

A MACROPROLACTINEMIA Da Determinação Laboratorial ao seu Significado Clínico

Catarina MATOS, Maria Lopes PEREIRA, João Tiago GUIMARÃES

RESUMO

Desde a identificação da prolactina (PRL), hormona produzida pela hipófise anterior, que se reconhece a existência da síndrome hiperprolactinémica, cujos sintomas principais são galactorreia, oligomenorreia, amenorreia e infertilidade nas mulheres e diminuição da libido e impotência nos homens. A macroprolactinemia reflecte a circulação predominante de formas com bioactividade reduzida e, logo, pouco associadas às manifestações clínicas típicas da hiperprolactinemia. É identificada pelos métodos imunológicos mais utilizados na prática clínica, resultando em hiperprolactinemia. Dos métodos baseados numa reacção antigénio-anticorpo, o tratamento com polietilenoglicol (PEG) é o mais usado. É provável que o fenómeno da macroprolactinemia seja sistematicamente subestimado e não reconhecido. Os fabricantes de métodos imunológicos de doseamento de PRL têm sido lentos em incorporar na literatura do seu método, protocolos validados e dados relativos à interferência do PEG. De um ponto de vista clínico e bioquímico, a principal preocupação deve ser evitar investigação e tratamentos subsequentes desnecessários.

SUMMARY

MACROPROLACTINEMIA - LABORATORY DETERMINATION AND ITS CLINICAL SIGNIFICANCE

Since prolactin (PRL) (a hormone produced by the anterior pituitary) was first identified, the existence of hyperprolactinemic syndrome has been recognized. Main symptoms are galactorrhea, oligomenorrhea, amenorrhea and infertility in women and decreased libido and impotence in men. Macroprolactinemia reflects the predominance of circulating forms with reduced bioactivity not associated with typical clinical manifestations of hyperprolactinemia. It is identified by immunoassays commonly used in clinical practice, resulting in hyperprolactinemia. Polyethyleneglycol (PEG) is the most used method that removes PRL from serum. It is likely that the phenomenon of macroprolactinemia is consistently underestimated and unrecognized. Manufacturers of immunoassays for PRL have been slow to incorporate in the literature, validated protocols, and data related to the interference of PEG. From a clinical and biochemical point of view and, the main concern should be to avoid unnecessary investigation and treatment.

C.M.: Interna de Endocrinologia, Serviço de Endocrinologia, Hospital de Braga. Braga. Portugal.
M.L.P.: Assistente Hospitalar de Endocrinologia, Serviço de Endocrinologia, Hospital de Braga. Braga. Portugal.

J.T.G.: Director de Serviço, Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospitalar de São João, Porto. Professor Associado, Serviço de Bioquímica, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto. Porto. Portugal

INTRODUÇÃO

A prolactina (PRL), hormona produzida pela hipófise anterior, foi identificada em animais em 1933¹ e nos humanos em 1972². O isolamento e purificação da PRL por Friesen e o desenvolvimento de um radioimunoensaio específico deram outra ênfase à PRL no entendimento das doenças humanas³.

Desde a identificação da PRL que se reconhece a existência da síndrome hiperprolactinémica, cujos sintomas principais são galactorreia, oligomenorreia, amenorreia e infertilidade nas mulheres e diminuição da libido e impotência nos homens^{4,5}. A hiperprolactinemia pode ser fisiológica durante a gravidez e lactação, em situações de stresse, após a relação sexual e após actividade física intensa. Existem também fármacos que podem provocar elevações moderadas da PRL e galactorreia, amenorreia ou disfunção sexual. Os anti-eméticos como a metoclopramida (antagonista dos receptores D2 da dopamina) elevam a PRL devido ao seu efeito inibidor sobre a dopamina. Outros fármacos, tais como os contraceptivos orais, alguns narcóticos, neurolépticos, anticonvulsivantes, antidepressivos, anti-histamínicos e anti-hipertensores, podem também elevar a PRL. As causas patológicas podem ser sistémicas: a estimulação da parede torácica após traumatismo; o herpes zóster; o aumento da hormona libertadora de tirotrófina no hipotiroidismo primário; a diminuição da depuração da PRL na insuficiência renal, e ainda a cirrose hepática e a síndrome de ovário poliquístico. Quando a hiperprolactinemia se manifesta clinicamente, as causas locais do sistema hipotálamo-hipofisário estão mais frequentemente implicadas, quer por secreção de prolactina por tumores de células lactotróficas, quer por perda do efeito inibitório da dopamina provocado por um tumor, traumatismo, doença infiltrativa ou outras^{4,5}.

A PRL é um polipeptídeo de cadeia única com 23 kd mas podem também ser produzidas formas com maior peso molecular (50 e 150 kDa). A macroprolactinemia reflecte a circulação predominante de formas de maior peso molecular, com bioactividade reduzida e, logo, pouco associadas às manifestações clínicas típicas da hiperprolactinemia⁴. Estudos recentes, dependendo do método de doseamento utilizado, referem a presença de macroprolactinemia em até 26% dos soros hiperprolactinémicos^{6,7,8,9,10,11}. Uma estimativa conservadora sugere que cinco a dez por cento do total de amostras hiperprolactinémicas identificadas no Reino Unido e EUA possa corresponder apenas à presença de macroprolactinemia¹¹.

Assim, parece provável que a macroprolactinemia possa ser responsável por erros de diagnóstico e de tratamento em doentes com hiperprolactinemia.

PROLACTINA

Estrutura

O gene que codifica a PRL localiza-se no cromossoma seis. A PRL humana é sintetizada como uma pré-hormona, a pré-PRL, constituída por 227 aminoácidos e um peso mole-

cular de aproximadamente 26 kd. Após clivagem do peptídeo sinalizador na extremidade N-terminal, forma-se a PRL de 23 kDa, constituída por 199 aminoácidos que posteriormente se rearranja numa estrutura terciária que inclui três pontes dissulfeto intracadeia. Circula no sangue em diferentes formas: PRL monomérica (23 kDa), PRL dimérica ("big-PRL" com 48-56 kDa) e formas poliméricas ("big, big-PRL" com 150-170 kDa). Para além destas, a modificação da PRL produzida pela hipófise leva ao aparecimento de algumas espécies adicionais de PRL, incluindo variantes glicosiladas, fosforiladas e de menor peso molecular que sofreram proteólise¹². A forma monomérica corresponde a cerca de 85% do total da PRL circulante nos indivíduos normais e na maioria dos doentes com hiperprolactinemia^{13,14}.

Regulação da secreção

A secreção da prolactina é regulada, principalmente, pelo efeito inibitório da dopamina produzida pelo hipotálamo que alcança a hipófise através da circulação no sistema porta hipotálamo-hipofisário e se liga aos receptores D2 da dopamina das células lactotróficas¹⁵. Por sua vez, a prolactina produzida pela hipófise exerce um retrocontrolo negativo sobre o hipotálamo. Modelos animais "knock-out" para os receptores D2 desenvolvem hiperprolactinemia e proliferação das células lactotróficas. Mas, algumas substâncias actuam também como factores libertadores de PRL: o factor de crescimento da epiderme (EGF), o peptídeo intestinal vasoactivo (VIP)¹⁶, a serotonina, o peptídeo libertador de prolactina do hipotálamo (PrRP)¹⁷, o peptídeo hipofisário activador da adenilato-ciclase, ocitocina¹⁸, a hormona libertadora de tirotrófina (TRH)¹⁹, a hormona libertadora de hormona do crescimento (GHRH), a hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH), a galanina²⁰ e os estrogénios²¹. Estes últimos estimulam a transcrição do gene da PRL, explicando a razão das mulheres em idade fértil terem maior frequência de pulsos de PRL do que as mulheres pós-menopausa e os homens²².

Em mulheres a amamentar, a mamada é um potente estimulador da secreção de PRL, actuando através de um reflexo neuroendócrino com origem nos nervos sensitivos e que atinge o sistema nervoso central e o hipotálamo através da espinhal medula. A secreção de PRL induzida pelo stresse varia com a duração, grau e tipo de agente indutor de stresse.

O padrão de secreção normal corresponde a uma série de pulsos diários, cada duas a três horas, e que variam em amplitude, sendo que a maioria da secreção ocorre à noite, durante o sono REM²³.

MACROPROLACTINA

Natureza

O conceito de macroprolactinemia corresponde à presença predominante de formas de PRL de elevado peso molecular⁴: 150-200 kDa em cromatografia de filtração de gel.

Apesar de não haver evidência bioquímica ou estrutural

sobre a natureza da macroprolactina, alguns estudos em doentes com hiperprolactinemia "idiopática" apoiam a hipótese de que a macroprolactina é um complexo de prolactina monomérica de 23 kDa e imunoglobulinas^{24,25,26}, que apesar de presente em níveis suprafisiológicos, não provoca as características típicas da "síndrome hiperprolactinémica"^{27,28,29}. Os resultados de experiências de imunoabsorção e precipitação usando anti – imunoglobulina humana G (IgG), proteína A, proteína G^{26,30,31,32} e análise de Western blot^{30,33} apoiam esta interpretação. Um estudo de Hattori e co-autores²⁵ demonstrou a presença de um título relativamente constante de anticorpos anti-PRL da classe IgG no soro de doentes com macroprolactinemia. Alquist e Fahie-Wilson³⁴ estudaram a distribuição da macroprolactina no organismo e concluíram que, enquanto a PRL aparecia no LCR, soro e tecido hipofisário, a macroprolactina aparecia apenas no soro, sugerindo que se forma no espaço intravascular, após libertação da PRL de 23 kDa da hipófise, e que não retorna ao LCR, provavelmente pelo seu elevado peso molecular. Ao mesmo tempo, experiências em modelos animais sugerem que a macroprolactinemia persiste devido à diminuição da depuração renal desta forma de elevado peso molecular²⁸.

Atendendo a que a macroprolactina na forma de complexo PRL-anticorpo é muito mais frequentemente encontrada nos soros hiperprolactinémicos que qualquer umas das outras formas de elevado peso molecular, esta forma é a que nos referimos quando falamos de macroprolactinemia^{35,36}.

Resposta nas provas de estimulação e frenação

Em indivíduos normais, a administração intravenosa de TRH ou de metoclopramida (antagonista da dopamina) provoca um aumento de entre 1000-2000 mU/L nas concentrações de PRL, com o pico nos primeiros 30 minutos após administração. Uma resposta subnormal é típica dos doentes com aumento da forma monomérica³⁷. Na maioria dos doentes com macroprolactinemia, a resposta a estes estímulos é normal, podendo corresponder à libertação de PRL de 23 kDa a partir da hipófise^{26,38}.

Após a administração de bromocriptina, a macroprolactina e a PRL apresentam diferentes taxas de declínio. Enquanto a PRL é suprimida em cerca de 80% ao fim de seis horas, apenas 20% da macroprolactina é suprimida durante o mesmo período de tempo, apoiando a ideia da diminuição da depuração da macroprolactina da circulação³⁹.

DOSEAMENTO

MÉTODOS COMERCIAIS DE DOSEAMENTO IMUNOLÓGICOS

Os métodos de doseamento imunológico utilizados na prática clínica apresentam diferentes graus de reactividade com a macroprolactina. Cavaco e co-autores⁴⁰ relataram os resultados obtidos quando vários soros contendo macroprolactina foram examinados utilizando quatro métodos imuno-

lógicos comerciais diferentes: IRMA (ImmunoRadioMetric Assay)-*PROL-CTK* (Sorin©), IRMA - *RIA-gnost Prolactin*, IFMA (ImmunoFluoroMetric Assay) - *Delfia Prolactin* (Wallac, INC.©), ICMA (ImmunoChemiluminescence Assay) - *ACS:180* (Siemens©); e um bioensaio *Nb2*. A macroprolactina foi detectada de modo semelhante pelo *RIA-gnost Prolactin* e *Delfia Prolactin*. O *PROL-CTK* foi o método menos influenciado pela presença de macroprolactinemia.

Smith e co-autores¹¹ analisaram a capacidade de nove dos métodos imunológicos comerciais mais usados na prática clínica para dosear PRL em amostras de soro contendo principalmente macroprolactina. Para tal, submetem 300 amostras de soro hiperprolactinémico (> 700mU/L) identificadas pelo método IFMA - *Delfia Prolactin* a tratamento com polietilenoglicol (PEG). Para grupo de controlo, o soro de 62 mulheres saudáveis foi submetido a doseamento de PRL antes e após tratamento com PEG e a variação obtida após a precipitação foi usado como referência para os soros tratados deste modo. Dos soros hiperprolactinémicos, aqueles que apresentassem níveis de PRL, após precipitação, dentro do intervalo de referência eram considerados macroprolactinémicos. Concluíram assim que 24% da hiperprolactinemia poderia ser explicada pela macroprolactinemia. Das amostras macroprolactinémicas, dez foram novamente testadas usando nove métodos imunológicos comerciais comuns na prática clínica. Os resultados demonstraram uma grande variabilidade na detecção da PRL e diferenças de duas a oito vezes entre os diferentes métodos. Em todos os casos, o ICMA - *Elecsys* (Roche©) apresentava os valores mais elevados de PRL (828-4604 mU/L), seguido do IFMA - *Delfia Prolactin*, IFMA - *Immuno-1* (Bayer©), MEIA (Microparticle Enzyme Immuno Assay) - *AxSYM* (Abbott©), IQMA - *Architect* (Abbott©), RIA - *Immulite 2000* (Siemens©), ACS:180 (Siemens©) e IQMA - *Advia Centaur* (Siemens©). Os valores mais baixos foram apresentados pelo IEA (ImmunoEnzimatic Assay) - *Access* (Beckam) (228-940mU/L). Esta estratificação foi consistente em quase todos os dez soros analisados. Enquanto usando o *Advia Centaur* e o *Access* apenas um dos dez indivíduos apresentava PRL superiores a 700 mU/L, usando o *Architect* sete em dez indivíduos apresentavam valores superiores a 700 mU/L e todos as dez amostras o faziam quando usados o ICMA - *Elecsys* ou o IFMA - *Delfia Prolactin*. Assim, todos os métodos detectaram macroprolactina mas, os resultados do *Centaur*, *Access* e *ACS:180* foram superiores aos dos outros métodos imunológicos. Os autores consideraram particularmente importante que os centros que utilizem ICMA - *Elecsys*, IFMA - *Delfia Prolactin*, IFMA - *Immuno-1*, MEIA - *AxSYM*, IQMA - *Architect* e RIA - *Immulite 2000* tomem medidas específicas para identificar a presença de macroprolactina quando a hiperprolactinemia é detectada. Avaliando o número de utilizadores dos diferentes métodos, constataram que os nove métodos analisados constituíam 91% dos participantes no *United Kingdom National External Quality Assessment Scheme* (UK NEQAS) e 85% dos participantes nos testes de

capacidade do *College of American Pathologists*. Apesar de reconhecerem que o número de participantes que usam um sistema em particular possa não reflectir o número relativo de amostras analisadas, uma estimativa conservadora sugere que cinco a dez por cento do total de amostras hiperprolactinémicas identificadas no Reino Unido e EUA possa corresponder apenas à presença de macroprolactinemia¹¹.

Este estudo de Smith e co-autores¹¹ sugere um anticorpo anti-PRL comum dirigido a um epitopo na molécula de PRL e, os níveis de PRL doseada podem estar relacionados com o modo como o epitopo na molécula de PRL que atrai o anticorpo endógeno reage com os anticorpos do método de doseamento. Assim, se o local reconhecido por determinado método de doseamento não está ocupado pelo anticorpo endógeno, o método de doseamento reconhece a macroprolactina e vice versa^{40,41,42}.

TÉCNICAS PARA DOSEAR MACROPROLACTINA

Cromatografia líquida em coluna de gel (CLCG)

Esta técnica permite fraccionar as diferentes formas de PRL presente no soro, nomeadamente a macroprolactina. Convencionou-se diagnosticar a macroprolactinemia quando mais de 30-60% da PRL do soro se encontrasse sob a forma de macroprolactina^{8,9}, sendo o valor de corte mais utilizado de 50%^{38,43}. No entanto, não deve ser descurado que quantidades substanciais de prolactina “monomérica” ainda podem estar presentes, se o valor inicial de PRL for muito elevado, mesmo que a percentagem de macroprolactina seja superior a 50%.

É um método robusto, facilmente reproduzível, considerado por muitos o “padrão de ouro” mas, por ser dispendioso, não permite o seu uso difundido na prática clínica. Apresenta a desvantagem teórica de poder haver dissociação do complexo durante a migração no gel, subestimando-se os valores de macroprolactina existente no soro. Por outro lado, durante a técnica laboratorial há perda de material por adsorção ou desnaturação e, a perda desproporcionada de PRL ou macroPRL pode levar a sub ou sobrestimativa dos resultados⁴⁴.

Precipitação pelo polietilenoglicol (PEG)

O PEG foi usado durante muitos anos nos ensaios de radioimunoafecção para precipitar proteínas de elevado peso molecular. Tal como descrito por Hattori e co-autores em 1992^{24,25}, o PEG tem a capacidade de precipitar imunocomplexos. Desde aí, tem sido usado como rastreio de macroprolactinemia em soros hiperprolactinémicos. Se o soro contiver macroprolactina, esta é precipitada pelo PEG, deixando uma quantidade mínima no sobrenadante. Este método é facilmente reproduzível, executável e é o método de escolha pela maioria dos laboratórios¹².

Resumidamente, volumes iguais de uma solução de PEG a 25% (massa molecular 6000 kDa) e soro são misturados durante um minuto num agitador vortex. Seguidamente, são centrifugados à temperatura ambiente ou em condições de refrigeração (4°C) durante 30 minutos a 1500-2800 rpm ou durante cinco minutos a 9500 rpm^{9,45,46}. A PRL imunoreacti-

va é doseada no sobrenadante e os resultados obtidos (após correcção para a diluição) são comparados com os valores do soro não precipitado. Para a detecção de macroprolactinemia foram propostas taxas de recuperação de PRL, após precipitação pelo PEG, inferiores a 40%^{45,46}.

Alguns grupos validaram a sua utilização comparativamente com CLCG^{9,47,48}. Apesar da boa correlação entre os dois métodos, os níveis de macroprolactina doseados usando PEG são significativamente maiores do que os determinados por CLCG^{9,48,12}. Suliman e col. sugeriram que o PEG induziria co-precipitação de algumas formas monoméricas da PRL, contribuindo para a discrepância de resultados. Por outro lado, o facto do resultado ser apresentado em percentagem em vez de valor absoluto pode levar a erros de interpretação; por exemplo, uma taxa de recuperação inferior a 40% pode ser consistente com hiperprolactinemia isto é, é consistente com uma quantidade elevada simultaneamente de macroprolactina e prolactina monomérica. Por esta razão, alguns autores propõem uma definição mais rigorosa de macroprolactinemia em que é necessário que os níveis de PRL desçam para valores dentro do limite de referência após extracção da macroprolactina^{44,12}. Assim, taxas de recuperação inferiores a 40% significam que a maioria da PRL presente no soro se encontra na forma de macroprolactina mas, o doseamento da PRL monomérica após precipitação, continua a ser necessário para definir se um doente tem hiperprolactinemia ou níveis de PRL dentro do limite de referência.

Apesar de ser uma técnica simples, a precipitação por PEG é um método que não é aplicável a todos os métodos imunológicos de doseamento automáticos para PRL presentes no mercado; mesmo naqueles em que é aplicável, pode causar interferências positivas ou negativas⁴⁴. Assim, parece continuar a ser necessária a sua execução de forma não automática.

Imunoprecipitação e adsorção

Dois grupos independentes demonstraram que tanto a imunoglobulina anti-humana como a proteína A tinham a capacidade de precipitar a macroprolactina, sustentando a hipótese de que a macroprolactina consistia num complexo de PRL-IgG^{25,26}.

Recentemente, as *proteínas A e G sepharose* têm sido usadas para rastreio de macroprolactina, já que removem especificamente os complexos PRL-IgG^{28,32,49}. Resultados de Smith e co-autores⁴⁹ indicam que, apesar da boa correlação, os níveis de PRL monomérica obtidos por este método são 30% mais elevados do que com a CLCG.

Ultrafiltração

Este método baseia-se na selectividade de massa molecular de membranas específicas para as proteínas plasmáticas. Enquanto alguns autores^{50,51,52} aplicaram este princípio a soros com macroprolactina e consideram-no como uma alternativa à precipitação com PEG, outros consideram-nos altamente discrepantes com os resultados obtidos por CLCG^{53,54}.

BIOACTIVIDADE

A evidência acumulada é altamente sugestiva de que a actividade biológica da PRL *in vivo* é ausente ou muito reduzida. A maioria dos estudos relata a presença de sintomas tais como galactorreia ou oligomenorreia numa proporção considerável de mulheres com macroprolactinemia^{8,12,26,46,47,55,56}. No entanto, já que foram estes sintomas que conduziram ao doseamento da macroprolactina e, tratando-se de sintomas inespecíficos, esta associação não é obrigatoriamente causal. Quando 10000 indivíduos saudáveis foram rastreados, a macroprolactinemia foi identificada em 0,4% das mulheres e todas elas eram assintomáticas⁵⁷. Outros estudos demonstraram que alguns doentes com macroprolactinemia respondiam clinicamente ao tratamento com agonistas da dopamina (AD). No entanto, é também sabido que doentes normoprolactinémicos com galactorreia “idiopática” entram em remissão espontaneamente ou respondem ao tratamento com agonistas da dopamina^{58,59}.

Os resultados de estudos que tentaram avaliar a actividade biológica *in vitro* são discordantes, demonstrando actividades aumentadas, normais ou diminuídas em doentes com macroprolactinemia^{26,28,36,55,60}. No entanto, o factor unificador entre todos é o da macroprolactina possuir pelo menos alguma actividade biológica *in vitro*.

É assim sugerido que, sendo a macroprolactina, um complexo de PRL monomérica e uma molécula de IgG, que está confinado ao espaço vascular, a macroprolactina deverá antes ser considerada bio-indisponível *in vivo*, em vez de bio-inactiva⁴⁴.

PREVALÊNCIA

É difícil fazer comparações directas entre os diferentes estudos que avaliaram a prevalência de macroprolactinemia, por os resultados serem variáveis. A população rastreada (população geral, doentes hiperprolactinémicos, doentes hiperprolactinémicos com sintomatologia duvidosa), o método de doseamento usado, o método utilizado para dosear a macroprolactina (PEG ou CLCG), o protocolo de precipitação pelo PEG, a taxa de recuperação de PRL usada para definir uma percentagem significativa de macroprolactina quando o PEG é usado e se a concentração de PRL monomérica após precipitação é referida, são tudo situações que afectam a proporção de doentes com macroprolactinemia.

Ichihara e co-autores⁵⁷ rastream 8400 homens e 2100 mulheres saudáveis tendo a hiperprolactinemia sido identificada em 0,4% dos indivíduos; a macroprolactinemia foi identificada em dez indivíduos dos quais 8 eram mulheres, todas assintomáticas⁵⁷. Este resultados, juntamente com os de Bjoro e co-autores⁷, sugerem que a prevalência de macroprolactinemia seja inferior a dois por cento nas mulheres e inferior a 0,02% nos homens⁴⁴.

Hattori e co-autores⁶¹ analisaram o soro de 1330 doentes saudáveis e rastream a macroprolactinemia usando a precipitação por PEG; identificaram 49 doentes com macroprolactinemia (4,0%); 44 (3,3%) doentes apresentavam hiperprolactinemia prévia à precipitação com PEG e 15 destes 44 (34,1%) apresentavam macroprolactinemia.

Na população hiperprolactinémica, a prevalência de macroprolactinemia varia de acordo com o subgrupo de doentes estudados. No quadro 1 estão sumarizadas as prevalências de macroprolactinemia em diferentes estudos, em que todas as amostras hiperprolactinémicas de indivíduos de ambos os sexos foram sequencialmente rastreadas para macroprolactinemia. (quadro 1)

A macroprolactinemia pode ser observada em ambos os sexos mas, as mulheres representam 89% dos casos publicados³⁸. A hiperprolactinemia e consequentemente a macroprolactinemia são diagnosticadas menos frequentemente nos homens, o que pode reflectir o menor número de pedidos de doseamento nesta população. O mesmo acontece em idade pediátrica. Existe uma série descrita com quatro crianças macroprolactinémicas, nas quais não foi detectada nenhuma alteração na RM ou TAC e outra em que cinco indivíduos com idades compreendidas entre os 11 e 18 anos foram avaliados e apresentavam macroprolactinemia, assintomática⁶⁷.

A macroprolactinemia pode ser observada em ambos os sexos mas, as mulheres representam 89% dos casos publicados³⁸. A hiperprolactinemia e consequentemente a macroprolactinemia são diagnosticadas menos frequentemente nos homens, o que pode reflectir o menor número de pedidos de doseamento nesta população. O mesmo acontece em idade pediátrica. Existe uma série descrita com quatro crianças macroprolactinémicas, nas quais não foi detectada nenhuma alteração na RM ou TAC e outra em que cinco indivíduos com idades compreendidas entre os 11 e 18 anos foram avaliados e apresentavam macroprolactinemia, assintomática⁶⁷.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Durante muitos anos, esta condição foi considerada assintomática. Em séries mais recentes, uma proporção significativa de doentes com macroprolactinemia parece apresentar alguns dos sintomas caracteristicamente associados à hiperprolactinemia^{38,45,63,26,56}.

A variedade das populações estudadas (desde centros regionais a centros de referência) pode justificar alterações na proporção de doentes com sintomas de hiperprolactinemia e anomalias na RM. As características clínicas dos doentes com macroprolactinemia podem também variar de acordo com a razão que motivou o doseamento. Mais ainda, em alguns estudos, a PRL não é doseada após precipitação com PEG, e assim, os resultados de doentes com macroprolactinemia e PRL monomérica após precipitação dentro do intervalo de referência, não são separados dos doentes com macroprolactinemia e PRL monomérica após precipitação elevada. Finalmente, muitos dos indivíduos com macroprolactinemia que apresentam algumas das características frequentemente associadas a hiperprolactinemia, têm causas potenciais alternativas para os seus sintomas, incluindo a síndrome de ovário poliquístico (SOP), a menopausa, a suspensão de contraceptivos orais, o uso de fármacos que possam induzir galactorreia (ex: carbamezepina) ou disfunção eréctil. Por outro lado, não são avaliadas muitas das possíveis causas alternativas de infertilidade, as quais não são devidamente excluídas.

Leite co-autores²⁶ identificaram a macroprolactinemia em 11 doentes hiperprolactinémicos, sete dos quais (64%) apresentavam galactorreia, distúrbios menstruais ou ambos.

Quadro I. Prevalência de macroprolactinemia em indivíduos com hiperprolactinemia

Referência	N	Limiar (mU/L)	Prevalência (%)	Método
Fahie-Wilson e Soule 1997 ⁸	69	700	25	CLCG + PEG
Vieira e co-autores 1998 ⁹	1220	540	36	PEG
Olukoga and Kane 1999 ⁴⁵	188	430	15	PEG
Leslie co-autores 2001 ⁴⁶	1225	700	26	PEG
Smith co-autores 200 ¹¹	300	700	24	PEG
Hauache co-autores 2002 ⁶²	113	620	46	PEG e/ou CLCG
Strachan co-autores 2003 ⁶³	273	700	21	PEG
Vilar co-autores ⁶⁴	115	620 nos homens e 1000 nas mulheres	16,5	PEG
Theunissen ⁶⁵	82	1000	17	PEG
Donadio e co-autores 2007 ⁶⁶	135	700 nas mulheres e 500 nos homens	42	PEG

N, número de indivíduos com hiperprolactinemia; PEG: precipitação pelo polietilenoglicol; CLCG, cromatografia líquida em coluna de gel; Limiar: nível de prolactina acima do qual se realizou rastreio de macroprolactina

Fahie-Wilson e Soule⁸ identificaram a macroprolactinemia em 16 mulheres hiperprolactinémicas; nenhuma apresentava galactorreia e seis (38%) apresentavam irregularidades menstruais. Nas séries de Valette-Kasice co-autores³⁸, em 13 das 37 mulheres com irregularidades menstruais (35%), estas podiam ser explicadas por SOP ou perimenopausa. Ainda nesta série, quatro crianças com idade compreendida entre os quatro e 12 anos que apresentavam hiperprolactinemia foram testadas para macroprolactinemia. Em todas elas os pedidos foram feitos como avaliação hormonal de rotina de puberdade precoce, cefaleias frontais e baixa estatura. Pelo menos nove dos 20 doentes com macroprolactinemia descritos por Strachane co-autores⁶³ e que apresentavam sintomas que podiam ser atribuídos à hiperprolactinemia, tinham causas potenciais alternativas para os seus sintomas incluído o uso de certos fármacos, SOP, doenças vasculares e menopausa. Na realidade, apenas uma das 44 mulheres estudadas apresentava a combinação clássica de sintomas hiperprolactinémicos e mesmo nesta os valores de gonadotrofinas perimenopausa podiam explicar a oligomenorreia. Também para Leslie co-autores⁴⁶, apenas 55 dos doentes identificados como tendo macroprolactinemia, todos eram mulheres, foram encaminhados para avaliação clínica. Os sintomas clássicos de hiperprolactinemia eram raros e alguns deles podiam ser explicadas por outras situações clínicas como o SOP ou hemorragia uterina disfuncional. O grupo brasileiro de Hauache co-autores⁶² não distinguiu os resultados com base no sexo e referiu uma prevalência de galactorreia de 25%, de irregularidades menstruais de 36% e de subfertilidade de 7%. Na série de Suliman co-autores¹² em que apenas foram avaliadas mulheres) e de Doadio co-autores⁶⁶, as irregularidades menstruais e a galactorreia ocorreram mais frequentemente em doentes com hiperprolactinemia “verdadeira” mas, apesar de esta diferença ser significativa, estas alterações também ocorreram em doentes com macroprolactinemia e assim, os autores concluíram não poder distinguir os dois grupos apenas

com base na clínica. Consideraram também que a associação entre a galactorreia e a oligomenorreia, sintomas relativamente frequentes, e o achado bioquímico de macroprolactinemia poderiam ser coincidência. Tal não é de surpreender já que são este tipo de sintomas que levam ao doseamento de prolactina.

Vilar co-autores⁶⁴ não separaram as características clínicas por sexos e, entre os doentes com macroprolactinemia, um dos quais com PRL monomérica aumentada, 12 eram assintomáticos mas sete mulheres tinham galactorreia e/ou oligomenorreia.

Estes resultados encontram-se sumarizados nos quadros 2 e 3.

CARACTERÍSTICAS RADIOLÓGICAS

A comparação entre estudos torna-se difícil (quadro 4), principalmente devido a diferenças de técnica de imagem utilizada, já que é sabido que a capacidade da RM para detectar pequenas lesões hipofisárias é superior à TAC. Enquanto em alguns estudos se realizou apenas RM^{66,38}, noutros utilizou-se TAC ou RM^{12,45,46,62,63}.

Na série de Olukoga e Kane⁴⁵, 15 dos 17 doentes com macroprolactinemia tinham resultados da imagem da hipófise. Destes, apenas três (20%) apresentavam alterações, todos eles microadenomas. Leslie co-autores⁴⁶ constataram que apenas quatro dos 55 doentes estudados apresentavam alterações na RM sendo, mais uma vez, todos microadenomas. Para Suliman co-autores¹², 3 doentes com macroprolactinemia apresentavam imagem hipofisária compatível com microadenoma. Finalmente, para Hauache co-autores⁶², a maioria dos doentes com macroprolactinemia (41/52, isto é, 79%) apresentava imagem hipofisária normal. Dos que apresentavam alterações, nenhum apresentava microadenoma. Assim, em nenhum dos casos a macroprolactinemia foi associada a macroprolactinoma, sendo importante considerar que os microprolactinomas são encontrados muito frequentemente

Quadro 2. Séries de casos de mulheres com macroprolactinemia – características clínicas

Referência	País de origem	N	Método de rastreio	Nº de indivíduos com PRL elevada após precipitação	Nº de indivíduos com PRL monomérica elevada (CLCG)	Características clínicas (%)		
						G	O/A	SUB
Olukoga e Kane 1999 ⁴⁵	RU	15	PEG	NR	1/11①②	13	80	40
Leslie e co-autores 2001 ⁴⁶	RU	55	PEG	NR	NR	2	24	9
Valette-Kasic e co-autores 2002 ³⁸	França	96	CLCG	NR	②③	46	39	29
Suliman e co-autores 2003 ¹²	Irlanda	21	PEG	0	0	29	57	29
Strachan e co-autores 2003 ⁶³	RU	44	PEG	2	NR	14	20	11
Donadio e co-autores 2007 ⁶⁶	Itália	46	PEG	0	NR	20	45④	NR

N, número de mulheres com macroprolactinemia ; CLCG, cromatografia líquida em coluna de gel; PEG, precipitação pelo polietilínoglicol; G, galactorreia; O, oligomenorreia; A, amenorreia; SUB, subfertilidade; NR, não relatado; DA, agonistas da dopamina; RU: Reino Unido

① Só 11 das 15 amostras foram submetidas a CLCG

② Numa tentativa de calcular os níveis circulantes da forma monomérica, multiplicou-se a concentração de PRL total pela percentagem de PRL monomérica na CLCG

③ 10 doentes na totalidade (não há referência a se eram homens, mulheres ou crianças), apresentavam PRL monomérica extrapolada elevada

④ Oligomenorreia foi avaliada apenas em mulheres em idade reprodutiva

Quadro 3. Séries de casos de homens com macroprolactinemia – características clínicas

Referência	País de origem	N	Método de rastreio	Nº de indivíduos com PRL elevada após precipitação	Nº de indivíduos com PRL monomérica elevada (CLCG)	Características clínicas (%)			
						G	DL/DE	Gi	I
Olukoga and Kane 1999 ⁴⁵	RU	2	PEG	NR	1	NR	1	NR	1
Valette-Kasic e co-autores 2002 ³⁸	França	6	CLCG	NR	②③	NR	3	NR	NR
Strachan e co-autores 2003 ⁶³	RU	7	PEG	NR	NR	NR	5	11	NR
Donadio e co-autores 2007 ⁶⁶	Itália	11	PEG	0	NR	NR	36/27	NR	

N, número de homens com macroprolactinemia ; CLCG, cromatografia líquida em coluna de gel; PEG, precipitação pelo polietilínoglicol; G, galactorreia; DL/DE: diminuição da libido/disfunção erétil; Gi, ginecomastia; I, infertilidade; NR, não relatado; DA, agonistas da dopamina; RU: Reino Unido na população normal.

No trabalho de Valette-Kasic co-autores³⁸, a RM hipofisária foi realizada em 81 doentes. Era normal em 63 (78%) dos casos, em 8 doentes (10%) revelou um aracnoidocelo intrasselar, em três doentes microadenoma, em dois doentes macroadenoma e em cinco quisto intrasselar. Os cinco casos suspeitos de adenoma (quatro mulheres e um homem) foram submetidos a cirurgia transesfenoidal. A imunohistoquímica revelou dois prolactinomas puros, dois adenomas mistos secretores de PRL e GH e um adenoma secretor de GH puro. Não há referência no estudo, qual destes correspondia a um macroadenoma.

Strachan co-autores⁶³ relataram no total sete (19%) doentes com alterações nas técnicas de imagem: seis microadenomas e um quisto pineal com 12 mm.

Na série de Donadio co-autores⁶⁶ a determinação da macroprolactinemia mudou o diagnóstico inicial numa proporção considerável de doentes. Verificou-se uma redução

da hiperprolactinemia idiopática de 30% para dez por cento e de microadenoma secretor de PRL para microadenoma não secretor em 20% dos doentes. Mais importante, em todos os doentes com macroadenomas (secretores de PRL ou que causam hiperprolactinemia por compressão da haste), a macroprolactina foi excluída e o diagnóstico inicial confirmado. Considerando os doentes com macroprolactinemia que apresentavam alterações na RM (36%), os microadenomas observaram-se em 20% das mulheres e dez por cento dos homens, uma prevalência comparável à da população adulta normal. Considerando outras anomalias hipofisárias, a macroprolactinemia estava presente na maioria dos doentes com hiperplasia da hipófise e aracnoidocelo selar.

TRATAMENTO

Num estudo de Suliman co-autores¹², 13 doentes (87%) dos doentes com macroprolactinemia e 37 (88%) dos doentes

com hiperprolactinemia monomérica foram tratados com agonistas da dopamina. Verificou-se que estes fármacos foram eficazes no tratamento da galactorreia em doentes com hiperprolactinemia e macroprolactinemia mas, só conseguiram aumentar a frequência dos períodos menstruais nas mulheres verdadeiramente hiperprolactinémicas. Isto é consistente com o conhecido efeito dos agonistas da dopamina na galactorreia em mulheres normoprolactinémicas e pode ser explicado pela dependência do tecido mamário de níveis permissivos normais de PRL circulante para que a lactação ocorra.

Para Valette-Kasic co-autores³⁸, em 47% dos doentes macroprolactinémicos submetidos a tratamento com AD, os níveis de PRL diminuíram; é necessário considerar que parte destes doentes poderiam ter hiperprolactinemia monomérica elevada, que respondeu ao tratamento. Por outro lado, não há referência clara à repercussão clínica destes resultados.

Para Leslie co-autores⁴⁶, 12 das 55 doentes macroprolactinémicas foram tratadas com agonistas dopaminérgicos em algum ponto durante o estudo. Dois em cada três doentes tiveram melhoria das cefaleias, uma doente amenorreica teve recuperação dos períodos menstruais, quatro em seis oligomenorreicas tiveram regularização dos ciclos e uma medicada por subfertilidade não teve resultados satisfatórios.

Já para Olukoga e Kane⁴⁵, 13 dos 17 (76%) doentes com macroprolactinemia foram tratados com agonistas dopaminérgicos e todos eles tiveram diminuição dos níveis de PRL. Destes, cinco não apresentaram qualquer alteração dos sintomas apesar da diminuição da PRL enquanto oito melhoraram. Os autores consideraram estes resultados semelhantes aos obtidos em doentes com hiperprolactinemia idiopática⁶⁷.

Num estudo de Strachan e col.⁶³ a terapêutica com agonistas dopaminérgicos foi administrada a diferentes grupos de doentes e diminuiu os níveis de PRL, sendo, no entanto, impossível de determinar se estes resultados são causais ou casuais.

DISCUSSÃO

Na maioria das situações clínicas a macroprolactinemia resulta da ligação da PRL monomérica a um anticorpo endógeno anti-PRL. Esta forma de elevado peso molecular é bio-indisponível. Devido à sua baixa depuração metabólica, a macroprolactina acumula-se no soro e é identificada pelos métodos de doseamento imunológicos mais utilizados na prática clínica, resultando em hiperprolactinemia⁴⁴.

Tem sido sugerido que aproximadamente dez por cento do soro referido como hiperprolactinémico nos EUA e Reino Unido seja macroprolactinémico. Estas estimativas baseiam-se no conhecimento da reactividade dos métodos comerciais para a macroprolactina e na frequência da sua utilização reportada pelo controlo de qualidade externo do *College of American Pathologists e UKNEQAS*⁴⁴.

Dos métodos que removem a PRL do soro previamente ao doseamento, o tratamento com PEG é o mais usado. O PEG causa a precipitação das formas de PRL de elevado peso molecular, nomeadamente a macroprolactina. Inicialmente, o diagnóstico de macroprolactinemia baseava-se na observação de uma recuperação de PRL inferior a 40% após tratamento com PEG, relativamente ao valor de PRL do soro não tratado. No entanto, esta convenção não leva em conta que, apesar da macroprolactina poder contribuir para a maioria da PRL total, os níveis de PRL monomérica biologicamente activa podem continuar a ser excessivos. Assim, alguns autores sugerem que, quando o PEG é utilizado, o diagnóstico de macroprolactinemia seja restrito aos casos em que os níveis de PRL após precipitação atingem níveis dentro do intervalo de referência de doentes com PRL normal tratados com PEG¹¹. Parece pois prudente que sejam introduzidos critérios universais mais exigentes para o diagnóstico de macroprolactinemia.

Alguns autores têm sugerido que o doseamento da macroprolactina só deve ser realizado em situações de discrepância clínica e bioquímica³⁸ ou, alternativamente, quando se tem um diagnóstico de hiperprolactinemia idiopática. No entanto, a maioria dos estudos mais recentes indicam que a diferenciação

Quadro 4. Séries de casos de indivíduos com macroprolactinemia – características radiológicas

Referência	País de origem	N	Método de rasterio	Método de imagem	Alterações na TAC ou RM (%)
Olukoga and Kane 1999 ⁴⁵	RU	15	PEG	TAC ou RM	20
Leslie e co-autores 2001 ⁴⁶	RU	55	PEG	TAC ou RM	7
Valette-Kasic e co-autores 2002 ³⁸	França	81	CLCG	RM	22
Suliman e co-autores 2003 ¹²	Irlanda	14	PEG	TAC ou RM	15
Strachan e co-autores 2003 ⁶³	RU	36	PEG	TAC ou RM	19
Donadio e co-autores 2007 ⁶⁶	Itália	57	PEG	RM	51
Hauache e co-autores 2002 ⁶²	Brasil	52	CLCG ± PEG	TAC ou RM	21

N, número de indivíduos de ambos os sexos com macroprolactinemia que foram submetidos a um exame de imagem; CLCG, cromatografia líquida em coluna de gel; PEG, precipitação pelo polietilenglicol; RU: Reino Unido

entre macroprolactinemia e hiperprolactinemia baseada na clínica não é fidedigna, dando lugar a erros de diagnóstico e tratamento. Assim, é provável que a associação frequente entre galactorreia, oligomenorreia e macroprolactinemia observada em muitas séries da literatura seja apenas coincidência^{12,45,46,51}, o que não é surpresa já que, são estes os sintomas que mais frequentemente levam ao doseamento da PRL. De um ponto de vista clínico e bioquímico, a principal preocupação deve ser identificar correctamente os doentes com hiperprolactinemia monomérica, de modo a evitar investigação e tratamentos subsequentes desnecessários. Assim, o rastreio e doseamento de macroprolactina só necessitam ser realizados nos casos inicialmente classificados como hiperprolactinémicos⁴⁴.

A elevada frequência de alterações na RM de doentes com macroprolactinemia, levou alguns autores a sugerir que o algoritmo de diagnóstico para doentes com hiperprolactinemia devesse incluir PEG e RM⁶⁶; isto permitiria identificar indivíduos com hiperprolactinemia monomérica que requerem tratamento e indivíduos com macroprolactinemia que requerem seguimento de lesões de natureza incerta como hiperplasia e microadenomas não funcionantes. Outros autores sugerem que todas as amostras hiperprolactinémicas devem primeiramente ser testadas para macroprolactina e os estudos de imagem realizados quando indicados por características clínicas relevantes⁶².

Dado que é plausível que a macroprolactina tenha pelo menos alguma actividade biológica, parece adequado oferecer pelo menos uma tentativa terapêutica aos doentes sintomáticos. No entanto, se este tratamento for considerado em doentes macroprolactinémicos, a necessidade de terapêutica deve ser revista periodicamente e retirada se não houver melhoria sintomática⁶³.

É provável que o fenómeno da macroprolactinemia seja sistematicamente subestimado e não reconhecido. Os fabricantes dos métodos comerciais de doseamento de PRL têm sido lentos em incorporar na literatura dos seus ensaios, protocolos validados e dados relativos à interferência do PEG que sirvam de orientação aos laboratórios que estejam a planear realizar rastreio de macroprolactina. Claramente, esta questão deve ser tratada urgentemente, com a criação de métodos para estimativa de macroprolactina aprovados por entidades reguladoras nacionais. Do mesmo modo, é da competência dos laboratórios que doseiam PRL sérica alertar os clínicos para as características e limitações método¹¹.

Conflito de interesses:

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesses relativamente ao presente artigo.

Fontes de financiamento:

Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

REFERÊNCIAS

- RIDDLE O, BATES R, DYSHORN S: The preparation, identification and assay of prolactin – a hormone of the anterior pituitary. *Am J Physiol* 1933; **105**: 191–216.
- HWANG P, GUYDA H, FRIESEN H: Purification of human prolactin. *J Biol Chem* 1972; **247**: 1955–1958
- FRIESEN HG: The discovery of human prolactin: a very personal account. *Clin Invest Med* 1995; **18**: 66–72.
- MELMED S, KLEINBERG D: Chapter 8, Anterior Pituitary. In: Kronenberg H., Melmed S., Polonsky K., P. Larsen, eds. *Williams Textbook of Endocrinology*, 11 th edition. Philadelphia: Saunders Elsevier 2007; 155–261.
- LESLIE J, DEGROOT, J. LARRY JAMESON: *Endocrinology*, 5 th edition, Philadelphia: Elsevier 2006.
- GIBNEY J, SMITH TP, MCKENNA TJ: The impact on clinical practice of routine screening for macroprolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; **90**: 3927–3932.
- BJORO T, MORKRID L, WERGELAND R, et al: Frequency of hyperprolactinaemia due to large molecular weight prolactin (150–170 kD PRL). *Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation* 1995; **55**: 139–147.
- 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.
- VIEIRA JG, TACHIBANA TT, OBARA LH, et al: Extensive experience and validation of polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. *Clin Chem* 1998; **44**: 1758–1759.
- SANCHEZ-EIXERES MR, MAURI M, ALFAYATER, et al: Prevalence of macroprolactin detected by Elecsys 2010. *Hormone Research* 2001; **56**, 87–92.
- SMITH TP, SULIMAN AM, FAHIE-WILSON MN, et al: 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.
- SULIMAN AM, SMITH TP, GIBNEY J, et al: 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.
- SUH HK, FRANTZ AG: Size heterogeneity of human prolactin in plasma and pituitary extracts. *J Clin Endocrinol Metab* 1974; **39**: 928–935.
- FRASER IS, ZHUANG GL: Polymers of prolactin and their clinical significance. *Obstet Gynecol Surv* 1990; **45**: 515–520.
- LIU JW, BEN JONATHAN N: Prolactin-releasing activity of neurohypophysial hormones: structure-function relationship. *Endocrinology* 1994; **134**: 114–118.
- BREDOW S, KACSÓHB, OBÁLF JR, et al: Increase of prolactin mRNA in the rat hypothalamus after intracerebroventricular injection of VIP or PACAP. *Brain Res* 1994; **660**: 301–308.
- HINUMA S, HABATA Y, FUJII R, et al: A prolactin-releasing peptide in the brain. *Nature* 1998; **21**: 272–6. Erratum in: *Nature* 1998; **16**:302.
- YAN GZ, PAN WT, BANCROFT C: Thyrotropin-releasing hormone action on the prolactin promoter is mediated by the POU protein Pit-1. *Mol Endocrinol* 1991; **5**: 535–541.
- REICHLIN S: TRH: historical aspects. *Ann N Y Acad Sci* 1989; **553**: 1–6.
- LÓPEZ FJ, MERCHENTHALER I, CHING M, et al: Galanin A hypothalamic-hypophysiotropic hormone modulating reproductive functions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; **88**: 4508–4512.
- SEYFRED MA, GORSKI J: An interaction between the 5' flanking distal and proximal regulatory domains of the rat prolactin gene is required for transcriptional activation by estrogens. *Mol Endocrinol* 1990; **4**: 1226–1234.
- KATZNELSON L, RISKIND PN, SAXE VC, et al: Prolactin pulsatile characteristics in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; **83**: 761–764.
- SASSIN JF, FRANTZ AG, KAPEN S, et al: The nocturnal rise of human prolactin is dependent upon sleep. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; **37**: 436–440.
- HATTORI N, IKEKUBO K, ISHIHARA T, et al: A normal ovulatory woman with hyperprolactinemia: presence of anti-prolactin autoantibody and the regulation of prolactin secretion. *Acta Endocrinol* 1992; **126**: 497–500.
- HATTORI N, ISHIHARA T, IKEKUBO K, et al: Autoantibody to human

- prolactin in patients with idiopathic hyperprolactinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; **75**: 1226–1229.
26. LEITE V, COSBY H, SOBRINHO LG, et al: Characterization of big, big prolactin in patients with hyperprolactinaemia. *Clinical Endocrinology* 1992; **37**: 365–372.
27. LARREAF, VILLANUEVA C, CARMEN CRAVIOTO M, et al: Further evidence that big, big prolactin is preferentially secreted in women with hyperprolactinemia and normal ovarian function. *Fertil Steril* 1985; **44**: 25–30.
28. 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.
29. GUITELMAN M, COLOMBANI-VIDAL ME, ZYLBERSZTEIN CC, et al: Hyperprolactinemia in asymptomatic patients is related to high molecular weight posttranslational variants or glycosylated forms. *Pituitary* 2002; **5**: 255–260.
30. BONHOFF A, VUILLE JC, GOMEZ F, et al: Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL–IgG complex. *Experimental Clinical Endocrinology and Diabetes* 1995; **103**: 252–255.
31. CAVACOB, LEITE V, SANTOS MA, et al: Some forms of big big prolactin behave as a complex of monomeric prolactin with an immunoglobulin G in patients with macroprolactinemia or prolactinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; **80**: 2342–2346.
32. PASCOE-LIRAD, DURAN-REYES G, CONTRERAS-HERNANDEZ I, et al: Frequency of macroprolactinemia due to autoantibodies against prolactin in pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; **86**: 924–929.
33. LEANOS-MIRANDA A, CHAVEZ-RUEDA KA, BLANCO-FAVELA F: Biologic activity and plasma clearance of prolactin–IgG complex in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001; **44**: 866–875.
34. ALHQUIST JAO, FAHIE-WILSON M: On the origin and distribution of macroprolactin. *Proceeding of the 19th Meeting of the British Endocrine Societies* 2000, 34.
35. SCHIETTECATTE J, DE SCHEPPER J, VELKENIERS B, et al: 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.
36. DE SCHEPPER J, SCHIETTECATTE J, VELKENIERS B, et al: Clinical and biological characterization of macroprolactinemia with and without prolactin–IgG complexes. *Eur J Endocrinol* 2003; **149**: 201–207.
37. DELITALA G: Hyperprolactinaemia: causes, biochemical diagnosis and tests of prolactin secretion. In: A. Grossman ed. *Clinical Endocrinology*. London, Blackwell Science Ltd 1998; 138–147.
38. VALLETTE-KASIC S, MORANGE-RAMOS I, SELIM A, et al: Macroprolactinemia revisited: a study on 106 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **87**: 581–588.
39. FRASER IS, LUN ZG, ZHOU JP, et al: Detailed assessment of big big prolactin in women with hyperprolactinemia and normal ovarian function. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; **69**: 585–592.
40. CAVACO B, PRAZERES S, SANTOS MA, et al: Hyperprolactinemia due to big-big prolactin is differently detected by commercially available immunoassays. *J Endocrinol Invest* 1999; **22**: 203–208.
41. SCHNEIDER W, MARCOVITZ S, AL-SHAMMARI S, et al: Reactivity of macroprolactin in common automated immunoassays. *Clin Biochem* 2001; **34**: 469–473.
42. GILSON G, SCHMIT P, THIX J, HOFFMAN JP, HUMBELL L: Prolactin results for samples containing macroprolactin are method and sample dependent. *Clin Chem* 2001; **47**: 331–333.
43. FAHIE-WILSON M, BRUNSDEN P, SURREY J, EVERITT A: Macroprolactin and the Roche Elecsys prolactin assay: characteristics of the reaction and detection by precipitation with polyethylene glycol. *Clinical Chemistry* 2000; **46**: 1993–1995.
44. GIBNEY J, SMITH TP, MCKENNA J: Clinical relevance of macroprolactin. *Clinical Endocrinology* 2005; **62**: 633–643.
45. OLUKOGAAO, KANE JW: Macroprolactinaemia: validation and application of the polyethylene glycol precipitation test and clinical characterization of the condition. *Clinical Endocrinology* 1999; **51**: 119–126.
46. LESLIE H, COURTNEY CH, BELL PM: 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.
47. OLUKOGA AO, DORNAN TL, KANE JW: Three cases of macroprolactinaemia. *J R Soc Med* 1999; **92**: 342–344.
48. FAHIE-WILSON MN: Polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. *Clinical Chemistry* 1999; **45**: 436–437.
49. SMITH TP, GIBNEY J, KAVANAGH L, FAHIE-WILSON M, et al: Specificity and clinical utility of methods for the detection of macroprolactin. *Ir J Med Sci* 2003; **172**: 15.
50. FAHIE-WILSON M, HEYS AD: Macroprolactin and the Abbott AxSYM prolactin assay: characterisation of the reaction and detection of macroprolactin by centrifugal ultrafiltration. *Proceeding of the Association of Clinical Biochemists National Meeting* 1998, 35.
51. CRADDOCK HS, FAHIE-WILSON M, HEYS AD: Macroprolactin detection by ultrafiltration screening with the Abbott AxSYM assay. *Abstracts of the Association of Clinical Biochemists National Meeting* 2000, 148.
52. QUINN AM, RUBINAS T, GARBINCIUS J, et al: Determination of molecular forms of serum prolactin by ultrafiltration. *Proceeding of the 85th Annual Endocrine Society Meeting* 2003, 286.
53. PRAZERES S, SANTOS MA, FERREIRA HG, et al: A practical method for the detection of macroprolactinaemia using ultrafiltration. *Clinical Endocrinology* 2003; **58**: 686–690.
54. KAVANAGH L, SMITH TP, GIBNEY J, et al: The value of ultrafiltration in the detection of macroprolactin. *Irish Journal of Medical Science* 2004; **173**, No. 4 (Suppl. 1): 20–21.
55. JACKSON RD, WORTSMAN J, MALARKEY WB: Characterization of a large molecular weight prolactin in women with idiopathic hyperprolactinemia and normal menses. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; **61**: 258–264.
56. MALARKEY WB., JACKSON R, WORTSMAN J: Long-term assessment of patients with macroprolactinemia. *Fertil Steril* 1988; **50**: 413–418.
57. ICHIHARA K, MIYAI K: Detection of asymptomatic prolactinoma by a mass screening program. *Rinsho Byori (Japanese Journal of Clinical Pathology)* 1990; **38**: 667–674.
58. PADILLA SL, PERSON GK, MCDONOUGH PG, et al: The efficacy of bromocriptine in patients with ovulatory dysfunction and normoprolactinemic galactorrhea. *Fertil Steril* 1985; **44**: 695–698.
59. DEVANE GW, GUZICK DS: Bromocriptine therapy in normoprolactinemic women with unexplained infertility and galactorrhea. *Fertil Steril* 1986; **46**: 1026–1031.
60. 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.
61. HATTORIN, ISHIHARA T, SAIKYY: Macroprolactinaemia: prevalence and aetiologies in a large group of hospital workers. *Clinical Endocrinology* 2009; **71**: 702–708.
62. HAUACHE OM, ROCHA AJ, MAIA AC, et al: Screening for macroprolactinaemia and pituitary imaging studies. *Clinical Endocrinology* 2002; **57**: 327–331.
63. STRACHAN MW, TEOH WL, DON-WAUCHOPE AC, et al: Clinical and radiological features of patients with macroprolactinaemia. *Clinical Endocrinology* 2003; **59**: 339–346.
64. VILAR L, MOURA E, CANADAS V, et al: Prevalence of macroprolactinemia among 115 patients with hyperprolactinemia. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2007; **51**: 86–91.
65. THEUNISSEN C, DE SCHEPPER J, SCHIETTECATTE J, et al: Macroprolactinemia: clinical significance and characterization of the condition. *Acta Clin Belg* 2005; **60**: 190–197.
66. DONADIO F, BARBIERI A, ANGIONI R, et al: Patients with macroprolactinaemia: clinical and radiological features. *Eur J Clin Invest* 2007; **37**: 552–557.
67. SLUIMJER AV, LAPHON RE: Clinical history and outcome of 59 patients with idiopathic hyperprolactinaemia. *Fertil Steril* 1992; **58**: 72–77.