

BILIRRUBINA: METABOLISMO, PRUEBAS DE LABORATORIO E HIPERBILIRRUBINEMIA

BILIRUBIN: METABOLISM, LABORATORY TESTS AND HYPERBILIRUBINEMIA

Carlos Carvajal Carvajal ¹

¹Microbiólogo, especialista en Química Clínica. Laboratorio Clínico Hospital México
Autor para correspondencia: M.Q.C. Carlos Carvajal Carvajal -- ccarvajal313@yahoo.com

Recibido: 19-4-2018

Aceptado: 01-X-2018

Resumen

La bilirrubina es el producto final de la degradación del grupo hem. La bilirrubina no conjugada (BNC) se forma en las células retículoendoteliales, transportada al hígado, donde es conjugada a glucurónidos y secretada a los canalículos. La BNC se solubiliza en el suero por medio de su fuerte unión con la albúmina. La unión bilirrubina-albúmina es una función de las concentraciones de la albúmina y de la bilirrubina y de la afinidad de unión por la bilirrubina. La fracción de bilirrubina no unida o bilirrubina libre plasmática (B_f) se incrementa significativamente conforme el nivel de bilirrubina sérica total (BST) alcanza la capacidad de unión de la albúmina. La B_f es considerada un mejor indicador de neurotoxicidad que la BST, a causa de que solamente la bilirrubina libre puede cruzar la barrera hematoencefálica. En la práctica médica la bilirrubina es un marcador de disfunción hepática, colestasis o enfermedad hemolítica. Una variedad de factores limita la sensibilidad y la especificidad de la medición de la bilirrubina para detectar anomalías: lipemia, hemólisis, exposición a la luz visible y el estado de ayuno. La hiperbilirrubinemia puede ser clasificada como prehepática, hepática y poshepática, y esto brinda un marco útil para identificar la causa subyacente. Además, hay bilirrubina conjugada y no conjugada. La hiperbilirrubinemia y la ictericia neonatales se presentan en casi todos los recién nacidos y puede ser benigna si su progresión a hiperbilirrubinemia es reconocida, monitoreada y prevenida o tratada en una manera oportuna.

Palabras claves

Bilirrubina, hiperbilirrubinemia, ictericia, conjugación

Abstract

Bilirubin is the end product of heme breakdown. Unconjugated bilirubin (UB) is formed in reticuloendothelial cells, transported to the liver where it is conjugated to glucuronides, and then secreted

into the canaliculi. UB is solubilized in serum via very tight linkage to albumin. Bilirubin-albumin binding is a function of the concentration of bilirubin and albumin and the binding affinity for bilirubin. The fraction of unbound bilirubin or plasma free bilirubin (B_f) increases significantly as the total serum bilirubin (TSB) level approaches the binding capacity of albumin. B_f is thought to be better indicator of neurotoxicity than TSB, because only plasma free bilirubin can cross the blood-brain barrier. In medical practice bilirubin is a marker of liver dysfunction, cholestasis or hemolytic disease. A variety of factors limit both the sensitivity and the specificity of bilirubin measurement to detect the abnormalities: lipemia, hemolysis, exposure of visible light and fasting state. Hyperbilirubinemia can be categorised as prehepatic, hepatic or poshepatic, and this provides a useful framework for identifying the underlying cause. In addition, there are conjugated and unconjugated bilirubin. Neonatal hyperbilirubinemia and jaundice occur in almost all newborns and may be benign if its progression to extreme hyperbilirubinemia is recognized, monitored and prevented or managed in a timely manner.

Key words

Bilirubin, hyperbilirubinemia, jaundice, conjugation

INTRODUCCIÓN

La ictericia es una manifestación característica de la enfermedad hepatobiliar. Cualquier paciente con una elevación de la concentración sérica de la bilirrubina debe ser investigado, pues las enfermedades responsables de la hiperbilirrubinemia van desde leves a graves ⁽¹⁾. La bilirrubina se considera un marcador de la función hepática, aunque también se pueden presentar aumentos por causas extrahepáticas, de ahí la importancia de estudiar su metabolismo para poder comprender qué factores intervienen en su homeostasis. El propósito de este trabajo es revisar el metabolismo de la bilirrubina y su función como marcador de patología hepática y extrahepática. Además, se mencionan algunos aspectos que deben tomarse en cuenta a la hora de realizar la determinación de la bilirrubina.

METABOLISMO DE LA BILIRRUBINA.

El catabolismo del grupo hem a partir de todas las proteínas hémicas parece llevarse a cabo en la fracción microsomal de las células mediante un complejo enzimático llamado hem oxigenasa. Cuando el grupo hem llega a los microsomas el hierro se halla en forma férrica, constituyendo la hemina. En una serie de pasos el ión férrico es liberado, se produce monóxido de carbono y biliverdina. Posteriormente, una enzima llamada

biliverdina reductasa reduce este compuesto a bilirrubina, un pigmento de color amarillo. Estas reacciones se llevan a cabo principalmente en las células del sistema retículoendotelial (mononuclear-fagocítico) ^(2, 3).

La bilirrubina es el producto final del catabolismo del grupo hem. Cerca del 80% se origina de la degradación de la hemoglobina de los eritrocitos en el sistema retículoendotelial y el restante 20% se origina de la eritropoyesis ineficiente en la médula ósea y de la degradación de otras proteínas hémicas ⁽⁴⁾. La bilirrubina producida, llamada bilirrubina no conjugada (BNC), es poco soluble en el plasma y su unión no covalente a la albúmina incrementa su solubilidad en el plasma. En esta forma, unida a la albúmina, este compuesto es transportado al hígado.



Reacción 1



Reacción 2

Dentro del citoplasma de los hepatocitos la BNC se une a la ligandina, una proteína que pertenece

al grupo de las proteínas llamadas glutathion S-transferasas ^(5, 6) y es transportada al retículo endoplásmico donde tiene lugar su conjugación con el ácido glucurónico. Las UDP glucuronosil transferasas (UGT) constituyen una familia de enzimas que catalizan la transferencia del grupo UDP-ácido glucurónico a un gran número de compuestos exógenos y endógenos. Las UGTs humanas se dividen en dos familias, UGT1 y UGT2 ⁽⁷⁾.

En el caso de la conjugación de la bilirrubina esta reacción es catalizada por la enzima glucuronosil transferasa difosfato 1A1 (UGT1A1) presente en el retículo endoplásmico ⁽⁸⁾. Esta reacción requiere de UDP-glucurónido como donador del grupo glucuronosilo. En un primer paso se produce el monoglucurónido de bilirrubina y posteriormente se le adiciona otro grupo originando diglucurónido de bilirrubina, la molécula de bilirrubina conjugada con dos grupos glucuronosilo. El proceso de conjugación vuelve a la bilirrubina más polar y más soluble en el plasma, de manera que puede excretarse fácilmente en la bilis.

La bilirrubina conjugada (BC) es secretada hacia los canalículos biliares por transportadores dependientes de ATP (ABCC2/MRP2). Casi toda la bilirrubina excretada en la bilis está en forma de diglucurónido de bilirrubina. ^(4, 9, 10)

En el intestino la BC, por acción bacteriana, es transformada en los urobilinógenos, compuestos incoloros. En el ileon terminal y en el intestino grueso, una pequeña fracción de los urobilinógenos se reabsorbe y se vuelve a excretar por medio del hígado para constituir el ciclo entero hepático del urobilinógeno. En condiciones normales la mayor parte del urobilinógeno se oxida en el colon hacia urobilinas, compuestos coloreados, y éstos son excretados en las heces ⁽¹¹⁾.

Debe anotarse que menos del 1% de la bilirrubina de la bilis es no conjugada. Es importante mantener una baja concentración de bilirrubina no conjugada (BNC), pues este compuesto parece ser un factor iniciador de los cálculos biliares ⁽⁵⁾.

Como bien lo indican Dutt y colegas la presencia de cálculos biliares está más estrechamente relacionada a la proporción de bilirrubina no

conjugada que al grado de saturación de la bilis con colesterol. De modo que la bilirrubina y sus metabolitos juegan un importante papel en la formación de los cálculos de colesterol ⁽¹²⁾.

El efecto tóxico de la bilirrubina se explica porque puede inhibir la síntesis de ADN, desacoplar la fosforilación oxidativa e impedir la producción de ATP e inhibir la síntesis de ARN y de proteínas ⁽⁴⁾.

Lakovic y colegas utilizando ratones encontraron que la bilirrubina podía ser oxidada generando productos de oxidación de la bilirrubina que pueden ser responsables de la toxicidad de la bilirrubina *in vivo* ⁽¹³⁾. Los experimentos mostraron efectos directos de la bilirrubina y de sus productos de oxidación sobre la materia blanca del cerebro. Globalmente, el tratamiento con bilirrubina lleva a la muerte de neuronas, oligodendrocitos y astrocitos.

No obstante, la bilirrubina también es vista como una molécula con una función protectora. Un grupo de investigadores brasileños citan que esta molécula tiene propiedades antioxidantes y antiinflamatorias y que puede proteger a la LDL de ser oxidada ⁽¹⁴⁾. A nivel molecular la bilirrubina elimina los radicales peroxilo, hidroxilo y las especies reactivas del nitrógeno ⁽¹⁵⁾. En este caso su función sería de un compuesto antioxidante.

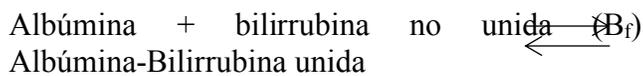
Moon indica que hay una asociación inversa entre los niveles circulantes de bilirrubina y el riesgo de complicaciones cardiovasculares. Un bajo valor de bilirrubina sérica constituye un factor de riesgo significativo para la microangiopatía diabética ⁽¹⁶⁾. Otro grupo de investigadores encontró que pacientes diabéticos con síndrome de Gilbert tienen una prevalencia reducida de complicaciones vasculares comparado con pacientes diabéticos con niveles normales de bilirrubina ⁽¹⁷⁾.

Otro grupo encontró una asociación inversa entre el nivel de la bilirrubina sérica y la prevalencia de la enfermedad de hígado graso no alcohólico ⁽¹⁸⁾. Esta enfermedad está estrechamente relacionada con la resistencia a la insulina, la obesidad, la diabetes tipo 2, la dislipidemia y la enfermedad arterial coronaria.

PROPIEDADES DE LA BILIRRUBINA Y SU UNIÓN A LA ALBÚMINA.

La bilirrubina existe en la sangre principalmente unida a la albúmina por su escasa solubilidad en el plasma. Hay al menos dos sitios de unión en esta proteína para la bilirrubina y sus fotoisómeros (19). El sitio más fuerte e importante tiene una constante de afinidad muy grande, aproximadamente 1.4×10^7 l/mol a 37°C , y puede ser considerado como un sitio específico. Otros sitios secundarios tienen constantes de unión mucho menores (20).

La unión bilirrubina-albúmina depende de la concentración de ambas moléculas y de la afinidad de unión entre ellas.



De la ecuación química anterior puede notarse que hay una cierta cantidad pequeña de bilirrubina no conjugada no unida (llamada también bilirrubina libre o no unida a la albúmina, B_f). Esta cantidad, según Levitt y Levitt, es cerca de 1/50 000 la cantidad total de BNC sérica, en el orden de 0.16 nM (5).

La fracción de bilirrubina no unida (B_f) se incrementa significativamente conforme la bilirrubina total se aproxima a la capacidad máxima de unión de la albúmina (1 gramo de albúmina une 8 mg de bilirrubina) o cuando la afinidad de la albúmina disminuye. Dicha afinidad de unión puede disminuir en la presencia de sepsis, acidosis, hipoxia, ácidos grasos libres y varias drogas de unión a la albúmina (21).

Además, de la ecuación anterior puede inferirse que incrementos en la BNC, manteniendo constantes el nivel de albúmina y la afinidad entre ambas moléculas, incrementarán la fracción B_f y por ende el riesgo de daño cerebral por la bilirrubina. Esto sucede porque los sitios de unión para la BNC en la albúmina se van saturando.

Debido a la gran cantidad de albúmina presente y a su gran afinidad por la bilirrubina, el nivel de B_f en el plasma depende esencialmente de su unión a la albúmina (22).

La unión albúmina-bilirrubina es reversible y hay un equilibrio dinámico donde la bilirrubina se une y se libera continuamente. Conforme la bilirrubina deja el espacio vascular más

bilirrubina se disocia del reservorio de la bilirrubina unida.

La consecuencia de una disminución de la afinidad entre ambas moléculas es un aumento de la bilirrubina libre, y como la bilirrubina libre (B_f) es la única especie capaz de cruzar la barrera hematoencefálica, su nivel aumenta a nivel de tejido cerebral. Debido a que solamente la B_f puede cruzar dicha barrera, la bilirrubina libre plasmática es mejor indicador de neurotoxicidad que la bilirrubina total (23-25).

La bilirrubina no conjugada es una molécula muy poco soluble en agua y por su carácter anfipático e hidrofóbico puede atravesar las membranas celulares. Esta propiedad hace que la bilirrubina no conjugada y no unida a la albúmina sea neurotóxica (26).

La mayoría de la bilirrubina no conjugada está unida normalmente a la albúmina, resultando en muy bajos niveles de bilirrubina libre. No obstante, las concentraciones elevadas de bilirrubina total pueden exceder la capacidad de unión de la bilirrubina a la albúmina y ocasionar niveles elevados de bilirrubina libre (27).

De lo anterior cabe la pregunta ¿por qué no se determina la B_f a nivel clínico, si parece ser una medida de la fracción de bilirrubina relacionada con la patología cerebral asociada a la hiperbilirrubinemia?

Existe una técnica que utiliza la peroxidasa de rábano y que está basada en la observación que esta peroxidasa cataliza la oxidación de la BNC libre, no unida a la albúmina, por el peróxido de hidrógeno. La BNC unida a la albúmina no es oxidada en este proceso. La técnica fue desarrollada por Jacobsen y Wennberg (28, 29).

En un artículo posterior Ahlfors y colaboradores mencionan que la técnica ha sido automatizada, requiere de poco volumen ($< 100 \mu\text{L}$), es cuantitativa, rápida y barata. No obstante, presenta varios inconvenientes: (a) la hemoglobina es una peroxidasa débil y una hemólisis moderada (hemoglobina $> 5\text{g/dl}$) agrega actividad de peroxidasa que puede incrementar falsamente el valor de B_f . La hemólisis severa enmascara la absorbancia de luz de la BNC a 460 nm, disminuyendo falsamente la B_f e incrementando falsamente la bilirrubina total.

(b) la bilirrubina conjugada es más fácilmente oxidada que la BNC y a niveles mayores de 1 mg/dl incrementará la B_f . (c) el pH y la composición iónica del medio (particularmente los iones cloruro y fosfato) pueden alterar la unión y la B_f medida. (d) los fotoisómeros de la bilirrubina pueden interferir con la prueba de la peroxidasa. Otro problema mencionado por estos investigadores es la inestabilidad de las soluciones control de la BNC ⁽³⁰⁾.

PRUEBA DE LABORATORIO.

La bilirrubina se considera como un marcador de función hepática y a la par de otras determinaciones bioquímicas (transaminasas, fosfatasa alcalina y gama glutamil transferasa entre otras) forma parte de un panel básico de pruebas para determinar en forma global la funcionalidad hepática. Tradicionalmente se determina la bilirrubina total y fraccionada. La bilirrubina total es la suma de la bilirrubina directa (conjugada) y la bilirrubina indirecta (no conjugada). Un aumento de la bilirrubina puede indicar disfunción o daño hepático *a priori*.

La medida de bilirrubina conjugada o directa y de la bilirrubina no conjugada o indirecta provee una indicación para pruebas diagnósticas adicionales, pero casi nunca brinda información suficiente para identificar el desorden causante de la patología. Un predominio marcado de BNC ($\geq 80\%$) es indicativo de carga aumentada de bilirrubina (hemólisis), de un aumento de la circulación entero hepática de BNC o de un defecto de conjugación (síndromes de Gilbert o de Crigler-Najjar).

Debe tenerse presente que el ayuno aumenta los niveles de bilirrubina no conjugada, principalmente por un aumento de la absorción intestinal resultando de una disminución de la motilidad intestinal ⁽³¹⁾. Esto se cumple si se utiliza el ensayo de diazo para la determinación de la bilirrubina.

Además, la gran variabilidad normal en la concentración de la BNC limita el valor de esta medición para identificar una hemólisis baja o moderada ⁽⁵⁾. Hay una serie de exámenes hematológicos que pueden arrojar luz (frotis de sangre periférica, nivel de haptoglobinas, recuento de reticulocitos y medición de la

actividad de la enzima lactato deshidrogenasa) para el caso de un aumento marcado de BNC.

Un aumento marcado de BC es sugestivo de colestasis de origen hepático o extrahepático. La obstrucción extrahepática es causada normalmente por cálculos biliares, malignidad o alteraciones estructurales en la vía biliar. En los tres casos la presión aumentada en el sistema biliar ocasiona un reflujo de BC hacia el plasma. La BC sí puede aparecer en la orina, causando un oscurecimiento característico de la misma.

La colestasis intrahepática puede ser causada por una obstrucción al flujo biliar en el hígado (cirrosis biliar primaria o lesiones grandes del parénquima hepático), una carencia de la integridad del canalículo biliar o una secreción disminuida de la bilis secundaria a alguna droga. Además, puede ser un defecto hereditario que reduce el transporte de BC dentro del canalículo (Síndrome de Dubin-Johnson).

Cuando no hay un predominio neto de alguna de las fracciones de bilirrubina se habla de un problema hepatocelular, tal como en las varias formas de hepatitis o cirrosis.

En la determinación de la bilirrubina debe tenerse especial cuidado con la exposición de la bilirrubina a la luz visible, pues sufre isomerización y oxidación en el suero. Rehak y colaboradores encontraron que para muestras normobilirrubinémicas y moderadamente hiperbilirrubinémicas había un decrecimiento de bilirrubina total del 59% y del 41%, respectivamente, en muestras de suero humano expuestas a la luz visible de un laboratorio y a temperatura ambiente. El descenso de la bilirrubina directa fue menor, 38% y 31% respectivamente. El descenso era proporcionalmente mayor en muestras con valores iniciales bajos de bilirrubina ⁽³²⁾. Incluso, en muestras de control incubadas en la oscuridad había un pequeño descenso del 15% de la bilirrubina directa al cabo de las 24 horas. Todo esto lleva a estos investigadores a recomendar que la exposición de las muestras de suero a luz normal de laboratorio no sea mayor a las 2 horas para limitar la pérdida a menos del 10%.

La hemólisis y la lipemia constituyen dos interferentes para la determinación tanto de la

bilirrubina directa como de la total, empleando el método clásico que utiliza el reactivo de diazo. La interferencia es mayor en la determinación de la bilirrubina directa, es decir, se requieren niveles menores de ambos interferentes para afectar el resultado de la prueba ⁽¹⁵⁾.

Otro posible factor de confusión en la utilización de la medición de la bilirrubina como indicador de disfunción hepática viene dado por la alta prevalencia del síndrome de Gilbert dentro de la población, entre 3-13% ⁽³³⁾.

Cabe notar que la presencia de bilirrubina en la orina indicaría presencia de BC, pues por su conjugación es una molécula soluble en el plasma. La BNC está fuertemente unida a la albúmina y esto impide su filtración glomerular y su aparición en la orina. Debe indicarse que en condiciones normales la bilirrubina conjugada no es detectada en sangre, a menos que su concentración se halle significativamente elevada por algún trastorno.

Por último, el método tradicional de medición de la bilirrubina emplea un reactivo conocido como diazo y se vale del hecho que la BNC es un "pobre" reactante sin un acelerador. No obstante, a altas concentraciones parte de la BNC puede reaccionar con el reactivo diazo sin la adición del acelerador ocasionando un falso aumento de la BC ⁽³⁴⁾.

HIPERBILIRRUBINEMIA.

La hiperbilirrubinemia se define como una concentración de bilirrubina superior a 19 μ M (1.1 mg/dl). La ictericia, coloración amarillenta de la piel, de las membranas mucosas y de los fluidos corporales, se presenta a una concentración de 40 μ M (2.4 mg/dl) de bilirrubina ⁽³⁵⁾.

Tradicionalmente la hiperbilirrubinemia, y la ictericia, pueden clasificarse de dos formas, según su origen (prehepática, hepática y poshepática), ó según su tipo (conjugada y no conjugada). En la hiperbilirrubinemia prehepática predomina la bilirrubina no conjugada y en la hepática puede haber cuadros tanto de predominio de bilirrubina no conjugada como conjugada. En la hiperbilirrubinemia poshepática predomina la bilirrubina conjugada.

Hiperbilirrubinemia prehepática.

En esta condición la producción de bilirrubina supera la capacidad del hígado de conjugar y

excretar la bilirrubina. El hígado puede excretar 6 veces la carga diaria normal, antes de que aparezca la ictericia ⁽³⁵⁾. La causa principal de sobreproducción de bilirrubina es el incremento en la destrucción de los glóbulos rojos (hemólisis) y la producción corresponde a bilirrubina no conjugada. La BNC es insoluble en el plasma y no es excretada en la orina. El cuadro más conocido es la hiperbilirrubinemia por incompatibilidad materno fetal.

Ictericia hepática.

Hay causas de origen genético donde se encuentra una actividad disminuida, en grado variable, de la enzima UGT1A1. Este es el caso de los síndromes de Crigler-Najjar y de Gilbert. Ambos síndromes representan tres grados de hiperbilirrubinemia no conjugada. Los pacientes con el tipo I de Crigler-Najjar son incapaces de conjugar la bilirrubina y presentan concentraciones de bilirrubina de 20 a 50 mg/dl. El tipo II de Crigler-Najjar presenta una pérdida severa, aunque parcial, de la actividad de la UGT1A1. La hiperbilirrubinemia es menos acusada (< 20 mg/dl). La forma más leve de hiperbilirrubinemia no conjugada es el síndrome de Gilbert y los niveles de bilirrubina en el suero fluctúan desde un valor normal hasta 5 mg/dl ⁽⁸⁾. El síndrome de Gilbert es la ictericia hereditaria más frecuente, afectando a cerca del 5% de la población caucásica (4 1). Kaga y colegas reportan dos polimorfismos de la UGT responsables del síndrome de Gilbert, en el exón 1 (G71R) y en el TATA box de la región promotora del gen correspondiente [A(TA)7TAA] ⁽³⁶⁾.

Otra causa de hiperbilirrubinemia, más frecuente, es la hepatitis de diverso origen: viral, cirrosis alcohólica, causada por drogas, cirrosis biliar primaria y otras ⁽³⁷⁻⁴¹⁾.

También existen cuadros hereditarios de hiperbilirrubinemia conjugada, por ejemplo los los síndromes de Rotor y de Dubin-Johnson ^(42, 43). En estos síndromes el problema se ubica posteriormente a la conjugación de la bilirrubina, básicamente son problemas relacionados con la excreción de la BC hacia la bilis.

Ictericia poshepática.

La causa principal es la obstrucción biliar debido a la presencia de cálculos biliares o por un carcinoma de páncreas, aunque hay una variedad de causas malignas y no malignas ⁽⁴⁴⁾. En este cuadro se observa un aumento de la bilirrubina conjugada.

ICTERICIA NEONATAL.

La hiperbilirrubinemia neonatal, definida como una concentración de bilirrubina total > 5 mg/dl, es una condición clínica encontrada con mucha frecuencia. Cerca del 60% de los neonatos a término presentan ictericia clínica durante la primera semana de vida ⁽⁴⁵⁾. La ictericia neonatal es la condición más frecuente de hospitalización en la primera semana de vida y la gran mayoría de los recién nacidos ictericos tienen bilirrubina no conjugada elevada ⁽³⁴⁾. Usualmente la hiperbilirrubinemia se presenta en ausencia de alguna enfermedad y se le conoce como ictericia o hiperbilirrubinemia fisiológica.

La ictericia fisiológica se debe a un desarrollo insuficiente en el proceso de captación, transporte y conjugación de la bilirrubina en el hígado del recién nacido ⁽⁴⁶⁾. Los recién nacidos sanos a término o casi a término (edad gestacional ≥ 35 semanas), sin factores de riesgo conocidos y cuyo nivel de bilirrubina indica un riesgo bajo o intermedio usualmente normalizan su nivel de bilirrubina espontáneamente sin necesidad de tratamiento ⁽⁴⁷⁾. Para los pacientes con uno o más de los factores de riesgo conocidos y/o pacientes con niveles muy elevados de bilirrubina, la hiperbilirrubinemia prolongada puede resultar en una disfunción neurológica inducida por la bilirrubina o, en los casos más severos, en kernicterus ⁽⁴⁸⁾.

Los neonatos a término o casi a término están en riesgo de kernicterus cuando la concentración de bilirrubina total excede los 25 a 30 mg/dl (428 a 513 $\mu\text{mol/L}$). No obstante, si la medición de la bilirrubina directa excede el nivel de 1.5 a 2.0 mg/dl (26 a 34 $\mu\text{mol/L}$) debe investigarse una ictericia colestásica ⁽²⁷⁾. Además, en neonatos con ictericia a las 3 o más semanas de vida debe medirse el nivel de la bilirrubina conjugada y total para un diagnóstico de colestasis ⁽⁴⁹⁾.

Benchimol y colegas citan como indicadores de colestasis neonatal un valor de bilirrubina directa > 1.0 mg/dl (17 $\mu\text{mol/L}$) o un valor de bilirrubina directa $> 20\%$ de la concentración de la bilirrubina total, cuando la bilirrubina total > 5.0 mg/dl (85 $\mu\text{mol/L}$) ⁽⁵⁰⁾. No obstante, la colestasis neonatal se presenta en menos del 0.04% a 0.2% de los nacidos vivos según indican estos mismos investigadores. Otros investigadores indican que una ictericia que persiste por más de 2 semanas lleva a considerar un diagnóstico de colestasis ⁽⁵¹⁾. En cualquier caso una hiperbilirrubinemia conjugada nunca es normal o fisiológica.

Merece especial atención la hiperbilirrubinemia por incompatibilidad dentro de los primeros días de nacido. La BNC se une a la albúmina, pero si su producción es elevada una mayor fracción permanece libre y por su hidrofobicidad es capaz de atravesar la barrera hemato-encefálica y acumularse en el cerebro. Algunas regiones cerebrales (principalmente los ganglios basales, el hipocampo, el cerebelo y algunas áreas del tallo cerebral) muestran gran sensibilidad a la toxicidad de la BNC ⁽⁵²⁾.

También hay varios factores que causan una liberación o desplazamiento de la bilirrubina de su unión con la albúmina, pudiendo de ese modo acumularse en el cerebro. Entre esos factores se incluyen: sepsis, acidosis, hipoxia, ácidos grasos libres y varias drogas de unión a la albúmina ^(20, 24). También hay una serie de factores de riesgo que incluyen prematuridad, anemia hemolítica, deficiencia de la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, temperatura inestable, insuficiente toma de leche materna e hipoalbuminemia ⁽⁵³⁻⁵⁵⁾. En ausencia de factores de riesgo los niveles mayores de bilirrubina no son neurotóxicos, tal y como lo demostraron Gamaleldin y colaboradores, concluyendo que en ausencia de factores de riesgo los neonatos tienen una mayor tolerancia para la hiperbilirrubinemia (hasta 31.5 mg/dl de bilirrubina total sin presentar neurotoxicidad) ⁽⁵³⁾.

Iskander y colegas señalan que las guías de la Academia Americana de Pediatría para tratar la ictericia neonatal y prevenir el kernicterus están basadas en los niveles de bilirrubina total ajustados para la ausencia o la presencia de

factores clínicos de riesgo (por ejemplo edad gestacional, sepsis, anemia hemolítica entre otros). No obstante, al ser la bilirrubina libre mejor indicador de neurotoxicidad que la bilirrubina total, idealmente debería determinarse el nivel de bilirrubina libre, aunque no existe una prueba rutinaria para medir la B_f . En ausencia de dicha prueba estos autores proponen la medición de la relación bilirrubina/albúmina. Dicha razón brindaría un mejor estimado de la B_f que la bilirrubina total, pues contiene 2 de los tres factores que determinan la B_f (bilirrubina total, albúmina y la afinidad albúmina-bilirrubina) ⁽²⁵⁾. A pesar de todo el razonamiento anterior el uso de dicha razón parece no mejorar el valor predictivo de la bilirrubina total para prevenir el daño neuronal en casos de hiperbilirrubinemia. Igual conclusión alcanzan Hulzebos y colegas: el uso de la relación bilirrubina/albúmina no mejora el manejo de los neonatos hiperbilirrubinémicos a término comparado con el uso del valor de la bilirrubina total ⁽⁵⁶⁾.

Es de notar que la BNC está presente en el cerebro bajo condiciones normales a concentraciones nanomolares ⁽⁵⁷⁾. A estas concentraciones la BNC brinda neuroprotección contra el estrés oxidativo a las neuronas en cultivo y solamente llega a ser tóxica a concentraciones celulares ligeramente mayores. Fisiológicamente la principal fracción de la bilirrubina proviene de la degradación periférica de la hemoglobina. No obstante, este pigmento es también producido dentro del cerebro por el catabolismo de otras proteínas que tienen el grupo hem. Las células neuronales poseen la maquinaria bioquímica necesaria para mantener una concentración intracelular de BNC con los efectos benéficos de la bilirrubina ⁽⁵²⁾. El daño ocurriría solamente cuando estos mecanismos son sobrepasados por una concentración extracelular BNC.

CONCLUSIONES

La bilirrubina es un producto del catabolismo del grupo hem. Inicialmente se produce bilirrubina no conjugada que a nivel hepático es conjugada para ser eliminada por la bilis.

En el plasma la bilirrubina se encuentra unida en su mayoría a la albúmina y solo una pequeña fracción se encuentra libre.

La fracción libre de la bilirrubina puede atravesar las membranas biológicas y acumularse a nivel cerebral. Esta característica la hace potencialmente patógena a altas concentraciones. Hay diferentes causas de hiperbilirrubinemia (prehepática, hepática y poshepática) y algunas de ellas son genéticas. Además, en algunos casos solo hay aumento de la bilirrubina no conjugada o de la conjugada o de ambas.

La determinación de la bilirrubina se considera tradicionalmente como un marcador de disfunción hepática, aunque se requiere de otras pruebas para mejorar el diagnóstico.

En la determinación de la bilirrubina debe considerarse la presencia de algunos factores interferentes: lipemia y hemólisis. Además, la muestra debe protegerse de la luz para evitar un valor falsamente disminuido.

A nivel neonatal es de vital importancia estudiar la causa de un aumento significativo de la bilirrubina total (conjugada o no conjugada).

Bibliografía

1. Bouchier, I.(1981). Diagnosis of jaundice. *British Med J*, 1282-1284.
2. Spencer, A. Bagai, I., Becker, D., Zuiderweg, E. & Ragsdale, S. (2014). Protein / Protein interactions in the mammalian heme degradation pathway. Heme oxygenase-2, cytochrome P450, and biliverdin reductase. *J Biol Chem*, 289(43), 29836-29858.
3. Hemmati, F., Saki, F. & Haghghat, M. (2010). Gilbert syndrome in Iran, Fars Province. *Ann Saudi Med*, 30(1), 1-4.
4. Sticova, E. & Jirsa, M. (2013). New insights in bilirubin metabolism and their clinical implications. *World J Gastroenterology*, 19(38), 6398-6407.
5. Levitt, D. & Levitt, M. (2014). Quantitative assessment of the multiple processes responsible for bilirubin homeostasis in health and disease.

- Clinical and Experimental Gastroenterology, 7, 307-328.
6. Erlinger, S., Arias, IM. & Dhumeaux, D. (2014). Inherited disorders of bilirubin transport and conjugation: new insights into molecular mechanisms and consequences. *Gastroenterology*, 146, 1625–38. [PubMed: 24704527].
 7. Sumida, K., Kawana, M., Kouno, E., Itoh, T., Takano, S., et al. (2013). Importance of UDP-glucuronosyltransferase 1^{a1} expression in skin and its induction by UVB in neonatal hyperbilirubinemia. *Molecular Pharmacology*, 84, 679-686.
 8. Bilirubin glucuronidation revisited: proper assay conditions to estimate enzyme Kinetics with recombinant UGT1A1. *Drug Metabolism and deposition*, 38(11), 1907-1911.
 9. Deng, F., Sjöstedt, N. & Kidron, H. (2016). The effect of albumin on MRP2 and BCRP in the vesicular transport assay. *PLoS ONE*, 11(10), 1-15.
 10. Vlaming, ML., Pala, Z., van Esch A, et al. (2009). Functionally overlapping roles of Abcg2 (Bcrp1) and Abcc2 (Mrp2) in the elimination of methotrexate and its main toxic metabolite 7-hydroxymethotrexate in vivo. *Clin Cancer Res*, 15,3084–93. [PubMed: 19383815].
 11. Rodwell, V. (2010). Porfirias y pigmentos biliares. En: Murray R. Bender D. Botham K. Kennelly P. Rodwell V. Weil A. (Eds.). *Harper Bioquímica Ilustrada* (pp: 271-284). México DF, México: McGraw Hill.
 12. Dutt, M. K., Murphy, G. M. & Thompson, R. P. H. (2003). Unconjugated bilirubin in human bile: the nucleating factor in cholesterol cholelithiasis? *J Clin Pathol*, 56, 596-598.
 13. Lakovic, K., Ai, J., D'Abbondanza, J., Tariq, A., Sabri, M., et al. (2014). Bilirubin and its oxidation products damage brain white matter. *J Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 34, 1837-1847.
 14. Nascimento, H., Alves, A. I., Coimbra, S., Catarino, C., Gomes, D., et al. (2015). Bilirubin is independently associated with oxidized LDL levels in young obese patients. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 7, 1-5.
 15. Beckman Coulter. Total and direct bilirubin. Data on samples collected from 200 blood donors in North Texas. 2012.
 16. Moon, J. S. (2015). Role of bilirubin in diabetic vascular complications: can bilirubin predict more than just liver disease? *Diabetes Metabolism*, 39, 384-386.
 17. Inoguchi, T., Kobayashi, K., Takayanagi, R. & Yamada, T. (2007). Relationship between Gilbert syndrome and prevalence of vascular complications in patients with diabetes. *JAMA*, 298, 1398-400.
 18. Kwak, M-S., Kim, D., Chung, G. E., Kang, S. J., Park, M. J., et al. (2012). Serum bilirubin levels are inversely associated with nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical and Molecular Hepatology*, 18, 383-390.
 19. Tran, CD. & Beddard, G. (1982). Interactions between bilirubin and albumins using picosecond fluorescence and circularly polarized luminescence spectroscopy. *J Am Chem Soc*, 104, 6741–6747.
 20. Amin, S. & Lamola, A. (2011). Newborn jaundice technologies; unbound bilirubin and bilirubin capacity in neonates. *Sem Perinatol*, 35(3), 134-140.
 21. Amin, SB. (2004). Clinical assessment of bilirubin-induced neurotoxicity in premature infants. *Semin Perinatol*, 28(5), 340–347. [PubMed: 15686265].
 22. Wells, R., Hammond, K., Lamola, AA. & Blumberg, WE. (1982). Relationships of bilirubin binding parameters. *Clin Chem*, 28(3), 432–439. [PubMed: 7067082].
 23. Amin, S., Harte, T., Scholer, L. & Wang, H. Intravenous lipid and bilirubin-albumin binding variables in premature infants. *Pediatrics*, 124(1), 211-217.
 24. Amin, S. (2010). Effect of free fatty acids on bilirubin-albumin binding affinity and unbound bilirubin in premature infants. *J Parenter Enteral Nutr*, 34(4), 414-420.
 25. Iskander, I., Gamaleldin, R., El Houchi, S., El Shenawy, A., Seoud, I., et al. (2014). Serum bolirubin and bilirubin / albumin ratio as predictors of bilirubin encephalopathy. *Pediatrics*, 134, e1330-e1339.

26. Calligaris, SD., Bellarosa, C., Giraudi, P., Wennberg, RP., Ostrow, JD. & Tiribelli, C. (2007). Cytotoxicity is predicted by unbound and not total bilirubin concentration. *Pediatr Res*, 62(5), 576–580. [PubMed: 18049372].
27. Ali, R., Ahmed, S., Qadir, M. & Ahmad, K. (2012). Icterus neonatorum in near-term and term infants. *SQU Med J*, 12(2), 153-160.
28. Wennberg, R. (2007). Unbound bilirubin: a better predictor of kernicterus? *Clinical Chemistry*, 54(1), 207-208.
29. Jacobsen, J. & Wennberg, R. (1974). Determination of unbound bilirubin in the serum of newborns. *Clinical Chemistry*, 20(7), 783-789.
30. Ahlfors, C., Wennberg, R. Ostrow, D. & Tiribelli, C. (2009). Unbound (free) bilirubin: improving the paradigm for evaluating neonatal jaundice. *Clinical Chemistry*, 55(7), 1288-1299.
31. Zucker, S., Horn, P. & Sherman, K. (2004). Serum bilirubin levels in the U. S. population: gender effect and inverse correlation with colorectal cancer. *Hepatology*, 40, 827-835.
32. Rehak, N., Cecco, S. & Hortin, G. (2008). Photolysis of bilirubin in serum specimens exposed to room lighting. *Clin Chem Acta*, 387(1-2), 181-183.
33. Travan, L., Crovella, S., Montico, M., Panontin, E. & Demarini, S. (2014). Severe neonatal hyperbilirubinemia and UGT1A1 promoter polymorphism. *J Pediatr*, 165, 42-45. [PubMed: 24726540].
34. Davis, A. R., Rosenthal, P., Escobar, G. & Newman, T. (2011). Interpreting conjugated bilirubin levels in newborn. *J Pediatr*, 158(4), 562-565.
35. Beckingham, I. & Ryder, S. (2001). Investigation of liver and biliary disease. *BMJ*, 322, 33-37.
36. Kaga, A., Ohkubo, Y., Watanabe, Y., Saito, S., Matsuki, T., et al. (2013). Development of icterus gravis in a preterm infant with G71R UGT1A1 polymorphism. *BMC Research Notes*, 6(51), 1-4.
37. Hashmi, S., Allison, M., McCurdy, M. & Reed, R. (2014). Hyperbilirubinaemia and haemolytic anemia: there's oil in them thar veins. *BMJ Case Report*, doi: 10.1136/bcr-2014-203804.
38. Abbott, R. J., Carter, N. W., Clee, M. D. & Bouchier, I. (1979). A study of hyperbilirubinaemia in clinical practice. *Postgraduate Medical Journal*, 55, 787-790.
39. Kaspar, M. & Sterling, R. (2015). Hyperbilirubinaemia in HIV-HCV co-infected patients on antiretroviral therapy: Drug effect or liver disease severity? *BMJ Open Gastro*, doi: 10.1136/bmjgast-2015-000072
40. Pothuri, P., Ahuja, K., Kumar, V., Lal, S., Tumarinson, T. & Mahmood, K. (2016). Leptospirosis presenting with rapidly progressing acute renal failure and conjugated hyperbilirubinaemia: a case report. *Am J Case Rep*, 17, 567-569.
41. Viriyavejakul, P., Khachonsakumet, V. & Punsawad, C. (2014). Liver changes in severe Plasmodium falciparum malaria: histopathology, apoptosis and nuclear factor kappa B expression. *Malaria Journal*, 13, 1-9
42. Pratt, E., Sissung, T. & Figg, W. (2012). Loss of oatp1b3 function causes rotor syndrome. *Cancer Biology & Therapy*, 13(14), 1374-1375.
43. Li, P., Wang, Y., Zhang, J., Geng, M. & Li, Z. (2013). Dubin-Johnson syndrome with multiple liver cavernous hemangiomas: report of a familial case. *Int J Clin Exp Pathol*, 6(11), 2636-2639.
44. Garcea, G., Ngu, W., Neal, C., Dennison, A. & Berry, D. (2011). Bilirubin levels predict malignancy in patients with obstructive jaundice. *HPB*, 13, 426-430.
45. Bandi, C., Vanaki, R., Badakali, A., Pol, R., Yelamali, B. (2016). Predictive value of total serum bilirubin within 6 hour of birth for the development of hyperbilirubinemia after 72 hours of birth. *J Clinical and Diagnosis Research*, 10(9), SC01-SC04.
46. Siyah, B., Atun, O., Yalaz, M., Karaman, S. & Kultursay, N. (2013). Factors affecting bilirubin levels during First 48 hours of life in healthy infants. *BioMed Research Int*, 2013, 1-6.
47. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. (2004) Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics*, 114, 297-316.

48. Xie, B., da Silva, O. & Zaric, G. (2012). Cost-effectiveness analysis of a system-based approach for managing neonatal jaundice and preventing kernicterus in Ontario. *Paediatr Child Health*, 17(1), 11-16.
49. American Academy of Pediatrics. (2004). Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics*, 114(1), 297-316.
50. Benchimol, E., Walsh, C. & Ling, S. (2009). Early diagnosis of neonatal cholestatic jaundice. *Can Fam Physician*, 55, 1184-1192.
51. Feldman, A. & Sokol, R. (2013). Neonatal cholestasis. *Neoreviews*, 14(2), 1-21
52. Gazzin, S., Strazielle, N., Tiribelli, C. & Ghersi-Egea, J-F. (2012). Transport and metabolism at blood-barrier interfaces and in neural cells: relevance to bilirubin-induced encephalopathy. *Frontiers of Pharmacology*, 3, 1-13.
53. Gamaleldin, R., Iskander, I., Seoud, I., Aboraya, H., Aravkin, A., et al. (2011). Risk factors for neurotoxicity in newborns with severe neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatrics*, 128, e925-e931.
54. Bhutani, V., Zipursky, A., Blencowe, H., Khanna, R., Sgros, M., et al. (2013). Neonatal hyperbilirubinaemia and Rhesus disease of the newborn: incidence and impairment estimates for 2010 at regional and global levels. *Pediatric Research*, 74(s1), 86-100.
55. Taheri, P., Sadeghi, M. & Sajjadian, N. (2014). Severe neonatal hyperbilirubinemia leading to Exchange transfusión. *Med J Islam Rep Iran*, 28, 1-5.
56. Huzebos, C., Dijk, P., van Imhoff, D., Boss, A., Lopriore, E., et al. (2014). The bilirubin albumin ratio in the management of hyperbilirubinemia in preterms infants to improve neurodevelopmental outcome: a randomized controlled trial-BAR Trial. *PLOS ONE*, 9(6), 1-7.
57. Doré, S. & Snyder, S. H. (1999). Neuroprotective action of bilirubin against oxidative stress in primary hippocampal cultures. *Ann N Y Acad Sci*, 890, 167-172.



Attribution (BY-NC) - (BY) You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggest the licensor endorses you or your use. (NC) You may not use the material for commercial purposes.