

ORIGINAL

Empleo de un nuevo protocolo de extracción y disminución de las falsas hiperprolactinemias

José Luis Robles Rodríguez y Miguel Ángel Castaño López*

Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Juan Ramón Jiménez, Huelva, España

Recibido el 21 de enero de 2010; aceptado el 8 de abril de 2010

Disponible en Internet el 9 de junio de 2010

PALABRAS CLAVE

Venopunción;
Hiperprolactinemia;
Prolactina
monomérica

Resumen

Introducción: La medición de prolactina está influenciada por una serie de factores y ello ha sido descrito por numerosos autores, lo que puede falsear el valor obtenido no correspondiendo el mismo a la realidad fisiológica del individuo estudiado. Si no se adoptan una serie de medidas, sobre todo en la fase preanalítica, pueden aparecer resultados más altos. Como objeto pretendemos evaluar en qué medida la optimización o no de la extracción en sí, se traduce en resultados más altos y como el informe realizado en términos de prolactina monomérica (activa biológicamente) puede ser decisivo a la hora de adoptar un diagnóstico y actitud terapéutica.

Material y métodos: Para ello realizamos 2 extracciones a cada mujer (previa observación del protocolo que universalmente se contempla para este tipo de análisis) una por punción directa y otra a los 60 min sin nueva punción (se canaliza la vena en la punción directa y se mantiene permeable por salinización) y con posterioridad estudiamos la fracción monomérica, en los casos requeridos.

Resultados: De los resultados obtenidos podemos deducir una diferencia significativa desde el punto de vista estadístico entre la punción directa y a los 60 min y al observar la fracción monomérica se encuentra concentraciones hasta 3 veces menores que los obtenidos por punción directa.

Discusión: Los resultados de nuestro estudio justifican la sistematización del uso de técnicas de extracción que soslayan el estrés de la venopuntura y el informe de prolactina con actividad biológica (monomérica, «little»).

© 2010 SEEN. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mar532@gmail.com (M.Á. Castaño López).

KEYWORDS

Venous puncture;
Hyperprolactinemia;
Monomeric prolactin

Use of a new protocol for prolactin extraction and reduction of false hyperprolactinemia

Abstract

Introduction: Numerous authors have reported that prolactin measurement is influenced by several factors and consequently the values obtained may not faithfully reflect the physiological reality of the individual studied. Unless a series of measures is adopted, especially in the pre-analytic stage, values may be falsely elevated. The objective of the present study was to evaluate the extent to which optimization or non-optimization of the extraction procedure translates into higher results and how reports expressed in terms of monomeric (biologically active) prolactin could be crucial to adopt a diagnosis and therapeutic approach.

Material and methods: We performed two extractions in each woman (following the protocol universally used for this kind of analysis): one through direct puncture and another 60 min later without a new puncture (a catheter was inserted in the site of the first puncture and kept permeable by salinization). The monomeric fraction was then studied, if required.

Results: A statistically significant difference was observed between the 2 extractions. The monomeric fraction was three times lower in the second extraction than in the first.

Discussion: The results of this study justify systematic use of extraction techniques that avoid the stress of venous puncture, as well as the use of the term biologically active prolactin [monomeric (little) prolactin fraction] in reports.

© 2010 SEEN. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La prolactina es una hormona peptídica sintetizada y secretada por células lactotropas de la adenohipófisis y su principal papel biológico consiste en iniciar y mantener la lactancia, pero también ejerce otras funciones en el campo de la reproducción y la inmunidad¹⁻³. Presenta un ritmo circadiano y pulsátil, comenzando a subir a los 90 min de iniciar el sueño, con picos máximos a las 4-5 h de iniciado el sueño⁴⁻⁶, llegando a permanecer elevado hasta 2 h después de despertarse³. Se sabe que sus descargas se hacen a intervalos de 20-30 min⁴⁻⁷ y su vida media es de 20-30 min^{8,9}.

La principal forma circulante de prolactina es un monómero, no glucosilado. Existen otras formas circulantes, que incluyen la prolactina *big* (grande), que consiste en dímeros o trímeros glucosilados y la prolactina *big-big* (grande-grande), macroprolactinas, fisiológicamente menos activas, que son prolactinas unidas a inmunoglobulinas^{3,10-13}. Existen muchos factores fisiológicos y patológicos que aumentan las concentraciones de prolactina sérica, así como una gran variedad de fármacos como neurolepticos, fenotiazina, opiáceos, metoclopramina y metildopa (tabla 1)^{3,4,14}.

En una medida analítica clínica el error¹⁵ puede ocurrir en cualquiera de las 3 fases del proceso. Numerosos estudios revelan que la mayoría de los errores se cometen en la fase preanalítica (entre 53-75%¹⁶) lo que es de gran trascendencia si se tiene en cuenta que del 60-70% de las decisiones clínicas (ingresos, altas, tratamientos, etc) se hacen en función de los resultados analíticos. De estos errores se estima que el 75% pasan inadvertidos y un 12%¹⁷ causan algún impacto sobre el paciente.

Como objetivo pretendemos ver que el protocolo de optimización de la extracción (minimiza el error

preanalítico), y la medición de la prolactina monomérica, cuando obtenemos cifras superiores a los límites de referencia, es capaz de reducir el número de falsas

Tabla 1 Causas de hiperprolactinemia

Causas	Ejemplos
Fisiológicas	Embarazo, lactancia, estrés, sueño Ejercicio, ingesta de alimentos
Alteraciones intracraneales	Acromegalia, compresión del tallo hipofisario Síndrome de la silla turca vacía, enfermedades hipotálamicas, prolactinomas
Fármacos	Antagonistas dopaminérgicos Fenotiacidas Butirofenonas Tioxantenos Metoclopramida Sulpiride Depleccionantes de dopamina Metildopa Reserpina Estrógenos Opiáceos
Otros	Insuficiencia renal crónica, cirrosis, producción ectópica, Hipotiroidismo idiopático, neurogénica, Estimulación del pezón

hiperprolactinemias respecto a la punción directa, al eliminar la posible elevación de prolactina por descargas debidas al estrés del pinchazo y las macroprolactinas (o prolactinas no monoméricas).

Material y métodos

Realizamos el estudio sobre 1.460 muestras de mujeres con una edad de $32,8 \pm 7,3$ (18–49 años) que acudieron a nuestro laboratorio para la determinación de prolactina durante los años 2006 hasta abril del 2009. Estas mujeres fueron derivadas desde las consultas externas hospitalarias de los servicios de ginecología y endocrinología de nuestro hospital y del centro de especialidades «Virgen de la Cinta». El centro de especialidades «Virgen de la Cinta» recibe y nos deriva todas aquellas mujeres que le son enviadas desde atención primaria. Los diagnósticos con que acudían se observan en la [tabla 2](#).

Los individuos seleccionados para el estudio eran mujeres en edad fértil, no padecían alteraciones endocrinas, no tomaban fármacos que pudieran alterar las concentraciones de prolactina y cumplían con los requisitos del protocolo general universalmente admitido para la medida de prolactina ([tabla 3](#)) y acudieron a las 8 a.m. para la extracción sanguínea.

A todas ellas, en primer lugar se les colocaba un microdifusor (canalización de la vena, que se mantenía

permeable, salinizando la vía) y a la vez, se aprovechaba esta punción para la toma de la primera muestra por punción directa (PRLd), cronometrábamos 60 min para realizar la siguiente toma (PRL60).

La determinación de la fracción monomérica fue realizada cuando obteníamos concentraciones elevadas de PRL60, entonces realizábamos un tratamiento de la muestra para la precipitación de macroprolactinas (polietilenglicol)^{18,19} y determinábamos la fracción monomérica (PRLmono) en el sobrenadante (esta fracción representa un porcentaje respecto a la PRL60 que reflejamos en el informe). El polietilenglicol fue mezclado en partes iguales con el suero del paciente, lo agitábamos y centrifugábamos. La prolactina era medida en el sobrenadante (PRL monomérica). El informe lo realizábamos expresando la medición de la PRL60, porcentaje de recuperación y PRL monomérica (y añadimos en el comentario que es la fracción con actividad biológica).

Las mediciones eran realizadas en un autoanalizador E-170 (ROCHE) por electroquimioluminiscencia. El intervalo de referencia para la prolactina sérica es de 1 ng/ml–46 ng/ml para las mujeres en edad fértil (concentraciones influenciadas por las concentraciones de estrógenos, según el ciclo ovárico)^{12,13} y 1 ng/ml–20 ng/ml para los hombres.

A los resultados obtenidos le aplicamos el estudio estadístico utilizando el programa SSPS 15.0, empleando el test t-Student para muestras pareadas en el caso de PRLd y PRL60.

Resultados

En la [tabla 4](#) podemos observar los resultados obtenidos para ambos grupos, valor medio y sus respectivas desviaciones estándar.

De todas las mujeres estudiadas solamente 422 (28,9%) tenían concentraciones elevadas de PRL por punción directa con unas concentraciones medias en torno a $92,1 \pm 52,17$ ng/ml, mientras que cuando se realizó la extracción optimizada, solamente 330 (22,6%) mujeres presentaban concentraciones elevadas de PRL con unas concentraciones medias de $68,58 \pm 38,8$ ng/ml. Encontramos una diferencia del 35,16% de descenso en los valores de PRL ([tabla 4](#)). Esta diferencia entre ambos grupos fue estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

En la [figura 1](#) vemos la diferencia entre las medias entre ambos grupos y la media de las concentraciones obtenidas cuando se realizó la determinación de la fracción monomérica ($36,82 \pm 20,9$ ng/ml). El estudio de la fracción monomérica de PRL fue realizada a las 330 mujeres que tenían PRL60 elevada. De todas ellas, solamente 132 (9,04%)

Tabla 2 Diagnósticos con que acudían las pacientes

Diagnóstico	Número
Infertilidad	514
Oligomenorrea	298
Hirsutismo	218
Amenorrea	202
Galactorrea	86
Cefalea	113
Otros	29
Total	1.460

Tabla 3 Condiciones idóneas para la extracción de prolactina

- Estar despierto 2 h antes de la extracción y sin realizar ningún esfuerzo físico
- Evitar una dieta rica en proteínas desde el día anterior a la extracción
- Evitar una dieta rica en grasas desde el día anterior a la extracción
- Evitar la estimulación mamaria desde el día anterior a la extracción
- Estar 8–10 h en ayuno antes de la extracción
- No tomar medicamentos que pudieran elevar o disminuir la prolactina
- Estar relajado o haber descansado durante al menos 30 min antes de la extracción
- No estar en situación de estrés

Tabla 4 Concentraciones de prolactina basal y con extracción optimizada

	Basal	60 min
Pacientes	422 (28,9%)	330 (22,6%)
Media	92,05 ng/ml	68,15 ng/ml
SD	52,16 ng/ml	38,8 ng/ml
Mediana	73,85 ng/ml	55 ng/ml
Límites	50–401 ng/ml	11–298 ng/ml
T-Student	<0,0001	

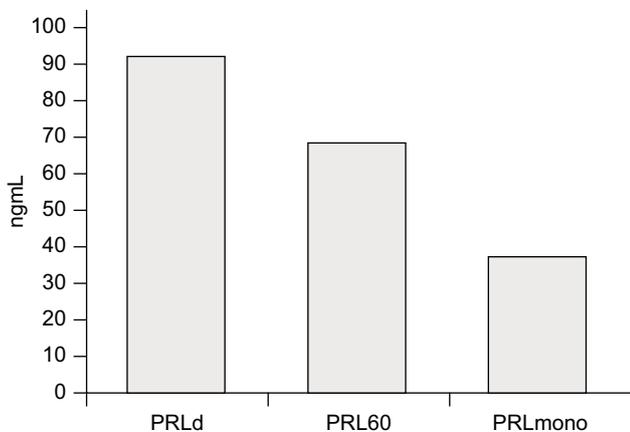


Figura 1 Concentraciones de prolactina según el método de extracción y de su fracción monomérica. PRLd=prolactina directa. PRL60=prolactina a los 60 min. PRLmono=prolactina monomérica.

tenían concentraciones de PRL elevadas. Se observa que las concentraciones de la PRLmono son aproximadamente 1/3 de las obtenidas por punción directa. Es el segundo objetivo pretendido que describimos en la introducción y que claramente es una aportación importante al clínico al hacerse constar en el informe emitido que se trata de la fracción con actividad biológica, identificando las verdaderas hiperprolactinemias.

Discusión

La medida de prolactina en suero es uno de los parámetros bioquímicos utilizados con mayor frecuencia en la investigación clínica de pacientes con trastornos reproductivos.

La medida de PRL está sujeta a un escrupuloso protocolo de extracción, pues, la mayor parte de los errores se cometen en la fase preanalítica (entre el 53–75%¹⁶).

Las concentraciones de prolactina están influenciadas por una serie de factores que pueden falsear el valor obtenido, entre los que se encuentra el estrés, descrito por distintos autores^{3,14} pero no cuantificada la variación.

Debido a los múltiples estímulos fisiológicos que elevan las concentraciones de prolactina, se recomienda usar 2–3 muestras obtenidas en momentos distintos para evaluar si un paciente tiene o no hiperprolactinemia³.

Algunas guías clínicas como la de *The Pituitary Society Guidelines*²⁰ recomiendan realizar un cribado de macroprolactina pero bajo determinadas condiciones (concentración de prolactina moderadamente elevada y que el paciente no presente síntomas típicamente asociados a hiperprolactinemia). Otros autores recomiendan²¹ la realización del cribado de macroprolactina a todas aquellas muestras que tienen concentraciones elevadas de PRL. Todos los autores se refieren a extracciones directas que no evitan el estrés del pinchazo.

Nuestro protocolo sigue esta última recomendación, así en aquellas muestras (PRL60) que presentan concentraciones elevadas, realizamos una precipitación con polietilenglicol 6000 para eliminar las macroprolactinas y medimos en el sobrenadante la fracción monomérica, encontrándonos

un descenso de las concentraciones junto con una disminución de la frecuencia de los pacientes que presentan hiperprolactinemia.

En nuestro estudio hemos encontrado diferencia con significación estadística entre los 2 grupos (PRLd y PRL60) que representa un 6,3% de disminución de hiperprolactinemias. Esta diferencia hay que atribuirla a la descarga de prolactina debida al estrés por la venopunción^{4,19,22,23}, porque en 60 min no decae la concentración de macroprolactinas. Al considerar las PRLmono se encuentra que la hiperprolactinemia representa solo el 9,04% de la población total estudiada lo que es significativo respecto al 28,9% por punción directa. Este 9,04% supone solo un 31,39% de las hiperprolactinemias que obtuvimos midiendo PRLd.

La diferencia encontrada justifica la necesidad de emplear protocolos de optimización de la extracción de prolactina, ya que supone una disminución de las falsas hiperprolactinemias debidas al estrés causado por la venopunción y evitando pruebas, exploraciones de mayor complejidad y costo y, en algunos casos, tratamientos innecesarios. En muchos puntos de extracción de los hospitales y centros dependientes^{20,24,25} se sigue utilizando la punción directa para la determinación de las concentraciones de prolactina.

Sugerimos no usar en los informes el término macroprolactinas (por prolactinas no monoméricas), pues la práctica diaria nos tiene enseñado que a muchos clínicos les puede inducir a pensar en macroprolactinomas.

Podemos concluir además que el protocolo descrito permite disminuir las falsas hiperprolactinemias lo que significa mayor seguridad de los resultados proporcionados desde el laboratorio, conllevando una reducción del número de pruebas y exploraciones complementarias a los pacientes y suponiendo una mejora de la calidad asistencial y un ahorro económico.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Douze H, Guell R, Ventura S, Chueca MP. Comisión de interferencias y efectos de los fármacos. Sociedad Española de Química Clínica. Recomendaciones sobre las interferencias de prolactina en la medición de prolactina. *Quim Clin*. 2006;25:45–8.
2. Sapin R, Gasser F, Fischbach E, Grucker D. Détection de la macro-prolactine: une nouvelle approche. *Ann Biol Clin*. 2000;58:729–34.
3. Henry JB. El laboratorio en el diagnóstico clínico, 10.ª ed. Madrid: Marban; 2005. p. 306–7.
4. Robles JL. Optimización de la extracción de PRL. *An Clin*. 1995;20:71–8.
5. Davidson I, Henry JB. Todd-Sanford. Diagnóstico y tratamiento clínicod por el laboratorio, 8ª ed. Barcelona: Salvat; 1988. p. 375–7.
6. Benavides IZ, Castillo AP, Montemayor I, De Estrada R, Onatra W, Posso H. Biorritmo de prolactina en mujeres de edad reproductiva vs. Perimenopáusicas. *Rev Colomb Menop*. 2003; 9:153–8. [16 Sep 2009]. Disponible en: <http://www.encolombia.com/medicina/menopausia/Meno9303-Biorritmo1.htm>.

7. Hazard J, Perlemuter L. Manual de Endocrinología. Barcelona: Ed. Toray-Masson; 1981. p. 87–9.
8. Mazuecos MF, Esteban M, Peran S. Influencia de la hora de extracción en la valoración de los niveles plasmáticos de prolactina. *Rev Diag Biol*. 1984;33:169–73.
9. Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR. Williams Tratado de Endocrinología, 11ª ed. Barcelona: Elsevier; 2009. p. 184–90.
10. Conner P, Fried G. Hyperprolactinemia: etiology, diagnosis and treatment alternatives. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1988;77:249–62.
11. Yazigi R, Quintero C, Salameh WA. Prolactin disorders. *Fertil Steril*. 1997;67:215–25.
12. Gómez G. Hiperprolactinemia (HPRL). *Rev Colomb Menop*. 2008; 14: 3–5. [18 Sep 2009]. Disponible en: <http://www.encolombia.com/medicina/menopausia/Menovol141-08/Hiperprl.htm>.
13. Haus E, Lakatia DJ, Halberg F, Halberg E, Cornelissen G, Sackett LL, et al. Chronobiological studies of plasma prolactin in women in Kyushu, Japan, and Minnesota, USA. *J Clin Endocrinol Metab*. 1980;51:632–40.
14. Cattaneo F, Kappeler D, Müller B. Macroprolactinaemia, the major unknown in the differential diagnosis of hyperprolactinaemia. *Swiss Med Wkly*. 2001;131:122–6.
15. Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, Rubboli F. Errors in laboratory medicine. *Clin Chem*. 2002;48:691–8.
16. Wotte DL, VanNess SA, Angstadt DS, Pennell BJ. Errors, mistakes, blunders, outliers, or unacceptable results: how many? *Clin Chem*. 1997;43:1352–62.
17. Goldschmidt HMJ, Lent RW. Gross errors and work flow analysis in the clinical laboratory. *Klin Biochem Metab*. 1995;3:131–40.
18. Fahie-Wilson M, Bieglmayer C, Kratzsch J, Nusbaumer C, Roth HJ, Zaninotto M, et al. Roche Elecsys Prolactin II assay: reactivity with macroprolactin compared with eight commercial assays for prolactin and determination of monomeric prolactin by precipitation with polyethylene glycol. *Clin Lab*. 2007;53:485–92.
19. Ellis MJ, Livesey JH, Soule SG. Macroprolactin, big-prolactin and potential effects on misdiagnosis of hyperprolactinemia using the Beckman coulter access prolactin assay. *Clin Chem*. 2006;39:1028–34.
20. Casanueva FF, Molitch ME, Schlechte JA, Abs R, Bonert V, Bronstein MD, et al. Guidelines of the pituitary society for the diagnosis and management of prolactinomas. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;65:265–73.
21. McKenna TJ. Should macroprolactin be measured in all hyperprolactinaemic sera? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009;71:466–9.
22. Vallete-Kasic S, Marange-Ramos I, Selim A, Gunz G, Morange I, Enjalbert A, et al. Macroprolactinemia revisited: A study on 106 patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:581–8.
23. Beltran L, Fahie-Wilson MN, McKenna TJ, Kavanagh L, Smith TP. Serum total prolactin and monomeric prolactin reference intervals determined by precipitation with polyethylene glycol: evaluation and validation on common immunoassay platforms. *Clin Chem*. 2008;54:1673–81.
24. Gómez G, Posada G, Martínez CM. Prolactina y prolactinomas. Una visión global. *Rev Colomb Menop*. 2000; 6: 44–8 [6 Dic 2009]. Disponible en: <http://www.encolombia.com/medicina/menopausia/meno6300prl.htm>.
25. Gibney J, Smith TP, McKenna TJ. The impact on clinical practice of routine screening for macroprolactin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;97:3927–32.