



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
PUEBLA**



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA**

***DIAGNÓSTICO OPORTUNO DE MACROPROLACTINA COMO UNA  
POSIBLE CAUSA DE HIPERPROLACTINEMIA EMPLEANDO EL  
MÉTODO DE PRECIPITACIÓN CON POLIETILENGLICOL***

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

**PRESENTA**

**SANDOVAL GONZÁLEZ GISELA**

**DIRECTOR**

**M.C. MARÍA SUSANA PÉREZ**

**FERNÁNDEZ**

**ASESOR**

**Q.F.B. LORENA RAMÍREZ**

**RODRÍGUEZ**

**24 DE OCTUBRE 2016**

# ÍNDICE

Índice de Figuras, Tablas, Esquemas y Gráficas

Abreviaturas

Resumen

1. Introducción.....	1
2. Marco Teórico	
2.1 Prolactina.....	2
2.2 Síntesis y Secreción.....	3
3. Hiperprolactinemia.....	6
3.1 Epidemiología.....	7
3.2 Etiología.....	7
4. Macroprolactina.....	8
5. Polietilenglicol 6000.....	9
5.1 Disminución de la Solubilidad.....	10
5.2 Precipitación con Polímeros No Iónicos.....	10
5.2.1 Mecanismo.....	11
6. Marco de Referencia.....	12
7. Planteamiento del Problema.....	17
8. Justificación.....	18
9. Objetivos.....	19
10. Hipótesis.....	20
11. Diseño del estudio .....	21
12. Análisis Estadístico.....	22
13. Material y Metodología.....	23
14. Diagrama General de Trabajo.....	26
15. Esquema del Equipo de ARCHITECT PLUS / 2000SR SYSTEM.....	27

<b>16. Esquema del Método de Fahie-Wilson.....</b>	<b>28</b>
<b>17. Resultados.....</b>	<b>30</b>
<b>18. Discusión de Resultados.....</b>	<b>35</b>
<b>19. Conclusión.....</b>	<b>38</b>
<b>20. Bibliografía.....</b>	<b>39</b>
<b>21. Anexos.....</b>	<b>42</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS, ESQUEMAS Y GRÁFICAS

<b>Figura 1</b>	Estructura Terciaria de la Prolactina	2
<b>Figura 2</b>	Ritmo Circadiano de la Prolactina	4
<b>Figura 3</b>	Sección Sagital del Hipotálamo	4
<b>Figura 4</b>	Control de la Secreción de Prolactina	5
<b>Tabla 1</b>	Moduladores de la secreción o inhibición de la Prolactina	6
<b>Tabla 2</b>	Prevalencia de la Hiperprolactinemia	7
<b>Tabla 3</b>	Etiología de la Hiperprolactinemia	8
<b>Figura 5</b>	Obtención del Polietilenglicol 6000	9
<b>Tabla 4</b>	Propiedades Físicas y Químicas del Polietilenglicol 6000	9
<b>Tabla 5</b>	Principios de la Precipitación de Proteínas	10
<b>Gráfica 1</b>	Porcentaje de recuperación de la maPRL tras la precipitación con PEG (Vieira H. y col.)	12
<b>Gráfica 2</b>	Rango de valores de PRL sérica de 39 pacientes (García L. y col.)	13
<b>Gráfica 3</b>	Porcentaje de recuperación de Prolactina con Polietilenglicol en 39 pacientes (García L. y col.)	13
<b>Gráfica 4</b>	Diagnostico de 25 pacientes con maPRL utilizando la precipitación con PEG (Rodríguez J. y col.)	14
<b>Gráfica 5</b>	Distribución del porcentaje de recuperación de PRL (Álvarez P. y col.)	15
<b>Gráfica 6</b>	Protocolos de detección de maPRL a nivel global (Fernández N.)	15
<b>Esquema 1</b>	Diagrama General de Trabajo	26
<b>Esquema 2</b>	Fundamento del Equipo ARCHITECT PLUS i2000SR SYSTEM	27
<b>Esquema 3</b>	Método de Fahie- Wilson	28
<b>Gráfica 7</b>	Distribución del rango de Prolactina Sérica de las 34 pacientes	30
<b>Gráfica 8</b>	Porcentaje de recuperación de la Prolactina en 34 pacientes	31

<b>Gráfica 9</b>	Comparación del grupo control contra el grupo problema (maPRL)	32
<b>Tabla 6</b>	Motivos para la determinación de la Prolactina	33
<b>Tabla 7</b>	Fármacos que inducen la Hiperprolactinemia.	42
<b>Figura 6</b>	Puntos de extracción de la muestra sanguínea.	43
<b>Esquema 5</b>	Preparación del Polietilenglicol 6000.	43
<b>Test</b>	Expediente Clínico.	44

## **ABREVIATURAS**

<b>PRL</b>	Prolactina
<b>mPRL</b>	Forma monómerica
<b>bPRL</b>	Forma dimerica
<b>maPRL</b>	Macroprolactina
<b>PHDA</b>	Neuronas Dopaminérgicas Hipofisiarias Periventriculares
<b>THDA</b>	Neuronas Dopaminérgicas Tuberohipofisiarias
<b>TIDA</b>	Neuronas Tuberoinfundibulares
<b>ME</b>	Eminencia Media
<b>AL</b>	Lóbulo Anterior
<b>NL</b>	Lóbulo Neural
<b>IL</b>	Lóbulo Intermedio
<b>DA</b>	Dopamina
<b>VIP</b>	Péptido Intestinal Vasoactivo
<b>TRH</b>	Hormona Liberadora de Tirotropina
<b>GABA</b>	Ácido Gamma Aminobutírico
<b>GAP</b>	Péptido Asociado a GnRH
<b>GnRH</b>	Hormona Liberadora de Gonadotropinas
<b>CFG</b>	Cromatografía de Filtración en Gel
<b>PEG</b>	Polietilenglicol

## RESUMEN

La Prolactina presenta tres formas moleculares en el suero humano, (Monómerica, Dímerica y Macroprolactina). Esta última, no tiene actividad biológica, debido a que forma un complejo con una Inmunoglobulina G. Su presencia puede originar un falso diagnóstico de Hiperprolactinemia, ya que su existencia interfiere al momento de cuantificar. Su frecuencia no se ha podido esclarecer con precisión debido a las dificultades técnicas que se presentan al momento de su determinación. El método que se utiliza para determinar la presencia de Macroprolactina es la de Precipitación con Polietilenglicol. **Objetivo.** Determinar la presencia de Macroprolactina en mujeres con Hiperprolactinemia en el Hospital Universitario de Puebla, por medio de la aplicación del método de precipitación con Polietilenglicol. **Método.** Se evaluaron a 34 mujeres con edad entre 17-50 años, las cuales presentaron niveles de Prolactina superiores a 26 ng/mL. También se incluyó un grupo control de 12 mujeres que dentro de su registro histórico tuvieran niveles de Prolactina inferiores a 26 ng/mL. Esta investigación se realizó en un periodo de 5 meses dando inicio en Enero y concluyendo en Mayo del 2016. Se realizó una revisión de su Historial Clínico, Farmacológico y el motivo por el cual solicitaron dicha prueba, llevándose a cabo en cada una de las pacientes. La concentración de Prolactina se midió por el Método de Inmunoanálisis Quimioluminiscente de Micropartículas (ARCHITECT PLUS / 2000SR SYSTEM); valores de Prolactina superiores a 26 ng/mL se consideraron indicativos de Hiperprolactinemia. **Resultados.** Se recibieron un total de 285 pacientes de las cuales 34 de ellas presentaron Prolactina basal superior a 26 ng/mL, dentro de este grupo 21 pacientes presentaron porcentajes de recuperación < 40% determinándose en ellas la presencia de Macroprolactina, mientras que en 13 presentaron un porcentaje de recuperación entre 40-50 % siendo indeterminadas. Se presentaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo de las pacientes tratadas con Polietilenglicol, las cuales presentaron una  $p \leq 0.05$ . Por otro lado, el motivo más frecuente para la cuantificación de la Prolactina fue el del diagnóstico de Hiperprolactinemia.

## **1. Introducción**

La Hiperprolactinemia es un problema de salud pública en México y en el mundo. Su frecuencia oscila entre un 10 % de la población en general, teniendo una relación de hombre - mujer de 10:1, siendo responsable del 70 % de los casos que presenten amenorrea, galactorrea o ambas en mujeres y un 5 % en hombres con disfunción eréctil o infertilidad.

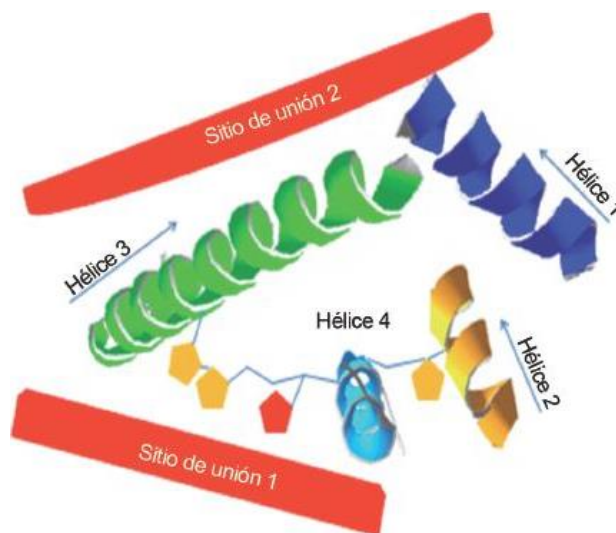
Esta se caracteriza por el incremento de la Prolactina en circulación, el cual existen diversos factores que pueden estar involucrados en su incremento como son: procesos fisiológicos, patológicos, enfermedades sistémicas y por último el consumo de fármacos. Sin embargo, existe otra causa que genera un aumento de esta hormona, el cual no presenta la sintomatología típica de la enfermedad siendo está considerada como Macroprolactinemia. Esta se distingue por presentar un aumento de la forma de Macroprolactina en sangre, provocando una interferencia al momento de cuantificar presentando una frecuencia entre un 5 a 25 %.

A nivel mundial, se ha observado que la Macroprolactina puede ser identificada por el Método de Precipitación con Polietilenglicol. Sin embargo, en su mayoría de los resultados se han obtenido de informes de casos clínicos lo que evidencia la necesidad de realizar una investigación epidemiológica al respecto. En México, desafortunadamente se desconoce por completo su prevalencia así como de la validez de la técnica. Por esta razón, al medir tal incremento, se propone demostrar la presencia de Macroprolactina como causa posible de la Hiperprolactinemia, ya que cuando se cuantifica a la Prolactina no se reporta que forma molecular fue medida. Quizá esto pueda explicar por qué no se han obtenido resultados fructíferos.

## 2. Marco Teórico

### 2.1 Prolactina

La Prolactina (PRL) es una hormona polipeptídica que se sintetiza y secreta por las células lactotropas de la glándula pituitaria la cual se localiza en la silla turca de la base del cráneo. Presenta una cadena única de 199 aminoácidos con tres puentes disulfuro y seis residuos de cisteína (Cys<sup>4</sup>-Cys<sup>11</sup>, Cys<sup>58</sup>-Cys<sup>174</sup> y Cys<sup>191</sup>-Cys<sup>199</sup>).<sup>1</sup> Estudios sobre la estructura secundaria de la prolactina han demostrado que el 50% de los aminoácidos se encuentran dispuestos en  $\alpha$ -hélice (Figura 1). La estructura terciaria de la Prolactina fue obtenida por un modelo homólogo con la hormona de crecimiento, ya que esta presenta un 16 % de similitud. Sin embargo, aún no hay estudios que nos permitan describir por completo la estructura tridimensional de la Prolactina. El modelo actual propuesto para la prolactina contiene 4  $\alpha$ -hélice largos que se encuentran dispuestos en forma antiparalela.<sup>9</sup>



**Figura 1.** Estructura terciaria de la Prolactina. Presenta cuatro dominios alfa-hélice y dos sitios de unión al receptor. Recuperado de la Participación de la Prolactina en la respuesta inmune. Blanco, F. y col (2012).

El gen que codifica para PRL se localiza en el brazo corto del cromosoma 6 y está compuesto por cinco exones y cuatro intrones con un tamaño aproximado de 10 kb. La expresión de este gen se ha identificado en varias regiones del cerebro, miometrio, timo, bazo, médula ósea, células epiteliales mamarias, endometrio, próstata, células del sistema inmune entre otros.<sup>5,16</sup>

Actualmente se han identificado 3 formas moleculares de la Prolactina en circulación:

- a) Monomérica ó Little (mPRL), peso molecular de 23 kDa.
- b) Forma Dimérica ó Big (bPRL), peso molecular de 45-50 kDa.
- c) Macroprolactina ó Big-Big (maPRL), peso molecular superior a 100 kDa.

La primera presenta una alta capacidad de unión a su receptor además de ser biológicamente activa, la segunda se encuentra compuesta por dímeros de la monomérica y por último la macroprolactina está compuesta principalmente por un complejo unido a una inmunoglobulina G (IgG) por consiguiente tiene escasa o nula bioactividad.<sup>7</sup>

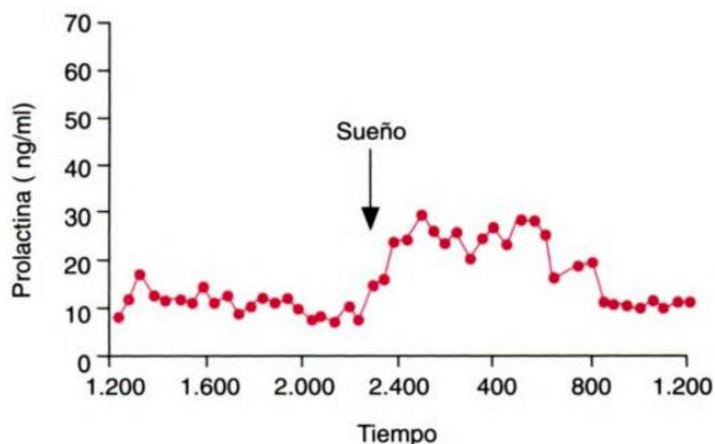
En el suero de individuos normales, la forma monomérica es la predominante (85-95%), mientras que la macroprolactina es la forma menos frecuente (< 16%).<sup>25</sup>

La Prolactina es conocida por sus múltiples funciones biológicas, incluyendo el desarrollo mamario, mantenimiento del embarazo, homeostasis de fluidos entre otras, pero se le ha asociado con más de 300 funciones diferentes, las cuales pueden agruparse en cinco categorías: 1) Reproducción, 2) Osmorregulación, 3) Desarrollo y Crecimiento, 4) Metabolismo de Carbohidratos y Lipidos e 5) Inmunorregulación.<sup>5,18</sup>

## **2.2 Síntesis y Secreción**

La secreción de Prolactina se produce bajo un patrón episódico pulsátil, de 4 a 14 episodios secretorios por día, con una duración del pico entre 67 y 76 minutos, presentando intervalos de interpulso de 93 a 95 minutos. Se registra una amplitud aumentada de 60 a 90 minutos luego de la aparición del sueño (Pico máximo) alcanzando estos valores entre las 4 -7 de la mañana, comenzando su descenso al momento de despertarse manteniendo sus niveles estables durante el día (Figura 2). La vida media de la prolactina se estima en 14 minutos.<sup>23</sup>

### Ritmo Circadiano de Prolactina



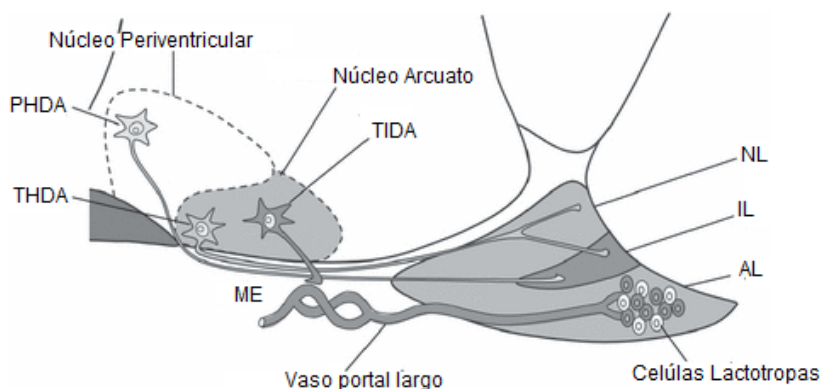
**Figura 2.** Fluctuaciones en los niveles plasmáticos de Prolactina en mujeres sanas. La secreción de Prolactina aumenta de forma continua durante la noche y alcanza la concentración máxima antes de terminar el período de sueño. Diéguez, C. y col (1997).

La evidencia actual sugiere que la síntesis de Prolactina está regulada por tres poblaciones del Sistema Dopaminérgico del Hipotálamo:

1. Neuronas Dopaminérgicas Hipofisiarias Periventriculares (PHDA)
2. Neuronas Dopaminérgicas Tuberohipofisiarias (THDA)
3. Neuronas Tuberoinfundibulares (TIDA)

Las dos primeras contribuyen a la regulación basal de la Prolactina, después de su transporte a la glándula pituitaria a través de los vasos cortos portales, mientras que la última se encarga principalmente de contribuir en liberación de la Dopamina en circulación (Figura 3).<sup>11</sup>

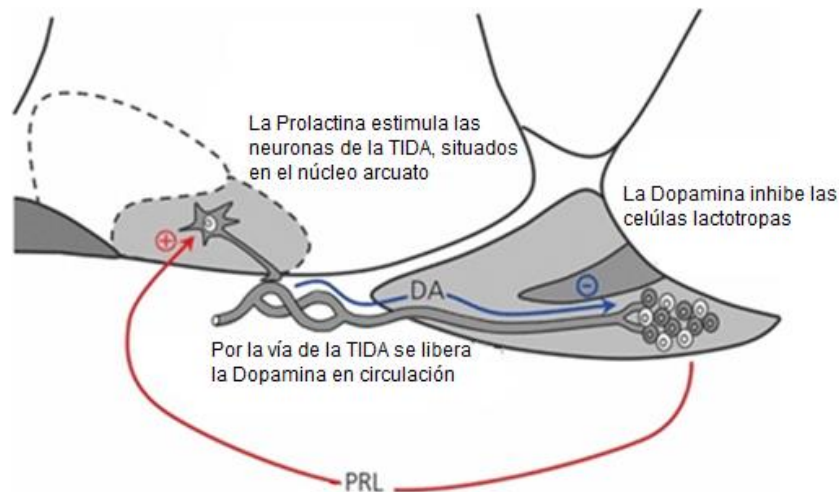
### Sección Sagital del Hipotálamo



**Figura 3.** Representación esquemática que ilustra las neuronas Dopaminérgicas, proyectándose desde el Hipotálamo a la eminencia media y la glándula pituitaria. Las neuronas Tuberoinfundibulares Dopaminérgicas (TIDA) se originan en el núcleo arcuato y terminan en la zona externa de la eminencia media (ME), donde la Dopamina secretada atraviesa los vasos portales largos en el lóbulo anterior (AL) de la glándula pituitaria. Tomado y modificado de Grattan, D. y col (2008).

La Prolactina se encuentra regulada mediante un proceso de inhibición mediado por la Dopamina (DA). La Dopamina actúa sobre las células lactotropas, atravesando las neuronas Tuberoinfundibulares (TIDA). De tal forma que para que la PRL sea liberada, estas neuronas hipotalámicas necesitan reducir la liberación de DA. (Figura 4). Cuando se reducen los niveles de esta catecolamina las células lactotropas incrementan la liberación de PRL al torrente sanguíneo y a su vez, esta hormona activa un circuito de retroalimentación negativa al estimular nuevamente a la TIDA para que vuelva a liberar DA, por lo que se detiene la liberación de PRL. <sup>13</sup>

#### Control de la Secreción de la Prolactina



**Figura 4.** Regulación de la Prolactina en Condiciones Fisiológicas. La flecha en azul indica el proceso de liberación de la Dopamina por la TIDA, mientras que la flecha roja muestra la inhibición de las células lactotropas junto con la liberación de la Prolactina a través de un mecanismo de retroalimentación negativa. Tomado y modificado de Grattan, D. y col (2008).

Actualmente se han ido descubriendo otros factores que se encargan de producir un estímulo o una inhibición en la secreción de la Prolactina mostrándose en la Tabla 1. La finalidad de los agentes inhibidores es la de encargarse de promover un incremento de la secreción de la Prolactina cuyo resultado final será la disminución de la actividad de las neuronas Tuberoinfundibulares. Mientras que los agentes estimuladores, son aquellos cuyo propósito primordial es la de disminuir la secreción de Prolactina, trayendo como resultado el aumento en la producción de las neuronas Tuberoinfundibulares.<sup>9</sup>

**Tabla 1.** Moduladores que regulan la secreción o inhibición de la Prolactina.

<b>ESTIMULADORES</b>	<b>INHIBIDORES</b>
Péptido Intestinal Vasoactivo	Dopamina
Hormona Liberadora de Tirotropina	GABA
Angiotensina II	Somatostatina
Serotonina	Dexametasona
Sustancia P	Vitamina D
Histamina H1	Histamina H2
Estradiol	Péptido Asociado a GnRH
GnRH	

Los factores que favorecen su secreción, son diversos y tienen la capacidad de mostrar un papel modulador de dicha secreción. Todos ellos son intermediarios de algunas de las situaciones fisiológicas que influyen en la secreción de prolactina.

Los valores normales de la secreción de Prolactina para los hombre es de: 2 a 16 ng/mL, mientras que para las mujeres es de: 5.18 a 26 ng/mL. Por lo que valores mayores a estos estaríamos frente a una patología.

### **3. Hiperprolactinemia**

La Hiperprolactinemia se define como la elevación persistente de la Prolactina plasmática que se encuentra por encima de 26 ng/mL, excepto en mujeres embarazadas o en estado de lactancia.<sup>12</sup>

Los síntomas más frecuentes de esta enfermedad en las mujeres son: disfunción reproductiva (anovulación, irregularidad menstrual, disminución en la producción de estrógenos), alteraciones en la glándula mamaria (galactorrea e incremento de los senos), mientras que en los hombres incluye un deterioro sexual (disminución del libido, disfunción eréctil, eyaculación retrograda, disfunción orgásmica e impotencia sexual) <sup>15</sup>

### 3.1 Epidemiología

La Hiperprolactinemia es el trastorno más común del eje hipotálamo- hipofisario, responsable del 20 al 25% de los casos de alteraciones reproductivas. Esta es más frecuente en mujeres que en los hombre tiendo una relación de 10:1. Presentando una prevalencia a la edad de 20 a 50 años Tabla 2. <sup>23</sup>

**Tabla 2.** Prevalencia de la Hiperprolactinemia de acuerdo a la sintomatología que presenta.

0.4%	En población no seleccionada
9%	En mujeres con amenorrea
25%	En mujeres con galactorrea
70%	En mujeres con amenorrea y galactorrea
5%	En hombres con disfunción eréctil o infertilidad

Esta enfermedad se puede detectar en más de un 10% de la población en general.

### 3.2 Etiología

Frente a la confirmación del diagnóstico de hiperprolactiemia, el médico tratante deberá plantearse lo siguiente: en primera instancia si ésta pudiera responder a una situación fisiológica, siendo el embarazo y la lactancia las más comunes. Por otro lado deberá considerar que el incremento podría ser originado de un proceso patológico siendo los adenomas las causas primordiales, por lo que deberá profundizar en la exploración física además del historial clínico del paciente evitando así incurrir en decisiones terapéuticas erróneas.

En segunda instancia, deberá descartarse la ingesta de fármacos o sustancias con algún efecto sobre el eje prolactínico, trayendo consigo una elevación en la producción de Prolactina en circulación.

Por último, luego de haber descartado las causas antes mencionadas, deberá considerarse el diagnóstico de Hiperprolactinemia de origen Idiopático. Se mencionan a continuación algunos ejemplos de las posibles causas que dan origen el incremento de la Prolactina en circulación (Tabla 3). <sup>1,19</sup>

**Tabla 3.** Etiología de la Hiperprolactinemia.

<b>FISIOLÓGICAS</b>	<b>HIPOTALAMICAS</b>	<b>HIPOSIFIARIAS</b>	<b>SISTEMICAS</b>	<b>FARMACOS</b>
Embarazo	Craneofaringioma	Prolactinoma	Daño en Tórax	<b>ANEXO 1</b>
Lactancia	Meningiomas	Acromegalia	Daño Renal	
Sueño	Disgerminomas	Adenomas	Daño Hepático	
Ejercicio	Sarcoidosis	Enfermedad de Cushing	Daño Endocrino	
Estrés	Histiocitosis	Quiste de Rathke	Daño Neurológico	
Relaciones Sexuales	Irradiación	Enfermedades granulomatosas		
Puerperio	Gliomas	Tratamiento quirurgicos		

#### **4. Macroprolactinemia**

En individuos sanos, la Prolactina circula en sangre en tres formas moleculares previamente descritas, cuando el suero de un paciente con Hiperprolactinemia contiene mayoritariamente la forma maPRL, se reconoce con el término de Macroprolactinemia.

El concepto de Macroprolactinemia fue introducido en 1981 por Whittaker en una paciente que, a pesar de tener Hiperprolactinemia, carecía de síntomas. Debido a que presenta una baja actividad biológica, su presencia puede ocasionar una interferencia en los procedimientos de medida de la Prolactina, causando una aparente y falsa hiperprolactinemia.<sup>21</sup>

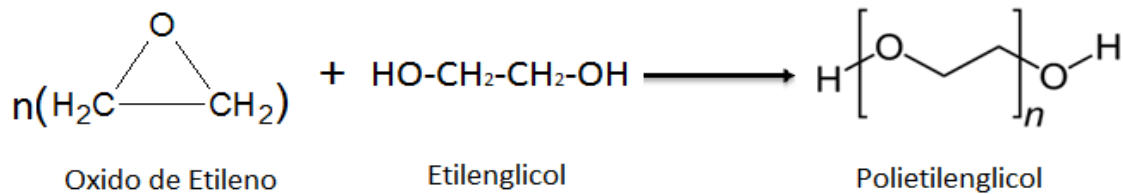
La prevalencia de la macroprolactinemia se ha reportado entre 5 y 25% dependiendo de la serie y tipo de metodología aplicada.<sup>24</sup>

El método de referencia para el estudio de la macroprolactina es la Cromatografía de Filtración en Gel (CFG). Sin embargo, es un método que, por su costo, tiempo y practicidad, no es accesible para la mayoría de los laboratorios clínicos y, en consecuencia, se ha descrito otro método denominado Precipitación con Polietilenglicol 6000 (PEG), a diferencia del anterior este es más utilizado ya que su procedimiento es relativamente sencillo, basándose en el

cálculo del porcentaje de recuperación de los valores de PRL en suero, después de ser tratados con Polietilenglicol para conseguir la precipitación de la macroprolactina. <sup>4</sup>

## 5. Polietilenglicol 6000

El Polietilenglicol (PEG) es un homopolímero sintético obtenido a partir del óxido de etileno (Figura 5).



**Figura 5.** Obtención del Polietilenglicol.

La habilidad única del PEG es de ser soluble tanto en agua como en solventes orgánicos. En estudios del PEG en solución acuosa han demostrado que este polímero une 2-3 moléculas de agua por unidad de óxido de etileno. Debido a su alta flexibilidad y a la unión de las moléculas del agua el PEG, actúa como si fuera 5-10 veces más grande que una proteína soluble. Se ha sugerido que estas propiedades son las responsables de que el PEG precipite las proteínas.<sup>20</sup>

**Tabla 4.** Propiedades físicas y químicas del Polietilenglicol. (Poliol, 2011.)

<i>Propiedades Físicas</i>		<i>Propiedades Químicas</i>	
Estado Físico	Sólido	Formula Molecular	 Polietilenglicol
Color	Blanco	Densidad	1.0925 g/cm <sup>3</sup>
Solubilidad	Soluble en Agua e Insoluble en Etanol	Peso Molecular	6000 g/mol
Punto de Fusión	59°C	Gravedad Especifica	1.1112

El Polietilenglicol se usa como un precipitante en el área clínica, de tal modo, que cuando se lleva a cabo el proceso de la precipitación en dicho medio se concentra el soluto de una solución convirtiéndolo en sólido mediante la acción de un agente precipitante. Teóricamente

la precipitación debe producir un soluto concentrado y puro, por lo que es una operación que se usa con frecuencia al inicio de un proceso de bioseparación. Los agentes precipitantes seleccionados no deben producir desnaturalización del soluto y deben proveer una mayor estabilidad del soluto en el precipitado que en la solución. La precipitación de las proteínas puede realizarse empleando diferentes principios. <sup>27</sup>

**Tabla 5.** Principios de la precipitación de proteínas. Tomada de (27) (1995).

<b>PRINCIPIO</b>	<b>AGENTE PRECIPITANTE</b>
Disminución de la Solubilidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Sales (Sulfato de Amonio)</li> <li>➤ pH (Precipitación isoeléctrica)</li> <li>➤ Solventes (Etanol)</li> <li>➤ Polímeros no Iónicos (PEG)</li> </ul>
Desnaturalización selectiva	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Temperatura</li> <li>➤ pH</li> <li>➤ Solventes</li> </ul>
Afinidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Ligandos</li> </ul>

La precipitación de proteínas y la subsecuente recuperación del precipitado, son de las operaciones más importantes para la recuperación y purificación de proteínas tanto a nivel laboratorio como a escala industrial.

### **5.1 Disminución de la Solubilidad**

El hecho de que las proteínas sean moléculas anfotéricas se debe a su superficie, ya que presentan regiones hidrofóbicas e hidrofílicas. Por lo que cuando se encuentra en una solución produce complejas interacciones. Particularmente, cuando se agrega un agente precipitante a la solución, las proteínas que presentan mayor hidrofobicidad precipitan más fácilmente. De lo anterior se deduce que la estructura de la proteína determina su solubilidad.

### **5.2 Precipitación con Polímeros No Iónicos**

La precipitación de proteínas también puede realizarse utilizando polímeros neutros como el Polietilenglicol.

### 5.2.1 Mecanismo

El mecanismo por el cual ocurre la precipitación cuando se utilizan estos polímeros no está claramente establecido, sin embargo existe dos modelos que permiten una buena comprensión de este fenómeno.<sup>27</sup>

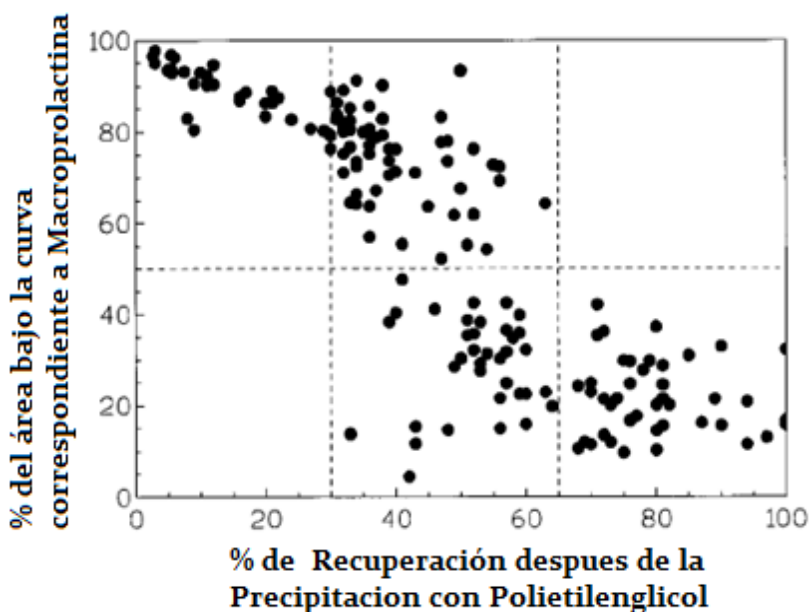
<b>Modelo de Ogston</b>	<b>Modelo de Laurent</b>
Se basa en la Teoría Termodinámica y concluye que los sistemas pueden ser explicados en términos de los coeficientes de interacción. Proteína-Polímero, y Proteína-Proteína de las especies presentes.	Se basa en un mecanismo de exclusión geométrica de regiones hidratadas de la proteína por el polímero.

Es importante seleccionar adecuadamente el polímero que se utilice como agente precipitante. Una ventaja adicional de la precipitación con polímeros no iónicos es que éstos estabilizan la proteína y permiten realizar la precipitación a temperatura ambiente.

Como resultado de la prevalencia de macroprolactinemia detectada con los inmunoensayos comerciales junto con la falta de implementación de protocolos de cribado sistemático de todos los sueros hiperprolactinemicos para detectar la presencia de macroprolactina ha llevado en numerosos casos a someter a los pacientes a tratamientos farmacológicos e intervenciones quirúrgicas innecesarias.<sup>8</sup>

## 6. Marco de Referencia

Han surgido una serie de investigaciones que se basan en la detección de Macroprolactina en circulación utilizando el método de Precipitación de Polietilenglicol, dentro de estos estudios encontramos el que describe José Gilberto H. Vieira y Col. en 1998 São Paulo, Brasil, este se basa en el estudio de 1220 muestras que fueron sometidas con Precipitación de Polietilenglicol y 171 a Cromatografía de Filtración en Gel. Los valores del porcentaje de recuperación contra el porcentaje del área bajo la curva fueron clasificados con la presencia de Macroprolactina (gráfica 1).

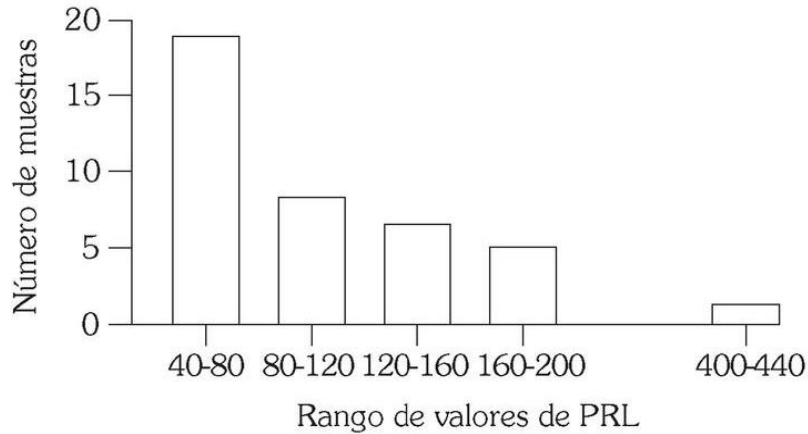


**Gráfica 1.** Correlación gráfica entre el porcentaje de recuperación tras la precipitación con Polietilenglicol y el porcentaje del área bajo la curva correspondiente a Macroprolactinemia. Obtenidos por el método de Cromatografía de Filtración en Gel (Sephacryl S-200), correspondiendo a la macroprolactina. Tomado y modificado de H. Vieira et al. (1998).

Sobre la base de los datos presentados en la (gráfica 1), se tuvo una recuperación de > 65%, siendo está clasificada como predominantemente monómerica, las recuperaciones de < 30% represento a la de alto peso molecular (macroprolactina). Los valores que se encontraban entre 30-65% fueron clasificados como indeterminados y fueron sometidos a la Cromatografía de Filtración en Gel, para determinar la forma molecular predominante. <sup>29</sup>

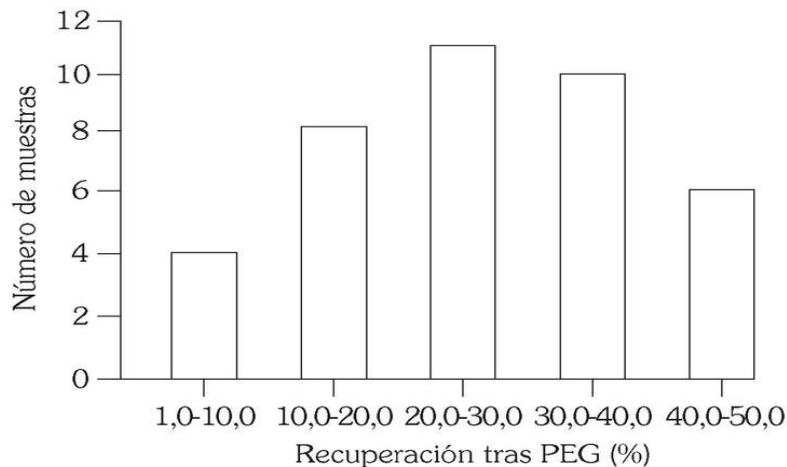
La Revista Clínica Española publica en 2003 la detección de 39 pacientes que presentaron la presencia de macroprolactina, a partir de 1505 muestras, en un periodo de 10 meses. Dentro de esta población 195 presentaron una Prolactina sérica > 40 µg/l, practicándoles la prueba de

precipitación de PEG. En 39 pacientes la recuperación de la PRL fue < 50% y, por tanto, fueron considerados como portadores de macroprolactina. El rango de PRL sérica de estos pacientes fue de 41.7 a 431  $\mu\text{g/l}$  (gráfica 2).<sup>10</sup>



**Gráfica 2.** Representación gráfica del número de muestras contra el rango de valores de Prolactina sérica de los 39 pacientes con macroprolactinemia, cuantificado por el método electroquimioluminiscente (Prolactina. Elecsys 2010. Roche Diagnostics GmbH. Mannheim Germany), presentando un rango de referencia de > 24.1 $\mu\text{g/L}$ . García Menéndez et al. (2003).

Su porcentaje de recuperación oscilo entre el 2.5 % y 49 % (gráfica 3).

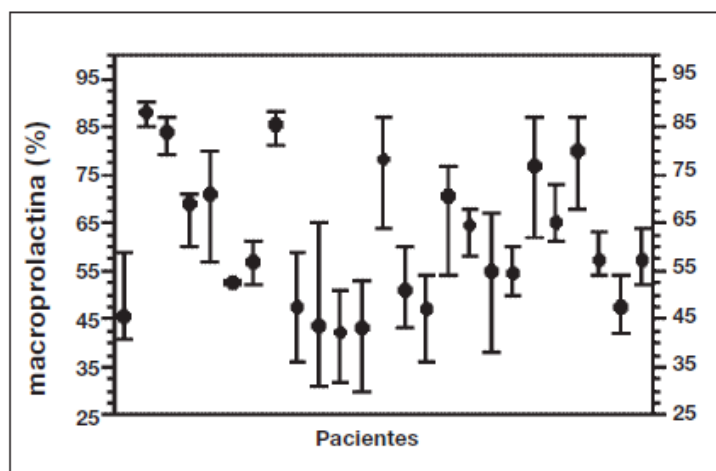


**Gráfica 3.** Representación gráfica de la distribución del porcentaje de recuperación de Prolactina tras la precipitación con Polietilenglicol contra el número de muestras de 39 pacientes con macroprolactina, con un punto de corte de 50 %, siendo este validado por el método de Cromatografía de Filtración en Gel. García Menéndez et al. (2003).

Por otro lado, en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona en el 2004, deciden implementar el estudio de la Macroprolactinemia utilizando el principio de precipitación con

Polietilenglicol. El objetivo primordial de dicha investigación consistió en detectar los posibles cambios en la proporción de Macroprolactina en el suero de pacientes hiperprolactinémicos. <sup>22</sup>

Realizaron el estudio a 25 pacientes hiperprolactinémicos portadores de maPRL, que asistieron al hospital entre el 4 de abril 1998 y 31 de diciembre 2003, al ser sometidos los sueros bajo esta técnica se obtuvieron recuperaciones inferiores al 70 % (gráfica 4).



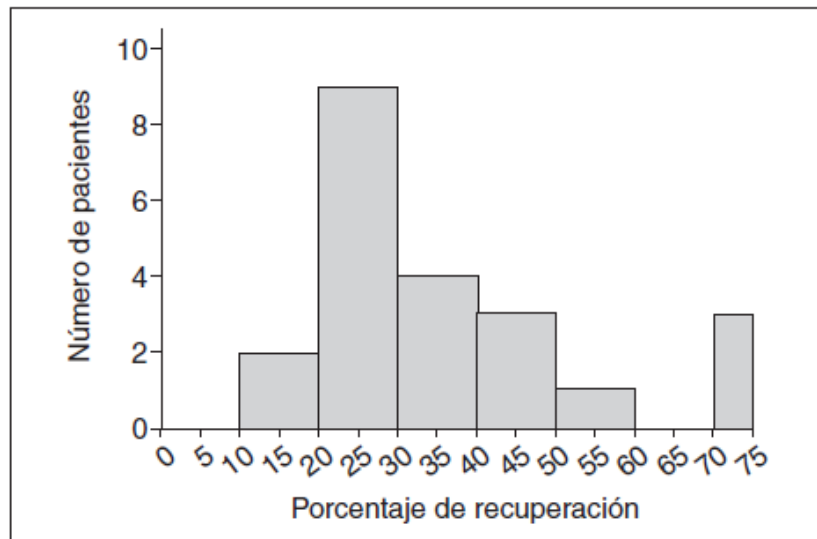
**Gráfica 4.** Representación gráfica del porcentaje de recuperación de macroprolactina contra el suero de 25 pacientes con macroprolactinemia, tras su precipitación con Polietilenglicol, en un periodo de 15-60 meses. Utilizando el método estadístico mediante la prueba de T de Wilcoxon presentando una  $p \leq 0.05$ . Rodríguez Espinosa et al. (2004).

La validez de la técnica de la precipitación con PEG para detectar la presencia de maPRL en el suero se comprobó con la técnica de Cromatografía de Filtración en Gel. Con este procedimiento se consideró la presencia de maPRL, cuando su proporción fue  $< 25\%$  del total.

Tras una serie de exhaustivas investigaciones en 2006, el Laboratorio de Hormonas del Complejo Universitario de Vigo, España. Deciden determinar la prevalencia de maPRL en pacientes con Hiperprolactinemia con un valor  $> 50$  ng/ml. <sup>2</sup>

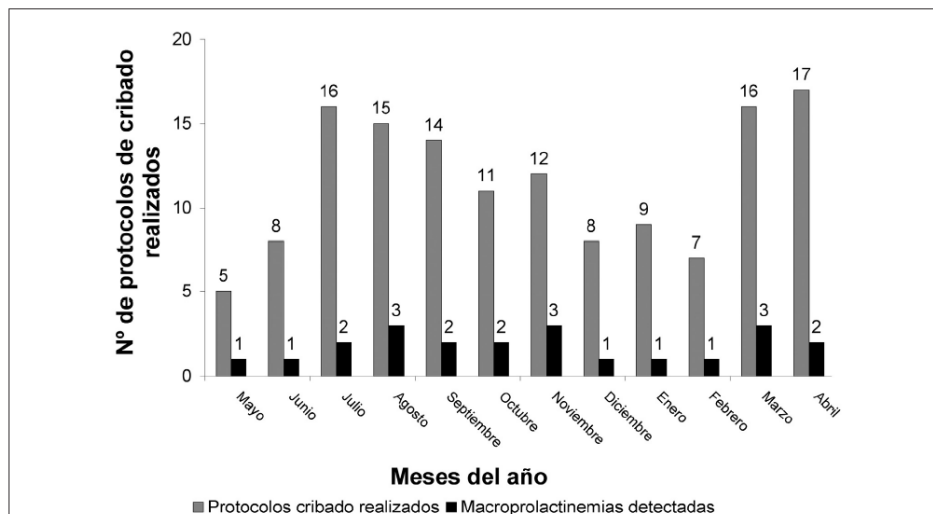
Este estudio se realizó en un periodo de 24 meses, en 228 pacientes. Solo 22 presentaron macroprolactinemia (recuperación  $< 75\%$ ), se consideró maPRL como forma mayoritaria de PRL tras su precipitación.

La recuperación de PRL tras la precipitación con PEG en estas pacientes osciló entre el 14.5 y 73.8%. Sólo 4 pacientes presentaron un porcentaje de recuperación de PRL de 50 y 70% (gráfica 5).



**Gráfica 5.** Representación gráfica de la distribución del porcentaje de recuperación de Prolactina contra el número de pacientes tras ser precipitados con Polietilenglicol, en un periodo de 24 meses, empleando el método estadístico la prueba  $X^2$  (variables categóricas) y la t de Student (variables continuas). Álvarez-Vázquez et al. (2005).

De acuerdo a los datos estadísticos que se reportaron en el 2006, se puede observar los diferentes protocolos realizados a nivel global con respecto al estudio sobre la Macroprolactina (gráfica 6).



**Gráfica 6.** Protocolos en los que se ha detectado la presencia de macroprolactinemia respecto al global de los realizados, en función de los meses en los que se ha efectuado el estudio. Fernández, N. (2006).

Por lo consiguiente, es de suma relevancia cuantificar la Macroprolactina ya que así nos permitirá evitar un manejo clínico innecesario. Además, de que este estudio proporciona una herramienta para su detección, permitiendo así tener un verdadero panorama de las mujeres que asisten al laboratorio de análisis clínico del Hospital Universitario de Puebla.

## **7. Planteamiento del Problema**

En México una de las enfermedades que está comenzando a tener un incremento paulatino es la Macroprolactinemia, la cual resulta de un aumento de una de las variantes de la Prolactina (Macroprolactina). Por lo que en los últimos años ha habido un número creciente de estudios sobre la Macroprolactinemia, la cual presenta mayor prevalencia en mujeres que en hombres.

En la actualidad existe poca información respecto a la Hiperprolactinemia asociada a la Macroprolactina. El Prolactinoma, la ingesta de fármacos u otras patologías que se asocian con una alteración a nivel Hipotalámico son procesos frecuentes en la Hiperprolactinemia.

Sin embargo, la mayoría de los resultados que se han obtenido son de reportes de casos clínicos y no de estudios epidemiológicos. En Puebla no hay evidencia de estudios enfocados en mujeres con Macroprolactina, por lo que su investigación proporcionara información relevante al momento de emitir un tratamiento a las pacientes.

De acuerdo a lo anterior se ha iniciado una línea de investigación que intente demostrar la presencia de maPRL en la mujer que acude al Hospital Universitario de Puebla empleando el método de Precipitación con PEG, permitiendo ofrecer una herramienta para su diagnóstico. Por lo tanto, se plantea la siguiente pregunta:

**¿Se puede encontrar maPRL en mujeres empleando el Método de Precipitación con Polietilenglicol?**

## 8. Justificación

La valoración de PRL en el suero humano en la década de 1970 llevó a la definición de Hiperprolactinemia, caracterizado clínicamente por trastornos menstruales, infertilidad y galactorrea en la mujer, mientras que en el varón causa impotencia y pérdida de la libido. Sin embargo, en algunos pacientes se ha descrito la presencia de elevadas concentraciones séricas de PRL sin las manifestaciones clínicas propias de la Hiperprolactinemia, entidad que se ha atribuido a la presencia de Macroprolactinemia.<sup>6</sup>

Para poderla determinar se utiliza el método de precipitación con Polietilenglicol el cual permite su detección de forma rápida, fiable y barata, además de permitir la realización del screening de maPRL. En un primer estudio se evaluará la precisión de la técnica empleando muestras control, lo cual nos permitirá saber si la técnica es exacta, ya que estudios previos sugieren que es necesario realizar dicha comprobación. Además de saber si existe alguna diferencia entre las muestras control con respecto a las muestras problema.

El Hospital Universitario de Puebla es un sitio de alta especialidad que cuenta con una gran variedad de servicios que satisfacen las necesidades de todos los pacientes que ingresan a dicha unidad médica. Es por ello que la información que se reúna permitirá otorgar una herramienta para el diagnóstico certero y preciso en la detección de Macroprolactinemia en mujeres que acuden al servicio de Ginecología del Hospital Universitario de Puebla.

Por otro lado, estos resultados formaran parte de los escasos estudios que informan sobre la Macroprolactinemia, ya que los antecedentes que se tienen al respecto se obtuvieron de estudios realizados hace muchos años el cual buscaban saber porque los pacientes que tenían Prolactina incrementada no presentaban sintomatología.

## **9. Objetivos**

### **Objetivo General**

Determinar la presencia de Macroprolactina en mujeres diagnosticadas con Hiperprolactinemia que acuden al Servicio de Ginecología en el Hospital Universitario de Puebla durante el periodo de Enero a Mayo del 2016.

### **Objetivos Particulares**

- Diferenciar entre una Hiperprolactinemia y Macroprolactinemia, bajo el método de Precipitación con Polietilenglicol.
- Determinar la prevalencia de Macroprolactina en las mujeres que acuden al Hospital Universitario de Puebla.
- Ofrecer un método específico para la cuantificación de macroprolactina.

## **10. Hipótesis**

**H<sub>0</sub>.** Mediante la técnica de precipitación con Polietilenglicol, no es posible detectar la presencia de macroprolactina en mujeres diagnosticadas con Hiperprolactinemia.

**H<sub>1</sub>.** Mediante la técnica de precipitación con Polietilenglicol, si es posible detectar la presencia de macroprolactina en mujeres diagnosticadas con Hiperprolactinemia.

## 11. Diseño del Estudio

### Tipo de Estudio.

Observacional, Analítico, Transversal y Prospectivo

### Universo de Estudio.

Mujeres que asisten al Hospital Universitario con rango de edad de 17 a 50 años.

### Tamaño de la muestra.

El universo de estudio fue de 34 muestras que fueron procesadas en el área de Inmunología de Enero a Mayo del 2016.

### Sede y Lugar de estudio.

Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario de Puebla.

### Criterios de Selección.

INCLUSIÓN	EXCLUSIÓN
<ol style="list-style-type: none"><li>1. Mujeres</li><li>2. Edad entre 17-50 años con diagnóstico de Hiperprolactinemia</li><li>3. Con niveles &gt;26 ng/mL de Prolactina</li></ol>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Hombres</li><li>2. Mujeres embarazadas y Mujeres en lactancia</li><li>3. Antecedentes farmacológicos y patológicos</li></ol>

### Recursos Humanos.

M. en C. María Susana Pérez Fernández (Director de Tesis)

Q.F.B Lorena Ramírez Rodríguez (Asesora de Tesis)

p.Q.F.B Gisela Sandoval González (Tesisista)

## **Recursos Financieros.**

Este proyecto fue financiado por el Hospital Universitario de Puebla.

## **12. Análisis Estadístico**

Se empleó el análisis estadístico y representación gráfica de los datos ocupando el programa GraphPad PRISM® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EE.UU).

Para la comparación de la recuperación de la macroprolactina tras la precipitación con Polietilenglicol, se ocupara Mann-Whitney, considerando estadísticamente significativa un valor de  $p \leq 0.05$ .

### **13. Material y Metodología**

El material para la toma de muestra sanguínea fue el convencional empleando el Sistema BD Vacutainer.

#### **Reactivos para ARCHITECT PLUS / 2000SR SYSTEM**

- Micropartículas
- Conjugado
- Solución preactivadora
- Solución activadora
- Tampón de Lavado

#### **Reactivo para Método de Fahie-Wilson**

- Polietilenglicol 6000

#### **Equipo**

- Centrifuga CENTRIC 322 A Tehnica
- Equipo ARCHITECT PLUS / 2000SR SYSTEM
- Vortex GENIE MIXER

#### **Metodología**

En los siguientes esquemas se describen brevemente cada una de las metodologías que se utilizaron en el laboratorio para la determinación de la Macroprolactina en suero.

Para la obtención de la muestra se utilizó lo referido en Manual de Operaciones del equipo ARCHITECT PLUS / 2000SR SYSTEM, el cual las pacientes deben presentarse a la toma de muestra de 7:00 a 8:30 a.m. con un ayuno de 8 horas. La muestra se obtuvo por Venopunción periférica, para este tipo de punción se utilizan las venas de la cara anterior del brazo (Anexo 2) (Esquema 1)

(Esquema 2) El ensayo a utilizar para cuantificar la concentración de Prolactina sérica es el Método de Quimiolumiscencia (ARCHITECT PLUS i2000SR SYSTEM); teniendo como marco de referencia 0.6 – 200 ng/mL, obtenido a partir de suero humano con la adición de productos químicos, constituyentes de origen humano y animal, drogas terapéuticas y estabilizadores. Este método está basado en 2 pasos que utiliza la tecnología de inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA).

1. En el primer paso se combina la muestra y las micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo antiprolactina (monoclonal, de ratón). La Prolactina presente en la muestra se une a las micropartículas recubiertas de antiprolactina.
2. Después del lavado con solución salina en tampón fosfato, en el segundo paso, se añade el conjugado de antiprolactina marcado con acridinio. La solución preactivadora y activadora se añade a la mezcla de reacción produciéndose la reacción quimioluminiscente, la cual se mide en unidades relativas de luz (URL). Posteriormente atravesara un tubo fotomultiplicador que se encargara de convertir estas unidades en ng/mL.

Antes de cuantificar las muestras se llevara a cabo el corrimiento del control para Prolactina (Lynphochek Immunoassay Plus Control). Este producto se prepara a partir de suero humano con la adición de productos químicos, constituyentes de origen humano y animal, drogas terapéuticas y estabilizadores. Este vial se tratara de la misma forma que las muestras de las pacientes.

(Esquema 3) Para precipitar la muestra de suero (control y problema), aplicaremos el método descrito por Fahie-Wilson que consiste en:

- I. Añadir 500µl de suero y 500µl de PEG en una copilla para muestra Architect cuya capacidad es de 1.5 mL.
- II. Mezclar en un Vortex durante 30 segundos.
- III. Centrifugar a 3000 rpm por 30 minutos.
- IV. Cuantificar el porcentaje de recuperación de Prolactina tras la precipitación de Polietilenglicol, utilizando el Equipo ARCHITECT. PLUS i2000SR SYSTEM
- V. Calcular el porcentaje de recuperación:

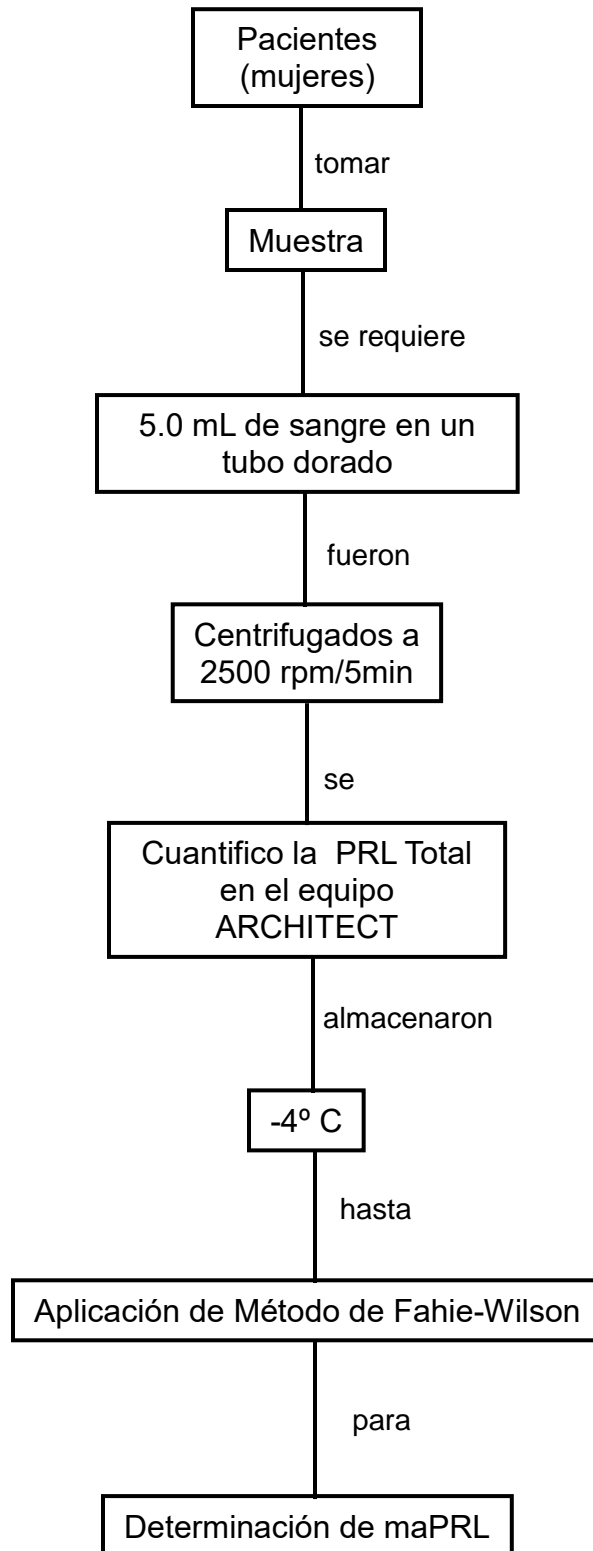
## Calculo para maPRL (Macroprolactinemia)

$$\frac{PRL\ sobrenadante\ de\ PEG}{PRL\ total} \times 100$$

Confirmar o descartar la presencia de Macroprolactinemia, los Cut-Off a emplear serán los siguientes:

- Un porcentaje de recuperación < 40% Macroprolactinemia “**PRESENTE**”.
- Un porcentaje de recuperación > 50% Macroprolactinemia “**Ausente**”.
- Un porcentaje de recuperación entre 40-50% Macroprolactinemia “**No concluyente**”.

14. **Esquema 1.** Diagrama General del Trabajo. Tomado del Manual de Operaciones del equipo ARCHITECT PLUS i 2000SR SYSTEM

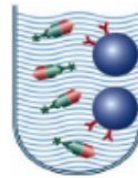


\* Misma metodología será aplicada a muestras control que serán usadas para este trabajo.

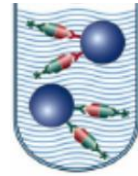
Fuente: Diseño del estudio.

15. **Esquema 2.** Principio biológico del procedimiento de ARCHITECT PLUS *i* 2000SR SYSTEM. Correspondiendo a un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) para la determinación de Prolactina en suero. Tomado del manual de operaciones del ARCHITECT PLUS *i* 2000SR SYSTEM

Se adiciona la muestra y las micropartículas paramagnéticas



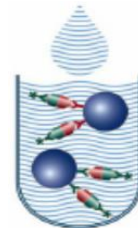
Unión de la Prolactina con las micropartículas paramagnéticas



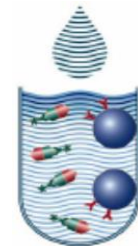
Lavado con buffer



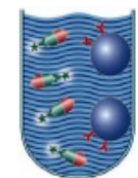
Se añade la solución preactivadora



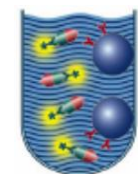
Se añade la solución activadora



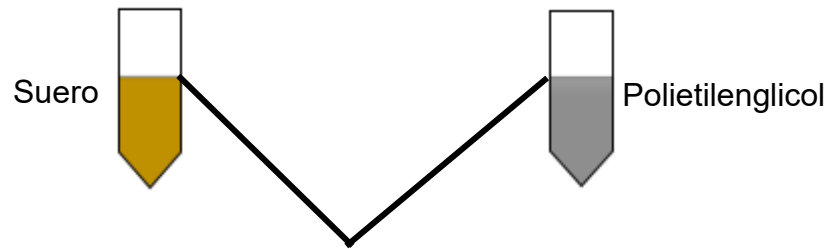
El acridinio marcado se libera en la solución



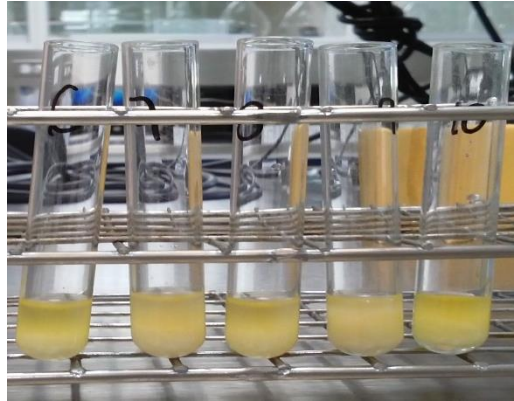
Se produce la reacción quimioluminiscente



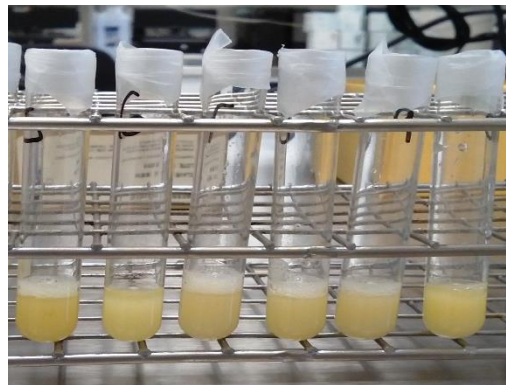
16. Esquema 3. Principio del Método de Fahie-Wilson.



mezclar  
por 30seg

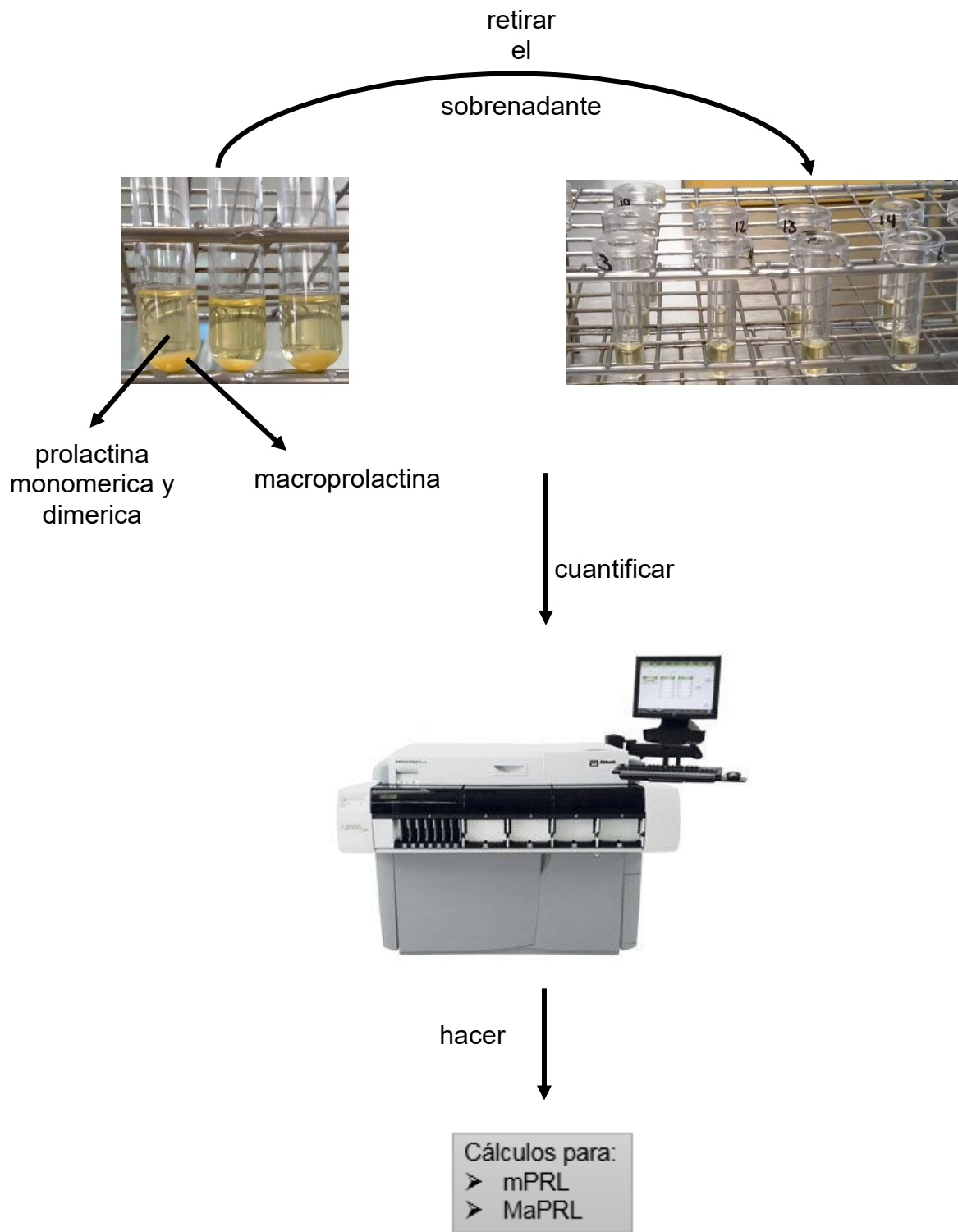


centrifugar  
2500rpm/30min



precipitado



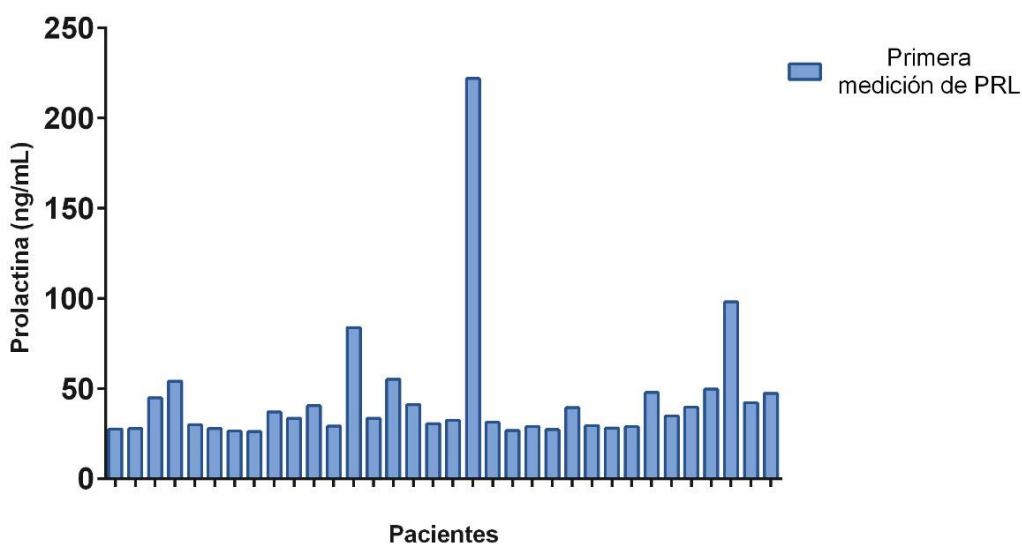


Fuente: Metodología por Fahie-Wilson

## 17. Resultados

El periodo de recolección de las muestras fue de Enero hasta Mayo del 2016, en el Laboratorio del Hospital Universitario de Puebla, se obtuvo un total de 285 pacientes con solicitud para la determinación de la Prolactina Sérica.

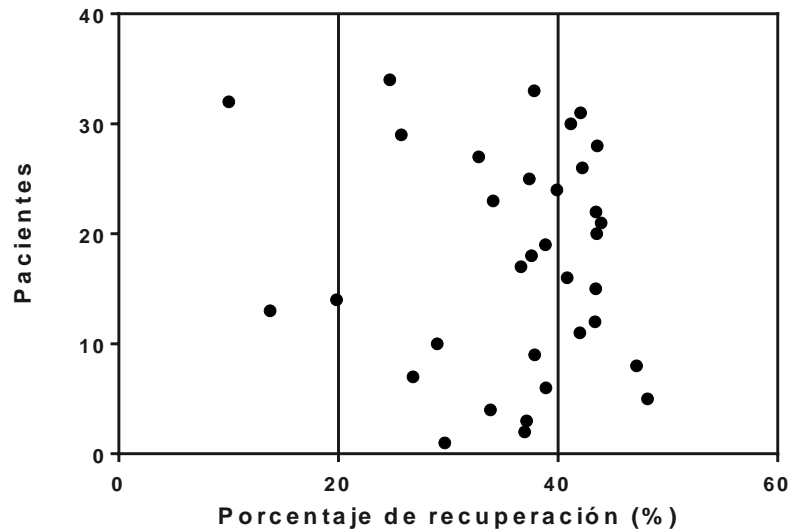
Solo 34 pacientes cumplieron con los criterios de selección para este trabajo, siendo todas mujeres con una media de edad de 33.04 (17-50) años. Presentaron un rango de Prolactina 26.23 a 221.92 ng/mL cuya media fue de 44.23 ng/mL y su distribución puede observarse en la (gráfica 7).



**Gráfica 7.** Representación gráfica del número de pacientes contra el rango de Prolactina Sérica de las 34 pacientes, siendo cuantificadas por el método de Quimioluminiscencia (ARCHITECT / SYSTEM Prolactin), el cual presenta un rango de referencia de < 26 ng/mL.

Por otro lado, a las pacientes se les realizó el Método descrito por Fahie-Wilson, que fue puntualizado anteriormente, se presenta a continuación los valores obtenidos de las 34 pacientes estudiadas con sus respectivos porcentajes de recuperación tras ser precipitadas con Polietilenglicol. Dentro de este grupo se obtuvo lo siguiente:

Solo 21 pacientes obtuvieron un porcentaje inferior al 40 % de la Prolactina después de que las muestras fueron precipitadas con Polietilenglicol, siendo catalogadas con la presencia de Macroprolactina, los rangos del porcentaje de recuperación de estas fue entre el 10.03 y el 39.91% (media de 31.39 %).

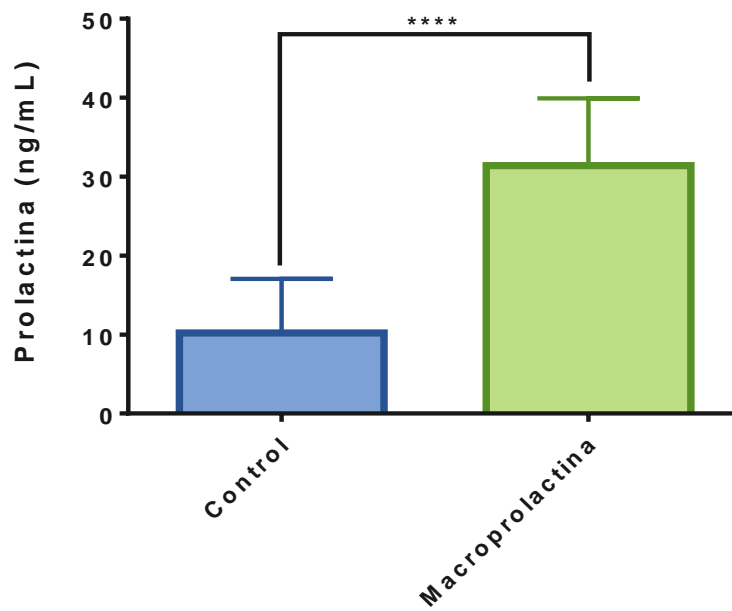


**Gráfica 8.** Correlación entre los valores obtenidos de las 34 pacientes después de emplear el Método de Fahie-Wilson. De los cuales aquellas que presentaran valores < 40% serían catalogadas como Macroprolactina, los que estuvieran entre 40 – 50 % indeterminadas y por último las que tuvieran valores > 50 % serían Prolactina Monómerica.

Mientras que 13 pacientes presentaron un porcentaje de recuperación de Prolactina de 40 a 50%, cuyo porcentaje de recuperación osciló entre 42.00 y 48.16 % (media de 43.49 %), apreciándose en la (gráfica 8).

De manera simultánea, se realizó dicha metodología a 12 pacientes con una media de edad de 30.91 (15-50) años que sirvieron como controles para este trabajo. Para poder determinar si estas pacientes eran candidatas se les realizó una revisión del historial clínico (a nivel de estudios del laboratorio) de cada una de ellas. La razón por la cual fueron requeridas era poder evaluar la precisión de la cuantificación de la Macroprolactina, y saber si existía alguna diferencia en nuestras poblaciones.

Una vez obtenido nuestros datos se procedió al análisis estadístico de los cuales se les realizaron 3 criterios de normalidad (Anderson-Darling, Ryan-Joiner y Kolmogorov-Smirnov) mostrando que nuestra población no seguía una distribución normal por tal motivo, se utiliza el método estadístico de Mann-Whitney, (evaluación de medias) observándose en la (gráfica 9).



**Gráfica 9.** Comparación del grupo control contra Macroprolactina empleando como análisis estadístico a Mann-Whitney presentando una  $p < 0.05$ . Del cual presentan diferencias significativas entre las medias de ambas poblaciones.

Por todo lo anterior se describe a continuación la siguiente conclusión estadística:

**“Se rechaza la Hipótesis Nula y se acepta la Hipótesis Alternativa”**

Al existir diferencias significativas entre las medias de las muestras control con respecto a las muestras problema. Se concluye que mediante la técnica de precipitación con Polietilenglicol, si es posible detectar la presencia de macroprolactina en mujeres diagnosticadas con Hiperprolactinemia, el cual presento una  $p < 0.05$ .

Por otra parte, se realizó una exhaustiva revisión de cuales fueron los motivos por los que las pacientes acudieron al laboratorio para la cuantificación de los niveles de Prolactina sérica observándose en la tabla 6.

**Tabla 6.** Motivos de la solicitud de la Prolactina Sérica.

Trastornos del Ciclo Menstrual	8
Infertilidad	3
Galactorrea	1
Hiperprolactinemia	19
Otros	3

De manera simultánea se llevó acabo la revisión del Historial Clínico junto con la aplicación de un cuestionario que brindó información importante de cada una de las pacientes.

Del grupo de las 19 pacientes que presentaron el diagnóstico de Hiperprolactinemia manifestaron presentar Prolactina incrementada como inicio aproximado de 7 años. Cuando se les aplico el cuestionario (ANEXO 4), diez indicaron como primer signo la presencia de galactorrea, aunque lograron concebir, sus niveles de Prolactina persistieron. Por otro lado cinco de las pacientes aludieron como antecedente familiar problemas con el incremento de dicha hormona, del cual no se ha podido determinar su origen. Cabe resaltar que ellas no presentaron ninguna sintomatología. Las cuatro pacientes últimas que integran el grupo de las 19 pacientes citaron que buscan saber si son candidatas para poder concebir un embarazo. Las tres pacientes que se encuentran dentro del grupo de Otros, el diagnostico que refirieron fue: Perfil de Resistencia a la Insulina, Mastitis y Displasias, ellas solo aludieron alteración del ciclo menstrual.

A pesar que todas tuvieron como tratamiento Cabergolina, estas seguían manteniendo niveles de Prolactina superiores a 26.00 ng/mL, por lo que la dosificación fue interrumpida.

Para poder descartar que las pacientes no presentaran alguna alteración con la Hormona Tiroidea se procedió a realizar la revisión del historial del Perfil Tiroideo de cada una de las pacientes, del cual los valores de Hormonas Tiroideas y TSH eran normales.

Dentro de sus antecedentes farmacológicos se encontró la siguiente información:

Metformina	4
Clomifeno	1
Cabergolina ó Pastillas Anticonceptivas	34
Antihipertensivos	2

## 18. Discusión de Resultados

La presencia de Macroprolactina Sérica es un hallazgo que está teniendo un incremento gradual en la población en general. Leslie H. y col. 2001. Refieren: “Que han encontrado un 26% de macroprolactinemias en su serie de 1225 pacientes con Prolactina > 33 µg/L en el Norte de Irlanda”. Se ha demostrado en estudios recientes que esta forma molecular se encuentra constituida por un complejo con una Inmunoglobulina G, de tal manera, que cuando ocurre el proceso de aclaramiento, este se realiza de manera paulatina trayendo consigo una aparente Hiperprolactinemia, por tal motivo, su actividad biológica sigue siendo una razón cuestionable.

La finalidad de este trabajo fue poder determinar la presencia de Macroprolactina en mujeres diagnosticadas con Hiperprolactinemia en el Hospital Universitario de Puebla. En nuestro estudio hemos encontrado a 21 pacientes con maPRL dentro de un grupo de 34 pacientes que ingresaron a esta unidad hospitalaria con diagnóstico de Hiperprolactinemia cuya revisión de su historial clínico no presentaran ninguna relación con otro padecimiento que se relacionara con dicho incremento, ni que tampoco tuvieran una ingesta farmacológica. Aunque en un inicio se tuvo 50 pacientes para este estudio 16 de ellas no cumplieron con los criterios de selección para esta investigación.

Para poder evaluar la presencia de maPRL se realizó una serie de determinaciones de muestras control de 12 pacientes que dentro de su historial presentaron niveles de PRL normales. De modo que al existir diferencias significativas entre las medias de las muestras control con respecto a las muestras problema, se demuestra que mediante la técnica de precipitación con Polietilenglicol, si es posible detectar la presencia de macroprolactina.

El punto de corte elegido para la detección del porcentaje de recuperación de Macroprolactina, se basó en estudios previos los cuales han demostrado que recuperaciones < 40 % son indicativos de la presencia de Macroprolactina. Jamaluddin F. y col. 2013. Afirman: “Que porcentajes > 50% era indicativo de la presencia de PRL monómerica, mientras que porcentajes < 40 % se demostraba la presencia de maPRL y aquellos que cayeran entre 40 y 50 %, debería de ser confirmada por el método estándar para convalidar o refutar la presencia de Macroprolactina”.

Por otro lado Sandoval C. y col. 2007. Refieren: “Que porcentajes < 40 % eran catalogados con maPRL, no obstante, aquellos pacientes cuyas recuperaciones fueran > 50 % serian de PRL monomérica, mientras que los que se encontraran entre 40 y 50 %, tenían que ser confirmadas por el Método de Cromatografía de Filtración en Gel”.

García L. y col. 2003. Puntualizaron: “Que dentro de una población de 195 pacientes, 39 de ellos tuvieron un porcentaje de recuperación < 50 % en el Hospital de León, España”.

La variabilidad que existe en los puntos de corte se debe al tipo de inmunoanálisis utilizado además de poseer una distinta sensibilidad para la cuantificación de la Prolactina. 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 reactividad. Esto posiblemente se deba a la heterogeneidad de la Macroprolactina y a la disponibilidad de los epítomos de la Prolactina para reaccionar con los anticuerpos de los inmunoanálisis. ARCHITECT i SYSTEM Prolactin utilizado en nuestro estudio se considera de reactividad alta, Beltran L. y col. (2008). Afirma que “Architect, Centauro, Elecsys, and AIA presentan una reactividad alta al presentar porcentajes de recuperación < 30 % para determinar la presencia de Macroprolactina, mientras que Immulite 2000 presenta una reactividad media, debido a que al momento que se realiza la cuantificación de la hormona el reactivo de Polietilenglicol causa una interferencia, siendo esto comprobado con la Cromatografía de Filtración en Gel”.

La implicación clínica de la maPRL aún no ha sido descrita por completo y su función biológica ha sido debatida en estos últimos años. Varias investigaciones han puntualizado que la Macroprolactina es una molécula biológicamente inactiva y que, por tanto, no se acompaña de los síntomas característicos de Hiperprolactinemia en pacientes con maPRL. Sin embargo, Strachan M. y col. 2003. Afirma que en el análisis de 58 pacientes de los cuales 44 eran mujeres, describe la presencia de galactorrea en el 14% de ellas, además de presentar ciclos menstruales anormales en el 20 % de su población y por ultimo un 11 % manifestó infertilidad. De acuerdo a este estudio, en nuestra población se demuestra que una paciente presento síntomas propios de la Hiperprolactinemia, 17 presentaron menstruación anormal, 2 aludieron infertilidad y una indico galactorrea, de tal manera que este descubrimiento coincide con el autor antes citado. Por lo que hoy en día, no parece tan claro su diagnóstico y además de generar incertidumbre de cómo se debe tratar a los pacientes con Macroprolactina.

Por otro lado, en esta investigación se ha observado que los pacientes con Macroprolactina que en algún momento han sido tratados con agonistas dopaminérgicos sus niveles se mantienen prácticamente inalteradas, durante largos periodos de tiempo, al menos durante 5 años, de acuerdo a los datos obtenidos de nuestra población de estudio. Este hallazgo coincide con lo de Vallete K. y col. 2002. Del cual refieren “que sus pacientes tuvieron un seguimiento de al menos 2 años, el cual observó que las concentraciones de Prolactina fueron estables y que no apreciaron cambio alguno”.

Por otra parte la prevalencia de Macroprolactina obtenida de la población (7.36%) se encuentra entre el rango 15 a 46 % de la literatura reportada de acuerdo a lo que refiere Sandoval y col. 2007 además de que para determinar la presencia de maPRL dependerá del tipo de inmunoensayo a utilizar.

En resumen, la técnica de precipitación con Polietilenglicol ha demostrado ser una prueba, reproducible, práctica y económica, además de que bajo esta metodología si es posible detectar la macroprolactina en un paciente con diagnóstico de hiperprolactinemia. La detección oportuna de esta variante molecular, sería útil en el manejo de los pacientes debido a que son objeto de exploraciones y tratamientos innecesarios trayendo como consecuencia un problema cardiaco no dado por la enfermedad sino por el tratamiento. Por lo que este problema podría ser evitado si se aplicara una prueba de escrutinio a todas las muestras que presenten Hiperprolactinemia para poder detectar la presencia de Macroprolactina.

## **19. Conclusión**

A través del Método de Precipitación con Polietilenglicol se pudo detectar a 21 pacientes con la presencia de Macroprolactina dentro de un grupo de 285 pacientes que asistieron al Hospital Universitario de Puebla. Sin embargo, en 13 pacientes no se pudo determinar qué forma molecular tienen como predominio por lo que, se sugiere realizarles la Cromatografía de Filtración en Gel para poder identificar la forma predominante.

Por otro lado el Método de Precipitación con Polietilenglicol si permite diferenciar entre una Hiperprolactinemia con predominio de la forma monómerica, con respecto a la forma Macroprolactina, siendo de suma importancia la correlación de la clínica de las pacientes con respecto al resultado emitido.

Otro punto importante es la determinación de la Prevalencia de Macroprolactina en las mujeres que asistieron al laboratorio del Hospital Universitario de Puebla, del cual se obtuvo que de un total de 285 pacientes que acudieron en un periodo de 5 meses se presentó una prevalencia de 7.36% .

## 20. Bibliografía

1. Aguirre, Miguel A., Luna, Magda, Reyes, Yubriaangel, Zerpa, Yajaira, Vielma, Marly. "Diagnóstico y Manejo de la Hiperprolactinemia". *Endocrinología y Metabolismo*, 11, (2013): 26-38.
2. Álvarez Vázquez, Paula, Rodríguez Pérez, Digna, Álvarez García, Elías, Paramo Fernández, Concha, Hervás Abad, Elena, Andrade Olivie, María Amalia. "Significación clínica de la macroprolactina". *Endocrinología Nutrición*, 53, (2006): 374-378.
3. Beltran Luisa, Fahie- Wilson Michael N., McKenna Joseph T., Kavanagh Lucille, Smith Thomas P. "Serum Total Prolactin and Monomeric Prolactin Reference Intervals Determined by Precipitation with Polyethylene Glycol: Evaluation and Validation on Common ImmunoAssay Platforms". *Clinical Chemistry*, 54, (2008):1673-1681.
4. Berlanga, Eugenio. "Diagnóstico bioquímico del exceso de secreción de prolactina". *Endocrinología y Nutrición*, 53, (2006):1157.
5. Blanco Favela, Francisco, Legorreta Haquet, María Victoria, Huerta Villalobos, Yunuen Rocío, Chávez Rueda, Karina, Montoya Díaz, Eduardo, Chávez Sánchez, Luis, Zenteno Galindo, Edgar. "Participación de la Prolactina en la Respuesta Inmune". *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 69, (2012): 329-336.
6. Casamitjana, Roser. "Macroprolactinemia: Interpretación Diagnóstica". *Endocrinología y Nutrición*, 50, (2003): 313-316.
7. Fabre Raquel, Bibiana, Estela Boero, Laura, Argibay, Jenny, Benencia, Haydée, Del Río, Alberto. "Screening de macroprolactina con polietilenglicol: límite de corte". *SCIELO*, 40, no.2 (2011): 145-152. Consultado 8 de Abril 2016. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272011002200002](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272011002200002)
8. Fernández García, N. "Detección de la presencia de Macroprolactina como parte integrante del diagnóstico diferencial de la Hiperprolactinemia". *Diagnóstico Biológico*, 1, (2006): 22-25.
9. Freeman, Marc E., Kanyicska, Béla, Lerant, Anna, Nagy, György. "Prolactin: Structure, Function, and Regulation of Secretion". *Physiological Reviews*, 80, (2000):1524-1631.
10. García Menéndez, L., Díez Hernández, A., Ciriza de los Ríos, C., Delgado Gómez, M., Orejas García, A., Fernández Erales, A L., González Mateo, C., Fernández Fernández, M. "Macroprolactina como causa de hiperprolactinemia". *Clínica Española*, 203, (2003): 459-564.
11. Grattan, David R., Steyn Frederik, J., Kokay Llona, C., Anderson Greg, M., Bunn Stephen, J. "Pregnancy- Induced Adaptation in the Neuroendocrine Control of Prolactin Secretion". *Journal of Neuroendocrinology*, 20, (2008): 497-507.
12. Guillén González, Miguel A., Canseco López, Fernando D., Vega Hernández, Gabriela, Rivas Bocanegra, Ruth E., Zapata Sánchez, León, Dávila Loaiza, Gabriela, Mould Quevedo, Joaquín. "Tratamiento de la infertilidad asociada a hiperprolactinemia". *Perinatol Reprod Human*, 22, (2008): 174-183.

13. Hernández, María E., Miquel, Martha, Pascual, Luz I., Herrera, Deissy, Aranda Abreu, Gonzalo, López, Leonor, Rojas, Fausto, Toledo, Rebeca, Manzo, Jorge. "Temporalidad en el incremento de receptores de prolactina en el hipotálamo de la rata macho durante la conducta sexual". *Neurobiología*, 2, (2010): 2-8.
14. Jamaluddin Farhi, Ain, Sthaneswar, Pavai, Hussein, Zanariah, Othman, Norashikin, Chan Siew, Peng. "Importance of screening for macroprolactin in all hyperprolactinaemic sera". *Malaysian J Pathol*, 35, (2013): 59-63.
15. La Torre, Daria, Falorni, Alberto. "Pharmacological causes of hiperprolactinemia". *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 5, (2007): 929-951.
16. Legorreta Haquet Maria Victoria. "Participación de la Prolactina en la actividad reguladora mediada por Linfocitos T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> CD127<sup>low/-</sup>". Tesis de Doctorado, Instituto Politécnico Nacional, 2010.
17. Leslie, H., Courtney, CH., Bell, P.M., Hadden, D.R., McCance, D.R., Ellis, P.K., Sheridan, B., Atkinson, A.B. "Experiencia Clínica y de Laboratorio en 55 pacientes con macroprolactinemia identificada con el método simple de precipitación con Polietilenglicol". *J Clin Endocrinol Metab*, 86, (2001): 2743-2746.
18. Llano, M, Pragier, U.M, Fideleff, H. "Hiperprolactinemias en la Mujer". *Endocrinología Ginecología y Reproductiva*, 4, (2007): 4-9.
19. Moreno, B., Obiols, G., Páramo, C., Zugasti, A. "Guía clínica del manejo del Prolactinoma y otros estados de hiperprolactinemia". *Endocrinología y Nutrición*, 1, (2005): 9-17.
20. Ramón, José A., Peniche, Carlos, Castro, Fidel R., Sáez, Vivian M., Colás, Rosa M., Páez, Rolando. "Un método reproducible para obtener peg biramificado monofuncional de alta pureza". *SCIELO*. 32, no. 6 (2009): 64-78. Consultado 12 de Febrero de 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000600012> .
21. Rivero, A. García, A. "Diagnóstico bioquímico de la hiperprolactinemia monomérica". *SCIELO*. 34, no.2 (2011): 145-152. Consultado 1 de Enero de 2016. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272011002200002](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272011002200002)
22. Rodríguez Espinosa, J., Vanrell, C., Zapico, E., Martínez, S., Murugo, M., González Sastre, F. "Cambios en las proporciones de macroprolactina durante el seguimiento de pacientes macroprolactinémicos". *Química Clínica*, 23, (2004): 127-131.
23. Salazar López Ortiz, Carlos G., Hernández Bueno, José Alberto, González Bárcena, David, López Gamboa, Mireya Plata, Alma, Porias Cuéllar, Hans L., Rembao Bojórquez, Daniel J., Sandoval Huerta, Gabriel A., Tapia Serrano, Rosario, Vázquez Castillo, Gaspar G., Vital Reyes, Víctor S. "Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico y Tratamiento de la Hiperprolactinemia". *Ginecología y Obstetricia de México*, 82, (2014): 123-142.
24. Sandoval, Carolina, González, Baldomero, Cheng, Sonia, Esquenazi, Yoshua, Mercado, Moisés. "Identificación de macroprolactinemia en pacientes con hiperprolactinemia". *Ginecología y Obstetricia de México*, 8, (2007): 459-464.

25. Silva de Sá Marcos, Felipe, Rodovalho Callegari, Fernanda Vieira, Carbol Patta, Maristela, Margareth Lizarelli, Patricia, Sales Vieira, Carolina, Oliveira Maranhao, Técia Maria. "Macroprolactinemia: as vantagens do rastreamento na prática clínica". *Ginecología y Obstetricia*, 7, (2010): 311-314
26. Strachan, M.W., Teoh, W.L., Don-Wauchope, A.C, Seth, J., Stoddart, M., Beckett, G.J. "Clinical and radiological features of patients with macroprolactinemia". *Clinical Endocrinology*, 59, (2003): 339-346.
27. Tejada Armando, Montesinos Rosa y Guzmán Roberto. Bioseparaciones México: UNISON, 1995.
28. Vallette- Kasic, Sophie, Morange- Ramos, Isabelle, Selim Adel, Gunz, Ginette Morange, Sophie, Enjalbert Alain, Perrie-Marie, Martin Jaquet, Philippe, Brue, Thierry. Macroprolactinemia Revisited: A study on 106 Patients. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87, (2002): 581-588.
29. Vieira, H., José Alberto, Tachibana, Teresinha T., Obara, Leda H., Maciel M.B, Rui. "Extensive Experience and Validation of Polyethyleneglycol Precipitation as a Screening Method for Macroprolactinemia". *Clinical Chemistry*, 8, (1998): 1758-1759.

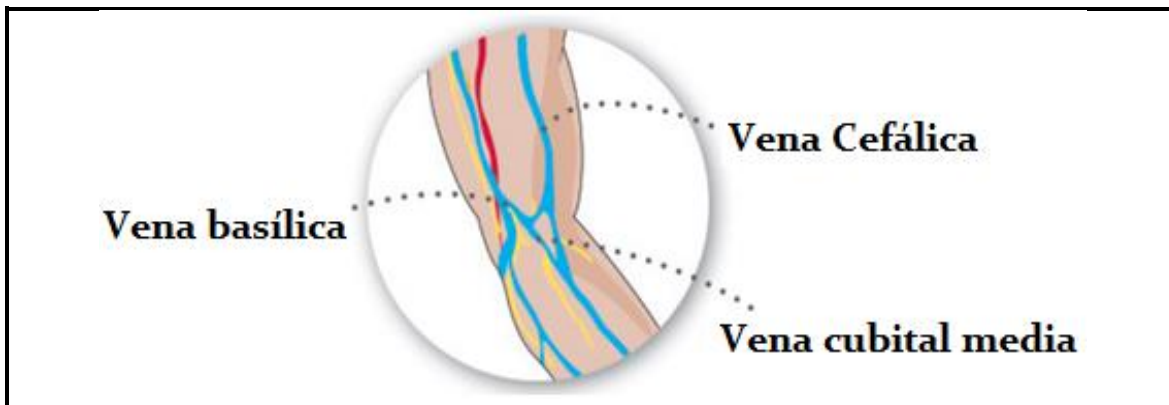
## 21. Anexos

### 22.1 Anexo 1

**Tabla 7.** Diferentes tipos de fármacos que inducen Hiperprolactinemia durante su consumo.

Fármacos						
Antidepresivos	Neurolepticos	Antieméticos	Antihipertensivos	Antihistaminicos	Ansiolíticos	Otros
Tricíclicos	Fenotiazina	Benzamida	Verapamil	Cimetidina	Meprobramato	Morfina
Citalopram	Butirofenona	Drogas	Metildopa	Ranitidina	Clordiacepóxido	Triptófano
Venlafaxine	Tioxanteno	derivadas de	Reserpina		Sulpiride	Anfetaminas
Sertralina	Risperidona	Fenotiazna	Alfametildopa		Tiotixeno	Verapamilo
Fluvoxamine	Veraliprida	Metoclopramida				Anticonceptivos
	Loxapina	Domperidona				orales
	Pimozapina					Verapamilo
	Olanzapina					

## 22.2 Anexo 2



**Figura 6.** Venas importantes para la extracción de sangre que se localizan en la parte anterior del brazo. Tomado del catálogo BD Vacutainer ® México.

## 22.3 Anexo 3

**Esquema 5.** Preparación del Polietilenglicol.

### Reactivo

- ❖ Polietilenglicol
- ❖ Agua Inyectable

### Preparación

Pesar 250 gramos de Polietilenglicol y disolverlo en un Litro de agua inyectable. Mezcla perfectamente hasta que se desintegren el reactivo. Posteriormente cúbrelo con papel paraffin hasta el momento que se ocupe.

**NOTA:** El reactivo se prepara cuando se va a emplear la técnica de Fahie- Wilson.

## 22.4 Anexo 4

### Expediente Clínico

Nombre: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

1. ¿Motivo por el cual solicita sus estudios?

\_\_\_\_\_

2. ¿Edad en la que inicio su periodo menstrual?

\_\_\_\_\_

3. ¿Edad a la que inicio su vida sexual?

\_\_\_\_\_

4. ¿Usted se ha embarazado alguna vez?

Sí \_\_\_\_\_

No \_\_\_\_\_

5. ¿Cuántos embarazos ha tenido?

Uno \_\_\_\_\_

Dos \_\_\_\_\_

Más de dos \_\_\_\_\_

Ninguno \_\_\_\_\_

6. ¿Usted sufrido algún aborto?

Sí \_\_\_\_\_

No \_\_\_\_\_

7. ¿Se encuentra usted embarazada?

Sí \_\_\_\_\_

No \_\_\_\_\_

8. ¿En qué mes gestacional se encuentra?

\_\_\_\_\_

9. ¿Cuántos partos ha tenido?

Uno \_\_\_\_\_

Dos \_\_\_\_\_

Más de dos \_\_\_\_\_

Ninguno \_\_\_\_\_

**10.** ¿Cuál fue su fecha ultima de menstruación?

\_\_\_\_\_

**11.** ¿Toma algún fármaco?

**Sí** \_\_\_\_\_

**No** \_\_\_\_\_

**12.** ¿Cuál?

\_\_\_\_\_

**13.** ¿Se ha realizado una Resonancia magnética o tomografía?

**Sí** \_\_\_\_\_

**No** \_\_\_\_\_

**14.** ¿Utiliza un método anticonceptivo?

**Sí** \_\_\_\_\_

**No** \_\_\_\_\_

**15.** ¿Cuál?

\_\_\_\_\_

**16.** Usted presenta los siguientes síntomas:

a. Alteraciones Menstruales

**Sí**\_\_\_\_ **No**\_\_\_\_

b. Infertilidad

**Sí**\_\_\_\_ **No**\_\_\_\_

c. Galactorrea

**Sí**\_\_\_\_ **No**\_\_\_\_

d. Problemas con la tiroides

**Sí**\_\_\_\_ **No**\_\_\_\_

e. Dolor de cabeza

**Sí**\_\_\_\_ **No**\_\_\_\_

f. Problemas con la visión

**Sí**\_\_\_\_ **No**\_\_\_\_

g. Síntomas menopaúsicos

**Sí**\_\_\_\_ **No**\_\_\_\_

**17.** ¿Sufre algún otro padecimiento diferente por el cual solicita el estudio?

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_