

Received: 2016.07.29
Accepted: 2017.05.18
Published: 2017.12.31

Znaczenie różnicowania form prolaktyny u pacjentów z hiperprolaktynemią*

Analysis of molecular heterogeneity of PRL is important in patients with hyperprolactinemia

Izabela Kokot¹, Sylwia Płaczkowska², Lilla Pawlik-Sobecka¹

¹Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Streszczenie

Oznaczanie stężenia prolaktyny w medycznym laboratorium diagnostycznym jest najczęściej związane z weryfikowaniem przyczyny problemów z płodnością. Niejednokrotnie laboratoryjnie zdiagnozowana hiperprolaktynemia nie odzwierciedla stanu klinicznego pacjenta. Osoby, u których nie obserwuje się charakterystycznych objawów związanych z tym zaburzeniem, są poddawane dalszej diagnostyce, biochemicznej i/lub obrazowej, które nie są obojętne dla organizmu człowieka. Zdarza się, że mimo braku wskazania przyczyny podwyższonego stężenia prolaktyny, wdrażane jest leczenie farmakologiczne, a niejednokrotnie chirurgiczne. Prolaktyna występuje we krwi w różnych postaciach i/lub kompleksach. Najczęściej opisuje się trzy podstawowe izoformy tego hormonu: monomeryczną prolaktynę, big-prolaktynę oraz big-big-prolaktynę nazywaną makroprolaktyną. Wymienione postaci prolaktyny cechują się różną aktywnością biologiczną (najmniejszą ma cząsteczka makroprolaktyny), ale w testach laboratoryjnych wszystkie wykazują immunoreaktywność. Z tego względu oznaczanie prolaktyny jest dużym problemem diagnostów laboratoryjnych i klinicystów. Analiza obecności makroprolaktyny w próbkach z podwyższonym stężeniem prolaktyny nie jest wykonywana rutynowo, choć ma to podstawowe znaczenie w dalszym postępowaniu diagnostycznym w hiperprolaktynemii. Złotym standardem oceniającym wszystkie postaci prolaktyny jest filtracyjna chromatografia żelowa, dzięki której uzyskuje się wyniki nie tylko jakościowe, lecz również ilościowe. Niestety aparatura wykorzystywana w tej metodzie nie jest powszechnie dostępna. Wyniki wielu badań wykazały, że przesiewową metodą do oceny występowania makroprolaktynemii może być precypitacja makroprolaktyny glikolem polietylenowym. Procedura jest prosta, stosunkowo tania i choć ma pewne analityczne ograniczenia, jej wyniki dobrze korelują z wynikami filtracyjnej chromatografii żelowej. Makroprolaktynemia dotyczy niewielkiego odsetka osób w populacji ogólnej, lecz wśród pacjentów ze zdiagnozowaną hiperprolaktynemią może dotyczyć nawet 53% osób. Dlatego każdy przypadek podwyższonego stężenia prolaktyny powinno się dokładnie przeanalizować, żeby nie narażać pacjenta na niepotrzebne koszty zdrowotne, medyczne i finansowe.

Słowa kluczowe: prolaktyna • makroprolaktyna • hiperprolaktynemia

Summary

Assessment of prolactin level in a medical laboratory is most frequently related to verifying the cause of the problems with fertility. However, hyperprolactinaemia diagnosis by laboratory

* Praca powstała w ramach działalności statutowej ST-960.

	test often does not reflect the clinical condition of a patient. Patients with hyperprolactinemia, but without characteristic symptoms related to this disorder, undergo further biochemical and/or image diagnosis, which could be harmful to the human organism. In some cases, pharmacological treatment and even surgical intervention are applied, although the cause of elevated prolactin levels has not been identified. Prolactin is present in blood in different forms and/or complexes. Most frequently, three basic isoforms of this hormone are distinguished: monomeric prolactin, big-prolactin, and big-big-prolactin, called a macroprolactin. The listed forms of prolactin have different biological activity, but in laboratory tests, all of them show immunoreactiveness. For that reason, prolactin is a large problem for laboratory diagnosticians and clinicians. The analysis of the presence of macroprolactin in blood samples with elevated prolactin level is not a routine matter, even though it has a key meaning in the further diagnostic process of hyperprolactinemia. A gold standard identifying all forms of prolactin is gel filtration chromatography, which gives qualitative and also quantitative results. Unfortunately, the equipment used for this method is not commonly available in medical laboratory. Results of many studies showed that the precipitation of macroprolactin with polyethylene glycol could be the screening method for evaluating the macroprolactinaemia prevalence. This procedure is simple and relatively low-cost, and though it has some analytical restrictions, its results correlate well with the results of the gel filtration chromatography. Macroprolactinaemia is present in a small percentage of the total population; however, it can occur in 53% patients with hyperprolactinaemia.
Key words:	prolactin • macroprolactin • hiperprolactinemia
GICID:	01.3001.0010.7732
DOI:	10.5604/01.3001.0010.7732
Word count:	2584
Tables:	–
Figures:	1
References:	39

Adres autorki: mgr Izabela Kokot, Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław; e-mail: izabela.kokot@umed.wroc.pl

Wykaz skrótów: **BB-PRL** – big-big prolaktyna (big-big prolactin), **GFC** – filtracyjna chromatografia żelowa (gel filtration chromatography), **GPRL** – glikozylowana prolaktyna (glycosylated prolactin), **JAK** – kinaza tyrozynowa typu Janus (Janus-activated kinase), **MaPRL** – makroprolaktyna (macroprolactin), **PEG** – glikol polietylenowy (polyethylene glycol), **PRL** – prolaktyna (prolactin), **STAT** – przekaźnik sygnału i aktywator transkrypcji (signal transducer and activator of transcription), **TGFβ1** – czynnik wzrostu nowotworu β1 (tumor necrosis factor-β1).

WSTĘP

Jednym z najczęstszych zaburzeń endokrynologicznych jest hiperprolaktynemia, którą diagnozuje się przede wszystkim u osób z objawami m.in. mlekotoku, spadkiem libido i bezpłodnością, a u kobiet również brakiem miesiączki. Częstość występowania hiperprolaktynemii w grupie osób z zaburzeniami płodności wynosi 17%, przy czym dominującą płcią są kobiety [21]. Dane literaturowe wskazują, że wśród osób z hiperprolaktynemią 2,9-53% to przypadki makroprolaktynemii [2]. Celem artykułu jest zwrócenie uwagi na znaczenie wstępnej diagnostyki laboratoryjnej w zakresie wykrywania różnych postaci prolaktyny u pacjentów ze zdiagnozowaną hiperprolaktynemią.

PROLAKTYNA

Prolaktyna (PRL, prolactin) jest hormonem peptydowym syntetyzowanym i wydzielanym głównie przez komórki laktotropowe przedniego płata przysadki mózgowej, stanowiące 10-25% wszystkich komórek tego płata [22]. Jest wytwarzana w postaci prehormonu o masie cząsteczkowej 26 kDa, który w wyniku ograniczonej proteolizy tworzy finalny polipeptyd o masie 23 kDa [23,34]. Hormon ten występuje w trzech podstawowych izoformach, z których każda jest immunoreaktywna, czyli wykazuje aktywność w testach diagnostycznych. W warunkach fizjologicznych, biologicznie aktywna, monomeryczna izoforma prolaktyny, tzw. little lub free PRL, stanowi

85-95% wszystkich cząsteczek prolaktyny obecnych we krwi krążącej [23,27,28]. Drugą co do wielkości izoformą PRL jest dimer o masie cząsteczkowej 50-60 kDa (tzw. big PRL). U zdrowych osób, postać ta stanowi około 8% całej puli cząsteczek hormonu. Trzecia izoforma, tzw. big big PRL (BB-PRL), ma największą masę cząsteczkową spośród wszystkich izoform – 150-204 kDa [30] i stanowi około 1% krążących cząsteczek prolaktyny.

Po raz pierwszy o występowaniu różnych izoform prolaktyny we krwi napisali w 1981 r. Whittaker i wsp. Wykorzystując metodę filtracyjnej chromatografii żelowej (GFC, gel filtration chromatography), zaobserwowali u pacjentki z bezobjawową hiperprolaktynemią, że główną składową część puli hormonu była bardzo duża cząsteczka prolaktyny, którą nazwali 'big-big' PRL [36]. W 1985 r., Jackson i wsp. wprowadzili nową nazwę BB-PRL – makroprolaktyna (MaPRL) [16]. Obecnie obie nazwy – BB-PRL i MaPRL są używane zamiennie, choć uważa się, że struktura tych cząsteczek jest różna. MaPRL jest opisywana jako kompleks antygen-przeciwciało, czyli monomer PRL i IgG, natomiast BB-PRL to polimer „little” PRL. Cząsteczka BB-PRL może być również utworzona przez wysoko glikozylowaną PRL lub być wynikiem połączenia monomeru z białkami innymi niż immunoglobuliny [27,28,30,38].

Prolaktyna może być modyfikowana potranslacyjnie, głównie dzięki glikozylacji, fosforylacji i proteolizie. Glikozylowana prolaktyna (GPRL) o masie cząsteczkowej 25 kDa może stanowić nawet do 60% całej puli tego hormonu we krwi, choć zazwyczaj nie przekracza 25% [10]. W przeciwieństwie do postaci nieglikozylowanej, GPRL nie jest magazynowana w organellach komórkowych i natychmiast po zsyntetyzowaniu jest uwalniana na zewnątrz komórki. Aktywność biologiczna GPRL jest zazwyczaj obniżona, co wynika z niskiego powinowactwa zmodyfikowanej cząsteczki PRL do swojego receptora (PRLR). Reaktywność GPRL w testach laboratoryjnych pozostaje zachowana, natomiast trudno określić w jakim stopniu wpływa na ostateczny wynik stężenia prolaktyny, co jest dużym problemem diagnostycznym. Reakcja fosforylacji cząsteczki prolaktyny dotyczy grup hydroksylowych seryny lub treoniny. Ten rodzaj modyfikacji zachodzi w obrębie pęcherzyków wydzielniczych komórek laktotropowych. Podobnie jak w przypadku glikozylacji, przyłączenie reszty fosforanowej powoduje obniżenie aktywności biologicznej hormonu. Natomiast proces proteolizy PRL zachodzi zarówno w tkankach wytwarzających hormon, jak i w tkankach docelowych. Skutkiem działania enzymów proteolitycznych jest powstanie cząsteczki prolaktyny o masie 16 kDa (pierwszych 148 aminokwasów łańcucha polipeptydowego PRL), której aktywność nie jest jeszcze dokładnie poznana. Przypuszcza się, że hamuje angiogenezę, wiążąc się z krótką, rozpuszczalną postacią receptora prolaktynowego [32].

Do czynników regulujących wydzielanie prolaktyny należą: estrogeny, tyreoliberyna oraz oksytocyna, które działają

stymulującą na syntezę PRL, podobnie jak wazoaktywny peptyd jelitowy, histydyna, angiotensyna II, wazopresyna, gonadoliberyna, serotonina i czynniki wzrostu. Natomiast hamujące działanie na wydzielanie prolaktyny wykazuje przede wszystkim dopamina oraz jej agoniści. Wśród czynników hamujących działanie prolaktyny wymienia się również: endotelinę-1, czynnik wzrostu nowotworu- β 1 (TGF- β 1), acetylocholinę i noradrenalinę [35].

FUNKCJE PROLAKTyny

Podstawową funkcją prolaktyny jest pobudzanie wzrostu i rozwoju gruczołów mlekowych oraz synteza i wydzielanie mleka. PRL wpływa na syntezę białek mleka (w tym kazeiny i alfa-laktoalbuminy), cukru obecnego w mleku – laktozy oraz stymuluje syntezę kwasów tłuszczowych mleka. W czasie laktacji, PRL hamuje wydzielanie hormonów gonadotropowych, a to hamuje owulację i powoduje ustanie cykli miesięcznych [37]. Hormon ten uczestniczy także w neurobiologicznej adaptacji organizmu do ciąży i laktacji, co wiąże się ze swoistymi zmianami zachowania oraz wyzwalaniem instynktu macierzyńskiego [29]. U mężczyzny PRL wpływa na morfologię i funkcję jąder, ale również najądrzy, pęcherzyków nasiennych, stercza i plemników [26]. Jest jednym z hormonów biorących udział w reakcji organizmu na stres oraz wykazuje działanie analgetyczne. Ponadto wpływa na regulację gospodarki wodnoelektrolitowej, redukuje utratę wody i sodu przez nerki (przez zwiększenie reabsorpcji sodu), wychwyt sodu w jelicie oraz ogranicza utratę sodu i chlorku z potem. Prolaktyna jest również czynnikiem immunomodulującym, który wpływa na odpowiedź immunologiczną organizmu. Bierze udział w patogenezie chorób autoimmunologicznych oraz – jak w przypadku toczenia rumieniowatego układu – jej stężenie jest skorelowane z aktywnością choroby [9,25,32].

Prolaktyna jest hormonem oddziałującym na komórki docelowe przekazując informację na drodze: endokrynej, parakrynej i autokrynej. Podstawową jest droga endokryjna, gdzie zsyntetyzowany hormon, zostaje wydzielony do krwiobiegu i z krwią transportowany do tkanek docelowych, wywierając odpowiednie działanie. Natomiast działanie bezpośrednie hormonu jest związane z działaniem para – i autokrynnym, gdzie hormon może pełnić funkcję czynnika wzrostu, neuroprzekaznika lub immunomodulatora [32].

Działanie wewnątrzkomórkowe prolaktyny zależy od połączenia ze swoistym receptorem prolaktynowym, który należy do grupy transbłonowych receptorów cytokinowych, związanych z niereceptorowymi, cytoplazmatycznymi kinazami tyrozynowymi. Receptor PRL jest zbudowany z trzech domen: zewnątrzkomórkowej, transbłonowej oraz wewnątrzkomórkowej. Każda z domen spełnia określoną funkcję: zewnątrzkomórkowa – wiąże prolaktynę, transbłonowa – utrzymuje PRLR w błonie komórkowej oraz cytoplazmatyczna, która jest odpowiedzialna za przekazywanie sygnału. Na podstawie

wielkości, wyróżnia się trzy podstawowe formy receptora: długą, średnią i krótką. Ponadto w osoczu krwi występuje również rozpuszczalna postać receptora prolaktynowego [32]. PRLR są umiejscowione w większości tkanek organizmu, m.in.: w mózgu, mózdzku, nabłonku sutka, wątroby i limfocytów, warunkując plejotropowe działanie hormonu. Po przyłączeniu PRL do receptora, ulega on aktywacji i dimeryzacji, a to powoduje uruchomienie szlaku białek JAK/STAT – główną ścieżkę sygnałową prolaktyny. W wyniku zwiększenia aktywności enzymatycznej cytoplazmatycznych kinaz tyrozynowych JAK, dochodzi do fosforylacji grupy czynników transkrypcyjnych STAT (signal transduction and activation of transcription), które po dimeryzacji przedostają się do jądra komórkowego i, zależnie od umiejscowienia tkankowego, uruchamiają transkrypcję określonych genów [5,25,33].

HIPERPROLAKTYNEMIA

Hiperprolaktynemia jest definiowana jako wzrost stężenia prolaktyny w surowicy krwi powyżej 20 ng/ml u kobiet i 15 ng/ml u mężczyzn [22]. Czynniki indukujące wydzielanie PRL można podzielić na trzy grupy: fizjologiczne, farmakologiczne oraz patologiczne [18]. Do fizjologicznych przyczyn hiperprolaktynemii należą: ciąża, karmienie piersią, stres, spożycie posiłku (zwłaszcza bogatego w białko) oraz wzmóŜony wysiłek fizyczny. Wzrost wydzielania prolaktyny obserwuje się również podczas snu [10,27,39]. Lekami działającymi stymulująco na wydzielanie prolaktyny są zarówno agoniści receptora dopaminergicznego (np. fenotiazyny, butyrofenony, tioksanteniny), jak również leki zmniejszające stężenie dopaminy w tkankach (α -metyldopa, rezerpina), hormony (estrogeny, antyandrogeny), opiody, werapamil i wysokie dawki witaminy B6 [18,35]. Natomiast do najczęstszych czynników patologicznych można zaliczyć: guzy przysadki mózgowej, choroby podwzgórza i szypuły przysadki (w tym przerzuty nowotworowe), choroby infiltrujące (np. histiocytoza X), zapalenie tętnic skroniowych, obecność zakrzepu zatoki jamistej, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, urazy klatki piersiowej, choroby przewlekłe (np. przewlekła niewydolność nerek), pierwotna niedoczynność tarczycy, marskość wątroby oraz napady drgawkowe [1,18].

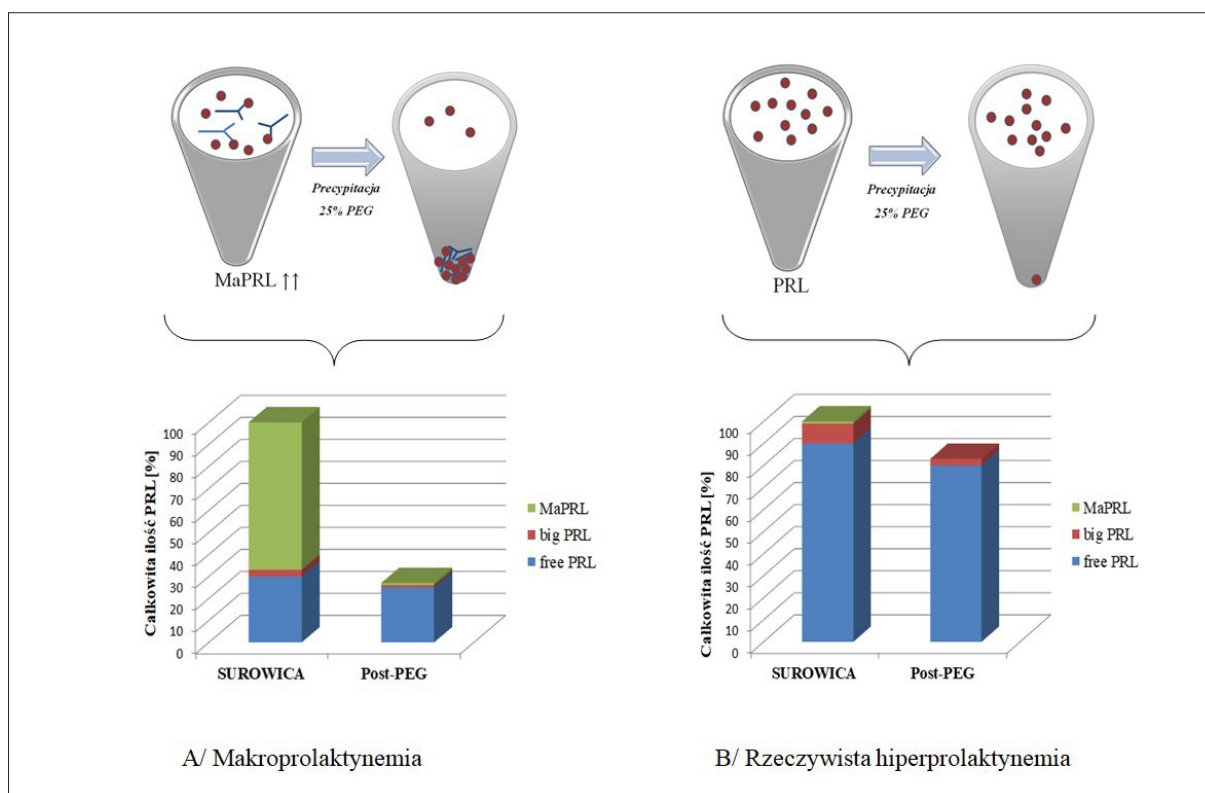
Objawy hiperprolaktynemii, niezależnie od etiogenezy, wynikają z nadmiernego stężenia prolaktyny i bezpośredniego wpływu tego hormonu na oś podwzgórze-przysadka. U kobiet, podstawowym objawem hiperprolaktynemii są rzadkie i nieregularne cykle miesięczne lub całkowity brak miesiączki. W jednej trzeciej przypadków cykle są bezowulacyjne będące przyczyną niepłodności. Ponadto, w hiperprolaktynemii, często obserwuje się spadek libido, mlekotok, wzrost masy ciała oraz hipogonadyzm z towarzyszącą osteopenią. Zaobserwowano, że nasilenie tych objawów jest skorelowane ze stężeniem prolaktyny we krwi. U mężczyzn, hiperprolaktynemia prawie w 90% objawia

się zaburzeniami potencji i spadkiem libido. W wyniku hiperprolaktynemii może dojść do niepłodności wynikającej z oligozoospermii oraz zmniejszonej objętości ejakulatu. U mężczyzn rzadko obserwuje się ginekomastię i mlekotok [22,35].

Polskie Towarzystwo Endokrynologiczne zaleca, aby rozpoznanie hiperprolaktynemii było potwierdzone co najmniej dwoma niezależnymi oznaczeniami stężenia hormonu [39]. Natomiast według Amerykańskiego Towarzystwa Endokrynologicznego (The Endocrine Society), żeby zdiagnozować hiperprolaktynemię, wystarczy jeden wynik stężenia prolaktyny powyżej wartości referencyjnej. Bardzo ważne jest prawidłowe pobranie próbki, gdyż na wynik ma wpływ wiele czynników przedanalizacyjnych, m.in. stres w trakcie zabiegu pobierania krwi. Jeżeli zachodzi podejrzenie wpływu stresu na stężenie PRL, zaleca się powtórzenie badania innego dnia, pobierając dwie-trzy próbki krwi co 15-20 min [6,31]. Dotyczy to szczególnie sytuacji, gdy stężenie wyjściowe prolaktyny znajduje się wprawdzie powyżej przedziału referencyjnego, ale nie jest wystarczająco wysokie aby stwierdzić prolaktynomię. Casanueva i wsp. zalecają dodatkowo, aby krew pobrać na czczo, w ciągu pierwszej godziny po przebudzeniu [6]. Lekarz zlecający badanie powinien dokładnie poinformować pacjenta jak należy się przygotować aby wyeliminować wpływ czynników mogących indukować wydzielanie PRL (uwzględniając również dobowy rytm wydzielania hormonu) [35]. Wartości decyzyjne, w zależności od stosowanego testu i jego swoistości, mogą być różne. Każde laboratorium ustala wartość odcięcia, a wynik pacjenta powinien być interpretowany w stosunku do wartości wyznaczonej przez laboratorium, w którym pacjent wykonywał badanie. Dlatego nie powinno się porównywać wyników badań wykonywanych w różnych laboratoriach oraz różnymi metodami. W celu rozpoznania hiperprolaktynemii można również wykonywać testy dynamiczne, które nie są jednak zalecane przez Amerykańskie Towarzystwo Endokrynologiczne, ponieważ ich wartość diagnostyczna jest porównywalna do pojedynczego oznaczenia stężenia prolaktyny w surowicy krwi. W Stanach Zjednoczonych, do testów dynamicznych stosuje się głównie: tyreoliberynę, L-dopę, nomifenzynę i domperidon oraz hipoglikemię indukowaną insuliną [6,31]. W Polsce najczęściej stosuje się metoklopramid, który wykorzystuje się do różnicowania i/lub potwierdzania hiperprolaktynemii. W przypadkach bezobjawowej hiperprolaktynemii zalecane jest przeprowadzenie badań w kierunku występowania makroprolaktynemii [4].

MAKROPROLAKTYNA

Cząsteczka MaPRL to najczęściej połączenie monomerycznej postaci PRL (PRL 23 kDa) z przeciwciałami klasy G, kompleks ten jest rzadko tworzony z immunoglobulinami typu A lub M [27]. W obserwacjach klinicznych nie stwierdzono jednak żadnych różnic wynikających z rodzaju przeciwciał budujących cząsteczkę MaPRL [10]. Pomimo



Ryc. 1. Precypitacja makroprolaktyny z użyciem 25% PEG-u; A/ obecność znacznego odsetka makroprolaktyny w próbce, B/ obecność monomerycznej prolaktyny

intensywnych badań, do tej pory nie wyjaśniono przyczyny powstawania przeciwciał przeciwko prolaktynie [19]. Próbę wyjaśnienia tego zjawiska podjął zespół Hattorii prowadząc badania na modelu szczurzym. Zasygerowano, że wytwarzanie przeciwciał anty-PRL może wynikać z różnic w fosforylacji seryny w łańcuchu aminokwasowym prolaktyny. Hormon obecny w przysadce mózgowej ulega fosforylacji w pozycji 163 i 194, natomiast we krwi obwodowej nie obserwuje się modyfikacji seryny w pozycji 163. Jednocześnie Hattori i wsp. wykazali antygenowość przysadkowej prolaktyny, która jest odpowiedzialna za wywołanie odpowiedzi immunologicznej w postaci przeciwciał skierowanych przeciwko PRL, czego skutkiem jest makroprolaktyna [12,15]. W warunkach fizjologicznych, MaPRL stanowi niewielki procent całkowitej puli hormonu we krwi. Makroprolaktynemię rozpoznaje się wtedy, gdy odsetek ten wzrasta i MaPRL staje się postacią dominującą (co najmniej 60% całkowitego stężenia PRL). W warunkach *in vivo* MaPRL nie wykazuje aktywności biologicznej. Niektórzy naukowcy uważają, że ma to związek z wielkością cząsteczki, która ma ograniczony dostęp do receptorów PRL [30]. Hattorii i wsp. [13,14] wykazali, że przeciwciała anty-PRL łączą się z epitopami prolaktyny w pobliżu miejsca wiązania cząsteczki hormonu ze swoistym receptorem, uniemożliwiając tym samym połączenie hormonu z białkiem receptorowym, ograniczając aktywność biologiczną prolaktyny. MaPRL

cehuje się także znacznie wydłużonym klirensom nerkowym, co przekłada się na akumulację kompleksu PRL-IgG w surowicy krwi, przyczyniając się do wyższego stężenia całkowitej prolaktyny u pacjenta [30].

Makroprolaktyna jest immunoreaktywna, a to umożliwia oznaczenie hormonu za pomocą testów laboratoryjnych [24,28]. Niektóre testy diagnostyczne są wrażliwe na makroprolaktynę, jednak każdy z nich wykazuje inną swoistość dla tej cząsteczki [6]. Metodą uznaną za złoty standard w oznaczaniu MaPRL jest filtracyjna chromatografia żelowa (GFC), która pozwala na jakościowe i ilościowe oznaczenie wszystkich postaci PRL. Nie jest to jednak metoda powszechnie stosowana, głównie ze względu na wysokie koszty oraz długi czas analizy. W diagnostyce laboratoryjnej, do rutynowej analizy, stosuje się metody niedroge, niewymagające specjalistycznej aparatury, charakteryzujące się możliwie wysoką korelacją w stosunku do metody referencyjnej. Takimi cechami charakteryzuje się metoda określająca procent odzysku monomerycznej postaci prolaktyny po wytrąceniu surowicy/osocza polietylenoglikolem (PEG). PEG (25% roztwór) wytrąca MaPRL, pozostawiając w supernatancie wolną prolaktynę (ryc.1).

Po oznaczeniu stężenia PRL w próbce natywnej i po precipitacji, określa się procent odzysku prolaktyny.

Wartość <40% wskazuje na obecność MaPRL w badanej próbce krwi, natomiast >60% potwierdza rzeczywistą hiperprolaktynemię. Odzysk prolaktyny w 40-60% sugeruje obecność w próbce badanej różnych postaci hormonu [27], jest to tzw. 'szara strefa', wymagająca weryfikacji metodą GFC [7]. Jamaluddin i wsp. [17] wykazali, że w przypadku próbek, w których odzysk prolaktyny po precypitacji PEG jest mniejszy niż 40%, można u pacjenta stwierdzić makroprolaktynemię bez konieczności potwierdzenia wyniku metodą GFC. Autorzy ci sugerują, że dla diagnostycznego rozpoznania makroprolaktynemii, w rutynowych laboratoriach można wprowadzić wartość odcięcia właśnie na tym poziomie. Natomiast odzysk prolaktyny na poziomie >40%, wymaga zastosowania metody GFC w celu potwierdzenia makroprolaktynemii. W niektórych przypadkach jednocześnie z makroprolaktynemią obserwowano wysokie stężenie monomerycznej prolaktyny [17].

Oznaczanie MaPRL z glikolem polietylenowym powinno być poprzedzone sprawdzeniem czy PEG nie interferuje z metodą wykorzystywaną przez dany analizator [3]. Sugeruje się również aby kryteria diagnozowania makroprolaktynemii z wykorzystaniem przesiewowej metody precypitacji PEG były:

- ustalone dla określonego systemu analitycznego,
- weryfikowane między różnymi laboratoriami [8].

W celu zwiększenia czułości metody i wskaźnika detekcji MaPRL w metodzie precypitacji z PEG-iem, Chen i wsp. [7] zalecają wstępne 5-krotnie rozcieńczenie badanej surowicy. Autorzy ci zwracają także uwagę na zjawisko nieswoistej koprecypitacji monomerycznej prolaktyny, które w ich badaniu było proporcjonalne do stężenia białka całkowitego w próbce surowicy. Zaobserwowano, że w próbkach z wysokim stężeniem białka, stężenie monomerycznej PRL mierzone metodą precypitacji z PEG może być zaniżone nawet o 20-30% [7]. Zjawisko to może być przyczyną wyników fałszywie dodatnich, zwłaszcza u pacjentów z wysokim stężeniem immunoglobulin we krwi i powodować błędne rozpoznanie makroprolaktynemii [2].

Wśród metod stosowanych do oznaczania MaPRL wymienia się również ultrafiltrację oraz immunoadsorbpcję z wykorzystaniem imobilizowanych białek A lub G i przeciwciał IgG. Są to metody alternatywne do metody precypitacji z glikolem polietylenowym, a ich główną zaletą jest brak odczynników mogących interferować ze składnikami zestawów analitycznych do oznaczania PRL. Jednak wyniki badań dotyczące stosowania ultrafiltracji jako metody wykrywania makroprolaktynemii są niejednoznaczne i wskazują na jej niewielką wartość diagnostyczną dla tego schorzenia. Podobne wnioski zostały wyciągnięte w przypadku metody immunoadsorbpcji, w której wielkocząsteczkowe formy prolaktyny są częściowo adsorbowane, czego efektem są wyniki fałszywie ujemne względem makroprolaktyny [2].

KLINICZNE ZNACZENIE MAKROPROLAKTYNEMII

Występowanie makroprolaktynemii można podejrzewać u pacjentów z podwyższonym stężeniem PRL we krwi, lecz ze słabo nasilonymi objawami charakterystycznymi dla hiperprolaktynemii [24,28]. Makroprolaktynemia najczęściej jest obserwowana u kobiet z wysokim stężeniem PRL we krwi oraz regularnymi cyklami miesięcznymi, charakteryzującymi się prawidłowym przyrostem wydzielania PRL w teście z metoklopramidem, a także u pacjentek z wysokim stężeniem PRL przy braku obecności gruczolaka przysadki [35]. Kostrzak i wsp. [28] przebadali kobiety z hiperprolaktynemią, u których dominującą postacią była MaPRL, potwierdzili prawidłowe stężenia FSH, LH i estradiolu w surowicy. Podwyższone stężenie prolaktyny, przy wartościach hormonów płciowych mieszczących się w przedziałach referencyjnych, utrudnia znalezienie właściwej przyczyny hiperprolaktynemii oraz naraża pacjentki na stres i często niepotrzebne leczenie. Tym bardziej że kobiety z makroprolaktynemią wykazują regularny cykl miesięczny z owulacją [28], obserwuje się u nich także brak reakcji na terapię agonistami dopaminy. Jednak pojawienie się objawów charakterystycznych hiperprolaktynemii u osób z makroprolaktynemią może być następstwem odchudzenia czy jednym z objawów zespołu policystycznych jajników [2]. Sugeruje się również, że istnieje potencjalna możliwość odłączenia się prolaktyny z kompleksu PRL-IgG, co powoduje przejściową pełnoobjawową hiperprolaktynemię [19] i zostało potwierdzone eksperymentalnie [11,14]. Odnotowano także przypadki obniżenia stężenia MaPRL w wyniku zastosowanej terapii agonistami dopaminy [34]. Najczęściej wiąże się to z jednoczesnym obniżeniem stężenia monomerycznej prolaktyny i zachowaniem proporcji między MaPRL a PRL [20].

W praktyce, mimo uwzględnienia obecności makroprolaktyny w algorytmie postępowania w przypadku hiperprolaktynemii, bardzo rzadko zleca się wykonanie oznaczenia MaPRL u pacjentów z podwyższonym stężeniem prolaktyny [39].

PODSUMOWANIE

Jednym z najczęstszych zaburzeń endokrynologicznych, mających istotny wpływ na płodność u ludzi, jest hiperprolaktynemia, wykrywana u około 17% kobiet z zaburzeniami funkcji rozrodczych [18,28]. Przy czym częstość występowania makroprolaktynemii w tej grupie pacjentek mieści się w przedziale 10-45%, w zależności od czułości stosowanej metody analitycznej [27,35]. Hiperprolaktynemia w dalszym ciągu stanowi znamieny problem diagnostyczny, głównie ze względu na heterogenność hormonu oraz interferencje w oznaczeniach immunochemicznych. Systemy analityczne używane w laboratoriach diagnostycznych wykazują różną czułość względem makroprolaktyny [3,38], a stwierdzenie jej obecności ma podstawowe znaczenie w początkowym etapie diagnostyki endokrynologicznej hiperprolaktynemii.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Bartoszewicz Z.: Makroprolaktynemia – hiperprolaktynemia charakteryzująca się obecnością wysokocząsteczkowej makroprolaktyny. *Lab-forum*, 2003; 14: 4-5
- [2] Beda K., Winczyk K.: Makroprolaktyna – występowanie, metody diagnostyczne i znaczenie kliniczne. *Folia Med. Lodz*, 2009; 36: 87-110
- [3] Beltran L., Fahie-Wilson M.N., McKenna T.J., Kavanagh L., Smith T.P.: Serum total prolactin and monomeric prolactin reference intervals determined by precipitation with polyethylene glycol: evaluation and validation on common immunoassay platforms. *Clin. Chem.*, 2008; 54: 1673-1681
- [4] Bolanowski M.: Commentary on an Endocrine Society clinical practice guidelines published in *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011; 96: 273-288. *Endokrynol. Pol.*, 2011; 62 (Suppl. 3): 23-24
- [5] Bukowska A., Peplowska B.: Praca w nocy a prolaktyna jako czynnik ryzyka raka piersi. *Med. Pracy*, 2013; 64: 245-257
- [6] Casanueva F.F., Molitch M.E., Schlechte J.A., Abs R., Bonert V., Bronstein M.D., Brue T., Cappabianca P., Colao A., Fahlbusch R., Fideleff H., Hadani M., Kelly P., Kleinberg D., Laws E. i wsp.: Guidelines of the Pituitary Society for the diagnosis and management of prolactinomas. *Clin. Endocrinol.*, 2006; 65: 265-273
- [7] Chen Y., Wang H., Yang W., Jin W., Yu W., Wang W., Zhang K., Song G.: A new method of using polyethylene glycol (PEG) precipitation of macroprolactin to detect genuine hyperprolactinemia. *J. Clin. Lab. Anal.*, 2016; 30: 1169-1174
- [8] Chen Y.J., Song G.Z., Wang Z.N.: A new criteria for screening macroprolactinemia using polyethylene glycol treatment combined with different assays for prolactin. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2016; 20: 1788-1794
- [9] Dolińska B., Łopata K., Ryska F.: Prolaktyna i inne regulatory wchłaniania wapnia. *Ann. Acad. Med. Siles.*, 2012; 66: 52-56
- [10] Fahie-Wilson M., Smith T.P.: Determination of prolactin: the macroprolactin problem. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2013; 27: 725-742
- [11] Hattori N.: Macroprolactinemia: a new cause of hyperprolactinemia. *J. Pharmacol. Sci.*, 2003; 92: 171-177
- [12] Hattori N., Ikekubo K., Nakaya Y., Kitagawa K., Inagaki C.: Immunoglobulin G subclasses and prolactin (PRL) isoforms in macroprolactinemia due to anti-PRL autoantibodies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005; 90: 3036-3044
- [13] Hattori N., Nakayama Y., Kitagawa K., Ishihara T., Saiki Y., Inagaki C.: Anti-prolactin (PRL) autoantibody-binding sites (epitopes) on PRL molecule in macroprolactinemia. *J. Endocrinol.*, 2006; 190: 287-293
- [14] Hattori N., Nakayama Y., Kitagawa K., Ishihara T., Saiki Y., Inagaki C.: Anti-prolactin (PRL) autoantibodies suppress PRL bioactivity in patients with macroprolactinaemia. *Clin. Endocrinol.*, 2008; 68: 72-76
- [15] Hattori N., Nakayama Y., Kitagawa K., Li T., Inagaki C.: Development of anti-PRL (prolactin) autoantibodies by homologous PRL in rats: a model for macroprolactinemia. *Endocrinology*, 2007; 148: 2465-2470
- [16] Jackson R.D., Wortsman J., Malarkey W.B.: Macroprolactinemia presenting like a pituitary tumor. *Am. J. Med.*, 1985; 78: 346-350
- [17] Jamaluddin F.A., Sthaneshwar P., Hussein Z., Othman N., Chan S.P.: Importance of screening for macroprolactin in all hyperprolactinaemic sera. *Malays J. Pathol.*, 2013; 35: 59-63
- [18] Jarząbek-Bielecka G., Radomski D., Nowaczyk A., Sowińska-Przepiera E., Warchol-Biedermann K., Paluszkiwicz A.: Analiza stężeń prolaktyny u dziewcząt bez cech endokrynopatii z zaburzeniami miesiączkowania i stresem w wywiadzie. *Gin. Prakt.*, 2010; 1: 46-53
- [19] Jeske W.: The main reasons behind variability in detection of prolactin and causes of true or apparent discordance with clinical state. *Endokrynol. Pol.*, 2008; 59: 30-32
- [20] Jeske W., Zgliczyński W., Gorzelak K.: Macroprolactin in subjects with hyperprolactinaemia: clinical observations and relations between free PRL and PRL complexed with IgG. *Endokrynol. Pol.*, 2005; 56: 779-784
- [21] Kałużny M., Bolanowski M.: Hyperprolactinemia: etiology, clinical symptoms, and therapy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 20-27
- [22] Karasek M., Pawlikowski M., Lewiński A.: Hyperprolactinemia: causes, diagnosis, and treatment. *Endokrynol. Pol.*, 2006; 57: 656-662
- [23] Kasum M., Oreskovic S., Zec I., Jezek D., Tomic V., Gall V., Adzic G.: Macroprolactinemia: new insights in hyperprolactinemia. *Biochem. Med.*, 2012; 22: 171-179
- [24] Kavanagh L., McKenna T.J., Fahie-Wilson M.N., Gibney J., Smith T.P.: Specificity and clinical utility of methods for the detection of macroprolactin. *Clin. Chem.*, 2006; 52: 1366-1372
- [25] Kokot I., Pawlik-Sobecka L., Płaczowska S., Piwowar A.: Prolactin as an immunomodulatory factor in psoriatic arthritis. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 1265-1272
- [26] Konarzewska B., Szulc A., Popławska R., Galińska B., Juchnowicz D.: Wpływ poneuroleptycznej hiperprolaktynemii na występowanie zaburzeń seksualnych u mężczyzn chorych na schizofrenię. *Psychiatr. Pol.*, 2008; 14: 87-95
- [27] Kostrzak A., Męczekalski B.: Makroprolaktynemia. *Pol. Merk. Lek.*, 2010; 29: 47-49
- [28] Kostrzak A., Warenik-Szymankiewicz A., Męczekalski B.: Czy ocena aktywności biologicznej prolaktyny ma kluczowe znaczenie w diagnostyce hiperprolaktynemii? *Pol. Merk. Lek.*, 2010; 28: 359-361
- [29] Lessing-Pernak J.: Znaczenie przebiegu porodu i wczesnego kontaktu matki z dzieckiem dla rozwoju przywiązania. *Perinatol. Neonatol. Ginekol.*, 2010; 3: 282-289
- [30] McCudden C.R., Sharpless J.L., Grenache D.G.: Comparison of multiple methods for identification of hyperprolactinemia in the presence of macroprolactin. *Clin. Chim. Acta*, 2010; 411: 155-160
- [31] Melmed S., Casanueva F.F., Hoffman A.R., Kleinberg D.L., Montori V.M., Schlechte J.A., Wass J.A., Endocrine Society: Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2011; 96: 273-288
- [32] Michalik J., Bartoszewicz Z.: Prolactin (PRL) – multifunctional, hypothalamic peptide hormone. *Postępy Biochem.*, 2002; 48: 296-305
- [33] Namiecińska M., Marciniak K., Nowak J.Z.: VEGF as an angiogenic, neurotrophic, and neuroprotective factor. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 573-583
- [34] Richa V., Rahul G., Sarika A.: Macroprolactin; a frequent cause of misdiagnosed hyperprolactinemia in clinical practice. *J. Reprod. Infertil.*, 2010; 11: 161-167
- [35] Tkaczuk-Włach J., Sobstyl M., Chołubek-Robak D., Jakiel G.: Hiperprolaktynemia. *Przegl. Menopauz.*, 2009; 2: 112-115
- [36] Whittaker P.G., Wilcox T., Lind T.: Maintained fertility in a patient with hyperprolactinemia due to big, big prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1981; 53: 863-866
- [37] Wyszogrodzka-Kucharska A., Rabe-Jabłońska J.: Hyperprolactinemia in schizophrenic patients treated with antipsychotics. *Post. Psychiatr. Neurol.*, 2004; 13: 355-362
- [38] Zaninotto M., Mion M.M., Altinier S., Vagnolo M., Venturini R., Plebani M.: Performance characteristics of laboratory testing and clinical outcomes. *Clin. Chim. Acta*, 2009; 404: 41-45
- [39] Zgliczyński W., Zdunowski P.: Hyperprolactinaemia – pitfalls in PRL assessment. *Endokrynol. Pol.*, 2005; 56: 980-985

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktów interesów.