



Identificación de macroprolactinemia en pacientes con hiperprolactinemia

Carolina Sandoval,* Baldomero González,** Sonia Cheng,* Yoshua Esquenazi,* Moisés Mercado*,**

Nivel de evidencia: II-3

RESUMEN

Antecedentes: la macroprolactinemia es una hiperprolactinemia con predominio de la isoforma *big-big* de la prolactina. Su frecuencia no ha podido establecerse con precisión debido a las dificultades técnicas para identificarla. El método utilizado para detectar macroprolactinemia es la cromatografía de filtración en gel, una prueba muy costosa y difícil de realizar en forma rutinaria.

Objetivo: validar la técnica de precipitación con polietilenglicol en el establecimiento de macroprolactinemia en un grupo no preseleccionado de pacientes con elevación de prolactina por diferentes causas.

Pacientes y método: se estudiaron 14 pacientes no preseleccionados con valores elevados de prolactina en suero. Las concentraciones de prolactina se determinaron con estuches comerciales de ensayos inmunométricos por quimioluminiscencia. Todas las pruebas se realizaron por duplicado y se utilizaron sueros de sujetos sanos sin hiperprolactinemia. La técnica consistió en mezclar 250 µL de suero con un volumen igual de polietilenglicol. Después se centrifugó a 3000 rpm durante 30 minutos a 4°C. La concentración de prolactina se midió en el sobrenadante.

Resultados: en los pacientes 7 al 14 se descartó la macroprolactinemia y se confirmó hiperprolactinemia verdadera, que en algunos casos era leve y ciertamente no tumoral, en otros moderada y en otros grave y consecutiva a macroadenomas hipofisarios productores de prolactina.

Conclusiones: la técnica de precipitación con polietilenglicol es una prueba confiable para detectar macroprolactinemia.

Palabras clave: prolactina, macroprolactinemia, hiperprolactinemia, prolactinoma, polietilenglicol.

ABSTRACT

Background: Macroprolactinemia is defined as hyperprolactinemia with predominance of the big-big prolactine isoform. Its frequency has not been clearly established due to technical difficulties to identify it. This method used to detect it is gel filtration chromatography, an expensive and complicated procedure that could not be used routinely.

Objective: To validate the PEG precipitation technique, to identify the presence of macroprolactinemia and to correlate it with the clinical characteristics in a group of pre-selected patients with elevated serum PRL levels from different causes.

Patients and method: There were studied 14 patients non pre-selected with high PRL serum levels. Prolactine levels were determined with commercial immunometric quimioluminescence essays. All the essays were duplicated, and healthy patients serum (without hyperprolactinemia) were used. Technique consists on mixing 250 µL of serum with the same volume of polyethylene glycol. Later it was centrifugated at 3000 rpm during 30 minutes at 4°C. Prolactine level was measured in supernatant.

Results: Within patients 7 to 14 macroprolactinemia was ruled out and confirmed truth hyperprolactinemia, some times slight and non-tumoral, some times mild, and some times due to prolactin-producer hypophysial macroadenomas.

Conclusions: Polyethylene glycol precipitation technique is reliable to detect macroprolactinemia.

Key words: Prolactin, macroprolactinemia, hyperprolactinemia, prolactinoma, polyethylene glycol.

RÉSUMÉ

Antécédents: la macroprolactinémie est une hyperprolactinémie avec la prédominance de l'isoforme *big-big* de la prolactine. Sa fréquence n'a pas pu être établie avec précision du fait des difficultés techniques pour l'identifier. La méthode employée pour détecter macroprolactinémie est la chromatographie de filtration sur gel, un test très cher et difficile de réaliser de manière routinière.

Objectif: valider la technique de précipitation avec polyéthylène glycol dans l'établissement de macroprolactinémie dans un groupe non présélectionné de patients avec élévation de prolactine par des causes différentes.

Patients et méthode: on a étudié 14 patients non présélectionnés avec des valeurs élevées de prolactine en sérum. Les concentrations de prolactine ont été déterminées avec des étuis commerciaux d'essais immunométriques par chimioluminescence. Tous les tests ont été réalisés en double exemplaire et l'on a employé sérums des individus sains sans hyperprolactinémie. La technique a consisté à mêler 250 µL de sérum avec un volume égal de polyéthylène glycol. Après il a été centrifugé à 3000 tpm pendant 30 minutes à 4°C. La concentration de prolactine a été mesurée dans le surnageant.

Résultats: chez les patients 7 au 14 on a écarté la macroprolactinémie et l'on a confirmé hyperprolactinémie véritable, qui était grave dans quelques cas et certainement non tumorale, dans d'autres elle était modérée et dans d'autres sévère et consécutive à macroadénomes hypophysaires producteurs de prolactine.

Conclusions: la technique de précipitation avec polyéthylène glycol est un test de confiance pour détecter macroprolactinémie.

Mots-clés: prolactine, macroprolactinémie, hyperprolactinémie, prolactinome, polyéthylène glycol.

RESUMO

Antecedentes: a macroprolactinemia é uma hiperprolactinemia com predomínio da isoforma *big-big* da prolactina. Sua frequência ainda não foi estabelecido com precisão devido às dificuldades técnicas para identificá-las. O método identificado para detectar macroprolactinemia é a cromatografia de filtração em gel, uma prova muito custosa e difícil de se realizar em forma rotinária.

Objetivo: validar a técnica de precipitação com polietilen-glicol no estabelecimento de macroprolactinemia num grupo não pré selecionado de pacientes com elevação de prolactina por diferentes causas.

Pacientes e métodos: estudaram-se 14 pacientes não pré-selecionadas com valores elevados de prolactina em soro. As concentrações de prolactina se determinaram com estojos comerciais de ensaios imunométricos por quimioluminescência. Todos os testes se realizaram por duplicado e se utilizaram soros de sujeitos saudáveis sem hiperprolactinemia. A técnica consistiu em misturar 250 µL de soro com um volume igual de polietilen-glicol. Depois se centrifugou a 3000 rpm durante 30 minutos a 4°C. A concentração de prolactina se mediu no sobrenadante.

Resultados: nos pacientes 7 ao 14 descartou-se a macroprolactinemia e se confirmou hiperprolactinemia verdadeira, que em alguns casos era leve e na realidade não tumoral, em outros moderada e em outros severa e consecutiva a macroadenomas hipofisários produtores de prolactina.

Conclusões: a técnica de precipitação com polietilen-glicol é uma prova confiável para detectar macroprolactinemia.

Palavras chave: prolactina, macroprolactinemia, hiperprolactinemia, prolactinoma, polietilen-glicol.

La prolactina es una hormona polipeptídica constituida por 199 aminoácidos, con peso molecular de 23 kDa. En la circulación se han encontrado tres principales formas moleculares: la prolactina monomérica, con peso molecular de 23 kDa, que es la forma predominante en suero y la de mayor actividad biológica; la prolactina *big*, con peso de 50 kDa y finalmente la prolactina *big-big* o macroprolactina, con peso molecular de 100 a 150 kDa. Estas dos últimas variantes de la prolactina son el resultado de dimerización y polimerización de la molécula madura, que tiene lugar en la hipófisis anterior y en el plasma circulante. Estas formas de

alto peso molecular tienen una actividad biológica reducida.¹

En los casos de hiperprolactinemia tumoral, la forma molecular predominante es la monomérica. Sin embargo, recientemente se identificaron situaciones clínicas en las que la hiperprolactinemia se debe a formas moleculares diferentes a la monomérica. En realidad, se trata de prolactina monomérica unida covalente y no covalentemente a IgG. A estos complejos se les ha denominado *macroprolactina*. Debido a su gran tamaño, la depuración de macroprolactina se retarda, lo que ocasiona que se detecten concentraciones elevadas de prolactina en el suero cuando se miden con diferentes inmunoensayos.² La prevalencia de la macroprolactinemia se ha reportado entre 5 y 25%, dependiendo de la serie y el tipo de metodología aplicada.³ Si se toma en cuenta que alrededor de 10% de la población sana tiene anomalías en la hipófisis que corresponden a incidentalomas de esta glándula y que el tumor secretor más común es el prolactinoma,⁴ la exclusión diagnóstica de macroprolactinemia en este escenario resulta imperativa. Sobre decir que tratar médica o quirúrgicamente a estos pacientes es innecesario.

El método de referencia para identificar las distintas formas moleculares circulantes de prolactina es la cromatografía de exclusión molecular. Sin

* Servicio de endocrinología.

** Unidad de Investigación Médica en Endocrinología Experimental.

Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, México, DF.

Correspondencia: Dr. Moisés Mercado. Aristóteles núm. 68, colonia Polanco, CP 11560, México, DF. Tel. y fax: 5281-3085.
E-mail: moises.mercado@imss.gob.mx
Recibido: abril, 2007. Aceptado: mayo, 2007.

Este artículo debe citarse como: Sandoval C, González B, Cheng S, Esquenazi Y, Mercado M. Identificación de macroprolactinemia en pacientes con hiperprolactinemia. Ginecol Obstet Mex 2007;75(8):459-64.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

embargo, el método más utilizado en la actualidad para la detección de macroprolactinemia es la precipitación con polietilenglicol, debido a su sencillez y bajo costo.

El propósito de este estudio piloto fue validar la técnica de precipitación con polietilenglicol en el establecimiento de macroprolactinemia en un grupo no preseleccionado de pacientes con elevación de prolactina por diferentes causas.

PACIENTES Y MÉTODO

Sujetos de estudio

Se estudiaron 14 pacientes que clínicamente se examinaron en el servicio de endocrinología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS. Todos tuvieron concentraciones elevadas de prolactina (rango de 40-550 ng / mL), corroboradas en ayunas con tres muestras diferentes de sangre. La toma de sangre se realizó entre las 7:30 y 8:00 horas. La muestra se centrifugó a 1500 rpm durante 20 minutos, se separó el suero y se fraccionó en dos alícuotas; en la primera se determinó la prolactina directamente y en la segunda se realizó la precipitación antes de medir la prolactina.

Ensayos

Las concentraciones de prolactina se determinaron con estuches comerciales de ensayos inmunométricos por quimioluminiscencia en un analizador automatizado Immulite 2000 (Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, CA). Todas las pruebas se realizaron por duplicado y se utilizaron sueros de pacientes sanos sin hiperprolactinemia, para realizar el control de calidad.

Técnica de precipitación con polietilenglicol

La técnica consistió en mezclar 250 µl de suero con un volumen igual de polietilenglicol (peso molecular de 6000 al 25%, w / v en PBS, pH 7.4); se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después, se centrifugó a 3000 rpm durante 30 minutos a 4°C.⁵ La concentración de prolactina se midió en el sobrenadante; para corregir la dilución de la preparación en cada uno de los sueros tratados con polietilenglicol se utilizó un factor de 2.

Análisis estadístico

Estadística descriptiva consistente en medidas de tendencia central (media x y desviación estándar).

RESULTADOS

Las concentraciones de prolactina se cuantificaron en las mismas muestras de suero antes y después de la precipitación con polietilenglicol mediante tres diferentes ensayos con los estuches comerciales. Los coeficientes de variación intraensayo fueron de 6.5, 2.3 y 4.4%, mientras que los interensayo de 9.0, 7.5 y 8.0%. Se establecieron tres diferentes grupos de pacientes con base en el porcentaje de recuperación de prolactina (%R).

Este porcentaje se obtiene de la relación entre la concentración de prolactina del suero tratado con polietilenglicol entre el valor de la prolactina directa del mismo paciente, con base en la siguiente fórmula:

$$\%R = [(PRL_{PEG} \times 2) / PRL_{TOTAL}] \times 100.$$

Quienes tuvieron %R menor del 40% se consideraron, definitivamente, con macroprolactinemia; quienes tuvieron %R de entre 40 y 50% se definieron como portadores de macroprolactinemia pero en el contexto de hiperprolactinemia verdadera y se descartó por completo la macroprolactinemia en los pacientes con %R mayores de 50%.⁶ Las características generales de los pacientes y los resultados de prolactina se describen en el cuadro 1.

De los pacientes estudiados, en dos se demostró definitivamente la macroprolactinemia (pacientes 1 y 2). Ambos tuvieron elevaciones leves de prolactina pero ninguna evidencia clínica ni bioquímica de hipogonadismo, sólo la resonancia magnética nuclear del paciente 1 mostró un microadenoma, que seguramente se trata de un incidentaloma hipofisario.

Los pacientes 3, 4, 5 y 6 tuvieron %R cercanos al 40% (entre 40 y 50%). En estos casos se trata de pacientes con hiperprolactinemia conocida que habían reaccionado clínicamente al tratamiento con agonistas dopaminérgicos con resolución del hipogonadismo y reducción del tamaño tumoral, pero que no llegaron a normalizar sus cifras de prolactina. Se concluyó que estos pacientes eran portadores de macroprolactina,

Cuadro 1. Características de los tres grupos obtenidas con base en el porcentaje de recuperación: a) macroprolactinemia $\leq 40\%$, b) hiperprolactinemia y macroprolactinemia 40 a 50% y c) hiperprolactinemia $\geq 50\%$

Paciente	RMN (silla turca)	Diagnóstico	PRL	PRL+PEG	% Recuperación con PEG
Macroprolactinemia					
1	Microadenoma	Macroprolactinemia	80.9	16.3	20.1
2	Normal	Macroprolactinemia	54.6	14.5	26.5
X $\pm$ DE			77.5 $\pm$ 18.6	15.4 $\pm$ 1.27	
Hiperprolactinemia y macroprolactinemia					
3	Macroadenoma	Hiperprolactinemia	232	94	40.5
4	Macroadenoma	Macroadenoma invasor	400	170	42.5
5	Macroadenoma	Hiperprolactinemia	575	250	43.4
6	Macroadenoma	Hiperprolactinemia	256	126	49.2
X $\pm$ DE			368.75 $\pm$ 154.65	160 $\pm$ 67.61	
Hiperprolactinemia					
7	Microadenoma	Hiperprolactinemia	81.6	46.7	57.2
8	Microadenoma	Hiperprolactinemia	117	68	58.1
9	Macroadenoma	Macroadenoma	250	150	60.0
10	Macroadenoma	Hiperprolactinemia	200	121	60.5
11	Microadenoma	Hiperprolactinemia	44	27.6	62.5
12	Macroadenoma	Hiperprolactinemia	150	107	71.3
13	Microadenoma	Hiperprolactinemia	41.2	30	72.8
14	Microadenoma	Hiperprolactinemia	70	56	79.9
X $\pm$ DE			119.2 $\pm$ 75.75	75.79 $\pm$ 42.19	

pero en el contexto de hiperprolactinemia verdadera, situación que se demuestra con el hecho de que aun cuando la precipitación con polietilenglicol redujo significativamente las concentraciones de prolactina, no llegó a normalizarlos.

En los pacientes 7 al 14 se descartó la macroprolactinemia y se confirmó hiperprolactinemia verdadera, que en algunos casos era leve (pacientes 11, 13 y 14) y ciertamente no tumoral, en otros moderada (pacientes 7 y 8) y en otros grave (pacientes 9, 10 y 12) y secundaria a macroadenomas hipofisarios productores de prolactina debidamente demostrados.

La figura 1 muestra las gráficas en barras de los tres grupos que se obtuvieron con base en el porcentaje de recuperación de prolactina.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio indican que la técnica de precipitación con polietilenglicol es un método efectivo para detectar macroprolactinemia. Esta metodología es reproducible y confiable, según nuestros resultados y los de otros investigadores,

además de lo suficientemente sencilla como para realizarse de manera rutinaria. En el grupo de pacientes no preseleccionados que aquí se reporta se encontró que en 14.3% la hiperprolactinemia estaba explicada por completo por la macroprolactina, mientras que en 28.6% la precipitación con polietilenglicol sugería la coexistencia de macroprolactina con hiperprolactinemia verdadera. Este último escenario también lo han encontrado otros autores. Por lo general, se trata de pacientes con macroprolactinomas conocidos que reaccionan favorablemente al tratamiento con agonistas dopaminérgicos en cuanto a resolución del hipogonadismo, reinicio de la fertilidad e, incluso, reducción del tamaño del tumor, pero cuyas concentraciones de prolactina no se normalizan por completo.⁷ En varios de estos casos la dosis del agonista dopaminérgico se incrementa infructuosamente, lo que condiciona un gasto innecesario y mayor probabilidad de efectos adversos. Con precipitación con polietilenglicol se logró descartar confiablemente la macroprolactina en ocho pacientes con concentraciones de hiperprolactinemia que iban de 40 a 250 ng/mL.

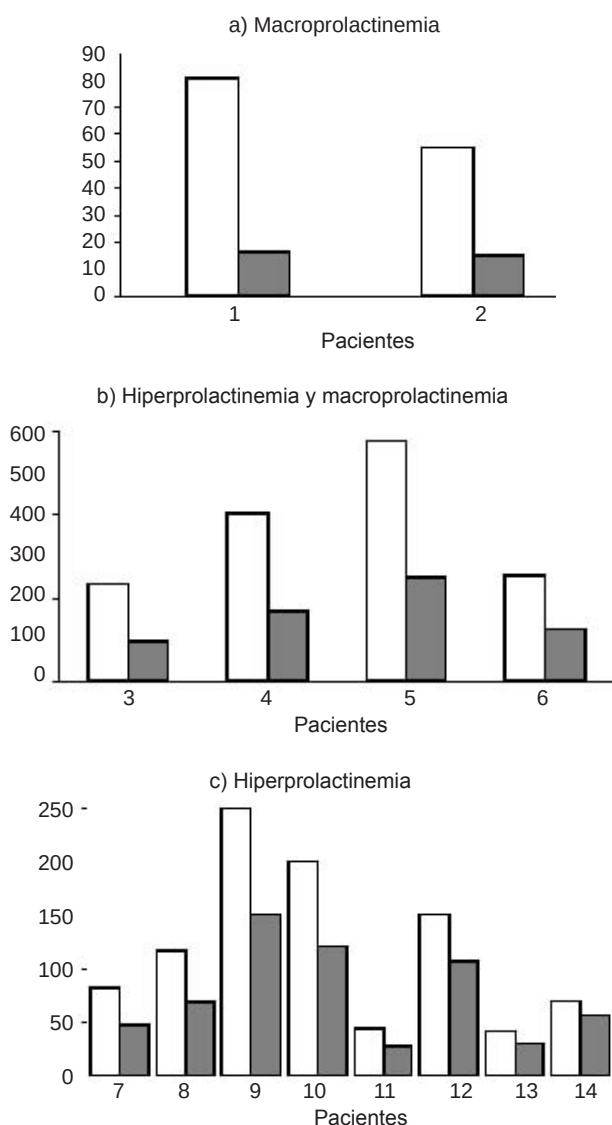


Figura 1. Concentraciones de prolactina directa y después de la precipitación con polietilenglicol.

La pregunta clave es si la búsqueda sistemática de macroprolactinemia debe realizarse en todas las muestras de suero en las que se mida prolactina. Desde el punto de vista clínico no hay forma de diferenciar pacientes con macroprolactinemia de aquellos con hiperprolactinemia moderada verdadera. Las ventajas evidentes de establecer que un paciente tiene macroprolactina incluyen la disminución de costos y evitar tratamientos médicos y quirúrgicos innecesarios. El escrutinio generalizado de esta condición implica, por lo menos, la duplicación de costos, pues de inicio será

necesario hacer dos determinaciones de prolactina en cada muestra. Mientras los investigadores europeos recomiendan la búsqueda rutinaria de macroprolactina en todos los sueros con hiperprolactinemia,⁸ los investigadores de Estados Unidos son mucho más selectivos.⁹

Es apremiante conocer las características del ensayo local con el que se mide la prolactina en virtud de que diferentes ensayos tienen sensibilidades distintas para detectar macroprolactina.

Se aconseja realizar precipitación con polietilenglicol en casos de:

- Hiperprolactinemia idiopática, particularmente cuando no hay datos clínicos de hipogonadismo y antes de indicar estudios de imagen o tratamiento.
- Pacientes con prolactinomas que mejoran clínicamente pero que no normalizan las concentraciones de prolactina con el tratamiento indicado.
- Uso local de inmunoensayos de prolactina conocidos por detectar sensiblemente macroprolactina (Elecsys, Roche; DELFIA, Wallac; Inmuno 1, Bayer; AxSYM, Abbott).¹⁰

Es importante señalar que el grupo de estudio es pequeño, pero que los resultados son alentadores para proponer que esta prueba puede confirmar la identificación de la macroprolactinemia en pacientes con hiperprolactinemia seleccionados de acuerdo con los criterios mencionados.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo económico proporcionado para realizar este estudio a la Coordinación de Investigación en Salud del IMSS, a través del Fondo de Fomento a la Investigación (FOFOI).

REFERENCIAS

1. Sinha YN. Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. *Endocr Rev* 1995;16:354-69.
2. Hattori N, Inagaki C. Anti-prolactin (PRL) autoantibodies cause asymptomatic hyperprolactinemia: bioassay and clearance studies of PRL immunoglobulin G complex. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3107-10.
3. Vallete-Kasic S, Morange-Ramos I, Selim A, Gunz G, et al. Macroprolactinemia revisited: a study on 106 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:581-88.
4. Sam S, Molitch ME. The pituitary mass: diagnosis and management. *Rev Endocr Metab Disord* 2005;6:55-62.
5. Hattori N. The frequency of macroprolactinemia in pregnant

- women and the heterogeneity of its etiologies. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;8:586-90.
6. Olukoga AO, Kane JW. Macroprolactinaemia: validation and application of the polyethylene glycol precipitation test and clinical characterization of the condition. *Clin Endocrinol* 1999;51:119-26.
 7. Gibney J, Smith TP, McKenna TJ. Clinical relevance of macroprolactin. *Clin Endocrinol* 2005;62:633-43.
 8. Fahie-Wilson MN, John R, Ellis AR. Macroprolactin: high molecular mass forms of circulating prolactin. *Ann Clin Biochem* 2005;42:175-92.
 9. Huauche OM, Rocha AJ, Maia AC, Maciel RM, Viera JC. Screening for macroprolactinaemia and pituitary imaging studies. *Clin Endocrinol* 2002;57:327-31.
 10. Smith TP, Suliman AM, Fahie-Wilson MN, McKenna TJ. Gross variability in the detection of prolactin in sera containing big-big prolactin (macroprolactin) by commercial immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:5410-15.

Orientación del eje uterino en relación con el eje pélvico

Vimos ya, al estudiar la pelvis ósea, que el feto debía, en virtud de leyes mecánicas bien establecidas, seguir, al iniciar su progresión, un eje ideal correspondiente a una línea umbilicococcigea. ¿Que relación existe entre el eje uterino y este eje umbilicococcigeo? La cuestión ha sido muy debatida y resuelta diversamente; puede admitirse que, durante la contracción uterina, los dos ejes coinciden, mientras que cuando no se contrae, el útero reposa sobre la columna vertebral y su eje forma con el de la pelvis, en la dirección anteroposterior, un ángulo de 10°, abierto hacia atrás.

Esta situación muy posterior del útero grávido está demostrada por el examen de cortes congelados, practicados en mujeres muertas durante los últimos meses del embarazo, como el corte de Braune. Además, durante el embarazo, el eje uterino se inclina de tal modo, que su extremidad superior se inclina a la derecha, el fondo uterino está en contacto con las falsas costillas derechas y la cara anterior del órgano mira a la derecha.

Reproducido de: Fabre. Manual de obstetricia. Barcelona: Salvat Editores, 1941;p:115.