

Originals

Significación clínica de la macroprolactina

PAULA ÁLVAREZ-VÁZQUEZ^a, DIGNA RODRÍGUEZ PÉREZ^b,
 ELÍAS ÁLVAREZ GARCÍA^b, CONCHA PÁRAMO FERNÁNDEZ^a,
 ELENA HERVÁS ABAD^a Y MARÍA AMALIA ANDRADE OLIVIÉ^b

CLINICAL SIGNIFICANCE OF MACROPROLACTIN

Introduction: Macroprolactin (maPRL) is a high molecular weight variant of prolactin (PRL) with reduced bioactivity. The purpose of the present study was to determine the clinical-laboratory repercussions of the presence of maPRL in patients with hyperprolactinemia.

Patients and Method: A polyethylene glycol (PEG) precipitation test was used to detect the presence of maPRL in all consecutive samples with a prolactin concentration of > 50 ng/ml (1.060 MU/l). A recovery < 75% was taken to indicate maPRL. The hospital records of patients with maPRL were reviewed.

Results: Over a 24-month period, maPRL was found in 22 (9.6%) of 228 patients with total PRL > 50 ng/ml. All the patients with maPRL were women; the mean age was 32 years (12-48). Serum PRL levels ranged from 50.5-158 ng/ml. The most frequent reason for the initial PRL request was menstrual disturbance (45% patients). To study clinical repercussions, monomeric PRL was determined. The results showed that maPRL was associated with an increase of monomeric PRL levels in 36.4% of the patients (group A) and that 87.5% of patients in this group had hypogonadal symptoms. MaPRL was associated with physiological concentrations of monomeric PRL in 63.6% (group B) and only one patient in this group had amenorrhea (7.14%), $p < 0.05$. Of 6 patients who underwent neuroimaging, pituitary adenomas were identified in 2. Six patients were treated with dopamine agonists. In all 6 of these patients, symptoms and hyperprolactinemic values were resolved.

Conclusions: Our results indicate that patients with maPRL only presented symptomatology suggestive of hyperprolactinemia when the monomeric PRL concentration was elevated. MaPRL has limited clinical repercussions but its determination in routine practice is important to avoid inappropriate management.

Key words: Macroprolactin. Hyperprolactinemia. Adenomas. Immunoassay.

Introducción: La macroprolactina (maPRL) es una variedad molecular de prolactina (PRL) de alto peso molecular y de actividad biológica questionable. El objetivo del presente estudio fue valorar la repercusión clínico-analítica de la presencia de maPRL en pacientes con hiperprolactinemia.

Pacientes y método: Seleccionamos las muestras con concentraciones de PRL > 50 ng/ml (1.060 MU/l), tras la realización de la técnica de precipitación con polietilenglicol (PEG) 6000, consideramos que presentaban maPRL aquellas con valores de recuperación < 75%. Posteriormente revisamos las historias clínicas de los pacientes que presentaron maPRL.

Resultados: De 228 pacientes con PRL basal > 50 ng/ml estudiados en un periodo de 24 meses, 22 presentaron maPRL (9,6%), todas mujeres con edad media de 32 años (12-48). El rango de PRL basal fue de 50,5 a 158 ng/ml. El motivo más frecuente de petición de PRL fueron las alteraciones menstruales (el 45% de los pacientes). Para valorar la repercusión clínica, evaluamos la PRL monomérica en estas pacientes y encontramos que en el 36,4% la maPRL se asociaba a aumento de PRL monomérica (grupo A) y en este grupo presentaba clínica hipogonadal el 87,5%. La maPRL se asociaba con concentraciones fisiológicas de PRL monomérica en el 63,6% (grupo B) y en este grupo presentaba clínica de amenorrea sólo 1 (7,14%) paciente, $p < 0,05$. De las 6 pacientes a las que se realizó estudio radiológico, 2 presentaron adenomas. Se trató con agonistas dopamínergicos a 6 pacientes y en todas se normalizaron la clínica y los valores de hiperprolactinemia.

Conclusiones: En nuestra serie, la presencia de maPRL sólo se acompañó de clínica de disfunción gonadal cuando se asoció a hiperprolactinemia monomérica. La maPRL aislada carece de significado clínico, pero es importante determinarla para evitar un manejo clínico innecesario.

Palabras clave: Macroprolactina. Hiperprolactinemia. Adenoma. Inmunoanálisis.

INTRODUCCIÓN

Desde la descripción del síndrome de hiperprolactinemia, hace unos 30 años, la medición de la prolactina (PRL) sérica humana es habitual en la práctica clínica. El síndrome de hiperprolactinemia clínicamente se caracteriza por galactorrea y disfunción gonadal en mujeres o varones, y es el resultado de situaciones fisiológicas

Correspondencia: Dra. P. Álvarez-Vázquez.
 Complejo Hospitalario Universitario de Vigo.
 Pizarro, 22. 36204 Vigo. Pontevedra. España.
 Correo electrónico: cartapaula@yahoo.es

Manuscrito recibido el 17-10-2005 y aceptado para su publicación el 19-12-2005.

o patológicas que condicionan la hipersecreción de PRL por las células lactotrofas.

La PRL sérica humana presenta formas heterogéneas, y en el suero humano han sido identificadas por cromatografía de filtración en gel 3 formas principales de PRL. La PRL monomérica (23 kDa) constituye aproximadamente el 85% del total de PRL circulante, *big* PRL (50-60 kDa), y supone alrededor del 10-15%, y la *big-big* PRL o macroprolactina (maPRL) (150 kDa) generalmente supone sólo una pequeña proporción de PRL circulante¹. Sin embargo, desde hace algunos años, se sabe que en determinados pacientes con hiperprolactinemia es la maPRL la forma predominante, y la mayoría de los inmunoanálisis automatizados disponibles en el mercado la detectan^{2,3}.

Aunque la estructura molecular de la maPRL no ha sido perfectamente definida, parece que consiste en la unión de una PRL monomérica de 23 kDa y una inmunoglobulina de clase IgG⁴⁻⁸. Esta variedad de alto peso molecular presente a concentraciones suprafisiológicas parece confinarse al compartimiento vascular para, de este modo, no estar bioindisponible *in vivo* y, por tanto, aparentemente bioinactiva⁹⁻¹⁰.

Es por tanto discutible la relación entre macroprolactinemia y su repercusión clínica y son obvias las implicaciones prácticas de este hecho y la necesidad de incluir el análisis de maPRL en pacientes con hiperprolactinemia para evitar errores en su diagnóstico y tratamiento. Varios estudios han demostrado la presencia de maPRL en pacientes con hiperprolactinemia asociada a síntomas atípicos^{5,9,11-13}.

El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de maPRL en pacientes con hiperprolactinemia (PRL > 50 ng/ml) en nuestra área sanitaria, evaluar sus características clínicas y radiológicas y estudiar la repercusión clínica de la presencia de maPRL en función de la concentración sérica simultánea de PRL monomérica.

PACIENTES Y MÉTODO

Pacientes

Durante un período de 24 meses, desde julio de 2001 hasta junio de 2003, en el Laboratorio de Hormonas del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo, se seleccionaron las muestras consecutivas de 228 pacientes con concentraciones de PRL sérica > 50 ng/ml (1.060 MU/l). Las muestras de suero de los pacientes se obtuvieron por venopunción periférica antecubital tras 20 min de reposo. Se realizó a todas ellas la técnica de precipitación con polietilenglicol (PEG) 6000 (25% p/v) y se consideró maPRL como forma mayoritaria de PRL la de las muestras que, tras la precipitación y posterior determinación de PRL en el sobrenadante, presentaron valores de recuperación de PRL total inferiores al 75%¹⁴.

Métodos

La medición de concentración de PRL se realizó con un inmunoanálisis quimioluminiscente automatizado (IMMU-

LITE® 2000, Diagnostic Products Corp. Los Angeles, CA, Estados Unidos) que utiliza anticuerpos monoclonales murinos y anticuerpos policlonales de cabra. El análisis está calibrado frente al tercer estándar internacional IS 84/500. La sensibilidad analítica del análisis es de 0,5 ng/ml (11 MU/l) y el rango dinámico de trabajo alcanza los 150 ng/ml (3180 MU/l).

La técnica de precipitación con PEG 6000 (polietilenglicol de masa molar 6000 al 25% p/v; Merck-Schuchardt Höhenbrun, Alemania) se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Fahie-Wilson et al¹⁵ modificado: a 200 µl de suero se añadieron 200 µl de PEG a una concentración de 250 g/l en agua desionizada; se mezcló en un vórtex durante 30 s y se centrifugó a 3.000 g durante 30 min a 4 °C. En el sobrenadante se midió la concentración de PRL y su valor corregido por el factor de dilución corresponde a la forma de PRL monomérica. Se calculó el porcentaje de recuperación según la fórmula: PRL monomérica/PRL total × 100.

Para evaluar el posible efecto matriz del diluyente (PEG 6000) en las muestras, entendido como la interferencia que la composición del diluyente puede causar en la exactitud del resultado, utilizamos 27 muestras de pacientes que no tenían maPRL. Las tratamos con PEG 6000 (25% p/v) según el método descrito y con el diluyente propio de PRL en las mismas proporciones, y en ambos casos calculamos su porcentaje de recuperación.

Valoración clínica

Se realizó una revisión exhaustiva de las historias clínicas de los pacientes con maPRL, y se recogieron los siguientes datos clínicos: presencia de síntomas relacionados con hiperprolactinemia, motivo de petición de PRL, historia medicamentosa y presencia de otras afecciones relacionadas. Se recogieron también los siguientes datos analíticos: concentración de PRL total, PRL monomérica y maPRL, pruebas de función tiroidea y pruebas de función hepática y renal. Además, se obtuvieron los resultados del estudio neuroradiológico y del tratamiento de estos pacientes.

Análisis estadístico

Los cálculos estadísticos se realizaron usando SPSS versión 12.0 para Windows XP. La comparación de la repercusión clínica de la maPRL según los subgrupos de pacientes se realizó utilizando la prueba de la χ^2 para variables categóricas y la de la t de Student para variables continuas. Para el estudio del efecto matriz utilizamos una prueba de la t de Student para datos apareados. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Prevalencia de maPRL

De los 228 pacientes estudiados, 22 (9,6%) presentaron macroprolactinemia (recuperación < 75%), todos fueron mujeres con una media (intervalo) de edad de 32 (12-48) años.

La recuperación de PRL tras precipitación con PEG en estas pacientes osciló entre el 14,5 y el 73,8% (media, $36,92 \pm 17,18\%$). Sólo 4 pacientes presentaron un

porcentaje de recuperación de PRL tras precipitación con PEG de entre el 50 y el 75% (fig. 1).

Las pacientes con macroprolactinemia presentaron unos valores medios de PRL total de $75,5 \pm 27,05$ ng/ml (rango, 50,5-158 ng/ml); PRL monomérica de $29,51 \pm 25,25$ ng/ml (11,28-112,20 ng/ml) y maPRL de $46,02 \pm 17,04$ ng/ml (21,4-100 ng/ml). Para valorar la repercusión clínica en estas pacientes, se evaluó el valor de PRL monomérica y se encontró que en el 36,4% ($n = 8$) la maPRL estaba asociada a aumento de PRL monomérica (grupo A), mientras que en el 63,6% de las pacientes ($n = 14$) la maPRL se asociaba a PRL monomérica dentro del intervalo fisiológico (grupo B). Los valores medios de PRL total de los 2 subgrupos fueron estadísticamente diferentes: $92,57 \pm 33$ y $65,8 \pm 17$ ng/ml para A y B respectivamente ($p = 0,022$). Los porcentajes de recuperación de PRL tras PEG fueron igualmente estadísticamente diferentes: $53 \pm 16\%$ en el subgrupo A y $27 \pm 7\%$ en el subgrupo B ($p = 0,002$). No encontramos diferencias entre los valores de maPRL entre los 2 subgrupos: $40,5 \pm 15$ ng/ml y $49,14 \pm 18$ ng/ml para A y B, respectivamente ($p = 0,26$) (tabla 1).

Para evaluar el posible efecto matriz del diluyente (PEG 6000) en las muestras, se utilizaron 27 muestras de pacientes que no tenían maPRL divididos en 3 grupos: grupo I, 9 pacientes con PRL en 14,2-33,8 ng/ml; grupo II, 9 pacientes con PRL en 34-59,5 ng/ml, y grupo III, 9 pacientes con PRL en 74,9-170 ng/ml. Todas las muestras se trataron con PEG 6000 (25% p/v) según el método descrito y con el diluyente propio de PRL en las mismas proporciones, y en ambos casos se calculó el porcentaje de recuperación. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de recuperación de las muestras tratadas con PEG y las tratadas con el diluyente propio de PRL, y se demostró que hay interferencia positiva (con recuperaciones superiores al 100%) en la medida de PRL cuando al medio de reacción se añade PEG 6000 (efecto matriz). Los resultados se recogen en la tabla 2.

Características clínicas

En las pacientes con maPRL los motivos más frecuentes de petición de prolactina fueron las alteraciones menstruales en 10 (45%) pacientes e infertilidad en 4 (18%) pacientes. Otras causas fueron galactorrea, hirsutismo, acné, hipotiroidismo, talla baja, estudio de alergia y control de dislipemia (tabla 3).

En la revisión de la clínica 12 (55%) pacientes presentaron historia menstrual normal; 4 (18%), oligoamenorrea; 4 (18%), amenorrea secundaria; 3 (13%), dismenorrea; 3 (13%), infertilidad, y 2 (9%), galactorrea. Ninguna paciente presentaba síndrome de ovario poliquístico.

De las 8 pacientes del subgrupo A, presentaron clínica de disfunción gonadal 7 (87,5%). Por el contrario, sólo 1 de las 14 pacientes del subgrupo B presentó clínica de amenorrea (7,14%; $p < 0,05$); 2 pacientes

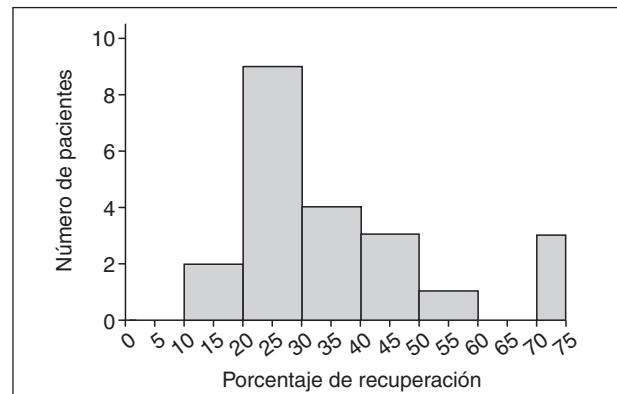


Fig. 1. Distribución del porcentaje de recuperación (%) de PRL tras PEG en los 22 pacientes con macroprolactina.

TABLA 1. Análisis comparativo de los valores de los pacientes con maPRL en los dos subgrupos

	PRL total, media \pm DE (ng/ml)	Recuperación tras PEG, media \pm DE (%)	maPRL, media \pm DE (ng/ml)
Grupo A ($n = 8$)	$92,57 \pm 33$	53 ± 16	$40,5 \pm 15$
Grupo B ($n = 14$)	$65,8 \pm 17$	27 ± 7	$49,14 \pm 18$
p	0,022	0,002	0,26

DE: desviación estándar; maPRL: macroprolactinemia; PRL: prolactina; PEG: polietilenglicol.

del subgrupo A presentaron galactorrea (25%), pero ninguna paciente del subgrupo B.

Las pruebas de función tiroidea, así como las de función hepática y renal, fueron normales en todas las pacientes.

Resultados de las pruebas de imagen

Se realizó resonancia magnética hipofisaria a 6 de las 22 pacientes; 2 presentaron imágenes de adenoma: un microadenoma y un macroadenoma. La paciente con el microadenoma pertenecía al subgrupo B y la paciente con el macroadenoma se incluía en el subgrupo A.

Tratamiento con agonistas dopaminérgicos

Se trató con agonistas dopaminérgicos a 6 (27,3%) de las 22 pacientes. Los valores de maPRL disminuyeron paralelamente a los valores de la PRL monomérica con el tratamiento. Todas las pacientes tratadas con agonistas dopaminérgicos normalizaron la clínica y los valores de hiperprolactinemia total.

DISCUSIÓN

La maPRL es una variedad de PRL de alto peso molecular, de actividad biológica cuestionable, que la mayoría de los inmunoanálisis detectan.

El propósito de nuestro trabajo fue evaluar la prevalencia y las características clínicas de los pacientes

TABLA 2. Análisis del efecto matriz

	Recuperación de las muestras tratadas con PEG 6000, media (intervalo)	Recuperación de las muestras tratadas con diluyente PRL (DPC), media (intervalo)	p
Grupo I (PRL, 14,2-33 ng/ml)	103% (92,5-113)	95,6% (90-112)	< 0,05
Grupo II (PRL, 34-59,5 ng/ml)	102,2% (96,1-113,5)	94,9% (85-99)	< 0,05
Grupo III (PRL, 74,9-70 ng/ml)	105,4% (96,3-113)	93,2% (78-106)	< 0,05

PRL: prolactina; PEG: polietilenglicol.

TABLA 3. Razones para la petición inicial de PRL en los 22 pacientes con maPRL

Razón petición PRL	Pacientes, n (%)
Alteraciones menstruales	10 (45)
Infertilidad	4 (19)
Galactorrea	1 (4,8)
Hirsutismo	1 (4,8)
Acné	1 (4,8)
Hipotiroidismo	1 (4,8)
Talla baja	1 (4,8)
Estudio de alergia	1 (4,8)
Control de dislipemia	1 (4,8)

PRL: prolactina.

con maPRL en nuestra área sanitaria. Para estudiar la repercusión clínica de la maPRL dividimos a los pacientes en subgrupos en función de la concentración sérica de PRL monomérica (fisiológica o alta), ya que las concentraciones altas de ésta pueden ser las verdaderas causantes de la clínica endocrina.

En nuestra serie, la prevalencia de maPRL fue del 9,6%, lo cual representa una prevalencia significativa aunque baja en relación con otros estudios en los que llega al 15-45%^{3,14-20}. Sin embargo, es difícil hacer comparaciones debido a las divergencias entre las definiciones de macroprolactinemia, las técnicas de medición de PRL y la selección de los pacientes estudiados.

Los inmunoanálisis disponibles en el mercado no sólo poseen distinta sensibilidad, también presentan diferente reactividad a la macroprolactina. Un estudio del United Kingdom National External Quality Assessment Scheme clasifica los inmunoanálisis en diferentes categorías (baja, media y alta) según su mayor o menor reactividad³. Esto posiblemente se deba a la heterogeneidad de la maPRL y a la disponibilidad de los epítopos de la PRL para reaccionar con los anticuerpos de los inmunoanálisis. El IMMULITE 2000 utilizado en nuestro estudio se considera de reactividad media.

La técnica de precipitación con PEG ha demostrado ser una prueba sensible y reproducible para la detección de maPRL cuando se realiza con el instrumento IMMULITE 2000, así como para otros inmunoanálisis^{14,17}.

El punto de corte elegido como porcentaje de recuperación de PRL para la detección de maPRL se basa en estudios previos realizados por Rodríguez Espinosa et al²¹ para el mismo inmunoanálisis, usando como técnica de referencia la cromatografía de filtración en gel. Esos autores observan que recuperaciones < 75%

tras precipitación con PEG indican la presencia de cantidades significativas de macroprolactina en el suero. La variabilidad de los porcentajes de recuperación descritos en la literatura posiblemente se deba, además de a las diferentes reactividades entre inmunoanálisis, a una interferencia positiva en la medida de PRL (con recuperaciones superiores al 100% en sueros sin maPRL) cuando al medio de reacción se añade PEG 6000²². El estudio de recuperación que hemos realizado demuestra la existencia del efecto matriz en nuestro inmunoanálisis, coincidiendo con otros autores²³.

La implicación clínica de la maPRL no está clara y ha sido enormemente debatida en estos últimos años. Varios estudios han descrito la maPRL como una molécula biológicamente inactiva y que, por tanto, no se acompaña de los síntomas típicos del síndrome de hiperprolactinemia^{7-10,12,24}. Esta idea ha sido respaldada por bioensayos que demostraron la reducida actividad biológica de la maPRL *in vivo*.

Por el contrario, otras series han descrito la presencia de los síntomas típicos de hiperprolactinemia en pacientes con maPRL^{5,17-19,25}. Vallete et al²⁵, en una serie de 166 pacientes, de los que 96 eran mujeres, describe galactorrea en el 46%, clínica de disfunción menstrual en el 39% y problemas de fertilidad en el 29%. Strachan et al²⁰, en una serie de 58 pacientes, de los que 44 eran mujeres, describe galactorrea sólo en el 14%, clínica de disfunción menstrual en el 20% y problemas de fertilidad en el 11%.

Debido a las diferencias de las metodologías y de los resultados de los distintos estudios sobre la repercusión clínica de la maPRL, no parece claro, aún hoy en día, como se debe tratar a los pacientes con maPRL.

En nuestro estudio los síntomas de hiperprolactinemia fueron infrecuentes. La mayoría de las pacientes presentaron una historia menstrual normal, menos del 20% de las pacientes presentaron oligoamenorrea o amenorrea y menos del 10%, galactorrea. Además, la presencia de clínica de hiperprolactinemia fue más frecuente, con una diferencia estadísticamente significativa, en el subgrupo de pacientes con PRL monomérica aumentada (grupo A).

Por otra parte, no encontramos diferencias en la frecuencia de adenomas entre los subgrupos; sin embargo, no es de extrañar la coincidencia de maPRL y adenoma en estos pacientes sin que sea necesaria una relación causal debido a la alta prevalencia de maPRL en pacientes con hiperprolactinemia y también la alta prevalencia de adenomas descubiertos de forma incidental, sobre el 10% en la población general²⁶.

Por tanto, la presencia de maPRL en nuestra serie sólo se acompañó de clínica de disfunción gonadal cuando se asoció a hiperprolactinemia monomérica. En nuestra experiencia, la maPRL aislada no tiene significado clínico, pero es importante determinarla para evitar un manejo clínico innecesario. Será necesaria una valoración prolongada en el tiempo de una serie amplia de pacientes para verificar su pronóstico benigno y valorar la necesidad y el tipo de seguimiento adecuados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Smith CR, Norman MR. Prolactin and growth hormone: molecular heterogeneity and measurement in serum. *Ann Clin Biochem*. 1990;27:542-50.
2. Rogol AD, Rosen SW. Prolactin of apparent large molecular size: the major immunoactive prolactin component in plasma of a patient with a pituitary tumor. *J Clin Endocrinol Metab*. 1974;38:714-7.
3. Smith TP, Suliman AM, Fahie-Wilson MN, McKenna TJ.. Gross variability in the detection of prolactin in sera containing big big prolactin (macroprolactin) by commercial immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:5410-5.
4. Casamitjana R. Macroprolactinemia: interpretación diagnóstica. *Endocrinol Nutr*. 2003;50:313-6.
5. Leite V, Cosby H, Sobrinho LG, Fresnoza A, Santos MA, Friesen HG. Characterisation of big big prolactin in patients with hyperprolactinaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1992;37:365-72.
6. Cavaco B, Leite V, Santos MA, Arranhado E, Sobrinho IG. Some forms of big big prolactin behave as a complex of monomeric prolactin with an immunoglobulin G in patients with macroprolactinemia or prolactinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80:2342-6.
7. Hattori N, Ishihara T, Ikekubo K, Moridera K, Hino M, Kurahachi H. Autoantibody to human prolactin in patients with idiopathic hyperprolactinemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;75:1226-9.
8. Bonhoff A, Vuille JC, Gomez F, Gellersen B. Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 1995;103:252-5.
9. Jackson RD, Wortsman J, Malarkey WB. Characterization of a large molecular weight prolactin in women with idiopathic hyperprolactinemia and normal menses. *J Clin Endocrinol Metab*. 1985;61:258-64.
10. Whittaker PG, Wilcox T, Lind T. Maintained fertility in a patient with hyperprolactinemia due to big, big prolactin. *J Clin Endocrinol Metab*. 1981;53:863-6.
11. Andino NA, Bidot C, Valdes M, Machado AJ. Chromatographic pattern of circulating prolactin in ovulatory hyperprolactinemia. *Fertil Steril*. 1985;44:600-5.
12. Fraser IS, Lun ZG, Zhou JP, Herington AC, McCarron G, Catterson I, et al. Detailed assessment of big big prolactin in women with hyperprolactinemia and normal ovarian function. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;69:585-92.
13. Malarkey WB, Jackson R, Wortsman J. Long-term assessment of patients with macroprolactinemia. *Fertil Steril*. 1988;50:413-8.
14. Fahie-Wilson MN, Soule SG. Macroprolactinaemia: contribution to hyperprolactinaemia in a district general hospital and evaluation of a screening test based on precipitation with polyethylene glycol. *Ann Clin Biochem*. 1997;34:252-8.
15. Bjoro T, Morkrid L, Wergeland R, Turter A, Kvistborg A, Sand T, et al. Frequency of hyperprolactinaemia due to large molecular weight prolactin (150-170 kD PRL). *Scand J Clin Lab Invest*. 1995;55:139-47.
16. 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;44:1758-9.
17. Olukoga AO, Kane JW. Macroprolactinemia: validation and application of the polyethylene glycol precipitation test and clinical characterization of the condition. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1999;51:119-26.
18. 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;86:2743-6.
19. Hauache OM, Rocha AJ, Maia AC, Maciel RM, Vieira JG, et al. Screening for macroprolactinemia and pituitary imaging studies. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;57:327-31.
20. Strachan MW, Teoh WL, Don-Wauchope AC, Seth J, Stoddart M, Beckett GJ Clinical and radiological features of patients with macroprolactinemia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003;59:339-46.
21. Urgell E, Rodríguez-Espínosa J, Vanrell C, Zapico E, Martínez S, Murugo M, et al. Polyethylene glycol precipitation as screening test for macroprolactin using the Immulite 2000 prolactin assay. *Clin Chem Lab Med*. 2001;Suppl:S1-448.
22. Rodríguez Espínosa J, Vanrell C, Zapico E, Martínez S, Murugo M, González Sastre F, et al. Cambios en las proporciones de macroprolactina durante el seguimiento de pacientes macroprolactinémicos. *Química Clínica*. 2004;23:127-31.
23. Li W, Sustarsic D, Fahie-Wilson M, Vankrieken L, Walker K, Del Rosario I, et al. Matrix effect of PEG precipitation in detection of macroprolactin in INMULITE 2000 prolactin assays. *Clin Chem*. 2002;48 Suppl 6:A62
24. Yuen YP, Lai JP, Au KM, Chan AY, Mak TW, et al. Macroprolactin-a cause of pseudohyperprolactinemia. *Hong Kong Med J*. 2003;9:119-21.
25. Vallette-Kasic S, Morange-Ramos I, Selim A, Gunz G, Morange S, Enjalbert A, et al. Macroprolactinemia revisited: a study on 106 patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87:581-8.
26. Cid D, Páramo C, Rodríguez I, Álvarez-Vázquez P, Hervás E, García-Mayor RV. Incidentaloma hipofisario. Estudio descriptivo en dos grupos de edad. Congreso de la Sociedad Gallega de Endocrinología, Nutrición y Metabolismo; Lugo, noviembre de 2003.