



1993
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı

HİPERPROLAKTİNEMİK OLGULARDA PROLAKTİN-
MAKROPROLAKTİN VE ADP İLE İNDÜKLENMİŞ TROMBOSİT
AKTİVASYONU İLİŞKİSİ

YANDAL UZMANLIK TEZİ

Uz. Dr. İnan ANAFOROĞLU

Ankara, 2007



**1993
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı**

**HİPERPROLAKTİNEMİK OLGULARDA PROLAKTİN-
MAKROPROLAKTİN VE ADP İLE İNDÜKLENMİŞ TROMBOSİT
AKTİVASYONU İLİŞKİSİ**

**YANDAL UZMANLIK TEZİ
Uz. Dr. İnan ANAFOROĞLU**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nilgün GÜVENER DEMİRAGÇ
Proje No: KA 05/85**

Ankara, 2007

TEŞEKKÜR

Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları eğitimimi en iyi şekilde tamamlamamı sağlamak için yapmış oldukları çok değerli katkılarından dolayı başta Sayın rektörümüz Prof. Dr. Mehmet Haberal olmak üzere, Dahili Tıp Bilimleri Başkanı Sayın Prof. Dr. Haldun Müderrisoğlu'na, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Nurhan Özdemir'e, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı Başkanı ve aynı zamanda, tezimin her aşamasında büyük emeği olan tez danışmanım, Sayın Doç. Dr. Nilgün Güvener Demirağ'a ve Doç. Dr. Neslihan Başçıl Tütüncü'ye şükranlarımı sunarım.

Eğitimimin tamamlanmasında büyük katkıları olan Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı öğretim üyeleri, Yrd. Doç. Dr. M. Eda Ertörer, Yrd. Doç. Dr. Alptekin Gürsoy'a, Merkez Müdürümüz Sayın Yrd. Doç. Dr. Turgut Noyan'a, asistan arkadaşlarıma, sevgi ve desteklerini hep yanımda hissettiğim aileme çok teşekkür ederim.

Dr. İnan Anaforoğlu

ÖZET

Trombositlerin ADP ile stimülasyonunun, serum PRL düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdiği ve hiperprolaktineminin, trombosit agregasyonu için bir risk faktörü olabileceği son zamanlarda bildirilmiştir. Prolaktin yüksekliği olan hastalarda yapılan çalışmalar, hiperprolaktineminin, trombosit aktivasyonu için uygun bir ortam oluşturduğu bilinen ateroskleroz ve insülin direnci ile de bağlantılı olduğunu düşündürmektedir. Bu çalışmada, hiperprolaktinemi ile trombosit aktivasyonuna bağlı P-selektin ekspresyonu arasındaki ilişki, hastaların metabolik durumları da göz önünde bulundurularak irdelendi.

Trombosit fonksiyonlarını etkilediği bilinen tüm faktörler dışlandıktan sonra, premenopozal dönemde bulunan ve hiç tedavi almamış olan hiperprolaktinematik kadın olgular (n=32), yaş ve vücut kitle indeksleri benzer normoprolaktinematik olgular (n=33) ile karşılaştırıldı; yaş; 30,6±8 karşı 29,8±7,7 yıl, vücut kitle indeksi; 26,8±5,4 karşı 24,8±5,2 kg/m², prolaktin 1889,8±886 karşı 335,9±117,9 mU/lt. Gruplar arasında HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) formülü ile hesaplanan insülin duyarlılığı, bel çevresi, kan basıncı, açlık plazma glukozu, insülini ve lipidler bakımından anlamlı fark olmaması şartı arandı. Trombositlerin ADP bağımlı P selektin ekspresyonunu göstermek için flovisitometri yöntemi kullanıldı. Hiperprolaktinematik grupta serum prolaktin düzeyleri polietilen glikolle (PEG) muamele edilmeden ve edildikten sonra ölçüldü. PEG ile muameleden sonra %40'ın üzerinde çökme olması durumu, makroprolaktin pozitifliği olarak kabul edildi.

Trombositlerin ADP ile indüklenmiş P-selektin ekspresyonu hiperprolaktinematik grupta daha fazlaydı; [%14,2±15,5 karşı %6,7±5,2, (p=0.01)]. Makroprolaktinemi sıklığı %29 bulundu. Prolaktin düzeyleri ve ADP ile indüklenmiş P selektin ekspresyonları arasında anlamlı korelasyon vardı (r=0,3, p<0,02). P selektin ekspresyonu makroprolaktin negatif (gerçek hiperprolaktinemi) (n=21) ve makroprolaktin pozitif (n=11) grupta benzerdi; %13,6±16,4 karşı %15,3±14,4 (p=0,7). P selektin ekspresyonunun, her iki alt-grupta kontrol grubundan yüksek olduğu izlendi; 513,6±16,4 (p=0,03) ve %15,3±14,4, (p=0,005), sırası ile.

Trombosit aktivasyonu, insülin direnci ile ilişkili olarak aterosklerotik hastalıkların patogenezinde rol alır. Bu çalışmada, insülin duyarlılığı belirteçleri bakımından tamamen benzer olan iki grupta, hiperprolaktineminin kendisinin trombosit aktivasyonu için bir risk faktörü olduğu ortaya konuldu. Aynı zamanda, makroprolaktineminin de, tıpkı gerçek hiperprolaktinematik hastalarda olduğu gibi, artmış trombosit aktivasyonu ile ilişkili olduğu gösterildi.

Anahtar sözcükler: Hiperprolaktinemi, makroprolaktin, trombosit agregasyonu, insülin duyarlılığı

İNGİLİZCE ÖZET

Platelet activation is a recently recognized characteristic of prolactin, which functions through the potentiation of ADP-induced P selectin expression on platelets. Studies in hyperprolactinemic patients demonstrated atherosclerotic disorders related to insulin resistance; suitable milieu for platelet activation. We studied on hyperprolactinemic and normoprolactinemic patients to investigate the association between hyperprolactinemia and platelet activation related to P selectin expression,

After exclusion of any factor that might interfere with platelet functions, 32 naïve hyperprolactinemic and 33 age-body mass index-matched normoprolactinemic, non-smoking premenopausal women were included; age: 30.6 ± 8 vs 29.8 ± 7.7 years, body mass index: 26.8 ± 5.4 vs 24.8 ± 5.2 kg/m², prolactin 1889.8 ± 886 vs 335.9 ± 117.9 mU/l. Measurements regarding insulin sensitivity; which included, waist circumference, blood pressure, fasting plasma glucose, insulin and lipids were also matched. The flow-cytometry method was used to determine the ADP stimulated P selectin expression of the platelets. Serum prolactin was measured before and after polyethylene glycol precipitation (PEG) in hyperprolactinemic group. The diagnosis of macroprolactinemia was regarded as certain if the prolactin recovery in a serum was <40%.

The ADP stimulated P-selectin expression of the platelets was higher in hyperprolactinemic group; $14.2 \pm 15.5\%$ vs $6.7 \pm 5.2\%$, ($p=0.01$). The frequency of macroprolactinemia was found to be 29%. There was a significant correlation between prolactin levels and ADP stimulated P selectin expression before PEG ($r=0.3$, $p<0.02$). The ADP stimulated P selectin expression rates were similar between macroprolactin negative (true hyperprolactinemia) ($n=21$) and macroprolactin positive ($n=11$) subgroups; $13.6 \pm 16.4\%$ vs $15.3 \pm 14.4\%$ ($p=0.7$). It kept being higher than the controls in both subgroups; $13.6 \pm 16.4\%$, ($p=0.03$) and $15.3 \pm 14.4\%$, ($p=0.005$), respectively.

Platelet activation is involved in the pathogenesis of atherosclerotic disorders related to insulin resistance. In this study, performed on completely matched group of cases regarding insulin sensitivity markers, hyperprolactinemia itself has been detected to bring an increased risk for platelet activation. It has also been clearly demonstrated that macroprolactinemia may cause platelet aggregation just as true hyperprolactinemia.

Key words: Hyperprolactinemia, macroprolactin, platelet aggregation, insulin sensitivity

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET VE ANAHTAR SÖZCÜKLER.....	iv
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT AND KEY WORDS).....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Prolaktin yapısı.....	2
2.2. Prolaktin sekresyonunun düzenlenmesi.....	3
2.3. Prolaktin reseptörü.....	4
2.3.1. Yapısı ve dağılımı.....	4
2.3.2. Prolaktin reseptörü aktivasyonu.....	5
2.4. Prolaktinin fonksiyonları.....	8
2.5. Prolaktin ve trombosit ilişkisi.....	14
2.5.1. Trombosit aktivasyonu, agregasyonu.....	14
2.6. Hiperprolaktinemi.....	16
2.6.1. Hipofiz kaynaklı.....	16
2.6.2. Hipofiz dışı nedenler.....	16
2.6.3. Makroprolaktinemi.....	17
2.7. Metabolik sendrom, insülin direnci, trombosit aktivasyonu.....	19
2.7.1. Metabolik sendrom ve insülin direnci.....	19
2.7.2. Metabolik sendrom, insülin direnci, prolaktin.....	18
2.7.3. Metabolik sendrom, insülin direnci, trombosit aktivasyonu.....	20
3. HASTALAR VE YÖNTEM.....	21
3.1. Çalışma grubu.....	21
3.2. Yöntem.....	21
3.3. İstatistiksel değerlendirme.....	23
4. BULGULAR.....	24
5. TARTIŞMA.....	30
6. KAYNAKLAR.....	37

KISALTMALAR DİZİNİ

PRL: Prolaktin

kDa: kiloDalton

Ig: İmmünglobulin

TİDA: Tüberoinfindibuler hücreler

VİP: Vazoaktif intestinal peptid

cAMP: siklik adenzin monofosfat

TRH: Tiroid hormonu salgılatıcı hormon

GHRH: Büyüme hormonu salgılatıcı faktör

GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon

GH: Büyüme hormonu

PL: Plasental laktojen

PRLR: Prolaktinin reseptörü

EPO: Eritropoetin

IL: İnterlökin

Jak 2: Janus kinaz 2

Stat: Signal transducer and activator of transcription

MAPK: Mitojen aktive edici protein kinaz

IRS-1: İnsülin reseptör sustratı 1

PI: Fosfatidil inozitol

CIS: Cytokine-Inducible SH2-containing family; SH2 içeren, sitokin ile indüklenebilen protein ailesi

SOCS: Suppressors Of Cytokine Signaling; Sitokin Sinyalizasyonunun Baskılayıcıları

PLC: Phospholipase C; Fosfolipaz C

ATP: Adenzintrifosfat

FFA: Free Faty Acid; serbest yağ asidi

LPL: lipoprotein lipaz

FAS: Fatty Acid Synthase; yağ asidi sentaz

IGF-1: Insulin like Growth Factor-1; insülin benzeri madde 1

EGF: Epidermal Growth Factor; epidermal büyüme faktörü

GpIIb/IIa: Glikoprotein IIb/IIa

ADP: Adenzindifosfat

VTE: Venöz tromboemboliler

PKOS: Polikistik over sendromu
JFK: Jel filtrasyon kromotografisi
PEG: Polietilenglikol
IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu
VKİ: Vücut kitle indeksi
PAI-1: Plazminojen aktive edici faktör
CMIA: Kemiluminesan mikropartikül immunoassay
HOMA-IR: Homeostasis Model Assesment
AD: Anlamlı değil
PES: Parsiyel empty sella
OGTT: Oral glukoz tolerans testi
CRP: C-reaktif protein
TNF a: Tümör nekroz faktörü alfa
MRG: Manyetik rezonans görüntüleme
FSH: Folikül stimüle edici hormon
LH: Luteinize edici hormon
CVO: Serebrovasküler olay
AKS: Akut koroner sendrom

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Trombositlerin flovsitometrede seçilmesi.....	21
Şekil 4.1. Kontrol grubunda P selektin ekspresyonu.....	25
Şekil 4.2. Gerçek hiperprolaktinemi grubunda P selektin ekspresyonu.....	26
Şekil 4.3. Makroprolaktin grubunda P selektin ekspresyonu.....	26

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. IDF metabolik sendrom tanı kriterleri.....	18
Tablo 4.1. Hastaların ve kontrol grubunun karakteristik özellikleri ve laboratuvar verileri...23	23
Tablo 4.2. PRL yüksekliği olan hastalarda başvuru nedenleri.....	24
Tablo 4.3. PRL yüksekliği olan hastalarda MR bulguları.....	24
Tablo 4.4. Hastalar ve kontrol grubunun trombosit aktivasyonu.....	27
Tablo 4.5. PRL yüksekliği olan grupta makroprolaktin durumuna göre trombosit aktivasyonu.....	27
Tablo 4.6. Makroprolaktin (-) hastalarla, kontrol grubunda trombosit aktivasyonu.....	27
Tablo 4.7. Makroprolaktin (+) hastalarla, kontrol grubunda trombosit aktivasyonu.....	28

1. GİRİŞ VE AMAÇ

PRL, vücutta yaygın olarak reseptörleri bulunan ve pek çok dokuda eksprese edilen bir hormondur. Eskiden sanıldığı gibi, sadece gebelik ve laktasyonda salgılanmadığı, vücutta pek çok durumda miktarı arttığı ve pek çok sistemi etkilediği ortaya konmuştur. Su ve elektrolit dengesi, büyüme ve gelişme, endokrinoloji ve metabolizma, beyin ve davranış, üreme, immünregülasyon ve koruma ile ilgili fonksiyonları olduğu bilinmektedir. Biyolojik olarak inaktif olan, farklı molekül ağırlığındaki PRL'in kanda yükselmesi, makroprolaktinemi olarak adlandırılmaktadır. Klinik önemi ve hiperprolaktinemi tespit edilen her hastada bakılıp bakılmayacağı, gittikçe, daha çok gündeme gelen konulardır. Son yıllarda ortaya atılan bir görüş de, PRL'in, vücuttaki pek çok doku yanında, trombosit fonksiyonlarını da etkilediği ve trombosit aktivasyonunu artırdığı yönündedir. Trombosit aktivasyonu, özellikle trombotik olaylarda ve önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olan aterosklerotik olaylarda artmaktadır. Çalışmamızda, trombosit aktivasyonu ile hiperprolaktinemi arasındaki ilişkiyi incelerken, makroprolaktineminin klinik önemini de vurgulamaya amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prolaktin yapısı

Prolaktin (PRL), başlıca, pre-prolaktin olarak adenohipofizdeki asidofilik, laktotrof hücrelerden sekrete edilir. PRL'in esas fonksiyonu, gebe ve doğum yapmış kadınlarda memelerin gelişimi ve büyümesini ve laktasyonun devamının sağlanmasıdır (1). İnsanlarda, PRL'in hipofiz dışında da, vücutta pek çok dokudan salgılandığı gösterilmiştir. Hem dolaşımda bulunarak, hem de otokrin veya parakrin etkileri ile, PRL'in üreme, metabolik, ozmoregülatuar ve immünregülatuar gibi sistemlere etkili bir hormon olduğu bilinmektedir (2-5).

İnsan PRL geni 6. kromozom üzerinde bulunur (6). PRL, 199 aminoasitten oluşan, 3 tane disülfid bağı olan, 26 kiloDalton (kDa) ağırlığında bir pre-hormon olarak sentez edilir (7). Pre-hormonun proteolitik olarak ayrılması sonucunda, 23 kDa ağırlığındaki, matür, monomerik form açığa çıkar. Normal kişilerin ve hiperprolaktinemi olan kişilerin serumunda, %85-95 oranında monomerik form hakimdir. Küçük (*Little*) PRL de denilen monomerik PRL, biyolojik olarak en aktif formdur (7, 4). Dolaşımda, monomerik formun yanında değişik moleküler ağırlığa sahip olan farklı formlar da bulunur. Farklı formların bulunmasının; amino asid zincirlerinin düzenlenmesi sırasında alternatif bağlanma bölgelerinin oluşması, proteolitik ayrılma ve diğer translasyonel düzenlemelerin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (4). PRL mRNA'sının alternatif bağlanması ile ortaya çıktığı düşünülen 137 amino asitlik bir PRL varyantı hipofizde gösterilmiştir (7-9). Alternatif bağlanma, farklı PRL varyantları için major bir kaynak olarak görülmemektedir (4). Proteolitik ayrılmada çeşitli enzimlerin rol aldığı düşünülmektedir. En çok çalışılan formlar, 14-16-22 kDa ağırlığındaki moleküllerdir. Yapılan çalışmalar, ölçüm sırasında ve ölçüm yöntemlerine bağlı olarak da ortaya çıkabileceklerini düşündürdüğünden, gerçek fizyolojik önemleri bilinmemektedir (7). Alternatif bağlanma ve proteolitik ayrılma yanında, PRL formlarının önemli kısmı, dimerizasyon, polimerizasyon, fosforilasyon, glikolizasyon, sülfasyon, deamidasyon işlemlerini içeren diğer translasyonel düzenlemelerden kaynaklanmaktadır (4, 10). PRL'nin dimerizasyon ve polimerizasyonu ya da immünglobulin (Ig) gibi bağlayıcı proteinlerle kovalen veya non-kovalen agregasyonu sonucu makroprolaktin adı verilen yüksek ağırlıklı moleküller oluşur (7, 11-13). Dimerizasyon ve polimerizasyon işlemleri dışındaki işlemlerle gerçekleşen formlar insanlarda gösterilememiştir (4). 'Büyük (*Big*) PRL', 50 kDa ağırlığındaki dimerik PRL de denilen form, PRL moleküllerinin, dimerik,

kovalen bağlanmasından oluşmaktadır. Serumdaki PRL'nin %10-15'ini oluşturur. 'Büyük büyük (*Big big*) PRL' ya da makroprolaktin, serumdaki PRL'nin %1'inden azını oluşturur. Makroprolaktin, yaklaşık 150 kDa ağırlığındadır (14).

2.1. PRL sekresyonunun düzenlenmesi

PRL sekresyonu, tüberoinfundibuler hücreler (TİDA) ve hipotalamik tüberohipofzyel dopaminerjik sistemden salgılanan dopaminin inhibitör kontrolü altındadır (15, 16). Dopaminin, PRL sekresyonunu tam olarak hangi mekanizmalarla yaptığı net olmamakla birlikte, dopamin, hipotalamik hipofizer portal sistemden geçerek, laktotroplar üzerindeki D2 reseptörlerine bağlanarak PRL sekresyonunu inhibe eder (16). Saniyeler içinde, dopamin, potasyum iletimini artırarak, voltaj duyarlı kalsiyum kanallarını inaktive eder, membran hiperpolarizasyonu oluşur, hücre içi serbest kalsiyum düzeyi azalır. Dakikalar ile saatler içinde, dopamin, adenilat siklaz aktivitesini, inozitol fosfat metabolizmasını, araşidonik asit salınımını ve PRL gen ekspresyonunu baskılar. Günler içinde ise, dopamin, hücre proliferasyonunu baskılar. Bir paradoks olarak, çok düşük düzeylerdeki dopaminin PRL salınımını artırdığı gözlenmiştir (2). PRL, TİDA nöronlarındaki, tirozin hidroksilaz aktivitesini artırarak, salınımı üzerindeki negatif kontrol mekanizmasına katkıda bulunur (16). Dopamin dışında, PRL sekresyonunun düzenlenmesine katkıda bulunan endotelin-1, transforme edici büyüme faktörü ve kalsitonin parakrin PRL inhibitörleri olarak görev yaparlar (17-19). PRL sekresyonunu artıran faktörler de mevcuttur. Bazal fibroblast kaynaklı büyüme faktörü ve epidermal büyüme faktörü PRL sentez ve sekresyonunu artırır. Vazoaktif intestinal peptid (VİP), PRL sentezini siklik adenozin monofosfat (cAMP) üzerinden artırırken, oksitosin ve hipofizer adenilat siklaz aktive edici protein de PRL sekresyonunu artırır (17, 20). Medial bazal hipotalamustaki immünreaktif hücrelerin yaklaşık %33'ünün östrojenle işaretlenmesi, bu nöronlarda östrojen reseptörlerinin olduğuna işaret etmektedir (21). Ön hipofiz laktotrof hücrelerinin gelişimini kontrol eden transkripsiyon düzenleyicileri de erişkin hayatta PRL sentezinin düzenlenmesinde rol alır. Bu faktörler içinde en göze çarpanı Pit-1 proteindir. Östrojen ve cAMP gibi transkripsiyon faktörleri Pit-1 aktivitesini artırarak, PRL gen ekspresyonunu artırır (16). Östrojenin PRL gen transkripsiyonunu ve sekresyonunu uyarması, kadınların PRL düzeylerinin erkeklere göre ve düzenli adet gören kadınların menopoz dönemindeki kadınlara göre neden daha yüksek olduğunu da açıklamaktadır (21, 22). Tiroid hormonu salgılatıcı hormon (TRH), PRL sekresyonunu uyarmakla birlikte, PRL'nin düzenli salınımında önemli bir rol oynamamaktadır (23, 24). Hem hipofizde, hem de hipotalamusta sentezlenen galanin, PRL salgılatıcı bir faktör olarak

kabul edilmektedir (20). Aminobütirik asit, nörotensin, substans P, bombesin ve kolesistokininin PRL sekresyonu üzerindeki etkileri net değildir (17). PRL salgılatmada, serotoninin VIP'e katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Noktürnal PRL sekresyonu, siproheptadinle artmaktadır, buradan yola çıkarak, serotoninin noktürnal sekresyonu düzenlemede görev aldığı düşünülmektedir. Serotonin ve opiyatlar, akut olarak PRL salınımını artırır (16, 25). Büyüme hormonu salgılatıcı faktör (GHRH), yüksek dozlarda, ılımlı olarak PRL sekresyonunu artırmaktadır. GHRH üreten tümörü olan hastalarda PRL düzeyleri yüksek bulunmuştur. Gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) da, özellikle kadınlarda, periovulatuvar dönemde, PRL sekresyonunu artırdığı gözlenmiştir (25). Arka hipofiz hormonları olan vazopressin ve oksitosinin PRL salınımı üzerindeki etkileri net değildir. Histaminin, hipotalamus üzerinden PRL salınımını etkileyebileceği düşünülür, histamin reseptör blokerleri PRL sekresyonunu artırmaktadır (26).

PRL'in, gün içindeki normal sekresyon paterni, her 2-3 saatte bir hormonun bezden salınımı şeklindedir. En fazla hormon salgılanması ise, uykunun hızlı göz hareketlerinin olduğu dönemde gerçekleşmektedir, bu nedenle en yüksek salınım geceleri gerçekleşmektedir (27). Emziren kadınlarda, emme eylemi, PRL için güçlü bir uyarıcı olmaktadır. Emosyonel stres ve seksüel orgazm da PRL'i artıran diğer faktörlerdir. PRL sekresyonunu inhibe eden ve uyarıcı, yukarıda bahsedilen faktörlerin, PRL salgılatan bu olaylarla olan ilgisi net bilinmemektedir (16).

Sağlıklı kadınlarda, normal plazma PRL konsantrasyonu 4-20 ng/ml'dir. Erkeklerde bu değerler daha düşüktür (16).

2.3. Prolaktin reseptörü

2.3.1. Yapısı ve dağılımı

PRL'in aminoasit dizilimi, büyüme hormonu (GH) ve plasental laktojen (PL) ile benzerlik göstermektedir. Bu proteinler, benzer genomik, yapısal, immünolojik ve biyolojik özellikler gösterdiğinden, PRL/GH/PL protein ailesi olarak adlandırılmışlardır (28, 29). Yakın zamanda, PRL/GH/PL ailesinin, çok daha geniş bir aile olan hemotopoetik sitokin ailesi ile bağlantılı olduğu anlaşılmıştır (30). Prolaktinin reseptörü (PRLR) de, GH reseptörü, leptin reseptörü, eritropoetin (EPO) reseptörü ve pek çok interlökin (IL) reseptörünün mensubu olduğu, sınıf-1 sitokin reseptör ailesindedir (31). Bu reseptör, tek ve membran bağlı bir protein yapıdan oluşur (32). Ligandları gibi PRL ve GH'un reseptörleri de, benzer yapısal özellikler gösterir; 2

adet disülfid bağları, çift triptofan-serin dizilimleri mevcuttur (3). Her biri ekstraselüler, transmembran, intraselüler bölgeler içerir (3, 32). Anılan reseptörü kodlayan gen, 5.kromozom üzerinde yerleşmiştir, en azından 10 ekzon bölgesi vardır (31, 33). PRLR geninin transkripsiyonel düzenlenmesi -3 farklı, doku özgül olan- promoter bölge ile sağlanır. Promoter 1, gonadlar; promoter 2 karaciğer, promoter 3 ise gonadlar ve gonadların dışındaki organlara özgüdür (34). Farklı dokularda, PRLR geninin, uzunluğu ve kompozisyonu farklı olan izoformları mevcuttur (3, 4). Farklı izoformların ortaya çıkması, transkripsiyon ve alternatif ayrılma işlemlerinin, PRLR promoter bölgelerinin alternatif başlangıç bölgelerinde başlamasından kaynaklanır (35, 36). Östrojen yoğunluğuna, laktasyon durumuna ve gebeliğe bağlı farklı izoformların oluştuğu söylene de, PRLR'lerinin tüm vücuttaki yaygın dağılımı gözönünde bulundurulduğunda, farklı mekanizmaların da etkili olabileceğini düşünülmektedir (3). İzoformların sitoplazmik bölgelerinin uzunluğu ve kompozisyonu farklı olsa da, ekstraselüler bölgeleri benzerdir (3, 37). Membran bağlı reseptörlerin dışında, çözünebilir PRL-bağlayan proteinler de insan meme epitel hücrelerinde ve sütte gösterilmiştir (38, 39). PRLR'nün vücuttaki hemen tüm dokularda eksprese edildiği gösterilmiştir (3). Meme dokusu ve overler, PRLR'nün en iyi tanımlandığı bölgelerdir (40). Santral sinir sisteminde, pek çok bölgede; koroid pleksus, stria terminalis, amigdala, orta beyin, talamus, hipotalamus, serebral korteks ve olfaktör kanalda PRLR ve mRNA'sı gösterilmiştir. Periferik organlarda da, hipofiz, kalp, akciğer, timus, dalak, karaciğer, pankreas, böbrek, adrenal bez, uterus, iskelet kası, adipoz doku ve deride de PRLR mevcuttur (2-5, 40).

2.3.2. PRLR aktivasyonu

PRLR'nün, ekstraselüler bölgesinde ligand bağımlı dimerizasyon gerçekleşir (4). PRLR aktivasyonu, ligandın uyardığı ardışık reseptör dimerizasyonunun gerçekleşmesi ile başlar. Her bir PRL molekülü, 1. bölgenin 1 ve 4 numaralı heliksler, 2. bölgenin 1 ve 3 numaralı heliksler tarafından çevrelendiği 2 adet bağlanma bölgesi içerir. İlk olarak, 1. bağlanma bölgesi, PRLR ile etkileşime girer. Bu başlangıç ve hormon-reseptör kompleksinin oluşması, 2. bağlanma bölgesinin aynı PRL molekülü üzerinde diğer bir PRLR ile etkileşime girmesi için gereklidir (3).

Yirmidört aminoasit uzunluğundaki transmembran bölgesinin, PRLR aktivasyonundaki rolü bilinmemektedir (3, 4).

İntraselüler bölge ise, PRLR ile ilgili dönüşüm sinyal mekanizmalarının başlatılmasında anahtar rol oynar, diğer sitokin reseptörleri ile az miktarda dizilim benzerlikleri gösterir (3).

Bununla birlikte, PRLR üzerinde göreceli olarak korunmuş *box 1* ve *box 2* denilen iki alan bulunur (41). *Box 1*, reseptörün açılıp kapanması için gerekli olan dönüşüm sinyalleri tarafından tanınan, membranın proksimalinde bulunan, prolinden zengin bir yapıdır. *Box 2*, daha az korunmuştur, PRLR kısa izoformunda bulunmaz (3). PRLR'nün intraselüler bölgesi, herhangi bir intrensek enzimatik aktiviteden korunmuş olsa da, PRLR'nün ligandla düzenlenen aktivasyonu, reseptörün kendisi de dahil olmak üzere, pek çok selüler proteinin tirozinle fosforillenmesine neden olur (37, 42). İntraselüler bölgenin, membrana yakın bölgesi, Janus kinase 2 (Jak 2) denilen bir tirozin kinaz ile yakından ilgilidir (43-45). Jak 2 ve PRLR arasındaki ilişki, şüpheye yer bırakmayacak şekilde ispatlanmış olmakla birlikte, aralarındaki bağlantının yapısı tam olarak bilinmemektedir (4, 43, 45). PRL'in bağlanmasıyla, 1 dakika içinde, Jak 2'nin fosforilasyonunun gerçekleşmesi, Jak 2'nin, PRLR aktivasyonunda oldukça mühim bir rolü olduğunu düşündürmektedir (3, 43). Jak 2 aktivasyonu için, PRLR'nün intraselüler bölgesinde, prolinden zengin *Box 1* ve ligandla uyarılmış PRLR dimerlerinin muhakkak bulunması gerekmektedir (43, 46-48). Jak 2 aktivasyonu, 2 adet Jak 2 molekülünü birbirine yakınlaştıran reseptör dimerizasyonu sonrası transfosforillenmeyle oluşur (48). Jak 2 kinazlar birbirlerini fosforiller iken, PRLR'nün tirozin rezidülerinin de fosforillenmesini sağlarlar (49). Fosfotirozinler, SH2 alanları içeren dönüştürücü moleküller için potansiyel bağlanma/havuzlanma alanları olmasından dolayı oldukça önemlidir (4, 50). İntraselüler bölgesinde 4 adet tirozin rezidüsü bulunmasına rağmen, reseptörün kendisinin tirozin fosforillenmesi PRLR'nün kısa formunun aktivasyonu sonrası görülmez (50). Proliferasyon gibi başlıca selüler fonksiyonlar, PRLR fosforilenmesi olmadan, PRLR kısa formuyla gerçekleşir (51). PRLR'nün uzun formu PRLR aktivasyonu sırasında fosforillenen pek çok tirozin rezidüleri içerir (52).

Jak 2 aktive olduğunda, farklı hedef proteinler üzerindeki tirozin rezidülerini fosforiller. Bunların en iyi bilinenleri, reseptörün bizzat kendisi ve Stat (*Signal transducer and activator of transcription*) adı verilen dönüştürücü proteinlerdir (3). Stat protein ailesi, sitokin reseptör sinyalizasyonunda, en önemli dönüştürücülerdir (44). Stat ailesinde 8 eleman bulunur; Stat 1, Stat 3, özellikle de Stat 5a ve Stat 5b, PRLR için başlıca dönüştürücü moleküller olarak kabul edilmektedir (53, 54). Stat molekülü, 5 adet korunmuş yapı içerir; DNA bağlayan bölge, SH3 benzeri bölge, SH2 benzeri bölge, NH2 ve karboksiterminal aktive edici bölgedir (55). İlk olarak, sitokin bağlı reseptör, ilgili Jak kinaz ile tirozin fosforilasyonuna uğrar. Ardından, fosforillenmiş tirozin, reseptör-Jak kompleksinin sonraki bölümünü oluşturmak üzere, bir Stat molekülünün SH2 bölgesi ile etkileşir. Üçüncü olarak, reseptöre bağlı Stat, komplekse ait olan

Jak kinaz tarafından fosforile edilir. Sonrasında, fosforillenmiş Stat, diğer Stat molekülünün SH2 bölgesi ve fosfotirozin içeren her monomerini kapsayan bir etkileşimle, homo veya heterodimerler oluşturarak reseptörden ayrılır. Son olarak, dimer, sitokin hedef genlerinin promotörlerinde bulunan özgün DNA elemanlarını aktive ettiği nükleusa geçer (3). Tirozin fosforilasyonu yanında, Stat aktivasyonu sonucu, serin/treonin fosforilasyonu da gerçekleşir. Stat 5a ve b izoformları arasındaki en önemli fark, serin/treonin fosforilasyon alanlarındaki farktır (56). Yeni elde edilen bilgiler, Stat 5'in, gen transkripsiyonunun düzenlenmesinde inhibitör rolünün olabileceğini göstermektedir (57).

Jak/Stat, en etkin yollar olmasına rağmen, mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) kaskadının da PRLR aktivasyonu için en az Jak/Stat kadar önemli olduğunu düşündüren çalışmalar mevcuttur (58-61). PRLR'nün fosfotirozin rezidüleri, reseptörü, Ras/Raf/MAPK kaskadına bağlayarak, adaptör proteinler (Shc/Grb2/SOS) için bağlayıcı alanlar olarak iş görebilirler (62, 63). Başlangıçta, Jak/Stat ve MAPK yollarının paralel veya bağımsız olduğu kabul edilirken, bu yolların aslında birbiri ile bağlantılı olduğuna işaret eden birtakım bilgiler de mevcuttur (64).

Src kinaz ailesinin bir üyesi olan Fyn, PRLR ile ilişkilidir, PRL stimülasyonu ile aktive olduğu gösterilmiştir (65-67). Src kinazların PRLR'leri ile olan sinyal dönüşümündeki rolleri tam olarak bilinmese de, hücre büyümesini destekledikleri düşünülmüştür (65).

Yakın zamanda, insülin reseptör substratı 1 (IRS-1) ve fosfatidil inozitol (PI) 39-kinazın alt biriminin PRL ile uyarılan treonin fosforillenmesine uğradığı gösterilmiştir (68-70). Hem IRS-1, hem de PI-39 kinazın PRLR kompleksi ile ilişkili olduğu görülmektedir. PI-39 kinazın, PRL ile uyarılan aktivasyonunun Fyn ile düzenlendiği öne sürülmüştür (4).

PRLR'nün, en azından iki olayı ve iki bölgesi PRL ile uyarılan iyonik değişimlerle ilgili görünmektedir. PRLR'nün intraselüler bölgesindeki *Box 1*, tirozin kinaz bağımlı K1 kanallarının Jak 2 ile aktivasyonunda görev alır (71). İntraselüler bölgenin karboksi terminali, voltaj bağımsız Ca²⁺ kanallarını açan hücre içi mesajcıların (inozitol 1,3,4,5-tetrakisfosfat, inozitol heksakisfosfat) üretiminde rol alır (70, 72).

PRLR aktivasyonu, pek çok sinyal molekülünün tirozin fosforillenmesine neden olduğu için, sinyalizasyon yollarının inaktivasyonunun da tirozin fosfatazlarla ilgili olması beklenebilir (4).

Deneyisel veriler, SH2 içeren tirozin fosfatazlar olan SHP-1 ve SHP-2'nin, PRL sinyalizasyonunda yavaşlatıcı rolleri olduğuna işaret etmektedir (73-75). Sitokin reseptör sinyalizasyonunun yeni ortaya konulan bir yönü, Jak/Stat yolaklarını inhibe eden SH2 içeren protein ailelerinin (CIS; cytokine-inducible SH2-containing family) ve sitokin sinyalizasyonunun baskılayıcılarının (SOCS; suppressors of cytokine signaling) keşfedilmesidir (76-80). Bu moleküllerin PRLR sinyalizasyonundaki asıl görevleri yakın zamanda tanımlanmıştır (76). PRL, SOCS-1 ve SOCS-3'ün akut ve geçici ekspresyonunu uyarmaktadır (75). SOCS-1 ve SOCS-3, Jak2'nin katalitik aktivitesini ve Stat proteinlerinin aktivasyonunu inhibe ederek, PRLR aracılığıyla gerçekleşen sinyalizasyonu kapatırlar (75). CIS ve SOCS-2 genleri, PRL uygulaması ile ortaya çıkan uzamış aktivasyona cevap verirler, SOCS-2, muhtemelen, SOCS-1'in inhibitör etkisini baskılayarak, hücrelerin PRLR uyarısına duyarlılıklarını düzeltmektedir (75).

Fosfolipaz C (PLC; *phospholipase C*), protein kinaz C de PRLR sinyalizasyon yolağında rol aldığı düşünülen diğer enzimlerdir, fakat etkiledikleri substratlar net olarak ortaya konamamıştır (3, 81, 82).

2.4. PRL'in fonksiyonları

PRL'in ilk olarak meme gelişimini uyararak laktasyonu sağladığı keşfedildikten sonra, PRL ile ilgili olarak bulunan ikinci özellik korpus luteumun gelişmesindeki etkisi olmuştur (1, 83). Günümüzde, PRL'in, pek çok önemli biyolojik fonksiyonu daha olduğu ortaya çıkarılmıştır (2-5). Bir derlemede, PRL ile ilgili 300 farklı aktivite tarif edilmiştir (3). PRL'in etkilediği mekanizmaların başlıca şu alt başlıklar halinde toplanması mümkündür; 1-) su ve elektrolit dengesi 2-) büyüme ve gelişme 3-) endokrinoloji ve metabolizma 4-) beyin ve davranış 5-) üreme 6-) immünregülasyon ve koruma (2-5).

1-) Su ve elektrolit dengesi

PRL, neredeyse tüm omurgalılarda, su ve elektrolit dengesinde çok önemli bir role sahip iken, memelilerdeki fonksiyonları, diğer canlılardaki kadar net anlaşılamamıştır (3). Renal Na ve K atılımını azalttığı, adenosin trifosfataz'ı (ATPaz) artırdığı gösterilmiştir (84). PRL, terdeki Na ve Cl'u azaltmakta (85), ince barsağın tüm bölümlerinde, su ve tuz emilimini artırmaktadır (86). PRL, amnion sıvısını azaltıcı etki gösterir (87). Tüm bu veriler göz önünde bulundurulduğunda, PRL'in, gebeliğin geç dönemindeki artmış solüt transportunun, gebe anneyi laktasyon için hazırlamasına katkıda bulunduğu düşünülebilir (4).

2-) Büyüme ve gelişme

GH ve PRL'in kökleri ve yapısal özellikleri bakımından pek çok benzerlik göstermesi nedeniyle, PRL'in de büyüme üzerinde etkileri olabileceği düşünülmüştür, bu etkiler aşağı vertebralılarda, farklı dokularda gösterilmiş olmakla birlikte memelilerde, PRL'in büyüme üzerine direkt etkisi gösterilememiştir (3). Bazı çalışmalarda, PRL'in, hepatositlerin proliferasyonunda önemli bir role sahip olabileceği düşünülmüştür (3, 88). PRL'in intestinal mukozaya hücrelerinin büyüklüğünü; vasküler düz kas hücresinin, pankreasın beta hücrelerinin, hipofizer GH3 hücrelerinin, insan benign prostat hipertrofisi epitel hücrelerinin, astrositlerin ve pek çok immün sistem hücresinin proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir (81, 82, 89-97). PRL'in, çeşitli gelişim basamaklarında da rolü olduğu düşünülmektedir. Akciğerlerin gelişimini, sürfaktan üretimini, preadiposit farklılaşmasını, germ hücrelerinin matürasyonunu, tüberoinfindübüler hipotalamik dopamin gelişimini artırdığı gözlenmiştir (98-102).

3-) Endokrinoloji ve metabolizma

PRLR'nün adipoz dokuda henüz saptanamadığı zamanlarda, PRL'in adipoz doku üzerinde indirekt etkili olabileceği düşünülürdü (103). Bugün PRLR'lerinin uzun ve kısa izoformları hem beyaz, hem de kahverengi yağ dokusunda gösterilmiştir. Uzun izoformu, Jak 2 sinyalizasyonunu ve Jak 2/Stat yolağının aktivasyonunu düzenlerken, kısa izoformu ya farklı yolları kullanmakta, ya da dominant negatif inhibitör olarak fonksiyon görmektedir (104). PRL'in reseptörüne bağlanması, ardından dimerizasyonun ve Jak 2'nin fosforilasyonunun gerçekleşmesi ile Stat 5a/b çalışmaya başlar. Stat5a/5b nükleusa geçerek PRL'e cevap veren genlerin transkripsiyonunu değiştirir. Bunlar Jak 2/Stat'ın daha fazla aktive olmasını engelleyen SOCS ailesi üyeleridir. PRL, lipid metabolizmasını, adipoz dokuya serbest yağ asitleri (FFA; *Free Fatty Acids*) sağlayan lipoprotein lipazı (LPL) ve malonil CoA'yı FFA'ya çeviren yağ asidi sentazı (FAS; *Fatty Acid Synthase*) inhibe ederek etkilemektedir. Malonil CoA, insülin duyarlı bir glukoz taşıyıcısı olan GLUT4 tarafından hücreye taşınan glukozdan elde edilir. İlave olarak, PRL, adiponektin ve IL-6 sekresyonunu da inhibe eder. Metabolik duruma bağlı olarak, leptini hem aktive, hem de inhibe edebilir. Resistin salınımı üzerinde bir etkisi yoktur (5). PRL'in adipogenez üzerinde etkileri olabileceğine dair çalışmalar vardır ancak bu konu henüz netlik kazanmamıştır (5).

PRL'in dopamin antagonistleri ile uyarılmış kronik yüksekliği ve günlük enjeksiyonu, artmış besin alımı ve vücut ağırlığı ile ilişkili bulunmakla birlikte, adipoz doku kitle artışı ile ilişkili

bulunamamıştır (105-108). PRL'in bromokriptin ile baskılanması, tersi bir etki yaratır (106, 109). Paraventriküler nükleusa PRL enjeksiyonu besin alımını artırmaktadır, bu da PRL'in periferik alanların yanında hipotalamik oroksejenik ve anoreksijenik bölgeleri de etkilediğini göstermektedir (5, 110).

PRL'in karbohidrat metabolizmasını farklı yollardan etkilediği gösterilmiştir, hiperglisemik, diyabetojenik etkileri olduğu bilinmektedir. Embden-Meyerhoff yolağı ve heksoz monofosfat şantı üzerinde etkileri vardır (111). İzole hepatositlerde, PRL'in fizyolojik konsantrasyonlarda, glikojen fosforilaz aktivitesini 4 kat artırdığı gözlenmiştir (112).

Erken fetal hayatta, PRLR'lerinin, islet asiner hücreleri ve kanallarında üretildiği gösterilmiştir, peri-postnatal dönemlerde insülin ve glukagon üreten hücrelerde daha baskın olduğu gözlenir (113). Gebelikte, pankreas islet hücrelerinde, PRLR ekspresyonu artar (114). Gebelikte glukozla uyarılan insülin sekresyonu eşiği düşer, beta hücrelerindeki 2 glukoz sensörü glukokinaz ve GLUT2, PRL ile uyarılır (115).

PRL, insülin gen transkripsiyonunu uyararak, insülin sekresyonunu uyarır. Hangi mekanizmalarla uyardığı tam olarak bilinmemekle birlikte, Stat5, PI3 kinaz, MAPK yolaklarını aktive ettiği gösterilmiştir (116, 117).

PRL'in, dihidroepiandrosteron, dihidroepiandrosteron sülfat, kortizol ve aldosteron gibi adrenal steroidlerin sentezini artırdığı gösterilmiştir (118, 119). PRL'in katekolaminlerin sentezini direkt olarak uyardığını gösteren çalışmalar olsa da, adrenal medullada PRLR gösterilemediğinden, bu etkinin artmış adrenokortikal steroid hormonlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (3, 120, 121).

4-) Beyin ve davranış

Beyinde PRL'e atfedilen pek çok fonksiyon tanımlanmıştır. Bunlar; serebrospinal sıvının kompozisyonunun düzenlenmesi, astrositlerdeki mitojenik etkiler, serbestleştirici/baskılayıcı faktörlerin düzenlenmesi, uyku-uyanıklık sikluslarının düzenlenmesi ve üreme, ebeveyn olma, emzirme-besleme dürtülerinin düzenlenmesi olarak sayılabilir (2). Beyindeki PRL reseptörlerinin dağılımı ile PRL'in beyindeki fonksiyonları arasında net bir korelasyon kurulamamıştır (2).

Yeni doğum yapmış kadınların hemen hepsinde, bir çeşit annelik içgüdü, koruyucu, kollayıcı davranış paterni gözlenmektedir, hiç doğum yapmamış kadınlarda bu duygu daha az belirgindir, ya da hiç gözlenmez. Gebelik boyunca ve gebeliğin sonunda PRL ve PL'in artmış konsantrasyonlarının bu annelik güdülerini artırdığı düşünülmektedir (122-124).

PRL'in analjezik etki yapabildiği gösterilmiştir (125).

Kadınlarda, PRL'in yükselmesinin bazı psikomatik reaksiyonlara yol açabildiği gösterilmiştir, psödogebelik de bunların arasındadır (126).

Artmış PRL düzeylerinin, libidoda azalmaya, uyku-uyanıklık siklusunda değişikliklere neden olabileceği düşünülmektedir (126-128).

PRL'in, ventral hipotalamik nöronlardaki elektriksel aktiviteyi artırmak ve protein kinaz C aktivitesini güçlendirmek üzere, dopamin dönüşümünü artırdığı bilinmektedir (129, 130).

Retinada, PRL'in iki etkisi gösterilmiştir; TRH reseptörlerinin sayısında azalmaya neden olur, fotoreseptör yıkımını artırır (131, 132).

5-) Üreme

PRL için tanımlanan fonksiyonlar içinde en geniş grubu, üreme ile ilgili olanlar kapsamaktadır (2). PRL'in en net tanımlanan etkileri memede gerçekleşenlerdir (2).

Meme dokusunun gelişiminde; hücre sel büyüme, farklılaşma, sekresyon ve involusyonda, PRL, başrolü oynamaktadır. GH, PL, insülin, östrojen, progesteron, glukokortikoidler de gebelikte meme dokusunun gelişiminde rol oynayan diğer faktörlerdir. Meme dokusunun gelişiminde, son aşamada, tübüloalveolar gelişimi doğrudan PRL düzenlemektedir (2, 16). Emzirme dönemi boyunca, süt ihtiyacına göre, PRL, süt yapımı için gerekli faktörlerin, yağ dokudan memeye transferinde en önemli rolü oynar (133). Sütün içeriğindeki başlıca maddeler olan protein, laktoz ve lipidlerin sentezini düzenler (134). Memede yağların üretimini anahtar enzimleri koordine ederek sağlar. Dolaşan lipoprotein-trigliserid komplekslerinin hidrolizini ve yağ asitlerinin alımını sağlayan LPL'yi stimüle eder, asetil KoA'yı oluşturan piruvat dehidrojenazı aktive eder, malonil KoA üretiminde anahtar bir enzim olan asetil KoA karboksilazın ekspresyonunu artırır, yağ asidi sentezini artırır (135-137). PRL'in ayrıca, normal ve neoplastik meme dokusunda insülin benzeri madde 1 (IGF-1; *Insulin like Growth Factor-1*), epidermal büyüme faktörü (EGF; *Epidermal Growth Factor*),

glikolize musin, paratiroid benzeri peptid, PRL ile uyarılabilen proteinleri direkt uyarmaktadır (139-142).

Fertilize olmuş ovumun implantasyonu, gebeliğin sürdürülebilmesi, ovulasyonun inhibisyonu için overler tarafından üretilen progesteron gerekli olduğundan, progesteron üretiminin, korpus luteum tarafından düzenlenmesi oldukça önem taşır (143). PRL'in, luteotropik etkileri, luteal hücreler tarafından progesteron üretiminin uyarılmasını kapsar (144). Siklusun bulunduğu döneme bağlı olarak, PRL, korpus luteumun yıkımında da görev alabilir (145, 146). Granüloza hücrelerinde, PRL, östrojen sentezini ve P450 aromataz aktivitesini inhibe eder, Stat5 aktivasyonu üzerinden alfa 2 makroglobulini uyarır (147-149). PRL'in ovosit matürasyonu üzerine de etkili olabileceğini gösteren çalışmalar vardır (3).

Uterusta, PRL, progesteron reseptörlerinin seviyesini artırır (150, 151). Uterin sıvı kaybını uyarır, progesteron metabolizmasını yavaşlatır (152, 153). Blastosist implantasyonunu başlatır, lösin aminopeptidaz aktivitesini ve glukozamin sentaz aktivitesini artırır (154, 155). Prostaglandinlerin ve fosfolipaz A2'nin salınımını artırır (156).

Erkeklerde PRL'in fizyolojik rolü hakkındaki bilgiler net değildir (3).

6-) İmmünregülasyon ve koruma

PRL ile immün sistem arasında ilişki olabileceği, ilk olarak 1972 yılında, PRL olmayan farelerde, eksojen olarak verilen PRL'in timik fonksiyonları iyileştirmesi ile düşünülmüştür (157).

PRL'in, lenfositlerin, hormonal ve selüler immünitesini artırdığı, hipofizektomi sonrası gelişen anemi, lökopeni ve trombositopeniyi düzelttiği, antikor oluşumunu ve selüler proliferasyonu uyardığı gösterilmiştir (158-160). Selüler proliferasyonun, laboratuvar ortamındaki endotoksin bulaşıyla ilgili olabileceği söylene de, bu konu netlik kazanmamıştır (3). Proliferasyona olan etkisinin yanında, PRL'in, DNA sentezini ve c-myc ekspresyonunu artırabildiği gösterilmiştir (161). PRL, aynı zamanda, IL-2 ve EPO reseptör düzeylerini de artırmaktadır (97, 162, 163).

PRL'in, proliferasyonu uyarmasının yanında, lenfositlerin apoptozunu inhibe ettiği de gösterilmiştir (164). PRL uygulaması ile, artmış greft rejeksiyonu ilgili bulunmuştur (165).

Makrofajların aktivasyonunun GH ile ilgili olduğu düşünülürken, yakın zamanda, makrofaj aktivasyonu ve süperoksit anyon üretiminin PRLR ile de düzenlendiği ortaya konulmuştur (166). PRL'in, monoblastik büyümeyi azaltmada, IFN gamma ile birlikte sinerjistik etki gösterdiği, kanamadan sonra Kupffer hücrelerinde sitokin gen ekspresyonunu da artırdığı gözlenmiştir (167). PRL, timik-nurse hücre kompleksinde, polimorfonükleer hücrelerin doğrudan ve spontan migrasyonunu azaltır, lenfosit-epitelyal hücre adheziv etkileşimlerini düzenler, meme dokusunda Ig-A salgılayan plazma hücrelerini artırır (168-170). PRL, karaciğerde, faktör XII üretimini artırır (171).

Sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit gibi, otoimmün hastalığı olan hastaların bir kısmında, hiperprolaktinemi gözlenmesi, PRL'in otoimmünite ile de ilişkili olabileceğini desteklemektedir (2-4, 16, 172).

Bleacha ve arkadaşları (174), 1980'li yıllarda, baskı, sıcak ve soğuk stresinin, dinitrofürobenzene karşı oluşan temas duyarlılığını artırmasında, PRL ve GH'un sorumlu olduğunu keşfetmişlerdir. Fizyolojik koşullarda, PRL, GH, IGF-1, fizyolojik veya çevresel stres faktörlerine karşı salgılanan 'strese cevap veren, stres karşıtı hormonlar' olarak bilinmektedir (172, 173). PRL salgılanmasını tetikleyen pek çok stres çeşidi tariflenmiştir; eter, baskı, termal, kanama, sosyal fobi, hatta akademik stres gibi (4).

7-) Diğer

PRL'in proteolitik fragmanlarının anjiogenezi inhibe edebildiği gösterilmiştir (175). Anjiogenez üzerindeki bu inhibisyonun fizyolojik önemi tam olarak bilinmese de, tümör oluşumunun engellenmesinde, terapötik amaçla kullanılacakları düşünülmektedir (4).

PRL, bazı kanserlerle ilişkilendirilmiştir (3). PRL'in kolorektal kanser agresifliğini; meme kanserlerinde proliferasyonu; promiyelositlerin çoğalmasını artırdığı, malign B lenfositlerini ve lenfoma hücrelerini aktive ettiği gösterilmiştir (62, 176-182). Benign fibromusküler tümörler olan leiomyomların, normal miyometrium dokusundan daha fazla PRL ürettikleri gözlenmiştir (183).

2.5. PRL ve trombosit ilişkisi

2.5.1. Trombosit aktivasyonu, agregasyonu

Aktive olmuş trombositler, lökositlerle –özellikle monositlerle- bir araya gelerek birleşebilir ve agregatlar oluşturabilir (184). Bu agregatlar, koroner arter hastalığı olan kişilerin kanında yüksek oranlarda bulunmaktadır (185-187). Selektin ailesinin bir üyesi olan, P selektin –veya PADGEM, GMP-140, CD62P- 140 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Aktive olmayan trombositlerin yoğun granüllerinde ve endotelial hücrelerin Weibel-Palade granüllerinde bulunur (188). P selektin, hücre adezyon kaskadında ilk basamak olan aktive endotel üzerindeki monositlerin hareketini düzenler. Trombositlerde, trombin, histamin veya C5a gibi agonistlerle aktivasyon sonrası, P selektin, granül membrandan, plazmatik membranın yüzeyine geçer ve trombositlerin nötrofil ve monositlere adezyonunu düzenler (189). P-selektin'in, lökositler üzerindeki bir ligandla (P selektin glikoprotein ligandı-1) etkileşimi, GPIIb/IIIa-fibrinojen (Glikoprotein IIb/IIa) etkileşimini stabilize ederek, büyük, kararlı trombosit agregatları oluşmasına yardım eder. Oluşan lökosit aktivasyonu, lökosit aktivasyonu için 2integrin Mac-1 denen başka bir yüzey reseptörünü aktive eder (190). Trombosit fonksiyonunda adenzindifosfat (ADP) çok önemlidir; diğer agonistler vasıtasıyla kolaylaştırılan cevabı ve P-selektin salınımını stimüle eder. ADP, depolanmış granüllerden salgılanan, zayıf fakat önemli agonisttir. Trombositlerdeki şekil değişikliğini ve geri-dönüşümlü trombosit agregasyonunu direkt olarak stimüle eder. Ardından ADP ile uyarılan tromboksan A2 sentezi oluşması ile trombositlerin ikincil agregasyonu başlar. Normalde hücre yüzeyinde eksprese edilmeyen P selektin, ADP ile stimüle edilince hücre yüzeyinde eksprese edilmeye başlanır (189).

Aktive trombositler, endotel aktivasyonu ve düz kas hücresi proliferasyonunu artıran proinflamatuvar sitokin ve düzenleyici büyüme faktörleri salgırlar (187). Bu gözlemlerden yola çıkarak, aktive trombositlerden eksprese edilen P selektinin aterosklerotik lezyonların başlangıç aşamasında görev aldığı söylenmektedir (187).

Gebelik ve sonrası, venöz tromboemboliler (VTE) için riskli bir dönemdir. Gebelik sonrası erken dönemde, gebeliğe dair etkiler ortadan kalkmasına rağmen, VTE riski devam etmektedir. Bu nedenle, PRL ve VTE arasında, dolayısıyla da PRL ve trombosit aktivasyonu arasında bir ilişki olabileceği ileri sürülebilir. Bu tezden yola çıkılarak, gebelikteki VTE riskinin diğer risk faktörlerinin yanında, trombosit aktivasyonunun artmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (19, 191).

VTE insidansı yaklaşık, 1/1000'dir (192). VTE için bazı doğuştan gelen veya sonradan kazanılmış risk faktörleri olabilir. Bunların bazıları; anti-fosfolipid sendromu, hiperhomosisteinemi, aktif protein C ve S direnci, Faktör V Leiden mutasyonu, artmış faktör VIII düzeyidir. VTE gelişimini kolaylaştırdığı düşünülen diğer bazı durumlar gebelik, tümörler, ileri yaş, cinsiyet, cerrahi ve travmadır (192).

VTE, gebelik boyunca ve lohusalık döneminde önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olarak önemini korumaktadır (193). Olguların yaklaşık %50'sinde, hareketsizlik veya doğuştan bazı risk faktörleri ile VTE'den sorumlu olabilir, geri kalan -idyopatik- hastalarda neden açıklanamamaktadır (192, 193).

Bu durum, araştırmacıları, gebelik ve doğum sonrasında VTE'ye neden olan diğer faktörleri araştırmaya itmiştir. Gebelik boyunca artan ve gebelik sonrasında da yüksek kalan PRL düzeylerinin, gebelik boyunca trombosit aktivasyonunda bir kofaktör olarak görev alabileceği düşünülmüştür. Flovritometri tekniklerinin ilerlemesi ile trombosit agregasyonunda rol alan P- selektin salınımı trombosit yüzeyinde gösterilmiştir (191).

PRL ile trombositlerin ilişkisi hakkında çok fazla veri yoktur. Hipofizektomi yapılan ratlarda, kemik iliğinde görülen trombositopeninin dışarıdan PRL verilmesi ile düzeltilebildiği gösterilmiştir (160). Dardenne ve arkadaşları (194), 1994 yılında yaptıkları çalışmada, PRL ve PRLR'nü hemopoetik dokularda göstermişlerdir, bununla birlikte PRL ve PRLR'nün hemopoetik hücrelerin üzerindeki etkileri netlik kazanmamıştır (195). Yine antipsikotik kullanan hastalarda, artmış VTE riskinin, antipsikotik kullanımına bağlı PRL yüksekliği ile ilişkili olabileceği ortaya atılmıştır (191, 196, 197). Tüm bunlardan yola çıkarak, 2001 yılından itibaren bazı çalışmalar, literatürde yerini bulmuştur (191, 197-201).

Wallaschofski ve arkadaşlarının (191), yaptığı çalışmada, trombositlerin ADP ile stimülasyonunun, PRL düzeyleri ile korelasyon gösterdiği; hiperprolaktineminin, trombosit agregasyonu için bir risk faktörü olabileceği; gebelikte artmış VTE riskine PRL yüksekliğine bağlı oluşan trombosit aktivasyonunun katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür. Aynı grup, yaptıkları çalışmada, 1 yıl sonra, insan trombositleri üzerinde, monoklonal antikolar kullanarak, PRLR ailesinin 43 kDa'luk kısa izoformunu göstermeyi başarmışlardır (198). ADP ile uyarılan trombosit agregasyonu, Gq ve Gi proteini ile düzenlendiğinden, PRL ile

ilişkinde bakılmış, PRL'in etkisini, Gq proteini aracılığıyla gösterdiği gözlenmiştir. ADP ve PRL'in, Gq aracılı sinyalizasyon yolağında anahtar bir enzim olan protein kinaz C'yi sinerji içinde aktive ettiği gösterilmiştir (198). Trombosit aktivasyonunda önemli rolü olan bazı yolakların –Ras/Raf/MAPK, PI-3 kinaz- PRL reseptörleri ile de ilişkisi olduğundan, PRLR aktivasyonu ile trombosit aktivasyonu arasında da ilişki olabileceği öne sürülmüştür (198). Yakın dönemlerde, antipsikotik kullanan hiperprolaktinematik hastalarda trombosit aktivasyonunun, normoprolaktinematik hastalara göre arttığı gösterilmiştir (197). İskemik inme geçiren 36 hastanın, serum PRL düzeyleri ile ADP ile uyarılmış trombosit aktivasyonları arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (201). Ne var ki, PRL ile trombosit aktivasyonu arasındaki ilişki ile ilgili bilgiler henüz oldukça yenidir ve bu konuda daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır (191, 197-201).

2.6. Hiperprolaktinemi

2.6.1. Hipofiz kaynaklı

Hiperprolaktinemi, hipofizer hastalıklar içinde en sık görülenidir. Klinik semptomlara yol açan hiperprolaktinemi, daha çok, PRL salgılayan hipofizer bir adenoma bağlı ortaya çıkar (16, 202). Prolaktinomalar, tüm hipofizer tümörlerin %40'ını oluşturan iyi huylu tümörlerdir. Hastaların %30-80'inde galaktore vardır (202). Galaktore ve amenore kadınlarda en sık görülen semptomlardır, PRL'in meme ve hipotalamus-hipofiz-over aksındaki direkt etkisine bağlıdır (16). Kadınlarda, azalmış libido, vajinal kuruluk, dispareni diğer görülebilecek semptomlar iken, erkeklerde, impotans, vücut kıllarında azalma, testislerde yumuşama, infertilite ve jinekomasti görülebilir (202). Kadınlarda genellikle mikroadenomalar görülürken, erkeklerin büyük kısmı, makroadenomalar ve buna bağlı bası semptomları ile başvururlar (16, 202).

Hipofiz sapında baskı ya da kesilmeye neden olan herhangi bir kafa travması veya kafa içi bir kitle de hiptalamustan gelen dopaminerjik tonüsün kaybolmasına neden olacağından, hiperprolaktinemiye neden olabilir (16). Yine aynı şekilde, dopamin sentezini engelleyen herhangi bir neden de PRL değerinde yükselmeye neden olabilir (202).

2.6.2. Hipofiz dışı nedenler

Hafif hiperprolaktinemi, polikistik over sendromu (PKOS) olan kadınların %30'unda mevcuttur (203). PKOS ile hiperprolaktinemi antiteleri arasında belirgin bir etki veya

benzerlik veya ilişki bulunamamıştır (204). Bununla birlikte, PKOS'lu hastaların bir kısmında, hiperprolaktinemi varlığından bağımsız olarak, dopamin agonistleri verilmesi ile, bir grup olguda amenorenin düzeldiği gösterilmiştir (205). Meme başının uyarılması da kan PRL düzeylerini hafif de olsa yükseltebilir (16). Hipotiroidisi olan hastaların yaklaşık %20'sinde PRL düzeyleri yükselebilir. Sebep tam olarak bilinmese de, artmış TRH düzeylerinin PRL yüksekliğine neden olduğu düşünülür. Hipotiroidinin tedavisi ile PRL düzeyleri de normale dönebilmektedir (206). Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda, glomerüler filtrasyon hızının azalmasına bağlı hiperprolaktinemi görülebilir (207). Emosyonel stres de daha önce bahsedildiği gibi, PRL düzeylerinde yüksekliğe neden olabilir (4,16). Bazı ilaçlar, hafif veya ılımlı PRL yüksekliğine neden olarak, galaktore, amenore, seksüel fonksiyon bozukluğu gibi hiperprolaktinemi semptomlarına neden olabilir (4, 202).

2.6.3. Makroprolaktinemi

Rogol ve Rosen (208), Suh ve Frantz (209), 1974 yılında, hiperprolaktinematik bazı hastalarda, *big* PRL'in baskın olan form olabileceğini ortaya koymuşlardır. Whittaker ve arkadaşları (210), 1981 yılında, hiperprolaktinemi varlığında fertilitenin korunabildiği hastalarda, ölçülen PRL'in büyük kısmını *big big* PRL'in oluşturduğunu göstermişlerdir. Hattori ve arkadaşları ile, Leite ve arkadaşlarının, aynı zamanlarda, idyopatik hiperprolaktinemisi olan hastaların bazılarının serumunda, anti-PRL antikörlerini göstermesi ile, makroprolaktin molekülünün, Ig ile kompleks yapmış monomerik PRL'den oluşan bir makromolekül kompleksi olduğu anlaşılmıştır. Molekül ağırlığı 23 kDa olan bir PRL ve Ig kompleksidir (11-13). Makroprolaktin kompleksinin PRL reseptörüne bağlanma afinitesi ve serumdan temizlenme hızının, monomerik PRL'e göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Makroprolaktinemisi olan kişilerde, makroprolaktinin birikerek kanda PRL değerinin yüksek ölçülmesine neden olduğu düşünülür (12, 211). Şimdiye kadar yapılan çalışmalar, makroprolaktinin *in vivo* biyoyararlanımı ve biyolojik etkinliğinin oldukça düşük olduğunu işaret etmektedir (212). Bu nedenle PRL yüksek olmasına rağmen, PRL yüksekliği ile ilgili klinik bulguların (amenore, galaktore, inferilite gibi) olmaması durumunda, makroprolaktinemi akla gelmelidir (212).

Makroprolaktinemisinin sıklığı tam olarak bilinmemektedir. Hiçbir yakınması olmayan, 10550 sağlıklı kişide yapılan tarama sonucunda, 40 hastada hiperprolaktinemi, hiperprolaktinematik hastaların ise 10'unda makroprolaktin pozitifliği tespit edilmiştir (213). İskandinavya'dan yapılan bir çalışmada, Bjoro ve arkadaşları (214), 660 sağlıklı birey içinde sadece bir kişide makroprolaktin tespit etmişlerdir. Çalışmalar gözönünde bulundurulduğunda,

makroprolaktinemi prevalansının genel toplumda; kadınlarda %0,2, erkeklerde %0,02 olabileceği tahmin edilmektedir. Hiperprolaktinematik popülasyonda, ölçümde kullanılan yöntemle göre değişmekle birlikte, makroprolaktinemi sıklığı farklı çalışmalarda %10 ile %46 arasında değişebilmektedir ve bu farkın çalışma popülasyonunun seçiminden kaynaklandığı düşünülmektedir (212, 215, 216). Makroprolaktin ölçümü için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Jel filtrasyon kromatografisi (JFK) bugün halen altın standart olarak kabul edilmektedir (212, 217). Çalışma esası moleküler ağırlığına göre proteinlerin ayrıştırılmasına dayanmaktadır. Makroprolaktin oranı, tüm PRL'in %40'unun üzerinde olduğunda, örnek makroprolaktin için pozitif olarak kabul edilmektedir (217). Bu yöntem güvenilirliği çok yüksek olmakla birlikte, bazı dezavantajlara da sahiptir (212). İlk olarak, Hattori ve arkadaşlarının da tarif ettiği gibi (12), düşük afiniteye sahip olan PRL antikör kompleksinde, oldukça uzun süren JFK işlemi sırasında, antikör ile PRL molekülünün birbirinden ayrılma, dolayısıyla da makroprolaktin miktarının olduğundan daha az ölçülme ihtimali mevcuttur. İkincisi, varolan makroprolaktin yüzdesi ile ilgili ölçümler konusunda belirsizlikler vardır. Diğer bir neden, JFK sırasında, adsorbsiyon ve denatürasyon işlemleriyle birlikte PRL immünreaktifinin işleme bağlı olarak kaybı, her bir farklı izoformun yanlış bir şekilde fazla ya da eksik olarak ölçülmesine neden olabilir. Son olarak JFK'nın, oldukça pahalı ve zaman alıcı bir yöntem olması nedeniyle yaygın olarak kullanımı kısıtlıdır (12).

Hattori ve arkadaşlarının (11), 1992 yılındaki tariflerinden beri, polietilen glikol (PEG) ile çöktürme yöntemi de oldukça yaygın olarak kullanılan bir testtir. Serum örneğinin PEG ile karıştırılıp ardından santrifüj edilmesinden sonra, çökme olmayan serumda ve işlem görmemiş serumda PRL ölçülür. Aradaki fark makroprolaktin düzeyini verir; %40'ın üzerinde çökme olması makroprolaktin varlığına işaret eder (217). PEG yöntemi özgün bir yöntem olmamasına rağmen JFK'ya göre oldukça hızlı ve ucuz (27 kat) bir yöntemdir, uygulaması kolaydır (12, 217). JFK ve PEG sonuçları korelasyon göstermektedir ancak kantitatif makroprolaktin düzeyleri arasında fark olabileceği gösterilmiştir (12). Yakın zamanda, Prazeres ve arkadaşları (218) ultrafiltrasyon metodunu keşfetmişlerdir.

2.7. Metabolik sendrom, insülin direnci, trombosit aktivasyonu

2.7.1. Metabolik sendrom ve insülin direnci

İnsülin direnci, fizyolojik konsantrasyonlarda üretilen insüline normal biyolojik yanıtın bozulması durumudur. İnsülinin biyolojik etkisini gösterebilmesi için, pankreas beta hücrelerinde sentez edilip salınması, portal sistem yoluyla sistemik dolaşıma katılması,

dolaşımdan interstisyuma geçmesi ve hedef dokulara ulaşarak bu doku hücrelerinin membranlarında bulunan spesifik reseptörlerle ilişkiye girmesi gerekmektedir. Reseptörü ile birleşen insülin, hormon etkisini gerçekleştirecek bir seri postreseptör olayı tetikleyecektir. Bu basamakların herhangi birinde veya birkaçında gerçekleşebilecek bir aksama, sonuçta organizmanın insüline subnormal yanıt vermesiyle sonuçlanacaktır (219). Metabolik sendromun, insülin direnci temelinde gelişen bir antite olduğu düşünülmektedir. İlk olarak, 1988 yılında, Reaven (220), insülinin *in vivo* etkisinin bozulması ile başlayan metabolik anomalilerin, dislipidemi ve hipertansiyon ile birlikte kardiyovasküler olaylara yol açtığını göstermiş ve bu antiteyi “sendrom x” olarak tanımlamıştır. Trigliserid yüksekliği, HDL-kolesterol düşüklüğü, hipertansiyon ve insülin direnci ile birlikte artmış insülin değerleri, sendromun bileşenleri olarak sayılmıştır. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF), 2005 yılı başlarında metabolik sendrom tanı kılavuzunda, temel olarak abdominal obeziteyi kriter almış ve ona eşlik edecek dört komponentten ikisinin müspet olmasını tanı için gerekli bulmuştur. Vücut kütle indeksinin (VKİ), 30kg/m² olması durumunda ise, abdominal obeziteye bakılmasına gerek olmadığı bildirilmiştir. (Tablo 1) (221).

Tablo 2.1. IDF metabolik sendrom tanı kriterleri*

Risk faktörü	Tanım
VKİ	>30kg/m ²
Abdominal obezite (bel çevresi)	
Erkek	≥ 94 cm
Kadın	≥80cm
Trigliserid	≥ 150 mg/dL
HDL	
Erkek	< 40 mg/dL
Kadın	< 50 mg/dL
Kan basıncı	≥ 130/85 mmHg
Açlık plazma glukozu	≥100 mg/dL
*Abdominal obeziteye veya VKİ'ye eşlik eden en az iki bileşenin olması	

2.7.2. Metabolik sendrom, insülin direnci ve PRL

PRL'in bilinen etkilerinin yanında karbonhidrat ve yağ metabolizması üzerine olan etkileri keşfedildikten sonra, bu konuda pek çok çalışmalar yapılmıştır. PRL'in insülin direncine neden olduğu, diyabetojenik bir hormon olarak kabul edilebileceği, daha önce de bahsedildiği

gibi uzun zamandır bilinmektedir (5). Hiperprolaktinemi, adipoz doku artışı ile doğrudan ilgili bulunmasa da (105-108), hiperprolaktinematik hastaların, tedavi ile kilo kaybettikleri ve endotel fonksiyonları, metabolik parametreleri ve insülin dirençlerinin düzeldiği gösterilmiştir (222-225).

2.7.3. Metabolik sendrom, insülin direnci, trombosit aktivasyonu

Kan P selektin düzeyleri ile metabolik sendrom ve insülin direnci arasındaki ilişkiyi inceleyen son dönemde yapılmış pek çok çalışma mevcuttur. Obez hastalarda, kontrol grubuna göre yüksek olan P selektin düzeylerinin, diğer inflamatuvar belirteçlerle birlikte, kilo kaybı sonrası düştüğünü gösteren çalışmalar mevcuttur (226, 227). Dislipidemik bir popülasyonda yapılan çalışmada, kontrol grubuna göre kan P selektin düzeyleri, anlamlı olarak yüksek bulunmuşken, aynı popülasyonda hastaların insülin direnci değerlendirilmiş ve insülin direnci ile P selektin düzeyleri arasında bir ilişki bulunamamıştır (228). Metabolik sendromla kan P selektin ilişkisinin irdelendiği bir çalışmada, metabolik sendromu olan hastalarda, P selektin yüksek bulunmuştur (229). Başka bir çalışmada, farklı etnik gruplar incelenmiş, tüm popülasyonda metabolik sendrom kriterleri değerlendirilmiş, sistolik kan basıncı, HDL kolesterol ve trigliserid parametreleri ile P selektin düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (230). Pergola ve arkadaşlarının (231), yaptığı çalışmada, hafif kilolu ve obez kadınlarda P selektin düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuş, P selektin düzeylerinin, VKİ, insülin direnci, sistolik ve diyastolik kan basıncı, açlık insülini, trigliserid ve PAI-1 düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Ancak, çoklu regresyon analizi sonucunda, metabolik sendrom kriterlerinin, P selektin için bir risk faktörü olmadığı ortaya konmuştur. Çeşitli çalışmalarda, koroner arter hastalığı ve atriyal fibrilasyon için P selektinin bir risk faktörü olarak kabul edilmesi gerektiği yönünde farklı düşünceler ileri sürülmüştür (187, 230, 232).

3. HASTALAR VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

Bu çalışma, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı Kliniği'nde 2006-2007 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmaya, PRL yüksekliği tespit edilen, daha önce hiç tedavi almamış 32 kadın hasta alındı. Hipofizde adenomu olan hiperprolaktinematik hastalarda diğer hipotalamo-hipofizer aksların normal çalıştığı gösterildi. Kontrol grubu olarak hastanemize genel kontrol amacıyla başvuran ve yapılan tetkiklerde herhangi bir sorun tespit edilmeyen, serum PRL düzeyleri normal sınırlarda, yaşı ve vücut kitle indeksleri hasta grubundan farklılık göstermeyen 33 sağlıklı gönüllü kadın birey dahil edildi.

Çalışmaya alınan hasta grubunda ve kontrol grubundaki bireylerin trombosit fonksiyonlarını etkileyecek herhangi bir ilaç kullanmamaları, sigara kullanmamaları, alkol kullanmamaları şartı arandı. Olguların anamnezlerinde ve aile öykülerinde trombotik bir olay olmamasına özen gösterildi.

KA 05/85 proje numarası ile Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındı. Bireylere gönüllü denek bilgilendirme formu okutularak onayları alındı.

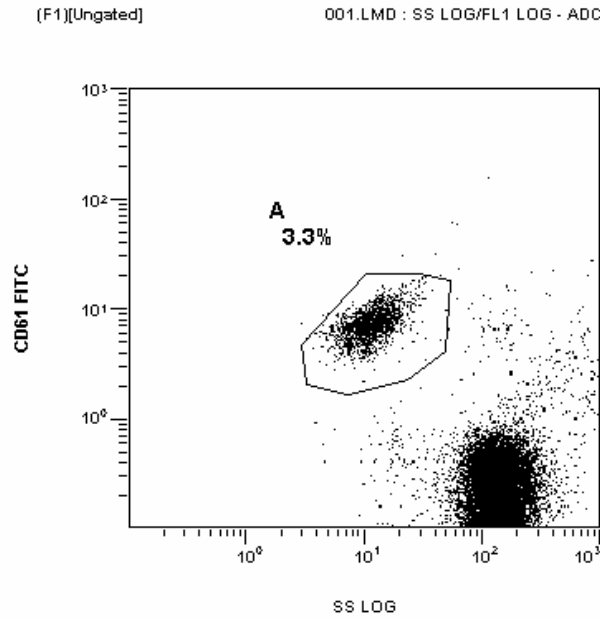
3.2. Yöntem

Hastaların başvuru nedenleri, boyları, kiloları, yaşları, bel çevreleri kaydedildi.

Serum PRL düzeyleri kemiluminesan mikropartikül immunoassay CMIA (Architect Ci8200, Abbott Laboratories, Diagnostics Division, Abbott Park, Illinois 60064, Referans Aralık: 1.20-29.93 ng/mL (SI units), 25.2-628.53mIU/L) yöntemi ile ölçüldü. Makroprolaktin ölçümü için hasta grubundan düz biyokimya tüpüne alınan kanlar, pıhtılaştıktan sonra santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve -20°C'de yaklaşık 10 ay saklandı. Örneklerden prolaktin tayini yapıldı. Makroprolaktin konsantrasyonunu tayin etmek için, örnekler polietilen glikol (PEG 8000-BioBasic Inc 3185 B10) ile ön işlemden geçtikten sonra tekrar prolaktin tayini yapıldı. İkiyüzelli µl serum, 250 g/L pH 7.4'de fosfat tamponu (137 mmol/L sodyum klorid, 10 mmol/L sodyum fosfat) içinde çözülmüş PEG ile karıştırıldı, 10 dakika oda ısısında inkübe edildi. Karışım 3500 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi, süpernatandan prolaktin tayini yapıldı. PEG ile ön işlem yapılmadan önce ölçülen prolaktin ile, PEG ile çöktürme sonrası ölçülen

prolaktin değeri arasındaki fark, makroprolaktin düzeyi olarak kaydedildi. Normal bireylerde PEG ile işlem sonrası %40'ın altında bir çökme beklenmektedir.

Stimüle edilmemiş ve ADP ile stimüle edilmiş P selektin düzeylerine bakıldı. P selektin, normal trombositlerde eksprese edilmediğinden ADP ile stimülasyon yaparak P selektin düzeyleri değerlendirildi. Hiperprolaktinemisi olan hastaların ve kontrol grubunun sitratlı tüpe alınan tam kanları % 0,5 bovin serum albuminli (Sigma) fosfat tamponu ile trombosit sayısı 20.000/μl olacak şekilde dilüe edildi. Dilüe edilen trombositlerle 2 ayrı çalışma yapıldı. Birinci çalışmada ADP (Sigma) sitimülasyonu yapılmaksızın akım sitometride direkt trombosit aktivasyonuna bakıldı. Bu amaçla tüpe 20 μl dilüe tam kan, 10μl anti CD61- FITC (Beckman Coulter, Marseille, France) ve 10μl anti CD62P- PE (Beckman Coulter, Marseille, France) eklendikten sonra 20 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. Diğer çalışmada ise; tüpe, hazırlanan trombosit süspansiyonundan 20μl ve 10μM ADP (final konsantrasyon) eklendi ve 37 °C'de 5dakika inkübe edildi. Süre sonunda 10μl anti CD61- FITC ve 10μl anti CD62P- PE monoklonal antikoları eklendi ve 20 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüpler hiç bekletilmeden akım sitometri cihazında (Beckman Coulter EPICS XL-MCL) okutuldu. Sonuçlar, EXPO 32 ADC software kullanılarak analiz edildi. Trombositler anti CD61 kullanılarak seçildi ve non-spesifik bağlanmalar ekarte edildikten sonra anti CD62P ile aktivasyon oranları yüzde olarak tespit edildi. Trombositlerin seçilme işlemi Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Trombositlerin flovsitometrede seçilmesi

P selektinin metabolik sendrom için bir risk faktörü olabileceği yönündeki farklı görüşler dikkate alınarak, hasta ve kontrol gruplarının metabolik sendrom parametreleri de çalışıldı. Olguların kan basınçları, standart cıvalı manometre ile, 15 dakikalık istirahati takiben yatar pozisyonda, sağ koldan, muayene başlangıcında ve bitiminde ölçüldü, ortalamaları alındı. Bel çevreleri IDF'e göre, mezura ile, olgular ayakta ve çıplak dururken, en alt kosta ile iliyak kenarın üst kenarı arasındaki bölgenin ortası ölçülerek elde edildi.

Açlık glukozları enzimatik kolorimetrik tayinle glukoz oksidaz yöntemi ile bakıldı. HDL kolesterolleri ve LDL kolesterolleri homojen enzimatik kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Trigliseritleri, enzimatik kolorimetrik tayin yöntemi ile ölçüldü. Glukoz, HDL, LDL, trigliserit değerleri Roche MODULAR DP biyokimya analizörü cihazında çalışıldı. Açlık insülin düzeyleri, mikropartikül enzim immünoasay yöntemi ile, Axsym (Abbott Diagnostic Division) cihazı ile çalışıldı. Tüm olgulara, 10-14 saat açlık sonrası, sabah açlık kanının alınmasını takiben 75 g glukoz (300 ml suda çözülmüş) 5 dakika içinde içirilerek oral glukoz tolerans testi yapıldı. 120. dakikada kan örnekleri alınarak glukoz düzeyleri çalışıldı. İnsülin dirençleri, HOMA-IR (Homeostasis Model Assesment) formülü ile hesaplandı; {Açlık Glukoz (mmol/l) X Açlık İnsülin (μ U/ml) } / 22.5.

3.3. İstatistik

İstatistiksel değerlendirme için Windows SPSS 12.0 paket programı kullanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi. Kullanılan istatistiksel testler: Deskriptif analiz, Bağımsız örnekler T-testi, Ki-kare ve Pearson korelasyon analizi idi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 32 hasta, 33 kontrol grubu alındı.

Hastaların ve kontrol grubunun karakteristik özellikleri ve laboratuvar verileri Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Hastaların ve kontrol grubunun karakteristik özellikleri ve laboratuvar verileri

	Hasta (n=32)	Kontrol (n=33)	<i>p</i>
PRL (mU/lt) \pm SD	1889,8 \pm 886,4	335,9 \pm 117,9	0*
Yaş (yıl) \pm SD	30,6 \pm 8	29,8 \pm 7,7	AD
VKİ (kg/m ²) \pm SD	26,8 \pm 5,4	24,8 \pm 5,2	AD
Bel çevresi (cm) \pm SD	81,8 \pm 11,5	80,1 \pm 11,2	AD
Kan basıncı (mmHg)	130/80	130/80	AD
Açlık kan şekeri (mg/dl) \pm SD	87,8 \pm 10,5	83,7 \pm 7,2	AD
120. dakika kan şekeri (mg/dl) \pm SD	106,4 \pm 34,2	94,4 \pm 23	AD
Açlık insülin (uUI/ml) \pm SD	9,1 \pm 6	8,9 \pm 5,5	AD
HOMA-İR \pm SD	2,1 \pm 1,6	1,9 \pm 1,3	AD
HDL (mg/dl) \pm SD	57,2 \pm 13,6	53,8 \pm 13,3	AD
Trigliserid (mg/dl) \pm SD	92,7 \pm 36,5	89,7 \pm 62,7	AD
Metabolik sendrom varlığı n (%)	3 (9,4)	2 (6,1)	AD

AD: Anlamlı değil

IDF kriterleri göz önünde bulundurularak, hastaların metabolik sendrom durumları değerlendirildi. Çalışma grubunda 3, kontrol grubunda 2 kişide metabolik sendrom mevcuttu, gruplar arasında metabolik sendrom mevcudiyeti açısından anlamlı fark yoktu. Diyabet açısından aile öyküleri sorgulandı, gruplar arasında anlamlı fark yoktu. PRL değerleri ile metabolik sendrom kriterleri arasındaki korelasyonda anlamlı ilişki izlenmedi.

Hiperprolaktinemisi olan tüm hastalarda makroprolaktin ölçümü yapıldı, %40'ın üzerinde çökme olanlar makroprolaktin pozitif olarak kabul edildi, hastaların 11'inde (%29) makroprolaktin pozitif olarak bulundu. Makroprolaktin (+) grupla, makroprolaktin (-); gerçek hiperprolaktinematik grup arasında bazal PRL değerleri açısından fark bulunamadı (Tablo 4.2.). Çalışma grubunun makroprolaktin pozitifliği olan ve gerçek PRL yüksekliği olan alt-grupları

arasında da metabolik sendrom kriterleri ve metabolik sendrom varlığı açısından fark bulunamadı.

PRL yüksekliği olan hastalarda, kliniğe başvuru nedenleri ve hastaların hipofiz manyetik rezonans (MRG) görüntüleme sonuçları değerlendirildi (Tablo 4.2., Tablo 4.3).

Tablo 4.2. PRL yüksekliği olan hastalarda başvuru nedenleri

	Makroprolaktin (-)* (n=21, %)	Makroprolaktin (+)* (n=11, %)	<i>p</i> *	Tüm hastalar (n=32, %)
Adet düzensizliği	6 (28,6)	5 (45,5)	AD	11 (34,4)
Galaktore	5 (23,8)	1 (9,1)	AD	6 (18,8)
İnfertilite	4 (19)	3 (27,3)	AD	7 (21,8)
Diğer **	6 (28,6)	2 (18,1)	AD	8 (25)

*İki grup karşılaştırılmıştır

**Diğer: saç dökülmesi, tüylenme, tesadüfen saptananlar, hipofiz insidentalomu

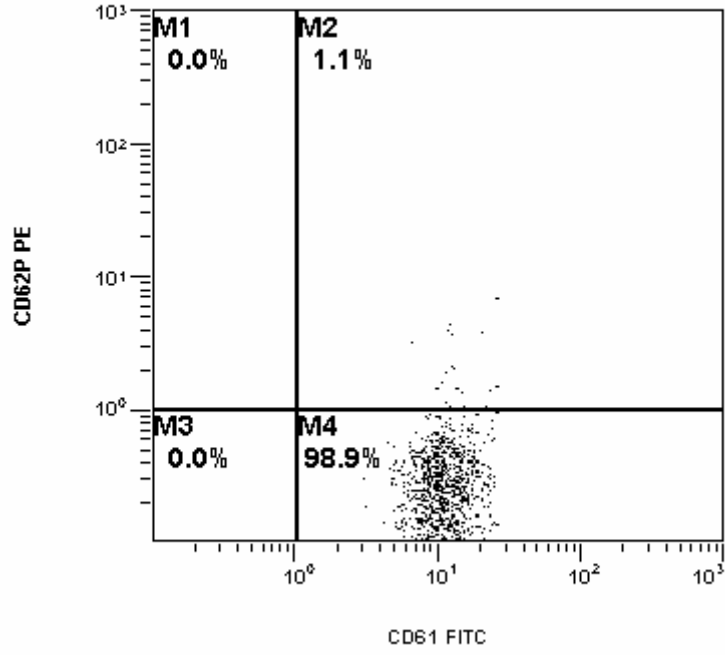
Tablo 4.3. PRL yüksekliği olan hastalarda (MRG) bulguları

	Makroprolaktin (-) (n=21, %)	Makroprolaktin (+) (n=11, %)	<i>P</i>
Mikroadenom	11 (52,5)	5 (45,5)	AD
Makroadenom	4 (19)	0	AD
Parsiyel empty sella (PES)	2 (9,5)	0	AD
Normal	4 (19)	6 (54,5)	0,04*

Kontrol grubu, gerçek hiperprolaktinemi grubu ve makroprolaktinematik grubun P selektin ekspresyonlarının örnekleri Şekil 4.1., 4.2. ve 4.3.'de gösterilmiştir.

(F1)[A]

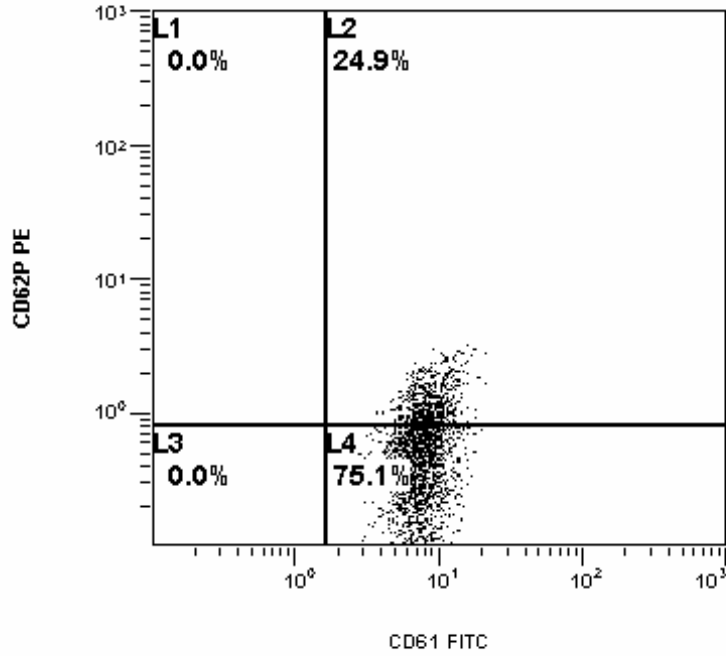
001.LMD : FL1 LOG/FL2 LOG - ADC



Şekil 4.1. Kontrol grubunda P seletin ekspresyonu

(F2)[A]

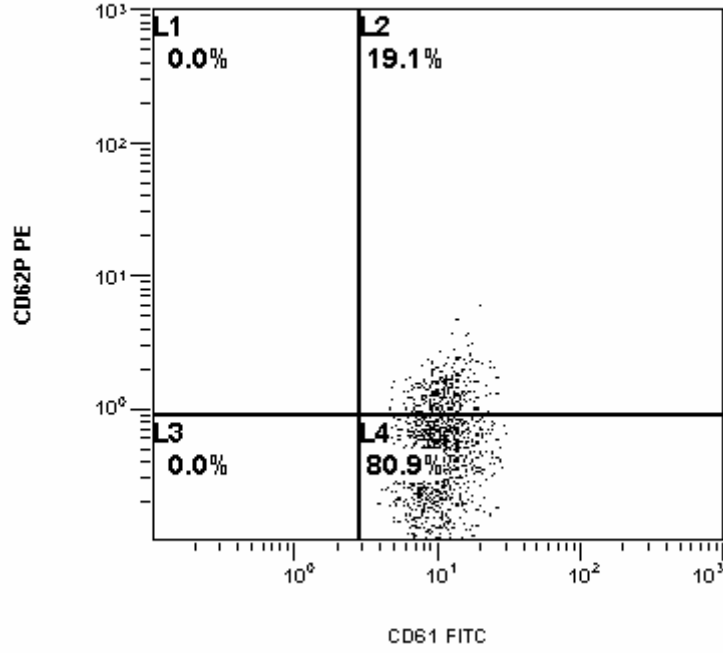
002.LMD : FL1 LOG/FL2 LOG - ADC



Şekil 4.2. Gerçek hiperprolaktinemi grubunda P seletin ekspresyonu

(F1)[A]

001.LMD : FL1 LOG/FL2 LOG - ADC



Şekil 4.3. Makroprolaktin grubunda Pselektin ekspresyonu

Kontrol grubu, hiperprolaktinemi grubu ve makroprolaktin grubu P selektin düzeyleri açısından karşılaştırıldı (Tablo 4.4., Tablo 4.5., Tablo 4.6., Tablo 4.7.)

Tablo 4.4. Hastalar ve kontrol grubunun trombosit aktivasyonu

	Hasta (n=32)	Kontrol (n=33)	<i>p</i>
P selektin (%)	1,3±1,2	1,6±0,8	AD
P selektin (ADP ile stimüle edilmiş) (%)	14,2±15,5	6,7±5,2	0,01*

Tablo 4.5. PRL yüksekliği olan grupta makroprolaktin durumuna göre trombosit aktivasyonu

	Makroprolaktin (-) (n=21)	Makroprolaktin (+) (n=11)	<i>P</i>
P seletin (%)	1,3±1,4	1,3±0,7	AD
P seletin (ADP ile stimüle edilmiş) (%)	13,6±16,4	15,3±14,4	AD

Tablo 4.6. Makroprolaktin (-) hastalarla, kontrol grubunda trombosit aktivasyonu

	Makroprolaktin (-) (n=21)	Kontrol (n=33)	<i>P</i>
P seletin (%)	1,3±1,4	1,6±0,8	AD
P seletin (ADP ile stimüle edilmiş) (%)	13,6±16,4	6,7±5,2	0,03*

Tablo 4.7. Makroprolaktin (+) hastalarla, kontrol grubunda trombosit aktivasyonu

	Makroprolaktin (+) (n=11)	Kontrol (n=33)	<i>p</i>
P seletin (%)	1,3±0,7	1,6±0,8	AD
P seletin (ADP ile stimüle edilmiş) (%)	15,3±14,4	6,7±5,2	0,005*

PRL ile P seletin düzeyi arasında korelasyon olup olmadığına bakıldı, PEG ile muamele edilmemiş PRL düzeyleri ile ADP ile stimüle edilmiş P seletin düzeyleri pozitif korelasyon gösterirken ($r=0,3$, $p<0,02$), PEG ile muameleden sonra değerlendirilen PRL düzeyleri ile P seletin arasında korelasyon bulunamadı.

Makroprolaktin pozitif olan grupta, %40'ın üzerinde çökme olup da, PRL değerleri hala yüksek olan hastaları makroprolaktin (-) olarak kabul ederek yapılan istatistik sonuçlarında da farklı bir bulgu elde edilememiştir.

5. TARTIŞMA

Vücuttaki hemen her dokuda reseptörü gösterilmiş olan PRL'in, eskiden sanıldığı gibi, sadece laktasyon ve gebelikle ilgili olmadığı, farklı mekanizmalar üzerinden de etkili olduğu son dönemde ortaya konmuştur. Bu farklı etkiler içinde şüphesiz en dikkati çekenlerin başında metabolizma ve trombosit fonksiyonları ile ilgili olanlar gelmektedir (5, 191, 197-201).

İdyopatik hiperprolaktinemisi olan hastalarda, biyolojik olarak inaktif olduğu düşünülen makroprolaktin pozitifliğinin tespit edilmesi, PRL yüksekliği olan hastalarda, tedavi ve izlem yaklaşımlarına da yeni bir boyut getirmiştir (212, 217).

Bu çalışmada, trombosit fonksiyonları ve PRL ilişkisini incelerken, daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak, hastaların makroprolaktin düzeylerine bakılarak, gerçek PRL yüksekliği olan olgular saptandı. Pro-trombotik sürecin tetiklendiği bir tablo olduğu kanıtlanmış olan metabolik sendrom kriterleri ve varlığına bakılarak da trombosit fonksiyonları üzerine etkiyebilecek olası metabolik durumların gösterilmesi hedeflendi. Kontrol grubu ve çalışma grubunda; VKİ, bel çevreleri, lipid profilleri, açlık plazma glukoz, OGTT, açlık insülin, HOMA-İR düzeyleri ve metabolik sendromun bir bütün olarak varlığı arasında fark bulunamadı. Grupların anılan parametrelere göre farklılık göstermemeleri ve gerçek PRL yüksekliğinin saptanması ile hiperprolaktineminin trombosit fonksiyonları üzerine olan net etkisi değerlendirilmiş oldu.

Doknic ve arkadaşlarının (223), 11 kadın, 12 erkek hastada yaptığı çalışmada, hiperprolaktinematik hastaların ağırlık ve VKİ'leri, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Hastalar, hiperprolaktinemi tedavisinde kullanılan bir dopamin agonisti olan bromokriptin ile 2 yıl boyunca tedavi edildiklerinde, 6. ayın ve 2. yılın sonunda, ağırlık ve VKİ'de kontrol grubuna göre anlamlı azalma olmuştur. PRL'in, lipojenezi artırarak, santral sinir sitemindeki dopaminerjik tonüsü azaltarak, hipotalamusun düzenlediği vücut kompozisyonu ve sirkadiyen nöroendokrin aktiviteyi baskılayarak, kilo artışına neden olduğu bildirilmiştir. Bromokriptinin ise dopaminerjik tonüsü artırarak kilo kaybına neden olduğu düşünülmüştür (223). Kırkiki prolaktinoma ve 36 nonfonksiyone hipofiz adenomu olan hasta karşılaştırılmış, prolaktinoma hastalarının ağırlığı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş ve tedavi sonunda, prolaktinoma grubundaki hastalarda anlamlı kilo kaybı olmuştur (222). Başka bir çalışmada ise, 16 hiperprolaktinematik hasta ve 20 kişiden oluşan kontrol

grubu arasında başlangıçta bir fark bulunamazken, tedavi sonunda, istatistiksel anlamlı olmasa da, çalışma grubunda kilo kaybı görülmüştür (224). Bu çalışmada, sensitif C-reaktif protein (CRP), fibrinojen, homosistein, ürik asit gibi ateroskleroz için inflamatuvar belirteçlere ve serum glukozu ile insüline bakılmıştır. Hastaların insülin duyarlılıkları ve endotel fonksiyonları değerlendirilmiştir. Hiperprolaktinematik grupta, homosistein, CRP ve ürik asit düzeyleri daha yüksek, insülin duyarlılığı daha düşük saptanmıştır. Endotel fonksiyonları da kontrol grubundan farklı olarak bozulmuş olarak izlenmiştir. Bromokriptin ile tedaviden sonra tüm bu parametrelerin düzeldiği gözlenmiştir. Bu çalışmada, hiperprolaktineminin ateroskleroz için bir risk faktörü olarak kabul edilmesi ve bu nedenle mutlaka tedavi edilmesi gerektiği öne sürülmüştür (224). Bromokriptin ile yapılan çalışmalarda, VKİ ve insülin direncindeki düzelmenin, bromokriptinin dopaminerjik tonüs üzerine olan direkt etkisi ile ilgili olabileceği söylenebilir. Seri ve arkadaşlarının (225), 15 hiperprolaktinematik, 20 normoprolaktinematik hasta ile yaptıkları çalışmada, başlangıçta hiperprolaktinematik grupta, VKİ, açlık plazma insülini ve insülin direnci anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Açlık glukozu ve lipid parametreleri yönünden fark bulunmamıştır. Hastalara 12 haftalık bir dopamin agonisti olan kabergolin verilmiş, 12 haftanın sonunda, açlık insülin düzeylerinde, HOMA-IR indeksleri anlamlı olarak düşüş izlenmiştir. VKİ’de ve lipid profilinde anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Aynı çalışmada, inflamasyon belirteçlerinden tümör nekroz faktörü alfa (TNF a), CRP, E selektin, IL-6 düzeyleri ölçülmüş, CRP hiperprolaktinematik hastalarda daha yüksek bulunmuş, tedavi sonrası CRP ve E selektin düzeylerinde düzelme gözlenmiştir (225). Yine bu çalışmada da kabergolinin dopaminerjik tonüs üzerine olan etkisi tartışılmış, ancak hiperprolaktineminin düzeltilmesinin kendisinin de bu etkileri ortaya çıkarabileceği gerçeğinin göz ardı edilmemesi salık verilmiştir (225). Bu çalışmalarda, makroprolaktinemi bakılmamıştır. Her ne kadar bizim çalışmamızda, hastalar ve kontrol grubu arasında metabolik sendrom ve insülin direnci açısından bir fark bulunmamış olsa da, literatürdeki çalışmalar, hiperprolaktineminin aterosklerotik süreçlerle birlikteliğini bildirmektedir.

Metabolik sendrom ve insülin direnci açısından, gruplar arasında fark bulunmaması, PRL-trombosit fonksiyonları arasındaki saf ilişkiyi göstermesi sebebi ile, çalışmamızın gücünü artırmaktadır.

Çalışmamızda PRL yüksekliği olan hastalarda, makroprolaktin sıklığı literatüre benzer şekilde %29 olarak bulunmuştur (212, 215, 216).

İlk olarak idyopatik hiperprolaktinemisi olan hastalarda keşfedilen makroprolaktineminin halen klinik önemi olup olmadığı tartışmalıdır (212, 217). Donadio ve arkadaşlarının (233) 111 kadın, 24 erkek hastada yaptığı çalışmada, bizim çalışmamızdakine benzer şekilde, bazal PRL düzeylerinin gruplar arasında farklılık göstermediği bulunmuştur. Başvuru nedenlerine bakıldığında, hastaların, genel olarak %31,5’u galaktore, %59,6’sı adet düzensizliği ile başvurmuş, her iki grupta da aynı şikayetle başvuran hastalar bulunmasına rağmen, gerçek hiperprolaktinemisi olan hastalarda, galaktore ve amenore şikayelerinin istatistiksel olarak daha ön planda olduğu görülmüştür. Diğer başvuru nedenlerinden ise bahsedilmemiştir. Çalışmamızda, hastaların klinik başvuru nedenleri arasında fark bulunmamıştır. Yukardaki çalışmada, radyolojik görüntüleme sonuçlarına göre olgular değerlendirilmiş, sadece PES sıklığı bakımından gruplar benzer bulunmuş, mikroadenom ve makroadenom gerçek hiperprolaktinemi grubunda daha sık iken, normal bulgular makroprolaktinemi grubunda daha fazla gözlenmiştir (233). Çalışmamızda ise, makroprolaktinematik gruptaki hastaların yarısında normal MRG bulguları vardı ve gruplar arasında anlamlı fark mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da, makroprolaktinematik grupta hiç PES ve makroadenom görülmedi, yine istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, 5 hastada (%45,5), kontrol grubuna benzer oranda, mikroadenom görüldü. Çalışmamızı tasarlarken, sadece PRL yüksekliği olan hastalara MRG yapılması planlandı ve bu açıdan kontrol grubunun görüntülemelerinin olmaması, sınırlayıcı bir faktör olarak değerlendirilebilir. Mikroadenom oranımız, beklenenden yüksek olsa da, genel toplumda %7-20 arasında hipofiz mikroinsidentalomalar görülebileceği göz önünde bulundurulabilir (234). Oranın yüksek olması bazı hastaların başvuru nedeninin hipofizer insidentaloma olması ile de açıklanabilir. Yine Donadio’nun çalışmasında (233), klinik ve radyolojik bulguların tekrar değerlendirilmesi ile hastaların %20’sinde teşhis prolaktinomadan fonksiyon göstermeyen hipofiz adenomuna dönmüştür (233). Sonuçta, bu çalışmada prolaktinoma düşündürülen klinik bulgular farklı nedenlere bağlı olarak görülebileceğinden ve tedavi edilecek hasta sayısında tekrar değerlendirme ile %20 oranında azalma izlendiğinden, PRL yüksekliği olan hastalarda ayırıcı tanı için makroprolaktin bakılması önerilmektedir (234). Leite ve arkadaşları (13), 11 makroprolaktinematik hastanın %64’ünün galaktore, adet düzensizliği ya da her ikisi nedeniyle başvurduğunu göstermişlerdir. Hauache ve arkadaşları (216), gerçek hiperprolaktinematik hastaların daha fazla semptomatik olduğunu (%90), bununla birlikte makroprolaktinematik grubun semptom sıklığının %54 olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmaların tersine, Fahie-Wilson ve arkadaşları (235), 16 makroprolaktinematik hastanın 2’sinde adet düzensizliği ile ilgili şikayetler tespit ederken, Leslie ve arkadaşlarının (236)

taradığı 55 makroprolaktinematik hastanın sadece %20'sinde adet düzensizliği veya galaktore PRL ölçümü için endikasyon oluşturmuştur. Diğer PRL ölçülme nedenleri ise halsizlik, menopozal yakınmalar ve menorajik yakınmalar olarak bildirilmiştir. Suliman ve arkadaşları (237), hiperprolaktinematik olarak kabul edilmiş olan hastaları, geriye-dönük olarak tekrar incelemiştir. Analiz sonucunda, gerçek hiperprolaktinematik olan ve makroprolaktinematik olan olgular karşılaştırıldığında, adet düzensizliği sırasıyla %84 ve %57, galaktore; sırasıyla %63 ve %29 olarak saptanmıştır. Gerçek hiperprolaktinemi grubunda, östrojen düşük, FSH ve LH düşük veya uygunsuz şekilde normal bulunurken, makroprolaktinematik grupta östrojen, FSH veya LH düzeyleri normal bulunmuştur. Yine bu çalışmada, 15 makroprolaktinematik hastanın 13'üne medikal tedavi verildiği, galaktore nedeniyle başvuran hastaların tedaviye cevap verdiği, adet düzensizliği nedeniyle gelen olguların ise tedaviden fayda görmediği gözlenmiştir. Galaktore olan hastaların tedaviden fayda görmeleri, dopamin agonistlerinin normoprolaktinematik olgularda da diğer nedenlerle ortaya çıkan galaktorede faydalı olmasına ve meme dokusunun PRL düzeyine aşırı duyarlı olmasına bağlanmıştır (237). Bu hastalardan birisi yeniden değerlendirilmiş PKOS teşhisi konmuş, klomifenle başarılı gebelik sağlanmış, bir diğerinde ise fark edilen tubal hasar onarılmıştır (237).

Sonuçta, biyolojik olarak inaktif olduğu düşünülen makroprolaktinin, PRL yüksekliği ile başvuran hastalarda ayırıcı tanı için değerlendirilmesi gereklidir. Adet düzensizliği, galaktore yakınmalarının başka nedenlerle de ortaya çıkabileceği ve sağlıklı popülasyonda da anormal MRG bulgularının görülebileceği her zaman akılda tutulmalıdır. Böylece gereksiz tedaviler önlenebilir.

Wallaschofski ve arkadaşları (19), 44 gebe kadında ve 22 prolaktinomalı olguda, P selektin ile PRL ilişkisini inceledikleri ilk çalışmada, P selektin düzeyleri ile serum PRL düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulmuşlardır (19). Aynı grup, VTE öyküsü olan hastalarda, VTE için bilinen risk faktörleri olan ve olmayanların serum PRL değerlerini karşılaştırmış ve risk faktörü olmayan olguların PRL düzeylerini daha yüksek bulmuşlardır (198). Antipsikotik kullanan hastalarda artmış tromboz eğiliminin irdelendiği başka bir çalışmalarında, antipsikotik tedavi alan 20 hasta araştırılmıştır (197). Bu hastaların 6'sı normoprolaktinematik, gerisi hiperprolaktinematik olarak bulunmuştur. Hastalar sağlıklı kontrol grubuyla da karşılaştırılmıştır (n=100). Bu çalışmada da, serum PRL değerleri ile uyarılmış P selektin düzeyleri pozitif bir korelasyon göstermiştir. Hiperprolaktinematik hastalarda, P selektin ile ölçülen trombosit aktivasyon düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (197). Aynı

araştırmacılar, trombosit aktivasyonunda leptinin rolüne de bakmışlar, PRL'e göre daha zayıf olmakla birlikte, leptinin de trombosit aktivasyonunda rol oynayabileceğini göstermişlerdir (199, 200). Bu bilgilerden yola çıkararak, iskemik serebrovasküler olay (CVO) ya da geçici iskemik atak geçiren 36 hastada PRL ve leptin düzeylerine bakmışlar, leptin ile P selektin arasında bir korelasyon bulamazken, PRL ile P selektin arasında pozitif bir korelasyon bulmuşlardır (201). Kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında da, CVO geçiren hastalarda, PRL düzeylerini ve P selektin düzeylerini anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardır. Buradan yola çıkararak, artmış PRL düzeylerinin, CVO sırasında meydana gelen trombosit aktivasyonundan sorumlu bir faktör olabileceğini savunmuşlardır (201). Raaz ve arkadaşlarının (238), 21 akut koroner sendromlu (AKS), 10 stabil anjina pektorisli ve 10 kontrolle yaptığı çalışmada, AKS hastalarında PRL düzeyi ve trombosit aktivasyonu diğer 2 gruba göre daha yüksek bulunmuştur. En yüksek PRL ve trombosit aktivasyonu düzeyleri, AKS hastalarının alt grubu olan akut miyokardiyal enfarktüs geçiren hastalarda saptanmıştır.

Çalışmamızda, PRL ile P selektin düzeylerinin, daha önce yapılan çalışmalara paralel olarak, pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur ($r=0,3$, $p=0,02$), PEG ile işlem sonrası bakılan PRL düzeyi ise P selektin düzeyleri ile korelasyon göstermemiştir ($p=0,9$). Kontrol grubu ile tüm hiperprolaktinemisi olan hastaları karşılaştırdığımızda, gruplar arasında P selektin düzeyleri arasında fark izlenmiştir.

Son bahsedilen çalışmalarda (201, 238) söz edildiği gibi, PRL'in, stresle ilgili pek çok durumda serumda arttığı bilinen bir gerçektir (4, 16, 173, 174). Wallaschowski ve arkadaşları (19), yaptıkları ilk çalışmada, TRH ile uyarılan akut PRL ykseklisinde de trombositlerin normalden farklı olarak, daha fazla aktive olduğunu göstermişlerdir. Bu durumda, PRL'in akut olarak, dakikalar içinde yükselmesi de, uzun süreli ykseklide de trombosit aktivasyonunda artışa neden olabilmektedir. Buradan yola çıkararak, akut trombotik olaylarda, PRL'in, hastalığın ciddiyetini gösteren bir belirteç olarak kullanılması gündeme gelebilir.

Biz, şimdiye kadar yapılan çalışmalardan farklı olarak, biyolojik olarak inaktif olduğu söylenen makroprolaktin değerlerini de ölçtük (11, 212, 217). Bundaki amacımız, gerçek PRL ykseklide olan hastaları belirlemektir, ancak tıpkı gerçek PRL ykseklide olan hastalarda olduğu gibi, makroprolaktinematik hastalarda da trombosit aktivasyonunun kontrol grubuna göre, anlamlı olarak daha yüksek olduğunu saptadık. Hiperprolaktinematik grupta makroprolaktinemisi olan ve olmayan hastaların arasında ise trombosit aktivasyonu açısından

fark izlemedik. Biyolojik olarak inaktif olduğu düşünülmesine rağmen, makroprolaktin grubunda da trombosit aktivasyonu artmıştı. Bu bulgumuz, kullandığımız makroprolaktin tayin yönteminin duyarlılığının tartışılmasını gerektirebilir. Yapılan çalışmalarda JFK yöntemi ile oldukça iyi bir korelasyon gösteriyor olsa da, PEG yöntemiyle ölçülen makroprolaktin düzeyleri, JFK yöntemi ile ölçülen düzeylerden farklılık gösterebilir (239, 240). PEG ile yapılan ölçümlerde makroprolaktin düzeyleri genelde daha yüksek bulunabilmektedir. Suliman ve arkadaşları (237), JFK yöntemi ile ölçülen serumlarda makroprolaktin sıklığını, %2-9, PEG ile ölçüm sonrasında ise %30-36 oranlarında bulmuşlardır. Sebep olarak, PEG ile monomerik PRL'inin bir kısmının da çökebileceği ileri sürülmüştür. PEG yöntemi ile her PRL ölçüm metodu uyumlu olmadığından, laboratuvarların, ölçüm yaptıkları immünoyöntemde göre kendi aralıklarını benimsemeleri ve kullandıkları yöntemi JFK ile karşılaştırmaları önerilmektedir (212, 217). Olukoga ve Kane (241), makroprolaktinemi olan 3 hastada, PEG ile muameleden sonra %40'ın üzerinde çökme olmasına rağmen, serum PRL değerleri yüksekliğinin sebat ettiğini izlemiştir. Bu bilgi, bazı hastalarda, makroprolaktin pozitifliğinin yanında, monomerik PRL'in de patolojik olarak yüksek olabileceğini göstermiştir. Bu olguların gerçek hiperprolaktinematik olarak kabul edilmesi gerektiğini savunan araştırmacılar vardır (212). Makroprolaktin %40'ın üzerinde çöktükten sonra, geri kalan monomerik PRL normal aralıklarda ise olguların makroprolaktin pozitif, geride kalan monomerik PRL hala normal aralıkların üzerinde ise olguların gerçek hiperprolaktinematik olarak kabul edilmesini önerenler de vardır (212). Makroprolaktin pozitif grupta, trombosit aktivasyonunun, gerçek hiperprolaktinemi grubuna benzer şekilde yüksek çıkmasının bir diğer nedeni de, makroprolaktin molekülünü oluşturan PRL-Ig kompleksinin de trombosit agregasyonuna yol açabilmesi olabilir. Makroprolaktin pozitif olan grupta, aslında monomerik PRL yüksekliği olan olguların da bulunması, bu durumu açıklayabilir. Ancak %40'ın üzerinde çökme olup da, PRL değerleri hala yüksek olan hastaları makroprolaktin (-) olarak kabul ederek yapılan istatistik sonuçlarında da farklı bir bulgu elde edilememiştir.

Sonuç olarak, şimdiye kadar yapılan çalışmalar ve yaptığımız bu çalışmayla, tromboz, ateroskleroz ve ilgili durumlar için bir belirteç olarak kabul edilen P selektin ekspresyonu için hiperprolaktineminin bağımsız bir risk faktörü olduğunu söyleyebiliriz. Vücutta hemen her dokuda eksprese edilen ve reseptörü olan PRL, fizyolojik olarak gebelik ve laktasyon dönemi dışında, hipofizer adenomlarından salgılanmasının yanında obezite, PKOS, akut stres gibi durumlarda da salgılanmaktadır. PRL yüksekliği ile giden bu gibi durumlarda, olası riskleri

engellemek için PRL düşürmeye yönelik tedavi verilip vermeyeceğimiz, ya da PRL’i de, riskleri belirlemede bir belirteç olarak kullanıp kullanamayacağımızı şüphesiz ki zaman içinde yapılan diğer çalışmalar gösterecektir. Asemptomatik hiperprolaktinemisi olan, ya da makroprolaktinematik hastaları tedavi edip etmeyeceğimize karar vermek için de yine daha fazla çalışmaya ihtiyacımız vardır.

KAYNAKLAR:

1. Riddle O, Bates RW, Dykshorn SW. The preparation, identification and assay of prolactin-a hormone of anterior pituitary. *Am J Physiol* 105: 191-216, 1933.
2. Ben-Jonathan N, Mershon JL, Allen DL, Steinmetz RW. Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, functions and clinical aspects. *Endocr Rev* 17: 639–669, 1996.
3. Bole-Feysot C, Goffin V, Edery M, Binart N, Kelly PA. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr Rev* 19: 225–268, 1998.
4. Freeman ME, Kanyiscka B, Lerant A, Nagy G. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev* 80: 1523–1631, 2000.
5. Ben-Jonathan N, Hugo ER, Brandebourg TD, LaPensee CR. Focus on prolactin as a metabolic Hormone. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 17: 110-116, 2006
6. Owerbach D, Rutter WJ, Cooke NE, Martial JA, Shows TB. The prolactin gene is located on chromosome 6 in humans. *Science* 212: 815-816, 1981.
7. Sinha YN. Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. *Endocr Rev* 16:354–369, 1995.
8. Willoughby JO, Jervois PO, Menadue MF, Blessing WW. Activation of GABA receptors in the hypothalamus stimulates secretion of growth hormone and prolactin. *Brain Res* 374: 119–125, 1986.
9. Sinha Yn. Structural variants of prolactin. *Pars Distalis of the Pituitary Gland Structure, Function and Regulation*, (Yoshimura F and Gorbman A, ed) Amsterdam, Elsevier Science, 399–412, 1986.
10. Sun PQ, Lou LM, Maurer RA. Regulation of activating transcription factor-1 and the cAMP response element-binding protein by Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinases type I, II, and IV. *J Biol Chem* 271: 3066–3073, 1996.

11. Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T, Moridera K, Hino M, Kurahachi H. A normal ovulatory woman with hyperprolactinemia: presence of anti-prolactin autoantibody and the regulation of prolactin secretion. *Acta Endocrinol* 126: 497–500, 1992.
12. Hattori N, Ishihara T, Ikekubo K, Moridera K, Hino M, Kurahachi H. Autoantibody to human prolactin in patients with idiopathic hyperprolactinemia. *J Clinical Endocrinol Metabol* 75: 1226–1229, 1992.
13. Leite V, Cosby H, Sobrinho LG, Fresnoza MA, Santos MA, Friesen HG. Characterization of big, big prolactin in patients with hyperprolactinaemia. *Clin Endocrinol* 37: 365–372, 1992.
14. Fraser IS, Zhuang GL. Polymers of prolactin and their clinical significance. *Obstetr Gynecol Survey* 45: 515– 520, 1990.
15. Liu JW, Ben Jonathan N. Prolactin-releasing activity of neurohypophysial hormones: structure-function relationship. *Endocrinology* 134:114–118, 1994.
16. Horseman ND, Gregerson KA. Prolactin. *Endocrinology*. In DeGroot LJ, Jameson JL (eds). Fifth edition. Philadelphia, WB Saunders, Vol. 1, 309–322, 2001.
17. Kanyicska B, Lerant A, Freeman ME. Endothelin is an autocrine regulator of prolactin secretion. *Endocrinology* 139:5164– 5173, 1998.
18. Sarkar DK, Kim KH, Minami S. Transforming growth factor beta 1 messenger RNA and protein expression in the pituitary gland: its action on prolactin secretion and lactotropic growth. *Mol Endocrinol* 6:1825–1833, 1992.
19. Shah GV, Pedchenko V, Stanley S, et al. Calcitonin is a physiological inhibitor of prolactin secretion in ovariectomized female rats. *Endocrinology* 137:1814–1822, 1996.
20. Bredow S, Kacso' H B, Oba' L F JR, Fang J, Krueger JM. Increase of prolactin mRNA in the rat hypothalamus after intracerebroventricular injection of VIP or PACAP. *Brain Res* 660: 301–308, 1994.

21. Devito WJ, Avakian C, Stone S, Ace CI. Estradiol increases prolactin synthesis and prolactin messenger ribonucleic acid in selected brain regions in the hypophysectomized female rat. *Endocrinology* 131: 2154–2160, 1992.
22. Katznelson L, Riskind PN, Saxe VC, Klibanski A. Prolactin pulsatile characteristics in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 83:761–764, 1998.
23. Reichlin S. TRH: historical aspects. *Ann NY Acad Sci* 553: 1–6, 1989.
24. Devito WJ, Stones S, Vakian CA. Stimulation of hypothalamic prolactin release by veratridine and angiotensin II in the female rat: effect of ovariectomy and estradiol administration. *Neuroendocrinology* 54: 391–398, 1991.
25. Peters LL, Hoefler MT, Ben-Jonathan N. The posterior pituitary: regulation of anterior pituitary prolactin secretion. *Science* 213:659–661, 1981.
26. Asa SL, Kelly MA, Grandy DK, Low MJ. Pituitary lactotroph adenomas develop after prolonged lactotroph hyperplasia in dopamine D2 receptor-deficient mice. *Endocrinology* 140: 5348–5355, 1999.
27. Sassin JF, Frantz AG, Kapen S, Weitzman ED. The nocturnal rise of human prolactin is dependent upon sleep. *J Clin Endocrinol Metab* 37: 436, 1973
28. Miller WL, Eberhardt NL. Structure and evolution of the growth hormone gene family. *Endocr Rev* 4: 97-130, 1983.
29. Goffin V, Shiverick KT, Kelly PA, Martial JA. Sequence-function relationships within the expanding family of prolactin, growth hormone, placental lactogen and related proteins in mammals. *Endocr Rev* 17: 385-410, 1996.
30. Horseman ND, Yu-Lee LY. Transcriptional regulation by the helix bundle peptide hormones: growth hormone, prolactin, and hematopoietic cytokines. *Endocr Rev* 15: 627-649, 1994.

31. Bazan JF. Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:6934–6938, 1990.
32. Yamashita S, Takayanagi A, Shimizu N. Temporal and cell-type specific expression of c-fos and c-jun protooncogenes in the mouse uterus after estrogen stimulation. *Endocrinology* 137:5468–5475, 1996.
33. Bazan JF. Haemopoietic receptors and helical cytokines. *Immunol Today* 11: 350–354, 1990.
34. Hu ZZ, Zhuang L, Meng J, Dufau ML. Transcriptional regulation of the generic promoter III of the rat prolactin receptor gene by C/EBPbeta and Sp1. *J Biol Chem* 273: 26225–26235, 1998.
35. Hu Z, Dufau ML. Multiple and differential regulation of ovarian prolactin receptor messenger RNAs and their expression. *Biochem Biophys Res Commun* 181: 219–225, 1991.
36. Hu Z, Zhuang L, Dufau ML. Multiple and tissue-specific promoter control of gonadal and nongonadal prolactin receptor gene expression. *J Biol Chem* 271: 10242–10246, 1996.
37. Kelly PA, Djiane J, Postel-Vinay M-C, Edery M. The prolactin/ growth hormone receptor family. *Endocr Rev* 12: 235–251, 1991.
38. Berwaer M, Martial JA, Davis JR. Characterization of an up-stream promoter directing extrapituitary expression of the human prolactin gene. *Mol Endocrinol* 8: 635–642, 1994.
39. Postel-Vinay M-C, Belair L, Kayser C, Kelly PA, Djiane J. Identification of prolactin and growth hormone binding proteins in rabbit milk. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 6687–6690, 1991.
40. Nagano M, Kelly PA. Tissue distribution and regulation of rat prolactin receptor gene expression. Quantitative analysis by polymerase chain reaction. *J Biol Chem* 269: 13337–13345, 1994.

41. Murakami M, Narazaki M, Hibi M, Yawata H, Yasukawa K, Hamaguchi M, Taga T, Ishimoto TK. Critical cytoplasmic region of the interleukin-6 signal transducer, gp130, is conserved in the cytokine receptor family. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 11349–11353, 1991.
42. Rilemma JA, Campbell GS, Lawson DM, Carter-Su C. Evidence for a rapid stimulation of tyrosine kinase activity by prolactin in Nb2 rat lymphoma cells. *Endocrinology* 131: 973–975, 1992.
43. Lebrun J-J, Ali S, Sofer L, Ullrich A, Kelly PA. Prolactin induced proliferation of Nb2 cells involves tyrosine phosphorylation of the prolactin receptor and its associated tyrosine kinase JAK2. *J Biol Chem* 269: 14021–14026, 1994.
44. Ihle JN, Witthuhn BA, Quelle FW, Yamamoto K, Thierfelder WE, Kreider B, Silvennoinen O. Signalling by the cytokine receptor superfamily: Jaks and Stats. *Trends Biochem Sci* 19: 222–227, 1994.
45. Campbell GS, Argetsinger LS, Ihle JN, Kelly PA, Rilemma JA, Carter-Su C. Activation of JAK2 tyrosine kinase by prolactin receptors in Nb2 cells and mouse mammary gland explants. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 5232–5236, 1994.
46. Chang WP, Ye Y, Clevenger CV. Stoichiometric structurefunction analysis of the prolactin receptor signaling domain by receptor chimeras. *Mol Cell Biol* 18: 896–905, 1998.
47. Ferrag F, Goffin V, Buteau H, Kelly PA. Immune function of prolactin (PRL) and signal transduction by PRL/GH/cytokine receptors: specificity, redundancy and lessons from chimaeras. *Cytokines Cell Mol Ther* 3: 197–213, 1997.
48. Ferrag F, Pezet A, Chiarenza A, Buteau H, Nelson BH, Goffin V, Kelly PA. Homodimerization of IL-2 receptor beta chain is necessary and sufficient to activate Jak2 and downstream signaling pathways. *FEBS Lett* 421: 32–36, 1998.
49. Rui H, Djeu JY, Evans GA, Kelly PA, Farrar WL. Prolactin receptor triggering. Evidence for rapid tyrosine kinase activation. *J Biol Chem* 267: 24076–24081, 1992.

50. Goupille O, Daniel N, Bignon C, Jolivet G, Djiane J. Prolactin signal transduction to milk protein genes: carboxy-terminal part of the prolactin receptor and its tyrosine phosphorylation are not obligatory for JAK2 and STAT5 activation. *Mol Cell Endocrinol* 127: 155–169, 1997.
51. Yao XQ, Liu Y, Tung F, Desir GV. Genomic structure and regulation of Kcn1, a cGMP-gated potassium channel. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 271: F37–F41, 1996.
52. Pezet A, Ferrag F, Kelly PA, Edery M. Tyrosine docking sites of the rat prolactin receptor required for association and activation of Stat5. *J Biol Chem* 272: 25043–25050, 1997.
53. Jabbour HN, Critchley HO, Boddy SC. Expression of functional prolactin receptors in nonpregnant human endometrium: janus kinase-2, signal transducer and activator of transcription-1 (STAT1), and STAT5 proteins are phosphorylated after stimulation with prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 2545–2553, 1998.
54. Goffin V, Ferrag F, Kelly PA. Molecular aspects of prolactin and growth hormone receptors. In: *Advances in Molecular and Cellular Endocrinology*, (ed) LeRoith D. London: JAI, 1–33, 1998.
55. Finidori J, Kelly PA. Cytokine receptor signalling through two novel families of transducer molecules: Janus kinases and signal transducers and activators of transcription. *J Endocrinol* 147: 11–23, 1995.
56. Beadling C, Babbage JW, Cantrell DA. Interleukin-2 activation of STAT5 requires the convergent action of tyrosine kinases and a serine/threonine kinase pathway distinct from the Raf1/ ERK2 MAP kinase pathway. *EMBO J* 15: 1902–1913, 1996.
57. Luo G, Yu-Lee L. Transcriptional inhibition by Stat5. Differential activities at growth-related versus differentiation-specific promoters. *J Biol Chem* 272: 26841–26849, 1997.

58. Nemeth E, Bole-Feysot C, Tashima LS. Suppression subtractive hybridization (SSH) identifies prolactin stimulation of p38 MAP kinase gene expression in Nb2 T lymphoma cells: molecular cloning of rat p38 MAP kinase. *J Mol Endocrinol* 20: 151–156, 1998.
59. Nohara A, Ohmichi M, Koike K, Jikihara H, Kimura A, Masuhara K, Ikegami H, Inoue M, Miyake A, Murata Y. Prolactin stimulates mitogen-activated protein kinase in human leiomyoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 238: 473–477, 1997.
60. Piccoletti R, Maroni P, Bendinelli P, Bernelli-Zazzera A. Rapid stimulation of mitogen-activated protein kinase of rat liver by prolactin. *Biochem J* 303: 429–433, 1994.
61. Buckley AR, Rao Y-P, Buckley DJ, Gout PW. Prolactin-induced phosphorylation and nuclear translocation of MAP kinase in Nb2 lymphoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 204: 1158–1164, 1994.
62. Das R, Vonderhaar BK. Involvement of SHC, GRB2, SOS and RAS in prolactin signal transduction in mammary epithelial cells. *Oncogene* 13: 1139–1145, 1995.
63. Carter-Su C, Smit LS. Signaling via JAK tyrosine kinases: growth hormone receptor as a model system. *Recent Prog Horm Res* 53: 61–82, 1998.
64. Guerra MJ, Liste I, Labandeira-Garcia JL. Interaction between the serotonergic, dopaminergic, and glutamatergic systems in fenfluramine-induced Fos expression in striatal neurons. *Synapse* 28: 71–82, 1998.
65. Berlanga JJ, Fresno Vara JA, Martin-Perez J, Garcia-Ruiz JP. Prolactin receptor associated with c-src kinase in rat liver. *Mol Endocrinol* 9: 1461–1467, 1995.
66. Campbell-Burks S, Carpenter JW. Refolding and purification of Ras proteins. *Methods Enzymol* 255: 3–13, 1995.
67. Sorenson P, Sheffield LG. Involvement of c-src in beta-casein expression by mammary epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 241: 710–713, 1997.

68. Bauerle PA. Pro-inflammatory signaling: last pieces in the NFkappaB puzzle. *Curr Biol* 8: R19–R22, 1998.
69. Berlanga JJ, Gualillo O, Buteau H, Applanat M, Kelly PA, Edery M. Prolactin activates tyrosyl phosphorylation of insulin receptor substrate 1 and phosphatidylinositol-3-OH kinase. *J Biol Chem* 272: 2050–2052, 1997.
70. Ratovondrahona D, Fournier B, Odessa MF, Dufy B. Prolactin stimulation of phosphoinositide metabolism in CHO cells stably expressing the PRL receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 243: 127–130, 1998.
71. Prevarskaya NB, Skryma RN, Vacher P, Daniel N, Djiane J, Dufy B. Role of tyrosine phosphorylation in potassium channel activation. Functional association with prolactin receptor and JAK2 tyrosine kinase. *J Biol Chem* 270: 24292–24299, 1995.
72. Sorin B, Goupille O, Vacher AM, Paly J, Djiane J, Vacher P. Distinct cytoplasmic regions of the prolactin receptor are required for prolactin-induced calcium entry. *J Biol Chem* 273: 28461–28469, 1998.
73. Tourkine N, Schindler C, Larose M, Houdebine LM. Activation of STAT factors by prolactin, interferon-gamma, growth hormones, and a tyrosine phosphatase inhibitor in rabbit primary mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 270: 20952–20961, 1995.
74. Ram PA, Waxman DJ. Interaction of growth hormone-activated STATs with SH2-containing phosphotyrosine phosphatase SHP-1 and nuclear Jak2 tyrosine kinase. *J Biol Chem* 272: 17694–17702, 1997.
75. Pezet A, Favre H, Kelly PA, Edery M. Inhibition and restoration of prolactin signal transduction by suppressors of cytokine signaling. *J Biol Chem* 274: 24497–24502, 1999.
76. Liang P, Pardee AB. Recent advances in differential display. *Curr Opin Immunol* 7: 274–280, 1995.

77. Masuraha M, Sakamoto H, Matsumoto A, Suzuki R, Yasukawa H, Mitsui K, Wakioka T, Tanimura S, Sasaki A, Misawa H, Yokouchi M, Ohtsubo M, Yoshimura A. Cloning and characterization of novel CIS family genes. *Biochem Biophys Res Commun* 239: 439–446, 1997.
78. Nicholson SE, Hilton DJ. The SOCS proteins: a new family of negative regulators of signal transduction. *J Leukoc Biol* 63: 665–668, 1998.
79. Narazaki M, Fujimoto M, Matsumoto T, Morita Y, Saito H, Kajita T, Yoshizaki K, Naka T, Kishimoto T. Three distinct domains of SSI-1/SOCS-1/JAB protein are required for its suppression of interleukin 6 signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 13130–13134, 1998.
80. Hilton DJ, Richardson RT, Alexander WS, Viney EM, Wilson TA, Sprigg NS, Starr R, Nicholson SE, Metcalf D, Nicola NA. Twenty proteins containing a C-terminal SOCS box form five structural classes. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 114–119, 1998.
81. Sauro MD, Zorn NE. Prolactin induces proliferation of vascular smooth muscle cells through a protein kinase C-dependent mechanism. *J Cell Physiol* 148:133–138, 1991.
82. Sauro MD, Buckley AR, Russell DH, Fitzpatrick DF. Prolactin stimulation of protein kinase C activity in rat aortic smooth muscle. *Life Sci* 44:1787–1792, 1989.
83. Astwood EB. The regulation of corpus luteum function by hypophysial luteotrophin. *Endocrinology* 29:309–319, 1941.
84. Pippard C, Baylis PH. Prolactin stimulates Na⁺-K⁺-ATPase activity located in the outer renal medulla of the rat. *J Endocrinol* 108:95–99, 1986.
85. Robertson MT, Boyajian MJ, Patterson K, Robertson WV. Modulation of the chloride concentration of human sweat by prolactin. *Endocrinology* 119:2439–2444, 1986.
86. Mainoya JR, Bern HA, Regan JW. Influence of ovine prolactin on transport of fluid and sodium chloride by the mammalian intestine and gall bladder. *J Endocrinol* 63:311–317, 1974.

87. Josimovich JB, Merisko K, Boccella L. Amniotic prolactin control over amniotic and fetal extracellular fluid water and electrolytes in the rhesus monkey. *Endocrinology* 100:564–570, 1977.
88. Vergani G, Mayerhofer A, Bartke A. Acute effects of rat growth hormone (GH), human GH and prolactin on proliferating rat liver cells in vitro: a study of mitotic behaviour and ultrastructural alterations. *Tissue Cell* 26:457–465, 1994.
89. Mainoya JR. Possible influence of prolactin on intestinal hypertrophy in pregnant and lactating rats. *Experientia* 34:1230–1231, 1978.
90. Muller Dowling RH. Prolactin and the small intestine. Effect of hyperprolactinemia on mucosal structure in the rat. *Gut* 22:558–565, 1981.
91. Brelje TC, Sorenson RL. Role of prolactin vs. growth hormone on islet b-cell proliferation in vitro: implications for pregnancy. *Endocrinology* 128:45–57, 1991.
92. Billestrup N, Nielsen JH. The stimulatory effect of growth hormone, prolactin, and placental lactogen on b-cell proliferation is not mediated by insulin-like growth factor-I. *Endocrinology* 129: 883–888, 1991.
93. Nielsen JH, Moldrup A, Billestrup N, Petersen ED, Allevato G, Stahl M. The role of growth hormone and prolactin in b cell growth and regeneration. *Adv Exp Med Biol* 321:9–17, 1992.
94. Syms AJ, Harper ME, Griffiths K. The effect of prolactin on human BPH epithelial cell proliferation. *Prostate* 6:145–153, 1985.
95. DeVito WJ, Okulicz WC, Stone S, Avakian C. Prolactin stimulated mitogenesis of cultured astrocytes. *Endocrinology* 130: 2549–2556, 1992.
96. Hartmann DP, Holaday JW, Bernton EW. Inhibition of lymphocyte proliferation by antibodies to prolactin. *FASEB J* 3:2194–2202, 1989.

97. Mukherjee P, Mastro AM, Hymer WC. Prolactin induction of interleukin-2 receptors on rat splenic lymphocytes. *Endocrinology* 126:88–94, 1990.
98. Hamosh M, Hamosh P. The effect of prolactin on the lecithin content of fetal rabbit lung. *J Clin Invest* 59:1002–1005, 1977.
99. Johnson JW, Tyson JE, Mitzner W, Beck JC, Andreassen B, London WT, Villar J. Amniotic fluid prolactin and fetal lung maturation. *Am J Obstet Gynecol* 153:372–380, 1985.
100. McAveney KM, Gimble JM, Yu-Lee L-Y. Prolactin receptor expression during adipocyte differentiation of bone marrow stroma. *Endocrinology* 137:5723–5726, 1996.
101. Yoshimura Y, Hosoi Y, Iritani A, Nakamura Y, Atlas SJ, Wallach EE. Developmental potential of rabbit oocyte matured *in vitro*: the possible contribution of prolactin. *Biol Reprod* 41:26–33, 1989.
102. Shyr SW, Crowley WR, Grosvenor CE. Effect of neonatal prolactin deficiency on prepubertal tuberoinfundibular and tuberohypophyseal dopaminergic neuronal activity. *Endocrinology* 119:1217–1221, 1986.
103. Flint DJ, Binart N, Kopchick J, Kelly P. Effects of growth hormone and prolactin on adipose tissue development and function. *Pituitary* 6: 97–102, 2003.
104. Clevenger CV, Furth PA, Hankinson SE, Schuler LA. The role of prolactin in mammary carcinoma. *Endocr Rev* 24: 1–27, 2003.
105. Baptista T, Baptista AE, Lalonde J, Plamondon J, Ng Ying Kin NMK, Beaulieu S, Joobar R, Richard D. Comparative effects of the antipsychotics sulpiride and risperidone in female rats on energy balance, body composition, fat morphology and macronutrient selection. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry* 28: 1305–1311, 2004.
106. Knudtzon J, Johansen PW, Haug E, Gautvik K. Effects of hypersecretion of growth hormone and prolactin on plasma levels of glucagon and insulin in GH3-cell tumor-bearing rats, and the influence of bromocriptine treatment. *Life Sci* 39: 617–621, 1986.

107. Byatt JC, Staten NR, Salsqiver WJ, Kostelc JG, Collier RJ. Stimulation of food intake and weight gain in mature female rats by bovine prolactin and bovine growth hormone. *Am J Physiol* 264: E986–E992, 1993.
108. Moore BJ, Gerardao-Gettens T, Horwitz BA, Stern JS. Hyperprolactinemia stimulates food intake in the female rat. *Brain Res Bull* 17: 563–569, 1986.
109. Bonomo IT, Lisboa PC, Passos MC, Pazos-Moura CC, Reis AM, Moura EG. Prolactin inhibition in lactating rats changes leptin transfer through the milk. *Horm Metab Res* 37: 220–225, 2005.
110. Sauve D, Woodside B. Neuroanatomical specificity of prolactin-induced hyperphagia in virgin female rats. *Brain Res.* 868,306–314, 2000.
111. Kumaran B, Gunasekar PG, Aruldas MM, Govindarajuly P. Role of prolactin on neural and glial cellular enzymes involved in carbohydrate metabolism. I. Studies on immature male bonnet monkeys. *Brain Res* 450:325–333, 1988.
112. Villalba M, Zabala MT, Martinez-Serrano A, de la Colina R, Satrustegui J, Garcia-Ruiz JP. Prolactin increases cytosolic free calcium concentration in hepatocytes of lactating rats. *Endocrinology* 129:2857–2861, 1991.
113. Freemark M, Driscoll P, Maaskant R, Petryk A, Kelly PA. Ontogenesis of prolactin receptors in the human fetus in early gestation. Implications for tissue differentiation and development. *J Clin Invest* 99: 1107–1117, 1997.
114. Sorenson RL, Stout LE. Prolactin receptors and JAK2 in islets of langerhans: an immunohistochemical analysis. *Endocrinology* 136: 4092–4098, 1995.
115. Weinhaus AJ, Stout LE, Sorenson RL. Glucokinase, hexokinase, glucose transporter 2, and glucose metabolism in islets during pregnancy and prolactin-treated islets in vitro: mechanisms for long term upregulation of islets. *Endocrinology* 137: 1640–1649, 1996.

116. Fleenor DE, Freemark M. Prolactin induction of insulin gene transcription: roles of glucose and signal transducer and activator of transcription 5. *Endocrinology* 142: 2805–2810, 2001.
117. Amaral ME, Cunha DA, Anhe GF, Ueno M, Carniero EM, Velloso LA, Bordin S, Boschero AC. Participation of prolactin receptors and phosphatidylinositol 3-kinase and MAP kinase pathways in the increase in pancreatic islet mass and sensitivity to glucose during pregnancy. *J Endocrinol* 183: 469–476, 2004.
118. Glasow A, Breidert M, Haidan A, Anderegg U, Kelly PA, Bornstein S. Functional aspects of the effect of prolactin (PRL) on adrenal steroidogenesis and distribution of the PRL receptor in the human adrenal gland. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3103–3111, 1996.
119. Higuchi K, Nawata H, Maki T, Higashizima M, Kato K, Ibayashi H. Prolactin has a direct effect on adrenal androgen secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 59:714–718, 1984.
120. Fernandez-Ruiz JJ, Ceberia M, Agrasal C, Tresguerres JAF, Esquifino AI, Ramos JA. Effect of elevated prolactin levels on the synthesis and release of catecholamines from the adrenal medulla in female rats. *Neuroendocrinology* 45:208–211, 1987.
121. Fernandez-Ruiz JJ, Martinez-Arrieta R, Hernandez ML, Ramos JA. Possible direct effect of prolactin on catecholamine synthesis and release in rat adrenal medulla: *in vitro* studies. *J Endocrinol Invest* 11:603–608, 1988.
122. Bridges RS, Dibiase R, Loundes DD, Doherty PC. Prolactin stimulation of maternal behavior in female rats. *Science* 227:782–784, 1985.
123. Bridges RS, Numan M, Ronsheim PM, Mann PE, Lupini CE. Central prolactin infusions stimulate maternal behavior in steroid-treated, nulliparous female rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:8003–8007, 1990.
124. Bridges RS, Robertson MC, Shiu RP, Sturgis JD, Henriquez BM, Mann PE. Central lactogenic regulation of maternal behavior in rats: steroid dependence, hormone specificity,

and behavioral potencies of rat prolactin and rat placental lactogen I. *Endocrinology* 138:756–763, 1997.

125. Nicoletti F, Drago F, Speciale C, Kovacs LG, Scapagnini U. Role of prolactin-opiate interactions in the central regulation of pain threshold. *Cephalalgia* 3:31–34, 1983.

126. Sobrinho LG. The psychogenic effects of prolactin. *Acta Endocrinol (Copenh)* 129:38–40, 1993.

127. Obal Jr F, Opp M, Cady AB, Johannsen L, Krueger JM. Prolactin, vasoactive intestinal peptide, and peptide histidine methionine elicit selective increases in REM sleep in rabbits. *Brain Res* 490:292–300, 1989.

128. Obal Jr F, Payne L, Kacsoh B, Opp M, Kapas L, Grosvenor CE, Krueger JM. Involvement of prolactin in the REM sleep-promoting activity of systemic vasoactive intestinal peptide (VIP). *Brain Res* 645:143–149, 1994.

129. Shah GV, Shyr SW, Grosvenor CE, Crowley WR. Hyperprolactinemia after neonatal prolactin (PRL) deficiency in rats: evidence for altered anterior pituitary regulation of PRL secretion. *Endocrinology* 122:1883–1889, 1988.

130. DeVito WJ, Stone S, Avakian C. Prolactin stimulation of protein kinase C activity in the rat hypothalamus. *Biochem Biophys Res Commun* 176:660–667, 1991.

131. Sharif NA. Chronic prolactin, gonadal and thyroid hormone treatments *in vivo* alter levels of TRH and muscarinic receptors in male and female rat tissues. *Brain Res* 449:364–368, 1988.

132. O'Steen WK, Kraer SL. Effects of hypophysectomy, pituitary gland homogenates and transplants, and prolactin on photoreceptor destruction. *Association for Research in Vision and Ophthalmology. Invest Ophthalmol Vis Sci*, 16:940–946, 1977.

133. Flint DJ, Knight CH. Interactions of prolactin and growth hormone (GH) in the regulation of mammary gland function and epithelial cell survival. *J Mammary Gland Biol. Neoplasia* 2: 41–48, 1997.
134. Groner B. Transcription factor regulation in mammary epithelial cells. *Domest Anim Endocrinol* 23: 25–32, 2002.
135. Hang J, Rillema JA. Prolactin's effects on lipoprotein lipase (LPL) activity and on LPL mRNA levels in cultured Mouse mammary gland explants. *Proc Soc Exp Biol Med* 214: 161–166, 1997.
136. Field B, Coore HG. Control of rat mammary-gland pyruvate dehydrogenase by insulin and prolactin. *Biochem J* 156: 333–337, 1976.
137. Barber MC. et al. Growth-hormone-prolactin interactions in the regulation of mammary and adipose-tissue acetyl-CoA carboxylase activity and gene expression in lactating rats. *Biochem J* 285: 469–475, 1992.
138. Fielder PJ, Thordarson G, English A, Rosenfeld RG, Talamantes F. Expression of a lactogen-dependent insulin-like growth factor-binding protein in cultured mouse mammary epithelial cells. *Endocrinology* 131:261–267, 1992.
139. Fenton SE, Sheffield LG. Lactogenic hormones increase epidermal growth factor messenger RNA content of mouse mammary glands. *Biochem Biophys Res Commun* 181:1063–1069, 1991.
140. Parry G, Stubbs J, Bissell MJ, Schmidhauser C, Spicer AP, Gendler SJ. Studies of Muc-1 mucin expression and polarity in the mouse mammary gland demonstrate developmental regulation of Muc-1 glycosylation and establish the hormonal basis for mRNA expression. *J Cell Sci* 101:191–199, 1992.
141. Shiu RP, Iwasiow BM. Prolactin-inducible proteins in human breast cancer cells. *J Biol Chem* 260:11307–11313, 1985.

142. Thiede MA, Rodan GA. Expression of a calcium-mobilizing parathyroid hormone-like peptide in lactating mammary tissue. *Science* 242:278–280, 1988.
143. Cecim M, Kerr J, Bartke A. Infertility in transgenic mice overexpressing the bovine growth hormone gene: luteal failure secondary to prolactin deficiency. *Biol Reprod* 52:1162–1166, 1995.
144. Matsuyama S, Shiota K, Takahashi M. Possible role of transforming growth factor- β as a mediator of luteotropic action of prolactin in rat luteal cell cultures. *Endocrinology* 127:1561–1567, 1990.
145. Loudon AS, Brinklow BR, Gulland FD, Boyle J, Flint AP. Roles of prolactin and the uterus in the control of luteal regression in the Bennett's wallaby (*Macropus rufogriseus rufogriseus*). *Reprod Fertil Dev* 2:71–78, 1990.
146. Wüttke W, Meites J. Luteolytic role of prolactin during the estrous cycle of the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 137:988–991, 1971.
147. Wang C, Hsueh AJ, Erickson GF. Prolactin inhibition of estrogen production by cultured rat granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol* 20:135–144, 1980.
148. Wang C, Chan V. Divergent effects of prolactin on estrogen and progesterone production by granulosa cells of rat Graafian follicles. *Endocrinology* 110:1085–1093, 1982.
149. Fortune JE, Wissler RN, Vincent SE. Prolactin modulates steroidogenesis by rat granulosa cells: II. Effects on estradiol. *Biol Reprod* 35:92–99, 1986.
150. Daniel Jr JC, Jetton AE, Chilton BS. Prolactin as a factor in the uterine response to progesterone in rabbits. *J Reprod Fertil* 72:443–452, 1984.
151. Chilton BS, Daniel Jr JC. Differences in the rabbit uterine response to progesterone as influenced by growth hormone or prolactin. *J Reprod Fertil* 79:581–587, 1987.
152. Kennedy TG, Armstrong DT. Extra-ovarian effect of prolactin on vaginal mucification in the rat. *Endocrinology* 90:815–822, 1972.

153. Armstrong DT, King ER. Uterine progesterone metabolism and progestational response: effects of estrogens and prolactin. *Endocrinology* 89:191–197, 1971.
154. Randall GW, Daniel Jr JC, Chilton BS. Prolactin enhances uteroglobin gene expression by uteri of immature rabbits. *J Reprod Fertil* 91:249–257, 1991.
155. Vijayan E, Jayashree J. Prolactin suppression during pre- and post-implantation periods on rat uterine glucosamine synthase activity. *Indian J Exp Biol* 31:386–388, 1993.
156. Prigent-Tessier A, Pageaux JF, Fayard JM, Lagarde M, Laugier C, Cohen H. Prolactin up-regulates prostaglandin E2 production through increased expression of pancreatic-type phospholipase A2 (type I) and prostaglandin G/H synthase 2 in uterine cells. *Mol Cell Endocrinol* 122:101–108, 1996.
157. Chen HW, Weier H, Heiniger HJ, Huebner RI. Tumorigenesis in strain DW/J mice and induction by prolactin of the groupspecific antigen of endogenous C-type RNA tumor virus. *J Natl Cancer Inst* 49: 1145–1153, 1972.
158. Nagy E, Berczi I, Friesen HG. Regulation of immunity in rats by lactogenic and growth hormones. *Acta Endocrinol (Copenh)* 102:351–357, 1983.
159. Lahat N, Miller A, Shtiller R, Touby E. Differential effects of prolactin upon activation and differentiation of human B lymphocytes. *J Neuroimmunol* 47:35–40, 1993.
160. Nagy E, Berczi I. Pituitary dependence of bone marrow function. *Br J Haematol* 71:457–462, 1989.
161. Berczi I, Nagy E, de Toledo SM, Matusik RJ, Friesen HG. Pituitary hormones regulate c-myc and DNA synthesis in lymphoid tissue. *J Immunol* 146:2201–2206, 1991.
162. Gagnerault MC, Touraine P, Savino W, Kelly PA, Dardenne M. Expression of prolactin receptors in murine lymphoid cells in normal and autoimmune situations. *J Immunol* 150:5673–5681, 1993.

163. O'Neal KD, Schwarz LA, Yu-Lee L-Y. Prolactin receptor gene expression in lymphoid cells. *Mol Cell Endocrinol* 82:127–135, 1991.
164. LaVoie HA, Witorsch RJ. Investigation of intracellular signals mediating the anti-apoptotic action of prolactin in Nb2 lymphoma cells. *Proc Soc Exp Biol Med* 209:257–269, 1995.
165. Comsa J, Leonhardt H, Schwarz JA. Influence of the thymuscorticotropin- growth hormone interaction on the rejection of skin allografts in the rat. *Ann NY Acad Sci* 249:387–401, 1975.
166. Bernton EW, Meltzer MS, Holaday JW. Suppression of macrophage activation and T-lymphocyte function in hypoprolactinemic mice. *Science* 239:401–404, 1988.
167. Zhu XH, Zellweger R, Ayala A, Chaudry IH. Prolactin inhibits the increased cytokine gene expression in Kupffer cells following haemorrhage. *Cytokine* 8:134–140, 1996.
168. Cecilia Fornari M, Fernanda Palacios M, Diez RA, IntebiAD. Decreased chemotaxis of neutrophils in acromegaly and hyperprolactinemia. *Eur J Endocrinol* 130:463–468, 1994.
169. Villa-Verde DM, Mello-Coelho V, Lagrota-Candido JM, Chammas R, Savino W. The thymic nurse cell complex: an *in vitro* model for extracellular matrix-mediated intrathymic T cell migration. *Braz J Med Biol Res* 28:907–912, 1995.
170. Weisz-Carrington P, Roux ME, McWilliams M, Phillips-Quagliata JM, Lamm ME. Hormonal induction of the secretory immune system in the mammary gland. *Proc Natl Acad Sci USA* 75:2928–2932, 1978.
171. Gordon EM, Johnson TR, Ramos LP, Schmeidler-Sapiro KT. Enhanced expression of factor XII (Hageman factor) in isolated livers of estrogen- and prolactin-treated rats. *J Lab Clin Med* 117: 353–358, 1991.
172. Kelley KW, Weigent DA, Kooijman R. Protein hormones and immunity. *Brain, Behavior, and Immunity* 21: 384-392, 2007.

173. Dorshkind K, Horseman ND. Anterior pituitary hormones, stress, and immune system homeostasis. *Bioessays* 23: 288–294, 2001.
174. Blecha F, Kelley KW, Satterlee DG. Adrenal involvement in the expression of delayed-type hypersensitivity to SRBC and contact sensitivity to DNFB in stressed mice. *Proc Soc Exp Biol Med* 169: 247–252, 1982.
175. Clapp C, DE LA ESCALERA GM. Prolactins: novel regulators of angiogenesis. *News Physiol Sci* 12: 231–237, 1997.
176. Bhatavdekar J, Patel DD, Ghosh N, Vora H, Shah N, Karelia N, Balar D, Chikhlikar P, Dave R. Interrelationship of prolactin and its receptor in carcinoma of colon and rectum: a preliminary report. *J Surg Oncol* 55:246–249, 1994.
177. Bhatavdekar JM, Patel DD, Shah NG, Karelia NH, Vora HH, Ghosh N, Suthar TP, Balar DB. Prognostic value of insulinlike growth factor-1 receptors in patients with colon/rectal cancer: correlation with plasma prolactin. *Eur J Surg Oncol* 21:23–26, 1995.
178. Kiss R, de Launoit Y, L’Hermite-Bale’riaux M, L’Hermite M, Paridaens RJ, Danguy AJ, Pasteels JL. Effect of prolactin and estradiol on cell proliferation in the uterus and the MXT Mouse mammary neoplasm. *J Natl Cancer Inst* 78:993–998, 1987.
179. Biswas R, Vonderhaar BK. Role of serum in the prolactin responsiveness of MCF-7 human breast cancer cells in long-term tissue culture. *Cancer Res* 47:3509–3514, 1987.
180. Walker AM, Montgomery DW, Saraiya S, Ho TW, Garewal HS, Wilson J. Prolactin-immunoglobulin G complexes from human serum act as costimulatory ligands causing proliferation of malignant B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:3278–3282, 1995.
181. Gout PW, Beer CT, Noble RL. Prolactin-stimulated growth of cell cultures established from malignant Nbrat lymphomas. *Cancer Res* 40:2433–2436, 1980.
182. Nishiguchi Y, Hibasami H, Komada Y, Sakurai M, Nakashima K. Human promyelocytic cell line HL60 has the specific binding sites for prolactin and its ornithine

decarboxylase, DNA synthesis and cellular proliferation are induced by prolactin. *Leuk Res* 17: 633–637, 1993.

183. Nowak RA, Rein MS, Heffner LJ, Friedman AJ, Tashjian AH. Production of prolactin by smooth muscle cells cultured from human uterine fibroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 76:1308–1313, 1993.

184. Hamburger SA, McEver RP. GMP-140 mediates adhesion of stimulated platelets to neutrophils. *Blood*. 1990;75:550–554.

185. Trip MD, Cats VM, van Capelle FJ, et al. Platelet hyperreactivity and prognosis in survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 322: 1549–1554, 1990.

186. Furman MI, Benoit SE, Barnard MR, et al. Increased platelet reactivity and circulating monocyte-platelet aggregates in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 31:352–358, 1998.

187. Koyama H, Maeno T, Fukumoto S, Shoji T, Yamane T, Yokoyama H, Emoto M, Shoji T, Tahara H, Inaba M, Hino M, Shioi A, Miki T, Nishizawa Y. Platelet P-Selectin Expression Is Associated With Atherosclerotic Wall Thickness in Carotid Artery in Humans. *Circulation* 108: 524-529, 2003.

188. Vestweber D, Blanks JE. Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol Rev* 79:181–213, 1999.

189. Larsen E, Celi A, Gilbert GE, et al. PADGEM protein: a receptor that mediates the interaction of activated platelets with neutrophils and monocytes. *Cell* 59: 305–312, 1989.

190. Merten M, Thiagarajan P. P-selectin expression on platelets determines size and stability of platelet aggregates. *Circulation* 102: 1931-1936, 2000.

191. Wallaschofski H, Donne' M, Eigenthaler M, Hentschel B, Faber R, Stepan H, Kokschi M, Lohmann T. PRL as novel potent cofactor for platelet aggregation. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5912-5919, 2001.

192. Heit JA. Venous thromboembolism: disease burden, outcomes, and risk factors. *J Thrombos Hemostas* 3: 1611-1617, 2005.
193. Bates SM, Gingsberg JS. Thrombosis in pregnancy. *Curr Opin Hematol* 4: 335-343, 1997.
194. Dardenne M, de Moraes CM do, Kelly PA, Gagnerault MC. Prolactin receptor expression in human hematopoietic tissues analyzed by flow cytofluorometry. *Endocrinology* 134: 2108-2114, 1994.
195. Welniak L, Richards S, Murphy E. Effects of prolactin on hematopoiesis. *Lupus* 10: 700-705, 2001.
196. Zornberg GI, Jick H. Antipsychotic drug use and risk of first-time-idiopathic venous thromboembolism: a case-control study. *Lancet*. 1999; 356: 1219-1223
197. Wallaschofski H, Eigenthaler M, Kiefer M, Donne' M, Hentschel B, Gertz HJ, Lohmann T. Hyperprolactinemia in Patients on Antipsychotic Drugs Causes ADP-Stimulated Platelet Activation That Might Explain the Increased Risk for Venous Thromboembolism: Pilot Study. *J Clin Psychopharmacol* 23:479–483, 2003.
198. Wallaschofski H, Kobsar A, Kokschi M, Siegemund A, Hentschel , Tuschy U, Lohmann T, Sokolova O, Eigenthaler M. Prolactin Receptor Signaling during Platelet Activation. *Horm Metab Res* 35: 228–235, 2003.
199. Wallaschofski H, Kobsar A, Sokolova O, Eigenthaler M, Lohmann T. Co-activation of platelets by prolactin or leptin-patophysiological findings and clinical implications. *Horm Metab Res* 36: 1-6, 2004.
200. Wallaschofski H, Kobsar A, Sokolova O, Siegemund A, Stepan H, Faber R, Eigenthaler M, Lohmann T. Differences in platelet activation by prolactin and leptin. *Horm Metab Res* 36: 453-457, 2004.

201. Wallaschofski H, Lohmann T, Hild E, Kobsar A, Siegemund A, Spilcke-Liss E, Hentschel B, Stumpf C, Daniel WG, Garlichs CD, Eigenthaler M. Enhanced platelet activation by prolactin in patients with ischemic stroke. *Thromb Haemost* 96: 38–44, 2006.
202. Demirağ NG. Prolaktinoma. *Endokrinoloji; Metabolizma ve Diyabet* (Özata M, Yöner A, editörler). Birinci baskı. İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık. 49-53, 2006.
203. Bracero N, Zacur HA. Polycystic ovary syndrome and hyperprolactinemia. *Obstet Gynecol Clin North Am* 28:77–84, 2001.
204. Filho RB, Domingues L, Naves L, Ferraz E, Alves A, Casulari la. Polycystic ovary syndrome and hyperprolactinemia are distinct entities. *Gynecol Endocrinol* 23: 267-272, 2007.
205. Falaschi P, Rocco A, del Pozo E. Inhibitory effect of bromocriptine treatment on luteinizing hormone secretion in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 62:348–351, 1986.
206. Lam KS, Lechan RM, Minamitani N, et al. Vasoactive intestinal peptide in the anterior pituitary is increased in hypothyroidism. *Endocrinology* 124:1077–1084, 1989.
207. Travaglini P, Moriondo P, Togni E, et al. Effect of oral zinc administration on prolactin and thymulin circulating levels in patients with chronic renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* 68:186–190, 1989.
208. Rogol AD, Rosen SW. Prolactin of apparent large molecular size: the major immunoreactive prolactin component in plasma of a patient with a pituitary tumor. *J Clin Endocrinol Metab* 38: 714–717, 1974.
209. Suh HK, Frantz AG. Size heterogeneity of human prolactin in plasma and pituitary extracts. *J Clin Endocrinol Metab* 39: 928–935, 1974.
210. Whittaker PG, Wilcox T, Lind T. Maintained fertility in a patient with hyperprolactinaemia due to big, big prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 53: 863–866, 1981.

211. Hattori N, Inagaki C. Anti-prolactin (PRL) autoantibodies cause asymptomatic hyperprolactinemia: bioassay and clearance studies of PRL-immunoglobulin G complex. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3107–3110, 1997.
212. Gibney J, Smith TP, McKenna TJ. Clinical relevance of macroprolactin. *Clin Endocrinol* 62: 633–643, 2005.
213. Ichihara K, Miyai K. Detection of asymptomatic prolactinoma by a mass screening program. *Rinsho Byori (Japan J Clin Pathol)* 38: 667–674, 1990.
214. Bjørø T, Mørkrid L, Wergeland R, Turtur A, Kvistborg A, Sand T, Torjesen P. Frequency of hyperprolactinaemia due to large molecular weight prolactin (150–170 kD PRL). *Scand J Clin Lab Invest* 55: 139–47, 1995.
215. Vallette KS, Morange RI, Selim A, Gunz G, Morange S, Enjalbert A, Martin PM, Jaquet P, Brue T. Macroprolactinemia revisited: a study on 106 patients. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 87: 581–588, 2002.
216. Hauache OM, Rocha AJ, Maia AC, Maciel RM, Vieira JG. Screening for macroprolactinaemia and pituitary imaging studies. *Clinical Endocrinology* 57: 327–331, 2002.
217. Sadideen H, Swaminathan R. Macroprolactin: what is it and what is its importance? *Int J Clin Pract* 60: 457–461, 2006.
218. Prazeres S, Santos MA, Ferreira HG, Sobrinho LG. A practical method for the detection of macroprolactinaemia using ultrafiltration. *Clin Endocrinol (Oxf)* 58: 686–90, 2003.
219. Reaven GM. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev* 75: 473–486, 1995.
220. Reaven GM. Banting lecture. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595–607, 1988

221. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome, 2005. Erişim: (www.idf.org). Erişim tarihi:
222. Greenman Y, Tordjman K, Stern N. Increased body weight associated with prolactin secreting pituitary adenomas: weight loss with normalization of prolactin levels. *Clin Endocrinol* 48: 547-553, 1998.
223. Doknic M, Pekic S, Zarkovic M, Medic-Stojanoska M, Dieguez C, Casanueva F, Popovic V. Dopaminergic tone and obesity: an insight from prolactinomas treated with bromocriptine. *Eur J Endocrinol* 147: 77–84, 2002.
224. Yavuz D, Deyneli O, Akpınar İ, Yıldız E, Gözü H, Sezgin Ö, Haklar G. Endothelial function, insulin sensitivity and inflammatory markers in hyperprolactinemic pre-menopausal women. *Eur J Endocrinol* 149: 187-193, 2003.
225. Seri O, Li L, Mamputu JC, Beauchamp MC, Maingrette F, Renier G. The influences of hyperprolactinemia and obesity on cardiovascular risk markers: effects of cabergoline therapy. *Clin Endocrinol* 64: 366-370, 2006.
226. Va'zquez LA, Pazos F, Berrazueta JR, Ferna'ndez-Escalante C, Garcı'a-Unzueta MT, Freijanes J, Amado JA. Effects of Changes in Body Weight and Insulin Resistance on Inflammation and Endothelial Function in Morbid Obesity after Bariatric Surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 316–322, 2005.
227. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, D'Andrea F, Molinari AM, Giugliano D. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation* 105: 804-809, 2002.
228. Filozof C, Go'mez-Garre D, Reinares L, Gonza'lez-Rubio ML, Mun'oz-Pacheco M, Rueda A, A'lvarez-Arcaya A, Calle-Pascual AL, Ferna'ndez-Cruz A. Relationship between

plasma levels of soluble CD40L and insulin sensitivity and insulin secretion status in non-diabetic dyslipidemic patients. *Diab Res Clin Pract* doi:10.1016/j.diabres.2007.07.002

229. Leea WL, Leec WJ, Chend YT, Liua TJ, Lianga KW, Tinga CT, WH Sheub. The presence of metabolic syndrome is independently associated with elevated serum CD40 ligand and disease severity in patients with symptomatic coronary artery disease. *Metabolism Clinical and Experimental* 55: 1029-1034, 2006.

230. Miller MA, Cappuccio FP. Cellular adhesion molecules and their relationship with measures of obesity and metabolic syndrome in a multiethnic population. *International Journal of Obesity* 30: 1176–1182, 2006.

231. Pergola GD, Pannacciulli N, Coviello M, Scarangella A, Roma PD, Caringella M, Venneri MT, Quaranta M, Giorgino R. sP-selectin plasma levels in obesity: Association with insulin resistance and related metabolic and prothrombotic factors. *Nutrition, Metabolism& Cardiovascular Diseases* doi:10.1016/j.numecd.2006.09.010, 2007.

232. Varughese GI, Patel JV, Tomson J, Blann AD, Hughes EA, Lip GYH. Prognostic value of plasma soluble P-selectin and von Willebrand factor as indices of platelet activation and endothelial damage/dysfunction in high-risk patients with hypertension: a sub-study of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial. *Journal of Internal Medicine* 26: 384–391, 2007.

233. Donadio F, Barbieri A, Angioni R, Mantovani G, Beck-Peccoz P, Spada A, Lania AG. Patients with macroprolactinaemia: clinical and radiological features. *Eur J Clin Invest* 37: 552–557, 2007.

234. Molitch ME, Russell EJ. The pituitary ‘incidentaloma’. *Ann Intern Med* 112: 925–931, 1990.

235. Fahie-Wilson MN, Soule SG. Macroprolactinaemia: contribution to hyperprolactinaemia in a district general hospital and evaluation of a screening test based on precipitation with polyethylene glycol. *Ann Clin Biochemistry* 34: 252–258, 1997.
236. Leite V, Cosby H, Sobrinho LG, Fresnoza MA, Santos MA, Friesen HG. Characterization of big, big prolactin in patients with hyperprolactinaemia. *Clin Endocrinol* 37: 365–372, 1992.
237. Suliman AM, Smith TP, Gibney J, McKenna TJ. Frequent misdiagnosis and mismanagement of hyperprolactinemic patients before the introduction of macroprolactin screening: application of a new strict laboratory definition of macroprolactinemia. *Clin Chem* 49: 1504–1509, 2003.
238. Raaz D, Wallaschofski H, Stumpf C, Yilmaz A, Cicha I, Klinghammer L, Daniel WG, Lohmann T, Garlichs CD. Increased prolactin in acute coronary syndromes as putative Co-activator of ADP stimulated P-selectin expression. *Horm Metab Res* 38: 767-772, 2006.
239. Vieira JG, Tachibana TT, Obara LH, Maciel RM. Extensive experience and validation of polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. *Clin Chem* 44: 1758–1759, 1998.
240. Fahie-Wilson MN. Polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. *Clin Chem* 45: 436–437, 1999.
241. Olukoga AO, Dornan TL, Kane JW. Three cases of macroprolactinaemia. *J Royal Soc Med* 92: 342–344, 1999.