq 15\text{mg/kg/j}$)	17	9	0,866 (0,630 - 1,192)	0,3504
Dose progressive d'AUDC	9	1	1,294 (0,999 - 1,676)	0,1807

Parmi les 96 malades incluses, 79 malades ont eu un dosage des AB à la deuxième et/ou la troisième semaine de traitement.

Réponse : diminution d'au moins 50% du taux d'AB après deux à trois semaines d'AUDC.

Non-réponse : absence de diminution d'au moins 50% du taux d'AB après deux à trois semaines d'AUDC.

n : population, IC 95% : intervalle de confiance à 95%.

4. Discussion.

Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique portant sur quinze ans. Les critères d'inclusion dans cette étude respectaient les critères diagnostics de la CIG décrit dans la littérature.^{73-75,77-81} Ces critères ont été volontairement stricts pour pouvoir avoir une population la plus homogène possible et éviter au maximum les biais de confusion. Près de 25% des dossiers évalués ont été exclus pour cela. Le recueil des données a été réalisé de manière standardisé avec une fiche pour les données cliniques et un protocole pour la surveillance des paramètres biologiques. L'inclusion des patientes a été successive.

Dans cette cohorte, un peu plus de 40% des femmes présentaient un antécédent de CIG, ce qui est cohérent avec les données de la littérature qui rapportent un taux de récurrence de 40 à 60%.⁸⁵ Le taux d'antécédent familial de CIG était d'environ 8% dans cette cohorte, dans la littérature ce taux est de plus de 14%.^{119,255} Cette différence peut être due à un biais d'information inhérent aux études rétrospectives. La proportion de cholestase sévère dans notre étude (17%) était cohérente avec les données de la littérature.⁸⁸

La prévalence de la lithiase biliaire au cours de la grossesse varie dans la littérature entre 0,5% et 4,5%.^{88,256} La prévalence de la maladie lithiase chez les femmes présentant une CIG est augmentée, mais variable selon les études. Cette prévalence augmente avec la sévérité de la CIG.⁸⁸ Toutes les études rapportant une prévalence élevée ($\geq 10\%$) ont été réalisées dans des centres référents, comme notre étude, ce qui représente un biais de recrutement avec souvent des CIG plus sévères et donc une prévalence de la maladie lithiasique plus importante.^{97,119}

Dans la population générale en France la prévalence du diabète gestationnel est de 6,8%.²⁵⁷ La prévalence du diabète gestationnel dans la CIG était de 14,6% dans notre cohorte, et de 13,6% dans la littérature.¹⁰⁷ L'augmentation de la prévalence du diabète gestationnel serait secondaire à l'action des AB sur FXR, qui régule homéostasie glucidique et principalement la néoglucogenèse hépatique.^{108,109}

Une mutation d'ABCB4 a été mise en évidence chez 17 des malades. Ce qui est cohérent avec les données de la littérature (15%).¹⁴⁶ Sur les neuf mutations objectivées, sept avaient

précédemment été décrites dans la littérature. Les mutations c.462C>T, c.959C>T et c.1769G>A ont été décrites précédemment dans la CIG par l'équipe de Tours.^{143,150} Il est normal de les retrouver dans ce travail car les femmes incluses, sont issues de la même cohorte. Les mutations c.902T>C, et c.2800G>C avait déjà été décrite dans le LPAC syndrome par Rosmorduc et collaborateurs en 2003.³⁸ Les mutations c.2144C>T, c.2210C>T avait déjà été décrite dans la PFIC-3 par Degiorgio et collaborateurs en 2007.²⁵⁸ La présence de mutations identique d'ABCB4 dans la CIG, la PFIC-3, et le LPAC syndrome fait évoquer un continuum entre ces maladies. Les mutations c.94insA et c.3486+1G>T, n'avaient jamais été décrites dans la littérature dans la CIG, le LPAC syndrome, ou la PFIC-3. La mutation c.711A>T, responsable d'une mutation silencieuse, associée significativement à la CIG dans l'étude de Dixon et collaborateurs, a été retrouvé chez neuf patients, mais non pris en compte dans notre analyse car considérée comme un polymorphisme neutre.¹⁵³ L'absence de différence pour l'activité sérique des GGT, confirme que l'élévation des GGT n'est pas un facteur prédictif de la présence d'une mutation d'ABCB4.^{143,144} Les malades ayant une mutation d'ABCB4 présentaient une cholestase plus précoce et plus sévère. Il n'y avait pas de différence significative en termes de durée de gestation, de type de délivrance, de score d'Apgar à cinq minutes, et de poids de naissance.

Toutes les femmes ont reçu un traitement par AUCD, à la dose moyenne de 14mg/kg/j, ce qui est cohérent avec les recommandations de l'EASL (10-20mg/kg/j ou 1000mg en 2 prises par jour).¹¹¹ Seules trois femmes n'ont reçu que 750mg/j, elles avaient été traitées entre 1998 et 2000. La posologie de l'AUCD dans les études randomisées réalisées avant 2000, variait de 450 à 1000 mg/j.^{220,221,231,232} Cette posologie était donc cohérente avec les données de la littérature de l'époque. Onze femmes ont eu une introduction progressive de l'AUCD dans cette étude. Cette introduction progressive a duré au maximum une semaine. Il n'y avait aucune différence en termes de tolérance, d'efficacité à une introduction progressive de l'AUCD. L'administration à dose progressive de l'AUCD n'est plus réalisée dans les études récentes.^{125,235} Il n'a pas été rapporté d'effet indésirable secondaire à l'AUCD dans cette cohorte.

Le prurit est un symptôme subjectif avec une grande variabilité intra et inter observateur difficilement évaluable. Dans notre cohorte, le prurit a disparu chez 26% des femmes, et régressé chez 52%. Dans la méta-analyse de 2012, le prurit était amélioré dans 61,3% des cas sous AUCD.¹²⁷ La prise importante d'hydroxyzine dans notre population et l'absence d'évaluation systématique par des outils standardisés comme l'échelle visuelle analogique et l'échelle semi-quantitative,^{81,88} peuvent expliquer la différence en termes d'amélioration du prurit entre notre étude et la méta-analyse de 2012.¹²⁷

Cette étude rapporte une diminution significative des AB entre le début et la 2^{ème} semaine de traitement. Le taux sérique des AB n'apparaît pas comme un critère fiable de suivi et d'efficacité. Les données de la littérature sur l'évolution des AB sous AUCD sont contradictoires.^{125,127} Il est possible que le traitement par AUCD, puisse augmenter le taux sérique des AB totaux. Actuellement ce dosage est réalisé à jeun pour ne pas induire un biais en dosant le traitement. Il serait sans doute plus pertinent de doser séparément les différents AB, ou au moins de différencier l'AUCD des autres AB. L'évaluation du taux sérique des AB se fait par un dosage enzymatique, qui semble être à l'origine d'une dispersion importante des valeurs.²⁵⁹ Les méthodes de dosage radio-immunologique semblent présenter une moindre dispersion des valeurs et une plus grande précision, principalement au niveau des valeurs seuils.^{259,260} Mais se pose la question du rapport coût/efficacité d'un tel dosage, ce d'autant plus que le dosage des AB n'est pas remboursé.

On constate une diminution significative des tests hépatiques entre l'initiation du traitement et l'accouchement, à l'exception de l'activité sérique des PAL. L'activité sérique des PAL augmente au cours de la grossesse en raison de leur synthèse placentaire.⁹² La mesure de l'activité sérique de l'ALAT semble être le critère de suivi et d'évaluation de l'efficacité le plus pertinent. Il s'agit d'un critère biologique objectif, dont la mesure est standardisée, automatisée, facilement accessible, et peu coûteuse. Il est le critère de jugement de nombreuses études évaluant l'efficacité de l'AUCD dans la CIG.^{125,127,207,220-222,225,231-235} L'efficacité du traitement a été définie par une diminution d'au moins 50% de l'activité sérique d'ALAT après deux à trois semaines de traitement par AUCD. Ce critère a été choisi car il correspond à un des paramètres évaluant l'efficacité de l'AUCD dans la méta-analyse de 2012.¹²⁷ L'évaluation après deux ou trois semaines de traitement a été choisie dans cette

métabolisme car dans cinq des neuf études incluses, les femmes étaient traitées entre 14 et 21 jours.^{207,221,225,231,233} Cette méta-analyse rapportait une diminution d'au moins 50% de l'activité de l'ALAT après deux à trois semaines de traitement chez 65,9% des patientes, dans notre étude dans la vraie vie cette diminution est objectivée chez 78,82%.¹²⁷ Les femmes répondeuses à l'AUDC avaient significativement moins d'antécédent personnel de CIG. Elles avaient une activité sérique de l'ALAT plus importante. Les femmes présentant une diminution d'au moins 50% de l'activité de l'ALAT avaient une amélioration du prurit significativement plus importante. Il n'y avait pas de différence en termes de durée de gestation, de recours à la césarienne, de poids de naissance, et de score d'Apgar.

Il s'agit de la première étude dont l'objectif est la caractérisation de facteurs prédictifs de réponse au traitement par AUDC dans la CIG. Avoir un antécédent personnel de CIG apparaît comme un facteur prédictif de mauvaise réponse à l'AUDC. Une activité sérique de l'ALAT \geq 175 UI/l et un taux sérique des AB supérieur à 40 $\mu\text{mol/l}$ apparaissent comme des facteurs prédictifs de bonne réponse à l'AUDC. Il semblerait que les cholestases sévères, avec un taux AB et une activité sérique de l'ALAT élevés, soient les meilleures répondeuses à l'AUDC. La présence d'une mutation d'ABCB4 n'apparaît pas comme un facteur prédictif de réponse à l'AUDC dans cette étude.

La prévalence de la prématurité globale dans cette cohorte est de 35,7%. Elle était de 68,75% dans les grossesses multiples, et de 20% dans les grossesses simples. Dans la méta-analyse de 2012, la prévalence de la prématurité dans le groupe AUDC était de 15,9%.¹²⁷ Mais il n'y avait que 16 grossesses multiples sur les 489 femmes incluses. La grossesse multiple est une cause en elle-même de prématurité, 41,7% des enfants issus d'une grossesse gémellaire sans CIG, sont nés avant la 37^{ème} SA.²⁵⁷ Dans cette étude le taux de grossesse multiple est d'environ 16%, ce qui est nettement supérieur aux données de la littérature.

Le poids moyen de naissance dans la cohorte était de $2,92 \pm 0,61$ kg. Ce poids moyen est plus faible que dans les cohortes scandinave et anglaise, qui présentaient un poids moyen de naissance respectivement à $3,43 \pm 0,55$ kg et à $3,05 \pm 0,47$ kg.^{97,112} La prévalence des grossesses multiples dans ces cohortes étaient respectivement de 3,6% et de 6,2%. Or le petit poids de naissance est très influencé par la gémellarité.²⁵⁷ Ce petit poids de naissance

est secondaire à la proportion de grossesse multiple importante dans cette étude et à la prématurité spontanée, et induite.

Une MFIU est survenue dans cette étude, chez une patiente de 27 ans primipare, présentant une grossesse gémellaire. Le prurit était apparu à 27+2 SA, l'AUDC a été débuté 16 jours après l'apparition des symptômes. La patiente avait présenté initialement une amélioration de son bilan hépatique, puis un échappement. La MFIU d'un des deux fœtus est survenue à 33 SA. La prévalence de la MFIU est de moins de 1% dans la littérature.^{81,84} Aucune étude n'a démontré l'intérêt de l'AUDC pour prévenir la MFIU car il s'agit d'un événement trop rare, pour qu'il puisse être interprété dans les études réalisées.¹²⁷ La MFIU survient le plus souvent aux alentours de la 39^{ème} SA chez les femmes ayant une grossesse unique. Au cours des grossesses multiples le risque de MFIU semble être plus précoce, dès la 33^{ème} SA.¹¹⁹ Ce risque de MFIU en fin de grossesse, justifie pour certains auteurs un management obstétrical actif, avec un déclenchement entre la 37^{ème} et la 38^{ème} SA.^{78,111,124}

5. Conclusion.

Il s'agit de la plus importante cohorte monocentrique de CIG traitée par AUCD, avec recherche d'une mutation d'ABCB4. Il s'agit de la première étude recherchant des facteurs prédictifs de réponse au traitement.

Cette étude confirme l'efficacité du traitement par AUCD dans la CIG, rapportée dans la méta-analyse de 2012. L'AUCD a permis une amélioration du prurit, une amélioration du taux sérique des acides biliaires, et une amélioration de l'activité de l'ALAT. Il n'y a avait pas de différence en terme de durée de gestation, de recours à la césarienne, de poids de naissance, de score d'Apgar en fonction de la réponse au traitement.

Cette étude a permis la mise en évidence de 6 nouvelles mutations d'ABCB4 dans la CIG. On a montré que l'existence d'une mutation d'ABCB4 n'était pas un facteur prédictif de réponse au traitement. Cette étude a permis la mise en évidence de deux facteurs prédictifs de réponse à l'AUCD : l'activité sérique de l'ALAT ≥ 175 UI/l et taux sérique des acides biliaires ≥ 40 $\mu\text{mol/l}$.

Des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

Bibliographie :

1. Ninomiya, R., Matsuoka, K. & Moroi, Y. Micelle formation of sodium chenodeoxycholate and solubilization into the micelles: comparison with other unconjugated bile salts. *Biochim. Biophys. Acta* **1634**, 116–125 (2003).
2. Benhamou. *Hépatologie clinique*. (Flammarion Medecine-Sciences, 1993).
3. Holzbach, R. T., Marsh, M., Olszewski, M. & Holan, K. Cholesterol solubility in bile. Evidence that supersaturated bile is frequent in healthy man. *J. Clin. Invest.* **52**, 1467–1479 (1973).
4. Esteller, A. Physiology of bile secretion. *World J. Gastroenterol. WJG* **14**, 5641–5649 (2008).
5. Wang, D. Q.-H., Cohen, D. E. & Carey, M. C. Biliary lipids and cholesterol gallstone disease. *J. Lipid Res.* **50 Suppl**, S406–411 (2009).
6. Li, T. & Chiang, J. Y. L. Nuclear receptors in bile acid metabolism. *Drug Metab. Rev.* **45**, 145–155 (2013).
7. Lefebvre, P., Cariou, B., Lien, F., Kuipers, F. & Staels, B. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol. Rev.* **89**, 147–191 (2009).
8. Kubitz, R., Dröge, C., Stindt, J., Weissenberger, K. & Häussinger, D. The bile salt export pump (BSEP) in health and disease. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* **36**, 536–553 (2012).
9. Hofmann, A. F. Bile Acids: The Good, the Bad, and the Ugly. *News Physiol. Sci. Int. J. Physiol. Prod. Jointly Int. Union Physiol. Sci. Am. Physiol. Soc.* **14**, 24–29 (1999).
10. Russell, D. W. The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis. *Annu. Rev. Biochem.* **72**, 137–174 (2003).
11. Chiang, J. Y. L. Bile acids: regulation of synthesis. *J. Lipid Res.* **50**, 1955–1966 (2009).
12. Zollner, G. & Trauner, M. Nuclear receptors as therapeutic targets in cholestatic liver diseases. *Br. J. Pharmacol.* **156**, 7–27 (2009).
13. Goodwin, B. *et al.* A regulatory cascade of the nuclear receptors FXR, SHP-1, and LXR-1 represses bile acid biosynthesis. *Mol. Cell* **6**, 517–526 (2000).
14. Trauner, M. & Boyer, J. L. Bile salt transporters: molecular characterization, function, and regulation. *Physiol. Rev.* **83**, 633–671 (2003).
15. Kullak-Ublick, G. A., Stieger, B. & Meier, P. J. Enterohepatic bile salt transporters in normal physiology and liver disease. *Gastroenterology* **126**, 322–342 (2004).
16. Roma, M. G., Crocenzi, F. A. & Sánchez Pozzi, E. A. Hepatocellular transport in acquired cholestasis: new insights into functional, regulatory and therapeutic aspects. *Clin. Sci. Lond. Engl.* 1979 **114**, 567–588 (2008).

17. Kusters, A. Bile acid transporters in health and disease. *Xenobiotica Fate Foreign Compd. Biol. Syst.* **38**, 1043–1071 (2008).
18. Halilbasic, E., Claudel, T. & Trauner, M. Bile acid transporters and regulatory nuclear receptors in the liver and beyond. *J. Hepatol.* **58**, 155–168 (2013).
19. Dawson, P. A., Lan, T. & Rao, A. Bile acid transporters. *J. Lipid Res.* **50**, 2340–2357 (2009).
20. Wagner, M., Zollner, G. & Trauner, M. New molecular insights into the mechanisms of cholestasis. *J. Hepatol.* **51**, 565–580 (2009).
21. Claudel, T., Zollner, G., Wagner, M. & Trauner, M. Role of nuclear receptors for bile acid metabolism, bile secretion, cholestasis, and gallstone disease. *Biochim. Biophys. Acta* **1812**, 867–878 (2011).
22. Hagenbuch, B. Organic anion transporting polypeptides of the OATP/ SLC21 family: phylogenetic classification as OATP/ SLCO superfamily, new nomenclature and molecular/functional properties. *Pflüg. Arch. Eur. J. Physiol.* **447**, 653–665 (2004).
23. Kullak-Ublick, G. A. *et al.* Organic anion-transporting polypeptide B (OATP-B) and its functional comparison with three other OATPs of human liver. *Gastroenterology* **120**, 525–533 (2001).
24. Jung, D. *et al.* Characterization of the human OATP-C (SLC21A6) gene promoter and regulation of liver-specific OATP genes by hepatocyte nuclear factor 1 alpha. *J. Biol. Chem.* **276**, 37206–37214 (2001).
25. Hagenbuch, B. The superfamily of organic anion transporting polypeptides. *Biochim. Biophys. Acta* **1609**, 1–18 (2003).
26. Jung, D. *et al.* Human organic anion transporting polypeptide 8 promoter is transactivated by the farnesoid X receptor/bile acid receptor. *Gastroenterology* **122**, 1954–1966 (2002).
27. Ballatori, N., Christian, W. V., Wheeler, S. G. & Hammond, C. L. The heteromeric organic solute transporter, OST α -OST β /SLC51: a transporter for steroid-derived molecules. *Mol. Aspects Med.* **34**, 683–692 (2013).
28. Boyer, J. L. *et al.* Upregulation of a basolateral FXR-dependent bile acid efflux transporter OST α -OST β in cholestasis in humans and rodents. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **290**, G1124–1130 (2006).
29. Kool, M. *et al.* MRP3, an organic anion transporter able to transport anti-cancer drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 6914–6919 (1999).
30. Soroka, C. J., Lee, J. M., Azzaroli, F. & Boyer, J. L. Cellular localization and up-regulation of multidrug resistance-associated protein 3 in hepatocytes and cholangiocytes during obstructive cholestasis in rat liver. *Hepatol. Baltim. Md* **33**, 783–791 (2001).
31. Donner, M. G. & Keppler, D. Up-regulation of basolateral multidrug resistance protein 3 (Mrp3) in cholestatic rat liver. *Hepatol. Baltim. Md* **34**, 351–359 (2001).

32. Rius, M., Nies, A. T., Hummel-Eisenbeiss, J., Jedlitschky, G. & Keppler, D. Cotransport of reduced glutathione with bile salts by MRP4 (ABCC4) localized to the basolateral hepatocyte membrane. *Hepatol. Baltim. Md* **38**, 374–384 (2003).
33. Zwicker, B. L. & Agellon, L. B. Transport and biological activities of bile acids. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **45**, 1389–1398 (2013).
34. Lam, P., Soroka, C. J. & Boyer, J. L. The bile salt export pump: clinical and experimental aspects of genetic and acquired cholestatic liver disease. *Semin. Liver Dis.* **30**, 125–133 (2010).
35. Soroka, C. J. & Boyer, J. L. Biosynthesis and trafficking of the bile salt export pump, BSEP: Therapeutic implications of BSEP mutations. *Mol. Aspects Med.* (2013). doi:10.1016/j.mam.2013.05.001
36. Lam, P. *et al.* Levels of plasma membrane expression in progressive and benign mutations of the bile salt export pump (Bsep/Abcb11) correlate with severity of cholestatic diseases. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **293**, C1709–1716 (2007).
37. Davit-Spraul, A., Gonzales, E., Baussan, C. & Jacquemin, E. Progressive familial intrahepatic cholestasis. *Orphanet J. Rare Dis.* **4**, 1 (2009).
38. Rosmorduc, O. *et al.* ABCB4 gene mutation-associated cholelithiasis in adults. *Gastroenterology* **125**, 452–459 (2003).
39. Paulusma, C. C. *et al.* Atp8b1 deficiency in mice reduces resistance of the canalicular membrane to hydrophobic bile salts and impairs bile salt transport. *Hepatol. Baltim. Md* **44**, 195–204 (2006).
40. Poupon, R. [Cholestasis and cholestatic liver diseases]. *Gastroentérologie Clin. Biol.* **33**, 778–788 (2009).
41. Koh, S., Takada, T., Kuku, I. & Suzuki, H. FIC1-mediated stimulation of FXR activity is decreased with PFIC1 mutations in HepG2 cells. *J. Gastroenterol.* **44**, 592–600 (2009).
42. Dawson, P. A. Role of the intestinal bile acid transporters in bile acid and drug disposition. *Handb. Exp. Pharmacol.* 169–203 (2011). doi:10.1007/978-3-642-14541-4_4
43. Battle, M. A. *et al.* GATA4 is essential for jejunal function in mice. *Gastroenterology* **135**, 1676–1686.e1 (2008).
44. Chen, F. *et al.* Liver receptor homologue-1 mediates species- and cell line-specific bile acid-dependent negative feedback regulation of the apical sodium-dependent bile acid transporter. *J. Biol. Chem.* **278**, 19909–19916 (2003).
45. Duane, W. C., Xiong, W. & Wolvers, J. Effects of bile acids on expression of the human apical sodium dependent bile acid transporter gene. *Biochim. Biophys. Acta* **1771**, 1380–1388 (2007).

46. Neimark, E., Chen, F., Li, X. & Shneider, B. L. Bile acid-induced negative feedback regulation of the human ileal bile acid transporter. *Hepatol. Baltim. Md* **40**, 149–156 (2004).
47. Jung, D., Fried, M. & Kullak-Ublick, G. A. Human apical sodium-dependent bile salt transporter gene (SLC10A2) is regulated by the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *J. Biol. Chem.* **277**, 30559–30566 (2002).
48. Chen, X. *et al.* Transactivation of rat apical sodium-dependent bile acid transporter and increased bile acid transport by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 via the vitamin D receptor. *Mol. Pharmacol.* **69**, 1913–1923 (2006).
49. Eloranta, J. J., Hiller, C., Jüttner, M. & Kullak-Ublick, G. A. The SLC10A2 gene, encoding human organic anion-transporting polypeptide 1A2, is transactivated by the vitamin D receptor. *Mol. Pharmacol.* **82**, 37–46 (2012).
50. Matsubara, T., Li, F. & Gonzalez, F. J. FXR signaling in the enterohepatic system. *Mol. Cell. Endocrinol.* **368**, 17–29 (2013).
51. Rao, A. *et al.* The organic solute transporter alpha-beta, Ostalpha-Ostbeta, is essential for intestinal bile acid transport and homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 3891–3896 (2008).
52. Scheffer, G. L. *et al.* Tissue distribution and induction of human multidrug resistant protein 3. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* **82**, 193–201 (2002).
53. Macias, R. I. R., Marin, J. J. G. & Serrano, M. A. Excretion of biliary compounds during intrauterine life. *World J. Gastroenterol. WJG* **15**, 817–828 (2009).
54. Marín, J. J. G., Macías, R. I. R., Briz, O., Pérez, M. J. & Serrano, M. A. Molecular bases of the excretion of fetal bile acids and pigments through the fetal liver-placenta-maternal liver pathway. *Ann. Hepatol.* **4**, 70–76 (2005).
55. Abu-Hayyeh, S. Nuclear receptors, bile acids and cholesterol homeostasis series – Bile acids and pregnancy. *Mol. Cell. Endocrinol.* **368**, 120–128 (2013).
56. Serrano, M. A. *et al.* Beneficial effect of ursodeoxycholic acid on alterations induced by cholestasis of pregnancy in bile acid transport across the human placenta. *J. Hepatol.* **28**, 829–839 (1998).
57. Wang, H. *et al.* Alteration in placental expression of bile acids transporters OATP1A2, OATP1B1, OATP1B3 in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Arch. Gynecol. Obstet.* **285**, 1535–1540 (2012).
58. Patel, P. *et al.* Semi quantitative expression analysis of MDR3, FIC1, BSEP, OATP-A, OATP-C, OATP-D, OATP-E and NTCP gene transcripts in 1st and 3rd trimester human placenta. *Placenta* **24**, 39–44 (2003).
59. Marin, J. J. G. *et al.* Molecular bases of the fetal liver-placenta-maternal liver excretory pathway for cholephilic compounds. *Liver Int. Off. J. Int. Assoc. Study Liver* **28**, 435–454 (2008).

60. Aye, I. L. M. H. & Keelan, J. A. Placental ABC transporters, cellular toxicity and stress in pregnancy. *Chem. Biol. Interact.* **203**, 456–466 (2013).
61. Serrano, M. A. *et al.* Expression in human trophoblast and choriocarcinoma cell lines, BeWo, Jeg-3 and JAr of genes involved in the hepatobiliary-like excretory function of the placenta. *Placenta* **28**, 107–117 (2007).
62. Azzaroli, F. *et al.* Clinical trial: modulation of human placental multidrug resistance proteins in cholestasis of pregnancy by ursodeoxycholic acid. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **26**, 1139–1146 (2007).
63. Geenes, V. L. *et al.* Characterisation of the nuclear receptors FXR, PXR and CAR in normal and cholestatic placenta. *Placenta* **32**, 535–537 (2011).
64. Castaño, G., Burgueño, A., Fernández Gianotti, T., Pirola, C. J. & Sookoian, S. The influence of common gene variants of the xenobiotic receptor (PXR) in genetic susceptibility to intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **31**, 583–592 (2010).
65. Wistuba, W., Gnewuch, C., Liebisch, G., Schmitz, G. & Langmann, T. Lithocholic acid induction of the FGF19 promoter in intestinal cells is mediated by PXR. *World J. Gastroenterol. WJG* **13**, 4230–4235 (2007).
66. Zollner, G., Marschall, H.-U., Wagner, M. & Trauner, M. Role of nuclear receptors in the adaptive response to bile acids and cholestasis: pathogenetic and therapeutic considerations. *Mol. Pharm.* **3**, 231–251 (2006).
67. Yu, L. *et al.* Stimulation of cholesterol excretion by the liver X receptor agonist requires ATP-binding cassette transporters G5 and G8. *J. Biol. Chem.* **278**, 15565–15570 (2003).
68. Zúñiga, S., Firrincieli, D., Housset, C. & Chignard, N. Vitamin D and the vitamin D receptor in liver pathophysiology. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* **35**, 295–302 (2011).
69. Nishida, S., Ozeki, J. & Makishima, M. Modulation of bile acid metabolism by 1 α -hydroxyvitamin D₃ administration in mice. *Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem.* **37**, 2037–2044 (2009).
70. Han, S. & Chiang, J. Y. L. Mechanism of vitamin D receptor inhibition of cholesterol 7 α -hydroxylase gene transcription in human hepatocytes. *Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem.* **37**, 469–478 (2009).
71. Jiang, W. *et al.* Inhibition of LXR α signaling by vitamin D receptor: possible role of VDR in bile acid synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **351**, 176–184 (2006).
72. Honjo, Y., Sasaki, S., Kobayashi, Y., Misawa, H. & Nakamura, H. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its receptor inhibit the chenodeoxycholic acid-dependent transactivation by farnesoid X receptor. *J. Endocrinol.* **188**, 635–643 (2006).
73. Mullally, B. A. & Hansen, W. F. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: review of the literature. *Obstet. Gynecol. Surv.* **57**, 47–52 (2002).

74. Nichols, A. A. Cholestasis of pregnancy: a review of the evidence. *J. Perinat. Neonatal Nurs.* **19**, 217–225 (2005).
75. Pusl, T. & Beuers, U. Intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Orphanet J. Rare Dis.* **2**, 26 (2007).
76. Reyes, H. *et al.* Prevalence of intrahepatic cholestasis of pregnancy in Chile. *Ann. Intern. Med.* **88**, 487–493 (1978).
77. Williamson, C. & Geenes, V. Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Obstet. Gynecol.* **124**, 120–133 (2014).
78. Geenes, V. & Williamson, C. Intrahepatic cholestasis of pregnancy. *World J. Gastroenterol. WJG* **15**, 2049–2066 (2009).
79. Hay, J. E. Liver disease in pregnancy. *Hepatology. Baltim. Md* **47**, 1067–1076 (2008).
80. Joshi, D., James, A., Quaglia, A., Westbrook, R. H. & Heneghan, M. A. Liver disease in pregnancy. *Lancet* **375**, 594–605 (2010).
81. Bacq. Liver diseases unique to pregnancy: a 2010 update. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* **35**, 182–193 (2011).
82. Ahlfeld, F. Icterus gravidarum. *Berichte Arbkten Aus Geburtshilfflichgynaekdogischen Klin. Zu Giess.* p. 148 (1881).
83. Svandorg, A. A study of recurrent jaundice in pregnancy. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **33**, 434–444 (1954).
84. Bacq, Y. *et al.* Intrahepatic cholestasis of pregnancy: a French prospective study. *Hepatology. Baltim. Md* **26**, 358–364 (1997).
85. Arrese, M. & Reyes, H. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: a past and present riddle. *Ann. Hepatol.* **5**, 202–205 (2006).
86. Germain, A. M., Carvajal, J. A., Glasinovic, J. C., Kato C, S. & Williamson, C. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: an intriguing pregnancy-specific disorder. *J. Soc. Gynecol. Investig.* **9**, 10–14 (2002).
87. Lee, R. H., Goodwin, T. M., Greenspoon, J. & Incerpi, M. The prevalence of intrahepatic cholestasis of pregnancy in a primarily Latina Los Angeles population. *J. Perinatol. Off. J. Calif. Perinat. Assoc.* **26**, 527–532 (2006).
88. Glantz, A., Marschall, H.-U. & Mattsson, L.-A. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Relationships between bile acid levels and fetal complication rates. *Hepatology. Baltim. Md* **40**, 467–474 (2004).
89. Abedin, P., Weaver, J. B. & Egginton, E. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: prevalence and ethnic distribution. *Ethn. Health* **4**, 35–37 (1999).
90. Roger D, Vaillant L, Fignon A & *et al.* Specific pruritic diseases of pregnancy: A prospective study of 3192 pregnant women. *Arch. Dermatol.* **130**, 734–739 (1994).
91. Gonzalez, M. C. *et al.* Intrahepatic cholestasis of pregnancy in twin pregnancies. *J. Hepatol.* **9**, 84–90 (1989).

92. Bacq, Y. *et al.* Liver function tests in normal pregnancy: A prospective study of 103 pregnant women and 103 matched controls. *Hepatology* **23**, 1030–1034 (1996).
93. Meng, L. J. *et al.* Profiles of bile acids and progesterone metabolites in the urine and serum of women with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J. Hepatol.* **27**, 346–357 (1997).
94. Goulis, D. G., Walker, I. A. L., de Swiet, M., Redman, C. W. G. & Williamson, C. Preeclampsia with abnormal liver function tests is associated with cholestasis in a subgroup of cases. *Hypertens. Pregnancy Off. J. Int. Soc. Study Hypertens. Pregnancy* **23**, 19–27 (2004).
95. Atabey, S., Duvan, C. I., Eren, U. & Turhan, N. O. Intrahepatic cholestasis and eclampsia: a case report. *Hypertens. Pregnancy Off. J. Int. Soc. Study Hypertens. Pregnancy* **26**, 363–369 (2007).
96. Vanjak, D., Moreau, R., Roche-Sicot, J., Soulier, A. & Sicot, C. Intrahepatic cholestasis of pregnancy and acute fatty liver of pregnancy. An unusual but favorable association? *Gastroenterology* **100**, 1123–1125 (1991).
97. Marschall, H.-U., Wikström Shemer, E., Ludvigsson, J. F. & Stephansson, O. Intrahepatic cholestasis of pregnancy and associated hepatobiliary disease: a population-based cohort study. *Hepatal. Baltim. Md* **58**, 1385–1391 (2013).
98. Ropponen, A., Sund, R., Riikonen, S., Ylikorkala, O. & Aittomäki, K. Intrahepatic cholestasis of pregnancy as an indicator of liver and biliary diseases: a population-based study. *Hepatal. Baltim. Md* **43**, 723–728 (2006).
99. Pasmant, E. *et al.* First description of ABCB4 gene deletions in familial low phospholipid-associated cholelithiasis and oral contraceptives-induced cholestasis. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* **20**, 277–282 (2012).
100. Locatelli, A. *et al.* Hepatitis C virus infection is associated with a higher incidence of cholestasis of pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* **106**, 498–500 (1999).
101. Paternoster, D. M. *et al.* Intra-hepatic cholestasis of pregnancy in hepatitis C virus infection. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **81**, 99–103 (2002).
102. Beuers, U. & Pusch, T. Intrahepatic cholestasis of pregnancy--a heterogeneous group of pregnancy-related disorders? *Hepatal. Baltim. Md* **43**, 647–649 (2006).
103. Erlinger, S. Intrahepatic cholestasis of pregnancy and hepatitis C virus: A criminal conspiracy? *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* (2014). doi:10.1016/j.clinre.2013.12.006
104. Hinoshita, E. *et al.* Decreased expression of an ATP-binding cassette transporter, MRP2, in human livers with hepatitis C virus infection. *J. Hepatol.* **35**, 765–773 (2001).
105. Shaw, D., Frohlich, J., Wittmann, B. A. & Willms, M. A prospective study of 18 patients with cholestasis of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **142**, 621–625 (1982).

106. Lu, J. & Qi, H. Sudden fetal death in a patient with intrahepatic cholestasis of pregnancy complicated with gestational diabetes mellitus. *Arch. Gynecol. Obstet.* **287**, 179–182 (2013).
107. Martineau, M., Raker, C., Powrie, R. & Williamson, C. Intrahepatic cholestasis of pregnancy is associated with an increased risk of gestational diabetes. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* (2014). doi:10.1016/j.ejogrb.2013.12.037
108. Ma, K., Saha, P. K., Chan, L. & Moore, D. D. Farnesoid X receptor is essential for normal glucose homeostasis. *J. Clin. Invest.* **116**, 1102–1109 (2006).
109. Yamagata, K. *et al.* Bile acids regulate gluconeogenic gene expression via small heterodimer partner-mediated repression of hepatocyte nuclear factor 4 and Foxo1. *J. Biol. Chem.* **279**, 23158–23165 (2004).
110. Renga, B., Mencarelli, A., Vavassori, P., Brancaleone, V. & Fiorucci, S. The bile acid sensor FXR regulates insulin transcription and secretion. *Biochim. Biophys. Acta* **1802**, 363–372 (2010).
111. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J. Hepatol.* **51**, 237–267 (2009).
112. Geenes, V. *et al.* Association of severe intrahepatic cholestasis of pregnancy with adverse pregnancy outcomes: A prospective population-based case-control study. *Hepatol. Baltim. Md* (2013). doi:10.1002/hep.26617
113. Zhao, P., Zhang, K., Yao, Q. & Yang, X. Uterine contractility in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J. Obstet. Gynaecol. J. Inst. Obstet. Gynaecol.* (2014). doi:10.3109/01443615.2013.834878
114. Kondrackiene, J. *et al.* Predictors of premature delivery in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *World J. Gastroenterol. WJG* **13**, 6226–6230 (2007).
115. Pata, O. *et al.* Intrahepatic cholestasis of pregnancy: correlation of preterm delivery with bile acids. *Turk. J. Gastroenterol. Off. J. Turk. Soc. Gastroenterol.* **22**, 602–605 (2011).
116. Sentilhes, L., Verspyck, E., Pia, P. & Marpeau, L. Fetal death in a patient with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Obstet. Gynecol.* **107**, 458–460 (2006).
117. Williamson, C. *et al.* The bile acid taurocholate impairs rat cardiomyocyte function: a proposed mechanism for intra-uterine fetal death in obstetric cholestasis. *Clin. Sci. Lond. Engl.* 1979 **100**, 363–369 (2001).
118. Oztekin, D. *et al.* Predicting fetal asphyxia in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Arch. Gynecol. Obstet.* **280**, 975–979 (2009).
119. Williamson, C. *et al.* Clinical outcome in a series of cases of obstetric cholestasis identified via a patient support group. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **111**, 676–681 (2004).

120. Lee, R. H., Incerpi, M. H., Miller, D. A., Pathak, B. & Goodwin, T. M. Sudden fetal death in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Obstet. Gynecol.* **113**, 528–531 (2009).
121. Zecca, E. *et al.* Intrahepatic cholestasis of pregnancy and neonatal respiratory distress syndrome. *Pediatrics* **117**, 1669–1672 (2006).
122. Zecca, E. *et al.* Predicting respiratory distress syndrome in neonates from mothers with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Early Hum. Dev.* **84**, 337–341 (2008).
123. Saleh, M. M. Consensus on the management of obstetric cholestasis: National UK survey. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **114**, 99–103 (2007).
124. Arlicot, C. *et al.* [Management of obstetric cholestasis in France: A national survey of obstetrical practice]. *J. Gynécologie Obstétrique Biol. Reprod.* **41**, 182–193 (2012).
125. Chappell, L. C. *et al.* Ursodeoxycholic acid versus placebo, and early term delivery versus expectant management, in women with intrahepatic cholestasis of pregnancy: semifactorial randomised clinical trial. *BMJ* **344**, e3799 (2012).
126. Ce, H. *et al.* Primum Non Nocere: How Active Management became Modus Operandi for Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* (2014). doi:10.1016/j.ajog.2014.03.058
127. Bacq, Y. *et al.* Efficacy of ursodeoxycholic acid in treating intrahepatic cholestasis of pregnancy: a meta-analysis. *Gastroenterology* **143**, 1492–1501 (2012).
128. Reyes, H. Sex hormones and bile acids in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Hepatology* **47**, 376–379 (2008).
129. Sentilhes, L & Bacq, Y. La cholestase intrahépatique gravidique. *J. Gynécologie Obstétrique Biol. Reprod.* p. 118–126 (2008).
130. Schutt, V. A. & Minuk, G. Y. Liver diseases unique to pregnancy. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* **21**, 771–792 (2007).
131. Micheline, D., Emmanuel, J. & Serge, E. Effect of Ursodeoxycholic Acid on the Expression of the Hepatocellular Bile Acid Transporters (Ntcp and bsep) in Rats With Estrogen-Induced Cholestasis. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **35**, 185–191 (2002).
132. Geier, A. *et al.* Regulation of basolateral organic anion transporters in ethinylestradiol-induced cholestasis in the rat. *Biochim. Biophys. Acta* **1609**, 87–94 (2003).
133. Crocenzi, F. A. *et al.* Ca(2+)-dependent protein kinase C isoforms are critical to estradiol 17beta-D-glucuronide-induced cholestasis in the rat. *Hepatology* **48**, 1885–1895 (2008).
134. Reyes, H. & Sjövall, J. Bile acids and progesterone metabolites in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Ann. Med.* **32**, 94–106 (2000).
135. Lammert, F., Marschall, H. U., Glantz, A. & Matern, S. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: molecular pathogenesis, diagnosis and management. *J. Hepatology* **33**, 1012–1021 (2000).

136. Vallejo, M., Briz, O., Serrano, M. A., Monte, M. J. & Marin, J. J. G. Potential role of trans-inhibition of the bile salt export pump by progesterone metabolites in the etiopathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J. Hepatol.* **44**, 1150–1157 (2006).
137. Inhibition of Na⁺-taurocholate Co-transporting polypeptide-mediated bile acid transport by cholestatic sulfated progesterone metabolites. *J. Biol. Chem.* **285**, 16504–16512 (2010).
138. Abu-Hayyeh, S. Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy Levels of Sulfated Progesterone Metabolites Inhibit Farnesoid X Receptor Resulting in a Cholestatic Phenotype. *Hepatol. Baltim. Md* **57**, 716–726 (2013).
139. Ramensky, V., Bork, P. & Sunyaev, S. Human non-synonymous SNPs: server and survey. *Nucleic Acids Res.* **30**, 3894–3900 (2002).
140. Jacquemin, E., Cresteil, D., Manouvrier, S., Boute, O. & Hadchouel, M. Heterozygous non-sense mutation of the MDR3 gene in familial intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Lancet* **353**, 210–211 (1999).
141. Dixon, P. H. *et al.* Heterozygous MDR3 missense mutation associated with intrahepatic cholestasis of pregnancy: evidence for a defect in protein trafficking. *Hum. Mol. Genet.* **9**, 1209–1217 (2000).
142. Arrese, M., Macias, R. I. R., Briz, O., Perez, M. J. & Marin, J. J. G. Molecular pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Expert Rev. Mol. Med.* **10**, e9 (2008).
143. Bacq, Y. *et al.* ABCB4 gene mutations and single-nucleotide polymorphisms in women with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J. Med. Genet.* **46**, 711–715 (2009).
144. Floreani, A. *et al.* Intrahepatic cholestasis of pregnancy: three novel MDR3 gene mutations. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **23**, 1649–1653 (2006).
145. Schneider, G. *et al.* Linkage between a new splicing site mutation in the MDR3 alias ABCB4 gene and intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Hepatol. Baltim. Md* **45**, 150–158 (2007).
146. Wasmuth, H. E. *et al.* Intrahepatic cholestasis of pregnancy: the severe form is associated with common variants of the hepatobiliary phospholipid transporter ABCB4 gene. *Gut* **56**, 265–270 (2007).
147. Müllenbach, R. *et al.* ABCB4 gene sequence variation in women with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J. Med. Genet.* **40**, e70 (2003).
148. Jacquemin, E. *et al.* The wide spectrum of multidrug resistance 3 deficiency: from neonatal cholestasis to cirrhosis of adulthood. *Gastroenterology* **120**, 1448–1458 (2001).
149. Pauli-Magnus, C. *et al.* Sequence analysis of bile salt export pump (ABCB11) and multidrug resistance p-glycoprotein 3 (ABCB4, MDR3) in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Pharmacogenetics* **14**, 91–102 (2004).

150. Gendrot, C., Bacq, Y., Brechot, M.-C., Lansac, J. & Andres, C. A second heterozygous MDR3 nonsense mutation associated with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J. Med. Genet.* **40**, e32 (2003).
151. Tavian, D. *et al.* A new splicing site mutation of the ABCB4 gene in intrahepatic cholestasis of pregnancy with raised serum gamma-GT. *Dig. Liver Dis. Off. J. Ital. Soc. Gastroenterol. Ital. Assoc. Study Liver* **41**, 671–675 (2009).
152. Keitel, V., Vogt, C., Häussinger, D. & Kubitz, R. Combined mutations of canalicular transporter proteins cause severe intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Gastroenterology* **131**, 624–629 (2006).
153. Dixon, P. H. *et al.* A comprehensive analysis of common genetic variation around six candidate loci for intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Am. J. Gastroenterol.* **109**, 76–84 (2014).
154. Dixon, P. H. *et al.* Contribution of variant alleles of ABCB11 to susceptibility to intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Gut* **58**, 537–544 (2009).
155. Meier, Y. *et al.* Increased susceptibility for intrahepatic cholestasis of pregnancy and contraceptive-induced cholestasis in carriers of the 1331T>C polymorphism in the bile salt export pump. *World J. Gastroenterol. WJG* **14**, 38–45 (2008).
156. Anzivino, C. *et al.* ABCB4 and ABCB11 mutations in intrahepatic cholestasis of pregnancy in an Italian population. *Dig. Liver Dis. Off. J. Ital. Soc. Gastroenterol. Ital. Assoc. Study Liver* **45**, 226–232 (2013).
157. Müllenbach, R. *et al.* ATP8B1 mutations in British cases with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Gut* **54**, 829–834 (2005).
158. Painter, J. N. *et al.* Sequence variation in the ATP8B1 gene and intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* **13**, 435–439 (2005).
159. Sookoian, S., Castaño, G., Burgueño, A., Gianotti, T. F. & Pirola, C. J. Association of the multidrug-resistance-associated protein gene (ABCC2) variants with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J. Hepatol.* **48**, 125–132 (2008).
160. Sookoian, S., Castano, G. & Pirola, C.-J. Role of ABCC2 common variants in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *World J. Gastroenterol. WJG* **14**, 2126–2127 (2008).
161. Van Mil, S. W. C. *et al.* Functional variants of the central bile acid sensor FXR identified in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Gastroenterology* **133**, 507–516 (2007).
162. Owen, B. M. *et al.* Sequencing and functional assessment of hPXR (NR1I2) variants in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Xenobiotica Fate Foreign Compd. Biol. Syst.* **38**, 1289–1297 (2008).
163. Reyes, H. *et al.* Is dietary erucic acid hepatotoxic in pregnancy? An experimental study in rats and hamsters. *Hepatol. Baltim. Md* **21**, 1373–1379 (1995).

164. Arshad, M., El-Kamary, S. S. & Jhaveri, R. Hepatitis C virus infection during pregnancy and the newborn period--are they opportunities for treatment? *J. Viral Hepat.* **18**, 229–236 (2011).
165. Kauppila, A., Korpela, H., Mäkilä, U. M. & Yrjänheikki, E. Low serum selenium concentration and glutathione peroxidase activity in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Br. Med. J. Clin. Res. Ed* **294**, 150–152 (1987).
166. Reyes, H. *et al.* Selenium, zinc and copper plasma levels in intrahepatic cholestasis of pregnancy, in normal pregnancies and in healthy individuals, in Chile. *J. Hepatol.* **32**, 542–549 (2000).
167. Rayman, M. P. Selenium and human health. *The Lancet* **379**, 1256–1268 (2012).
168. Wikström Shemer, E. & Marschall, H.-U. Decreased 1,25-dihydroxy vitamin D levels in women with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **89**, 1420–1423 (2010).
169. Kuoppala, T., Tuimala, R., Parviainen, M. & Koskinen, T. Vitamin D and mineral metabolism in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **23**, 45–51 (1986).
170. Gershwin, M. E. *et al.* Primary biliary cirrhosis: an orchestrated immune response against epithelial cells. *Immunol. Rev.* **174**, 210–225 (2000).
171. Rao, R. K., Seth, A. & Sheth, P. Recent Advances in Alcoholic Liver Disease I. Role of intestinal permeability and endotoxemia in alcoholic liver disease. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **286**, G881–884 (2004).
172. Wiest, R., Lawson, M. & Geuing, M. Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *J. Hepatol.* **60**, 197–209 (2014).
173. Reyes, H. *et al.* Is a leaky gut involved in the pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy? *Hepatol. Baltim. Md* **43**, 715–722 (2006).
174. Ikejima, K. *et al.* Estrogen increases sensitivity of hepatic Kupffer cells to endotoxin. *Am. J. Physiol.* **274**, G669–676 (1998).
175. Geenes, V. *et al.* The reversed feto-maternal bile Acid gradient in intrahepatic cholestasis of pregnancy is corrected by ursodeoxycholic Acid. *PLoS One* **9**, e83828 (2014).
176. Wikström Shemer, E., Thorsell, M., Östlund, E., Blomgren, B. & Marschall, H.-U. Stereological assessment of placental morphology in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Placenta* **33**, 914–918 (2012).
177. Serrano, M. A. *et al.* Effect of ursodeoxycholic acid on the impairment induced by maternal cholestasis in the rat placenta-maternal liver tandem excretory pathway. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **305**, 515–524 (2003).

178. Perez, M. J., Macias, R. I. R. & Marin, J. J. G. Maternal cholestasis induces placental oxidative stress and apoptosis. Protective effect of ursodeoxycholic acid. *Placenta* **27**, 34–41 (2006).
179. Wei, J., Wang, H., Yang, X., Dong, M. & Wang, Z. Altered gene profile of placenta from women with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Arch. Gynecol. Obstet.* **281**, 801–810 (2010).
180. Xia, S., Chen, Z. & Li, L. [Relationship of vascular endothelial growth factor with bile acid in intrahepatic cholestasis of pregnancy]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* **37**, 669–671 (2002).
181. Aguilera, G. & Liu, Y. The molecular physiology of CRH neurons. *Front. Neuroendocrinol.* **33**, 67–84 (2012).
182. Florio, P. *et al.* Human placenta, chorion, amnion and decidua express different variants of corticotropin-releasing factor receptor messenger RNA. *Placenta* **21**, 32–37 (2000).
183. Wadhwa, P. D. *et al.* Placental corticotropin-releasing hormone (CRH), spontaneous preterm birth, and fetal growth restriction: a prospective investigation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **191**, 1063–1069 (2004).
184. Zhou, F. *et al.* Expression of corticotrophin-releasing hormone and its receptor in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Placenta* **34**, 401–406 (2013).
185. Clifton, V. L. *et al.* Corticotropin-releasing hormone-induced vasodilatation in the human fetal placental circulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **79**, 666–669 (1994).
186. Tyson, E. K., Smith, R. & Read, M. Evidence that corticotropin-releasing hormone modulates myometrial contractility during human pregnancy. *Endocrinology* **150**, 5617–5625 (2009).
187. Huang, G., Liu, Z., He, M. & Wang, X. Reduced Plasma Corticotropin-Releasing Hormone Levels during Late Gestation in Patients with Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Gynecol. Obstet. Invest.* (2014). doi:10.1159/000363745
188. Swain, M. G., Patchev, V., Vergalla, J., Chrousos, G. & Jones, E. A. Suppression of hypothalamic-pituitary-adrenal axis responsiveness to stress in a rat model of acute cholestasis. *J. Clin. Invest.* **91**, 1903–1908 (1993).
189. Wang, C., Chen, X., Zhou, S.-F. & Li, X. Impaired fetal adrenal function in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.* **17**, CR265–271 (2011).
190. Geenes, V. L. *et al.* A placental phenotype for intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Placenta* **32**, 1026–1032 (2011).
191. Huppertz, B. IFPA Award in Placentology Lecture: Biology of the placental syncytiotrophoblast--myths and facts. *Placenta* **31 Suppl**, S75–81 (2010).

192. Heazell, A. E. P., Moll, S. J., Jones, C. J. P., Baker, P. N. & Crocker, I. P. Formation of syncytial knots is increased by hyperoxia, hypoxia and reactive oxygen species. *Placenta* **28 Suppl A**, S33–40 (2007).
193. Al Inizi, S., Gupta, R. & Gale, A. Fetal tachyarrhythmia with atrial flutter in obstetric cholestasis. *Int. J. Gynaecol. Obstet. Off. Organ Int. Fed. Gynaecol. Obstet.* **93**, 53–54 (2006).
194. Miragoli, M. *et al.* A protective antiarrhythmic role of ursodeoxycholic acid in an in vitro rat model of the cholestatic fetal heart. *Hepatology* **54**, 1282–1292 (2011).
195. Strehlow, S. L. *et al.* The mechanical PR interval in fetuses of women with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **203**, 455.e1–5 (2010).
196. Germain, A. M. *et al.* Bile acids increase response and expression of human myometrial oxytocin receptor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **189**, 577–582 (2003).
197. De Luca, D. *et al.* Bile acids cause secretory phospholipase A2 activity enhancement, revertible by exogenous surfactant administration. *Intensive Care Med.* **35**, 321–326 (2009).
198. Yu, L., Ding, Y., Huang, T. & Huang, X. Effect of bile Acid on fetal lung in rat model of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Int. J. Endocrinol.* **2014**, 308274 (2014).
199. Cunningham, M. D., Kelley, L. R. & Peters, E. R. Phenobarbitone in cholestasis. *Lancet* **1**, 1089 (1968).
200. Gurung, V., Middleton, P., Milan, S. J., Hague, W. & Thornton, J. G. Interventions for treating cholestasis in pregnancy. *Cochrane Database Syst. Rev.* **6**, CD000493 (2013).
201. Robinson, S. H., Yannoni, C. & Nagasawa, S. Bilirubin excretion in rats with normal and impaired bilirubin conjugation: effect of phenobarbital. *J. Clin. Invest.* **50**, 2606–2613 (1971).
202. Sharp, H. L. & Mirkin, B. L. Effect of phenobarbital on hyperbilirubinemia, bile acid metabolism, and microsomal enzyme activity in chronic intrahepatic cholestasis of childhood. *J. Pediatr.* **81**, 116–126 (1972).
203. Heikkinen, J., Mäentausta, O., Ylöstalo, P. & Jänne, O. Serum bile acid levels in intrahepatic cholestasis of pregnancy during treatment with phenobarbital or cholestyramine. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **14**, 153–162 (1982).
204. Kauppila, A., Tuimala, R., Ylikorkala, O., Reinilä, M. & Ylöstalo, P. Placental steroid synthesis from DHEAS during dexamethasone therapy. *Obstet. Gynecol.* **54**, 39–42 (1979).
205. Hirvioja, M. L., Tuimala, R. & Vuori, J. The treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy by dexamethasone. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* **99**, 109–111 (1992).
206. Diac, M. *et al.* Dexamethasone in the treatment of obstetric cholestasis: a case series. *J. Obstet. Gynaecol. J. Inst. Obstet. Gynaecol.* **26**, 110–114 (2006).

207. Glantz, A., Marschall, H.-U., Lammert, F. & Mattsson, L.-A. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: a randomized controlled trial comparing dexamethasone and ursodeoxycholic acid. *Hepatology. Baltim. Md* **42**, 1399–1405 (2005).
208. Gorelik, J. *et al.* Dexamethasone and ursodeoxycholic acid protect against the arrhythmogenic effect of taurocholate in an in vitro study of rat cardiomyocytes. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **110**, 467–474 (2003).
209. Kay, H. H., Bird, I. M., Coe, C. L. & Dudley, D. J. Antenatal steroid treatment and adverse fetal effects: what is the evidence? *J. Soc. Gynecol. Investig.* **7**, 269–278 (2000).
210. Thorp, J. A., Jones, P. G., Knox, E. & Clark, R. H. Does antenatal corticosteroid therapy affect birth weight and head circumference? *Obstet. Gynecol.* **99**, 101–108 (2002).
211. Seckl, J. R. Prenatal glucocorticoids and long-term programming. *Eur. J. Endocrinol. Eur. Fed. Endocr. Soc.* **151 Suppl 3**, U49–62 (2004).
212. Khalife, N. *et al.* Prenatal glucocorticoid treatment and later mental health in children and adolescents. *PLoS One* **8**, e81394 (2013).
213. Anstee, Q. M. & Day, C. P. S-adenosylmethionine (SAME) therapy in liver disease: a review of current evidence and clinical utility. *J. Hepatology.* **57**, 1097–1109 (2012).
214. Catalino, F., Scarponi, S., Cesa, F., Loiacono, G. & Bortolini, D. M. Efficacy and Safety of Intravenous S-Adenosyl-L-Methionine Therapy in the Management of Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Drug Investig.* **4**, 78–82 (1992).
215. Bonferraro, G. *et al.* S-Adenosyl-L-Methionine (SAME)-Induced Amelioration of Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Drug Investig.* **2**, 125–128 (1990).
216. Frezza, M., Pozzato, G., Chiesa, L., Stramentinoli, G. & Padova, C. D. Reversal of Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy in Women after High Dose S-Adenosyl-L-Methionine Administration. *Hepatology* **4**, 274–278 (1984).
217. Frezza, M., Centini, G., Cammareri, G., Le Grazie, C. & Di Padova, C. S-adenosylmethionine for the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy. Results of a controlled clinical trial. *Hepatogastroenterology.* **37 Suppl 2**, 122–125 (1990).
218. Frezza, M., Terpin, M. M. & Peri, A. [S-adenosyl-L-methionine (SAME) and its use in hepatology]. *Minerva Gastroenterol. Dietol.* **38**, 145–151 (1992).
219. Ribalta, J. *et al.* S-Adenosyl-L-methionine in the treatment of patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy: A randomized, double-blind, placebo-controlled study with negative results. *Hepatology* **13**, 1084–1089 (1991).
220. Floreani, A., Paternoster, D., Melis, A. & Grella, P. V. S-adenosylmethionine versus ursodeoxycholic acid in the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy: preliminary results of a controlled trial. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **67**, 109–113 (1996).

221. Nicastrì, P. L., Diaferia, A., Tartagni, M., Loizzi, P. & Fanelli, M. A randomised placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid and S-adenosylmethionine in the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* **105**, 1205–1207 (1998).
222. Roncaglia, N. *et al.* A randomised controlled trial of ursodeoxycholic acid and S-adenosyl-L-methionine in the treatment of gestational cholestasis. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **111**, 17–21 (2004).
223. Jenkins, J. K. & Boothby, L. A. Treatment of itching associated with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Ann. Pharmacother.* **36**, 1462–1465 (2002).
224. Sadler, L. C., Lane, M. & North, R. Severe fetal intracranial haemorrhage during treatment with cholestyramine for intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* **102**, 169–170 (1995).
225. Kondrackiene, J., Beuers, U. & Kupcinskis, L. Efficacy and safety of ursodeoxycholic acid versus cholestyramine in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Gastroenterology* **129**, 894–901 (2005).
226. Poupon, R. Ursodeoxycholic acid and bile-acid mimetics as therapeutic agents for cholestatic liver diseases: an overview of their mechanisms of action. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* **36 Suppl 1**, S3–12 (2012).
227. Paumgartner, G. & Beuers, U. Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: mechanisms of action and therapeutic use revisited. *Hepatol. Baltim. Md* **36**, 525–531 (2002).
228. Kotb, M. A. Molecular mechanisms of ursodeoxycholic Acid toxicity & side effects: ursodeoxycholic Acid freezes regeneration & induces hibernation mode. *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 8882–8914 (2012).
229. Roma, M. G. *et al.* Ursodeoxycholic acid in cholestasis: linking action mechanisms to therapeutic applications. *Clin. Sci. Lond. Engl.* **121**, 523–544 (2011).
230. Paumgartner, G. & Beuers, U. Mechanisms of action and therapeutic efficacy of ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease. *Clin. Liver Dis.* **8**, 67–81, vi (2004).
231. Diaferia, A. *et al.* Ursodeoxycholic acid therapy in pregnant women with cholestasis. *Int. J. Gynaecol. Obstet. Off. Organ Int. Fed. Gynaecol. Obstet.* **52**, 133–140 (1996).
232. Palma, J. *et al.* Ursodeoxycholic acid in the treatment of cholestasis of pregnancy: a randomized, double-blind study controlled with placebo. *J. Hepatol.* **27**, 1022–1028 (1997).
233. Liu, Y., Qiao, F., Liu, H. & Liu, D. Ursodeoxycholic acid in the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci. Hua Zhong Ke Ji Xue Xue Bao Yi Xue Ying Wen Ban Huazhong Keji Daxue Xuebao Yixue Yingdewen Ban* **26**, 350–352 (2006).

234. Binder, T., Salaj, P., Zima, T. & Vitek, L. Randomized prospective comparative study of ursodeoxycholic acid and S-adenosyl-L-methionine in the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J. Perinat. Med.* **34**, 383–391 (2006).
235. Joutsiniemi, T., Timonen, S., Leino, R., Palo, P. & Ekblad, U. Ursodeoxycholic acid in the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy: a randomized controlled trial. *Arch. Gynecol. Obstet.* **289**, 541–547 (2014).
236. Zapata, R. *et al.* Ursodeoxycholic acid in the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy. A 12-year experience. *Liver Int. Off. J. Int. Assoc. Study Liver* **25**, 548–554 (2005).
237. Arisawa, S. Ursodeoxycholic acid induces glutathione synthesis through activation of PI3K/Akt pathway in HepG2 cells. *Biochem. Pharmacol.* **77**, 858–866 (2009).
238. Beuers, U., Boyer, J. L. & Paumgartner, G. Ursodeoxycholic acid in cholestasis: potential mechanisms of action and therapeutic applications. *Hepatology. Baltim. Md* **28**, 1449–1453 (1998).
239. Rodrigues, C. M., Fan, G., Wong, P. Y., Kren, B. T. & Steer, C. J. Ursodeoxycholic acid may inhibit deoxycholic acid-induced apoptosis by modulating mitochondrial transmembrane potential and reactive oxygen species production. *Mol. Med. Camb. Mass* **4**, 165–178 (1998).
240. Qiao, L. *et al.* Inhibition of the MAPK and PI3K pathways enhances UDCA-induced apoptosis in primary rodent hepatocytes. *Hepatology. Baltim. Md* **35**, 779–789 (2002).
241. Fickert, P. *et al.* Effects of ursodeoxycholic and cholic acid feeding on hepatocellular transporter expression in mouse liver. *Gastroenterology* **121**, 170–183 (2001).
242. König, J., Klatt, S., Dilger, K. & Fromm, M. F. Characterization of ursodeoxycholic and norursodeoxycholic acid as substrates of the hepatic uptake transporters OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1 and NTCP. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **111**, 81–86 (2012).
243. Trauner, M., Wagner, M., Fickert, P. & Zollner, G. Molecular regulation of hepatobiliary transport systems: clinical implications for understanding and treating cholestasis. *J. Clin. Gastroenterol.* **39**, S111–124 (2005).
244. Paolini, M. *et al.* Ursodeoxycholic acid (UDCA) prevents DCA effects on male mouse liver via up-regulation of CYP [correction of CYP] and preservation of BSEP activities. *Hepatology. Baltim. Md* **36**, 305–314 (2002).
245. Campana, G., Pasini, P., Roda, A. & Spampinato, S. Regulation of ileal bile acid-binding protein expression in Caco-2 cells by ursodeoxycholic acid: role of the farnesoid X receptor. *Biochem. Pharmacol.* **69**, 1755–1763 (2005).
246. Calmus, Y., Gane, P., Rouger, P. & Poupon, R. Hepatic expression of class I and class II major histocompatibility complex molecules in primary biliary cirrhosis: effect of ursodeoxycholic acid. *Hepatology. Baltim. Md* **11**, 12–15 (1990).

247. Mimura, Y., Sakisaka, S., Harada, M., Sata, M. & Tanikawa, K. Role of hepatocytes in direct clearance of lipopolysaccharide in rats. *Gastroenterology* **109**, 1969–1976 (1995).
248. Schwarzenberg, S. J. & Bundy, M. Ursodeoxycholic acid modifies gut-derived endotoxemia in neonatal rats. *Pediatr. Res.* **35**, 214–217 (1994).
249. Hori, Y. & Ohyanagi, H. Protective effect of the intravenous administration of ursodeoxycholic acid against endotoxemia in rats with obstructive jaundice. *Surg. Today* **27**, 140–144 (1997).
250. D’Aldebert, E. *et al.* Bile salts control the antimicrobial peptide cathelicidin through nuclear receptors in the human biliary epithelium. *Gastroenterology* **136**, 1435–1443 (2009).
251. Yoshikawa, M. *et al.* Immunomodulatory effects of ursodeoxycholic acid on immune responses. *Hepatol. Baltim. Md* **16**, 358–364 (1992).
252. Meng, L. J. *et al.* Progesterone metabolites and bile acids in serum of patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy: effect of ursodeoxycholic acid therapy. *Hepatol. Baltim. Md* **26**, 1573–1579 (1997).
253. Meng, L. J. *et al.* Effects of ursodeoxycholic acid on conjugated bile acids and progesterone metabolites in serum and urine of patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J. Hepatol.* **27**, 1029–1040 (1997).
254. Glantz, A. *et al.* Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Amelioration of pruritus by UDCA is associated with decreased progesterone disulphates in urine. *Hepatol. Baltim. Md* **47**, 544–551 (2008).
255. Eloranta, M.-L., Heinonen, S., Mononen, T. & Saarikoski, S. Risk of obstetric cholestasis in sisters of index patients. *Clin. Genet.* **60**, 42–45 (2001).
256. Epstein, F. B. Acute abdominal pain in pregnancy. *Emerg. Med. Clin. North Am.* **12**, 151–165 (1994).
257. Blondel, B., Lelong, N., Kermarrec, M. & Goffinet, F. La santé périnatale en France métropolitaine de 1995 à 2010. Résultats des enquêtes nationales périnatales. *Rev. Sage-Femme* **11**, 128–143 (2012).
258. Degiorgio, D. *et al.* Molecular characterization and structural implications of 25 new ABCB4 mutations in progressive familial intrahepatic cholestasis type 3 (PFIC3). *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* **15**, 1230–1238 (2007).
259. Porcelli & Pagan. Comparison of radioimmunoassay and enzyme methods for quantification of serum bile acids.
260. Starkey, B. J. & Marks, V. Determination of total bile acids in serum. A comparison of a radioimmunoassay with an enzymatic-fluorimetric method. *Clin. Chim. Acta* **119**, 165–177 (1982).

Annexe 1 : Liste des abréviations.

AB : acide biliaire	MDR1 : multidrug resistance protein-1
ABC : ATP binding cassette	MDR3 : multidrug resistance protein-3
ABCB1 : ATP-binding cassette sub-family B member1	MFU : mort foetale <i>in utero</i>
ABCB4 : ATP-binding cassette sub-family B member 4	MRP2 : multidrug resistance-associated protein-2
ABCB11 : ATP-binding cassette sub-family B member11	MRP3 : multidrug resistance-associated protein-3
ABCC3 : ATP-binding cassette sub-family C member 3	MRP4 : multidrug resistance-associated protein-4
ABCC4 : ATP-binding cassette sub-family C member 4	Na⁺ : sodium
ABCG5/8 : ATP-binding cassette, sub-family G 5/ 8	NF-κB : nuclear-factor-κB
ABST : apical sodium-dépendent bile salt transporter	NHE 3 : Na ⁺ -H ⁺ exchanger 3
AC : acide cholique	NR1H2 : nuclear receptor subfamily 1,group H,member2
ACDC : acide chénodésoxycholique	NR1H3 : nuclear receptor subfamily 1,group H,member3
ACTH : adrénocorticotrophine	NR1H4 : nuclear receptor subfamily 1,group H,member4
ADC : acide déoxycholique	NR1I1 : nuclear receptor subfamily 1, group I, member1
AE2 : anion exchanger 2	NR1I2 : nuclear receptor subfamily 1, group I, member2
ALC : acide lithocholique	NR1I3 : nuclear receptor subfamily 1,group I, member3
ALAT : alanine amino-transferase	NR3C1 : nuclear receptor subfamily 3,group C,member1
AMP-c : cyclic adénosine monophosphate	Nrf2 : nuclear factor-E2-related factor-2
ASAT : aspartate amino-transferase	NTCP : Na ⁺ -taurocholate co-transporting polypeptide
ASBT : apical sodium-dependent bile salt transporter	OA⁻ : anions organiques
AUDC : acide ursodésoxycholique	OATP : Organic anion transporter
BRIC : cholestase intrahépatique récurrente bénigne	OC⁺ : cations organiques
BSEP : bile salt export pump	OSTα/β : organic solute transporter α/β
CAR : constitutive androstane receptor	PAL : phosphatase alcaline
CFTR : cytic fibrosis transmembrane conductance regulator	PCR : polymerase chain reaction
CIG : cholestase intrahépatique gravidique	PFIC : cholestase intrahépatique familiale progressive
Cl⁻ : chlore	PGC-1α : peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1α
CMH : complexe majeur d'histocompatibilité	PI₃K : phosphoinositol-3-phosphate
CRB (ou BRIC) : cholestase récurrente bénigne	PKC : protein kinase C
CRH : corticotrophin-releasing hormone	PL : phospholipides
CRH-R : corticotrophin-releasing hormone-receptor	PP2B : protein phosphatase-2-B
Cs : cholestérol	PPARα/β : peroxisome proliferator-activated receptor α/β
CYP27A1 : cytochrome P450, sterol-27-hydroxylase	PXR : pregnant X receptor
CYP3A4 : cytochrome P450 famille 3, hydroxylase	RAR : retinoic acid receptor
CYP7A1 : cytochrome P450, cholesterol-7-α-hydroxylase	RXR : retinoic X receptor
CYP8B1 : cytochrome P450, sterol-12-β-hydroxylase	SA : semaine d'aménorrhée
DHEA : déhydroépiandrostérone	SAMe : S-adenosylmethionine
EASL : European Association for the Study of the Liver	SHP : small heterodimer partner
EGFR : epidermal growth factor receptor	SLC : solute carriers
FGF 19 : fibroblast growth factor 19	SLCO1A2 : solute carrier organic anion transporter family, member 1A2
FGFR4 : fibroblast growth factor-receptor-4	SLCO1B1 : solute carrier organic anion transporter family, member 1B1
FIC-1 : familial intrahepatic cholestasis	SLCO1B3 : solute carrier organic anion transporter family, member 1B3
FXR : Farnesoid X Receptor	SLCO2B3 : solute carrier organic anion transporter family, member 2B3
GR : glucocorticoid receptor	SULT2A1 : dehydroepiandrosterone-sulfotransferase
GSK-3 : glycogen synthase kinase-3	TNFα : tumor necrosis factor-α
GGT : gamma glutamyl transpeptidase	TP : taux de prothrombine
HCO³⁻ : bicarbonate	UGT2B7 : UDP-glucuronosyltransferase
HMG-CoA reductase : 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A reductase	VDR : vitamin D receptor
HNF1α : hepatocyte nuclear factor 1α	
HNF4α : hepatocyte nuclear factor 4α	
I-BABP : ileal bile acid-binding protein	
IFN-γ : interferon-γ	
IL-2 : interleukine-2	
IL-6 : interleukine-6	
JNK : c-jun-N-terminal kinase	
L-FABP : liver fatty acid binding protein	
LPAC : low phospholipid associated cholelithiasis	
LRH : Liver Receptor Homologue	
MAPK : mitogen-activated protein kinase	

Annexe 2 : Lexique.

Complexe majeur d'histocompatibilité : système de reconnaissance du soi. Les molécules du CMH de type I sont présentes sur toutes les cellules nucléées de l'organisme, à l'exception des neurones et de certains tissus comme la cornée ou les glandes salivaires. Elles présentent l'antigène aux lymphocytes T cytotoxiques (TCD8) et servent avec les molécules de classe I de marqueur du soi pour les lymphocytes Natural Killer. Le CMH de type II permet à certains globules blancs de présenter des parties des corps intrus pour déclencher une réponse immunitaire.

Délétion : mutation génétique caractérisée par une perte de matériel génétique de plus ou moins grande taille, induisant un décalage du cadre de lecture. La protéine résultante est souvent non fonctionnelle.

Épissage : processus par lequel les ARN transcrits à partir de l'ADN génomique peuvent subir des étapes de coupure et ligature qui conduisent à l'élimination de certaines régions dans l'ARN final. Les segments conservés s'appellent des exons et ceux qui sont éliminés s'appellent des introns.

Exon : fragment d'un ARN primaire qui se retrouve dans l'ARN cytoplasmique après l'épissage.

Homozygote : se dit d'un gène qui, chez un individu, sera représenté par deux allèles identiques.

Hétérozygote : se dit pour un gène, quand il possède deux allèles différents de ce gène sur un même locus pour chacun de ses chromosomes homologues.

Insertion : mutation génétique caractérisée par un enchâssement de matériel génétique de plus ou moins grande taille, induisant un décalage du cadre de lecture. La protéine résultante est souvent non fonctionnelle.

Intron : fragment d'ARN primaire correspondant à une portion non codante du gène, qui ne se retrouve pas dans l'ARN cytoplasmique après épissage.

Mutation faux-sens : mutation ponctuelle dans laquelle un nucléotide d'un codon est changé, induisant le changement de l'acide aminé associé. Pouvant rendre la protéine traduite non fonctionnelle.

Mutation non-sens : mutation ponctuelle dans laquelle un nucléotide d'un codon est changé, induisant le remplacement du codon par un codon-stop. La protéine résultante est tronquée et donc non fonctionnelle.

Mutation silencieuse : mutation ponctuelle dans laquelle un nucléotide d'un codon est changé, mais l'acide aminé associé reste le même.

Sistostérol : (22,23-dihydrostigmastérol (3β)-stigmast-5-én-3-ol) est un stérol végétal présent dans la nature. On en trouve dans les graines de plantes, fruits et légumes. La fonction des stérols dans les plantes est identique à celle du cholestérol chez l'homme qui consiste au maintien de la structure et du fonctionnement de la membrane cellulaire.

Xenobiotique : une substance présente dans un organisme vivant mais qui lui est étrangère : il n'est ni produit par l'organisme lui-même, ni par son alimentation naturelle.

Annexe 3 : Liste des figures et des tableaux.

1. Les figures.

Figure n°1 : Composition de la bile.

Figure n°2 : Voies classique et alterne de synthèse des acides biliaires.

Figure n°3 : Régulation de la synthèse des AB par les récepteurs nucléaires.

Figure n°4 : Principaux transporteurs de l'hépatocyte.

Figure n°5 : Principaux transporteurs du cholangiocyte.

Figure n°6 : Principaux transporteurs de l'entérocyte.

Figure n°7 : Principaux transporteurs de la cellule rénale tubulaire rénale proximale.

Figure n°8 : Rôles et fonctions des récepteurs nucléaires dans la synthèse et le métabolisme des AB dans l'hépatocyte.

Figure n°9 : Principaux rôles de FXR.

Figure n°10 : Molécule d'acide ursodésoxycholique.

Figure n°11 : Effet de l'AUDC sur les transporteurs, les enzymes impliqués dans la synthèse, l'excrétion biliaire, et le cycle entérohépatique de la bile.

Figure n°12 : Diagramme de flux.

Figure n°13 : Evolution de l'activité sérique de l'ALAT sous AUDC.

Figure n°14 : Evolution de l'activité sérique de l'ASAT sous AUDC.

Figure n°15 : Evolution de l'activité sérique des GGT sous AUDC.

Figure n°16 : Evolution du taux sérique de la bilirubine totale sous AUDC.

Figure n°17 : Evolution du taux sérique des acides biliaires sous AUDC.

2. Les tableaux.

Tableau n°1 : Cibles et actions des récepteurs nucléaires.

Tableau n°2 : Etiologie de la cholestase.

Tableau n°3 : Mutations d'ABCB4 décrites dans la CIG.

Tableau n°4 : Mutations d'ABCB11 décrites dans la CIG.

Tableau n°5 : Caractéristiques clinico-biologiques des 96 malades avec une CIG, traitées.

Tableau n°6 : Traitement médical de la CIG chez les 96 malades avec une CIG, traitées.

Tableau n°7 : Caractéristiques obstétricales des 96 malades avec une CIG, traitées.

Tableau n°8 : Evolution des moyennes des tests hépatiques entre le début de l'AUDC et l'accouchement.

Tableau n°9 : Evolution des tests hépatiques sous traitement par AUDC chez 96 malades avec une CIG traitée par AUDC (comparaison entre chaque semaine de traitement)

Tableau n°10 : Evolution des tests hépatiques sous traitement par AUDC (comparaison de chaque semaine de traitement par rapport au début du traitement)

Tableau n°11 : Évolution des tests hépatiques au cours du traitement chez 96 femmes avec une CIG.

Tableau n°12 : Mutations d'ABCB4 chez 96 malades ayant une CIG traitée par AUDC.

Tableau n°13 : Caractéristiques des femmes présentant une mutation d'ABCB4.

Tableau n°14 : Caractéristiques clinico-biologiques de 96 malades ayant une CIG en fonction de la présence ou non d'une mutation d'ABCB4.

Tableau n°15 : Facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC en fonction de l'amélioration du prurit.

Tableau n°16 : Facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC en fonction de la diminution de l'activité sérique de l'ALAT.

Tableau n°17 : Facteurs prédictifs de réponse à l'AUDC en fonction de la diminution des acides biliaires.