

*Лапина Д.А.,
студент, 4 курс, Педиатрический факультет
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, г. Москва*

*Савченко Д.В.,
Студент, 4 курс, Международный факультет,
специалитет «Лечебное дело»
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ*

*Сироид С.Д.,
Студент, 3 курс, Международный факультет,
специалитет «Лечебное дело»
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ*

НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ ПРИ БИЛИРУБИНОВОЙ НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ

***Аннотация:** Билирубиновая нейротоксичность - серьезное следствие гипербилирубинемии, которая является наиболее распространенным заболеванием неонатального периода. Клинически билирубиновая нейротоксичность может приводить к развитию двигательного дефицита, слуховой дисфункции, ДЦП, судорог, нейроразвития и др. Билирубиновая нейротоксичность является одной из основных причин неонатальной черепно-мозговой травмы, особенно в бедных развивающихся странах. Однако механизмы билирубиновой нейротоксичности до сих пор остаются неясными.*

***Ключевые слова:** гипербилирубинемия; нейротоксичность; нейровоспаление; микроглия; астроцит; новорожденный; гипербилирубинемия.*

***Annotation:** Bilirubin neurotoxicity is a serious consequence of*

hyperbilirubinemia, which is the most common disease of the neonatal period. Clinically, bilirubin neurotoxicity can result in motor deficit, auditory dysfunction, cerebral palsy, seizure and neurodevelopmental diseases, amongst others. Bilirubin neurotoxicity is one of the major worldwide causes of neonatal brain injury, especially in poorer developing countries. However, the mechanisms of bilirubin neurotoxicity are still unclear. After the failure of attempts targeting neurons in many neurodegenerative disorders, neuroinflammation has become a significant target of research. Here, recent advances concerning neuroinflammation in bilirubin neurotoxicity are reported with a focus on the clinical characteristics of bilirubin neurotoxicity, including age-dependency, region-specificity.

Key words: *neonate, hyperbilirubinemia, neurotoxicity, neuroinflammation, microglia, astrocyte.*

Введение

Билирубиновая нейротоксичность является серьезным последствием неонатальной гипербилирубинемии, наиболее распространенного заболевания в неонатальном периоде [1]. Клинически билирубиновая нейротоксичность может проявляться в виде острой билирубиновой энцефалопатии [2], хронической билирубиновой энцефалопатии (керниктеруса) [3] и нейродевелопментальных нарушений [4]. Билирубиновая нейротоксичность является одной из основных причин неонатальной черепно-мозговой травмы во всем мире, особенно в бедных развивающихся странах [5-8].

Нейротоксичность может включать нарушение мембран, стресс эндоплазматического ретикулума, повреждение митохондрий, нарушение нейротрансмиссионного/клеточного метаболизма, эксайтотоксичность, окислительный стресс и нейровоспаление [9,10]. Однако инициатор или основной механизм нейротоксичности билирубина остается неясным. В то

время как попытки воздействовать на нейроны при многих нейродегенеративных заболеваниях оказались безуспешными, нейровоспаление привлекает все большее внимание. Имеются данные, указывающие на потенциальную роль участия билирубина через нейровоспаление в развитии нейродегенеративных, психоневрологических и других неврологических заболеваний [11]. Нейровоспаление рассматривается как основной механизм развития ряда нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера [12,13] и шизофрения [14,15]. На животных моделях билирубиновой нейротоксичности наблюдаются патологические изменения, очень схожие с таковыми при болезни Альцгеймера [16] и шизофрении [17]. Анализ спинномозговой жидкости (СМЖ) показывает, что у младенцев с острой билирубиновой энцефалопатией в основном активируются клеточные процессы и сигнальные пути, связанные с воспалением.

Анализ спинномозговой жидкости (СМЖ) показывает, что у младенцев с острой билирубиновой энцефалопатией преобладает активация сигнальных путей, связанных с воспалением [18].

Эти данные свидетельствуют о том, что нейровоспаление играет ключевую роль в патогенезе билирубиновой нейротоксичности. Нейровоспаление определяется как иммунный ответ на вредные воздействия путем высвобождения медиаторов воспаления (цитокинов, хемокинов и активных форм кислорода), вырабатываемых в основном микроглией и астроцитами в центральной нервной системе (ЦНС) [19]. Как первоначальный иммунный ответ нейровоспаление в основном является полезным и защитным, однако при длительном и чрезмерном развитии оно играет патогенную роль в ряде нейродегенеративных и психических заболеваний [20-22]. Свободный билирубин может проникать через гематоэнцефалический барьер и вызывать нейровоспалительную реакцию при неонатальной

гипербилирубинемии. Активация нейровоспаления в раннем возрасте влияет на нейроразвитие плода/ребенка [23].

Чрезмерное/длительное нейровоспаление, активированное билирубином, нарушает развитие незрелого мозга и приводит к неврологическим последствиям. Роль глиальных клеток и воспаления в нейротоксичности билирубина была рассмотрена, в основном на основе исследований *in vitro*, в работе Brites [24]. Здесь представлены последние достижения в понимании роли нейровоспаления в билирубиновой нейротоксичности с акцентом на клинические характеристики последней, включая возрастную зависимость, региональную специфичность.

Возраст-зависимое нейровоспаление при билирубиновой нейротоксичности

Восприимчивость новорожденных к билирубиновой нейротоксичности изменяется в зависимости от постнатального дня [25,26]. Основными жертвами билирубиновой нейротоксичности являются новорожденные раннего возраста и недоношенные дети [27]. С другой стороны, у пожилых людей билирубин оказывает протективное действие в отношении метаболического синдрома и диабетических осложнений [28]. Механизмы нейротоксичности билирубина в зависимости от возраста остаются неясными. Однако здесь описан вклад нейровоспаления в эту возраст-зависимую картину. Микроглия, в которой обнаруживаются возрастные изменения [29], имеет наибольшую гетерогенность в первые постнатальные дни [30,31]. При обработке свободным билирубином микроглия в возрасте двух суток *in vitro* (2DIV) демонстрирует ранний апоптоз и амeboидную форму, более низкие уровни хемокинового рецептора CX3C 1 (CX3CR1) и микроРНК (miRNA)-124, более высокую экспрессию бокс-белка высокой подвижности 1 (HMGB1), оксида азота, фактора некроза опухоли (TNF)- α , интерлейкина (IL)-1 β , IL-6 и воспалительно-ассоциированных иРНК по сравнению с клетками 16DIV [32]. Билирубин также вызывает более выраженный некроз и апоптоз,

высвобождение глутамата, секрецию *TNF- α* и активацию ядерного фактора каппа-В (*NF- κ B*) в астроцитах по сравнению с дифференцированными в исследованиях *in vitro* [33,34]. Цитокины обладают плеiotропным действием и играют важную роль в развитии мозга [35,36]. *TNF- α* влияет на укрепление синапсов и нейротрансмиссию [35]. *IL-1 β* может влиять на нейрогенез, астроглиогенез, миграцию нейронов и прокладку аксонов [36]. ИЛ-6 способствует избыточному нейрогенезу и вносит свой вклад в долгосрочный поведенческий дефицит [36]. Таким образом, нейрогенез может нарушаться в результате избыточной нагрузки цитокинами и токсинами в ответ на воздействие билирубина на молодые глиальные клетки, в то время как в дифференцированных глиальных клетках эти нарушения выражены слабее. Реакция глиальных клеток на билирубин в живом мозге неизвестна.

Региоспецифическое нейровоспаление при билирубиновой нейротоксичности

Билирубин избирательно поражает клетки мозга в определенных зонах, таких как базальные ганглии, ядро ствола мозга, гиппокамп и мозжечок [37]. От этого "поражения" и произошло название "керниктерус" [38]. В связи с этим представляется важным выявить механизмы, лежащие в основе регионарной нейротоксичности билирубина. Возможно, это связано с различиями в поглощении билирубина, его клиренсе или чувствительности клеток. Тем не менее требуются дополнительные исследования. В настоящем обзоре описаны полученные к настоящему времени результаты изучения местного нейровоспаления. Одноклеточный анализ выявляет регионально-зависимую гетерогенность микроглии и астроцитов [39-41]. Активация микроглии и астроцитов, индуцированная липополисахаридом, зависит от региона мозга [42,43]. Активация микроглии и повышение уровня цитокинов наблюдаются в пораженных билирубином областях мозга *in vitro* [44]. Активация микроглии и астроцитов избирательно локализуется в зонах, более пораженных билирубином у керниктерусных мышей [45,46]. Анализ

экспрессии полногеномных генов показал, что в слуховом пути у керниктерусных мышей наблюдается значительное повышение экспрессии генов NF- κ B и S100A8 [47]. Протеомный анализ мозговых оболочек мышей с желтухой Ugt1 выявил восемь измененных белков, шесть из которых относятся к пути p38 митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) [48]. Этот путь участвует в регуляции биосинтеза воспалительных цитокинов [49]. Присутствие монооксигеназ цитохрома P450 (CYPs) является одним из возможных объяснений различного влияния билирубина на нижнюю (восприимчивую) и верхнюю (устойчивую) колликулу у крысы с керниктером Ганна [50]. В другом исследовании сообщается, что уровень IL-1 β , индуцируемого билирубином, значительно выше в задней, чем в верхней колликуле у крысы с керниктером Ганна [44]. Интрацеребровентрикулярное введение IL-1 β препятствует экспрессии CYPs (CYP1A) в мозге крыс. Таким образом, можно предположить, что IL-1 β может вызывать региональную специфическую билирубиновую токсичность, регулируя активность CYPs в мозге. Эти данные свидетельствуют о том, что пространственная вариабельность реакции глиальных клеток может быть одним из факторов, способствующих региональной специфичности билирубиновой нейротоксичности. Однако вопрос о том, является ли нейровоспаление иницирующим или вторичным по отношению к региональному билирубиновому повреждению, а также является ли регионально-зависимая гетерогенность глиальных клеток фактором, способствующим региональной билирубиновой нейротоксичности, остается неизвестным. Влияет ли нейровоспаление на продолжительность билирубинового инсульта и как меняется нейровоспалительная реакция на разных этапах нейроразвития в конкретном регионе, требует дальнейшего изучения.

Инь-Ян свойства нейровоспаления при билирубиновой нейротоксичности

Билирубин выполняет двойную роль - токсическую и терапевтическую, так называемые инь-ян свойства. У новорожденных он считается нейротоксином, так как высокая частота тяжелой гипербилирубинемии в итоге приводит к неврологической дисфункции. С другой стороны, малое количество билирубина обладают терапевтическим потенциалом в отношении различных заболеваний, таких как аутоиммунный энцефаломиелит и ишемически-реперфузионное повреждение. Наиболее распространенная теория гласит, что умеренный уровень билирубина может быть полезен, в то время как избыточный билирубин токсичен. Однако механизмы, лежащие в основе противоположных эффектов, остаются неизвестными. В настоящее время рассматриваются две стороны нейровоспаления в патогенезе билирубиновой нейротоксичности.

Микроглия - это подвижные клетки, исследующие среду мозга. При вторжении в мозг или инсульте микроглия быстро переходит в различные функционально перекрывающиеся фенотипы, оказывая нейропротекторное и нейротоксическое действие. Фагоцитарная микроглия является первыми клетками, активирующимися при билирубиновом инсульте, в попытке защитить нейроны от повреждения путем подавления воспалительной реакции, очистки от вредных веществ и удаления клеточного мусора. Этот тип активации является преходящим и со временем снижается. В противоположность этому на поздней стадии билирубиновой токсичности увеличивается количество провоспалительных микроглий, которые вызывают гибель нейронов за счет секреции воспалительных цитокинов, хемокинов, протеаз и других токсических веществ.

Микроглия двух типов не является категорически "плохой" или "хорошей". Провоспалительные микроглии могут предотвращать инфекцию, вырабатывая воспалительные цитокины, и разлагать отмирающие нейроны, способствуя фагоцитозу. С другой стороны, избыток фагоцитирующих микроглий может приводить к нарушению восстановления тканей. В данном

случае предполагается, что баланс подтипов микроглии может быть одним из механизмов нейропротекторного действия билирубина.

В зависимости от свойств микросреды астроциты могут активироваться и проявлять различные фенотипы, оказывая либо нейротоксическое, либо нейропротекторное действие. Реактивные астроциты могут повышать секрецию провоспалительных цитокинов, таких как *TNF- α* , *IL-1 β* и *IL-18*, и снижать продукцию *IL-6* в ответ на билирубин *in vitro*.

Билирубин активирует в астроцитах *in vitro* домен изоляции, богатый лейциновыми повторами и пириновый домен, содержащий 3 (NLRP3) инфламмосомы, *NF- κ B* и митоген-активированную протеинкиназу (MAPK). Билирубин вызывает гибель астроцитов в результате пироптоза - воспалительной формы запрограммированной клеточной смерти. Эти данные свидетельствуют о том, что реактивные астроциты токсичны в отношении билирубинового инсульта, поскольку продуцируют избыточное количество провоспалительных цитокинов. Имеются ограниченные сведения о том, что астроциты оказывают защитное действие при билирубиновом повреждении. В модели совместной культуры астроциты предотвращают дисфункцию и гибель нейронов, вызванную билирубином. Действительно, реактивные астроциты могут секретировать противовоспалительные цитокины и нейротрофические факторы, брать на себя фагоцитоз в отсутствие микроглии и, таким образом, оказывать благоприятное воздействие при заболеваниях ЦНС.

Билирубин также индуцирует аутофагию через рапамицин/стресс эндоплазматического ретикулума/протеин киназу С (mTOR/ER-stress/РКС)/кальциевую сигнализацию в астроцитах, оказывая цитопротекторное действие. Низкие дозы билирубина способствуют повышению регуляции и перераспределению ассоциированного с множественной лекарственной устойчивостью белка 1 (MRP1), защищая астроциты от цитотоксического воздействия.

Реактивные формы кислорода (ROS) выступают в качестве центральных регуляторов воспалительной сигнализации. В зависимости от концентрации ROS могут быть как защитными, так и разрушительными. Умеренное количество ROS служит физиологическим сигналом в клетках, а избыточное - разрушительным, приводящим к гибели клеток. Билирубин может оказывать как антиоксидантное, так и прооксидантное действие в зависимости от концентрации. Механизмы поглощения билирубином ROS могут включать соединение с кислородными радикалами, ингибирование активации никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат-оксидазы 4 (NOX4) и активацию пути ядерного фактора эритроидного 2-родственного фактора 2 (Nrf2). Для лечения ROS-опосредованных заболеваний были разработаны нанопрепараты билирубина. Кроме того, во многих работах сообщается о прооксидантных свойствах билирубина. Билирубин усиливает клеточный окислительный стресс, вызванный кислородно-глюкозной депривацией в органотипических срезах гиппокампа. Окислительный стресс, индуцированный свободным билирубином, по-видимому, вызывает повреждение ДНК *in vitro*. Клинические исследования у младенцев показывают противоречивые результаты. В одних исследованиях показано, что повышенный билирубин усиливает окислительный стресс, в других – что повышенный билирубин либо отрицательно влияет на окислительный стресс, либо не влияет вообще.

Таким образом, двойная роль микроглии, астроцитов и ROS может способствовать возникновению билирубинового инъ-янь влияния.

Нейровоспаление на границе "кровь-мозг" при билирубиновой нейротоксичности

Под ГЭБ понимаются структурные и функциональные барьеры, отделяющие мозг и ЦСЖ от крови. Барьер служит первой линией защиты, препятствующей проникновению билирубина в мозг. Здесь рассматривается вклад нейровоспаления в повреждение ГЭБ при билирубиновой нейротоксичности.

Влияние билирубина на эндотелиальные клетки зависит от концентрации и времени. Длительное воздействие высоких уровней билирубина приводит к гибели эндотелиальных клеток, секреции матриксного металлопротеина (ММП)-9 и ММП-2 и повышению проницаемости клеток. Эти изменения еще более усиливаются в эндотелиальных клетках, совместно культивированных с астроцитами. Провоспалительные цитокины могут вызывать дисфункцию эндотелия головного мозга. Эти данные в совокупности указывают на то, что нейровоспаление, индуцированное билирубином, ускоряет разрушение эндотелиальных клеток.

Астроциты покрывают 99% нейрососудистой сети и играют важную роль в регуляции функций ГЭБ. Реакция астроцитов на билирубин была рассмотрена в предыдущих разделах. Влияние билирубина на аквапорин 4, который высоко экспрессируется в астроцитах, пока не исследовалось.

Перициты встроены в базальную пластинку и выполняют разнообразные функции в нейрососудистом аппарате. Билирубин индуцирует секрецию эндотелиальной синтазы оксида азота, IL-6 и фактора роста эндотелия сосудов перицитами и приводит к потере жизнеспособности клеток и апоптозу перицитов *in vitro*.

Активную роль в элиминации билирубина из мозга играют транспортеры и ферменты, связанные с ГЭБ. Транспорт и метаболизм билирубина в ГЭБ рассмотрены в работе Gazzin et al. В микрососудах повышается уровень Р-гликопротеина, а в хориоидном сплетении желтушной крысы Гунна снижается уровень MRP-1. Сообщается, что в гиппокампе младенца с kernicterus при вскрытии повышается уровень Р-гликопротеина и MRP-1. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что билирубин влияет на экспрессию транспортеров в ГЭБ. Провоспалительные цитокины повышают экспрессию ABC-транспортеров, Р-гликопротеина и MRP-1 и понижают экспрессию цитохром Р450-оксигеназы (CYPs) в мозге.

В совокупности активизация нейровоспаления может приводить к повреждению структурных клеток, повышению регуляции транспортеров и снижению регуляции CYPs на ВМК при билирубиновой токсичности (рис. 2). Нарушение структурных клеток ГЭБ может способствовать проникновению билирубина в мозг, а повышение уровня транспортеров в ГЭБ - его эффлюксу. Однако при достижении определенной степени повреждения ГЭБ польза от повышения уровня транспортеров становится незначительной.

Лечение билирубиновой нейротоксичности, направленное на устранение нейровоспаления

В настоящее время при билирубиновой нейротоксичности испытываются препараты, направленные на нейровоспаление. Основными мишенями этих препаратов в ослаблении билирубиновой токсичности являются провоспалительные цитокины, сигнальные пути, толл-подобные рецепторы и активированная микроглия. Противовоспалительная терапия позволила добиться частичного восстановления нейронов в клеточных культурах и на животных моделях, однако до настоящего времени ни один препарат не перешел в какую-либо фазу клинических испытаний.

Миноциклин - тетрациклин второго поколения, обладающий противовоспалительным действием в ЦНС. Миноциклин ингибирует p38MAPK и NFK β сигнальные пути, снижает уровень цитокинов, окислительного и ER-стресса, экспрессию толл-подобного рецептора 2 (TLR2), предотвращает активацию микроглии и цитокинов, тем самым защищая мозг от нейротоксичности билирубина. Помимо миноциклина, нейропротекторное действие оказывают и многие другие препараты, регулирующие нейровоспалительный ответ после билирубинового повреждения, в том числе урсодезоксихолевая кислота, кофеин, дексаметазон, байкалин, мелатонин, эритропоэтин и куркумин. Среди этих препаратов куркумин, обладая плеiotропным действием, предотвращает 100% повреждение мозжечка у крысы Ганна с гипербилирубинемией. В

настоящее время проводится множество клинических исследований по изучению действия куркумина при заболеваниях головного мозга, и в ряде из них были получены положительные результаты. Однако для дальнейшего изучения пользы куркумина при билирубиновой нейротоксичности необходимы дополнительные исследования.

Тем не менее, нейровоспаление не всегда вредно и может играть важную защитную роль в билирубин-индуцированной патологии и запускать репаративные механизмы, что может (отчасти) объяснить неэффективность противовоспалительной терапии при нейродегенеративных заболеваниях. Таким образом, предполагается, что иммуномодулирующая терапия, направленная на поддержание равновесия в системе нейровоспаления, может привести к лучшему результату в лечении билирубиновой энцефалопатии.

Заключение и перспективы

Нейровоспалительные реакции обуславливают клинические особенности билирубиновой нейротоксичности, включая возрастную зависимость, региональную специфичность и ее "инь-ян" свойства. Чрезмерно активное нейровоспаление может ускорять повреждение ВМК и тем самым способствовать поступлению билирубина в мозг. Для прецизионного лечения билирубиновой нейротоксичности могут быть полезны стратегии, направленные на сбалансированное нейровоспаление, а не только противовоспалительная терапия.

Не получены ответы на ряд вопросов. Какова пространственно-временная гетерогенность микроглии и астроцитов в патогенезе билирубиновой нейротоксичности? Перерастет ли индуцированная билирубином нейровоспалительная реакция в хроническую или устойчивую? Как следует управлять нейровоспалением для достижения положительных результатов при билирубиновой нейротоксичности?

Использованные источники:

1. Cayabyab R, Ramanathan R. High unbound bilirubin for age: a neurotoxin with major effects on the developing brain. *Pediatric Research*. 2019; 85: 183–190.
2. Iskander I, Gamaleldin R. Acute bilirubin encephalopathy: Some lessons learned. *Seminars in Perinatology*. 2021; 45: 151353.
3. Shapiro SM. Chronic bilirubin encephalopathy: diagnosis and outcome. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*. 2010; 15: 157–163.
4. Wusthoff CJ, Loe IM. Impact of bilirubin-induced neurologic dysfunction on neurodevelopmental outcomes. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*. 2015; 20: 52–57.
5. Erdeve O, Okulu E, Olukman O, Ulubas D, Buyukkale G, Narter F, *et al.* The Turkish Neonatal Jaundice Online Registry: A national root cause analysis. *PLoS ONE*. 2018; 13: e0193108.
6. Diala UM, Wennberg RP, Abdulkadir I, Farouk ZL, Zabetta CDC, Omoyibo E, *et al.* Patterns of acute bilirubin encephalopathy in Nigeria: a multicenter pre-intervention study. *Journal of Perinatology: Official Journal of the California Perinatal Association*. 2018; 38: 873–880.
7. Ahmad M, Rehman A, Adnan M, Surani MK. Acute bilirubin encephalopathy and its associated risk factors in a tertiary care hospital, Pakistan. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 2020; 36: 1189–1192.
8. Kumar V, Kumar P, Sundaram V, Munjal SK, Malhi P, Panda NK. Childhood neurodevelopmental outcomes of survivors of acute bilirubin encephalopathy: A retrospective cohort study. *Early Human Development*. 2021; 158: 105380.
9. Hansen TWR, Wong RJ, Stevenson DK. Molecular Physiology and Pathophysiology of Bilirubin Handling by the Blood, Liver, Intestine, and Brain in the Newborn. *Physiological Reviews*. 2020; 100: 1291–1346.
10. Watchko JF. Bilirubin-Induced Neurotoxicity in the Preterm Neonate. *Clinics in Perinatology*. 2016; 43: 297–311.

11. Jayanti S, Moretti R, Tiribelli C, Gazzin S. Bilirubin and inflammation in neurodegenerative and other neurological diseases. *Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2020; 7: 92–108.
12. Calsolaro V, Edison P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions. *Alzheimer's & Dementia: the Journal of the Alzheimer's Association.* 2016; 12: 719–732.
13. Leng F, Edison P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here? *Nature Reviews. Neurology.* 2021; 17: 157–172.
14. Buckley PF. Neuroinflammation and Schizophrenia. *Current Psychiatry Reports.* 2019; 21: 72.
15. Müller N. Inflammation in Schizophrenia: Pathogenetic Aspects and Therapeutic Considerations. *Schizophrenia Bulletin.* 2018; 44: 973–982.
16. Chen H, Liang L, Xu H, Xu J, Yao L, Li Y, *et al.* Short Term Exposure to Bilirubin Induces Encephalopathy Similar to Alzheimer's Disease in Late Life. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD.* 2020; 73: 277–295.
17. Liaury K, Miyaoka T, Tsumori T, Furuya M, Wake R, Ieda M, *et al.* Morphological features of microglial cells in the hippocampal dentate gyrus of Gunn rat: a possible schizophrenia animal model. *Journal of Neuroinflammation.* 2012; 9: 56.
18. Tan N, Hu S, Hu Z, Wu Z, Wang B. Quantitative proteomic characterization of microvesicles/exosomes from the cerebrospinal fluid of patients with acute bilirubin encephalopathy. *Molecular Medicine Reports.* 2020; 22: 1257–1268.
19. Kölliker-Frers R, Udovin L, Otero-Losada M, Kobiec T, Herrera MI, Palacios J, *et al.* Neuroinflammation: An Integrating Overview of Reactive-Neuroimmune Cell Interactions in Health and Disease. *Mediators of Inflammation.* 2021; 2021: 9999146.

20. Heppner FL, Ransohoff RM, Becher B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nature Reviews. Neuroscience*. 2015; 16: 358–372.
21. Grotemeyer A, McFleder RL, Wu J, Wischhusen J, Ip CW. Neuroinflammation in Parkinson's Disease - Putative Pathomechanisms and Targets for Disease-Modification. *Frontiers in Immunology*. 2022; 13: 878771.
22. Pape K, Tamouza R, Leboyer M, Zipp F. Immunoneuropsychiatry - novel perspectives on brain disorders. *Nature Reviews. Neurology*. 2019; 15: 317–328.
23. Han VX, Patel S, Jones HF, Dale RC. Maternal immune activation and neuroinflammation in human neurodevelopmental disorders. *Nature Reviews. Neurology*. 2021; 17: 564–579.
24. Brites D. The evolving landscape of neurotoxicity by unconjugated bilirubin: role of glial cells and inflammation. *Frontiers in Pharmacology*. 2012; 3: 88.
25. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics*. 2004; 114: 297–316.
26. Bahr TM, Henry E, Christensen RD, Minton SD, Bhutani VK. A New Hour-Specific Serum Bilirubin Nomogram for Neonates ≥ 35 Weeks of Gestation. *The Journal of Pediatrics*. 2021; 236: 28–33.e1.
27. Qattea I, Farghaly MAA, Elgendy M, Mohamed MA, Aly H. Neonatal hyperbilirubinemia and bilirubin neurotoxicity in hospitalized neonates: analysis of the US Database. *Pediatric Research*. 2022; 91: 1662–1668.
28. DiNicolantonio JJ, McCarty MF, O'Keefe JH. Antioxidant bilirubin works in multiple ways to reduce risk for obesity and its health complications. *Open Heart*. 2018; 5: e000914.
29. Galatro TF, Holtman IR, Lerario AM, Vainchtein ID, Brouwer N, Sola PR, *et al*. Transcriptomic analysis of purified human cortical microglia reveals age-associated changes. *Nature Neuroscience*. 2017; 20: 1162–1171.

30. Li Q, Cheng Z, Zhou L, Darmanis S, Neff NF, Okamoto J, *et al.* Developmental Heterogeneity of Microglia and Brain Myeloid Cells Revealed by Deep Single-Cell RNA Sequencing. *Neuron*. 2019; 101: 207–223.e10.
31. Hammond TR, Dufort C, Dissing-Olesen L, Giera S, Young A, Wysoker A, *et al.* Single-Cell RNA Sequencing of Microglia throughout the Mouse Lifespan and in the Injured Brain Reveals Complex Cell-State Changes. *Immunity*. 2019; 50: 253–271.e6.
32. Vaz AR, Falcão AS, Scarpa E, Semproni C, Brites D. Microglia Susceptibility to Free Bilirubin Is Age-Dependent. *Frontiers in Pharmacology*. 2020; 11: 1012.
33. Falcão AS, Fernandes A, Brito MA, Silva RFM, Brites D. Bilirubin-induced inflammatory response, glutamate release, and cell death in rat cortical astrocytes are enhanced in younger cells. *Neurobiology of Disease*. 2005; 20: 199–206.
34. Falcão AS, Fernandes A, Brito MA, Silva RFM, Brites D. Bilirubin-induced immunostimulant effects and toxicity vary with neural cell type and maturation state. *Acta Neuropathologica*. 2006; 112: 95–105.
35. Ferro A, Auguste YSS, Cheadle L. Microglia, Cytokines, and Neural Activity: Unexpected Interactions in Brain Development and Function. *Frontiers in Immunology*. 2021; 12: 703527.
36. Zengeler KE, Lukens JR. Innate immunity at the crossroads of healthy brain maturation and neurodevelopmental disorders. *Nature Reviews. Immunology*. 2021; 21: 454–468.
37. Watchko JF, Tiribelli C. Bilirubin-induced neurologic damage—mechanisms and management approaches. *The New England Journal of Medicine*. 2013; 369: 2021–2030.
38. Hansen TW. Pioneers in the scientific study of neonatal jaundice and kernicterus. *Pediatrics*. 2000; 106: E15.
39. Masuda T, Sankowski R, Staszewski O, Böttcher C, Amann L, Sagar, *et al.* Spatial and temporal heterogeneity of mouse and human microglia at single-cell resolution. *Nature*. 2019; 566: 388–392.

40. Böttcher C, Schlickeiser S, Sneebouer MAM, Kunkel D, Knop A, Paza E, *et al.* Human microglia regional heterogeneity and phenotypes determined by multiplexed single-cell mass cytometry. *Nature Neuroscience*. 2019; 22: 78–90.
41. Batiuk MY, Martirosyan A, Wahis J, de Vin F, Marneffe C, Kusserow C, *et al.* Identification of region-specific astrocyte subtypes at single cell resolution. *Nature Communications*. 2020; 11: 1220.
42. Hasel P, Rose IVL, Sadick JS, Kim RD, Liddelow SA. Neuroinflammatory astrocyte
43. Furube E, Kawai S, Inagaki H, Takagi S, Miyata S. Brain Region-dependent Heterogeneity and Dose-dependent Difference in Transient Microglia Population Increase during Lipopolysaccharide-induced Inflammation. *Scientific Reports*. 2018; 8: 2203.
44. Dal Ben M, Bottin C, Zanconati F, Tiribelli C, Gazzin S. Evaluation of region selective bilirubin-induced brain damage as a basis for a pharmacological treatment. *Scientific Reports*. 2017; 7: 41032.
45. Barateiro A, Chen S, Yueh M, Fernandes A, Domingues HS, Relvas J, *et al.* Reduced Myelination and Increased Glia Reactivity Resulting from Severe Neonatal Hyperbilirubinemia. *Molecular Pharmacology*. 2016; 89: 84–93.
46. Vodret S, Bortolussi G, Jašprová J, Vitek L, Muro AF. Inflammatory signature of cerebellar neurodegeneration during neonatal hyperbilirubinemia in *Ugt1* $-/-$ mouse model. *Journal of Neuroinflammation*. 2017; 14: 64.
47. Schiavon E, Smalley JL, Newton S, Greig NH, Forsythe ID. Neuroinflammation and ER-stress are key mechanisms of acute bilirubin toxicity and hearing loss in a mouse model. *PLoS ONE*. 2018; 13: e0201022.
48. Bortolussi G, Codarin E, Antoniali G, Vascotto C, Vodret S, Arena S, *et al.* Impairment of enzymatic antioxidant defenses is associated with bilirubin-induced neuronal cell death in the cerebellum of *Ugt1* KO mice. *Cell Death & Disease*. 2015; 6: e1739.

49. Coulthard LR, White DE, Jones DL, McDermott MF, Burchill SA. p38(MAPK): stress responses from molecular mechanisms to therapeutics. *Trends in Molecular Medicine*. 2009; 15: 369–379.
50. Gazzin S, Zelenka J, Zdrahalova L, Konickova R, Zabetta CC, Giraudi PJ, *et al.* Bilirubin accumulation and Cyp mRNA expression in selected brain regions of jaundiced Gunn rat pups. *Pediatric Research*. 2012; 71: 653–660.