

Zkušenosti se stanovením prolaktinu v Endokrinologickém ústavu

Petra Hoskovicová

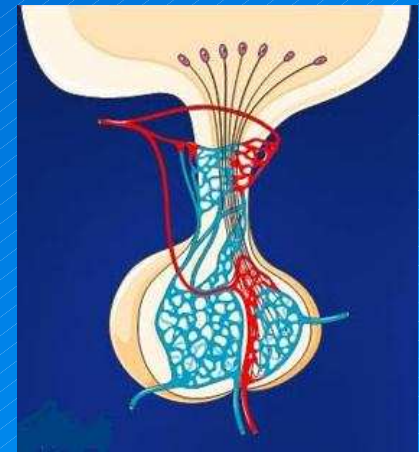
OKBH

EÚ Praha

Prolaktin

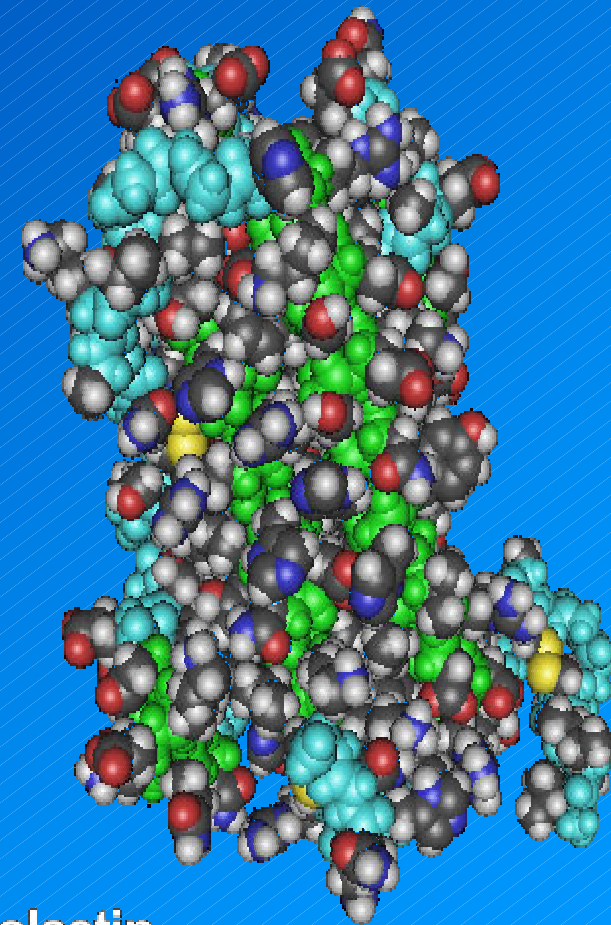
(PRL, luteotropní hormon, laktotropin, mammotropin)

- Somatomammotropní hormon - Spolu s GH (16% identické struktury) a placentárním laktogenem (13% identické struktury)
- Vznik v laktotropních buňkách adenohypofýzy (také lymfocyty, sekreční endometrium, decidua v graviditě, hypotalamus, CNS...)
- Hromadění v granulích buněk o velikosti až 900nm, obsah PRL v hypofýze 150 μg na žlázu - sekrece - pulsatilní
- Regulace :PIF (dopamin), stimulace - VIP, TRH, serotonin...
- Gen pro prolaktin - 6. chromozom



Struktura prolaktinu

- Vlastní prolaktin (198 AK, 23k Da) + signální peptid (30 AK, 5 kDa)
- 3 disulfidické můstky
- V cirkulaci - imunologicky aktivní formy:
 - Monomer (cca 80%)
 - Vázaný na imunoglobuliny krevní plazmy a tvořící dimery (Big - prolactin - < 100 kDa) a polymery (Big-big prolactin > 100 kDa)
 - imunologicky aktivní produkty rozpadu PRL (8 - 16 kDa)



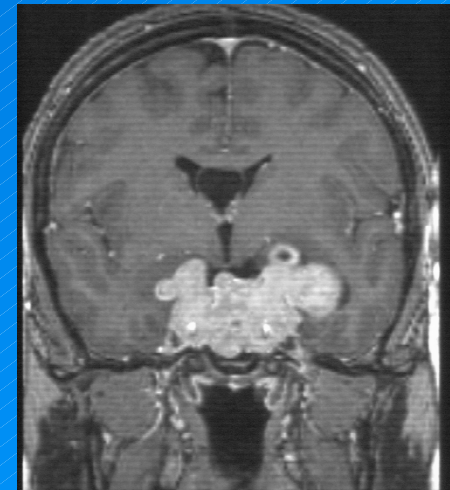
Prolactin

Úloha prolaktinu

- Fylogeneze - osmoregulace (v amniové tekutině 50 000 - 80 000 mIU/l)
- Stimulace růstu prsní žlázy a řízení tvorby mléka v době kojení, tvorba progesteronu ve žlutém tělísku, spermatogeneze
- V CNS - stimulace mateřského chování, snižování úzkosti, zvýšení chuti k jídlu během gravidity a laktace, brzdění pohlavního chování
- Metabolické účinky - zvýšení retence draslíku, fosforu, vylučování kalcia, snížení tolerance pro glukózu, stimulace buněčné imunity
- Fyziologické zvýšení - non-REM spánek, stres, úzkost, hypoglykemie, hypertermie, dráždění prsních bradavek, pohlavní styk

Příčiny nefyziologické hyperprolaktinémie

- Psychofarmaka- antipsychotika I. generace (neuroleptika)
- Prolaktinom, adenomy hypofýzy se smíšenou sekrecí, pseudoprolaktinom
- Lymfocytární hypofyzitida, organické procesy v hypotalamu
- Syndrom polycystických ovarií
- Hypotyreóza, hypertyreóza
- Renální insuficience, jaterní cirhóza,
- Postižení přední stěny hrudní
- Addisonova choroba, idiopatická hyperprolaktinémie

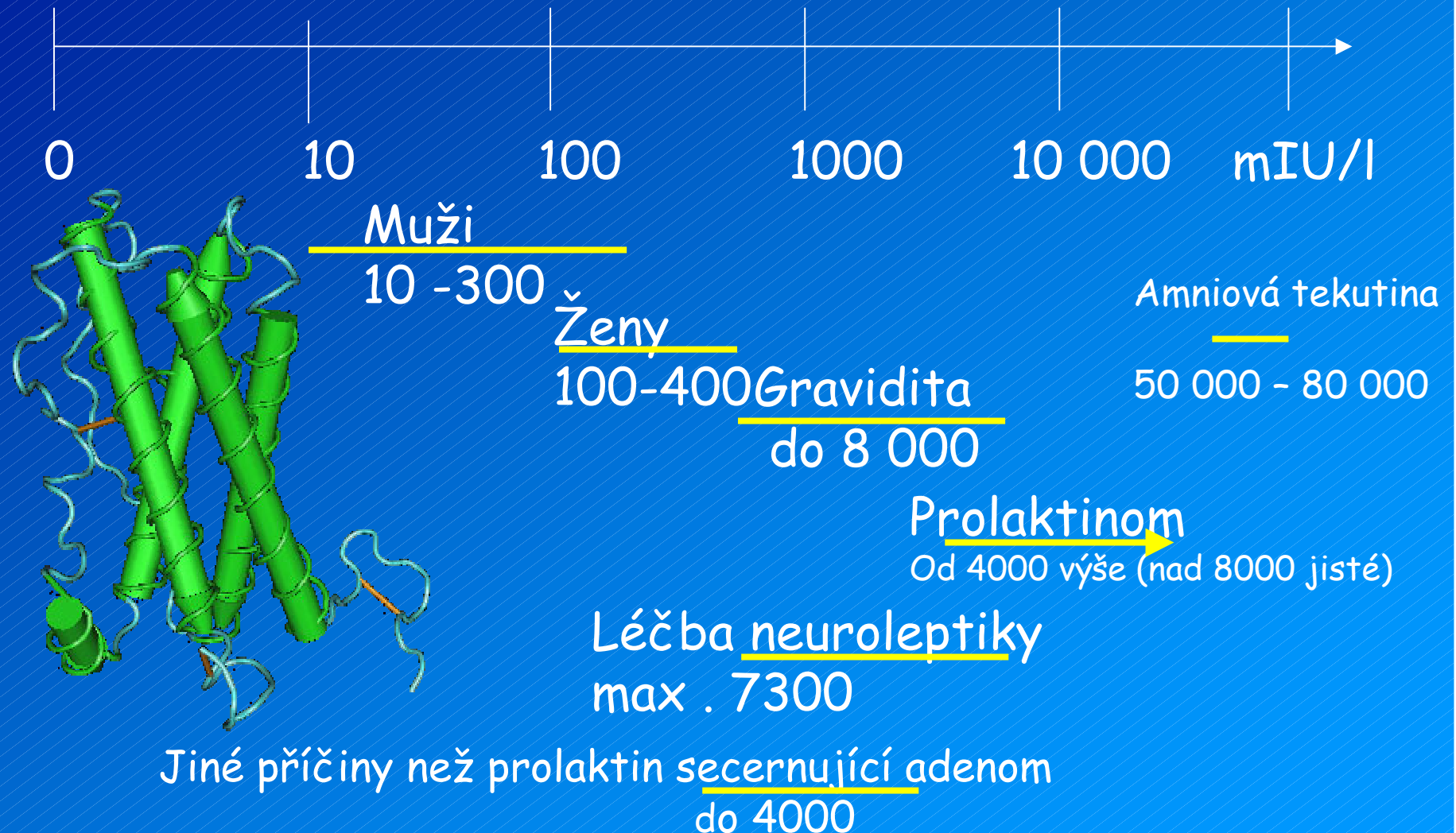


Důsledky hyperprolaktinemie

- Potlačení funkce gonád, gynekomastie, galaktorea
- **Muži** - pokles sekrece testosteronu, pokles konverze testosteronu na dihydrotestosteron - snížení libida, erektilní dysfunkce, zástava vyžívání spermatu,
- **Ženy** - periferní deficit estrogenů - poruchy menstruačního cyklu - oligomenorea, amenorea, atrofický vaginální epitel, anovulační cykly, luteální insuficience, osteoporóza, osteopenie
- **Děti** - retardace až zástava sexuálního vývoje

Hodnoty prolaktinu

Marek J.: Prolaktin a psychofarmakologie. Psychiatrie 2004;8(Supl.2):8-15.



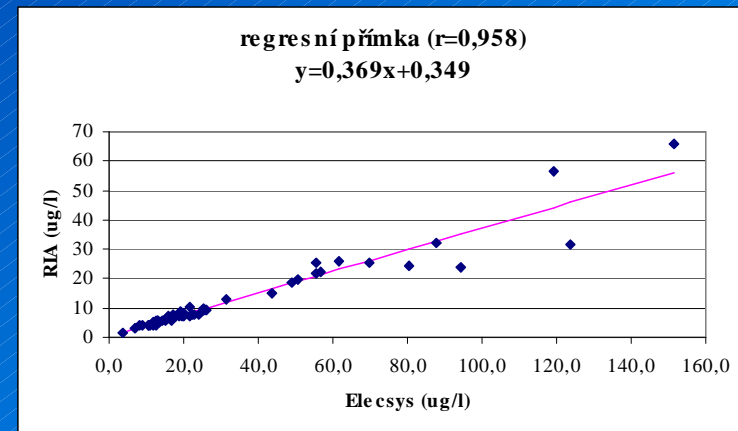
Možnosti stanovení prolaktinu



- Imunochemicky - nejběžnější způsob - radioimunoanalýza, chemiluminiscence, enzymoimunoanalýza
- Komerční kity - různé hmotnosti používaných standardů → různé referenční rozmezí v $\mu\text{g/l}$
- Nutnost kalibrace na **mezinárodní standard WHO 84/500** - udávaný v mIU/l - nutný přepočít
- Další odlišnosti souprav - různý **záchyt makroprolaktinových složek** v celkovém výsledku měření - nutnost vymezení % makroprolaktinu
(gelová chromatografie, ultrafiltrace nebo precipitace s polyethylenglykolem (PEG))

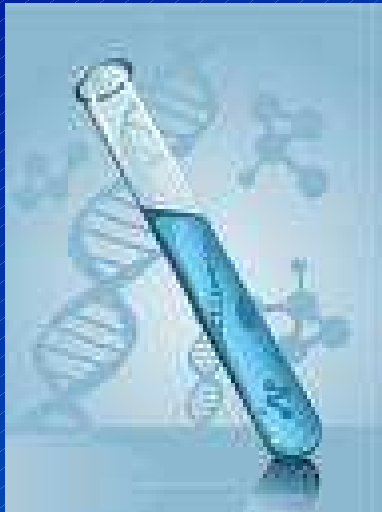
Vyšetřování prolaktinu v Endokrinologickém ústavu

- Původní souprava - manuální IRMA s potahovanými zkumavkami (Immunotech) - do r. 2004
- Elecsys Prolactin (2004 - 2006) analyzátor Modular E170



Elecsys Prolactin II (od r. 2006)
sendvičový princip: 2 myší monoklonální
protilátky proti dvěma různým epitopům
lidského prolaktinu
návaznost na WHO 84/500
rozsah metody 1 - 10 000 mIU/l (0,047 -
470 ng/ml)
Hook efekt - nad 270 000 mIU/l
Ředění 1:10 Diluent Universal

Stanovení podílu makroprolaktinu metodika



- Stanovení prolaktinu v séru - hodnota I.
- srážení séra 25% roztokem PEG 6000 v fosfátovém pufru o pH 7,4.
- Směs v podílu 1:1 (300 μ l séra + 300 μ l 25% PEG) protřepat na vortexu 1 minutu, inkubace 10 minut při laboratorní teplotě a následná centrifugace při 3000g 30 minut
- V supernatantu opět stanovení prolaktinu - hodnota II.
- Recovery (% původního stanovení):
 - < 30 % - výsledek ovlivněn přítomností makroprolaktinu
 - 30 - 65 % - Nejednoznačné výsledky - nelze přesně určit vliv makroprolaktinu na výsledek vyšetření
 - > 65 % - V naměřeném výsledku je predominantní monomerní složka prolaktinu



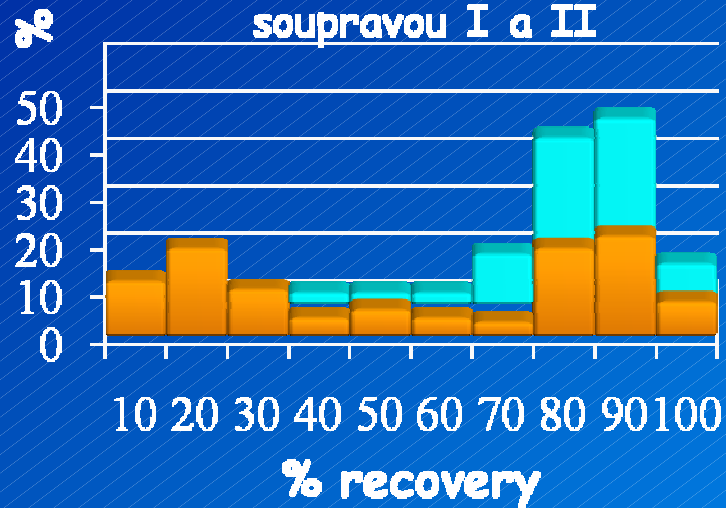
Escobar-Morreale H.F.: Macroprolactinemia in women presenting with hyperandrogenic symptoms: implications for the management of polycystic ovary syndrome.. *Fertil. Steril.* 82(6): 1697-1699, 2004.

Porovnání soupravy Elecsys Prolactin a Elecsys Prolactin II z hlediska záchytu makroprolaktinu

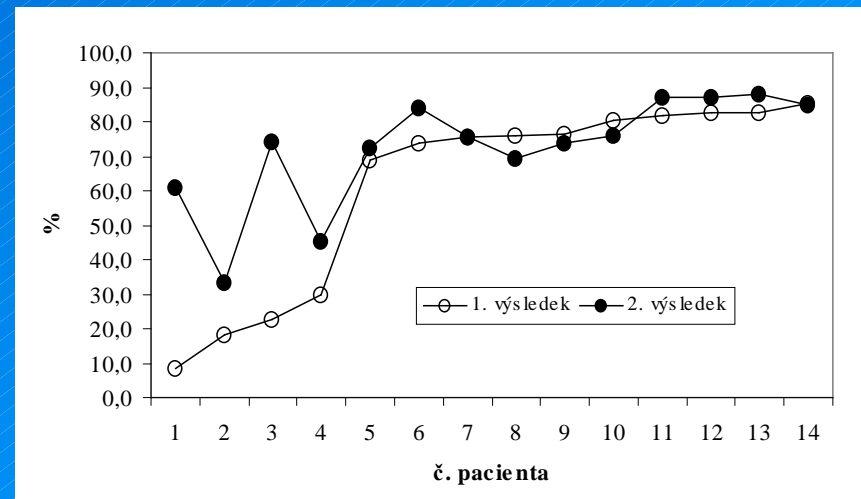
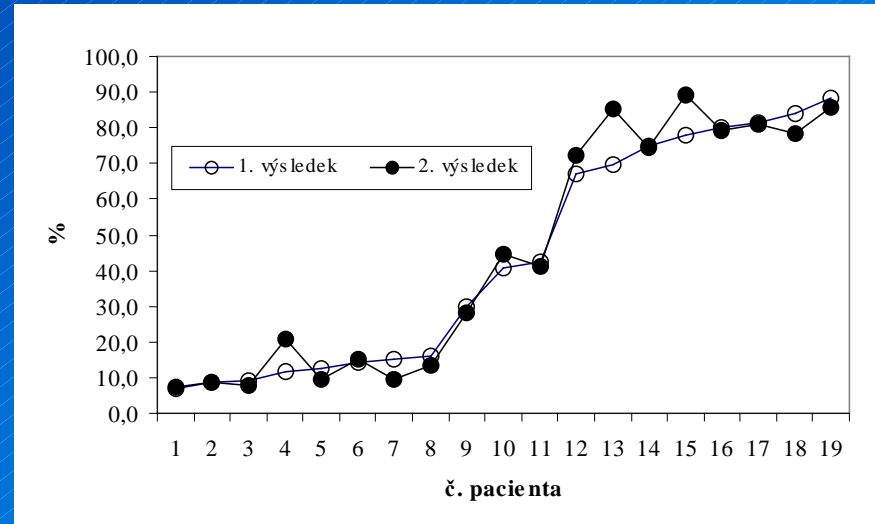
		Elecsys Prolactin	Elecsys Prolactin II
Referenční rozmezí (ng/ml)	Muži	4,6 - 21,4	4,1 - 15,3
	Ženy	6,0 - 29,9	4,8 - 23,4
Celkový počet vyšetření		948	782
Průměr (ng/ml)		30,1	19,2
Směrodatná odchylka		46,2	22,9
Medián		17,7	13,2
Minimum		0,70	0,2
Maximum		639,3	228,5
Výsledky > horní referenční mez		249	182
<i>% z celkového počtu vyšetření</i>		26	23
Výsledky > 50 ng/ml		116	48
<i>% z celkového počtu vyšetření</i>		12,2	6,3
Výsledky s převahou makroprolaktinu		38,8 %	0 %
Nejednoznačné výsledky		12,1 %	14,3%
Výsledky bez makroprolaktinu		49,1 %	85,7 %

Porovnání soupravy Elecsys Prolactin a Elecsys Prolactin II z hlediska záchytu makroprolaktinu

Porovnání recovery u vzorků nad 50 ng/ml stanovených soupravou I a II



Dvě následná vyšetření totožných pacientů:
obě vyšetření soupravou I
Druhé vyšetření již soupravou II

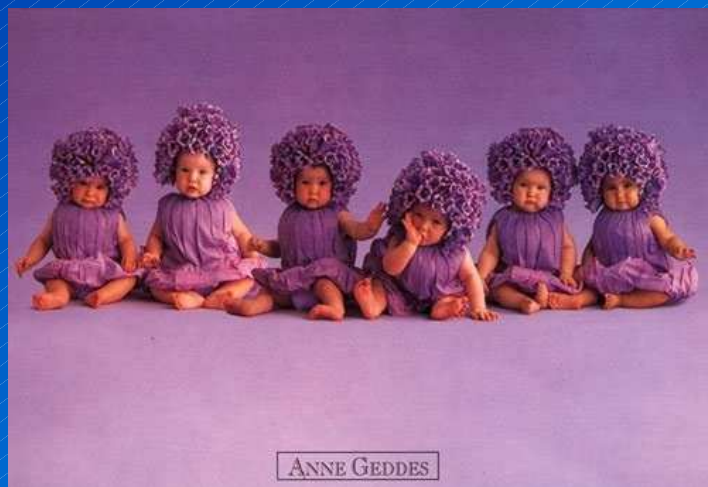


Statistika vyšetření v letech 2008-2009

Vyšetření PRL v letech 2008-2009	Muži		Ženy	
	počet	%	počet	%
pod referenční mez	22	4,53	125	4,95
v normě	353	72,01	1822	72,22
nad referenční mez	114	23,46	576	22,83



Vybrané patologické výsledky



	ng/ml	n	průměr	minimum	maximum
gravidita 1. trimestr		12	42,5	29,2	75,9
gravidita 2. trimestr		18	144,7	67,5	305,6
gravidita 3. trimestr		13	205,9	97,7	407,0
kojení		10	94,6	62,2	150,9
psychofarmaky induk. prolaktinemie		19	89,0	27,2	168,4
stres		17	32,5	24,9	51,2
poruchy štítné žlázy		27	31,2	18,5	76,2

Multiaxiální test

Indikace: Hypopituitarismus

Testovací látky: insulin Actrapid HM U100 O,1IU/kg i.v.

LH-RH (100ug) 1 amp i.v.

TRH relefact 200 1 amp i.v.

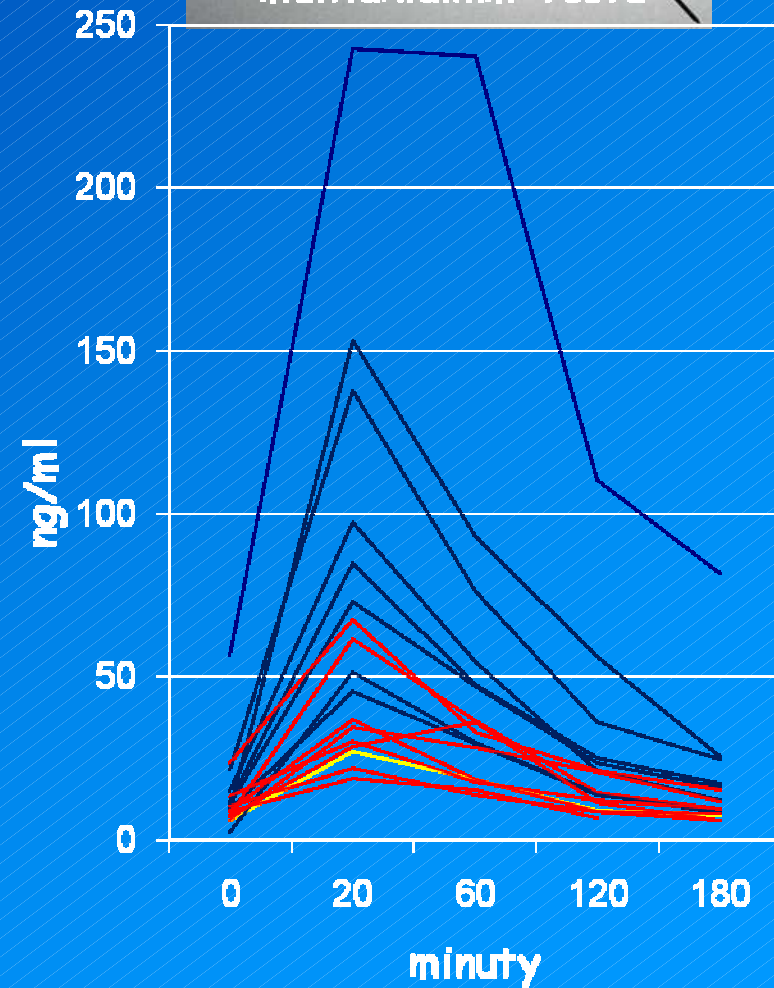
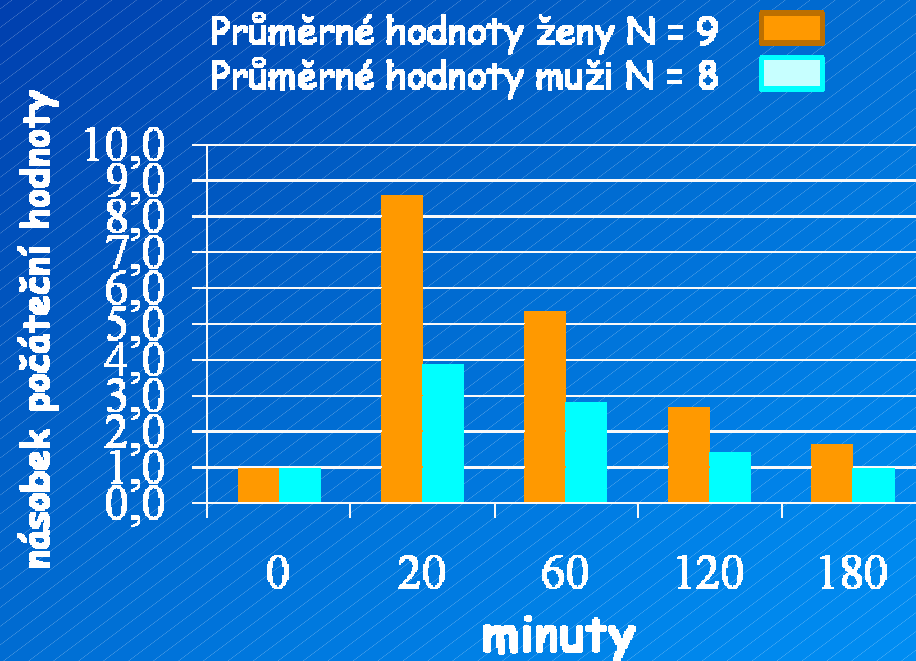
Odběry: 0,20, 60,120,180 min: glykemie, prolaktin,

STH, kortizol,

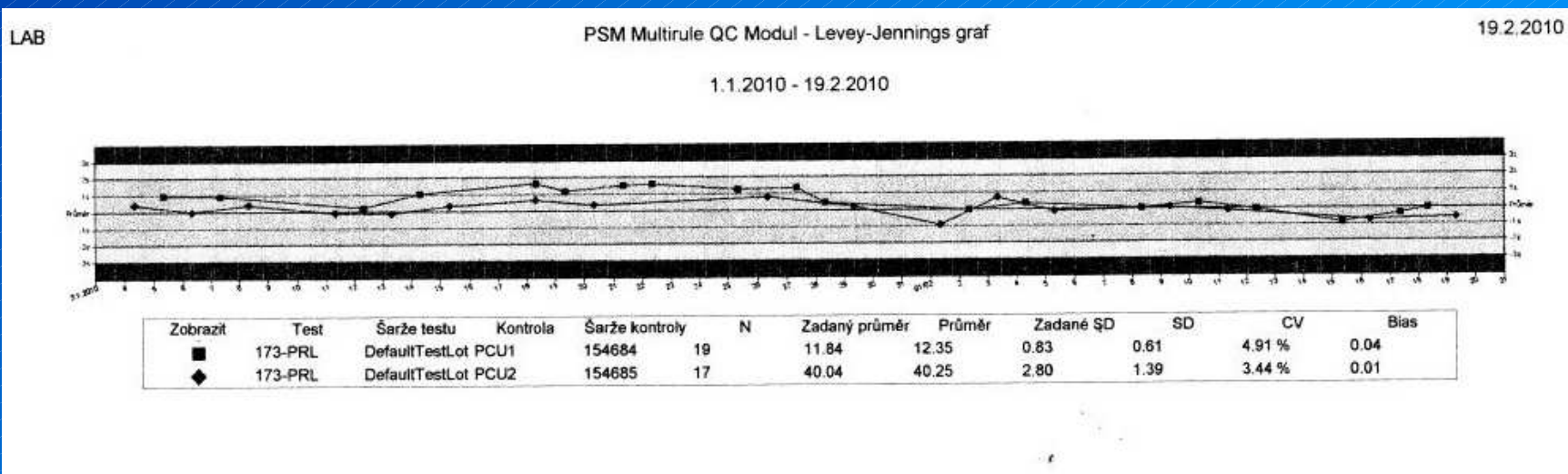
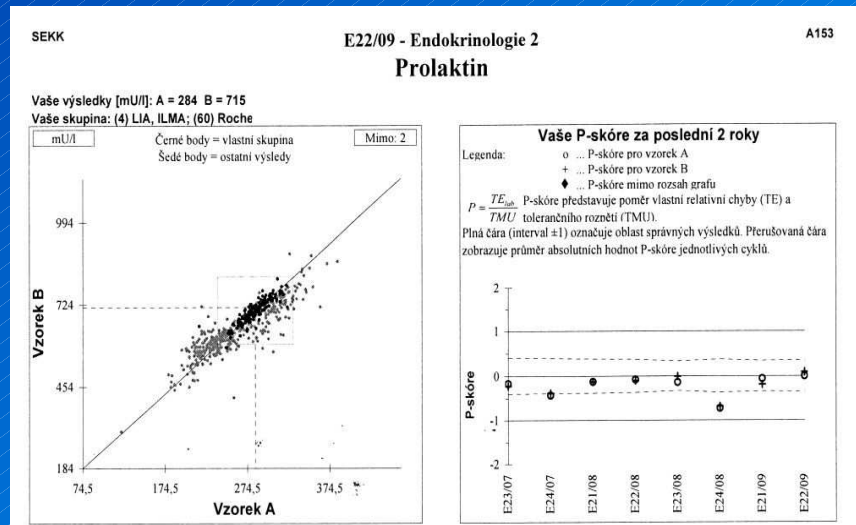
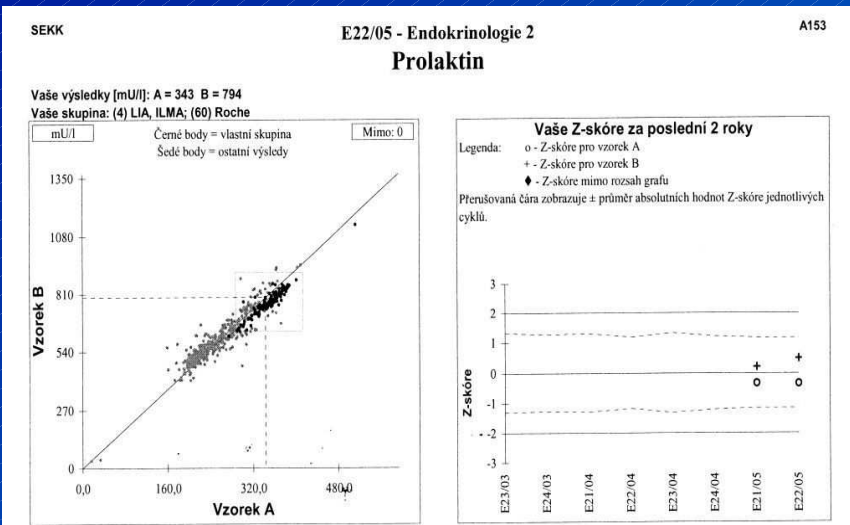
LH,FSH, TSH , fT4,T3 , ACTH , testosteron,

estradiol, progesteron

Hodnocení: jednotlivé osy podle jednotlivých testů



Kontrola kvality



Děkuji za



pozornost