

MAKROPROLAKTYNA - WYSTĘPOWANIE, METODY DIAGNOSTYCZNE I ZNACZENIE KLINICZNE

KAROLINA BEDA, KATARZYNA WINCZYK

Zakład Neuroendokrynologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie: Makroprolaktyna (MaPRL) jest wielkocząsteczkową formą prolaktyny (PRL) zbudowaną zazwyczaj z monomerycznej PRL i cząsteczki immunoglobuliny G. Nie posiada istotnej aktywności biologicznej, ale z powodu zachowanej immunoreaktywności powoduje wzrost stężenia hormonu we krwi i u osób z hiperprolaktynemią jest przyczyną wielu pomyłek diagnostyczno-terapeutycznych. Większość zestawów do oznaczeń PRL nie różni monomerycznej od wielkocząsteczkowej postaci hormonu, więc wskazane jest wykonywanie dodatkowych testów wykrywających MaPRL. W pracy omówiono różne techniki identyfikacji MaPRL i ich przydatność w codziennej diagnostyce laboratoryjnej, a także przedstawiono dane literaturowe dotyczące znaczenia makroprolaktynemii w praktyce klinicznej.

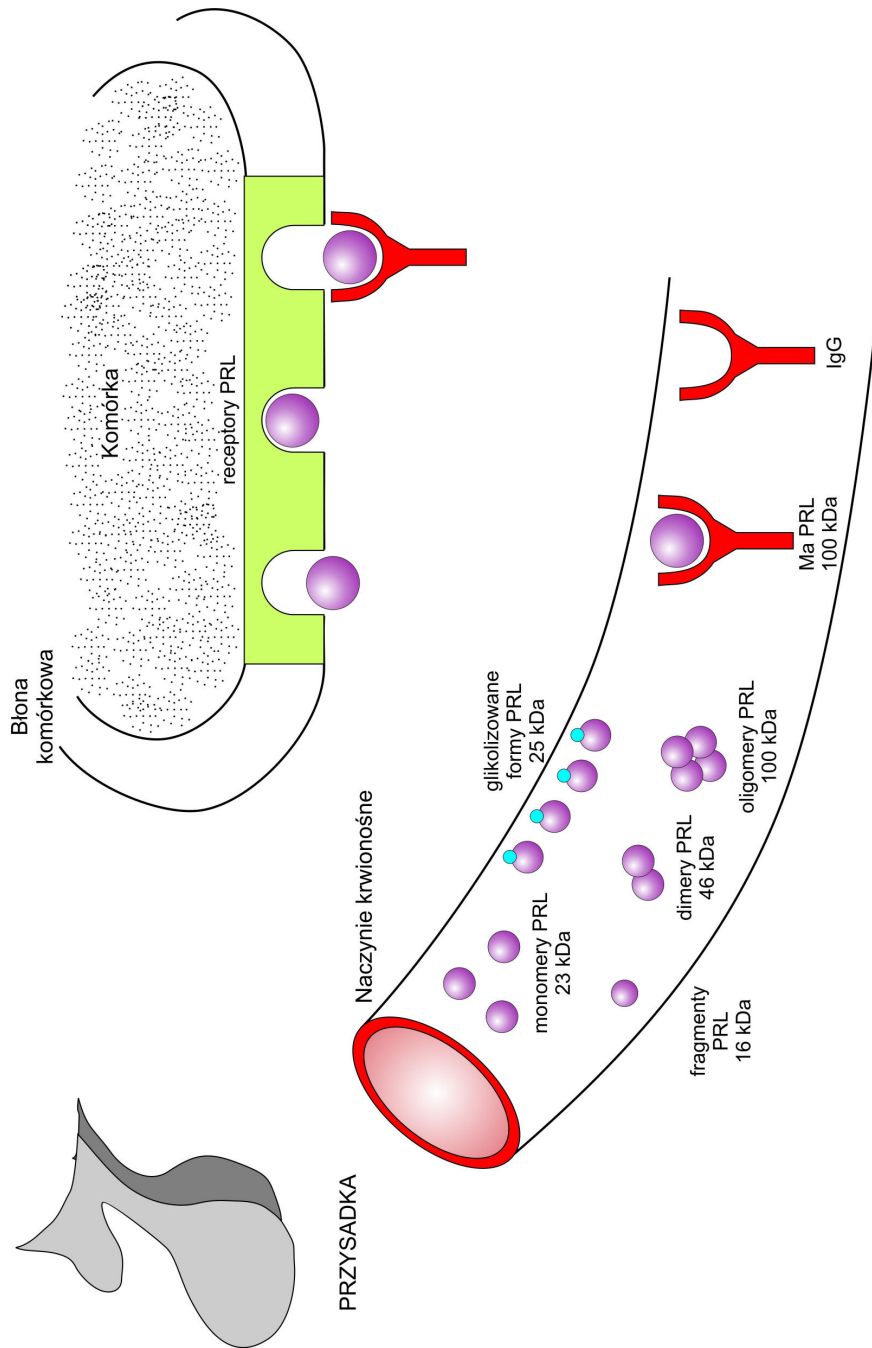
Słowa kluczowe: Makroprolaktyna; Hiperprolaktynemia; Makroprolaktynemia; Metody wykrywania makroprolaktyny; Chromatografia żelowa; Precypitacja PEG-iem; Ultrafiltracja; Immunoprecypitacja.

Makroprolaktyna (MaPRL) jest wielkocząsteczkową formą prolaktyny (PRL) nie posiadającą istotnej aktywności biologicznej, ale z powodu zachowanej immunoreaktywności powoduje wzrost stężenia hormonu we krwi i u osób z hiperprolaktynemią stanowi przyczynę wielu pomyłek diagnostyczno-terapeutycznych [1 - 3]. Hiperprolaktynemia, czyli podwyższone stężenie PRL we krwi, występuje w stanach fizjologicznych takich jak ciąża i laktacja oraz w różnych stanach patologicznych. Zaliczamy do nich choroby okolicy podwzgórzowo-przysadkowej (najczęściej są to gruczolaki o typie *prolactinoma*) i inne zaburzenia układu dokrewnego jak niedoczynność tarczycy czy zespół

policystycznych jajników, a ponadto choroby innych narządów jak niewydolność nerek lub marskość wątroby. [4, 5]. Przyczyną hiperprolaktynemii może być także obecna we krwi MaPRL. Podstawową formą PRL występującą u człowieka jest monomeryczna postać o masie cząsteczkowej 23 kDa, która stanowi 85-95% krążącego we krwi hormonu. Cząsteczki PRL posiadają zdolność łączenia się, co powoduje powstawanie złożonych form hormonu określanych mianem „big-prolaktyny”, gdy ich masa cząsteczkowa wynosi 45-50 kDa i „big-big-prolaktyny” zwanej także makroprolaktyną, gdy masa konglomeratów przekracza 100 kDa. Makroprolaktyna powstaje najczęściej w wyniku połączenia monomerycznej PRL z cząsteczką immunoglobuliny G tworzącego kompleks o masie cząsteczkowej powyżej 150 kDa [4, 6, 7]. (Ryc. 1)

Makroprolaktyna – rys historyczny

Obecność makroprolaktyny w surowicy krwi u osób z hiperprolaktynemią jest znana od ponad 30 lat, jednak nadal pozostaje wiele pytań, na które nie udało się uzyskać jednoznacznej odpowiedzi. Pierwsza publikacja opisująca postać PRL o dużej masie cząsteczkowej ukazała się w 1974 roku [8]. Obecność takiej formy hormonu u kobiety z hiperprolaktynemią wykazał w 1981 roku Whittaker i wsp. [9] wprowadzając dla niej określenie „big-big-prolaktyna”. Pojęcia „makroprolaktyna” i „makroprolaktynemia” czyli dominacja we krwi izoformy hormonu o masie cząsteczkowej powyżej 100 kDa, wprowadziła w 1985 roku Jackson [10]. Dalsze badania z wykorzystaniem specjalistycznych metod analitycznych takich jak chromatografia powinowactwa i elektroforeza na żelu poliakrylamidowym wykazały, że wielkocząsteczkowa postać hormonu składa się z immunoglobuliny i podstawowej monomerycznej cząsteczki PRL [11]. W tym samym roku zespół Hattori’ego wykrył u osób z hiperprolaktynemią przeciwciała przeciw PRL, które należały do immunoglobulin typu kappa, a wśród nich dominował typ IgG4 [12]. Występowanie typowej reakcji immunologicznej antygen-przeciwciała u osób z makroprolaktynemią



Ryc. 1. Różne formy prolaktyny krążące we krwi człowieka

zostało także udowodnione w badaniach z wykorzystaniem PRL znakowanej izotopem jodu (PRL- I^{125})[13]. Następne prace potwierdziły, że makroprolaktyna rzeczywiście zbudowana jest z immunoglobuliny klasy G połączonej wiązaniem niekowalencyjnym z cząsteczką monomerycznej PRL o masie 23 kDa [14, 15].

W literaturze dla postaci hormonu powyżej 100 kDa terminy „big-big-prolaktyna” i „makroprolaktyna” używane są zazwyczaj wymiennie. Jednakże niektórzy badacze uważają, że MaPRL jest kompleksem monomerycznej PRL związanej z IgG, natomiast termin „big-big-prolaktyna” dotyczy innych, rzadziej występujących form hormonu, takich jak: postać polimeryczna czyli liczne cząsteczki hormonu połączone wiązaniami kowalencyjnymi lub niekowalencyjnymi, kompleksy PRL o różnym stopniu glikozylacji, a także PRL połączona z innym białkiem nie będącym immunoglobuliną typu G (np. z receptorem prolaktynowym) [4, 6, 14, 16]. Chociaż badania za pomocą chromatografii żelowej i elektroforezy udowodniły, że dominującym białkiem wiążącym PRL jest IgG to wykazano, że monomeryczna postać hormonu może tworzyć kompleksy także z immunoglobuliną typu A [17, 18]. Kolejne badania u osób z MaPRL wykazały obecność kompleksów PRL-IgA i PRL-IgM, co potwierdziło różnorodność immunoglobulin wiążących PRL [19]. Nie każda jednak postać PRL powyżej 100 kDa stanowi połączenie hormonu z immunoglobuliną. Udowodniono, że część konglomeratów PRL (o masie sięgającej nawet 669 kDa) zbudowana jest z glikozylowanych form hormonu [20]. Podobne obserwacje przedstawia praca Hattori'ego opisująca przypadek kobiety ciężarnej, u której w surowicy krwi stwierdzono obecność wielko-cząsteczkowej PRL, a nie wykryto przeciwciał przeciwko PRL. Wykazano, że znaczna ilość hormonu została zaadsorbowana na kolumnie z konkawaliną A, która posiada powinowactwo do białek glikozylowanych [7].

W wielu ośrodkach prowadzono badania mające na celu ustalenie, gdzie powstaje makroprolaktyna. Początkowo przypuszczano, że miejscem syntezy jest przysadka, bowiem w homogenacie tkankowym tego gruczołu wykryto obecność MaPRL [8]. Jednakże wyniki kolejnych badań nie potwierdziły jej przysadkowego pochodzenia [21]. Obecnie uważa się, że kompleksy PRL-IgG

powstają we krwi obwodowej. Nadal jednak nie w pełni wyjaśniono przyczynę tworzenia się przeciwciał anti-PRL i łączenia się ich z cząsteczką hormonu. Próbę wytłumaczenia tego zjawiska podjął prowadzący badania w Japonii, zespół Hattori'ego. Wykazał on, że wytwarzana w przysadce PRL posiada ufosforylowaną resztę serynową, ulegającą odłączeniu podczas wydzielania hormonu do krwi obwodowej. Nasunęło to przypuszczenie, że to właśnie zmodyfikowane formy PRL - na przykład na skutek braku defosforylacji, mogą wywoływać odpowiedź immunologiczną i tworzenie się we krwi specyficznych przeciwciał [22]. W kolejnych badaniach tego zespołu udowodniono, że podanie szczurom homologicznej lub heterogenicznej ufosforylowanej PRL przysadkowej prowadzi do wytwarzania przeciwciał anti-PRL i powstawania kompleksów hormonu o masie powyżej 150 kDa [23]. Wykazano ponadto, że zwierzęta które wytworzyły przeciwciała anti-PRL posiadają wyższe stężenia PRL w surowicy w porównaniu z grupą kontrolną. Biorąc pod uwagę, że podwyższone stężenia hormonu i przeciwciał przeciwko PRL utrzymuje się we krwi przez 5 tygodni wysnuto wniosek, że kompleks PRL-IgG ma dłuższy okres półtrwania niż monomeryczna PRL, której czas połowicznego rozpadu wynosi około 20 minut. Duży rozmiar cząsteczki MaPRL prawdopodobnie utrudnia transport kompleksu w naczyniach włosowatych i proces jego filtracji w kłębuszkach nerkowych, co powoduje obniżenie wydalania hormonu z organizmu człowieka i wydłuża czas półtrwania MaPRL we krwi [7, 23].

Makroprolaktyna a hiperprolaktynemia

Uważa się, że u osób z prawidłowym stężeniem PRL we krwi MaPRL nie przekracza 1% całkowitej ilości hormonu. W sytuacji, gdy staje się ona formą dominującą tzn. wynosi więcej niż 60% wszystkich postaci PRL, mówimy o klinicznie znaczącej makroprolaktynemii [24-26]. Na podstawie badań prowadzonych w wielu ośrodkach na świecie stwierdzono, że znacząca makroprolaktynemia u osób z hiperprolaktynemią stanowi od 3 do 53 procent (Tabela 1). Według badań prowadzonych w naszym kraju częstość występo-

wania MaPRL nie przekracza 25% [29]. Makroprolaktyna jest obecna u osób z zaburzeniami czynnościowymi wydzielania PRL, a także w stanach hiperprolaktynemii fizjologicznej np. u kobiet ciężarnych, jak również wykrywana jest u chorych z gruczolakami przysadki [25, 27-29]. Najczęściej jednakże makroprolaktynię podejrzewamy u kobiet, u których mimo podwyższonych wartości PRL stwierdzanych w badaniach laboratoryjnych nie obserwujemy charakterystycznych dla hiperprolaktynemii objawów takich jak: zaburzenia miesiączkowania czy wtórny brak miesiączki, zaburzenia owulacji i bezpłodność oraz mlekotok. Szacuje się, że takie sytuacje kliniczne stanowią około 20% wszystkich przypadków podwyższonego stężenia hormonu we krwi [3]. Brak objawów klinicznych w przypadkach hiperprolaktynemii uwarunkowanej makroprolaktynią może być spowodowany różnymi czynnikami. Pierwszy z nich to obniżona aktywność biologiczna MaPRL [10, 44]. Andersen, a następnie Leite [45, 11] podali inne wyjaśnienie tego zjawiska. Uważają, że duży rozmiar cząsteczki MaPRL utrudnia jej transport przez naczynia włosowate, a tym samym hamuje dotarcie kompleksu do specyficznego receptora tkankowego. Zespół Hattori'ego [7] prowadząc badania w warunkach *in vitro* początkowo uznał, że PRL związana z immunoglobuliną posiada aktywność biologiczną podobną do monomerycznej postaci hormonu. Jednakże w kolejnych pracach wykazano, że immunoglobuliny G wiążą się z epitopami PRL położonymi blisko miejsc warunkujących łączenie się hormonu z receptorem prolaktynowym. W związku z tym blokują jego wiązanie z białkiem receptorowym prowadząc do zmniejszenia, a nawet pozbawienia MaPRL aktywności biologicznej [36, 46].

Tab. 1. Częstość występowania makroprolaktyny w różnych populacjach.

Piśmiennictwo	Rodzaj badanej populacji	Liczba badanych	Częstość występowania MaPRL	Metoda wykrywania MaPRL	Rodzaj zestawu diagnostycznego
Hattori i wsp. [27] Japonia	kobiety w ciąży (III trymestr)	105	2,9% - 3 osoby	PEG, GFC, PG	Dinabot
Fahie-Wilson i wsp. [28] Wielka Brytania	osoby ze stężeniem PRL > 700 mU/L	69	25% - 17 osób	GFC	DELFLIA Immuno 1 ACS 180
Olukoga i wsp. [25] Wielka Brytania	osoby ze stężeniem PRL > 430 mU/L (zakres normy: 460–17 600)	188 (175 K i 13 M)	15,5 % - 29 osób (27 K i 2 M)	PEG, GFC	DELFLIA
Jeske i wsp. [29] Polska	osoby z HPRL stężenie PRL > 50 ng/mL	156 (60 – HPRL idiopatyczna 70 osób z <i>prolactinoma</i> 26 kobiet w ciąży)	25% - 15 osób z HPRL idiopatyczną 4% - 3 osoby z <i>prolactinoma</i> 9% - 2 kobiety w ciąży	PEG, GFC, PG	Immunotech Axsym
Leslie i wsp. [26] Wielka Brytania	osoby ze stężeniem PRL > 700 mU/L	1225	26% - 322 osoby	PEG	DELFLIA
Sanchez-Eixerés i wsp. [30] Hiszpania	osoby ze stężeniem PRL > 1636 mIU/L	211	9% - 19 osób (17 K i 2 M)	PEG, GFC	Elecsys 2010 Roche, ACS Centaur
Hauache i wsp. [31] Brazylia	osoby z HPRL stężenie PRL > 30 ng/mL	113 (104 K i 9 M)	46 % - 52 osoby	PEG, GFC	DELFLIA
Sapin i wsp. [32] Francja	mężczyźni z HPRL stężenie PRL > 434 mIU/L	34	53 % - 18 osób	PEG	Elecsys 2010 Advia Centaur
Valette-Kasic i wsp. [33] Francja	osoby z HPRL	386	29% - 106 osób (96 K, 6 M, 4 D)	GFC	Immunotech

Tab. 1. Ciąg dalszy.

Piśmiennictwo	Rodzaj badanej populacji	Liczba badanych	Częstość występowania MaPRL	Metoda wykrywania MaPRL	Rodzaj zestawu diagnostycznego
Smith i wsp. [34] Wielka Brytania	osoby z HPRL (stężenie PRL > 700 mU/L)	300	24% - 71 osób	PEG	Architect, AxSYM, Immuno-1, ACS 180, Centaur, Access, Immulite 2000, Elecsy Delfia
Ellis i wsp. [35] Nowa Zelandia	osoby z HPRL	1020	3,9%	PEG, GFC	Access
Hattori i wsp. [36] Japonia	osoby z HPRL	159 (147 K i 12M)	11% - 18 osób	PEG	bd
Alfonso i wsp. [37] USA	osoby z HPRL	40	45% - 18 osób (9K i 9M)	bd	bd
Vilar i wsp. [38] Brazylia	osoby z HPRL	115	16,5 % - 19 osób	PEG	metoda chemiluminescencyjna
Vilar i wsp. [39] Brazylia	osoby z HPRL	1234	9,3 % - 114 osób	bd	bd
Hattori i wsp. [40] Japonia	pracownicy szpitala	1330 (1010K i 320 M)	3,68% - 49 osób	PEG	metoda immunoenzymatyczna
Don-Wauchope i wsp. [41] Płd Afryka	pacjenci hospitalizowani	172	28% - 48 osób	PEG	Bayer Advia Centaur
Jassam i wsp. [42] Wielka Brytania	osoby z HPRL	409	4% - 16 osób	PEG	Advia Centaur
McCudden i wsp. [43] USA	kobiety z HPRL stężenie PRL > 19 ng/mL	120	17% - 20 osób	PEG, GFC	Vitros Eci

HPRL – hiperprolaktynemia; K – kobieta; M – mężczyzna; PEG – metoda precypitacji z glikolem polietylenowym; GFC – filtracyjna chromatografia żelowa; PG – immuno-precypitacja z białkiem G; bd - brak danych

Udowodniono, że kompleks PRL-IgG nie hamuje w sprzężeniu zwrotnie ujemnym, tak jak monomeryczna postać PRL, wydzielania hormonu z przysadki. Prowadzi to do uwalniania z gruczołu dużych ilości monomerycznej PRL, które są wychwytywane przez obecne w surowicy autoprzeciwciała typu IgG aż do momentu związania wszystkich immunoglobulin. Dochodzi wówczas do wzrostu ilości MaPRL we krwi i wystąpienia makroprolaktynemii, co prowadzi do rozpoznania hiperprolaktynemii, której najczęściej nie towarzyszą typowe objawy kliniczne. W literaturze opisano jednakże przypadki podwyższonego stężenia PRL we krwi wywołanego obecnością MaPRL, w których okresowo występowały klasyczne objawy hiperprolaktynemii. Przyczyną tego zjawiska prawdopodobnie jest wykazana w warunkach eksperymentalnych dysocjacja kompleksu PRL-IgG uwalniająca aktywną biologicznie formę hormonu [7, 46, 47].

Metody wykrywania makroprolaktyny

Do określenia stężenia PRL we krwi wykorzystuje się różne immunotesty. Problemem jest to, że większość dostępnych na rynku krajowym i zagranicznym zestawów do oznaczania PRL, nie odróżnia monomerycznej formy hormonu od MaPRL. Powoduje to znaczne różnice (od 2 do 8 razy) w wartościach hormonu uzyskiwanych za pomocą różnych systemów pomiarowych [6, 34, 48-52]. Wieloletnie badania prowadzone w ramach brytyjskiego programu międzylaboratoryjnej kontroli jakości UK NEQAS (*United Kingdom national External Quality Assesment Scheme*) wykazały, że najwyższe stężenia PRL otrzymuje się zestawami diagnostycznymi Elecsys Roche i DELFIA Wallac, a najniższe, tzn. najbardziej zbliżone do rzeczywistych stężeń monomerycznej PRL, uzyskuje się systemami pomiarowymi Access Beckman lub firmy Bayer - Centaur i ACS:180 [34].

Niedoskonałość zestawów analitycznych stosowanych do oznaczania PRL stworzyła potrzebę opracowania dodatkowych metod wykrywania wielko-cząsteczkowych form hormonu.

Należą do nich :

- metoda filtracyjnej chromatografii żelowej (*gel filtration chromatography*-GFC)
- metoda precypitacji 25% glikolem polietylenowym (PEG)
- metoda ultrafiltracji (UF)
- metoda immunoadsorpcji/immunoprecypitacji z wykorzystaniem immobilizowanych białek A lub G (PA, PG) oraz przeciwciał przeciw IgG.

Techniką laboratoryjną uważaną obecnie za tzw. „złoty standard” w identyfikacji MaPRL jest filtracyjna chromatografia żelowa. Metoda ta, za pomocą kolumn chromatograficznych wypełnionych specyficznym żelem separacyjnym, pozwala rozdzielić cząsteczki hormonu w zależności od ich wielkości. W pierwszej kolejności odseparowaniu ulegają konglomeraty MaPRL, następnie cząsteczki tzw. big-PRL, a na końcu postać hormonu o najmniejszej masie cząsteczkowej czyli monomeryczna PRL [6]. Zaletą GFC jest to, że jednocześnie dokonuje ilościowej oceny wszystkich trzech frakcji hormonu [53]. Niestety ze względu na wysoki koszt i czasochłonność, GFC nie może być rutynowo wykorzystywana do oznaczania MaPRL w laboratoriach analitycznych [6, 54].

Obecnie do wykrywania kompleksów PRL najczęściej stosuje się metodę precypitacji z 25% roztworem glikolu polietylenowego (PEG). W wyniku inkubacji surowicy krwi z PEG-iem wytrąceniu ulegają wielkocząsteczkowe białka, w tym także obecne we krwi konglomeraty PRL. W powstałym po odwirowaniu nadsączu oznacza się stężenie monomerycznej postaci hormonu i wylicza się tzw. procent odzysku PRL według następującego wzoru [16]:

$$\% \text{ odzysku PRL} = \frac{PRL + PEG [ng / mL]}{PRL [ng / mL]} \cdot 100 \%$$

Najczęściej przyjmuje się, że odzysk wolnej PRL mniejszy niż 40% świadczy o dominacji MaPRL, a większy od 60% wskazuje, że we krwi przeważa monomeryczna postać hormonu [16, 25, 55]. W literaturze dotyczącej tego tematu proponowane są także inne wartości graniczne. Vieira i wsp. [56] przyjęli, że odzysk PRL poniżej 30% wskazuje na przewagę MaPRL, a wartości powyżej 65% świadczą o niewielkiej ilości wielkocząsteczkowych postaci hormonu. Ponadto autorzy tej pracy uważają, że odzysk PRL w przedziale od 30 do 65 procent wymaga weryfikacji za pomocą chromatografii żelowej. Natomiast Rivero zakłada, że odzysk PRL mniejszy niż 54% wskazuje na dominację MaPRL, a powyżej 76% na jej znikomą ilość [57]. Precypitacja z wykorzystaniem PEG-u nie jest ilościową, ani specyficzną techniką dla wykrywania MaPRL, ale ze względu na łatwość wykonania i jej niski koszt (ponad 25 razy tańsza od GFC) jest obecnie najczęściej stosowaną metodą w diagnostyce laboratoryjnej [6, 25, 26, 58, 59].

Chociaż w pracach omawiające różne sposoby detekcji wielkocząsteczkowych form hormonu, wyniki oznaczeń PRL metodą precypitacji wykazywały największą zgodność z oznaczeniami hormonu metodą GFC [59, 60], to należy pamiętać, że w pewnych sytuacjach klinicznych metoda z wykorzystaniem PEG-u może dawać wyniki fałszywie dodatnie. Najczęściej występuje to w stanach chorobowych przebiegających z podwyższonym stężeniem immunoglobulin w surowicy np. u chorych ze szpiczakiem wydzielającym IgG lub osób zakażonych wirusem HIV [61]. Nadmiar immunoglobulin powoduje wówczas nasilenie precypitacji monomerycznej formy hormonu, co prowadzi do błędnego rozpoznania makroprolaktynemii. Glikol polietylenowy może także interferować z odczynnikami zawartymi w systemach analitycznych [52, 57] i z tego powodu oznaczanie PRL w surowicach traktowanych wcześniej PEG-iem nie jest zalecana przez producentów niektórych zestawów pomiarowych [28].

W różnych laboratoriach badawczych prowadzone są, poza metodą chromatografii żelowej i metodą precypitacji, próby wykrywania MaPRL za

pomocą innych technik takich jak ultrafiltracja i immunoprecypitacja z wykorzystaniem immobilizowanych białek lub przeciwciał anti-IgG [53, 59, 62].

Metodę ultrafiltracji do izolacji MaPRL zastosował po raz pierwszy w 2000 roku Craddock [63]. Technika ta polega na wyizolowaniu za pomocą specjalnej membrany filtracyjnej wielkocząsteczkowych form PRL. Wykazano, że cząsteczki hormonu o masie do 45 kDa przechodzą swobodnie przez pory membrany, kompleksy powyżej 67 kDa przechodzą w 65%, a konglomeraty o masie większej niż 100 kDa są całkowicie zatrzymywane [53]. W literaturze opisano kilka wariantów tej metody różniących się niektórymi parametrami technicznymi takimi jak prędkość lub czas wirowania surowicy krwi (Tabela 2) [53, 59, 64, 65]. Niewątpliwą zaletą ultrafiltracji w porównaniu z precypitacją z użyciem PEG-u jest to, że technika ta nie wymaga stosowania dodatkowych substancji, które mogą interferować z odczynnikami zawartymi w zestawach pomiarowych do oznaczeń PRL. Ponadto metoda ultrafiltracji, podobnie jak technika precypitacji, jest tania i prosta w wykonaniu [53, 54, 64]. Uważa się, że ultrafiltracja jest szczególnie przydatna do badania krwi, w której dominuje MaPRL, natomiast w przypadku występowania niewielkiej ilości wielkocząsteczkowej formy hormonu metoda ta może dawać wyniki fałszywie dodatnie (pozorna makroprolaktynemia) [53, 59, 64]. Zespół Landberg'a przeprowadził porównanie wyników uzyskanych metodą ultrafiltracji i precypitacji za pomocą PEG-u. Wykazał, że w przypadku surowic zawierających znaczne ilości MaPRL między wartościami otrzymanymi badanymi technikami występuje silna korelacja dodatnia, a w przypadku surowic ze śladowym stężeniem MaPRL, wartości odzysku PRL w precypitacji PEG-iem były wyższe niż z wykorzystaniem ultrafiltracji. Stwierdzono, że 40% odzysk monomerycznej PRL otrzymany metodą precypitacji PEG-iem odpowiada wynikowi równemu 27% w metodzie ultrafiltracji [65]. Natomiast odmienne wyniki uzyskali w swoich badaniach Kanavagh i wsp. [60]. Porównując wyniki uzyskane metodą chromatografii żelowej z wartościami MaPRL otrzymanymi za pomocą precypitacji z PEG-iem, immunoprecypitacji i ultrafiltracji stwierdzono, że współczynnik korelacji dla ultrafiltracji jest najniższy i wynosi jedynie 0,61.

Według powyższych autorów niską wartość diagnostyczną ultrafiltracji jako metody wykrywania MaPRL potwierdza także fakt, że odzysk hormonu z próbki zawierającej wyłącznie monomeryczną prolaktynę tzw. *prolactin standard* wynosi niecałe 60% [59, 60]. Należy jednak pamiętać, że wielkość odzysku PRL otrzymywanego metodą ultrafiltracji zależy od kilku czynników, do których zaliczamy między innymi rodzaje stosowanych próbek filtracyjnych i różne sposoby przygotowania materiału biologicznego do badań (Tabela 2). Do określenia rzeczywistej wartości diagnostycznej ultrafiltracji jako metody wykrywania MaPRL potrzebne są więc dalsze badania, które ustalą najbardziej optymalne parametry techniczne tej metody.

Metoda immunoadsorpcji/immunoprecypitacji z wykorzystaniem immobilizowanych białek lub przeciwciał anti-IgG jako technika wykrywająca immunoglobuliny G została opisana w 1984 roku przez Bjorck'a i Kronvall'a [66]. Technika ta umożliwia usunięcie z surowicy krwi immunoglobulin typu G eliminując jednocześnie kompleksy makroprolaktyny. Przeprowadzone przez Schietecatte i wsp. [19, 62] badania udowodniły, że immunoprecypitacja z wykorzystaniem różnych białek powoduje jedynie w niewielkim stopniu niespecyficzne wytrącanie monomerycznej PRL (niespecyficzna precypitacja przy zastosowaniu PEG-u wynosi około 15%), a ponadto nie dochodzi tak jak ma to miejsce przy stosowaniu PEG-u do reakcji ze składnikami zestawów analitycznych do oznaczania PRL.

Stwierdzono, że białka G stosowane do immunoprecypitacji posiadają wysokie powinowactwo do wszystkich podtypów immunoglobulin G, natomiast białka A głównie do podtypów IgG1, IgG2 i IgG4 i z tego powodu mogą nie wykrywać cząsteczek MaPRL zawierających immunoglobuliny G typu 3 [59, 65]. Jednakże kolejne prace wykazały, że zarówno białka A jak i G oraz przeciwciała przeciw IgG jedynie częściowo adsorbują wielkocząsteczkową PRL, co powoduje otrzymywanie zawyżonych stężeń monomerycznej PRL (wyniki fałszywie ujemne względem MaPRL) [59].

Tabela 2. Wykrywanie makroprolaktyny metodą ultrafiltracji – różne warianty techniczne

Piśmiennictwo	Typ probówki filtracyjnej	Przygotowanie materiału	Parametry wirowania (prędkość, czas, temperatura)	Sposób obliczeń	Ocena wyników - punkt odjęcia
Przeres i wsp. [53]	Centricon - 100	1 mL surowicy; płukanie membrany wodą destylowaną	450 g 5h / 15°C	pomiar stężenia PRL we frakcji retentatu i filtratu odzysk PRL = (uPRL + rPRL)/total PRL	60%
Quinn i wsp. [64]	Centricon YM-100	0,3-0,4 mL surowicy	560 g 45 min / 23°C	pomiar stężenia PRL we frakcji filtratu odzysk PRL = uPRL/total PRL	70%
Landberg i wsp. [64]	Amicon Ultra-4	0,25 mL surowicy + 0,25 mL 0,9% NaCl	4000 g 20 min / bd	pomiar stężenia PRL we frakcji retentatu i filtratu odzysk PRL = (uPRL + rPRL)/total PRL	27%
Kanavagh i wsp. [59, 60]	Microcon YM-100	0,025 mL surowicy + 0,475 mL PBS	1000 g 45 min / bd	pomiar stężenia PRL we frakcji filtratu	porównanie UF z GFC, PEG, PA, PG, P -antyIgG

PBS – *phosphate-buffered saline* (zbuforowany roztwór soli fizjologicznej); g – siła wirowania (*RCF- Relative Centrifugal Force* czyli relatywna siła wirowania; bd – brak danych; UF – ultrafiltracja; GFC – chromatografia żelowa; PEG – precypitacja PEG-iem; PA – immunoprecypitacja z białkiem A; PG - immunoprecypitacja z białkiem G; P - antyIgG - immunoprecypitacja z przeciwciałem przeciw IgG

Znaczenie kliniczne makroprolaktyny

Przyjmując, jak to udokumentowano w wielu publikacjach, że MaPRL nie wykazuje aktywności biologicznej lub jej oddziaływanie na tkanki jest znikome, powstaje pytanie czy uzasadnione jest oznaczanie MaPRL w rutynowej diagnostyce hiperprolaktynemii. Wiadomo, że prawie wszystkie immunotesty do oznaczania PRL nie rozróżniają monomerycznej postaci hormonu od wielko-cząsteczkowych form i w mniejszym lub większym stopniu reagują z MaPRL powodując uzyskiwanie zawyżonych wartości aktywnej biologicznie postaci hormonu. Prowadzi to często do błędnego rozpoznania hiperprolaktynemii i wdrożenia złożonego, czasochłonnego oraz kosztownego algorytmu diagnostycznego, a w niektórych przypadkach także niepotrzebnego leczenia. Wykazano, że u 70-80% osób, u których przyczyną podwyższonego stężenia PRL jest MaPRL wykonywane są zbędne w tych przypadkach, bardzo kosztowne badania obrazowe (rezonans magnetyczny, tomografia komputerowa), a u ponad 80% pacjentów podejmowane jest leczenie farmakologiczne agonistami dopaminy [54, 58, 67]. W literaturze opisano także przypadki chorych poddanych operacji neurochirurgicznej usunięcia gruczolaka przysadki, bowiem za przyczynę występującej u nich hiperprolaktynemii uznano guz o typie *prolactinoma*, a leczenie farmakologiczne nie powodowało obniżenia stężenia PRL we krwi [25, 68]. W przeprowadzonym po zabiegu chirurgicznym badaniu histopatologicznym, zmiana w przysadce okazała się guzem hormonalnie nieczynnym, a rzeczywistą przyczyną wzrostu stężenia hormonu we krwi była wykryta dopiero po zabiegu MaPRL [25, 68]. W populacji osób zdrowych kompleksy MaPRL identyfikowane są bardzo rzadko. Wśród ponad 600 objętych badaniem zdrowych Skandynawów, tylko u jednej osoby wykryto dominujące ilości MaPRL we krwi [69]. Analogiczne badanie przeprowadzone w Japonii ujawniło tzw. „big-prolaktynemię” u 10 spośród ponad 10 tysięcy zbadanych osób [70]. Dane literaturowe wykazują, że MaPRL wykrywana jest częściej u pacjentów z typowymi objawami hiperprolaktynemii, bowiem ta grupa chorych poddawana jest szczególnej diagnostyce różnicowej [11, 50].

Wśród osób z hiperprolaktynemią przeważają kobiety i dlatego też u nich zdecydowanie częściej (16-krotnie niż u mężczyzn) stwierdzana jest makroprolaktynemia [31, 36, 40, 71]. U kobiet w ciąży, u których w sposób fizjologiczny dochodzi do wzrostu stężenia PRL we krwi, MaPRL dominuje przede wszystkim w I trymestrze i stanowi 90% wszystkich postaci hormonu, podczas gdy w III trymestrze jej stężenie relatywnie obniża się i wynosi wówczas około 60% immunoreaktywnej PRL [7]. W piśmiennictwie opisano przypadki występowania MaPRL również u dzieci [33, 72]. Makroprolaktynemię podejrzewamy najczęściej u osób, u których wysokie wartości PRL we krwi nie wywołują klasycznych objawów hiperprolaktynemii takich jak zaburzenia miesiączkowania, niepłodność, impotencja czy mlekoktok [6]. Brak klinicznych symptomów podwyższonego stężenia PRL nie powinien być jedynym kryterium wskazującym konieczność oznaczenia MaPRL. Wykazano bowiem, że u kobiet, u których dominuje we krwi MaPRL występują zaburzenia owulacji lub wtórny brak miesiączki wywołane innymi niż podwyższone stężenie PRL, czynnikami (odchudzanie, intensywny wysiłek fizyczny czy zespół policystycznych jajników) [25, 67]. Kompleksy PRL z immunoglobuliną G są zazwyczaj stwierdzane u chorych z czynnościowymi zaburzeniami wydzielania hormonu, ale sporadycznie występują również u osób z gruczolakami przysadki o typie *prolactinoma* (mniej niż 2%) [3, 69]. W świetle powyższych danych oznaczanie MaPRL we krwi jest ważnym elementem składowym właściwego procesu diagnostycznego u osób z hiperprolaktynemią i według badaczy zajmujących się tym zagadnieniem ustalenie ilości wielkocząsteczkowych form PRL jest wskazane u wszystkich pacjentów z podwyższonym stężeniem hormonu [59, 73]. W ostatnich pięciu latach w literaturze przedmiotu ukazały się zalecenia dotyczące oznaczania MaPRL w rutynowym postępowaniu diagnostycznym hiperprolaktynemii rekomendowane zarówno przez polskie jak i zagranicznych ośrodki medyczne [2, 6, 50, 74]. Większość ośrodków, spośród wszystkich dostępnych metod badawczych, uważa metodę precipitacji PEG-iem za najlepszą technikę służącą do rutynowego wykrywania MaPRL. Do chwili obecnej nie ustalono jednakże

jednolitych zasad przeprowadzania testu i interpretacji otrzymanych wyników. Fahie-Wilson postuluje, aby w pierwszej kolejności badać czy w danej próbce krwi występuje MaPRL, a następnie określać w jakim stosunku pozostaje ona z aktywną biologicznie monomeryczną PRL [54]. Ponadto uważa się, że dla oceny klinicznej nie jest najistotniejsza procentowa zawartość MaPRL we krwi, ale rzeczywiste stężenie monomerycznej PRL, które w pewnych przypadkach, mimo dominacji wielkocząsteczkowej formy hormonu może przekraczać górną granicę normy [67]. Suliman i wsp. [1] twierdzą, iż korzystnym rozwiązaniem byłoby poddanie surowic z prawidłowym stężeniem PRL procesowi precypitacji z PEG-iem, a następnie oznaczenie stężenie PRL w supernatancie i ustalenie nowego zakresu wartości referencyjnych dla tego hormonu. Zdaniem autorów tej pracy postępowanie takie ułatwiłoby wyselekcjonowanie grupy pacjentów, u których hiperprolaktynemia uwarunkowana jest jedynie obecnością we krwi MaPRL.

Podsumowując można stwierdzić, że wykrycie makroprolaktyny we krwi człowieka w sposób zasadniczy zmieniło podejście diagnostów laboratoryjnych i klinicystów do zagadnienia hiperprolaktynemii. Można przypuszczać, że wiele zdiagnozowanych w przeszłości przypadków tzw. „hiperprolaktynemii idiopatycznej” stanowiły osoby z nierozpoznaną makroprolaktynią. Niedoskonałość testów do oznaczeń PRL wymaga wprowadzenia do rutynowej diagnostyki laboratoryjnej badania określającego we krwi zawartość makroprolaktyny, a spośród wszystkich dostępnych technik, precypitacja z glikolem polietylenowym wydaje się obecnie najbardziej przydatna. Jednakże w celu ekonomizacji procedur diagnostycznych powinny zostać przeprowadzone randomizowane badania, które ustaliłyby kryteria kliniczne uzasadniające oznaczanie we krwi makroprolaktyny.

PIŚMIENNICTWO

1. Suliman AM, Smith TP, Gibney J, McKenna TJ. Frequent misdiagnosis and mismanagement of hyperprolactinemic patients before the introduction of macroprolactin screening: application of a new strict laboratory definition of macroprolactinemia. *Clin Chem*. 2003; 49: 1504-1509.
2. Zgliczyński W, Zdunowski P. Hiperprolactinaemia – pitfalls in PRL assessment. *Pol J Endocrinol*. 2005; 6: 980-985.
3. Jeske W. Przyczyny rozbieżności wyników oznaczeń prolaktyny i powody prawdziwej albo pozornej niezgodności ze stanem klinicznym. *Endokrynol Pol*. 2008; 59: 30-32.
4. Freeman M, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G. Prolactin: structure, function and regulation of secretion. *Physiol Rev*. 2000; 80: 1523-1631.
5. Karasek M, Pawlikowski M, Lewiński A. Hyperprolactinemia: causes, diagnosis, and treatment. *Pol J Endocrinol*. 2006; 6: 656-662.
6. Sadideen H, Swaminathan R. Macroprolactin: what is it and what is its importance? *Int J Clin Pract*. 2006; 60: 457-461.
7. Hattori N. Macroprolactinemia: a New Cause of Hyperprolactinemia. *J Pharmacol Sci*. 2003; 92: 171-177.
8. Suh HK, Frantz AG. Size heterogeneity of human prolactin in plasma and pituitary extracts. *J Clin Endocrinol Metab*. 1974; 39: 928-935.
9. Whittaker PG, Wilcox T, Lind T. Maintained fertility in a patient with hyperprolactinemia due to big, big prolactin. *J Clin Endocrinol Metab*. 1981; 53: 863-866.
10. Jackson RD, Wortsman J, Malarkey WB. Macroprolactinemia presenting like a pituitary tumor. *Am J Med*. 1985; 78: 346-350.
11. Leite V, Cosby H, Sobrihno LG i wsp. Characterization of big, big prolactin in patients with hyperprolactinaemia. *Clin Endocrinol*. 1992; 37: 365-372.
12. Hattori N, Ishihara T, Ikekubo K i wsp. Autoantibody to human prolactin in patients with idiopathic hyperprolactinemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992; 75: 1226-1229.
13. Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T i wsp. A normal ovulatory woman with hyperprolactinemia: presence of anti-prolactin autoantibody and the regulation of prolactin secretion. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1992; 12: 497-500.
14. Cavaco B, Leite V, Amparo Santos M i wsp. Some forms of big big prolactin behave as a complex of monomeric prolactin with an immunoglobulin G in patients

- with macroprolactinemia or prolactinoma. *Clin Endocrinol Metab.* 1995; 80: 2342-2346.
15. 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: 3107-3110.
 16. Bartoszewicz Z. Makroprolaktynemia – hiperprolaktynemia charakteryzująca się obecnością wysokocząsteczkowej makroprolaktyny. *LabForum* <http://www.rochediagnostics.pl/content/archiwum/labforum/pdf/labforum14.pdf>.
 17. Mel'nichenko GA, Goncharov NP, Dzeranova LK, Barmina II. Clinical and laboratory aspects of the phenomenon of macroprolactinemia. *Vestn Ross Akad Med Nauk.* 2007; 3: 52-54.
 18. Bernadotte F, Mattsson R. A fraction of murine placental extract enhances IgA production in cultured splenocytes. *J Reprod Immunol.* 1992; 21: 189-202.
 19. Schiettecatte J, Van Opdenbosch A, Anckaert E i wsp. Immunoprecipitation for rapid detection of macroprolactin in the form of prolactin-immunoglobulin complexes. *Clin Chem.* 2005; 51: 1746-1748.
 20. Carlson HE, Markoff E, Lee DW. On the nature of serum prolactin in two patients with macroprolactinemia. *Fertil Steril.* 1992; 58: 78-87.
 21. Ahlquist JA, Fahie-Wilson MN. On the origin and distribution of macroprolactin. *J Endocrinol.* 2000; 164: P34.
 22. Hattori N, Ikekubo K, Nakaya Y i wsp. Immunoglobulin G subclasses and prolactin (PRL) isoforms in macroprolactinemia due to anti-PRL autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 3036–3044.
 23. Hattori N, Nakayama Y, Kitagawa K i wsp. Development of anti-PRL (prolactin) autoantibodies by homologous PRL in rats: A model for macroprolactinemia. *Endocrinology* 2007; 148: 2465–2470.
 24. Smith CR, Norman MR. Prolactin and growth hormone: molecular heterogeneity and measurement in serum. *Ann Clin Biochem.* 1990; 27: 542-550.
 25. Olukoga AO, Kane JW. Macroprolactinaemia: validation and application of the polyethylene glycol precipitation test and clinical characterization of the condition. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1999; 51: 119-126.
 26. Leslie H, Courtney CH, Bell PM i wsp. Laboratory and clinical experience in 55 patients with macroprolactinemia identified by a simple polyethylene glycol precipitation method. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 2743–2746.

27. Hattori N. The frequency of macroprolactinemia in pregnant women and the heterogeneity of its etiologies. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 586-590.
28. Fahie-Wilson MN, Soule SG. Macroprolactinaemia: contribution to hyperprolactinaemia in a district general hospital and evaluation of a screening test based on precipitation with polyethylene glycol. *Ann Clin Biochem.* 1997 ;34: 252-258.
29. Jeske W, Zdunowski P, Bartoszewicz Z i wsp. Large molecular weight prolactin in patients with hyperprolactinaemia. *Endokrynol Pol.* 2000; 51: 237-248.
30. Sanchez-Eixerés MR, Mauri M, Alfayate R i wsp. Prevalence of macroprolactin detected by Elecsys® 2010. *Horm Res.* 2001; 56: 87-92.
31. Hauache OM, Rocha AJ, Maia Jr ACM i wsp. Screening for macroprolactinaemia and pituitary imaging studies. *Clin Endocrinol.* 2002; 57: 327-331.
32. Sapin R, Gasser F, Grucker D. Free prolactin determinations in hyperprolactinemic men with suspicion of macroprolactinemia. *Clin Chim Acta* 2002;316: 33-41.
33. Vallette-Kasic S, Morange-Ramos I, Selim A i wsp. Macroprolactinemia revisited: a study on 106 patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 581-588.
34. 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: 5410–5415.
35. Ellis MJ, Livesey JH, Soule SG. Macroprolactin, big-prolactin and potential effects on the misdiagnosis of hyperprolactinemia using the Beckman Coulter Access Prolactin assay. *Clin Biochem.* 2006; 39: 1028–1034.
36. Hattori N, Nakayama Y, Kitagawa K i wsp. Anti-prolactin (PRL) autoantibody-binding sites (epitopes) on PRL molecule in macroprolactinemia. *J Endocrinol.* 2006; 190: 287–293.
37. Alfonso A, Rieniets KI, Vigersky RA. Incidence and clinical significance of elevated macroprolactin levels in patients with hyperprolactinemia. *Endocr Pract.* 2006; 12: 275-280.
38. Vilar L, Moura E, Canadas V i wsp. Prevalence of macroprolactinemia among 115 patients with hyperprolactinemia. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007; 51: 86-91.
39. Vilar L, Freitas MC, Naves LA i wsp. Diagnosis and management of hyperprolactinemia: results of a Brazilian multicenter study with 1234 patients. *J Endocrinol Invest.* 2008; 31: 436-444.
40. Hattori N, Ishihara T, Saiki Y. Macroprolactinaemia: prevalence and aetiologies in a large group of hospital workers. *Clin Endocrinol.* 2009; 71: 702–708.

41. Don-Wauchope AC, Hoffmann M, le Riche M, Ascott-Evans BH. review of the prevalence of macroprolactinaemia in a South African hospital. *Clin Chem Lab Med.* 2009; 47: 882-884.
42. Jassam NF, Paterson A, Lippiatt C, Barth JH. Macroprolactin on the Advia Centaur: experience with 409 patients over a three-year period. *Ann Clin Biochem.* 2009; 46: 501-504.
43. McCudden CR, Sharpless JL, Grenache DG. Comparison of multiple methods for identification of hyperprolactinemia in the presence of macroprolactin. *Clin Chim Acta.* 2010; 411: 155–160.
44. Farkouh NH, Packer MG, Frantz A. Large molecular size prolactin with reduced receptor activity in human serum: high proportion in basal state and reduction after thyrotropin-releasing hormone. *J Clin Endo Metab.* 1979; 48: 1026-1032.
45. Andersen AN, Pedersen H, Djursing H i wsp. Bioactivity of prolactin in a woman with an excess of large molecular size prolactin, persistent hyperprolactinemia and spontaneous conception. *Fertil Steril.* 1982; 38: 625-628.
46. Hattori N, Nakayama Y, Kitagawa K i wsp. Anti-prolactin (PRL) autoantibodies suppress PRL bioactivity in patients with macroprolactinaemia. *Clin Endocrinol.* 2008; 68: 72–76.
47. Olukoga AO. Macroprolactin is clinically important (Letter). *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 4833-4834.
48. Cavaco B, Prazeres S, Santos MA i wsp. Hyperprolactinemia due to big big prolactin is differently detected by commercially available immunoassays. *J Endocrinol Invest.* 1999; 22: 203-208.
49. Schneider W, Marcovitz S, Al-Shammari S i wsp. Reactivity of macroprolactin in common automated immunoassays. *Clin Biochem.* 2001; 34: 469–473.
50. Fahie-Wilson MN, McKenna TJ, Ahlquist JA, Smith TP. Macroprolactin and the Pituitary Society guidelines for the diagnosis and management of prolactinomas. *Clin Endocrinol.* 2007; 67: 637–641.
51. Seth J, Sturgeon CM, Ellis AR i wsp. UK NEQAS for peptide hormones and related substances. *Annual Rev.* 1998. Edinburgh: Dept. of Clinical Biochemistry 1998: A1–A4.
52. Beltran L, Fahie-Wilson MN, McKenna TJ i wsp. 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.

53. Prazeres S, Amparo Santos M, Ferreira HG, Sobrinho LG. A practical method for the detection of macroprolactinaemia using ultrafiltration. *Clin Endocrinol.* 2003; 58: 686–690.
54. Fahie-Wilson MN, Ahlquist JA. Hyperprolactinaemia due to macroprolactins: some progress but still a problem. *Clin Endocrinol.* 2003; 58: 683–685.
55. Jeske W, Zgliczyński W, Gorzelak K. Makroprolaktyna u osób z hiperprolaktynemią: Obserwacje kliniczne i relacje pomiędzy frakcją prolaktyny wolnej i frakcją prolaktyny związanej z IgG. *Endokrynol Pol.* 2005; 5: 779-784.
56. Vieira J, Tachibana T, Obara L, Maciel R. Extensive experience and validation of polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. *Clin Chem.* 1998; 44: 1758-1759.
57. Rivero A, Alonso E, Grijalba A. Decision cut-off of the polyethylene glycol precipitation technique in screening for macroprolactinemia on Immulite 2000. *Clin Chem Lab Med.* 2004; 42: 566–568.
58. Gibney J, Smith TP, McKenna TJ. The impact on clinical practice of routine screening for macroprolactin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 90: 3927–3932.
59. Kavanagh L, McKenna TJ, Fahie-Wilson MN i wsp. Specificity and clinical utility of methods for the detection of macroprolactin. *Clin Chem.* 2006; 52: 1366–1372.
60. Kavanagh-Wright L, Smith TP, Gibney J, McKenna TJ. Characterization of macroprolactin and assessment of markers of autoimmunity in macroprolactinaemic patients. *Clin Endocrinol.* 2009; 70: 599–605.
61. Ram S, Harris B, Fernando JJ i wsp. False-positive polyethylene glycol precipitation tests for macroprolactin due to increased serum globulins. *Ann Clin Biochem.* 2008; 45: 256-259.
62. Schiettecatte J, De Schepper J, Velkeniers B i wsp. Rapid detection of macroprolactin in the form of prolactin-immunoglobulin G complexes by immunoprecipitation with anti-human IgG-agarose. *Clin Chem Lab Med.* 2001; 39: 1244-1248.
63. Craddock HS, Fahie-Wilson M, Heys AD. Macroprolactin detection by ultrafiltration screening with the Abbott AxSYM assay. In *Proceedings of Pathology 2000. Association of Clinical Biochemists National Meeting*, p. 148. The Association of Clinical Biochemists, London, U.K.
64. Quinn AM, Rubinas TC, Garbincius JC, Holmes EW. Determination of ultrafilterable prolactin elimination of macroprolactin interference with a

- monomeric prolactin-selective sample pretreatment. *Arch Pathol Lab Med.* 2006; 130: 1807–1812
65. Landberg E, Wahlberg J, Rydén I i wsp. Detection of molecular variants of prolactin in human serum, evaluation of a method based on ultrafiltration. *Clin Chim Acta.* 2007; 376: 220–225.
 66. Björck L, Kronvall G. Purification and some properties of streptococcal protein g, a novel IgG-binding reagent. *J Immunol.* 1984; 133: 969-974.
 67. McKenna J, Smith T. Hyperprolactinemia due to macroprolactin a commonly unrecognized phenomenon causing misdiagnosis and mismanagement. *The Endocrinologist* 2008;18:249–254.
 68. Cattaneo FA, Fahie-Wilson MN. Concomitant occurrence of macroprolactin, exercise-induced amenorrhea, and a pituitary lesion: a diagnostic pitfall. Case report. *J Neurosurg.* 2001; 95: 334-337.
 69. Bjørø T, Mørkrid L, Wergeland R i wsp. Frequency of hyperprolactinaemia due to large molecular weight prolactin (150-170 kD PRL). *Scand J Clin Lab Invest.* 1995; 55: 139-147.
 70. Miyai K, Ichihara K, Kondo K, Mori S. Asymptomatic hyperprolactinaemia and prolactinoma in the general population-mass screening by paired assays of serum prolactin. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1986 ; 25: 549-554.
 71. Guay AT, Sabharwal P, Varma S, MalarkeyWB. Delayed diagnosis of psychological erectile dysfunction because of the presence of macroprolactinaemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 2512–2514.
 72. Weill J, Petit S, Stuckens C i wsp. Macroprolactinemia in a child. *Arch Fr Pediatr* 1990; 47: 595-596.
 73. Schlechte JA. The macroprolactin problem. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 5408-5409.
 74. Casanueva FF, Molitch ME, Schlechte JA i wsp. Guidelines of the Pituitary Society for the diagnosis and management of prolactinomas. *Clin Endocrinol.* 2006; 65: 265–273.

MACROPROLACTIN - PREVALENCE, DIAGNOSTIC METHODS AND CLINICAL SIGNIFICANCE

Abstract

Macroprolactin (MaPRL) is a high molecular mass variant of prolactin (PRL), which usually consists of a monomeric PRL and an immunoglobulin G molecule. This form does not show any significant biological activity, however it retains immunoreactivity. Therefore, MaPRL induces increase in hormone concentration in laboratory tests, which results in many diagnostic and therapeutic mistakes. Most of immunoassays do not distinguish between monomeric PRL and MaPRL, therefore performing additional tests that could detect macroprolactin is suggested. This review presents different methods of MaPRL detection and their usefulness in standard laboratory practice. Moreover, data from the literature concerning the role of macroprolactinaemia in clinical practice are discussed.

Key words: Macroprolactin; Hiperprolactinaemia; Macroprolactinaemia; Macroprolactin detection; Gel filtration chromatography; PEG precipitation; Ultrafiltration; Immunoprecipitation.

Adres korespondencyjny: Mgr Karolina Beda
ul. Czechosłowacka 8/10, 92-216 Łódź, tel./fax 426757613