

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia

**MACROPROLACTINEMIA NUMA COORTE DE MULHERES COM
HIPERPROLACTINEMIA: ASSOCIAÇÕES COM VARIÁVEIS
CLÍNICAS, HORMONAIIS E EXAMES DE IMAGEM DA HIPÓFISE**

Simone Radavelli

Orientadora: Profa. Dra. Poli Mara Spritzer

Dissertação apresentada à pós-graduação
como requisito parcial para a obtenção do
título de mestre em ciências biológicas:
fisiologia

**Porto Alegre
2006**

Dedicatória

*Dedico este trabalho aos meus pais
Arcélio e Marinês, e ao meu namorado
Rodrigo, pelo presente que é tê-los em
minha vida.*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof. Dra. Poli Mara Spritzer pelas incansáveis leituras desta dissertação em busca da perfeição, e constante incentivo, indicando a direção a ser tomada nos momentos de maior dificuldade com muita competência e determinação. Agradeço, principalmente, por ter me aceito como sua aluna, pela confiança depositada em mim e no meu trabalho.

A Prof^ª. Ilma Simone Brum da Silva, que com seu jeito meigo e carinhoso encanta as pessoas a sua volta e faz com que as maiores dificuldades pareçam simples acontecimentos. Obrigada pelo incentivo e por todos os conselhos de vida e de trabalho.

A Prof^ª. Débora Morsh, uma das professoras mais queridas que encontrei, pelo incentivo, apoio, paciência e pelos valiosos ensinamentos de laboratório, além do carinho, dos conselhos e da amizade.

Ao Prof. Francisco Lhullier pela cordialidade e presteza com que auxiliou no desenvolvimento deste trabalho, principalmente no que se refere aos ensinamentos relacionados à pesquisa experimental. Foi uma honra trabalhar ao lado de uma pessoa tão querida.

A profa. Elaine Mallmann, pelas valiosas sugestões e correções desta dissertação. Obrigada por ter aceito participar deste trabalho e ter colaborado para sua concretização.

A Prof^ª. Maria Flávia Ribeiro, pelos valiosos ensinamentos, apoio e paciência.

A prof^ª. Maria Beatriz Kohek por ter aceito o desafio de ensinar a uma Nutricionista, que até então só conhecia técnicas dietéticas, os métodos de pesquisa laboratorial. Obrigada pela paciência e constantes ensinamentos.

Ao Prof. Alberto Rasia, por ter me mostrado, ainda na graduação, o quão bonita é a fisiologia humana, pelos ensinamentos, pelo apoio e incentivo.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, por ter possibilitado minha formação.

A Capes, pela bolsa de estudos.

Um agradecimento especial a uma grande amiga, Sheila Lecke, por entender e transmitir o verdadeiro significado da amizade.

Ao querido amigo Vanderlei Biolchi, pela paciência, colaboração, amizade e pelos momentos de diversão.

A querida amiga Mariana Toscani, pelo carinho, colaboração, disponibilidade, amizade e incentivo, principalmente durante os últimos meses.

Aos colegas e amigos do laboratório de Endocrinologia Molecular e Neuroendocrinologia, pela amizade e pelos momentos agradáveis, especialmente Gisele, Adriane, Cezar, Antônio, Vivian, Lolita, Rafael, Polyana, Ana, Diego, Mateus.

Ao Igor, pela disponibilidade e colaboração durante a coleta de dados do trabalho.

Aos amigos que fiz durante o mestrado, pelos momentos divertidos.

À Miriam e Idelma, pelo auxílio e disponibilidade.

Aos colegas do ambulatório da Unidade de Endocrinologia Ginecológica, do HCPA, Gislaine, Andréa, Denusa, Raphaela, Lívia, Vitor, Igor e Zé pela agradável convivência.

A Raphaella Migliavacca pela colaboração no trabalho, dando início a pesquisa e pelos esclarecimentos em relação à clínica endocrinológica, além da disponibilidade e paciência.

Aos meus pais, Arcélio e Marinês, eternos orientadores, em reconhecimento de tanto esforço em favor da minha educação. Quaisquer palavras ditas, por mais belas e sinceras, jamais serão suficientes para expressar minha gratidão e traduzir meus sentimentos em relação a vocês, pois são exemplos de honestidade, força e dedicação. Minha admiração por suas atitudes torna-lhes minha referência de vida.

Ao meu irmão Guilherme, e irmã Sibebe e cunhado Sidarta, pelo carinho e adorável convivência nos finais de semana, além do incentivo e companheirismo ao longo desta caminhada.

Ao meu amor, Rodrigo, que nos momentos de dificuldade me motivou e me deu forças para cumprir mais uma etapa na minha vida; que foi o porto que me abrigou nos dias de tempestade e o vento que me levou ao fim do percurso nos dias de sol. Obrigada por ter compartilhado comigo os momentos mais importantes, pela compreensão, incentivo e companheirismo ao longo dos anos, e principalmente por me ajudar a encontrar sempre a maneira mais simples e mais bonita de ver as coisas; e à sua família pelo carinho e apoio constantes.

A Deus, por me iluminar e me proteger em todos os momentos da minha vida.

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	10
LISTA DE ABREVIATURAS	12
LISTA DE TABELAS	14
LISTA DE FIGURAS	15
INTRODUÇÃO	16
1 PROLACTINA	16
1.1 ESTRUTURA DA PRL.....	16
1.2 BIOSÍNTESE, SECREÇÃO E REGULAÇÃO DA PRL.....	17
1.3 AÇÕES DA PRL.....	18
1.4 RECEPTOR DE PROLACTINA (RPRL)	18
1.4.1 Estrutura do RPRL.....	18
1.4.2 Transdução do sinal.....	19
1.4.3 Distribuição do RPRL.....	20
1.5 FORMAS DE PRL EM CIRCULAÇÃO.....	20
2 HIPERPROLACTINEMIA	21
2.1 CAUSAS DA HIPERPROLACTINEMIA	21
2.1.1 Fisiológicas.....	21
2.1.2 Fármacológicas	22
2.1.3 Patológicas	23
2.2 PROBLEMAS POTENCIAIS NO DIAGNÓSTICO DE HIPERPROLACTINEMIA	24
3 MACROPROLACTINEMIA	25
4 OBJETIVOS	28
5 CASUÍSTICA E MÉTODOS	29
5.1 POPULAÇÃO EM ESTUDO	29
5.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA	29
5.3 AVALIAÇÃO HORMONAL.....	30
5.4 DETERMINAÇÃO DA MACROPROLACTINA	31
5.5 AVALIAÇÃO DE EXAMES DE IMAGEM DA HIPÓFISE.....	32
5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
5.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	33
6 RESULTADOS	34
7 DISCUSSÃO	46

CONCLUSÕES	54
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
ARTIGO.....	62

RESUMO

A prolactina (PRL) é um hormônio peptídico sintetizado e secretado, principalmente, pelas células lactotróficas da glândula hipófise anterior, tendo como principal função a indução e manutenção da lactação. Existem três formas moleculares de PRL na circulação: PRL monomérica (*little prolactin*) com massa molecular de cerca de 23KDa, PRL dimérica (*big prolactin*) com 45 a 50KDa, e macroprolactina (*big big prolactin*) maior do que 150KDa. Esta última está geralmente ligada a imunoglobulinas G. Em condições normais, ou em pacientes com hiperprolactinemia sintomática, predomina em circulação a forma monomérica.

A hiperprolactinemia é uma das disfunções endócrinas hipotálamo-hipofisárias mais comuns em mulheres em idade reprodutiva. Ocorre mais freqüentemente por adenomas hipofisários (prolactinomas) e secundária ao uso de drogas com ação central. Na ausência de causas conhecidas, a hiperprolactinemia é considerada como idiopática. Finalmente, pode estar associada ao predomínio de macroprolactina no soro, sendo denominada macroprolactinemia. A suspeita de macroprolactinemia ocorre quando um paciente com hiperprolactinemia não apresenta os sintomas típicos e/ou não tem evidências radiográficas de tumor na hipófise, embora a macroprolactinemia possa estar ocasionalmente associada a prolactinomas.

Os objetivos deste trabalho foram: avaliar a freqüência de macroprolactinemia, através da precipitação com PEG, numa amostra de mulheres com hiperprolactinemia; descrever associações da macroprolactinemia com variáveis clínicas, hormonais e de imagem da hipófise; e caracterizar a evolução clínica e dos níveis de prolactina durante o seguimento desta coorte.

Realizou-se um estudo descritivo, onde foi estudada uma coorte de pacientes do sexo feminino (n = 32), consultando no HCPA de 1989 a 2005, com diagnóstico de hiperprolactinemia (>26ng/mL) e seguimento com agonistas da dopamina. Após um período de 3 meses sem tratamento (*washout*), as pacientes dosaram prolactina para investigação dos níveis séricos e presença de macroprolactina, e foram classificadas como aquelas que normalizaram os níveis séricos de prolactina durante estes anos de seguimento (Grupo Hprl prévia) e as que continuaram hiperprolactinêmicas. Estas foram reclassificadas como grupo de hiperprolactinêmicas cuja forma circulante predominante é a prolactina monomérica (Grupo Hprl mono) e o grupo de hiperprolactinêmicas com predominância de macroprolactina (Grupo Hprl macro). O percentual de macroprolactina foi calculado através dos valores de PRL totais obtidos das amostras íntegras em comparação com os níveis de PRL encontrados nas amostras precipitadas com PEG. Recuperações de prolactina monomérica > 50% classificaram a amostra como tendo predomínio de formas monoméricas, o percentual de recuperação ≤ 40% foi considerado como predomínio de formas de alto peso molecular (macroprolactinemia), e recuperação entre 40 e 50% indicou indefinição da forma predominante de PRL.

A frequência de macroprolactina foi de 28,1% (n = 32). Pacientes hiperprolactinêmicas com macroprolactinemia são significativamente mais jovens do que as hiperprolactinêmicas com a forma monomérica. Como esperado, tanto as pacientes do grupo Hprl macro como Hprl mono apresentam níveis de prolactina significativamente mais elevados que as pacientes Hprl prévia. Através do método de precipitação com PEG, identificou-se a forma predominante de prolactina na circulação em 71,8% dos casos (n = 32). Verificamos ainda que as pacientes com predominância de macroprolactina não apresentam os sintomas da síndrome hiperprolactinêmica, e na maioria dos casos, possuem exames de imagem por TC normal.

ABSTRACT

Prolactin is a polypeptide hormone that is synthesized in and secreted mainly from specialized cells of the anterior pituitary gland, the lactotrops. It plays a pivotal role in the lactation induction and maintenance. There are three main molecular forms of circulating PRL: the 23kDa monomer, the 45kDa dimer (big prolactin) and the macroprolactin (*big big prolactin*) that is higher than 150 kDa and is generally bounded to G immunoglobulin. This complex has longer half-life and decreased biological activity than the monomeric prolactin isoform. Both in normal conditions, and in patients with symptomatic hyperprolactinemia, the monomeric form is the predominant circulating prolactin.

Hyperprolactinemia is one of the most common hypothalamo-pituitary disorders in reproductive women. Clinical presentation results of the hormonal influence of PRL excess on target tissue from reproductive tract and breast. Frequent signs and symptoms are menstrual irregularity, galactorrhea and infertility. More common causes for hyperprolactinemia are: physiological, pharmacological and pathological ones. The reduced biological activity of macroprolactin seems to be due to its high molecular weight in comparison to monomeric prolactin. In general, macroprolactinemic patients, therefore, present no clinical symptoms.

The aims of this study were: 1) to evaluate prolactin serum concentration and the frequency of macroprolactinemia in a women cohort with hyperprolactinemia in a 10 year period and 2) to assess if there is associations with macroprolactinemia and clinical, hormonal and pituitary image exam features.

Thirty two hyperprolactinemic women (PRL >26ng/mL), consulting in the UEG-HCPA since 1989, were initially included. After a 3 months period without treatment (washout) prolactin was measured to assess prolactin serum levels and the percentual of macroprolactin. Patients presenting normalization of prolactin levels were classified as prior hyperprolactinemia (prior Hprl), and the others were named persistent hyperprolactinemia. This last group was sub-classified in two other sub-groups: hypeprolactinemia with prevalence of monomeric prolactin (mono Hprl) and hypeprolactinemia with prevalence of macroprolactin (macro Hprl). The percent of macroprolactin was calculated by the total prolactin levels from the whole samples, in comparison to the prolactin levels found in the PEG precipitated samples.

Recovery levels of monomeric prolactin $\leq 40\%$ expressed the predominant presence of macroprolactin while values > 50 classified as serum with predominance of monomeric prolactin form. When recovery levels were between 40 and 50 the test was considered as non discriminative.

In the present study, the frequency of macroprolactinemia was 28.2%. Patients with macro Hprl were significantly younger than mono Hprl. As expected, patients of the groups Mono Hprl and macro Hprl presented prolactin levels significantly higher than those from prior Hprl group. PEG precipitation method identified the prolactin predominant form in 71.8% of the

cases. In addition, women presenting macroprolactin predominance lack hyperprolactinemic symptoms and in the most of the cases, the tomography image is normal.

LISTA DE ABREVIATURAS

cDNA	DNA complementar
CGF	Cromatografia em gel de filtração
CV	Coefficiente de variação
DA	Dopamina
DP	Desvio padrão
E2	17 β estradiol
EC	Extracelular
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
FSH	Hormônio folículo estimulante
g	Grama
GAS	Seqüência ativada de γ -interferon
GH	Hormônio do crescimento
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
IC	Intracelular
IgG	Imunoglobulina G
IMC	Índice de massa corporal
IP3	Trifosfato de inositol
IRMA	Ensaio imunorradiométrico
IRS1	Substrato receptor de insulina 1
Jak2	Janus kinase 2
LH	Hormônio luteinizante
LP	Lactogênio placentário
μ L	Microlitro

mL	Mililitro
mRNA	RNA mensageiro
MAPK	Proteína kinase ativada por mitógeno
NaCl	Cloreto de sódio
ng	Nanograma
PEG	Polietilenoglicol
pg	Picograma
PRL	Prolactina
PCOS	Síndrome dos ovários policísticos
RM	Ressonância magnética
rpm	Rotações por minuto
RPRL	Receptor de prolactina
SNC	Sistema nervoso central
STAT	Transdutor de sinal e ativador da transcrição
T4	Tiroxina
TC	Tomografia computadorizada
TSH	Hormônio tireotrófico
TRH	Hormônio liberador de tireotrofina
UEG	Unidade de Endocrinologia Ginecológica
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
VIP	Peptídeo vasoativo intestinal

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Percentual de recuperação de prolactina pós-recuperação com PEG
Tabela 2	Dados clínicos, iniciais e atuais, das pacientes estudadas
Tabela 3	Exames de imagem da hipófise, iniciais e atuais, das pacientes estudadas
Tabela 4	Dados clínicos e de exames de imagem da hipófise, iniciais e atuais, nos 3 grupos de pacientes: Hprl prévia, Hprl mono e Hprl macro
Tabela 5	Valores hormonais de TSH, FSH e LH nos 3 grupos
Tabela 6	Dados clínicos, hormonais e de exames de imagem da hipófise do grupo de pacientes Hprl prévia (1-7)
Tabela 7	Dados clínicos, hormonais e de exames de imagem da hipófise do grupo de pacientes Hprl mono (8-14)
Tabela 8	Dados clínicos, hormonais e de exames de imagem da hipófise do grupo de pacientes Hprl macro (15-21)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura da prolactina
Figura 2	Principais causas da hiperprolactinemia
Figura 3	Amostra em estudo
Figura 4	Concentração sérica de PRL inicial em ng/mL
Figura 5	Concentração sérica de PRL atual em ng/mL
Figura 6	Concentração sérica de estradiol inicial em pg/mL
Figura 7	Concentração sérica de estradiol atual em pg/mL

INTRODUÇÃO

1 PROLACTINA

1.1 Estrutura da PRL

No genoma humano, um único gene encontrado no cromossomo 6, denomina-se prolactina (PRL) (1). Este gene possui 10Kb e é composto por 5 exons e 4 íntrons (1). O pró-hormônio PRL possui 227 aminoácidos, sendo que o hormônio é composto por 199 aminoácidos (1,2).

Estudos da estrutura secundária de PRL têm mostrado que 50% dos aminoácidos da cadeia estão arranjados em α -hélices, enquanto o restante dela forma alças (*loops*) (1). De acordo com o modelo tridimensional, a PRL contém 4 longas α -hélices dispostas em forma anti-paralela (1) (Fig.1).5

A seqüência de aminoácidos da PRL guarda semelhanças com a de outros dois hormônios peptídeos: hormônio do crescimento (GH) e lactogênio placentário (LP) (1). Como estas proteínas homólogas compartilham características genômicas, estruturais, imunológicas e biológicas, elas foram agrupadas em uma família chamada PRL/GH/PL (3). Cada um contém um domínio extracelular (EC), transmembrana, e intracelular (IC) (1). Mais recentemente, a PRL foi vinculada a uma família ainda maior de proteínas denominadas citocinas hematopoiéticas (4). Esta denominação é baseada em evidências moleculares e funcionais: 1) seu receptor é um membro da superfamília dos receptores de citocinas; 2) a PRL possui 4 α -hélices dispostas em forma anti-paralela, característica das citocinas hematopoiéticas (5); 3) a PRL atua nas células do sistema imune, tendo um papel imunomodulatório (1).

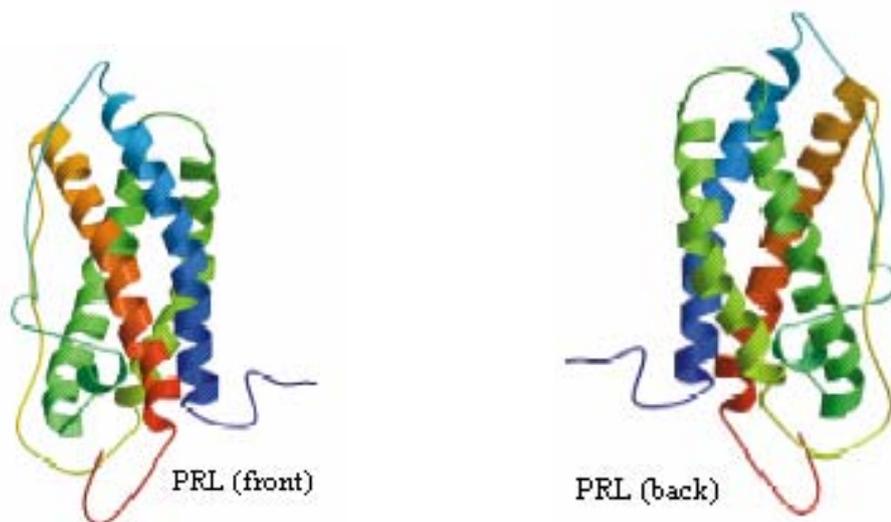


Figura 1 - Estrutura da prolactina (7)

1.2 Biossíntese, secreção e regulação da PRL

A PRL é um hormônio peptídico sintetizado e secretado, principalmente, por células especializadas na glândula hipófise anterior, os lactotrofos (6). Além da hipófise, a placenta é o principal órgão secretor de prolactina (7), além de outros tecidos que também secretam este hormônio, como útero (7, 102), próstata, endotélio, sistema imune, SNC (7), entre outros.

A PRL é regulada por hormônios hipotalâmicos através da circulação porta hipotálamo-hipófise (8). A secreção de PRL pela hipófise é regulada principalmente por fatores inibitórios originados do hipotálamo, cujo mais importante é a dopamina (DA), que atua através de receptores D2 presentes nos lactotrofos (6).

Embora o controle inibitório sobre a secreção de PRL seja predominante, peptídeos hipotalâmicos, especialmente TRH (hormônio liberador de tireotrofina) (8,9) e VIP (peptídeo vasoativo intestinal) exercem uma ação positiva sobre a biossíntese e secreção da PRL. O balanço entre os sinais inibitório e estimulatório determina a quantidade de PRL liberada pela glândula hipófise anterior (8). Além disso, a quantidade de PRL eliminada pelo fígado influencia a concentração de PRL sérica (8,10). Vários agentes farmacológicos podem também interferir com a secreção de PRL.

1.3 Ações da PRL

A PRL é um hormônio hipofisário que desempenha papel essencial em uma variedade de funções, sendo a principal a indução e manutenção da lactação (11,12). Durante a lactação, os níveis de PRL se elevam e, juntamente com outros hormônios (estrógeno, progesterona, hormônio tireoideo, cortisol e insulina), estimulam o epitélio mamário a proliferar e induzir a síntese de leite (9).

Além disso, a PRL, quando em concentrações circulantes aumentadas, está associada a redução da secreção do hormônio luteinizante (LH) e folículo-estimulante (FSH). A hiperprolactinemia é uma condição clínica comumente identificada, especialmente em mulheres durante o período reprodutivo (12).

Suas ações biológicas, porém, não são limitadas à reprodução. A PRL possui diversas outras funções em diferentes espécies e fases de desenvolvimento: controle de água e balanço eletrolítico, crescimento e desenvolvimento, comportamento e imunorregulação (13).

As ações da prolactina ocorrem através da ligação com receptor específico (RPRL).

1.4 Receptor de prolactina (RPRL)

1.4.1 Estrutura do RPRL

Há cerca de 3 décadas atrás o RPRL foi identificado como uma proteína de ligação de membrana, saturável, específica e de alta afinidade (9). Além da isoforma curta, cujo cDNA foi clonado (14), as isoformas longa e intermediária, baseadas no seu comprimento total, foram identificadas (13). O gene que codifica o RPRL humano está localizado no cromossomo 5 e contém pelos menos 10 éxons com um comprimento total maior que 100Kb (15,16). O RPRL é expresso em todos os órgãos e tecidos, podendo existir em níveis muito baixos em certas células, tais como as células do sistema imune; dependendo do tipo de célula, os níveis podem variar de 200 a 3000 receptores por célula (13).

A regulação da transcrição do gene do RPRL é efetuada por 3 diferentes regiões promotoras específicas do tecido. Promotora I é específica para gônadas, promotora II para o fígado, e promotora III é geral, presente em ambos os tecidos, gonadal e não-gonadal (17).

Domínio EC do RPRL: pode ser dividido em NH₂-terminal D1 e subdomínios D2 proximal da membrana (18,19). Cada molécula de PRL contém 2 sítios de ligação (sítio 1 e 2) cada um interagindo com uma molécula do RPRL. Primeiro, o sítio 1 de ligação da PRL interage com a molécula do RPRL (20). A formação inicial deste complexo hormônio-receptor é o pré-requisito para a interação do sítio de ligação 2 na mesma molécula de PRL com um segundo RPRL (13). Ativação do RPRL envolve a dimerização do receptor seqüencial induzida por ligantes (3,13), os quais podem ser PRL, GH ou LP (3,19).

Domínio IC do RPRL: é composto por 2 regiões chamadas *box 1* e *box 2* (21). Embora o domínio IC do RPRL seja desprovido de qualquer atividade enzimática intrínseca, a ativação do RPRL mediada por ligante resulta na fosforilação da tirosina de numerosas proteínas celulares (22), incluindo o próprio receptor (18). A região proximal da membrana do domínio IC está associada com a tirosina kinase denominada janus kinase 2 (Jak2) (23). A ativação de Jak2 ocorre pela transfosforilação sobre a dimerização do receptor, o qual traz duas moléculas de Jak2 para perto uma da outra (24); Jak2 kinases transfosforilam uma a outra e estão envolvidas na transfosforilação de resíduos de tirosina do próprio RPRL (25).

1.4.2 Transdução do sinal

A interação hormônio-RPRL desencadeia uma cascata de sinalização IC. Não existem evidências de que o tipo de ligante (PRL/GH/LP) possa afetar a natureza do sinal transmitido no interior celular. Como todos os receptores da família de citocinas, o RPRL não possui atividade enzimática intrínseca e traduz sua mensagem dentro da célula via kinases associadas, que desencadeiam a cascata de sinalização. A mais conhecida envolve as vias Jak/Stat, Ras-Raf-MAPK e Src (13).

A família de proteínas STAT (transdutor de sinal e ativador da transcrição) se acopla ao receptor, sendo fosforilada pela Jak2 associada ao receptor. A STAT fosforilada se dissocia do receptor (13) e transloca-se para o núcleo onde ativa um motivo GAS (seqüência ativada

de γ -interferon) (4) ligado ao DNA STAT no promotor do gene alvo (13). STAT interage com outros transdutores de sinal para iniciar uma resposta específica da citocina e da célula (26).

Embora Jak / STAT sejam as vias mais importantes da ativação do RPRL, pode ocorrer a ativação da cascata da MAPK (proteína kinase ativada por mitógeno) (27). Os resíduos de fosfotirosina do RPRL podem servir como sítios de acoplamento para proteínas adaptadoras (Shc / Grb2 / SOS) conectando o receptor à casacata Ras / Raf / MAPK (1).

Estudos recentes indicam que a ativação da PRL é induzida por membros da família kinase Src (28), c-src (28) e Fyn (29). A fosforilação do IRS-1 (substrato receptor de insulina), e uma subunidade da IP3 Kinase (trifosfato de inositol kinase) foram também descritas (30).

1.4.3 Distribuição do RPRL

Sabe-se que o RPRL está presente na glândula mamária e ovários, dois dos mais bem caracterizados sítios de ação da PRL em mamíferos (31). Além disso, o receptor e seu mRNA são também encontrados em diversas partes do SNC (32). Os RPRL estão presentes em muitos órgãos periféricos como glândula hipófise, coração, pulmão, timo, baço, fígado, pâncreas, rim, glândula adrenal, útero, músculo esquelético e pele (13,31). Recentes estudos identificaram células endoteliais da veia umbilical (33), próstata (34,35), células leucêmicas mielóides (36), como novas fontes de PRL.

1.5 Formas de PRL em circulação

Existem três formas moleculares de PRL na circulação: a PRL monomérica (*little prolactin*) com massa molecular de cerca de 23KDa, que contribui com aproximadamente 85% da PRL presente em indivíduos normais, a PRL dimérica (*big prolactin*) com 45 a 50KDa, representando 10-15%, e a macroprolactina (*big big prolactin*) maior do que 150KDa (37,38,39,40). Em condições normais, ou em pacientes com hiperprolactinemia sintomática, predomina em circulação a forma monomérica (39,40,41). As formas monoméricas podem ser glicosiladas e estas correspondem a 30-40% da PRL circulante (42).

Os níveis normais de PRL no soro variam de acordo com o ensaio utilizado. Hershlagn e Peterson consideraram níveis normais de PRL os valores compreendidos entre 5ng/mL e

27ng/mL (11). A PRL é secretada de forma pulsátil, ocorrendo cerca de 14 pulsos em 24 horas durante a fase folicular tardia e 9 pulsos durante a fase lútea tardia (11,43).

2 HIPERPROLACTINEMIA

Hiperprolactinemia é o distúrbio hipotálamo-hipofisário mais comum encontrado em mulheres durante o período reprodutivo. A apresentação clínica da hiperprolactinemia resulta da influência hormonal da PRL sobre os tecidos alvo, principalmente o sistema reprodutivo e gonadal e o tecido mamário. Podem ocorrer ainda hipogonadismo manifesto por infertilidade e irregularidade menstrual, e galactorréia (44,53).

A hiperprolactinemia é encontrada principalmente em pacientes do sexo feminino (45). Sua prevalência varia de 0,4% em uma população não selecionada de adultos normais, a valores tão altos quanto 9-17% em mulheres com distúrbios reprodutivos (46).

A dosagem de PRL sérica tem indicações cada vez mais amplas que incluem a presença de alterações menstruais, amenorréia, infertilidade e galactorréia em mulheres (41,45,47). Além disso, é importante a investigação de tumores da região selar em pacientes que apresentam esta condição (41,45).

2.1 Causas da hiperprolactinemia

As causas que podem levar à hiperprolactinemia compreendem três principais categorias: fisiológicas, farmacológicas e patológicas, podendo surgir também quando há predomínio no soro da macroprolactina (macroprolactinemia) (Fig.2) (42,43).

2.1.1 Fisiológicas

As causas fisiológicas mais comuns são principalmente gravidez (42,45,48) e amamentação (45,48). Além disso, estresse (11,42,49), exercício (11,49) e sono (11,49), aumentam a liberação de um ou mais fatores liberadores da PRL, aumentando os níveis séricos do hormônio (11,49). A concentração de PRL pode ainda aumentar por estimulação dos mamilos e refeições com alto teor de proteínas (11).

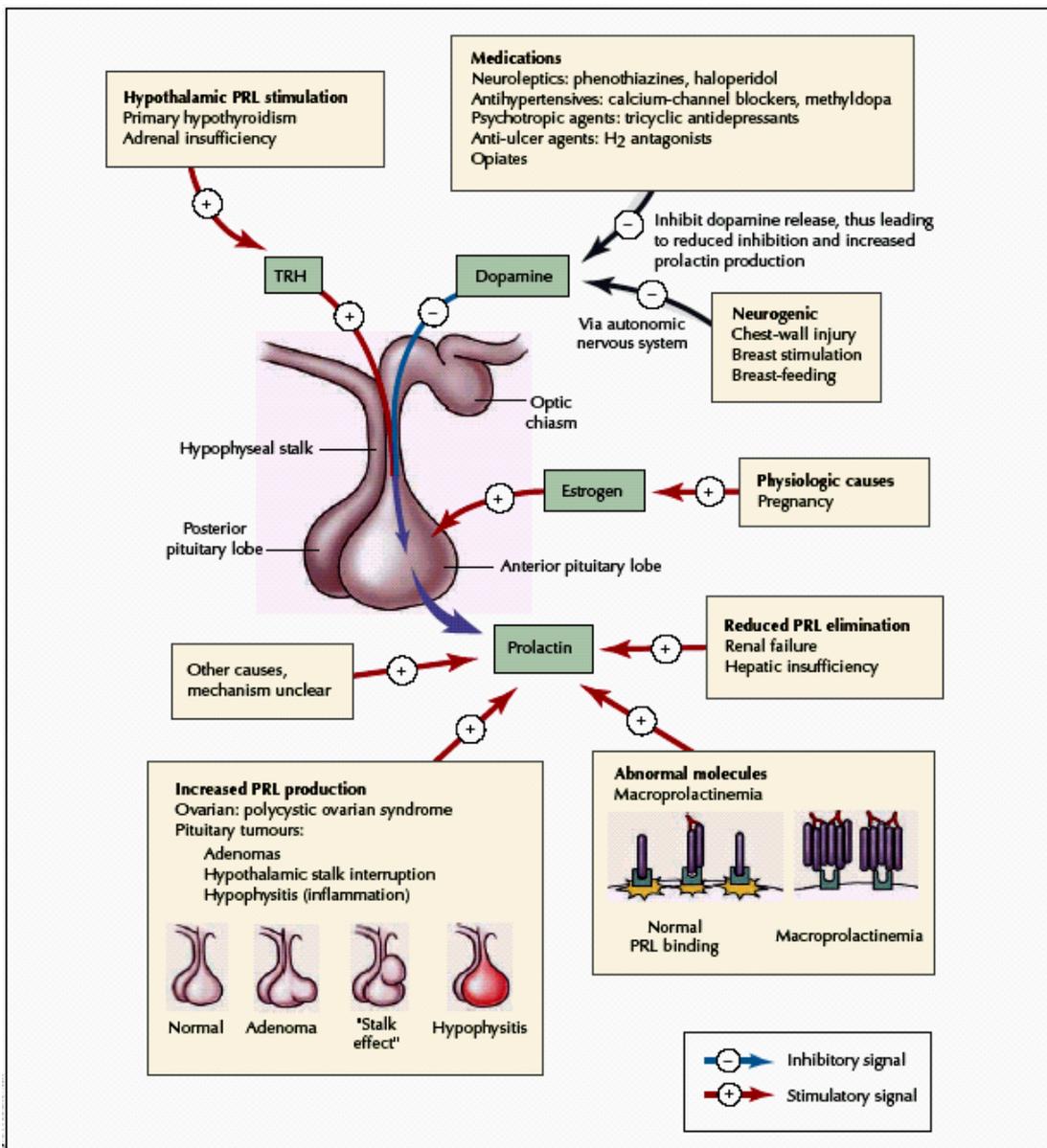


Figura 2 – Principais causas da hiperprolactinemia: PRL está sob o controle do hipotálamo, onde a DA atua como um sinal inibitório, prevenindo a secreção de PRL; e TSH, sob algumas condições, estimula a produção e liberação da PRL. A produção hormonal aumentada pela adeno-hipófise pode ocorrer devido a um adenoma produtor de PRL ou inflamação. No entanto, condições que prejudicam a liberação de DA ou aumentam a liberação de TRH, ou ambos, resultam em uma produção aumentada de PRL. Em geral, medicamentos resultam no aumento da produção de PRL através de suas propriedades anti-dopaminérgicas. Danos da parede das mamas e estimulação dos mamilos levam a diminuição da liberação de DA para a circulação porta-hipofisária. Em algumas condições, como insuficiência renal ou hepática, a PRL é removida mais lentamente da circulação sistêmica, o que resulta no aumento dos níveis de PRL (50).

2.1.2 Fármacológicas

A causa mais comum de hiperprolactinemia é aquela desencadeada por uso de drogas (42,49) que atuam através de diferentes mecanismos: diminuição da transcrição do gene da

DA (estrógenos), antagonismo ao receptor da DA (neurolépticos, metoclopramida, sulpirida, etc), depleção de DA (reserpina, metildopa), inibição da produção central de DA (verapamil, heroína, morfina, análogos da encefalina), inibição da recaptação de DA (antidepressivos tricíclicos, cocaína, anfetamina, inibidores da monoamino oxidase), inibição da recaptação de serotonina (opióceos, fenfluramina, fluoxetina), entre outros (49).

2.1.3 Patológicas

A principal causa de hiperprolactinemia patológica são os prolactinomas que representam o adenoma hipofisário funcionante mais comum (8), variando de 20-27% (53) e 40-60% dos casos (45,48). Em mais de 30% das mulheres com hiperprolactinemia a avaliação por imagem demonstra adenoma. Microadenomas (<10mm) raramente evoluem para macroadenomas (>10mm) (11).

Pequenas elevações de PRL (entre 20ng/mL e 50ng/mL) podem causar apenas secreção insuficiente de progesterona e, assim, uma fase lútea curta ou inadequada. Além disso, a hiperprolactinemia pode estar associada à infertilidade mesmo sem alterações significativas do ciclo menstrual (51). As mulheres que apresentam amenorréia e hiperprolactinemia podem também ter uma densidade mineral óssea inferior quando comparadas com mulheres normais ou com mulheres com hiperprolactinemia, mas sem alteração da ciclicidade menstrual (52). Galactorréia é uma manifestação comum de hiperprolactinemia, embora pacientes com esta manifestação possam apresentar níveis normais de PRL, e um número significativo de pacientes com hiperprolactinemia não apresente galactorréia (11).

Nos pacientes com macroprolactinomas, os níveis séricos de PRL usualmente são >200ng/mL, enquanto naqueles com microprolactinomas geralmente se situam entre 100 e 200ng/mL, mas, podendo ser <100ng/mL (45). Outros tumores da região hipotalâmico-hipofisária podem também cursar hiperprolactinemia, seja por produção aumentada da PRL ou por comprometimento da haste hipotálamo-hipofisária (45,48,49,53), condição denominada *pseudoprolactinoma*. Este último caracteriza-se por não ser secretor de PRL, mas interferir com o aporte de DA do hipotálamo para a hipófise (45). Nos pacientes com pseudoprolactinomas, a hiperprolactinemia resulta de compressão da haste hipofisária e os níveis de PRL geralmente são <150ng/mL (48). Cerca de 1/3 de todos os tumores hipofisários não estão associados com síndromes hipersecretórias, mas apresentam sintomas da presença

de massa intracranial, como cefaléia, náuseas, vômito e distúrbios visuais. Devido a expansão supra-selar, os tumores hipofisários podem interromper a secreção de DA do hipotálamo para a hipófise, resultando em diminuição da inibição secretória de PRL. Em contrapartida, tumores que produzem GH podem também secretar PRL em cerca de 25% dos casos (8). Para tumores que secretam tanto GH quanto PRL, a terapia com agentes inibitórios de GH é o melhor tratamento, na maioria dos casos (50).

Outros distúrbios hipofisários e doenças sistêmicas também podem levar à hiperprolactinemia. Ela é encontrada em cerca de 40% dos pacientes com hipotireoidismo primário e em 17-30% dos casos de síndrome dos ovários policísticos (PCOS) (55). Também é um achado comum em pacientes com cirrose hepática (presente em até 20% dos casos) ou insuficiência renal (45,55). Cerca de 8,5% a 40% dos casos de hiperprolactinemia são classificados como hiperprolactinemia “idiopática” pois suas causas não são conhecidas (56), estando a macroprolactinemia inclusa nesta categoria.

A hiperprolactinemia idiopática tem sido reservada para os pacientes sem uma causa óbvia para o distúrbio hormonal (45,55). Na maioria dos casos, trata-se, provavelmente, de microadenomas com diâmetros muito reduzidos (< 3mm) que não foram detectados pelos métodos de imagem (49).

A hiperprolactinemia neurogênica leva à elevação reflexa da PRL mediada pela ativação das vias aferentes que seguem através do cordão medular e pode ocorrer devido a lesões irritativas da parede torácica (*herpes zoster*, toracotomia, queimadura, mastectomia) e por patologias do cordão medular (ependimoma cervical, seringomielia, tabes dorsalis, tumores extrínsecos) (49).

2.2 Problemas potenciais no diagnóstico de hiperprolactinemia

Na abordagem diagnóstica da hiperprolactinemia, três problemas potenciais merecem atenção especial: os incidentalomas hipofisários (presentes em 10% da população adulta à ressonância magnética), o efeito gancho, e a macroprolactinemia. O efeito gancho se caracteriza pela presença de níveis falsamente baixos de PRL, quando se empregam imunoensaios de dois sítios em pacientes com grandes prolactinomas e hiperprolactinemia muito acentuada (48,57,58), sejam eles imunorradiométricos, por quimioluminescência ou

enzima-imunoensaios (48,57). Nestes ensaios são utilizados dois anticorpos que formam "complexos sanduíches" com o antígeno (no caso, a PRL), o anticorpo de fase sólida (captura) e o de fase líquida (sinalizador) (48,57). Na presença de níveis muito elevados de PRL, após a ligação da PRL ao anticorpo de captura, o excesso de PRL impede a ligação do segundo anticorpo, o sinalizador, não havendo a formação dos referidos "complexos sanduíches" (48,57,58).

O efeito gancho, quando se usa o IRMA (ensaio imunorradiométrico) (57), pode ser "desmascarado" através de uma nova dosagem da PRL após diluição do soro a 1:100, quando se observará um aumento dramático do valor do hormônio (48,57,58). Ele deve ser excluído em qualquer paciente com um macroadenoma e níveis séricos de PRL <200ng/mL (58).

3 MACROPROLACTINEMIA

Quando o soro do paciente com hiperprolactinemia contém principalmente *big big* PRL a condição é chamada macroprolactinemia (41). A importância do achado de predomínio de formas moleculares de alto peso molecular se prende ao fato de que estas formas teriam menor atividade biológica e estariam associadas a casos assintomáticos ou oligossintomáticos.

A suspeita de macroprolactinemia ocorre quando um paciente com hiperprolactinemia não apresenta os sintomas típicos e/ou não tem evidências radiográficas de tumor na hipófise (10,41,59), embora a macroprolactinemia possa estar ocasionalmente associada a prolactinomas. Especialmente em pacientes cujo quadro clínico de hiperprolactinemia não seja característico, a pesquisa de macroprolactinemia é fundamental (41).

Sugere-se que a reduzida atividade biológica da macroprolactina (comparada com PRL monomérica) é a causa da ausência de sintomas em pacientes com macroprolactinemia. Numerosos estudos têm documentado a presença de macroprolactinemia em pacientes com hiperprolactinemia, mas não os sintomas clínicos da doença (60,61,62,63), enquanto outros, apresentam queixas como oligomenorréia ou amenorréia, galactorréia e infertilidade (10,61,64,65,66,67,68,69,70). No entanto, como a dosagem de PRL é induzida pela presença dos sintomas de hiperprolactinemia, e estes não são específicos, a ocorrência destes sintomas e a macroprolactinemia podem estar coincidentemente relacionados (71).

As formas de alto peso molecular da PRL representam dímeros, polímeros e agregados de PRL, além de PRL ligada a proteínas (2,72,74). São formadas por ligações covalentes ou não covalentes (2,38,40,60,74). Estudos têm evidenciado, no entanto, que a macroprolactinemia se dá, na maioria das vezes devido a complexos PRL-IgG (2,40,74,75,76,77).

Inicialmente especulou-se que a PRL ligada à IgG poderia ter menor atividade biológica (2,72,73) devido ao seu grande tamanho molecular (78,79) *in vivo*. No entanto, o complexo PRL-IgG apresenta atividade biológica similar à da PRL livre *in vitro*. Então, por que a maioria dos pacientes com auto anticorpos anti-PRL não apresentam os sintomas da hiperprolactinemia *in vivo*, embora a PRL ligada à IgG seja completamente bioativa *in vitro*? Uma das possibilidades é uma anormalidade no receptor de PRL (2,72,73) e/ou na via de transdução de sinal após a ligação ao receptor. Outra possibilidade é que a PRL ligada à IgG não exerça atividade biológica completa *in vivo* porque a passagem da PRL para as células alvo através da parede capilar pode estar diminuída devido ao grande tamanho molecular e/ou alterações na carga da molécula (59).

A macroprolactinemia foi relatada primariamente a mais de 30 anos atrás (80). A macroprolactina é eliminada mais lentamente que a PRL monomérica e conseqüentemente acumula-se no soro de indivíduos afetados (66,73). A ligação da PRL à imunoglobulina altera suas propriedades funcionais (41,59,75,81); devido a sua grande massa molecular, o complexo auto-imune possui capacidade limitada para atravessar o epitélio vascular (41,59,75,81), ficando confinado ao endotélio vascular, o que a torna menos disponível para a ligação com os receptores específicos (41,59,75,81), tendo por isso, limitada bioatividade *in vivo* (82). É aceito que o mecanismo de *feedback negativo* do hipotálamo pelos elevados níveis de PRL não ocorre porque o complexo não consegue chegar ao hipotálamo (59).

A significância biológica da macroprolactina ainda não está completamente esclarecida, mas existem evidências de que ela esteja envolvida em processos de armazenamento, transformação e liberação do hormônio (83).

A macroprolactinemia ocorre em ambos os sexos (10,67,76) e em crianças, e o aumento da *big big* PRL ocorre durante a gravidez devido a ligação da PRL a anticorpos específicos (38,64). A frequência de macroprolactinemia em pacientes com hiperprolactinemia referida na literatura varia de acordo com a casuística publicada, mas gira na faixa de 25% (38,64). A

prevalência de macroprolactinemia em pacientes com hiperprolactinemia varia de 18 a 42% quando amostras de laboratórios de referência são analisadas (38,64).

Cabe salientar que o predomínio de formas de alto peso molecular não implica, necessariamente, em baixos níveis de formas monoméricas, ou seja, o paciente pode ter hiperprolactinemia devido tanto ao aumento da macroprolactina como da PRL monomérica (42).

A identificação da macroprolactinemia pode ajudar a definir a etiologia em pacientes com hiperprolactinemia idiopática, e em alguns casos, o reconhecimento de macroprolactinemia pode eliminar a necessidade de testes laboratoriais ou imagem de hipófise. Isto é especialmente importante porque 10% dos indivíduos saudáveis apresentam evidências radiográficas de um adenoma de hipófise (84).

Hauache et al (66) mostraram que a presença de macroprolactinemia não exclui totalmente a possibilidade de um adenoma hipofisário, mas pacientes assintomáticos com macroprolactinemia geralmente apresentam estudos radiográficos normais.

A presença ou ausência de macroprolactinemia deve ser avaliada em todas as amostras que apresentam hiperprolactinemia. Se os pacientes com teste de PEG (polietilenoglicol) positivo não apresentam sintomas clínicos de hiperprolactinemia, como amenorréia e galactorréia, é mais provável que a hiperprolactinemia se deva à macroprolactina. Nestes casos, exames hormonais ou neurológicos repetidos devem ser evitados, assim como tratamentos desnecessários com bromocriptina (85).

As mulheres representam a maioria dos casos de macroprolactina, embora esta seja observada em ambos os sexos. Desta forma, considerou-se que o estudo de uma coorte de pacientes do sexo feminina e sua evolução clínica a longo prazo, poderia contribuir para uma melhor compreensão da fisiopatologia desta forma de hiperprolactinemia. Desta forma, neste trabalho buscou-se examinar as relações entre a hiperprolactinemia, o percentual de macroprolactina, a presença ou não de lesões hipofisárias e o impacto destas variáveis sobre a apresentação e seguimento clínicos.

4 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

- ▶ determinara frequência de macroprolactinemia numa amostra de mulheres com hiperprolactinemia;
- ▶ Descrever associações da macroprolactinemia com variáveis clínicas, hormonais e exames de imagem da hipófise;
- ▶ Verificar a evolução clínica e dos níveis de prolactina durante o seguimento desta coorte;

5 CASUÍSTICA E MÉTODOS

5.1 População em estudo

Foi realizado um estudo descritivo avaliando uma coorte de pacientes do sexo feminino, com níveis elevados de PRL ($>26\text{ng/mL}$), consultando na Unidade de Endocrinologia Ginecológica (UEG), Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre de 1989 a 2005, com diagnóstico de hiperprolactinemia, de acordo com a rotina da UEG. Foram excluídas as pacientes que apresentaram qualquer um dos critérios abaixo: a) hipotireoidismo b) hiperprolactinemia secundária a drogas c) gestação.

Assim, a amostra inicial foi constituída por 32 pacientes que estavam em acompanhamento devido a hiperprolactinemia. Estas aceitaram suspender o tratamento (com agonistas da dopamina: cabergolina ou bromocriptina) por 3 meses e realizar a dosagem de prolactina e pesquisa de macroprolactina.

5.2 Avaliação clínica

A avaliação clínica foi realizada pela equipe médica da UEG no HCPA; O protocolo incluiu ainda a investigação de idade, ciclo menstrual, fertilidade, gestação e paridade, cefaléia e galactorréia. As medidas antropométricas incluíram peso e altura para determinação do IMC (índice de massa corporal):

- **Peso:** verificado na balança antropométrica Filizola com escala de 100 g. A balança e a escala estavam equilibradas, a paciente usava roupas leves e estava descalça;

- Altura: verificada no estadiômetro fixo na parede. A paciente estava em posição ereta e descalça.
- IMC: calculado pela fórmula peso (kg) / altura² (m). Considerou-se obesidade o IMC ≥ 30 Kg/m², sobrepeso o IMC 25-29,9 Kg/m² e normalidade o IMC 18,5-24,9 Kg/m² (54).

5.3 Avaliação hormonal

A avaliação hormonal consistiu de determinação dos níveis plasmáticos de E2 (17 β estradiol), TSH (hormônio tireotrófico), gonadotrofinas (FSH – hormônio folículo estimulante e LH – hormônio luteinizante), T4 (tiroxina) e PRL (prolactina).

Foram utilizados como valores normais de PRL a faixa que vai de 2,7 a 26 ng/mL, conforme o kit de IRMA MAIAclone (Adaltis Itália S.p.A) utilizado.

Cerca de 4mL de sangue venoso foram coletados num tubo de vidro com EDTA. O sangue coagulou e o tubo foi levado à centrifugação por 5 minutos a 5000rpm. A fração sérica foi separada e armazenada em tubos ependorfes de 5mL em freezer, à temperatura de -20°C até ser utilizado. Uma alíquota foi encaminhada ao Serviço de Patologia Clínica do HCPA, e outra, ao Laboratório de Endocrinologia Molecular e Neuroendocrinologia da UFRGS.

Todas as amostras de sangue foram obtidas de uma veia antecubital e durante o início da fase folicular (entre o primeiro e o décimo dia do ciclo) no caso de mulheres com fluxo menstrual normal, ou em qualquer dia nas pacientes amenorréicas.

A coleta foi realizada entre 8:00 e 10:00 horas na UEG (Unidade de Endocrinologia Ginecológica) do HCPA. As dosagens hormonais iniciais e atuais, a partir do soro dos pacientes, foram realizadas no HCPA, utilizando kits comerciais de ensaio imunorradiométrico (IRMA), quimioluminescência e eletroquimioluminescência. Os níveis de PRL iniciais foram dosados pelos mesmos métodos, também no HCPA. Já, no Laboratório de Endocrinologia Molecular e Neuroendocrinologia do Departamento de Fisiologia, os níveis de PRL atuais foram dosados por ensaio IRMA, utilizando o kit MAIAclone (Adaltis Itália S.p.A). Este foi concebido de modo que o efeito gancho, característico de ensaios IRMA, não interfira com as determinações de prolactina. As amostras com concentrações de prolactina

compreendidas entre 500 e 10.000 ng/mL dão valores superiores a 500 ng/mL. Quaisquer amostras que se suspeite terem valores acima deste, devem ser devidamente diluídas para que se obtenha os níveis corretos. A sensibilidade do método é de 0,3 ng/mL e os parâmetros de precisão para dosagem de prolactina são: coeficiente de variação (CV) entre-ensaio: 6% e CV intra-ensaio: 3,2%.

5.4 Determinação da macroprolactina

Para a identificação bioquímica da macroprolactina, submeteu-se cada amostra de soro a processos que precipitam as imunoglobulinas, pelo tratamento de precipitação com polietilenoglicol (PEG), que é o método mais empregado para pesquisa da existência de quantidades significativas de macroprolactina (41).

O soro de todas as pacientes em que se detectou valores de PRL >26ng/mL foi tratado com solução salina de PEG a 12,5%, para a determinação quantitativa da PRL. Este é o método de rastreamento mais empregado, por sua simplicidade, boa reprodutibilidade e correlação com o método de referência (86). O princípio deste teste tem como base a observação que a exposição de imunoglobulinas a concentrações definidas de PEG levam à sua insolubilização. O teste é feito com a mistura de quantidades iguais de soro do paciente e de uma solução de 250g/L de PEG 6000 em salina (0.9% NaCl), mantida a 4°C. Após mistura em agitador tipo vórtex por 1 minuto, a mistura foi submetida à centrifugação por 5 minutos a 8000rpm. A quantidade de PRL existente no sobrenadante das amostras foi medida por IRMA, e a quantidade de macroprolactina calculada com base no valor inicial da amostra.

Utilizou-se dois anticorpos monoclonais no ensaio imunorradiométrico (IRMA) e as amostras, os padrões e os controles reagiram com uma mistura de anticorpos monoclonais anti-PRL. Um anticorpo marcado com Iodo 125 ligou-se rapidamente a um único sítio na molécula de PRL. Um segundo anticorpo monoclonal ligado a fluoresceína ligou-se a um sítio diferente na molécula de PRL, formando um “sanduíche”. Após incubação por 1 hora a temperatura ambiente um anticorpo anti-fluoresceína ligado a uma fase sólida magnética (MAIA) foi acrescentado em excesso. Este se ligou de forma rápida e específica ao complexo de anticorpo monoclonal anti-PRL, sedimentando num campo magnético e eliminando a necessidade de centrifugação. Uma simples fase de lavagem reduz ao mínimo as ligações não específicas, permitindo uma maior precisão a baixas concentrações. A concentração do

antígeno é diretamente proporcional à radiatividade ligada ao reagente de separação. Mediuse a fração ligada (“pellet” do reagente de separação) de cada amostra, padrão e controle num contador de raios gama calibrado para detecção de Iodo 125, e pôde-se determinar a concentração de PRL nas amostras e controles através da interpolação dos resultados sobre uma curva dose-resposta.

O percentual de macroprolactina foi calculado através dos valores de PRL totais obtidos das amostras íntegras em comparação com os níveis de PRL encontrados nas amostras precipitadas com PEG. A obtenção de valores baixos significa que a maior parte da PRL foi precipitada pelo PEG, permitindo concluir que a macroprolactina representa a maior parte da PRL circulante. Este novo valor de PRL foi comparado ao inicial – obtido antes do soro ser submetido ao tratamento com o agente precipitante – e determinou-se a porcentagem de recuperação do hormônio (42).

Recuperações de prolactina monomérica $> 50\%$ (8,124) classificam a amostra como tendo predomínio de formas monoméricas, enquanto o percentual de recuperação $\leq 40\%$ (64,65,67) significa predomínio de formas de alto peso molecular (macroprolactinemia). Recuperação entre 40 e 50% indica indefinição da prolactina predominante, ou seja, uma amostra pode conter macroprolactina e prolactina oligomérica, além de formas monoméricas. Nestes casos, a cromatografia por gel de filtração (CGF), onde a eluição se dá em função do peso molecular (41), é necessária para confirmar a presença de macroprolactina (64,87).

O reconhecimento das formas de alto peso molecular varia de acordo com o método utilizado para a quantificação de PRL. Alguns ensaios reconhecem melhor do que outros as formas de alto peso molecular, resultando em valores diferentes de PRL (41,42), não podendo ser comparados. Esse fenômeno parece depender dos anticorpos empregados no ensaio. Porém, o reconhecimento das formas monoméricas é sempre equivalente, e os resultados da PRL são semelhantes, independente do ensaio utilizado (42).

5.5 Avaliação de exames de imagem da hipófise

Todas as pacientes hiperprolactinêmicas realizaram mais de um exame de imagem da hipófise por tomografia computadorizada (TC) e/ou ressonância magnética (RM) ao longo do

tempo de seguimento, no HCPA. Esta última foi realizada somente quando a imagem por TC mostrou-se duvidosa.

5.6 Análise estatística

Os resultados foram expressos como mediana e intervalo interquartil, para variáveis que não apresentavam distribuição normal, ou média mais desvio padrão (DP) para as que apresentavam distribuição Gaussiana. A análise estatística das características clínicas foi realizada por teste Qui-quadrado para variáveis categóricas e H de Kruskal-Wallis para variáveis contínuas. Considerou-se o nível de significância de 0,05. Todos os cálculos foram determinados utilizando o software SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL).

5.7 Considerações éticas

O presente projeto foi submetido ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação e Comissão de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Obteve-se consentimento informado verbal das pacientes, autorizando que uma alíquota da amostra de sangue coletada para dosagens de controle do tratamento fosse utilizada para esta pesquisa.

6 RESULTADOS

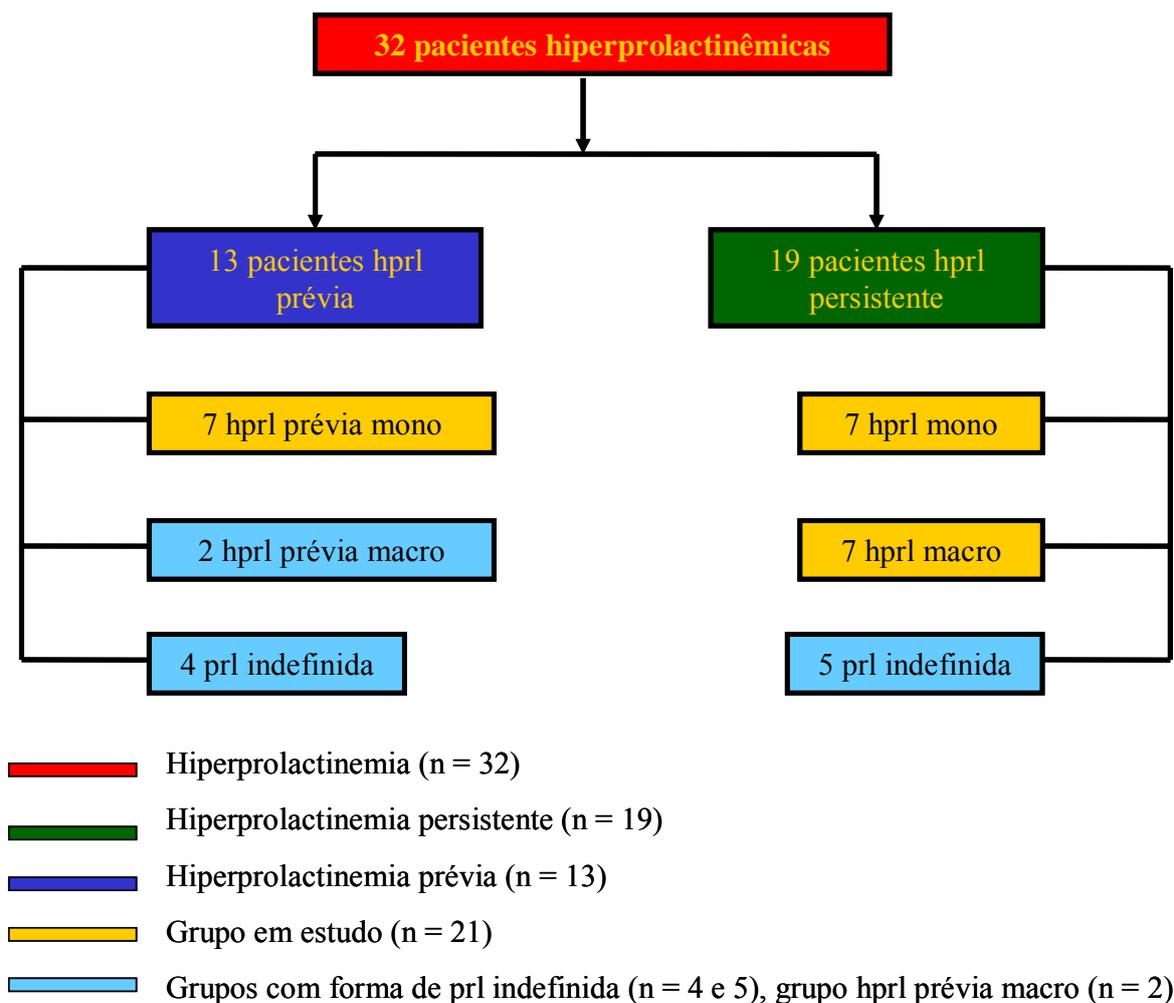
A figura 3 mostra a composição final da amostra em estudo. Trinta e duas pacientes que estavam em acompanhamento devido a hiperprolactinemia (prolactina > 26ng/mL), aceitaram suspender o tratamento por 3 meses e realizar a dosagem de prolactina e pesquisa de macroprolactina. A maioria destas pacientes vinha sendo tratada com agonistas da dopamina: cabergolina ou bromocriptina durante o período de avaliação da coorte.

A partir desta dosagem de prolactina observou-se que 19 pacientes apresentaram níveis séricos elevados de prolactina e foram classificadas como Hiperprolactinemia persistente (Hprl persistente); e o restante, 13 mulheres, obteve normalização da prolactina e foi incluído no grupo Hiperprolactinemia prévia (Hprl prévia).

Em todas as pacientes, determinou-se então a pesquisa de macroprolactina. Em 7 pacientes das 19 com Hprl persistente identificou-se a presença de macroprolactina enquanto outras 7 apresentaram predominantemente prolactina monomérica. Nas outras 5 pacientes Hprl persistente, as precipitações com PEG evidenciaram uma recuperação de prolactina entre 40 e 50%, situação intermediária, em que a técnica utilizada não permite determinar o tipo de molécula predominante. Das 13 pacientes com Hprl prévia, apenas 2 apresentaram predominância de macroprolactina, 7 confirmaram presença predominante de prolactina monomérica e em 4 mulheres novamente não pôde ser confirmada a forma preponderante de prolactina. Pela impossibilidade de realização de cromatografia por coluna de gel de filtração, optamos por excluir da análise as pacientes cuja precipitação com PEG não foi discriminativa e estas análises serão realizadas em estudo posterior. Também excluimos o grupo de pacientes Hprl prévia com macroprolactina em razão da baixa representatividade.

Assim, das 32 mulheres inicialmente alocadas, 21 permaneceram no estudo, tendo sido distribuídas em 3 grupos de 7 pacientes: Grupo Hprl prévia, Grupo Hprl mono, e Grupo Hprl macro.

Figura 3 – Amostra em estudo



Dados clínicos

As 21 pacientes que permaneceram no estudo estavam no menacme, quando iniciaram acompanhamento na UEG – HCPA e tinham diagnóstico de hiperprolactinemia. A idade inicial média foi de $33,71 \pm 6,69$ anos e o IMC de $25,95 \pm 4,89$ kg/m². O tempo mediano de acompanhamento foi de 10,74 (3,45-14,23) anos. Durante o acompanhamento, 4 das 21 mulheres entraram na menopausa (uma do grupo Hprl prévia e 3 do grupo Hprl mono). Ao

longo do seguimento, 13 mulheres normalizaram os níveis séricos de prolactina (grupo Hprl prévia).

Na tabela 1 são apresentados os valores séricos de prolactina nas 21 pacientes estudadas, bem como os respectivos percentuais de recuperação de prolactina monomérica em cada uma, sendo que as pacientes 1 a 7 compõem o grupo Hprl prévia, 8 a 14, o grupo Hprl mono e 15 a 21, o grupo Hprl macro.

Tabela 1: Percentual de recuperação de PRL pós-precipitação com PEG

Nº	PRL (ng/mL)	Recuperação (%)
1	16,44	60,10
2	15,84	63,57
3	24,42	52,58
4	18,52	52,65
5	16,06	58,41
6	11,05	59,37
7	10,85	70,51
8	28,52	60,06
9	26,46	66,44
10	30,29	63,42
11	31,42	65,28
12	30,04	59,15
13	27,66	58,46
14	29,2	63,46
15	30,95	21,03
16	160,77	36,19
17	27,05	36,64
18	52,11	37,80
19	108,95	30,83
20	29,54	36,76
21	35,35	29,17

As características clínicas, iniciais e atuais das pacientes, estão apresentadas na tabela 2. Inicialmente, 3 mulheres (14,3%) apresentavam ciclos regulares, e atualmente, 12 delas (57,1%) possuem ciclos regulares, 4 (19,1%) são pós-menopáusicas e 5 (23,8%) apresentam distúrbio menstrual. Do total de pacientes, 15 (71,4%) apresentavam queixas de cefaléia e 13 (61,9%) de galactorréia, sendo que o número de pacientes nestas condições reduziu para 11 (52,4%) e 2 (9,5%), respectivamente.

Tabela 2: Dados clínicos, iniciais e atuais, das pacientes estudadas.

Variável	Inicial	n	Atual	n
Idade (anos) ^a	33,71 ±6,69	21	42,71 ±8,49	21
Ciclos regulares ^b	3 (14,3%)	21	12 (57,1%)	21
Cefaléia ^b	15 (71,4%)	21	11 (52,4%)	21
Galactorréia ^b	13 (61,9%)	21	2 (9,5%)	21

^a Valores expressos em média ± desvio padrão

^b Valores expressos em percentual

Exames de imagem da hipófise

A tabela 3 apresenta os dados referentes aos exames de imagem da hipófise, iniciais e atuais, das pacientes estudadas. Das 21 pacientes, 6 apresentavam microadenoma no início do acompanhamento e este número diminuiu para 3. Macroadenoma estava presente em 2 mulheres inicialmente e atualmente nenhuma paciente apresenta esta situação. Outras 2 pacientes apresentam, desde a avaliação inicial, exame de imagem compatível com sela vazia e cisto de Rathke, respectivamente.

Tabela 3: Exames de imagem da hipófise iniciais e atuais das pacientes estudadas.

Variável	Inicial	n	Atual	n
TC normal	11 (52,4%)	21	15 (75%)	20
Microadenoma	6 (28,6%)	21	3 (15%)	20
Macroadenoma	2 (9,5%)	21	-	20
Outros*	2 (9,6%)	21	2 (10%)	20

* Sela Vazia, Cisto de Rathke

Valores expressos em percentual

Dados clínicos e de exames de imagem da hipófise nos grupos: Hprl prévia, Hprl mono e Hprl macro

Na tabela 4 estão representados os dados clínicos e àqueles referentes a exames de imagem da hipófise nos 3 grupos estudados. As pacientes dos 3 grupos tinham média de idade semelhante no início do seguimento. No entanto, a idade na última avaliação foi significativamente maior no grupo Hprl mono em comparação com o grupo Hprl macro. A presença de ciclos regulares, iniciais e atuais, entre os 3 grupos não foi significativamente

diferente ($P = 0,165$), embora tenhamos observado uma melhora na ciclicidade em cada um: no grupo Hprl prévia, 6 mulheres apresentam agora ciclos regulares e uma entrou em menopausa, enquanto que nos grupos Hprl mono e Hprl macro, 2 e 4 mulheres apresentam ciclos normais, respectivamente. Entre as pacientes que apresentavam ciclos regulares inicialmente, uma paciente do grupo Hprl prévia entrou em amenorréia devido a menopausa, 3 pacientes que apresentavam regularidade menstrual no grupo Hprl mono entraram na menopausa e 3 pacientes do grupo Hprl macro passaram a apresentar amenorréia/ciclos irregulares, uma delas devido a pan-hipopituitarismo pós-cirúrgico. No que se refere à presença de lesões centrais, verificamos que duas pacientes do grupo Hprl prévia, uma do grupo Hprl mono, e uma do grupo Hprl macro que inicialmente apresentavam alterações na TC obtiveram normalização no exame de imagem ao longo do tempo. Atualmente 3, 6 e 6 pacientes apresentam imagem normal nestes 3 grupos, respectivamente. Estas modificações no padrão radiológico durante o seguimento não foram estatisticamente diferentes quando os 3 grupos foram comparados ($P = 0,268$).

Tabela 4: Dados clínicos e de exames de imagem da hipófise, iniciais e atuais, nos 3 grupos de pacientes: Hprl prévia, Hprl mono e Hprl macro.

		Hprl prévia	n	Hprl mono	n	Hprl macro	n	P
IMC (kg/m²)^a	inicial	26,78 ±3,92	7	27,5 ± 6,84	7	23,58 ±2,74	7	0,256
	atual	42 ±9,85	7	48,29 ±5,47	7	37,86 ±7,01	7	0,046*
Ciclos regulares^b	inicial	2 (28,6%)	7	-	7	1 (14,3%)	7	0,165
	atual	6 (85,7%)	7	2 (28,6%)	7	4 (57,1%)	7	
TC normal^b	inicial	1 (14,3%)	7	5 (71,4%)	7	5 (71,4%)	7	0,268
	atual	3 (50%)	7	6 (85,7%)	7	6 (85,7%)	7	

* $P = 0,028$ (hprl mono x hprl macro)

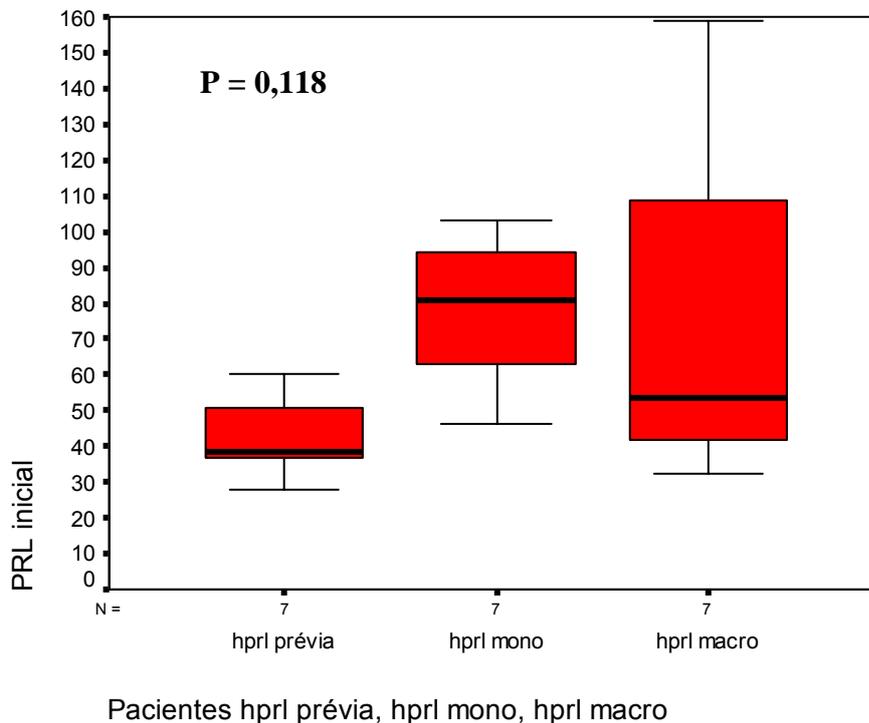
^a Valores expressos em média ± desvio padrão

^b Valores expressos em percentual

Dados hormonais nos grupos: Hprl prévia, Hprl mono e Hprl macro

Com o objetivo de investigar se as concentrações de prolactina circulante na avaliação inicial eram preditivas da evolução da hiperprolactinemia, realizou-se a análise comparativa da concentração de prolactina nos 3 grupos em estudo. Não se observou diferença estatisticamente significativa entre os 3 grupos ($P = 0,118$), como pode ser observado na figura 4.

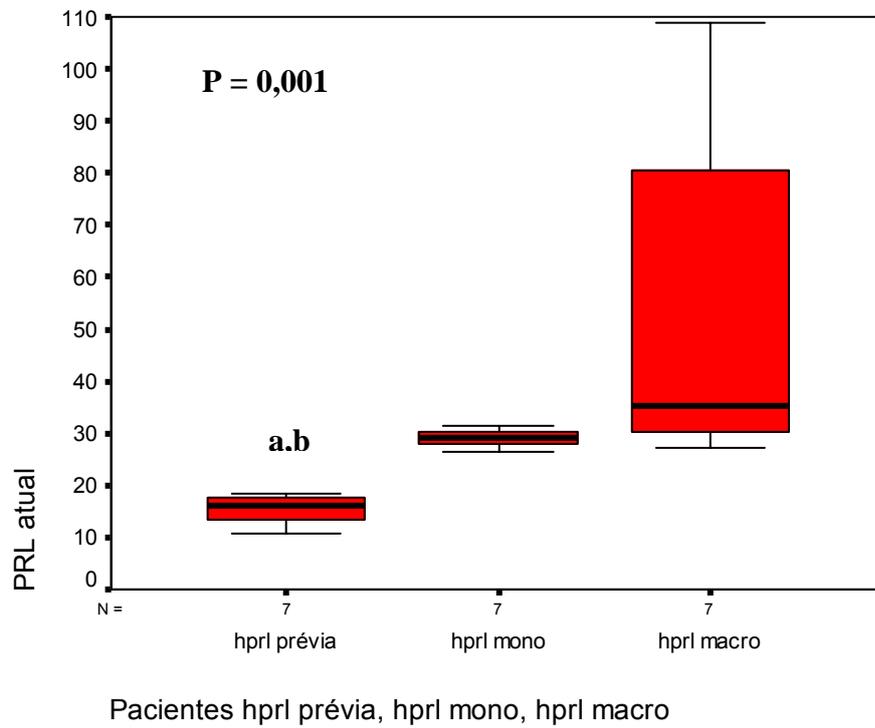
Figura 4 – Concentrações séricas de PRL inicial em ng/mL



A figura 5 mostra os valores de prolactina atual nos 3 grupos estudados. Observamos que, como era esperado, o grupo Hprl prévia apresenta valores significativamente menores de prolactina em relação aos grupos Hprl mono e Hprl macro ($P = 0,0001$ em ambos).

A menor variabilidade dos valores de prolactina atual (figura 5) em relação aos níveis de prolactina inicial (figura 4) se deve ao menor coeficiente de variação, porque nas dosagens atuais de PRL só tivemos variação intra-ensaio o que não ocorreu nas dosagens iniciais onde tivemos variação entre-ensaios e intra-ensaios. Ou seja, três tipos de métodos foram utilizados para as dosagens iniciais, enquanto que um único ensaio foi usado para a determinação da prolactina atual. Além disso, os valores iniciais não foram realizados ao mesmo tempo, ao contrário dos atuais, havendo também uma menor diferença no coeficiente de variação intra-ensaios nas dosagens atuais.

Figura 5 – Concentrações séricas de PRL atual em ng/mL



a P = 0,001 (hprl prévia x hprl mono), **b** P = 0,0001 (hprl prévia x hprl macro)

As figuras 6 e 7 apresentam os valores de estradiol inicial e atual nos 3 grupos. Não encontramos diferenças estatisticamente significativas entre os 3 grupos (P = 0,368 e P = 0,679, respectivamente).

Figura 6 – Concentrações séricas de estradiol inicial em pg/mL

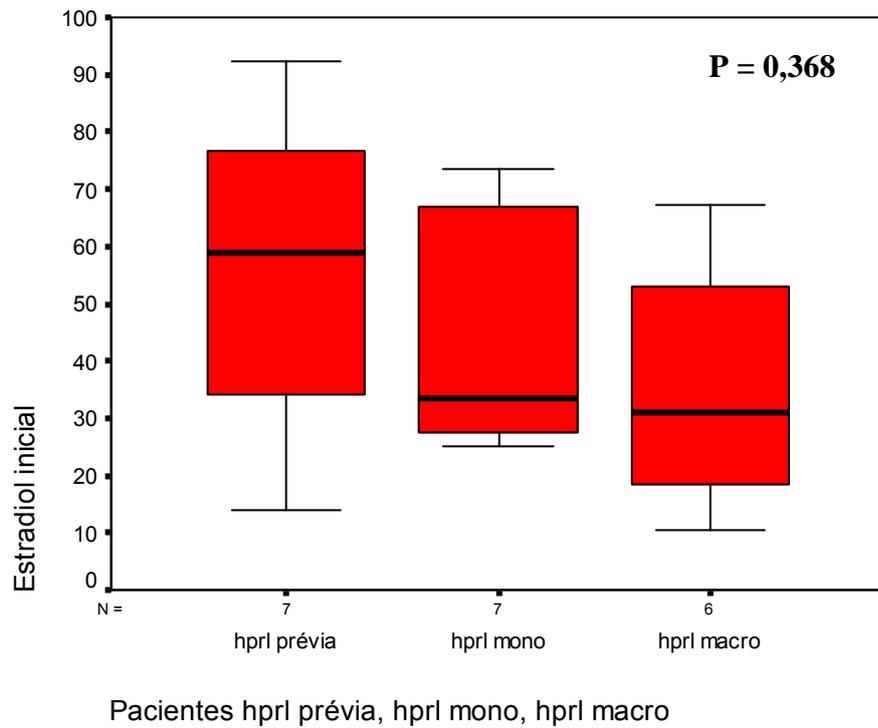
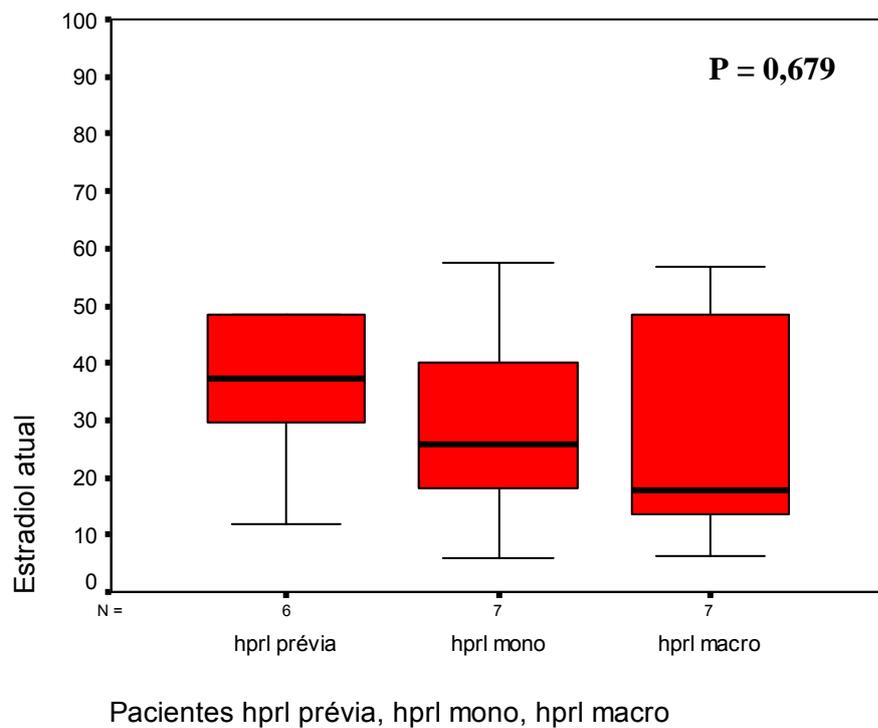


Figura 7 – Concentrações séricas de estradiol atual em pg/mL



A tabela 5 apresenta os valores de TSH, FSH e LH, inicial e atual, nos 3 grupos. Não encontramos diferenças estatisticamente significativas entre os 3 grupos. Para esta análise foram retirados os valores hormonais atuais das 4 pacientes climatéricas.

Tabela 5 – Valores hormonais de TSH, FSH e LH nos 3 grupos

		Hprl prévia	n	Hprl mono	n	Hprl macro	n	P
TSH (μ UI/mL)	inicial	2,2 (1,44–3)	7	2,4 (2-4)	7	3,61 (1,29-4,3)	6	0,564
	atual	2,99 (1,54–3,14)	5	1,08 (0,65-2,65)	4	1,3 (1,17-2,29)	7	0,429
FSH (μ UI/mL)	inicial	4,8 (4,3-5,4)	7	5,7 (3,95-6,3)	7	5,94 (4,3-7,84)	6	0,841
	atual	7,55 (3,8-9,47)	6	10,19 (5,38-15,3)	4	6,76 (3,13-8,89)	7	0,536
LH (μ UI/mL)	inicial	3,2 (1,75-4)	7	2,2 (1,24-3,95)	7	1,02 (1-2,5)	6	0,390
	atual	2,25 (1,3-5,35)	6	4,22 (1,66-5,91)	4	1,01 (0,86-2,62)	7	0,381

Valores expressos em mediana e intervalo interquartil (25%-75%)

Dados clínicos, hormonais e de exames de imagem da hipófise, individuais e atuais, nos grupo de pacientes: Hprl prévia, Hprl mono e Hprl macro

A tabela 6 apresenta os dados clínicos, hormonais e de imagens hipofisária, individuais e atuais, do grupo de pacientes Hprl prévia. Três mulheres nunca engravidaram e das outras 4 que engravidaram, uma teve aborto. Das 7 pacientes que compõem este grupo, 6 possuem ciclos regulares e uma está em menopausa, 2 apresentam cefaléia e nenhuma galactorrêa. Três mulheres apresentam imagem tomográfica normal, uma tem cisto de Ratke e duas apresentam microadenoma. A paciente de número 5 apresentava microadenoma na TC inicial e não repetiu o exame ao longo do acompanhamento. Embora não tenhamos os valores hormonais atuais de E2, FSH e LH da paciente nº 5, considerou-se que esta se encontra na menopausa, devido à idade de 52 anos e amenorréia.

Tabela 6 – Dados clínicos, hormonais e de exames de imagem da hipófise do grupo de pacientes Hprl prévia (1-7).

Variáveis x pacientes	1	2	3	4	5 ^m	6	7
Idade	41	45	22	44	52	50	40
Ciclos	R	R	R	R	A	R	R
GP	2/2	0	0	4/4	0	2/2	1/0
Cefaléia	N	N	S	N	S	N	N
Galactorrêa	N	N	N	N	N	N	N
TC	5mm	Normal	8mm	CR	-	Normal	Normal
PRL (ng/mL)	16,44	15,84	24,42	18,52	16,06	11,05	10,85
E2 (pg/mL)	11,93	48,44	33,59	29,7	-	132	40,84
TSH (µUI/mL)	-	3,14	1,54	0,97	2,08	5,23	2,99
T4 (µg/dL)	-	11	6,5	4,45	6,87	9,26	6,20
FSH (µUI/mL)	9,10	6	3,3	17,2	-	3,8	9,47
LH (µUI/mL)	3,10	1,3	8,29	0,70	-	1,4	5,35

S = sim; N = não; R = regular; A = amenorréia; CR = cisto de Ratke; m = menopausa; G/P = gestação/paridade.

As sete pacientes inclusas no grupo Hprl mono têm idade maior ou igual a 41 anos. Destas, quatro apresentam amenorréia, sendo que 3 delas estão na menopausa; duas apresentam ciclos regulares e uma ciclos irregulares. Apenas duas mulheres não tiveram filhos. A paciente nº 9 engravidou duas vezes, tendo gêmeos em uma das gestações. As pacientes nº 11 e 13 tiveram 1 e 4 abortos cada. Seis pacientes apresentam cefaléia e duas, galactorréia. Seis das 7 pacientes apresentam TC normal, enquanto uma apresenta microadenoma. A paciente 12 apresentava macroadenoma inicialmente e este regrediu após a gravidez, ocorrendo normalização do exame de imagem nesta paciente. Das 3 pacientes em menopausa, duas (10 e 13) tem níveis elevados de FSH e LH. A paciente nº 9 não realizou as dosagens hormonais de FSH e LH atuais, mas tem 57 anos e está em amenorréia. A tabela 7 apresenta os dados clínicos, hormonais e de imagem hipofisária, individuais e atuais do grupo de pacientes Hprl mono.

Tabela 7 – Dados clínicos, hormonais e de exames de imagem da hipófise do grupo de pacientes Hprl mono (8-14).

Variáveis x pacientes	8	9m	10m	11	12	13m	14
Idade	52	57	48	45	41	51	44
Ciclos	A	A	A	R	R	A	I
GP	0	2/3	0	4/3	2/2	7/3	1/1
Cefaléia	S	N	S	S	S	S	S
Galactorréia	N	N	N	S	S	N	N
TC	Normal	Normal	5mm	Normal	Normal	Normal	Normal
PRL (ng/mL)	28,52	26,46	30,29	31,42	30,04	27,66	29,2
E2 (pg/mL)	57,64	11,93	60,7	46,5	33,85	25,95	24,56
TSH (µUI/mL)	0,56	1,62	1,49	3,89	0,75	2,72	1,42
T4 (µg/dL)	6,64	-	5,58	6,51	10	8,28	8,20
FSH (µUI/mL)	17,1	-	97,9	4,28	6,89	42,7	13,5
LH (µUI/mL)	6,01	-	19,9	2,63	0,70	11,4	5,82

S = sim; N = não; R = regular; I = irregular; A = amenorréia; m = menopausa; G/P = gestação/paridade.

A tabela 8 apresenta os dados clínicos, hormonais e de imagem, individuais e atuais, do grupo das 7 pacientes Hprl macro. As idades destas pacientes variam de 30 a 48 anos. Duas mulheres encontram-se em amenorréia, sendo que uma delas desenvolveu um quadro de pan-hipopituitarismo pós-cirurgia (paciente 17). A paciente 19 está em investigação para a amenorréia uma vez que apresenta fertilidade comprovada e exames de imagem normais. Uma paciente que apresenta irregularidade menstrual (paciente 21) está em fase de ajuste de dose de medicação não relacionada ao tratamento da hiperprolactinemia (espironolactona). Cinco pacientes não tiveram filhos. Três pacientes apresentam cefaléia, e nenhuma galactorréia.

Tabela 8 – Dados clínicos, hormonais e de exames de imagem da hipófise do grupo de pacientes Hprl macro (15-21).

Variáveis x pacientes	15	16	17	18	19	20	21
Idade	39	48	39	34	30	30	45
Ciclos	R	R	A	R	A	R	I
GP	0	0	0	0	1/1	0	2/2
Cefaléia	N	S	N	N	S	S	N
Galactorréia	N	N	N	N	N	N	N
TC	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	SV
PRL (ng/mL)	30,95	160,71	27,05	52,11	108,95	29,54	35,35
E2 (pg/mL)	40	14,11	6,39	155	17,63	12,93	56,63
TSH (μUI/mL)	2,2	1,13	1,22	7,16	2,38	1,3	1,12
T4 (μg/dL)	9,4	9,4	8,47	-	-	13,28	8,94
FSH (μUI/mL)	10,8	6,99	0,44	6,76	4,5	11,6	1,77
LH (μUI/mL)	4	1,01	0,14	1	0,72	5,6	1,24

S = sim; N = não; R = regular; I = irregular; A = amenorréia; SV = sela vazia; G/P = gestação/paridade.

7 DISCUSSÃO

No presente estudo, analisamos a frequência de macroprolactinemia numa coorte de pacientes hiperprolactinêmicas que estão em acompanhamento na UEG – HCPA há 10,74 (3,45-14,23) anos. É bem conhecido que as mulheres representam a maioria dos casos de macroprolactinemia, chegando em até 89% em alguns estudos (10), embora esta seja observada em ambos os sexos (67,76). Considerou-se, assim, que um estudo de coorte de pacientes femininas poderia aportar dados relevantes sobre a evolução destas pacientes ao longo de 10 anos. Analisou-se, portanto, também como os níveis de prolactina, após este seguimento, estavam associados com variáveis clínicas e hormonais e com a presença ou não de alterações hipofisárias em 21 destas pacientes. Após a dosagem de prolactina para investigação dos níveis séricos e presença de macroprolactina, as pacientes foram classificadas como aquelas que normalizaram os níveis séricos de prolactina durante estes anos de seguimento (Grupo Hprl prévia) e as que continuaram hiperprolactinêmicas. Estas foram reclassificadas como grupo de hiperprolactinêmicas cuja forma circulante predominante é a prolactina monomérica (Grupo Hprl mono) e o grupo de hiperprolactinêmicas com predominância de macroprolactina (Grupo Hprl macro), e os resultados são analisados a seguir.

A dosagem de prolactina sérica é atualmente um teste laboratorial amplamente disponível. As indicações da dosagem são cada vez mais abrangentes e incluem alterações menstruais, amenorréia, infertilidade e galactorréia em mulheres (41). Adicionalmente, a dosagem de prolactina sérica é fundamental no diagnóstico e seguimento de tumores hipotalâmicos-hipofisários, e passou a fazer parte da avaliação basal em qualquer circunstância relacionada à função reprodutiva (41).

No presente estudo, optou-se para a dosagem de prolactina, por um kit que consiste de dois anticorpos monoclonais de alta afinidade em um sistema de ensaio IRMA. Esta técnica oferece um nível superior de sensibilidade e especificidade em comparação com métodos tradicionais (88), além de ser um ensaio rápido e prático.

O reconhecimento das formas de alto peso molecular varia de acordo com o método utilizado para a quantificação de PRL. Alguns ensaios reconhecem melhor do que outros as formas de alto peso molecular, resultando em valores diferentes de PRL (41,42), não podendo ser comparados. Esse fenômeno parece depender dos anticorpos empregados no ensaio. Porém, o reconhecimento das formas monoméricas é sempre equivalente, e os resultados da PRL são semelhantes, independentemente do ensaio utilizado (42).

A precipitação com PEG é o método de rastreamento mais utilizado para detectar macroprolactina, por sua simplicidade, boa reprodutibilidade e correlação com o método de referência (67,86). Esta técnica precipita a macroprolactina, levando à redução dos níveis no sobrenadante (67,86,87). Apesar de ser um método simples e de baixo custo, não é específico ou qualitativo. Uma recuperação de prolactina monomérica $> 50\%$ (65,89) confirma a presença de prolactina monomérica, enquanto o percentual de recuperação $\leq 40\%$ (64,65,67) é muito sensível para detectar quantidades significativas de macroprolactina (41). Recuperação entre 40 e 50% indica que uma amostra pode conter macroprolactina e prolactina oligomérica, além de formas monoméricas. Nestes casos, a cromatografia por gel de filtração (CGF), onde a eluição se dá em função do peso molecular (41), é necessária para confirmar a presença de macroprolactina (64,87).

Recentemente foi estabelecida a confiabilidade do teste com precipitação por PEG para a detecção de rotina de macroprolactina em amostras de pacientes hiperprolactinêmicos, por diferentes imunoensaios (39,65,67,86,89). A prevalência de macroprolactinemia, quando se utiliza este método, varia de 9 a 26% (39,64,65,67,77). A precipitação de macroprolactina com PEG a concentrações de 12,5% leva a precipitação de complexos imunes e este método tem sido amplamente utilizado para exibir a presença de macroprolactina em pacientes com hiperprolactinemia, como descrito por Hattori et al (60,62). O método foi validado contra CGF por vários grupos (61,86,89). Apesar de haver uma correlação relativamente boa entre CGF e precipitação com PEG (86,89), quantitativamente os níveis de PRL diferem. Na

precipitação com PEG, os níveis de macroprolactina são significativamente mais altos do que os valores encontrados em CGF.

Suliman et al (68) demonstraram que o soro de pacientes normoprolactinêmicos contém entre 2 e 9% de macroprolactina quando se utiliza CGF, enquanto que o mesmo soro tratado com PEG apresentou valores de macroprolactina que variaram de 30 a 36%.

No presente trabalho, através do método de precipitação com PEG, identificou-se a forma predominante de prolactina em circulação em 71,8% dos casos (n = 32), havendo a necessidade de cromatografar o restante das amostras, 28,1% (n = 9) nas quais houve uma recuperação em valores que não permitem determinar a forma predominante na circulação.

A obtenção de amostras onde a forma preponderante de prolactina não é definida (entre 40 e 50%), pode ocorrer por várias razões. Entre estas pode-se citar o coeficiente de variação do teste de precipitação, que se situa entre 7 e 28%, dependendo do nível de PRL (86), o domínio da forma dimérica, que apresenta precipitação não uniforme, e a real presença de duas populações equivalentes, de formas monoméricas e de formas de alto peso molecular.

No presente trabalho observou-se, como era esperado, que os níveis de prolactina nas pacientes do grupo Hprl prévia são significativamente inferiores aos observados nos 2 grupos de pacientes hiperprolactinêmicas, embora não esteja ainda bem estabelecido porque algumas pacientes normalizam a prolactinemia depois de anos de seguimento e tratamento, e outras não.

Poucos estudos (90,91,92) foram publicados a respeito da história natural da hiperprolactinemia, uma vez que a descoberta de que agonistas dopaminérgicos eram efetivos no tratamento deste distúrbio coincidiu com a implementação de kits comerciais para dosagem de prolactina (80). Assim, tornou-se logo rotineiro, na prática clínica, a obtenção do diagnóstico ser seguida pelo tratamento na grande maioria dos casos. Alguns autores relataram a manutenção da normalidade dos níveis de prolactina após longo tempo de tratamento. Passos et al (70) estudaram 131 pacientes, com tempo médio de tratamento de 47 meses e observaram que 20,6% mantiveram níveis normais de prolactina após a interrupção da medicação. Similarmente, Van't Verlaat e Crouhgs (93) encontraram que 8,3% das

pacientes estudadas mantiveram-se normoprolactinêmicas após um período médio de tratamento de 58,8 meses.

Em relação à terapia de longo prazo com bromocriptina, existem evidências da persistência da normoprolactinemia após a interrupção da droga, mas avaliações em grandes coortes de pacientes são limitadas (70). A recorrência da hiperprolactinemia ocorre principalmente logo após a interrupção, ou seja, em torno de 2 meses (94) após a suspensão.

A maioria dos estudos sobre macroprolactinemia descreve que as concentrações de prolactina podem ser muito elevadas. Vallette-Kasic et al (10) encontraram níveis de prolactina maiores nas pacientes hiperprolactinêmicas com macroprolactina em relação às hiperprolactinêmicas com predominância de prolactina monomérica, embora esta diferença não tenha sido significativa. Alguns autores (41,59,75,81) sugerem que o maior peso molecular das moléculas de macroprolactina faz com que estas fiquem confinadas ao endotélio capilar, não conseguindo atravessar o epitélio vascular e conseqüentemente, aumentando os níveis totais de prolactina em circulação. Além disso, a prolactina ligada parece interagir menos com os receptores de prolactina que a prolactina livre, sendo degradada em menor proporção nos órgãos-alvos (85).

A prevalência da macroprolactinemia foi relatada pela primeira vez há mais de 30 anos atrás (125). Muitos estudos, desde então, avaliaram a prevalência desta em pacientes hiperprolactinêmicas (10,39,41,64,65,66,67,75,95).

A proporção de hiperprolactinemia explicada por macroprolactinemia pode variar em função da sensibilidade do ensaio (73,82,96) e na maioria dos estudos tem sido relatada entre 15-35% (10,39,64,65,67,75,95,96). No presente trabalho obteve-se uma frequência de macroprolactina de 28,1%, ou seja, 9 pacientes entre as 32 inicialmente alocadas no estudo, confirmando os dados da literatura.

Dois estudos reportaram uma prevalência de 46% (66) e 40,3% (41), mas é possível que esta prevalência particularmente alta, seja decorrente da natureza especializada destes centros, levando ao encaminhamento de amostras de pacientes já com suspeita clínica de macroprolactinemia.

Nesta amostra de pacientes, após o acompanhamento de cerca de 10 anos, o grupo das Hprl macro apresenta-se mais jovem que o das Hprl mono. Estes resultados diferem daqueles encontrados por Suliman et al (68) que não encontraram diferença significativa entre as idades das pacientes com hiperprolactinemia e macroprolactinemia, sendo de 30 ± 1 anos e 28 ± 3 anos, respectivamente. Entretanto, os autores estudaram uma amostra de pacientes mais jovem, em pelo menos uma década, em relação às pacientes do presente estudo.

Embora pacientes com macroprolactinemia possam apresentar um ou mais sintomas da síndrome hiperprolactinêmica (61,65,75) e, em especial amenorréia, galactorréia e infertilidade (10,64,65,66,67,75), a maioria dos casos são assintomáticos (41,60,62,65,68,76,81,95). Além disso, como os sintomas da hiperprolactinemia são relativamente comuns e alguns são inespecíficos, é possível que ocorram coincidentemente em alguns pacientes com macroprolactinemia (10,64,65).

Ao contrário, a hiperprolactinemia associada a um aumento das concentrações de prolactina biologicamente ativa (monomérica) está associada com a supressão da secreção de gonadotrofinas e da atividade gonadal (10,64,65), levando ao aparecimento de irregularidades menstruais, amenorréia e infertilidade.

No presente trabalho observou-se, no grupo Hprl prévia, uma clara melhora na regularidade dos ciclos menstruais ao longo do acompanhamento, com a restauração da ciclicidade em todas as pacientes, exceto uma que entrou em menopausa. Esta observação clínica é compatível com a normalização dos níveis de prolactina que ocorreu ao longo do tempo de seguimento. O grupo Hprl macro mostrou-se heterogêneo, com duas de 3 pacientes em situação clínica que poderia justificar distúrbio menstrual independente da hiperprolactinemia, como o desenvolvimento de um quadro de pan-hipopituitarismo pós-cirúrgico, e ajuste da dose de medicação não relacionada ao tratamento da hiperprolactinemia mas que está associada à distúrbio menstrual. Esta heterogeneidade clínica no grupo poderia explicar porque nem todas as pacientes ciclam com regularidade, o que é descrito com frequência nestes casos (10,64,76). No que se refere ao grupo das Hprl mono, quando o tratamento foi suspenso por 3 meses para a realização da avaliação hormonal, a maioria das pacientes apresentou ciclos irregulares ou amenorréia, mesmo após o longo tempo de seguimento. Isso era esperado e está de acordo com os dados já descritos na literatura (65,68).

No intuito de embasar os dados clínicos sobre ciclicidade menstrual avaliou-se também os níveis séricos de estradiol e gonadotrofinas. As concentrações séricas de estradiol foram semelhantes nos 3 grupos, ao contrário do observado por Gibney et al (95) e Suliman et al (68) que constataram que os níveis plasmáticos de estradiol eram significativamente maiores em mulheres macroprolactinêmicas quando comparadas àquelas com hiperprolactinemia verdadeira. Também era esperado que as pacientes que normalizaram a prolactina durante o seguimento – Hprl prévia, tivessem valores de estradiol superiores ao grupo Hprl mono. A ausência de diferença do estradiol entre os grupos pode ter ocorrido simplesmente pelo pequeno tamanho da amostra e/ou porque as pacientes do grupo Hprl mono constituem um grupo de pouca ou moderada gravidade: apenas uma apresenta microadenoma, os níveis de prolactina são inferiores a 100 ng/mL, tanto na fase de avaliação inicial quanto atual. Os valores de prolactina mostram grande variabilidade de acordo com a etiologia da hiperprolactinemia. Vallette-Kasic et al (10) estudaram 106 pacientes e encontraram valores médios de prolactina de 61 ng/mL sendo que apenas 8,5% apresentaram prolactina maior que 100ng/mL. Entre os pacientes analisados por Hauache et al (66), o nível mediano de prolactina foi 62ng/mL e em cerca de 10% dos pacientes a prolactina mostrou-se maiores que 100g/L. Gibney (10) encontrou valores médios de prolactina de 61,4 ng/mL e em 9% dos casos os níveis foram > 100ng/mL.

Como já comentado, uma das causas mais prevalentes de hiperprolactinemia é o uso de drogas que atuam através de diferentes mecanismos, influenciando a produção, secreção e ação da dopamina (42,49) e que podem levar a valores elevados de prolactina sérica. Neste estudo, pacientes, cuja hiperprolactinemia estava associada ao uso de drogas com ação central, foram excluídas.

Os níveis de FSH e LH também não diferiram entre os grupos, reforçando a tese de que a hiperprolactinemia apenas moderada do grupo Hprl mono tem pouca repercussão sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gônada. Resultado semelhante foi descrito por outros autores (68,95). Finalmente, cabe salientar que níveis de TSH foram também normais nos 3 grupos, evidenciando que não houve casos de hipotireoidismo nesta amostra, uma das causas de hiperprolactinemia.

A macroprolactinemia pode estar associada com qualquer outra causa de hiperprolactinemia (10,41). Neste contexto, a associação da macroprolactinemia com um

adenoma hipofisário requer uma atenção especial. A frequência de imagem alterada em pacientes com macroprolactinemia varia de 7 a 22% na literatura (10,64,65,66,68).

No presente trabalho, 6 (85,7%) das 7 pacientes com macroprolactinemia apresentaram imagem radiológica normal, sendo que uma delas apresentava sela vazia. Estes resultados estão em concordância com os de outros autores: Leslie et al (64) relataram imagem normal de hipófise em 51 de 55 (92,8%) dos pacientes com macroprolactinemia; Vallette-Kasic et al (10) encontraram exame de RM normal em 63 de 81 (78%) pacientes macroprolactinêmicos. Em seu estudo, Hauache et al (66) encontraram imagens normais em 41 de 52 (78,8%) no mesmo grupo de pacientes. Aron et al (84) mostraram que 10% dos indivíduos saudáveis tiveram evidência radiográfica de adenoma hipofisário.

Entre as 7 pacientes com macroprolactinemia, apenas uma (14,3%) apresentou exame de imagem alterado e estes resultados são similares aos encontrados na casuística de Hauache e et al (66), onde uma imagem sugestiva de um microadenoma foi encontrada em 21% dos pacientes. Outros autores enfatizaram a concomitância de macroprolactinemia e incidentalomas hipofisários (42). Portanto, a detecção da macroprolactinemia não exclui a necessidade de se fazer uma avaliação por imagem da região selar (58), especialmente na presença de sintomas.

Das 21 pacientes em estudo, 15% apresentam prolactinoma. No grupo Hp_{rl} prévia, 33,3% das pacientes apresentam microadenoma, resultado mais elevado do que o encontrado por Gibney et al (71) que relatam que, na população em geral, imagem sugestiva de adenoma está presente em 10 a 20%.

Entre as 7 pacientes do grupo Hp_{rl} mono, 14,3% tem microadenoma. Este resultado é menor do que o encontrado na literatura (66,71).

O conjunto dos nossos dados mostrou uma frequência de TC anormal de 50% nas pacientes Hp_{rl} prévia, 14,3% nas pacientes com Hp_{rl} mono e 14,3% nas Hp_{rl} macro, considerando a presença de cisto de Ratke e sela vazia encontrada nos grupos Hp_{rl} prévia e Hp_{rl} macro, respectivamente. Nosso resultado em relação a uma TC anormal é discretamente maior em relação aos encontrados na literatura que varia de 8-20% (64,65,66,68) e que também é similar aquela encontrada na população em geral. Enquanto alguns autores dizem

que a frequência dos achados de imagens hipofisárias anormais em indivíduos com macroprolactinemia não é maior do que a esperada para a população (95), outros, observaram que a frequência TC anormal é muito menor em pacientes com macroprolactinemia do que naqueles com hiperprolactinemia causada por outros fatores (85).

Um outro aspecto que merece comentários é a relação entre prolactinomas e gestação. Cerca de 80% das mulheres com prolactinomas conseguem engravidar graças ao tratamento da hiperprolactinemia com agonistas da dopamina (97). Durante a gravidez, o risco de expansão do tumor é menor que 5% em pacientes com microprolactinomas e 15 a 20% em pacientes com macroprolactinomas. Recomenda-se a suspensão do tratamento com agonistas da dopamina durante a gestação (98).

Durante a gravidez pode ser observado um aumento dos níveis de prolactina, principalmente no primeiro trimestre, mas esta condição não parece afetar o desenvolvimento fetal e materno, e os níveis de prolactina após a gravidez tendem a retornar aos níveis anteriores à gestação (10,40,76,99,100). A fertilidade é mantida na maioria dos casos de macroprolactinemia (10,40,67,75).

No presente trabalho, das 21 mulheres em estudo, 11 engravidaram. Das 8 pacientes que apresentavam prolactinoma inicialmente (duas com macroadenoma), 3 engravidaram, sendo que uma teve aborto. Quatro pacientes obtiveram normalização no exame de imagem (duas com microadenoma, do grupo Hprl prévia, uma com macroadenoma do grupo Hprl mono e uma com macroadenoma do grupo Hprl macro). A involução de prolactinomas após a gestação é um dado já bem conhecido e estudado na literatura (101).

Em resumo, o método de precipitação com PEG é um ensaio simples, rápido e de baixo custo, para detecção de macroprolactina. Os sintomas clássicos da hiperprolactinemia são incomuns nas pacientes que apresentam preponderantemente prolactina de alto peso molecular em circulação, o que nos permite sugerir que a macroprolactinemia é uma condição benigna relativamente comum e investigações excessivas destes pacientes podem ser desnecessárias. No entanto, a presença de macroprolactina pode coincidir com prolactinomas e esta situação deve ser investigada nas pacientes sintomáticas.

CONCLUSÕES

No presente estudo a frequência de macroprolactina foi de 28,1% dos casos, considerando-se o número total de pacientes inicialmente hiperprolactinêmicas (n = 32).

As pacientes hiperprolactinêmicas com macroprolactinemia foram significativamente mais jovens do que as hiperprolactinêmicas com a forma monomérica.

No presente trabalho, através do método de precipitação com PEG, identificou-se a forma predominante de prolactina na circulação em 71,8% dos casos (n = 32). Nos demais casos, será necessário cromatografar as amostras para a identificação da prolactina.

Nenhuma das pacientes com macroprolactinemia apresentou prolactinoma, embora em grandes séries esta associação possa ser ocasionalmente evidenciada.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Nossas perspectivas para o futuro são analisar, por cromatografia em coluna de gel de filtração, a forma predominante de prolactina nas amostras em que não foi possível a determinação da mesma, e então estabelecer a nova frequência de macroprolactinemia encontrada nesta população. Esperamos ainda, aumentar o tamanho amostral da coorte para que a análise dos dados possa ser mais aprofundada quanto a outros desfechos relacionados com o padrão hormonal, clínico e reprodutivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Goffin V, Binart N, Touraine P, Kelly PA** 2002 Prolactin: the new biology of an old hormone. *Annu Rev Physiol* 64:47-67
2. **Sinha YN** 1995 Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. *Endocr Rev* 16:354-69
3. **Goffin V, Shiverick KT, Kelly PA, Martial JA** 1996 Sequence-function relationships within the expanding family of prolactin, growth hormone, placental lactogen, and related proteins in mammals. *Endocr Rev* 17:385-410
4. **Horseman ND, Yu-Lee LY** 1994 Transcriptional regulation by the helix bundle peptide hormones: growth hormone, prolactin, and hematopoietic cytokines. *Endocr Rev* 15:627-49
5. **Goffin V, Martial JA, Summers NL** 1995 Use of a model to understand prolactin and growth hormone specificities. *Protein Eng* 8:1215-31
6. **Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G** 2000 Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev* 80:1523-631
7. **Keeler C, Dannies PS, Hodsdon ME** 2003 The tertiary structure and backbone dynamics of human prolactin. *J Mol Biol* 328:1105-21
8. **Asa SL, Ezzat S** 2002 The pathogenesis of pituitary tumours. *Nat Rev Cancer* 2:836-49
9. Jameson J. **Anterior Pituitary**. CECIL Textbook of Medicine. Philadelphia: W.B. Saunders Company 1996; 1205-1221
10. **Vallette-Kasic S, Morange-Ramos I, Selim A, et al.** 2002 Macroprolactinemia revisited: a study on 106 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 87:581-8
11. Hershlag A, Peterson CM. **Distúrbios Endócrinos**. Tratado de Ginecologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1998; 592-627
12. **Josimovich JB, Lavenhar MA, Devanesan MM, Sesta HJ, Wilchins SA, Smith AC** 1987 Heterogeneous distribution of serum prolactin values in apparently healthy young women, and the effects of oral contraceptive medication. *Fertil Steril* 47:785-91
13. **Bole-Feysot C, Goffin V, Edery M, Binart N, Kelly PA** 1998 Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr Rev* 19:225-68
14. **Boutin JM, Jolicoeur C, Okamura H, et al.** 1988 Cloning and expression of the rat prolactin receptor, a member of the growth hormone/prolactin receptor gene family. *Cell* 53:69-77
15. **Di Somma C, Colao A, Di Sarno A, et al.** 1998 Bone marker and bone density responses to dopamine agonist therapy in hyperprolactinemic males. *J Clin Endocrinol Metab* 83:807-13

16. **Bazan JF** 1990 Haemopoietic receptors and helical cytokines. *Immunol Today* 11:350-4
17. **Hu ZZ, Zhuang L, Meng J, Dufau ML** 1998 Transcriptional regulation of the generic promoter III of the rat prolactin receptor gene by C/EBPbeta and Sp1. *J Biol Chem* 273:26225-35
18. **Kelly PA, Djiane J, Postel-Vinay MC, Edery M** 1991 The prolactin/growth hormone receptor family. *Endocr Rev* 12:235-51
19. **Wells JA, de Vos AM** 1996 Hematopoietic receptor complexes. *Annu Rev Biochem* 65:609-34
20. **Goffin V, Kinet S, Ferrag F, Binart N, Martial JA, Kelly PA** 1996 Antagonistic properties of human prolactin analogs that show paradoxical agonistic activity in the Nb2 bioassay. *J Biol Chem* 271:16573-9
21. **Murakami M, Narazaki M, Hibi M, et al.** 1991 Critical cytoplasmic region of the interleukin 6 signal transducer gp130 is conserved in the cytokine receptor family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:11349-53
22. **Rillema JA, Campbell GS, Lawson DM, Carter-Su C** 1992 Evidence for a rapid stimulation of tyrosine kinase activity by prolactin in Nb2 rat lymphoma cells. *Endocrinology* 131:973-5
23. **Lebrun JJ, Ali S, Sofer L, Ullrich A, Kelly PA** 1994 Prolactin-induced proliferation of Nb2 cells involves tyrosine phosphorylation of the prolactin receptor and its associated tyrosine kinase JAK2. *J Biol Chem* 269:14021-6
24. **Ferrag F, Pezet A, Chiarenza A, et al.** 1998 Homodimerization of IL-2 receptor beta chain is necessary and sufficient to activate Jak2 and downstream signaling pathways. *FEBS Lett* 421:32-6
25. **Rui H, Djeu JY, Evans GA, Kelly PA, Farrar WL** 1992 Prolactin receptor triggering. Evidence for rapid tyrosine kinase activation. *J Biol Chem* 267:24076-81
26. **Stoecklin E, Wissler M, Moriggl R, Groner B** 1997 Specific DNA binding of Stat5, but not of glucocorticoid receptor, is required for their functional cooperation in the regulation of gene transcription. *Mol Cell Biol* 17:6708-16
27. **Nemeth E, Bole-Feysot C, Tashima LS** 1998 Suppression subtractive hybridization (SSH) identifies prolactin stimulation of p38 MAP kinase gene expression in Nb2 T lymphoma cells: molecular cloning of rat p38 MAP kinase. *J Mol Endocrinol* 20:151-6
28. **Sorensen P, Sheffield LG** 1997 Involvement of c-src in beta-casein expression by mammary epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 241:710-3
29. **al-Sakkaf KA, Dobson PR, Brown BL** 1997 Prolactin induced tyrosine phosphorylation of p59fyn may mediate phosphatidylinositol 3-kinase activation in Nb2 cells. *J Mol Endocrinol* 19:347-50
30. **Baeuerle PA** 1998 Pro-inflammatory signaling: last pieces in the NF-kappaB puzzle? *Curr Biol* 8:R19-22
31. **Nagano M, Kelly PA** 1994 Tissue distribution and regulation of rat prolactin receptor gene expression. Quantitative analysis by polymerase chain reaction. *J Biol Chem* 269:13337-45
32. **Anthony PK, Stoltz RA, Pucci ML, Powers CA** 1993 The 22K variant of rat prolactin: evidence for identity to prolactin-(1-173), storage in secretory granules, and regulated release. *Endocrinology* 132:806-14
33. **Corbacho AM, Macotela Y, Nava G, et al.** 2000 Human umbilical vein endothelial cells express multiple prolactin isoforms. *J Endocrinol* 166:53-62

34. **Lissoni P, Mandala M, Rovelli F, et al.** 2000 Paradoxical stimulation of prolactin secretion by L-dopa in metastatic prostate cancer and its possible role in prostate-cancer-related hyperprolactinemia. *Eur Urol* 37:569-72
35. **Nevalainen MT, Valve EM, Ingleton PM, Nurmi M, Martikainen PM, Harkonen PL** 1997 Prolactin and prolactin receptors are expressed and functioning in human prostate. *J Clin Invest* 99:618-27
36. **Kooijman R, Gerlo S, Coppens A, Hooghe-Peters EL** 2000 Myeloid leukemic cells express and secrete bioactive pituitary-sized 23 kDa prolactin. *J Neuroimmunol* 110:252-8
37. **John R, McDowell IF, Scanlon MF, Ellis AR** 2000 Macroprolactin reactivities in prolactin assays: an issue for clinical laboratories and equipment manufacturers. *Clin Chem* 46:884-5
38. **Fahie-Wilson MN** 2000 Detection of macroprolactin causing hyperprolactinemia in commercial assays for prolactin. *Clin Chem* 46:2022-3
39. **Bjoro T, Morkrid L, Wergeland R, et al.** 1995 Frequency of hyperprolactinaemia due to large molecular weight prolactin (150-170 kD PRL). *Scand J Clin Lab Invest* 55:139-47
40. **Hattori N** 1996 The frequency of macroprolactinemia in pregnant women and the heterogeneity of its etiologies. *J Clin Endocrinol Metab* 81:586-90
41. **Vieira JGH** 2002 Macroprolactinemia. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 46/1:45-5084.
42. **Glezer A, D'Alva CB, Bronstein MD, Vieira JGH** 2001 Macroprolactina e incidentaloma hipofisário. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 45/2:190-8
43. **Colao A, Lombardi G** 1998 Growth-hormone and prolactin excess. *Lancet* 352:1455-61
44. **Rajasoorya C** 2001 Hyperprolactinaemia and its clinical significance. *Singapore Med J* 42:398-401
45. Vilar L, Castellar E **Hiperprolactinemia: Investigação diagnóstica e Tratamento.** *Endocrinologia clínica, 1aed.* Rio de Janeiro: Medsi; 1999; 3-20.
46. **Biller BM, Luciano A, Crosignani PG, et al.** 1999 Guidelines for the diagnosis and treatment of hyperprolactinemia. *J Reprod Med* 44:1075-84
47. **Luciano AA** 1999 Clinical presentation of hyperprolactinemia. *J Reprod Med* 44:1085-90
48. **Molitch ME** 2001 Disorders of prolactin secretion. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30:585-610
49. Gadellha MR, Une K. **Avaliação diagnóstica da hiperprolactinemia.** *Endocrinologia clínica. 2ed.* Rio de Janeiro: Medsi, 2001; 23-32
50. **Serri O, Chik CL, Ur E, Ezzat S** 2003 Diagnosis and management of hyperprolactinemia. *Cmaj* 169:575-81
51. **Souza JAH** 2003 Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: Hiperprolactinemia, Bromocriptina, Cabergolina, Pergolida. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos 180
52. **Serri O** 1994 Progress in the management of hyperprolactinemia. *N Engl J Med* 331:942-4
53. Basileiro, GF **Bigliolo patologia.** 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000; 955-66
54. WHO Consultation on Obesity. **Preventing and managing the global epidemic.** Geneva: World Health Organization 1-276, 1997
55. Molitch ME. **Prolactin.** The pituitary. Blackwell Science: Cambridge, 1995; 136-87
56. **Sluijmer AV, Lappohn RE** 1992 Clinical history and outcome of 59 patients with idiopathic hyperprolactinemia. *Fertil Steril* 58:72-7

57. **Frieze TW, Mong DP, Koops MK** 2002 "Hook effect" in prolactinomas: case report and review of literature. *Endocr Pract* 8:296-303
58. **Villar L, Naves LA, Gadelha M** 2003 Armadilhas no diagnóstico da hiperprolactinemia. *Arq Bras Endocrinol Metab* 47(4):347-57
59. **Hattori N, Inagaki C** 1997 Anti-prolactin (PRL) autoantibodies cause asymptomatic hyperprolactinemia: bioassay and clearance studies of PRL-immunoglobulin G complex. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3107-10
60. **Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T, Moridera K, Hino M, Kurahachi H** 1992 A normal ovulatory woman with hyperprolactinemia: presence of anti-prolactin autoantibody and the regulation of prolactin secretion. *Acta Endocrinol (Copenh)* 126:497-500
61. **Olukoga AO, Dornan TL, Kane JW** 1999 Three cases of macroprolactinaemia. *J R Soc Med* 92:342-4
62. **Hattori N, Ishihara T, Ikekubo K, Moridera K, Hino M, Kurahachi H** 1992 Autoantibody to human prolactin in patients with idiopathic hyperprolactinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 75:1226-1229.
63. **Yuen YP, Lai JP, Au KM, Chan AY, Mak TW** 2003 Macroprolactin-a cause of pseudohyperprolactinaemia. *Hong Kong Med J* 9:119-21
64. **Leslie H, Courtney CH, Bell PM, et al.** 2001 Laboratory and clinical experience in 55 patients with macroprolactinemia identified by a simple polyethylene glycol precipitation method. *J Clin Endocrinol Metab* 86:2743-6
65. **Olukoga AO, Kane JW** 1999 Macroprolactinaemia: validation and application of the polyethylene glycol precipitation test and clinical characterization of the condition. *Clin Endocrinol (Oxf)* 51:119-26
66. **Hauache OM, Rocha AJ, Maia AC, Maciel RM, Vieira JG** 2002 Screening for macroprolactinaemia and pituitary imaging studies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 57:327-31
67. **Fahie-Wilson M, Soule S** 1997 Macroprolactinaemia: contribution to hyperprolactinaemia in a district general hospital and evaluation of a screening test based on precipitation with polyethylene glycol. *Ann Clin Biochem* 34:252-8.
68. **Suliman AM, Smith TP, Gibney J, McKenna TJ** 2003 Frequent misdiagnosis and mismanagement of hyperprolactinemic patients before the introduction of macroprolactin screening: application of a new strict laboratory definition of macroprolactinemia. *Clin Chem* 49:1504-9
69. **Strachan MW, Teoh WL, Don-Wauchope AC, Seth J, Stoddart M, Beckett GJ** 2003 Clinical and radiological features of patients with macroprolactinaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 59:339-46
70. **Passos VQ, Souza JJ, Musolino NR, Bronstein MD** 2002 Long-term follow-up of prolactinomas: normoprolactinemia after bromocriptine withdrawal. *J Clin Endocrinol Metab* 87:3578-82
71. **Gibney J, Smith TP, McKenna TJ** 2005 Clinical relevance of macroprolactin. *Clin Endocrinol (Oxf)* 62:633-43
72. **Cavaco B, Leite V, Santos MA, Arranhado E, Sobrinho LG** 1995 Some forms of big big prolactin behave as a complex of monomeric prolactin with a immunoglobulin G in patients with macroprolactinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 80:2342-6
73. **Gibson G, Schmit P, Thix J, Hoffman JP, Humbel RL** 2001 Prolactin results for samples containing macroprolactin are method and sample dependent. *Clin Chem* 47:331-3
74. **Mounier C, Trouillas J, Claustrat B, Duthel R, Estour B** 2003 Macroprolactinaemia associated with prolactin adenoma. *Hum Reprod* 18:853-7

75. **Leite V, Cosby H, Sobrinho LG, Fresnoza MA, Santos MA, Friesen HG** 1992 Characterization of big, big prolactin in patients with hyperprolactinaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 37:365-72
76. **Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T, Moridera K, Hino M, Kurahachi H** 1994 Correlation of the antibody titers with serum prolactin levels and their clinical course in patients with anti-prolactin autoantibody. *Eur J Endocrinol* 130:438-45
77. **Schiettecatte J, De Schepper J, Velkeniers B, Smitz J, Van Steirteghem A** 2001 Rapid detection of macroprolactin in the form of prolactin-immunoglobulin G complexes by immunoprecipitation with anti-human IgG-agarose. *Clin Chem Lab Med* 39:1244-8
78. **Jackson RD, Wortsman J, Malarkey WB** 1985 Characterization of a large molecular weight prolactin in women with idiopathic hyperprolactinemia and normal menses. *J Clin Endocrinol Metab* 61:258-64
79. **Hattori N, Ikekubo K, Nakaya Y, Kitagawa K, Inagaki C** 2005 Immunoglobulin G subclasses and prolactin (PRL) isoforms in macroprolactinemia due to anti-PRL autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 90:3036-44
80. **Suh HK, Frantz AG** 1974 Size heterogeneity of human prolactin in plasma and pituitary extracts. *J Clin Endocrinol Metab* 39:928-35
81. **Bonhoff A, Vuille JC, Gomez F, Gellersen B** 1995 Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 103:252-5
82. **Cavaco B, Prazeres S, Santos MA, Sobrinho LG, Leite V** 1999 Hyperprolactinemia due to big big prolactin is differently detected by commercially available immunoassays. *J Endocrinol Invest* 22:203-8
83. **Mena F, Hummelt G, Aguayo D, Clapp C, Martinez de la Escalera G, Morales MT** 1992 Changes in molecular variants during in vitro transformation and release of prolactin by the pituitary gland of the lactating rat. *Endocrinology* 130:3365-77
84. **Aron DC, Ross NS** 1990 Pituitary "incidentalomas". *Ann Intern Med* 113:558-9
85. **Hattori N** 2003 Macroprolactinemia: a new cause of hyperprolactinemia. *J Pharmacol Sci* 92:171-7
86. **Vieira JG, Tachibana TT, Obara LH, Maciel RM** 1998 Extensive experience and validation of polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. *Clin Chem* 44:1758-9
87. **Schlechte JA** 2002 The macroprolactin problem. *J Clin Endocrinol Metab* 87:5408-9
88. **Rattle SJ, Purnell DR, Williams PI, Siddle K, Forrest GC** 1984 New separation method for monoclonal immunoradiometric assays and its application to assays for thyrotropin and human choriogonadotropin. *Clin Chem* 30:1457-61
89. **Fahie-Wilson MN** 1999 Polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. *Clin Chem* 45:436-7
90. **Mattei AM, Severini V, Crosignani PG** 1991 Natural history of hyperprolactinemia. *Ann N Y Acad Sci* 626:130-6
91. **Schlechte J, Dolan K, Sherman B, Chapler F, Luciano A** 1989 The natural history of untreated hyperprolactinemia: a prospective analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 68:412-8
92. **Martin TL, Kim M, Malarkey WB** 1985 The natural history of idiopathic hyperprolactinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 60:855-8
93. **van 't Verlaat JW, Croughs RJ** 1991 Withdrawal of bromocriptine after long-term therapy for macroprolactinomas; effect on plasma prolactin and tumour size. *Clin Endocrinol (Oxf)* 34:175-8

94. **Cunnah D, Besser M** 1991 Management of prolactinomas. *Clin Endocrinol (Oxf)* 34:231-5
95. **Gibney J, Smith TP, McKenna TJ** 2005 The impact on clinical practice of routine screening for macroprolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 90:3927-32
96. **Smith TP, Suliman AM, Fahie-Wilson MN, McKenna TJ** 2002 Gross variability in the detection of prolactin in sera containing big big prolactin (macroprolactin) by commercial immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab* 87:5410-5
97. **Faglia G** 2001 Prolactinomas and hyperprolactinemic syndrome. *Endocrinology* 329-42
98. **Gary S, Wand MD** 2003 Diagnosis and management of hyperprolactinemia. *The endocrinologist* 52-7
99. **Molitch ME** 1998 Pituitary diseases in pregnancy. *Seminars Perinatol* 22:457-70
100. **Mallmann ES, Nacul A, Spritzer PM** 2002 Pregnancy in hyperprolactinemic women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 81:265-7
101. **Jeffcoate WJ, Pound N, Sturrock ND, Lambourne J** 1996 Long-term follow-up of patients with hyperprolactinaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 45:299 –303
102. **Reis FM, Maia AL, Ribeiro MF, Spritzer PM** 1999 Progestin modulation of c-fos and prolactin gene expression in human endometrium. *Fertility & Sterility* 71: 1125-32

ARTIGO

Association of macroprolactinemia with hormonal variables, pituitary imaging and clinical outcomes in hyperprolactinemic women: a 10-year follow

Short title: Macroprolactinemia and clinical outcomes in women

This work was carried out at the Laboratory of Molecular Endocrinology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Simone Radavelli¹, Francisco LR Lhullier², Raphaella Migliavacca^{1,3}, Igor G Benedetto^{1,3}, Fabiane Tiskievicz³, Elaine S Mallmann⁴, Poli Mara Spritzer^{1,3}

¹Laboratory of Molecular Endocrinology, Department of Physiology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); ²Department of Biochemistry, School of Pharmacy, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS); ³Gynecological Endocrinology Unit, Division of Endocrinology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA); ⁴Obstetrics & Gynecology Department, School of Medicine, Universidade de Caxias do Sul (UCS).

Abstract

Background: The screening of macroprolactinemia may prevent patients from having to undergo inappropriate investigation and treatment for hyperprolactinemia. Our aims were to determine the frequency of macroprolactinemia in a cohort of hyperprolactinemic women, describe the association of macroprolactinemia with clinical variables and morphological changes in the pituitary gland, and describe clinical status and prolactin levels after 10 years of follow-up.

Study design: Blood samples were obtained from 32 patients for hormonal assessment.

Treatment with cabergoline or bromocriptine was interrupted for 3 months for determination of serum prolactin and macroprolactin. Macroprolactin was measured using the PEG precipitation method. Computed tomography was performed in all patients.

Results: The frequency of macroprolactinemia was 28.1%. In 19 patients prolactin remained elevated (persistent hyperprolactinemia). In 13, prolactin returned to normal (previous hyperprolactinemia). Nine patients with PEG recovery between 40 and 50%, and the only two macroprolactinemic patients with previous hyperprolactinemia were excluded from the analysis of clinical outcomes. The remaining seven macroprolactinemic patients were fertile, and an abnormal pituitary image was observed in only one (empty sella turcica). None had galactorrhea.

Conclusions: The classic symptoms of hyperprolactinemia are not common in macroprolactinemic patients. Macroprolactinemia should be managed as a specific clinical entity and routine screening should be instituted.

Key-words: Hyperprolactinemia, macroprolactin, menstrual irregularity, prolactinomas, PEG (polyethylene glycol)

INTRODUCTION

Prolactin (PRL), a polypeptide hormone synthesized by lactotrophs in the anterior pituitary gland [1], is best known for its role in inducing and maintaining lactation [2,3]. Altered levels of circulating PRL are associated with menstrual irregularity, galactorrhea, and subfertility in women. Elevated serum prolactin in the absence of pregnancy, or pathological hyperprolactinemia, is among the most common hypothalamo-pituitary disorders in women of reproductive age [4,5].

The etiology of hyperprolactinemia includes the occurrence of pituitary adenomas (prolactinomas), the use of drugs affecting the hypothalamic dopamine system and/or pituitary dopamine receptors or the predominance of high molecular mass (>150 kDa) PRL isoforms over other circulating forms of PRL [6]. This latter condition, known as macroprolactinemia, is usually suspected in the presence of high PRL levels without the classic features of hyperprolactinemia syndrome or in the presence of atypical features [7,8].

Macroprolactin is bio-unavailable, and the frequency of abnormal imaging in patients with macroprolactinemia is similar to that observed in the general population [8]. Previous studies have shown that the screening of macroprolactinemia may prevent patients from having to undergo inappropriate investigation and treatment for hyperprolactinemia. Macroprolactinemia has been reported to account for 25% of biochemical hyperprolactinemia [9,10,11].

Therefore, the objectives of the present study were: 1) to determine the frequency of macroprolactinemia in a cohort of hyperprolactinemic women; 2) to describe the association of macroprolactinemia with clinical and hormonal variables and morphological changes in the anterior pituitary gland; and 3) to describe the clinical status and PRL levels of these hyperprolactinemic patients after 10 years of follow-up.

MATERIALS AND METHODS

Patients

The population consisted of 32 women who were followed-up at the Gynecological Endocrinology Unit at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. All the patients had a diagnosis of hyperprolactinemia ($>26\text{ng/mL}$ on at least two occasions). Exclusion criteria were hypothyroidism, hyperprolactinemia secondary to drugs and pregnancy.

The study protocol was approved by the local Ethics Committee (IRB-equivalent), and informed consent was obtained from all subjects.

Study protocol

The protocol included investigation of age, menstrual cycle, fertility, pregnancies, headache and galactorrhea. Anthropometric measurements included body weight and height and body mass index (BMI) (current weight in kg divided by height in m^2).

Blood samples were drawn at the beginning and at the end of follow-up for determination of 17β estradiol (E2), thyroid-stimulating hormone (TSH), follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), thyroxine (T4) and prolactin (PRL). Treatment with dopamine agonists cabergoline or bromocriptine was interrupted for 3 months (washout period) for determination of serum prolactin and macroprolactin levels. All the blood samples were obtained after the 3-month washout period at the beginning of the follicular phase (between the first and tenth days of the menstrual cycle) in normally cycling women, or on any day in amenorrheic patients.

Assays

PRL levels were measured using an immunoradiometric assay (IRMA) (Adaltis Italia SpA, Italy) with sensitivity of 0.3 ng/mL and inter- and intra-assay coefficient of variation (CV) of 6% and 3.2%, respectively. For precipitation of macroprolactin, samples were treated with a 12.5% PEG/saline solution ($250\ \mu\text{L}$ of serum were mixed with $250\ \text{g/L}$ PEG 6000

solution in 0.9% NaCL, kept at 4 °C), mixed for 1 min with a vortex mixer, and centrifuged for 5 min at 8,000 rpm. Monomeric PRL was determined in the supernatant, using IRMA.

Macroprolactin was determined by comparing the amount of total PRL obtained by IRMA with the amount of monomeric PRL recovered after PEG precipitation. Recovery of monomeric prolactin > 50% [5,12] indicated predominance of the monomer isoform, whereas a recovery rate \leq 40% [4,5,12] indicated predominance of big-big prolactin (macroprolactinemia). A recovery rate between 40 and 50% was considered as indeterminate [4,13].

Computed tomography

Computed tomography (CT) was performed in all patients at the beginning and at the end of the follow-up period

Statistical analysis

The results were expressed as median and interquartile range for variables with a non-Gaussian distribution, or mean and standard deviation (SD) for Gaussian variables. Clinical features were analyzed using the chi-square test for categorical variables and the Kruskal-Wallis H test for continuous variables. A $P \leq 0.05$ was considered to be significant. All the analyses were performed with the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL).

RESULTS

PEG precipitation revealed the presence of macroprolactinemia in 9 of our 32 patients (frequency: 28.1%). Mean age at baseline was 31.91 ± 6.91 years (40.38 ± 8.63 years at the end of the study), and mean BMI was 26.1 ± 4.45 ($n = 31$).

For the analysis of clinical outcomes, the patients were initially divided into two groups depending on their PRL levels: 19 patients with consistently elevated serum PRL

levels were included in the persistent hyperprolactinemia (Hprl) group, and 13 patients whose PRL levels had returned to normal were included in the previous Hprl group. Nine patients with PRL recovery between 40 and 50% (5 in the persistent Hprl group and 4 in the previous Hprl group) were excluded from this analysis, as well as the only two macroprolactinemic patients in the previous Hprl group.

For the 21 remaining patients, mean age at baseline was 33.7 ± 6.7 years, and mean BMI was 25.9 ± 4.9 kg/m². Median follow-up was 10.7 (3.4-14.2) years. During this time, four women entered menopause. These 21 women were further divided into three groups of 7 patients each: previous Hprl, mono Hprl (monomeric PRL recovery > 50%), and macro Hprl (macroprolactinemia).

Figure 1 shows PRL levels in the three groups. As expected, the previous Hprl group had significantly lower PRL levels than the two other groups ($P = 0.0001$). Figure 2 shows that the groups had similar estradiol levels ($P = 0.679$). TSH, FSH and LH were also similar in all the groups. The four post-menopausal patients were not included in this analysis.

Table 1 shows the results for women in the previous Hprl group. In this group, four patients became pregnant and one had a spontaneous abortion. Of seven patients, six had regular cycles. Patient no. 5 was considered to be menopausal based on the age of 52 years and amenorrhea for over 1 year (E2, FSH and LH measurements were not available). None of the women in this group had galactorrhea. CT revealed Rathke's cyst in one woman and microadenomas in two.

Of the seven patients included in the mono Hprl group (table 2), four were amenorrheic (three menopausal) and one had irregular menses. Of the menopausal patients, two (no. 10 and 13) had elevated serum levels of FSH and LH. FSH and LH measurements were not available for patient no. 9, and this patient was classified as menopausal based on the fact that she was 57 years old and amenorrheic. Two women did not have children. Patients

no. 11 and 13 had one and four abortions, respectively. Two patients had galactorrhea. CT revealed a microadenoma in one patient.

Table 3 shows the results concerning the seven patients in the macro Hprl group. Two women were amenorrheic, one of which (patient 17) presenting postoperative panhypopituitarism. Patient 19 is currently undergoing investigation of amenorrhea, since she has proven fertility and a normal CT. In one patient with irregular cycles (no. 21) and idiopathic hirsutism, the dosage of spironolactone (not related to hyperprolactinemia) is currently being adjusted. Five patients did not have children. None had galactorrhea. CT revealed empty sella turcica in one patient.

DISCUSSION

The present report describes the long-term follow up of 32 hyperprolactinemic women. Since macroprolactinemia affects mostly women [14], we expected that the study of a strictly female cohort would reveal important information concerning this disorder.

As expected based on earlier studies [7,14,15], patients in the previous Hprl group had significantly lower PRL levels than those observed in the other two groups. Also, a clear improvement in the regularity of menstrual cycles was recorded along the follow-up period in this group, a finding that is consistent with the normalization of PRL levels that occurred in the same period. Concerning the mono Hprl group, most continued to present irregular cycles or amenorrhea, even at the end of 10 years, confirming previous observations [16].

The frequency of macroprolactinemia encountered by us (28.1%) falls within the 15-35% range reported in the literature [8,12,14,17,18]. Our macroprolactinemic patients were also similar to other populations in terms of clinical heterogeneity (presence of symptoms that could be associated with menstrual disturbances not related to hyperprolactinemia) [14] and frequency of pituitary changes on CT (14.3% vs. 7 to 22% in the literature) [12,14,16].

Fertility was maintained in all macroprolactinemic women in this sample, as previously reported [9,19]. These findings support the notion that patients with hyperprolactinemia due to high levels of macroprolactin do not require specific treatment for this condition.

Screening for hyperprolactinemia is indicated in the presence of altered menses, amenorrhea, infertility and galactorrhea in women. In addition, determining PRL levels is also essential in the presence of hypothalamic-pituitary tumors [7]. On the other hand, the screening of macroprolactinemia is still not routinely performed. Previous studies, as well as the present results, indicate that macroprolactinemia screening would be useful to ensure that patients receive the most adequate treatment, especially taking into consideration that the most employed screening method, PEG precipitation, has proven simplicity, good reproducibility and correlation with the gold standard gel chromatography [13]. The prevalence of macroprolactinemia based on the PEG method ranges from 9 to 26% [12]. In the present study, PEG precipitation revealed the predominant form of circulating PRL in 71.8% of the cases (n = 32).

In conclusion, this long term follow-up of hyperprolactinemic women showed that the classic symptoms of hyperprolactinemia are not common in patients in whom macroprolactin is the predominant form of PRL. This suggests that macroprolactinemia should not be managed as hyperprolactinemia, but rather as a specific clinical entity, and warrants the institution of routine screening for this condition.

Acknowledgements

Financial support was provided by Financial support: PRONEX 26/98 (Programa de Apoio aos Núcleos de Excelência em Pesquisa).

REFERENCES

- [1] Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev* 2000;80:1523-1631.
- [2] Hershlag A, Peterson CM. Distúrbios endócrinos. Tratado de ginecologia. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1998.
- [3] Josimovich JB, Lavenhar MA, Devanesan MM, Sesta HJ, Wilchins SA, Smith AC. Heterogeneous distribution of serum prolactin values in apparently healthy young women, and the effects of oral contraceptive medication. *Fertil Steril* 1987;47:785-791.
- [4] Rajasoorya C. Hyperprolactinaemia and its clinical significance. *Singapore Med J* 2001;42:398-401.
- [5] Vilar L, Castellar E. Hiperprolactinemia: investigação diagnóstica e tratamento. *Endocrinologia clínica*. 1st ed. Rio de Janeiro, Medsi, 1999.
- [6] Glezer A, D'Alva CB, Bronstein MD, Vieira JGH. Macroprolactina e incidentaloma hipofisário. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2001;45/2:190-198.
- [7] Vieira JGH. Macroprolactinemia. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2002;46/1:45-50.
- [8] Gibney J, Smith TP, McKenna TJ. The impact on clinical practice of routine screening for macroprolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3927-2932.
- [9] Gibney J, Smith TP, McKenna J. Clinical relevance of macroprolactin. *Clin Endocrinol* 2005;62:633-643.
- [10] Fahie-Wilson MN. Detection of macroprolactin causing hyperprolactinemia in commercial assays for prolactin. *Clin Chem* 2000;46:2022-2023.
- [11] Leslie H, Courtney CH, Bell PM, et al. 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.

- [12] 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.
- [13] Vieira JG, Tachibana TT, Obara LH, Maciel RM. Extensive experience and validation of polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. *Clin Chem* 1998;44:1758-1759.
- [14] 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.
- [15] Hattori N. Macroprolactinemia: a new cause of hyperprolactinemia. *J Pharmacol Sci* 2003;92:171-177.
- [16] 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.
- [17] Leslie H, Courtney CH, Bell PM, et al. 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.
- [18] Fahie-Wilson M, Soule S. 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.
- [19] Whittaker PG, Wilcox T, Lind T. Maintained fertility in a patient with hyperprolactinemia due to big, big prolactin. *J Clin Endocrinol Metabolism* 1981;53:863-866.

Table 1 – Clinical, hormonal and pituitary CT results in patients with previous hyperprolactinemia

Variable	Patient no.						
	1	2	3	4	5**	6	7
Age	41	45	22	44	52	50	40
Cycle	R	R	R	R	A	R	R
Pregnancies/Parity	2/2	0	0	4/4	0	2/2	1/0
Headache	N	N	Y	N	Y	N	N
Galactorrhea	N	N	N	N	N	N	N
Pituitary CT	5 mm§	Normal	8 mm§	Rathke	Normal	Normal	Normal
PRL (ng/mL)	16.44	15.84	24.42	18.52	16.06	11.05	10.85
E2 (pg/mL)	11.93	48.44	33.59	29.7	-	132	40.84
TSH (μUI/mL)	-	3.14	1.54	0.97	2.08	5.23	2.99
T4 (μg/dL)	-	11	6.5	4.45	6.87	9.26	6.20
FSH (μUI/mL)	9.10	6	3.3	17.2	-	3.8	9.47
LH (μUI/mL)	3.10	1.3	8.29	0.70	-	1.4	5.35

Y = yes; N = no; R = regular; A = amenorrhea; Rathke = Rathke's cyst.

**Menopausal patient.

§Microadenoma.

Table 2 – Clinical, hormonal and pituitary CT results in patients with mono hyperprolactinemia

Variable	Patient no.						
	8	9**	10**	11	12	13**	14
Age	52	57	48	45	41	51	44
Cycle	A	A	A	R	R	A	I
Pregnancies/Parity	0	2/3	0	4/3	2/2	7/3	1/1
Headache	Y	N	Y	Y	Y	Y	Y
Galactorrhea	N	N	N	Y	Y	N	N
Pituitary CT	Normal	Normal	5 mm§	Normal	Normal	Normal	Normal
PRL (ng/mL)	28.52	26.46	30.29	31.42	30.04	27.66	29.2
E2 (pg/mL)	57.64	11.93	60.7	46.5	33.85	25.95	24.56
TSH (μ UI/mL)	0.56	1.62	1.49	3.89	0.75	2.72	1.42
T4 (μ g/dL)	6.64	-	5.58	6.51	10	8.28	8.20
FSH (μ UI/mL)	17.1	-	97.9	4.28	6.89	42.7	13.5
LH (μ UI/mL)	6.01	-	19.9	2.63	0.70	11.4	5.82

Y = yes; N = no; R = regular; I = irregular; A = amenorrhea.

**Menopausal patient.

§Microadenoma.

Table 3 – Clinical, hormonal and pituitary CT results in patients with macro hyperprolactinemia

Variable	Patient no.						
	15	16	17	18	19	20	21
Age	39	48	39	34	30	30	45
Cycle	R	R	A	R	A	R	I
Pregnancies/Parity	0	0	0	0	1/1	0	2/2
Headache	N	Y	N	N	Y	Y	N
Galactorrhea	N	N	N	N	N	N	N
Pituitary CT	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	EST
PRL (ng/mL)	30.95	160.71	27.05	52.11	108.95	29.54	35.35
E2 (pg/mL)	40	14.11	6.39	155	17.63	12.93	56.63
TSH (μ UI/mL)	2.2	1.13	1.22	7.16	2.38	1.3	1.12
T4 (μ g/dL)	9.4	9.4	8.47	-	-	13.28	8.94
FSH (μ UI/mL)	10.8	6.99	0.44	6.76	4.5	11.6	1.77
LH (μ UI/mL)	4	1.01	0.14	1	0.72	5.6	1.24

Y = yes; N = no; R = regular; I = irregular; A = amenorrhea; EST = empty sella turcica.

Figure 1. Serum PRL concentration (ng/mL) in hyperprolactinemic women.

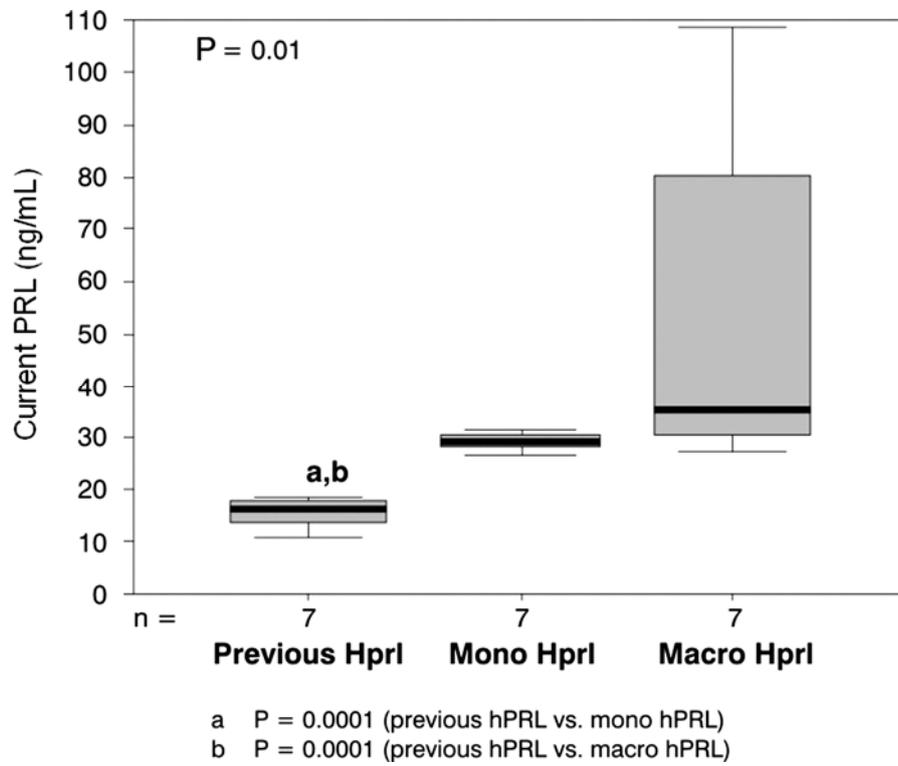


Figure 2. Serum estradiol concentration (pg/mL) in hyperprolactinemic women.

