

Bilirrubina: mecanismos tóxicos de una molécula antioxidante

Bilirubin: The toxic mechanisms of an antioxidant molecule

Dra. Constanza P. Soto Conti^a

RESUMEN

La hiperbilirrubinemia es el motivo más frecuente de consulta e internación en el período neonatal. Requiere la instauración oportuna de un tratamiento eficiente, ya que los recién nacidos son especialmente vulnerables a los daños que la bilirrubina puede causar en el sistema nervioso central, debido a características propias de esta etapa de la vida.

La bilirrubina en altas concentraciones produce neurotoxicidad y estrés oxidativo. Sin embargo, estudios de biología molecular demuestran que la misma molécula se comporta como un potente antioxidante.

El objetivo de esta actualización es revisar cuáles son los procesos por los que la bilirrubina genera daño celular y cuáles son sus efectos antioxidantes beneficiosos. Conocer estos mecanismos facilitaría una indicación más precisa de luminoterapia individualizada, eficaz y oportuna. Hasta nuevos avances científicos, la prescripción de este tratamiento debe ser orientada por consenso de expertos.

Palabras clave: bilirrubina, síndromes de neurotoxicidad, antioxidantes, estrés oxidativo, recién nacido.

<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2021.e18>

Texto completo en inglés:

<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2021.eng.e18>

Cómo citar: Soto Conti CP. Bilirrubina: mecanismos tóxicos de una molécula antioxidante. *Arch Argent Pediatr* 2021;119(1):e18-e25.

a. Hospital Materno Infantil Ramón Sardá. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Correspondencia:
Dra. Constanza P. Soto Conti:
cleosc@yahoo.com

Financiamiento:
Ninguno.

Conflicto de intereses:
Ninguno que declarar.

Recibido: 29-5-2020
Aceptado: 18-8-2020

GLOSARIO

ADN: ácido desoxirribonucleico.

ARN: ácido ribonucleico.

BiD: bilirrubina directa o conjugada.

Bii: bilirrubina indirecta o no conjugada.

BiiL: bilirrubina indirecta libre o no unida a albúmina.

BiS: bilirrubina sérica total.

BLVR: biliverdina reductasa.

HMOX: hemo oxigenasa.

RL: radicales libres.

RN: recién nacido.

RNPT: recién nacido prematuro.

SNC: sistema nervioso central.

TNF- α : factor de necrosis tumoral α .

UDP GT 1A1: uridindifosfato glucuroniltransferasa 1A1.

INTRODUCCIÓN

La hiperbilirrubinemia es el motivo más frecuente de consulta y de admisión hospitalaria en recién nacidos (RN), en quienes genera el riesgo de sufrir consecuencias neurológicas, en algunos casos, graves e irreversibles, especialmente, si son prematuros (RNPT).¹ Los mecanismos celulares y moleculares por los que la bilirrubina produce daño en el sistema nervioso central (SNC) se describieron a lo largo de los años. Sin embargo, quedan muchos interrogantes por resolver.²⁻⁷

Sus efectos beneficiosos como antioxidante fueron descritos mediante biología molecular. En los adultos, el aumento de bilirrubina sérica total (BiS) es un factor de buen pronóstico en algunas afecciones; incluso se especula con su empleo en futuras alternativas terapéuticas.⁸⁻¹¹

Es notorio que, en la especie humana, la bilirrubina aumente luego

del nacimiento, cuando ocurren cambios bruscos en las presiones de oxigenación y oxidación celular.¹² A su vez, sorprende que este potente antioxidante, en algunas circunstancias, se comporte de modo tóxico.

Los RN deben ser controlados de manera cercana y recibir tratamiento oportuno y eficaz según la mejor herramienta que se posee: recomendaciones de expertos, hasta tanto sean develados los interrogantes que permanecen sin respuesta.¹³ Actualizar los mecanismos de producción de daño y potenciales beneficios de la bilirrubina puede resultar útil a quienes indican luminoterapia a diario para reflexionar acerca de cómo la bilirrubina opera en el contexto de las características individuales de cada RN.

Metabolismo de la bilirrubina

La bilirrubina se origina a partir de moléculas que contienen hemo. El 80 % del hemo proviene de la hemoglobina liberada de los eritrocitos senescentes y de la eritropoyesis ineficaz. El resto corresponde a fuentes enzimáticas no eritroides: citocromos, catalasas, peroxidasa y triptófano pirrolasa.¹⁴

En las células del sistema retículo-endotelial, la enzima *hemo oxigenasa* (HMOX) hidroliza la molécula de hemo y la convierte en una de monóxido de carbono y otra de biliverdina. Esta reacción libera hierro y consume oxígeno. Luego la enzima *biliverdina reductasa* (BVLR) reduce la biliverdina en bilirrubina. Así constituida, la bilirrubina es denominada *bilirrubina indirecta* (Bii) o *no conjugada*. Esta molécula es hidrofóbica, por lo que debe unirse a la albúmina para ser transportada hasta el hígado, donde es conjugada con ácido glucurónico. La glucuronización la convierte en bilirrubina directa o conjugada (BiD) y le otorga hidrosolubilidad para ser incorporada en la bilis, a través de la cual llega al intestino.

La flora bacteriana intestinal convierte la BiD en estercobilinógeno y urobilinógeno, pigmentos eliminados a través de la materia fecal y la orina. En el intestino, antes de ser eliminada, existe la posibilidad de reconversión de BiD en Bii por la acción de una enzima denominada *beta-glucuronidasa* y reingreso de la Bii a la circulación. Esto constituye el circuito enterohepático de bilirrubina^{9,12} (Figura 1).

Los valores de bilirrubina dosados en sangre expresan los niveles de BiS, suma de la Bii y BiD. La cifra de BiS incluye las dos fracciones de la Bii: libre (BiiL), que constituye el 0,01 % de la Bii,⁹ y unida a albúmina. Ante la falta de un método de

laboratorio accesible en la práctica clínica para dosar BiiL, las decisiones terapéuticas se basan en el valor de la BiS.¹⁵

La bilirrubina es liposoluble, atraviesa las membranas y se incorpora a células y órganos. En la vida intrauterina, esta característica le permite atravesar la barrera placentaria en dirección del feto a la madre, quien la excreta a través del hígado.¹⁴

Características de vulnerabilidad en los recién nacidos

La especie humana es la única en la que el aumento de la bilirrubina en la etapa neonatal es fisiológico. Lo es por dos motivos: uno es la hemólisis fisiológica generada por estrés oxidativo debido al cambio de oxigenación placentaria a pulmonar. A este aspecto se agregan, ocasionalmente, en algunos individuos, hemólisis inmunológicas o hereditarias. El otro es de origen metabólico, ya que es a expensas de Bii. La enzima uridindifosfato glucuroniltransferasa 1A1 (UDP GT 1A1) conjuga la bilirrubina en el hígado. Existe evidencia de que esta enzima está presente en el intestino delgado y de su papel en la glucuronización de la bilirrubina en el enterocito.

Fujiwara y col., encontraron, en los RN alimentados exclusivamente con leche humana, supresión sobre la expresión de la UDP GT 1A1 en el enterocito, menos glucuronización, aumento del circuito enterohepático y mayor disponibilidad de Bii. Este mecanismo, no observado en RN alimentados con fórmula láctea, destaca el rol fisiológico, antioxidante, de la bilirrubina ante el estrés oxidativo del nacimiento.¹⁴ Además, algunos RN pueden presentar reabsorción de hematomas, bajo nivel de albúmina o disminución de la capacidad de unión Bi-albúmina y/o dificultades en el establecimiento de la lactancia, eventos que favorecen el aumento de la bilirrubina.²

A lo descrito, en los RN, se suma la vulnerabilidad del SNC. La barrera hematoencefálica de los neonatos es lábil, más aún en circunstancias perinatales patológicas que aumentan su permeabilidad capilar: asfixia perinatal, acidosis, sepsis.¹⁶

En el SNC, la bilirrubina ejerce efectos tóxicos, daño por oxidación y lesiones irreversibles. Las consecuencias incluyen impacto transitorio (disfunción neurológica inducida por bilirrubina) o crónico y devastador (encefalopatía hiperbilirrubinémica crónica), hipoacusia central

e, inclusive, la muerte. En los RNPT, estos cuadros pueden ocurrir con niveles bajos de bilirrubina, generar discapacidades neurológicas sutiles y presentar manifestaciones que varían, incluso, entre pacientes de igual edad gestacional.^{17,18}

Unión de la bilirrubina a la albúmina

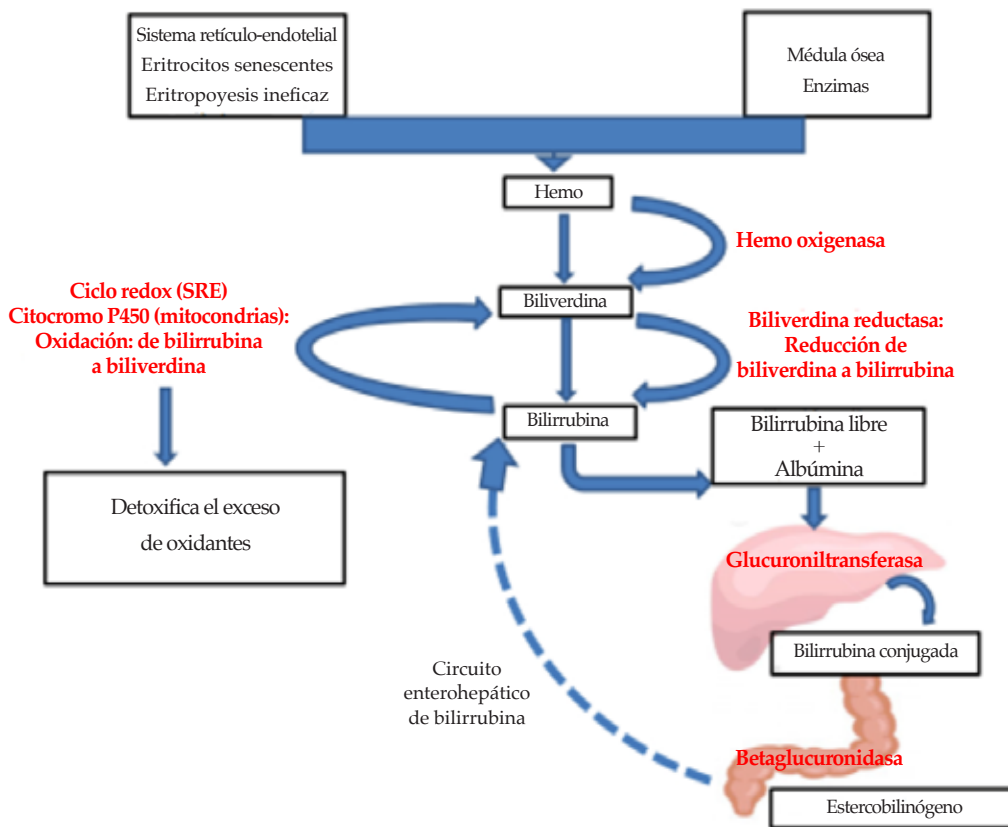
La albúmina es la proteína sérica más abundante. Comprende del 50 % al 60 % de la proteína plasmática total en humanos. Se une a una amplia variedad de ligandos endógenos y exógenos a los que transporta.¹⁹ La unión albúmina-bilirrubina es el principal factor protector de las células; depende de las concentraciones de ambas y de la afinidad de la albúmina por la bilirrubina.^{19,20}

Solo la BiiL, no unida a albúmina, atraviesa la barrera hematoencefálica, cruza las membranas e ingresa a las células.²⁰ La BiiL aumenta a medida que la Bii alcanza la capacidad total de unión de

la albúmina (1 g de albúmina sérica humana se une a 8 mg de Bii en RNT, cifra que disminuye en los RNPT).

La unión es reversible. El equilibrio unión-disociación es dinámico; varía según el pH y la temperatura.¹⁹ Condiciones como hipotermia, hipoxia, acidosis, asfixia favorecen la neurotoxicidad al disociar la unión y generar BiiL.^{21,22} Drogas como ceftriaxona e ibuprofeno compiten con la bilirrubina por la unión con la albúmina.¹⁹ El aporte de lípidos por encima de 1,5 g/kg disminuye significativamente la capacidad de unión albúmina-bilirrubina y aumenta la concentración de BiiL en los prematuros menores de 28 semanas de edad gestacional.²¹ En estos pacientes, la relación albúmina-bilirrubina sería mejor predictor de neurotoxicidad inducida por bilirrubina que el valor de BiS, aunque son necesarios más estudios.^{19,21}

FIGURA 1. Metabolismo de producción y recuperación de bilirrubina



SRE: sistema retículo-endoplasmático.

En la mitad superior derecha de la figura, se observa el nivel en el que ocurre el proceso en sentido inverso por el cual la bilirrubina es convertida en biliverdina y capta radicales libres de oxígeno, lo que constituye el efecto antioxidante. (Elaboración propia).

Toxicidad celular de la bilirrubina

La neurotoxicidad por bilirrubina involucra complejas cascadas de eventos moleculares y celulares. Altera la barrera hematoencefálica y afecta algunas regiones del SNC en particular. Produce múltiples efectos en las neuronas y las células de la glía, en las membranas celulares y mitocondriales, y en el retículo endoplásmico. Genera falla en la producción de energía mitocondrial y excitotoxicidad por estimulación de los receptores de glutamato, aumento de concentraciones de calcio intracelular, necrosis y apoptosis. También desencadena cascadas de factores inflamatorios y estrés oxidativo, que pueden producir anomalías e, incluso, detención del ciclo celular² (Figura 2).

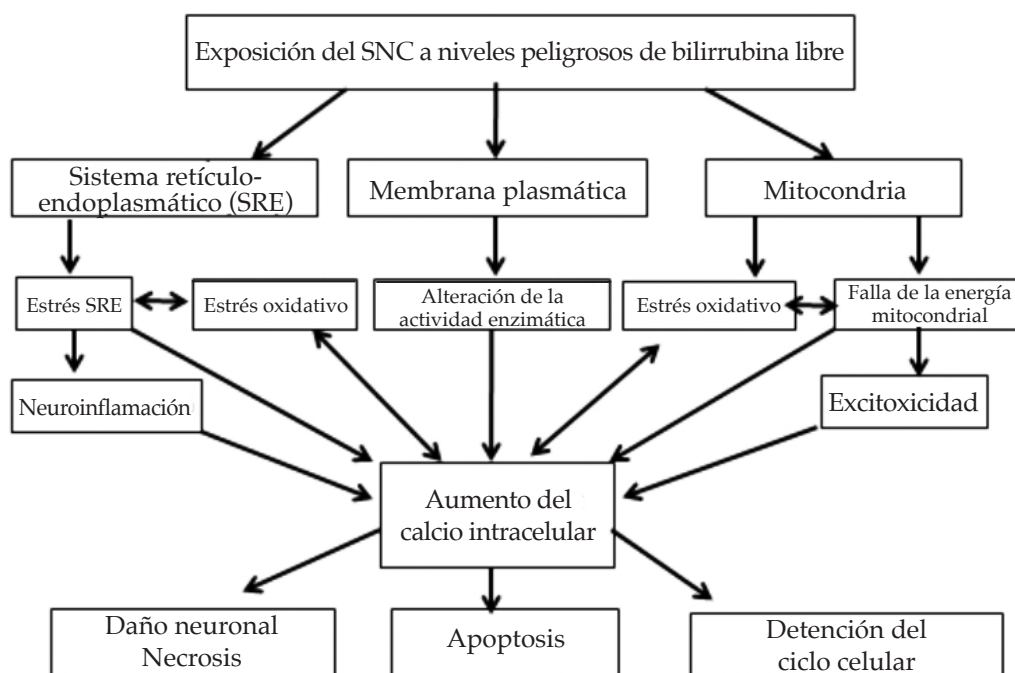
Bilirrubina y membranas celulares

La bilirrubina es anfipática, lo que implica dos propiedades. Una es que posee dos extremos de características diferentes (uno polar o hidrofílico y uno no polar o hidrofóbico). La otra es la longitud suficiente para que cada extremo manifieste sus propias características de solubilidad.²³

Varios estudios sugieren que las membranas celulares son el sitio inicial en el mecanismo de la toxicidad por bilirrubina. El extremo hidrofóbico de la bilirrubina tiene alta afinidad por los lípidos de las membranas.^{2,24,25} Zucker y col., demostraron que, por la naturaleza anfipática de la bilirrubina, la interacción con las bicapas de fosfolípidos sucede en la región polar más externa de la célula, cercana a la interfaz membrana-agua.²⁴ Luego de la unión con la membrana, ocurren alteración molecular de los fosfolípidos, inhibición de ATPasas unidas a membrana y peroxidación lipídica, entre otros eventos adversos.²⁵

En las membranas mitocondriales, la bilirrubina genera cambios análogos al descrito, con interrupción de la producción de energía.²⁶ La inhibición de diversos sistemas enzimáticos y de la síntesis de ácido ribonucleico (ARN), proteínas y carbohidratos en el SNC contribuyen al daño celular.²⁰ Son necesarios más estudios acerca de las características de la unión de la bilirrubina a las membranas, de su localización exacta y de las posibilidades terapéuticas que pueda brindar su conocimiento.²

FIGURA 2. Mecanismos de toxicidad celular por bilirrubina



SNC: sistema nervioso central; SRE: sistema retículo-endoplasmático; Ca: calcio.

Conjunto de mecanismos tóxicos de la bilirrubina: daño neuronal, necrosis y muerte celular programada, instancias en las que la lesión es irreversible. Tomado de Watchko J. Bilirubin-Induced Neurotoxicity in the Preterm Neonate. *Clin Perinatol* 2016;43:297–311.

Neuroinflamación

Las afecciones asociadas con inflamación sistémica grave, como sepsis, enterocolitis necrotizante y el síndrome de respuesta inflamatoria fetal (corioamnionitis con funisitis), favorecen la neurotoxicidad de la bilirrubina.² Estos efectos son mayores en las células inmaduras de los RNPT.^{27,28} El entorno celular proinflamatorio generado por la bilirrubina activa la microglia y libera el factor de necrosis tumoral α (*tumor necrosis factor α ; TNF- α* , por sus siglas en inglés), interleuquina 1b e interleuquina 6, que potencian su neurotoxicidad^{18,29} (Figura 2).

Barrera hematoencefálica

La barrera hematoencefálica, interfaz compleja y dinámica entre el SNC y la sangre, mantiene la homeostasis del SNC. Su integridad está garantizada por las características de unión y adherencia de las células endoteliales que la componen.

Palmela y col. demostraron que el efecto de la bilirrubina en la barrera hematoencefálica dependía del tiempo de exposición. En este estudio, una exposición de 4 horas incrementó, en las células endoteliales, los niveles del factor de crecimiento del endotelio vascular y de las caveolinas. Estas, que son proteínas contenidas en pequeñas invaginaciones de la membrana plasmática denominadas *caveolas*, modulan la permeabilidad, la transducción de señales y la endocitosis. Son importantes en la alteración de la barrera hematoencefálica y serían claves para futuros hallazgos terapéuticos.

En la exposición prolongada, de 24 horas, desaparecieron la unión y la adherencia celular, y aumentó la permeabilidad. La exposición de 72 horas gatilló respuestas de autofagia y apoptosis. Estos resultados permiten inferir la importancia de instaurar el tratamiento precoz, incluso con presencia de daño neurológico sutil, antes de la alteración de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica e instalación de la apoptosis en las células endoteliales y en las del SNC, con manifestaciones neurológicas graves e irreversibles.³⁰

Estrés oxidativo

El desequilibrio entre la producción de radicales libres (RL) y la capacidad de defensas antioxidantes genera *estrés oxidativo*, al que los RNPT son especialmente vulnerables. La bilirrubina en concentraciones de bajas a moderadamente elevadas es un potente

antioxidante.⁸⁻¹¹ Pero, de modo paradójico, cuando supera cierto umbral, es dañina para el cerebro en desarrollo. Diferentes estudios demuestran que el estrés oxidativo es un mecanismo clave en la neurotoxicidad por bilirrubina.^{6,29}

Vodret y col. refirieron que el órgano más dañado por estrés oxidativo e inflamación por altas concentraciones de bilirrubina era el cerebelo.⁵ Rawat y col. demostraron, en su estudio, translocaciones y deleciones cromosomales que producían daño oxidativo en el ácido desoxirribonucleico (ADN) y detención del ciclo de funciones celulares que se incrementaban según el tiempo de exposición a la bilirrubina.⁷ Basu y col. describieron estos daños frente a niveles inclusive bajos de bilirrubina⁸ (Figura 2).

Efecto antioxidante

Los efectos biológicos más conocidos de la bilirrubina son los dañinos para el SNC de los RN cuando se encuentra en altas concentraciones séricas. Sin embargo, estudios de biología molecular en adultos evidencian que la bilirrubina es un citoprotector antioxidante.⁸⁻¹¹

Los RL se originan en la cadena respiratoria mitocondrial y son responsables del daño celular oxidativo.³¹ En los organismos aeróbicos, la respiración celular origina moléculas de ATP y agua. En situaciones de privación de oxígeno, esta función metabólica genera RL (anión superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo), que producen peroxidación lipídica de las membranas celulares y están implicados en la fisiopatología del cáncer, el envejecimiento, la enfermedad cardíaca, la inflamación crónica y las infecciones.³² En los RNPT, participan en la patogénesis de enfermedades, como displasia broncopulmonar, leucomalacia periventricular, enterocolitis necrotizante, conducto arterioso permeable y retinopatía del prematuro.³³

El nacimiento es un evento que genera oxidación por los cambios de presiones de oxígeno que implica. En los RNPT, se suman la alta velocidad de crecimiento de los tejidos y la inmadurez o ausencia del conjunto de moléculas antioxidantes, tales como superóxido dismutasa, catalasa, las vitaminas E y C, y β -carotenos.³⁴

En 1937, Najib-Farah fue pionero en sostener que la bilirrubina formaba parte de un mecanismo protector diseñado para superar infecciones.³⁵ En 1989, Glazer presentó su hipótesis acerca del papel de los productos finales de las vías metabólicas como agentes de protección celular (el ácido úrico, producto final del metabolismo

de las purinas, la taurina del metabolismo de la cisteína).³⁶ En este contexto, Stocker observó, en un estudio *in vitro*, que la actividad antioxidante de la bilirrubina aumentaba a medida que la concentración de oxígeno disminuía del 21 % (concentración ambiental) al 2 % (concentración fisiológicamente relevante, ya que correspondía a la de los tejidos). Stocker documentó que la bilirrubina superaba la acción del α -tocoferol, el antioxidante liposoluble más eficiente en los humanos. Postuló el rol beneficioso de la bilirrubina como producto de desecho metabólico, disruptor de la cadena biológica de oxidación.³⁷

El nivel del metabolismo de la bilirrubina implicado en las funciones de antioxidación es en el que actúan las enzimas HMOX y BLVR (Figura 1). La HMOX, inducida por el hemo y por lesiones proinflamatorias, tiene efectos antiapoptóticos, antioxidantes y antiinflamatorios. Transforma la molécula de hemo en biliverdina. La vía metabólica se completa cuando la biliverdina es reducida por la BLVR a bilirrubina.^{38,39}

Nuevos postulados sugieren que las células, según el grado de oxidación al que estén expuestas y para mantener su homeostasis antioxidante, tienen vías de recuperación de bilirrubina. Estas son el ciclo redox biliverdina-bilirrubina en el sistema retículo-endoplasmático y la vía de la enzima citocromo P450 en las mitocondrias, ambas con acción en sentido inverso al del metabolismo de la bilirrubina^{10,38} (Figura 1). En estas rutas metabólicas, la bilirrubina es oxidada a biliverdina, que, mediante la enzima BLVR, será reducida nuevamente a bilirrubina. En virtud de estas secuencias de oxidación-reducción, la bilirrubina capta los RL, detoxifica hasta 10 000 veces el exceso de estos y protege de la peroxidación a los lípidos de las membranas.⁴⁰

En los anfibios, reptiles y aves, el metabolismo del hemo se detiene a nivel de la biliverdina. En los mamíferos, la potencia antioxidante de la bilirrubina justifica que la vía metabólica del hemo progrese hasta la formación de bilirrubina, aunque requiera mayor cantidad de agentes enzimáticos, mayor consumo de energía, unión a la albúmina para su transporte y conjugación para ser eliminada.³⁸

En los adultos, numerosas publicaciones relacionan la propiedad antioxidante de la bilirrubina con mejor pronóstico en enfermedades que generan estrés oxidativo: enfermedad de Alzheimer, lesiones por isquemia-reperfusión, enfermedad cardiovascular, diabetes,

inflamación, cáncer. En el síndrome de Gilbert, que presenta altos valores de Bi, la frecuencia de enfermedad isquémica coronaria es inferior a la de la población general (el 2 % vs. el 12 %).³⁸

La ciencia avanza en el estudio del daño celular por estrés oxidativo. Descifrar con precisión el rol de los RL y de las moléculas que constituyen las defensas antioxidantes es un enorme desafío. En ese contexto, profundizar el conocimiento de la capacidad antioxidante de la bilirrubina, de sus metabolitos intermedios y de su complejo entramado enzimático, quizás, permita explotar su potencial beneficio para los RNPT.

Excitotoxicidad

Según estudios *in vivo* e *in vitro*, la excitotoxicidad sería otro de los mecanismos a través de los cuales la bilirrubina lesionaría el SNC. Están involucrados el glutamato, principal neurotransmisor excitatorio del SNC, y su receptor glutamato N-metil-D-aspartato.⁴¹

El glutamato aisladamente es necesario, pero no suficiente. La excitotoxicidad estaría precedida de la falla sostenida en la producción de energía en las mitocondrias, que propiciaría la despolarización neuronal y luego la apertura pasiva de los canales de glutamato NMDA.^{2,41} Con estos canales abiertos, se manifiestan los eventos posteriores propios de la excitotoxicidad:

- Aumento intracelular de sodio y cloro, que producen inflamación celular.
- Entrada de calcio a la célula y su liberación desde los compartimentos intracelulares.
- Activación de enzimas dependientes de calcio que activan la apoptosis y/o la necrosis.⁴²

La falla de energía mitocondrial y la excitotoxicidad justificarían la naturaleza regional del daño del SNC inducido por bilirrubina.^{2,41} En los RN, las neuronas del globo pálido muestran características que las hacen susceptibles a todos los eventos descritos: el alto nivel de actividad neuronal basal las hace susceptibles a las fallas agudas de energía mitocondrial y la alta densidad de receptores neuronales de glutamato acentuaría la excitotoxicidad⁴³ (Figura 2).

CONCLUSIONES

Los RN presentan características que los hacen vulnerables a la hiperbilirrubinemia. Por ser una condición clínica peligrosa para estos pacientes, es imperioso tratarlos oportuna y eficientemente.

La bilirrubina es una molécula de comportamiento dual. Es un potente antioxidante,

presente en un momento de gran exposición al daño oxidativo: el nacimiento, especialmente, si el paciente es prematuro. Pero, ante determinadas condiciones, tiene la capacidad de generar daño celular grave e irreversible, posible de evitar con la terapia adecuada. Quedan por develar cuáles son los niveles precisos de BilL o las condiciones del medio en el que actúa para que produzca uno u otro efecto.

Para refinar las indicaciones para el tratamiento, es necesario superar varios desafíos: obtener métodos para medir los niveles de BilL, detectar precozmente la disfunción neurológica mínima por bilirrubina y profundizar el conocimiento de sus potenciales beneficios antioxidantes para ser ponderados con los riesgos de daño celular que la misma molécula puede producir.

Cuando ocurran estos avances, probablemente, las indicaciones de luminoterapia deban ser adaptadas a estos logros de la ciencia para mayor exactitud en las indicaciones de tratamiento. Mientras tanto, la decisión de tratamiento debe ser individualizada y reflejar las recomendaciones del consenso de expertos. ■

REFERENCIAS

- Olusanya B, Kaplan M, Hansen T. Neonatal hyperbilirubinaemia: a global perspective. *Lancet Child Adolesc Health*. 2018;2(8):610-20.
- Watchko J. Bilirubin-induced neurotoxicity in the preterm neonate. *Clin Perinatol*. 2016;43(2):297-311.
- Riordan S, Shapiro S. Review of bilirubin neurotoxicity I: molecular biology and neuropathology of disease. *Pediatr Res*. 2020;87(2):327-31.
- Shapiro S, Riordan S. Review of bilirubin neurotoxicity II: preventing and treating acute bilirubin encephalopathy and kernicterus spectrum disorders. *Pediatr Res*. 2020;87(2):332-7.
- Vodret S, Bortolussi G, Jašprová J, Vitek L, et al. Inflammatory signature of cerebellar neurodegeneration during neonatal hyperbilirubinemia in Ugt1^{-/-} mouse model. *J Neuroinflammation*. 2017;14(1):64.
- Bortolussi G, Codarin E, Antoniali G, Vascotto C, et al. Impairment of enzymatic antioxidant defenses is associated with bilirubin-induced neuronal cell death in the cerebellum of Ugt1 KO mice. *Cell Death Dis*. 2015;6(5):e1739.
- Rawat V, Bortolussi G, Gazzin S, Tiribelli C, et al. Bilirubin-induced oxidative stress leads to DNA damage in the cerebellum of hyperbilirubinemic neonatal mice and activates DNA double-strand break repair pathways in human cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:1801243.
- Basu S, De D, Dev Khanna H, Kumar A. Lipid peroxidation, DNA damage and total antioxidant status in neonatal hyperbilirubinemia. *J Perinatol*. 2014;34(7):519-23.
- Zahir F, Rabbani G, Khan R, Rizvi S, et al. The pharmacological features of bilirubin: The question of the century. *Cell Mol Biol Lett*. 2015;20(3):418-47.
- Gazzin S, Vitek L, Watchko J, Shapiro S, et al. A novel perspective on the biology of bilirubin in health and disease. *Trends Mol Med*. 2016;22(9):758-68.
- Stocker R. Turning the catabolism in usefulness-A jaundiced view. *Clin Chem*. 2011;57(11):1612-3.
- Torres-Cuevas I, Parra-Llorca A, Sánchez-Illana A, Nuñez-Ramiro A, et al. Oxygen and oxidative stress in the perinatal period. *Redox Biol*. 2017;12:674-81.
- American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics*. 2004;114(1):297-316.
- Fujiwara R, Haag M, Schaeffeler E, Nies A, et al. Systemic regulation of bilirubin homeostasis: potential benefits of hyperbilirubinemia. *Hepatology*. 2018;67(4):1609-19.
- Iwatani S, Nakamura H, Kurokawa D, Yamana K, et al. Fluorescent protein-based detection of unconjugated bilirubin in newborn serum. *Sci Rep*. 2016;6:28489.
- Wisnowski JL, Panigrahy A, Painter M, Watchko J. Magnetic resonance imaging of bilirubin encephalopathy: current limitations and future promise. *Semin Perinatol*. 2014;38(7):422-8.
- Shapiro SM. Kernicterus. In Stevenson DK, Maisels MJ, Watchko JF (eds.). *Care of the jaundiced neonate*. New York: McGraw Hill; 2012:229-42.
- Watchko JF, Maisels MJ. The enigma of low bilirubin kernicterus in premature infants: why does it still occur, and is it preventable? *Semin Perinatol*. 2014;38(7):397-406.
- Amin S. Bilirubin binding capacity in the preterm neonate. *Clin Perinatol*. 2016;43(2):241-57.
- Hansen T. Biology of bilirubin photoisomers. *Clin Perinatol*. 2016;43(2):277-90.
- Amin SB. Clinical assessment of bilirubin-induced neurotoxicity in premature infants. *Semin Perinatol*. 2004;28(5):340-7.
- Amin SB, Harte T, Scholer L, Wang H. Intravenous lipid and bilirubin-albumin binding variables in premature infants. *Pediatrics*. 2009;124(1):211-7.
- Cox C, Gottlieb P. Amphipathic molecules modulate PIEZO1 activity. *Biochem Soc Trans*. 2019;47(6):1833-42.
- Zucker SD, Goessling W, Bootle EJ, Sterritt C. Localization of bilirubin in phospholipid bilayers by parallax analysis of fluorescence quenching. *J Lipid Res*. 2001;42(9):1377-88.
- Brito M, Brites D, Butterfield D. A link between hyperbilirubinemia, oxidative stress and injury to neocortical synaptosomes. *Brain Res*. 2004;1026(1):33-43.
- Rodrigues C, Solá S, Castro R, Laires P, et al. Perturbation of membrane dynamics in nerve cells as an early event during bilirubin-induced apoptosis. *J Lipid Res*. 2002;43(6):885-94.
- Brites D. The evolving landscape of neurotoxicity by unconjugated bilirubin: role of glial cells and inflammation. *Front Pharmacol*. 2012;3:88.
- Kitamura M. Control of NF-κB and inflammation by the unfolded protein response. *Int Rev Immunol*. 2011;30(1):4-15.
- Watchko J, Tiribelli C. Bilirubin-induced neurologic damage—mechanisms and management approaches. *N Engl J Med*. 2013;369(21):2012-30.
- Palmela I, Sasaki H, Cardoso F, Moutinho M, et al. Time-dependent dual effects of high levels of unconjugated bilirubin on the human blood-brain barrier lining. *Front Cell Neurosci*. 2012;6:22.
- Morita T. Heme oxygenase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(9):1786-95.
- Kapitulnik J. Bilirubin: an endogenous product of heme degradation with both cytotoxic and cytoprotective properties. *Mol Pharmacol*. 2004;66(4):773-9.
- Ozsurekci Y, Aykac K. Oxidative stress related diseases in newborns. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:2768365.
- Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh A, Glazer A, et al. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological

- importance. *Science*. 1987;235(4792):1043-6.
35. Farah N. Defensive role of bilirubinaemia in pneumococcal infection. *Lancet*. 1937;229(5922):505-6.
 36. Glazer AN. Light guides. Directional energy transfer in a photosynthetic antenna. *J Biol Chem*. 1989;264(1):1-4.
 37. Stocker R, Perrella MA. Heme oxygenase-1. A novel drug target for atherosclerotic diseases? *Circulation*. 2006;114(20):2178-89.
 38. Otero Regino W, Velasco H, Sandoval H. Papel protector de la bilirrubina en el ser humano. *Rev Col Gastroenterol*. 2009;24(3):293-301.
 39. Ryter SW, Alam J, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol Rev*. 2006;86(2):583-650.
 40. Sedlack TW, Snyder SH. Bilirubin benefits: cellular protection by a biliverdin reductase antioxidant cycle. *Pediatrics*. 2004;113(6):1776-82.
 41. Johnston M. Excitotoxicity in perinatal brain injury. *Brain Pathol*. 2005;15(3):234-40.
 42. Slemmer JE, De Zeeuw CI, Weber JT. Don't get too excited: mechanisms of glutamate-mediated Purkinje cell death. *Prog Brain Res*. 2005;148:367-90.
 43. Greenamyre T, Penney JB, Young AB, Hudson C, et al. Evidence for transient perinatal glutaminergic innervation of globus pallidus. *J Neurosci*. 1987;7(4):1022-30.