

Е. Е. Макаровская, И. А. Иловайская, А. В. Мартынов, Е. И. Марова, Г. А. Мельниченко, А. А. Булатов

КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКАЯ КОРРЕЛЯЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕОБЛАДАНИЕМ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ПРОЛАКТИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ¹

Эндокринологический научный центр (дир. — акад. РАМН И. И. Дедов)
РАМН, кафедра эндокринологии (зав. — акад. РАМН И. И. Дедов) ММА им. И. М. Сеченова

Для пролактина (ПРЛ), как и для некоторых других гипофизарных гормонов, свойствен молекулярный полиморфизм. Этот гормон присутствует в гипофизе и циркулирует в крови в виде нескольких молекулярных форм, различающихся массой и зарядом [1, 3, 11]. Соотношение отдельных форм под влиянием различных физиологических и фармакологических воздействий способно изменяться [1, 6].

Методом гель-фильтрации ПРЛ сыворотка крови разделяется на три основные формы с мол. м. 23, 50 и более 100 кД (23К-, 50К- и 100К-ПРЛ). Показано, что наиболее типичным является соотношение формы ПРЛ с преобладанием низкомолекулярной 23К-формы гормона, доля которой составляет 60-90% от общего количества иммунореактивного ПРЛ [5, 10, 11]. Подобная биохимическая картина описана у здоровых женщин, в условиях физиологической гиперпролактинемии при беременности и у пациентов с классическим течением синдрома персистирующей галактореи-аменореи [1-4]. Вместе с тем у отдельных больных с гиперпролактинемией соотношение форм ПРЛ с высокой и низкой молекулярной массой может быть прямо противоположным: преобладающей формой может являться высокомолекулярный 100К-ПРЛ, доля которого достигает 90% [3, 6, 8]. Однако клиническая симптоматика подобных состояний определена недостаточно четко, роль высокомолекулярного ПРЛ в формировании картины заболевания остается малоизученной. Неизвестна и частота встречаемости этого феномена, что связано со сложностью анализа соотношения различных форм ПРЛ в сыворотке крови.

Целью настоящей работы явилось исследование соотношения форм иммунореактивного ПРЛ с низкой и высокой молекулярной массой у значительной группы пациенток с гиперпролактинемией различного генеза, а также с нормопролактинемической галактореей для установления частоты встречаемости высокомолекулярного ПРЛ как доминирующей формы в сыворотке крови, изучения особенностей клинической картины у пациенток с преобладанием высокомолекулярного ПРЛ, а также выявления путем длительного динамического наблюдения за пациентками возможных корреляций между содержанием высокомолекулярного ПРЛ и клинической симптоматикой.

Материалы и методы

Обследованы 44 женщины в возрасте от 19 до 36 лет: 32 — с гиперпролактинемией различного происхождения (у 13 —

микропролактиномы, у 7 — макропролактиномы, у 9 — идиопатическая гиперпролактинемия, у 3 — синдром "пустого" турецкого седла) и 12 с нормо-пролактинемической галактореей. У 26 пациенток наблюдались различные нарушения менструального цикла: у 16 — аменорея, у 10 — опсоменорея. 18 женщин предъявляли жалобы на бесплодие. Галакторея разной степени была обнаружена у 39 пациенток. Состояние турецкого седла оценивалось при проведении рентгеновской компьютерной томографии (КТ) с использованием аппарата "Somatom" (фирма "Somatom", ФРГ) и/или магнитно-резонансной томографии (МРТ) на аппарате BNT-1000 (фирма "Bruker", ФРГ).

У всех больных в сыворотке крови измеряли уровень общего иммунореактивного ПРЛ и относительное содержание его низко- и высокомолекулярных форм. Для упрощения определения соотношения этих форм иммунореактивного гормона в лаборатории белковых гормонов ЭНЦ был разработан специальный способ, основанный на осаждении высокомолекулярных белков сыворотки крови, в том числе и высокомолекулярного ПРЛ, в присутствии полиэтиленгликоля (ПЭГ-6000). Сыворотку крови инкубировали с равным объемом 25% раствора ПЭГ-6000 в течение 1 ч при 4°C с последующим центрифугированием в течение 15 мин при скорости 3000 об/мин. В надосадочной жидкости определяли концентрацию неосажденного низкомолекулярного ПРЛ. О доле высокомолекулярного ПРЛ судили по разнице содержания иммунореактивного ПРЛ в цельной сыворотке и надосадочной жидкости, которое измеряли иммунорадиометрическим методом с помощью набора ELSA-PROL ("CIS bio International", Франция).

У 17 пациенток соотношение форм ПРЛ было также исследовано с помощью традиционного метода гель-фильтрации [3]. При этом фракционирование иммунореактивного ПРЛ по величине молекулярной массы проводили на колонке с сефадексом G-100 ("Pharmacia", Швеция) размером 1,6 × 100 см в 0,1 М аммоний-бикарбонатном буферном растворе pH 8,4. С колонки собирали фракции объемом 2 мл и в каждой определяли содержание ПРЛ радиоиммунологическим методом. Фракции элюата, соответствующие пикам иммунореактивного ПРЛ, объединяли, лиофилизировали и после растворения в небольшом объеме буферного раствора определяли суммарное количество иммунореактивного ПРЛ в каждой фракции. Концентрацию ПРЛ при гель-фильтрации сыворотки крови определяли с помощью реагентов, поставляемых ВОЗ, либо полученных в лаборатории и откалиброванных по соответствующей тест-системе ВОЗ. Долю отдельных форм гормона выражали в процентах от суммарного количества.

Результаты и их обсуждение

Изучение содержания отдельных молекулярных форм ПРЛ в сыворотке крови пациентов с различными эндокринными нарушениями является достаточно сложной задачей, что обусловлено трудоемкостью и высокой стоимостью применяющегося для этого способа, основанного на гель-фильтрации сыворотки крови с последующим определением содержания иммунореактивного ПРЛ в большом числе фракций элюата. В связи с этим был разработан более быстрый способ разделения форм ПРЛ с высокой и низкой молекулярной массой, основанный на осаждении высокомолекулярного ПРЛ с помощью ПЭГ-6000 с последующим измерением оставшегося в растворе низкомолекулярного ПРЛ иммунорадиометрическим методом. В данном случае радиоиммунологический метод определения

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований. Проект 94-04-13147.

Таблица 1

Относительное содержание низкомолекулярного ПРЛ (в %) в сыворотке крови пациентов по данным метода осаждения ПЭГ-6000 (I) и гель-фильтрации (II)

Больная	Уровень общего иммуно-реактивного ПРЛ, мЕД/л	Метод	
		I	II
А	116 000	92	74
Б	11 122	21	25
В	11 000	48	71
Г	10 774	42	66
Д	6 543	11	9
Е	1 804	9	7
Ж	1 217	45	73
З	1 200	21	9
И	1 162	48	31
К	1 110	63	94
Л	952	11	14
М	639	20	4
Н	542	43	86
О	492	82	77
П	460	10	33
Р	388	52	41
С	147	33	79

ПРЛ, в котором осаждение иммунного комплекса антиген—антитело осуществляется методом “двойных антител” в присутствии ПЭГ-6000, не может быть использован. Разработанный способ по сравнению с фракционированием иммунореактивного ПРЛ сыворотки крови гель-фильтрацией обладает меньшей разрешающей способностью в разведении белков с различной молекулярной массой. Он разделяет иммунореактивный ПРЛ только на высоко- и низкомолекулярный. Вместе с тем этот метод является более быстрым, существенно менее трудоемким и требует проведения во много раз меньшего количества определений иммунореактивного ПРЛ. Позволяя сделать достоверное заключение о явном преобладании высокомолекулярных форм ПРЛ в исследуемых сыворотках крови, он может быть использован для обследования значительных групп пациентов и дает возможность отбора лиц с преобладанием высокомолекулярного ПРЛ в крови для более детального клинического обследования и изучения форм гормона.

В табл. 1 приведены данные определения процентного содержания низкомолекулярного ПРЛ в сыворотках крови у 17 пациенток с различным содержанием общего иммунореактивного ПРЛ двумя способами — по осаждению ПЭГ-6000 и гель-фильтрации. Результаты, полученные двумя способами, принципиально не различались. При использовании быстрого способа с осаждением ПЭГ критерием достоверного количественного преобладания высокомолекулярного ПРЛ над низкомолекулярным была принята детекция надосадочной жидкости менее 30% от общего содержания иммунореактивного ПРЛ в сыворотке крови, т.е. относительное содержание высокомолекулярного ПРЛ более 70%.

Изучение таким способом соотношения форм ПРЛ у 44 пациенток с различными формами гиперпролактинемии и нормопролактинемической галактореи показало, что в сыворотке крови у большинства обследованных женщин преобладающей циркулирующей формой гормона являлся низкомолекулярный ПРЛ, содержание которого варьировало от 42 до 95% от уровня общего иммунореактивного гормона крови. Однако в сыво-

ротке крови у 11 из них доля низкомолекулярного ПРЛ составляла от 9 до 21%, что свидетельствовало о явном преобладании высокомолекулярной формы гормона.

Таким образом, установлено, что у женщин с гипер- и нормопролактинемией, сочетающейся с различной клинической симптоматикой, преобладание высокомолекулярного ПРЛ встречается не так редко, в данной выборке такие пациенты составили 25%. Эта группа представляла интерес с точки зрения уточнения особенностей клинической симптоматики и выяснения возможных клинико-биохимических взаимосвязей. Пациентки с выявленным преобладанием высокомолекулярного ПРЛ в сыворотке крови были тщательно обследованы, их подробная клиническая характеристика представлена в табл. 2.

Содержание общего иммунореактивного ПРЛ в сыворотке крови и клиническая симптоматика, наблюдаемая у данной группы пациенток, весьма разнообразны. Основную часть составляли женщины с умеренной гиперпролактинемией (пациентки № 1-7). Из них две (№ 1 и 2) предъявляли жалобы только на небольшие выделения из молочных желез. При специальном обследовании признаков нарушения функции репродуктивной сферы у них отмечено не было. У других пациенток с невысокой гиперпролактинемией основной жалобой являлось бесплодие на фоне регулярно-менструального цикла (№ 3-5) или опсоменореи (№ 6 и 7).

У больных № 4 и 5 при обследовании была выявлена микроаденома гипофиза. Однако, учитывая невысокую гиперпролактинемия у этих пациенток, сохранную регулярность менструального цикла, а также результаты фармакодинамического теста с метаклопрамидом (относительный прирост уровня общего иммунореактивного ПРЛ в 6-7 раз), нельзя с уверенностью утверждать, что эти опухоли являются пролактиномами, а не гормонально-неактивными аденомами гипофиза, можно лишь констатировать сочетание микроаденомы и гиперпролактинемии с преобладанием высокомолекулярного ПРЛ.

У пациентки № 8 содержание общего иммунореактивного ПРЛ в сыворотке крови было в пределах нормальных величин. Поводом к определению уровня ПРЛ послужила галакторея. У этой больной отмечались нарушения менструального цикла, однако наблюдаемые симптомы соответствовали синдрому склерокистозных яичников (диагноз был поставлен на основании клинко-гормонального обследования, данных эхографического исследования гениталий и результатов лапароскопии). У 3 больных с гиперпролактинемией опухолевого генеза (№ 9, 10 — микропролактинома и № 11 — макропролактинома) наблюдалась типичная картина синдрома персистирующей галактореи-аменореи.

Следует отметить, что большинство имеющих в литературе сведений о преобладании доли высокомолекулярного ПРЛ в крови касалось обследования отдельных пациенток или незначительных групп пациенток с умеренной гиперпролактинемией, которые клинически характеризовались отсутствием нарушений менструального цикла и сохранной фертильностью [3, 5, 6], хотя имелись единичные сообщения о наличии высокомолекулярного ПРЛ при опухоли гипофиза [8].

Клиническая характеристика пациенток с преобладанием высокомолекулярного ПРЛ в сыворотке крови

№ больной	Возраст, годы	Состояние менструального цикла	Фертильность	Галактория	Данные КТ, МРТ	Данные УЗИ генииталий	Уровень иммунореактивного ПРЛ	
							общий, мЕД/л	высокомолекулярный, %
1	23	Регулярный, двухфазный	N	+	Норма	Без патологических изменений	3 055	91 (92)
2	20	То же	Неизвестна*	+		То же	890	93
3	32		Бесплодие I степени	+			2 031	78
4	32		Бесплодие II степени	+	Микроаденома	Воспаление придатков	1 544	89 (80)
5	33	Регулярный, монофазный	Бесплодие I степени	Нет		Нет данных	1 260	79 (55)
6	27	Опсоменорея	То же	+	Норма	Без патологических изменений	4 381	90 (52)
7	29		Бесплодие II степени	++		Воспаление придатков, киста яичника	1 062	89 (86)
8	27		Неизвестна*	++	Повышение внутричерепного давления	Склерокистоз яичников	460	80 (84)
9	32	Аменорея	Неизвестна*	++	Микроаденома	Гипогонадизм	10 861	74
10	35		Неизвестна*	++	Микроаденома, повышение внутричерепного давления	Мелкокистозные изменения яичников, воспаление придатков	17 856	79 (65)
11	36		Бесплодие II степени	+++	Макроаденома	Гипогонадизм	28 600	84

Примечание. Звездочка — женщина не заинтересована в беременности или не живет половой жизнью; результаты определения содержания высокомолекулярного ПРЛ методом осаждения ПЭГ-6000 приведены без скобок, методом гелефильтрации — в скобках.

Результаты проведенного нами исследования показали, что клинические проявления, наблюдавшиеся у обследованных женщин, характеризуются значительной гетерогенностью. Гиперпролактинемия с преобладанием высокомолекулярного ПРЛ обнаруживается, во-первых, у пациенток с галактореей небольшой степени на фоне нормального менструального цикла и фертильности. При этом гипофиз интактен и не наблюдается сопутствующей гинекологической патологии. Во-вторых, она может быть у пациенток с галактореей и/или нарушениями менструального цикла (ановуляторными менструальными циклами, опсоменореей), бесплодием в сочетании с аденомой гипофиза, либо на фоне разнообразных изменений органов малого таза (воспаление придатков, синдром склерокистозных яичников). В-третьих, она наблюдается при ПРЛ-секретирующих аденомах гипофиза с типичным синдромом персистирующей галактореи-аменореи.

Основным признаком, по которому пациентки были выделены нами в особую группу, был биохимический феномен — необычное соотношение молекулярных форм иммунореактивного ПРЛ с преобладанием его высокомолекулярного варианта. Нами установлено, однако, что такое соотношение форм ПРЛ может быть при самой разной клинической симптоматике и при разном уровне общего иммунореактивного ПРЛ в крови (от 315 до 28 000 мЕД/л).

Обсуждая роль высокомолекулярного ПРЛ в формировании клинической картины заболевания, необходимо отметить, что, по данным литературы, эта форма ПРЛ обладает сниженной биологической активностью и меньшим сродством к рецепторам по сравнению с 23К-формой [9]. Именно с низкомолекулярным ПРЛ связывают основную биологическую активность ПРЛ в сыворотке крови. Из обследованных нами больных с преобладанием высокомолекулярного ПРЛ в

крови клиническая картина классического синдрома персистирующей галактореи-аменореи наблюдалась только у пациенток с пролактиномами. Именно в этих случаях повышение уровня общего иммунореактивного ПРЛ в крови было настолько значительным, что абсолютное содержание низкомолекулярной формы гормона существенно превосходило нормальные показатели. У остальных женщин абсолютное содержание 23К-ПРЛ практически не выходило за пределы нормальных величин. При внимательном сборе анамнеза заболевания и тщательном лабораторно-инструментальном обследовании оказалось, что нарушения менструального цикла или фертильности у части больных с умеренной гиперпролактинемией и преобладанием высокомолекулярного ПРЛ можно было связать с сопутствующей гинекологической патологией (искусственное прерывание беременности, осложненное эндометритом в анамнезе; хронические воспалительные заболевания органов малого таза, киста яичника, синдром склерокистозных яичников). Вероятно, избыток высокомолекулярного ПРЛ не оказывает непосредственного повреждающего влияния на функцию репродуктивной системы. Дополнительным свидетельством в пользу этого предположения может являться тот факт, что у женщин с преобладающим содержанием высокомолекулярной формы гормона, но без отягощенного гинекологического анамнеза сохранены регулярность менструального цикла и способность к зачатию.

У 1 женщины с нормальным менструальным циклом и сохранной фертильностью (пациентка № 1) за время наблюдения наступила беременность. Больной с макропролактиномой (№ 11) было рекомендовано оперативное лечение. Остальным пациенткам с жалобами на нарушения менструального цикла и/или бесплодие было назначено лечение парлоделом в дозе от 2 до 4 таблеток в сутки. Исследование форм ПРЛ у

этих больных показало, что прием парлодела существенно не влиял на их соотношение независимо от изменения уровня общего иммунореактивного ПРЛ.

На фоне проводимого лечения 3 больные забеременели (№ 4 и 6 — через 2 нед и № 3 через 6 мес от начала лечения). У 1 пациентки (№ 7) лечение было отменено в виду плохой переносимости парлодела и его аналогов, впоследствии у нее беременность наступила спонтанно. Во всех случаях наступление беременности происходило на фоне сохранения преобладания высокомолекулярной формы гормона в крови. Примечательно, что у 1 пациентки (№ 5) наблюдалась парадоксальная реакция на лечение парлоделом — увеличение уровня общего иммунореактивного ПРЛ в 2-3 раза, при этом доля высокомолекулярной формы ПРЛ не изменилась.

При динамическом наблюдении пациенток № 1 и 4 до беременности и через 1 год после родов оказалось, что существенного изменения соотношения форм ПРЛ у них не происходило. Доля высокомолекулярного ПРЛ составляла 80% до беременности и 86% через 1 год после нее. Таким образом, достоверной связи между восстановлением фертильности и изменением соотношения форм ПРЛ с низкой и высокой молекулярной массой у женщин с гиперпролактинемией и преобладанием высокомолекулярной формы гормона не выявлено.

Результаты проведенного нами исследования свидетельствуют о том, что преобладание в сыворотке крови иммунореактивного ПРЛ с высокой молекулярной массой представляет собой не столь редкое явление. Природа, физиологическое и патофизиологическое значение этой фракции иммунореактивного гормона пока неясны. Нельзя исключить, что она представлена в основном каким-то другим белком, обладающим иммунореактивностью ПРЛ, например, иммуноглобулином. В крови человека найден подобный иммуноглобулин с иммунореактивностью гормона роста [7]. Полученные данные указывают на то, что у пациенток с преобладанием высокомолекулярного ПРЛ в сыворотке крови для оценки истинного уровня ПРЛ и его изменений необходимо определять содержание не только общего иммунореактивного гормона, но и его форм с различной молекулярной массой.

Выводы

1. Разработан ускоренный способ определения соотношения форм иммунореактивного ПРЛ с высокой и низкой молекулярной массой в сыворотке крови, позволяющий проводить обследование значительных групп пациентов.

2. С помощью разработанного способа определения соотношения молекулярных форм ПРЛ в сыворотке крови установлено, что в группе из 44 женщин с гиперпролактинемией различного происхождения, в том числе опухолевого, а также нормопролактинемической галактореей у 25% обследованных содержание высокомолекулярного ПРЛ существенно преобладает над содержанием низкомолекулярной формы ПРЛ.

3. Высокомолекулярный ПРЛ в сыворотке крови может быть преобладающей формой иммунореактивного гормона независимо от происхождения, клинической картины заболевания и уровня общего иммунореактивного ПРЛ.

4. Клинические симптомы, наблюдаемые у пациенток с гиперпролактинемией и преобладанием высокомолекулярного иммунореактивного ПРЛ, характеризуются гетерогенностью и обусловлены главным образом формой заболевания (опухоль гипофиза, синдром склероктиозных яичников, воспалительные заболевания органов малого таза и т.д.). При умеренной гиперпролактинемии с преобладанием высокомолекулярного ПРЛ симптомы гипогонадизма и выраженной галактореи нехарактерны. Однако преобладание иммунореактивного ПРЛ с высокой молекулярной массой в сыворотке крови при высоком уровне гиперпролактинемии, обусловленной ПРЛ-секретирующей опухолью гипофиза, может сочетаться с типичной клинической картиной персистирующей галактореи-аменореи.

5. При динамическом наблюдении высокомолекулярная форма ПРЛ может оставаться доминирующей независимо от течения заболевания, уровня пролактинемии и наступления беременности и родов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Булатов А. А. // Пробл. эндокринолог. — 1990. — № 4. — С. 30-35.
2. Булатов А. А., Макаровская Е. Е., Сеганова М. И. // Там же. — 1991. — № 3. — С. 23-25.
3. Булатов А. А., Макаровская Е. Е., Дзеранова Л. К. и др. // Там же. — 1992. — № 6. — С. 13-16.
4. Мельниченко Г. А. Гиперпролактинемический гипогонадизм (классификация, клиника, лечение): Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1990.
5. Benker G., Jaspers C., Hausler G., Reinwein D. // Klin. Wschr. — 1990. — Bd 68, N 23. — S. 1157-1167.
6. Bjoro T., Johansen E., Frey H. H. et al. // Acta endocr. (Kbh.). — 1993. — Vol. 128. — P. 308-312.
7. Campino C., Szczerwka J., Michelsen H., Seron-Ferre M. // J. clin. Endocr. Metab. — 1989. — Vol. 70, N 3. — P. 601-605.
8. Fang V.S., Refetoff S. // J. clin. Endocr. Metab. — 1978. — Vol. 47, N 4. — P. 780-787.
9. Fraser I. S., Zhuang Guang Lun // Obstet. Gynec. Surv. — 1990. — Vol. 45, N 8. — P. 515-520.
10. Sarapura V., Schlaff W. D. // Curr. Opin. Obstet. Gynec. — 1993. — Vol. 5, N 3. — P. 360-367.
11. Smith C. R., Norman M.R. // Ann. Clin. Biochem. — 1990. — Vol. 27. — Pt. 6. — P. 542-550.

Поступила 08.06.94

Ye. Ye. Makarovskaya, I. A. Ilovaiskaya, A. V. Martynov, Ye. I. Marova, G. A. Melnichenko, A. A. Bulatov — CLINICOBIOCHEMICAL CORRELATIONS IN PATIENTS WITH THE PREDOMINANCE OF HIGH-MOLECULAR PROLACTIN IN THE BLOOD SERUM

Summary. A new rapid method for assessment of the ratio of immunoreactive prolactin forms with high and low molecular mass has been developed, which permits screening of large groups of patients. It was used in examinations of 44 women with hyperprolactinemia of various origin and with normoprolactinemic galactorrhea. High-molecular immunoreactive prolactin predominated in the blood serum of 25% of patients. This predominance did not depend on the origin of hyperprolactinemia, clinical picture of the disease, or level of total immunoreactive prolactin in the blood. Heterogenous clinical symptoms of the disease were characteristic of these patients; a typical symptom complex was absent in moderate hyperprolactinemia, whereas in patients with manifest hyperprolactinemia of a tumorous origin a classical clinical picture of persistent galactorrhea-amenorrhea was observed. A follow-up showed the predominance of high-molecular prolactin irrespective of the changes in the level of total immunoreactive prolactin in the blood, disease course, onset of pregnancy and labor.