

Bilirrubina libre: ¿otra vez un *déja vu*?

Durante el siglo pasado se aceptaba ampliamente que cuando los fármacos que se fijan ávidamente a la albúmina se desligan de la proteína, el aumento resultante de la concentración de fármaco no fijado (libre) provoca un aumento de la actividad biológica y de la toxicidad¹. Se consideraron como ejemplos de apoyo la intensa hipoglucemia observada en los pacientes diabéticos que recibían sulfonamidas además de tolbutamida y la potenciación de los efectos de la warfarina por la fenilbutazona en individuos voluntarios. En ambos casos, el fármaco auxiliar desplaza *in vitro* al fármaco terapéutico de la albúmina. En la actualidad reconocemos que los factores distintos al aumento del fármaco no fijado son los responsables de los fenómenos clínicos observados, y se cree que los cambios de la concentración plasmática de fármaco libre tienen poca relevancia clínica, excepto en situaciones poco habituales¹⁻³. La evidente analogía entre la bilirrubina, con su potente afinidad por la albúmina sérica, y los fármacos intensamente ligados a la proteína –además de la tragedia del sulfisoxazol⁴– llevó a sugerir hace mucho tiempo que la concentración de la bilirrubina no fijada en la circulación de los neonatos ictericos podría predecir mejor el riesgo de encefalopatía bilirrubínica que la concentración total de bilirrubina. Sin embargo, la medición exacta de esta diminuta fracción en las muestras clínicas es difícil y, según una autoridad, escapaba a la capacidad de instrumentación entonces disponible⁵. No obstante, ha persistido la idea de que las mediciones de la bilirrubina no fijada podrían ser útiles y de mayor discriminación que las mediciones de la bilirrubina total en la identificación de los recién nacidos con máximo riesgo de presentar ictericia nuclear. En este número de *Pediatrics*, Wennberg et al resumen las razones para ello y vuelven a plantear la investigación de si las mediciones de la bilirrubina no ligada, basadas en una determinación de peroxidasa, valen realmente la pena en la actuación terapéutica de la ictericia neonatal⁶. Estos autores revisan la evidencia experimental y clínica de que la concentración de bilirrubina no fijada predice mejor la captación cerebral y la toxicidad de la bilirrubina que la concentración sérica total de bilirrubina, y recomiendan una campaña nacional para medir esta fracción y establecer los valores de

normalidad en distintas poblaciones. ¿Se trata de nuevo de un *déja vu* o es una sugerencia oportuna?

Si bien es cierto que la concentración sérica de bilirrubina no constituye, por sí sola, una predicción fidedigna del riesgo de toxicidad bilirrubínica, especialmente en los niños prematuros y de bajo peso al nacimiento enfermos, también lo es que en los recién nacidos a término y casi a término la ictericia nuclear es rara, a menos que las concentraciones máximas superen los 25 mg/dl (430 μ M), y la mayoría de los casos publicados presentaron valores > 30 mg/dl (510 μ M)^{7,8}. La aplicación sistemática de las recientes pautas de la AAP⁹, con un empleo temprano prudente de la fototerapia, un tratamiento incruento, seguro e intrínsecamente barato, debería eliminar la mayoría de los posibles casos de encefalopatía bilirrubínica sin necesidad de medidas adicionales, aunque a costa de cierto sobretratamiento. La actualmente escasa necesidad de exanguinotransfusiones, incluso en las unidades neonatales grandes, refleja la eficacia de este abordaje^{10,11}. Por ejemplo, sólo 8 de los 55.128 neonatos de cualquier peso al nacimiento (1,5/10.000 nacidos vivos), nacidos en el William Beaumont Hospital entre 1988 y 1997, necesitó la exanguinotransfusión, y durante el mismo período no se realizó ninguna en los 1.213 neonatos de < 1.500 g de peso al nacimiento. De forma similar, entre 1992 y 2002, en dos centros perinatales de referencia de Cleveland, la media de exanguinotransfusión fue de < 6 recién nacidos al año¹¹. Las nuevas técnicas de fototerapia¹² y la intervención farmacológica¹³ pueden reducir aún más la necesidad de exanguinotransfusión. Por tanto, si es posible evitar una concentración de bilirrubina de 25 mg/dl (430 μ M), la necesidad de medir la bilirrubina libre u otros factores de predicción en los recién nacidos a término y casi a término probablemente sea limitada, excepto para disminuir el tratamiento innecesario.

Sin embargo, prevenir la mayoría de los casos de encefalopatía bilirrubínica no es suficiente, y el tratamiento de la ictericia en los recién nacidos pretérmino y de bajo peso al nacimiento enfermos, cuyas pautas de fototerapia y exanguinotransfusión son más empíricas y están menos fundamentadas en la evidencia, sigue constituyendo un reto. Aunque en la actualidad es rara la ictericia nuclear demostrada en la autopsia, un estudio reciente encontró una asociación entre la concentración máxima de bilirrubina y el riesgo de muerte, sordera y alteración del desarrollo neurológico en neonatos de peso al nacimiento < 1.000 g¹⁴. Por ejemplo, Sugama et al in-

Este estudio ha sido financiado mediante la beca DK-26307 de los National Institutes of Health (AFM). El orden de los autores se decidió al azar.

formaron de hipotonía, y coreoatetosis en un recién nacido, junto a los clásicos hallazgos de ictericia nuclear en la resonancia magnética (RM) de 2 neonatos pretérmino (de 31 y 34 semanas de gestación) que no presentaron una enfermedad aguda y tuvieron unos valores de bilirrubina < 15 mg/dl ($260 \mu\text{M}$)¹⁵; asimismo, detectaron evidencia en la RM de toxicidad neurológica de la bilirrubina en 5 recién nacidos pretérmino (25-29 semanas de gestación) con una concentración sérica de albúmina sorprendentemente baja ($1,4\text{-}2,1$ g/dl), cuyas concentraciones máximas de bilirrubina fueron de sólo $8,7\text{-}12$ mg/dl ($148\text{-}203 \mu\text{M}$)¹⁶. Evidentemente, un método exacto para identificar a los recién nacidos en tan grave peligro sería de gran ayuda, y es en estos casos difíciles donde Wennberg et al proponen que las mediciones de la bilirrubina libre serían especialmente útiles⁶.

Pese a los persuasivos argumentos presentados en este sentido, las mediciones de la bilirrubina libre deben ser consideradas con circunspección por varias razones. En primer lugar, en la actualidad no disponemos de un método para medir con exactitud y sin ambigüedades la concentración de bilirrubina libre en las muestras clínicas de plasma o suero. Los actuales métodos basados en la peroxidasa pueden estimar con exactitud la concentración de bilirrubina libre, no fijada, en soluciones acuosas simples de bilirrubina y albúmina¹⁷, pero no se sabe con exactitud qué fracción de bilirrubina miden al aplicarlos a muestras neonatales. ¿Se trata de la bilirrubina no asociada al punto de fijación a la albúmina de gran afinidad, aunque pueda estar asociada a lugares secundarios o a otros constituyentes del plasma? ¿O se trata sólo de la fracción libre (bilirrubina no fijada disuelta en agua)? En segundo lugar, el mercado no ofrece instrumentos automáticos para medir esta fracción aparentemente no fijada, aunque en Japón y Estados Unidos se dispone de un prototipo semiautomático de reciente desarrollo. En tercer lugar, la concentración de bilirrubina aparentemente no fijada varía según los métodos específicos utilizados en la determinación con peroxidasa, y sólo una variante experimental ofrece valores absolutos de la concentración^{18,19}. La normalización, que necesita soluciones acuosas inestables de bilirrubina, también puede constituir un problema, como ocurrió en las determinaciones de la concentración de bilirrubina total²⁰, que son de varios órdenes de magnitud mayores que las concentraciones de bilirrubina libre previstas y, principalmente, mucho más fáciles de medir. En cuarto lugar, los aumentos de bilirrubina libre pueden ser sólo momentáneos y, por ello, de utilidad diagnóstica limitada y poco fiable^{18,19}. Finalmente, la hemólisis y la presencia de conjugados de bilirrubina pueden desembocar en valores espurios.

Además de estos conocidos inconvenientes, un dilema insoluble ha pasado, en general, inadvertido. Una presunción implícita del método de la peroxidasa es que en la sangre de los recién nacidos con hiperbilirrubinemia conjugada existe una sola especie de bilirrubina. Sin embargo, esta presunción no es válida, como demuestra claramente la cromatografía líquida de gran presión²¹. Las muestras sanguíneas de los recién nacidos icterícos contienen invariablemente, además del isómero biosintético de la bilirrubina, al menos otro isómero generado por la exposición del paciente o de la muestra a la luz ambiental o a la fototerapia. Las concentraciones del fotoisómero, que probablemente tiene menor afinidad

por la albúmina y menor toxicidad que su isómero progenitor, son variables, aunque pueden alcanzar hasta el 10-20% de la bilirrubina total y, por lo general, su concentración será muy superior a la de la bilirrubina libre. Si la presencia de este fotoisómero interfiere significativamente con las mediciones de la concentración de bilirrubina biosintética libre no es probable que el método de la peroxidasa constituya una predicción fidedigna de los recién nacidos en máximo riesgo. Si no es así, y hay cierta evidencia de ello²², la especificidad del método de la peroxidasa para la fracción libre de la bilirrubina natural no conjugada es dudosa.

Esto no significa que las investigaciones propuestas por Wennberg et al no valgan la pena. En absoluto. Si se puede demostrar que las mediciones con peroxidasa tienen realmente utilidad clínica para la identificación temprana de los recién nacidos en máximo riesgo de toxicidad por bilirrubina y para prevenir el tratamiento innecesario de los demás, el método será tremendamente beneficioso, independientemente de lo que mida. En realidad, las mediciones de la bilirrubina directa e indirecta fueron diagnósticamente útiles mucho antes de conocer lo que se estaba midiendo. Sin embargo, antes de realizar estudios multicéntricos o a gran escala, es necesario mejorar la instrumentación y la normalización de la metodología y conocer mejor la química subyacente. Además, es necesario afrontar definitivamente los temas de la interferencia del fotoisómero²³, la dilución de la muestra y la corrección respecto a la interferencia de la hemoglobina. Un abordaje alternativo, metodológicamente más sencillo, para la predicción de los recién nacidos en máximo riesgo que también merece volver a ser investigado es la hematofluorometría²⁴. Este prometedor método, que mide la capacidad de reserva de fijación de bilirrubina con una o dos gotas de sangre, nunca pasó de la etapa de prototipo, aunque podría llegar a ser una técnica clínicamente útil mediante la moderna instrumentación electrónica, espectroscópica y micromecánica. Finalmente, el todavía poco conocido y confuso campo de la toxicidad de la bilirrubina y la ictericia nuclear muestra una acuciante necesidad de una terminología constante y científicamente más exacta. Por ejemplo, incluso el término bilirrubina libre (B_f) se utiliza en la bibliografía tanto para expresar la fracción de bilirrubina no conjugada con el ácido glucurónico como la fracción que no forma complejo con la albúmina. Los estudios del tipo propuesto por Wennberg et al bien podrían aclarar finalmente si las estimaciones con peroxidasa de la bilirrubina libre tienen valor clínico diagnóstico real. De no ser así, la B_f podría ser, parafraseando al compositor Kris Kristofferson, otra palabra sin significado.

ANTHONY F. McDONAGH, PHD^a, Y M. JEFFREY MAISELS, MB, BCH^b

^aDivision of Gastroenterology and The Liver Center, University of California at San Francisco, CA, Estados Unidos.

^bDepartment of Pediatrics, William Beaumont Hospital, Royal OAK, MI, Estados Unidos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Benet LZ, Hoener BA. Changes in plasma protein binding have little clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther.* 2002; 71:115-21.
2. Rolan PE. Plasma protein binding displacement interactions: why are they still regarded as clinically important? *Br J Clin Pharmacol.* 1994;37:125-8.

3. Sansom LN, Evans AM. What is the true clinical significance of plasma protein binding displacement interactions? *Drug Saf.* 1995;12:227-33.
4. Silverman WA, Andersen DH, Blanc WA, Crozier DN. A difference in mortality rate and incidence of kernicterus among premature infants allotted to two prophylactic antibacterial regimens. *Pediatrics.* 1956;18:614-5.
5. Brodersen R. Aqueous solubility, albumin binding, and tissue distribution of bilirubin. En: Ostrow JD, editor. *Bile pigments and jaundice.* New York: Marcel Dekker, Inc.; 1986; p. 157-81.
6. Wennberg RP, Ahlfors CE, Bhutani VK, Johnson LH, Shapiro SM. Toward understanding kernicterus: a challenge to improve the management of jaundiced newborns. *Pediatrics.* 2006;117(2):474-85.
7. Ip S, Chung M, Kulig J, et al. An evidence-based review of important issues concerning neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatrics.* 2004;114(1). Disponible en: www.pediatrics.org/cgi/content/full/114/1/e130
8. Bhutani VK, Johnson LH, Maisels JM, et al. Kernicterus: epidemiological strategies for its prevention through systems-based approaches. *J Perinatol.* 2004;24:650-62.
9. American Academy of Pediatrics, Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation [rectificación publicada en *Pediatrics.* 2004;114:1138]. *Pediatrics.* 2004;114:297-316.
10. Maisels MJ. Phototherapy: traditional and nontraditional. *J Perinatol.* 2001;21 Suppl 1:93-7; discussion 104S-7S.
11. Patra K, Storfer-Isser A, Siner B, Moore J, Hack M. Adverse events associated with neonatal exchange transfusion in the 1990s. *J Pediatr.* 2004;144:626-31.
12. Seidman DS, Moise J, Ergaz Z, et al. A new blue light-emitting phototherapy device: a prospective randomized controlled study. *J Pediatr.* 2000;136:771-4.
13. Kappas A. A method for interdicting the development of severe jaundice in newborns by inhibiting the production of bilirubin. *Pediatrics.* 2004;113:119-23.
14. Oh W, Tyson JE, Fanaroff AA, et al. Association between peak serum bilirubin and neurodevelopmental outcomes in extremely low birth weight infants. *Pediatrics.* 2003;112:773-9.
15. Sugama S, Soeda A, Eto Y. Magnetic resonance imaging in three children with kernicterus. *Pediatr Neurol.* 2001;25:328-31.
16. Govaert P, Lequin M, Swarte R, et al. Changes in globus pallidus with (pre)term kernicterus. *Pediatrics.* 2003;112:1256-63.
17. Brodersen R, Cashore WJ, Wennberg RP, Ahlfors CE, Rasmussen LF, Shusterman D. Kinetics of bilirubin oxidation with peroxidase, as applied to studies of bilirubin-albumin binding. *Scand J Clin Lab Invest.* 1979;39:143-50.
18. Oie S, Levy G. Effect of sulfisoxazole on pharmacokinetics of free and plasma protein-bound bilirubin in experimental unconjugated hyperbilirubinemia. *J Pharm Sci.* 1979;68:6-9.
19. Oie S, Levy G. Effect of salicylic acid on pharmacokinetics of free and plasma protein-bound bilirubin in experimental unconjugated hyperbilirubinemia. *J Pharm Sci.* 1979;68:1-6.
20. Vreman HJ, Verter J, Oh W, et al. Interlaboratory variability of bilirubin measurements. *Clin Chem.* 1996;42:869-73.
21. Ennever JF. Blue light, green light, white light, more light: treatment of neonatal jaundice. *Clin Perinatol.* 1990;17:467-81.
22. Itoh S, Yamakawa T, Onishi S, Isobe K, Manabe M, Sasaki K. The effect of bilirubin photoisomers on unbound-bilirubin concentrations estimated by the peroxidase method. *Biochem J.* 1986;239:417-21.
23. Blackmon LR, Fanaroff AA, Raju TN, por el National Institute of Child Health and Human Development. Research on prevention of bilirubin-induced brain injury and kernicterus: National Institute of Child Health and Human Development conference executive summary. 2003. *Pediatrics.* 2004;114:229-33.
24. Cashore WJ, Oh W, Blumberg WE, Eisinger J, Lamola AA. Rapid fluorometric assay of bilirubin and bilirubin binding capacity in blood of jaundiced neonates: comparisons with other methods. *Pediatrics.* 1980;66:411-6.