

## Normoprolactinemia en un modelo de cirrosis hepática experimental con retención de sodio y agua

D. RODRIGUEZ PUYOL \*, J. E. MARTIN OAR \*, J. A. GONZALEZ AZPEITIA \*\*, J. M. CORTES \*\*\*, J. M. LOPEZ NOVOA \* y L. HERNANDO \*

\* Laboratorio de Fisiopatología Renal.

\*\* Departamento de Bioquímica.

\*\*\* Departamento de Anatomía Patológica.

Fundación Jiménez Díaz. Avda. Reyes Católicos, 2. Madrid-3.

### RESUMEN

Los niveles basales de prolactina (PRL) sérica inmunorreactiva han sido medidos en ratas en las que se había inducido una cirrosis hepática experimental. El manejo renal de agua y electrolitos se estudió mediante sobrecargas salinas y acuosas, la filtración glomerular mediante aclaramiento de creatinina endógena y la función hepática se valoró determinando las actividades séricas de la glutámico-oxalacético-transaminasa y glutámico-pirúvico-transaminasa, así como mediante espectro electroforético de las proteínas plasmáticas. De acuerdo con la histología hepática, las ratas fueron divididas en 3 grupos: controles, con hepatitis activa y cirróticas.

No hubo diferencias significativas en los niveles de PRL ni en las tasas de filtración glomerular entre los 3 grupos de animales. Las ratas cirróticas retuvieron más sodio y agua que las controles. Estos resultados no apoyan la hipótesis de que la hiperprolactinemia que presentan algunos enfermos cirróticos sea una consecuencia directa de la lesión hepática. Tampoco parece probable que la PRL desempeñe un papel importante en las alteraciones funcionales renales asociadas a la cirrosis en ratas.

**Palabras clave:** Cirrosis. Retención hidroelectrolítica. Hiperprolactinemia.

### SUMMARY

The frequent occurrence of gynecomastia and hypogonadism in patients with cirrhosis suggested an increase of serum prolactin (PRL) levels in this disease. Posterior studies have reported hyperprolactinemia in a high percentage of cirrhotic patients. Since PRL has been proposed to be an antinatriuretic and vasopresin-like hormone, hyperprolactinemia could play some role in the sodium and water retention observed in chronic liver failure. The present study was designed to clarify these relationships in a model of experimental hepatic cirrhosis in rats.

Cirrhosis was induced in male Wistar rats weighing 150 g by a combined treatment of carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) inhalation and phenobarbital in the drinking water. Animals of the same age and weight drinking phenobarbital at the same concentration were used as controls. The studies were done in rats with different degrees of hepatic damage. Glutamic - oxalacetic - transaminase (GOT), glutamic - pyruvic - transaminase (GPT) and plasma protein distribution were measured to assess liver damage. Glomerular filtration rate (GFR) determination and water (50 ml.) and sodium (5 mEq) loads were performed to test renal function. PRL serum levels were measured by a double antibody RIA. Postmortem liver and kidney specimens were studied histologically. Rats were divided into 3 groups according to the histological picture of their livers: control (C), hepatitic (H) and Cirrhotic (CR) rats.

**Serum transaminase hyperactivities, hypoalbuminemia and hypergammaglobu-**

linemia paralleled the severity of histological damage. After loading, water retention was observed in H rats in comparison to C group, whereas CR rats retained both sodium and water. No significant differences were found in basal PRL serum levels (ng PRL RP-2/ml.) between C ( $5,99 \pm 0,73$ ;  $n = 23$ ), H ( $5,31 \pm 0,86$ ;  $n = 13$ ) and CR ( $5,28 \pm 1,07$ ;  $n = 9$ ) rats. These results in an experimental model of liver cirrhosis which closely resembles Laënnec's cirrhosis in man, show that hyperprolactinemia is not associated with liver damage. Sodium and water retention with normal PRL levels does not support a major role for this hormone in the renal functional alterations associated with cirrhosis, in rats. In addition, the results suggest that the liver is not important in determining plasma PRL levels in the rat.

**Key words:** Cirrhosis. Prolactin. Sodium and water retention.

## INTRODUCCION

En los estados de hepatopatía crónica es frecuente la aparición de ascitis y edemas, como expresión clínica de una desestructuración de la vascularización hepática y de una disfunción renal. Fisiopatológicamente esta disfunción renal se caracteriza por una retención de agua y de sodio y, en estados más avanzados de la enfermedad, por una disminución de la filtración glomerular<sup>1</sup>.

Los factores que median las alteraciones de la función renal asociadas a la hepatopatía crónica no son completamente conocidos en el momento actual. La aldosterona, considerada en la pasada década de importancia capital en la producción de estas alteraciones, ha pasado a un plano secundario y han sido propuestos nuevos mecanismos mediadores; entre ellos han recibido especial atención los factores humorales<sup>1</sup>.

La frecuente incidencia de ginecomastia e hipogonadismo en pacientes cirróticos, así como el hallazgo de una proporción aumentada de células lactogénicas en la hipófisis anterior de estos individuos<sup>2</sup>, sugirió la posibilidad de que en los estados de hepatopatía crónica apareciera hiperprolactinemia. En este sentido, los distintos trabajos de VAN THIEL y cols.<sup>3,4</sup>, parecen apoyar esta hipótesis. Sin embargo, MORGAN y cols.<sup>5</sup>, aunque encuentran una incidencia mayor de hiperprolactinemia en los cirróticos que en los controles, no obtienen resultados tan concluyentes.

En 1960 PICKFORD y PHILLIPS<sup>6</sup> comprobaron que ciertos teleosteos, al ser hipofisectomizados, perdían su capacidad para vivir en un medio hipotónico, siendo restaurada esta capacidad por la administración de prolactina (PRL). La confirmación de este hallazgo<sup>7</sup>, así como los resultados experimentales obtenidos en ciertas aves<sup>8</sup>, demostraron la importancia de la PRL como sustancia osmorreguladora y antinatriurética en animales inferiores. Al intentar hacer extensiva esta hipótesis a animales superiores han surgido múltiples contradicciones<sup>9,10</sup>, y en el momento actual el papel de la PRL como sustancia osmorreguladora y antinatriurética en mamíferos y en el ser humano permanece en controversia<sup>11</sup>.

Como consecuencia de estas observaciones acerca de la posible acción antinatriurética de la PRL y de la asociación cirrosis-hiperprolactinemia, HORROBIN propuso en 1974 que la PRL podría mediar las alteraciones rena-

les asociadas a la cirrosis<sup>12</sup>. Con el fin de clarificar la posible relación existente entre cirrosis, PRL y disfunción renal se realizó el presente trabajo, en un modelo de cirrosis experimental.

## MATERIAL Y METODOS

La cirrosis hepática experimental se indujo en ratas Wistar macho de aproximadamente 150 g. de peso, mediante tratamiento combinado con fenobarbital oral y tetracloruro de carbono, según un modelo desarrollado por McLEAN y cols.<sup>13</sup> y modificado por LÓPEZ NOVOA y cols.<sup>14</sup>. Se utilizaron como controles ratas del mismo sexo y peso, bebiendo fenobarbital a la misma concentración.

Los animales fueron retirados del programa de inducción de cirrosis en distintos momentos de su desarrollo, con el fin de realizar el estudio en distintos estadios de lesión hepática. Aproximadamente entre la 5.<sup>a</sup>-7.<sup>a</sup> semanas de tratamiento el hígado de las ratas muestra lesiones características de hepatitis activa, siendo a partir de la 8.<sup>a</sup> semana cuando se establece una cirrosis<sup>14</sup>.

Las ratas retiradas del protocolo de inducción de cirrosis, así como sus controles, fueron alojados en jaulas metabólicas individuales, recibiendo únicamente dieta estándar y agua corriente ad libitum. Después de un período de adaptación, en la mañana del 3.<sup>er</sup> día, las ratas fueron sometidas a una sobrecarga de 50 ml. de agua, débilmente edulcorada con sacarosa (0,5 %), para que el animal bebiera toda la carga ofrecida. La orina emitida en un período de 24 horas fue recogida en probetas graduadas, en las que se puso previamente una pequeña cantidad de aceite mineral. En la mañana del 6.<sup>o</sup> día se realizó una sobrecarga de 5 mEq de ClNa, en forma de solución ligeramente edulcorada; la orina se recogió como en la sobrecarga acuosa. Durante las 24 horas previas al sacrificio la diuresis fue cuantificada, con el fin de determinar la eliminación urinaria de creatinina. Las ratas fueron manejadas diariamente, entre las 9 y las 11 horas a. m., durante un minuto, aproximadamente, para acostumar al animal al contacto manual.

Las ratas fueron sacrificadas por decapitación, entre las 9 y las 11 horas a. m. del 10.<sup>o</sup> día, transcurriendo unos 20 segundos desde que el animal era retirado de la caja metabólica hasta el momento de la muerte. Todos los animales en que hubo sospecha de «stress» fueron desechados. Una muestra de sangre arteriovenosa fue recogida en tubos de cristal en frío. Inmediatamente se centrifugó y se separó el suero de los elementos formes, congelándose a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis. Se obtuvieron biopsias postmortem de hígado y riñón para su estudio histológico.

Las actividades séricas de la glutámico-oxalacético-transaminasa (GOT) y glutámico-pirúvico-transaminasa (GPT) fueron determinadas mediante el SMAC (Technicon SMAC high speed, computer-controlled biochemical analyzer). El patrón de distribución de las proteínas plasmáticas fue analizado mediante elec-

troforesis en placa de acetato de celulosa. La determinación de la concentración de sodio en orina se realizó mediante electrodo selectivo (Stat/Ion, Technicon Instruments Corporation). Las concentraciones de creatinina en plasma y en orina se midieron por el método del picrato alcalino<sup>15</sup>. Los niveles basales de PRL sérica inmunorreactiva fueron determinados mediante un RIA, según la técnica del doble anticuerpo<sup>16</sup>, utilizando materiales cedidos por el NIAMDD.

Los resultados se expresan como  $x \pm e.e.m.$  Las diferencias entre los grupos fueron estudiadas mediante el análisis de la varianza.

**RESULTADOS**

Los animales fueron divididos en 3 grupos, según la histología hepática, siguiendo los criterios de GERBER y POPPER<sup>17</sup>: ratas controles (C), ratas con hepatitis activa (H) (Fig. 1) y ratas cirróticas (CR) (Fig. 2). No se observaron diferencias significativas en el peso y el hematocrito de los distintos grupos de animales estudiados; sin embargo, el peso del hígado, expresado como porcentaje del peso del cuerpo, fue mayor en los grupos H y CR que en el C, siendo las diferencias estadísticamente significativas (tabla I). Las actividades séricas de la GOT y de GPT fueron mayores en el grupo CR que en el H, y, a su vez, mayores en éste que en el C (Fig. 3). Los animales cirróticos tenían una hipoalbuminemia y una hiper-

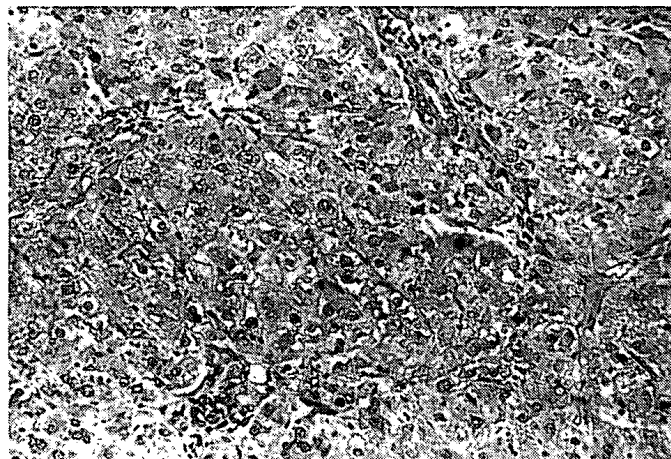


Fig. 1.—Hepatitis activa: aspecto microscópico del hígado (hematoxilina-eosina).



Fig. 2.—Cirrosis: aspecto microscópico del hígado (hematoxilina-eosina).

TABLA I

**CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION**

	Peso (g.)	% peso hígado	Hematocrito (%)
C (n = 23)	260 ± 10,90	3,29 ± 0,09 *	47,41 ± 0,63
H (n = 13)	248 ± 12,21	3,66 ± 0,16 *	47,81 ± 0,84
CR (n = 9)	262 ± 11,54	3,66 ± 0,17 *	47,39 ± 2,21

Los valores se expresan como  $x \pm eem.$  Entre paréntesis, el número total de ratas. C: grupo control. H: grupo con hepatitis activa. CR: grupo cirrótico \*. Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo C ( $p < 0,05$ ).

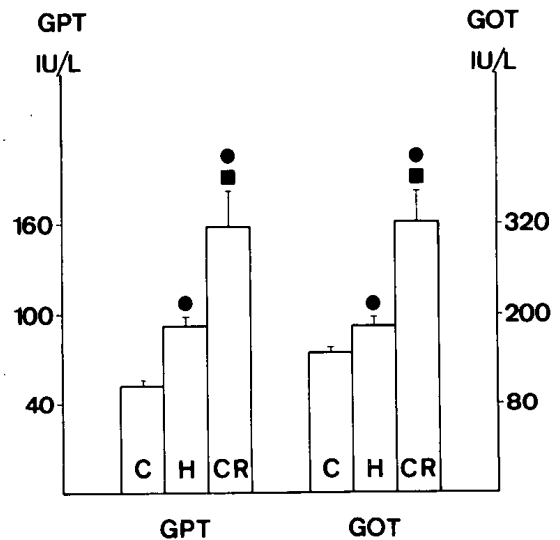


Fig. 3.—Niveles séricos de transaminasas en unidades internacionales por litro (IU/l). GOT: glutámico-oxalacético-transaminasa. GPT: glutámico-pirúvico-transaminasa. C: grupo control. H: grupo con hepatitis activa. CR: grupo cirrótico. \* Diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) con respecto al grupo C. \*\* Diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) con respecto a los grupos C y H.

gammaglobulinemia estadísticamente significativas con respecto a las ratas controles y a aquellas con hepatitis activa (tabla II).

En la tabla III se muestran las respuestas a las pruebas de sobrecarga, así como los aclaramientos de creatinina de los distintos grupos de ratas estudiados. La tasa de filtración glomerular, medida como aclaramiento de creatinina endógena, fue similar en los 3 grupos de animales. La excreción de agua (24 horas) tras la sobrecarga acuosa fue significativamente menor en los animales con hepatitis y con cirrosis que en los controles; la excreción de sodio (24 horas) tras la sobrecarga salina fue significativamente menor en los animales cirróticos que en los otros dos grupos, cuya respuesta fue similar.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los niveles basales de PRL sérica inmunorreactiva (expresada en ng PRL RP-2/ml.) entre los animales controles ( $5,99 \pm 0,73$ ;  $n = 23$ ), aquellos con hepatitis activa ( $5,31 \pm 0,86$ ;  $n = 13$ ) y los cirróticos ( $5,28 \pm 1,07$ ;  $n = 9$ ) (Fig. 4).

El estudio histológico de los riñones mediante microscopía óptica no mostró alteraciones morfológicas en ninguna de las ratas.

TABLA II

**PATRON DE DISTRIBUCION DE LAS PROTEINAS PLASMATICAS**  
(mg/100 ml.)

	P. totales	Albúmina	$\alpha$ -globulina	$\beta$ -globulina	$\gamma$ -globulina
C (n = 23) ..	6,42 $\pm$ 0,07	3,25 $\pm$ 0,03	1,02 $\pm$ 0,02	1,45 $\pm$ 0,03	0,69 $\pm$ 0,02
H (n = 13) ..	6,83 $\pm$ 0,13 •	3,50 $\pm$ 0,05 •	1,15 $\pm$ 0,06 •	1,50 $\pm$ 0,05	0,70 $\pm$ 0,03
CR (n = 9) ..	6,50 $\pm$ 0,20	2,67 $\pm$ 0,09 • ■	1,11 $\pm$ 0,07	1,46 $\pm$ 0,07	1,24 $\pm$ 0,12 • ■

Los valores se expresan como  $\times \pm$  eem. Entre paréntesis, el número de ratas. C: grupo control. H: grupo con hepatitis activa. CR: grupo cirrótico. • Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo C ( $p < 0,05$ ). ■ Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo H ( $p < 0,05$ ).

TABLA III

**ACLARAMIENTO DE CREATININA (CCR) Y RESPUESTAS A LAS SOBRECARGAS**  
SALINA Y ACUOSA

	Sobrecarga salina (% Na recuperado)	Sobrecarga acuosa (% H <sub>2</sub> O recuperada)	Ccr (ml/min/kg. b. ó.)
C (n = 23) .....	94,01 $\pm$ 1,14	84,1 $\pm$ 1,53	3,89 $\pm$ 0,29
H (n = 13) .....	96,5 $\pm$ 2,34	76,0 $\pm$ 3,02 •	3,84 $\pm$ 0,51
CR (n = 9) .....	85,7 $\pm$ 3,31 • ■	72,1 $\pm$ 2,71 •	4,12 $\pm$ 0,30

Los valores se expresan como  $\times \pm$  e.e.m. Entre paréntesis, el número de ratas. C: grupo control. H: grupo con hepatitis activa. CR: grupo cirrótico. • Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo C ( $p < 0,05$ ). ■ Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo H ( $p < 0,05$ ).

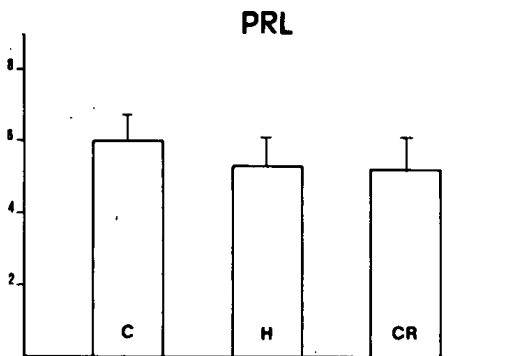


Fig. 4.—Niveles basales de PRL sérica inmunorreactiva (ng PRL RP-2/ml.) C: grupo control. H: grupo con hepatitis activa. CR: grupo cirrótico.

### DISCUSION

Diversos autores han descrito la presencia de hiperprolactinemia en situaciones de hepatopatía crónica<sup>3,4</sup>, y algunos incluso han intentado relacionarla con la ginecomastia y el hipogonadismo<sup>18</sup> o bien con la retención hidroelectrolítica<sup>12</sup> que padecen estos enfermos. Sin embargo, todos estos estudios han sido realizados en seres humanos en los cuales los factores etiológicos de su enfermedad o los tratamientos que recibían podían modificar directamente los niveles de PRL.

Para intentar resolver estos problemas metodológicos hemos utilizado un modelo de cirrosis experimental desarrollado en ratas<sup>13,14</sup> que se asemeja notablemente a la enfermedad humana, tanto desde el punto de vista morfológico como del bioquímico y funcional renal. Macroscópicamente el hígado de los animales incluidos en

el programa de inducción de cirrosis aumenta de tamaño a medida que la lesión hepática progresa, al igual que ocurre en el ser humano; no encontramos, sin embargo, la disminución de tamaño del órgano que se observa en la enfermedad avanzada humana. Ultraestructuralmente las lesiones encontradas se asemejan notablemente a las descritas para la hepatopatía alcohólica en evolución<sup>14</sup>, e incluso han sido clasificadas según los criterios de GERBER-POPPER<sup>17</sup>; la única diferencia que hemos encontrado ha sido un componente inflamatorio activo, incluso en casos de cirrosis bien establecida.

Las actividades séricas de las transaminasas (GOT y GPT) se comportan también como en la evolución de la hepatopatía crónica; no disminuyen sus niveles en los animales cirróticos, porque la destrucción celular es todavía muy importante en ellas. Las ratas cirróticas tienen, al igual que los humanos, una hipoalbuminemia, junto a una hipergammaglobulinemia, como expresiones del déficit de celularidad hepática y de la lesión del hepatocito. Finalmente, la retención hidroelectrolítica que presentan los animales con cirrosis es un fenómeno similar a la disfunción renal del hepatópata crónico. Así pues, nos encontramos ante un modelo experimental prácticamente igual a la enfermedad humana; la única diferencia estriba en que el componente inflamatorio lesional es algo mayor y por ello no han disminuido el tamaño del hígado o las actividades séricas de transaminasas.

Nuestros resultados no han podido confirmar los obtenidos en pacientes cirróticos<sup>3,4</sup>, ya que, a pesar de un grado avanzado de lesión hepática, las ratas con cirrosis no tienen hiperprolactinemia. Esto no indica necesariamente que el catabolismo hepático de la hormona sea

inexistente, ya que los mecanismos de feed-back negativo sobre el sistema hipotálamo-hipófisis podrían mantener los niveles séricos de la PRL dentro de límites normales, a pesar del déficit de degradación. Sin embargo, estos resultados sugieren, al igual que otros estudios previos<sup>19,20</sup>, que la capacidad catabólica hepática de la PRL es muy baja.

Hay varias razones que podrían explicar la hiperprolactinemia descrita en seres humanos y no encontrada en nuestro modelo experimental. En primer lugar, la mayor parte de los individuos cirróticos, por lo menos en Occidente, tienen antecedentes alcohólicos y el alcohol «per se» puede inducir hiperprolactinemia<sup>21</sup>. Además, estos enfermos se encuentran sometidos a una medicación múltiple que puede modificar también los niveles de la hormona. Finalmente, dada la importancia del catabolismo renal en la degradación de la PRL<sup>15</sup>, una disminución de la tasa de filtración glomerular, que con frecuencia acompaña a los estados avanzados de hepatopatía, podría explicar la hiperprolactinemia de algunos pacientes<sup>11</sup>. Para descartar esta posible interferencia hemos medido la tasa de filtración glomerular de nuestros animales, comprobando que no difería en ninguno de los grupos estudiados.

La coexistencia de unos niveles normales de PRL con la retención hidroelectrolítica que tiene lugar en los animales con hepatitis y con cirrosis no parece apoyar la hipótesis de que la hormona sea la responsable de estas alteraciones asociadas a la cirrosis, por lo menos en este modelo experimental. No es posible, sin embargo, descartar un papel secundario de la PRL en la inducción de la disfunción renal de la hepatopatías crónicas en el ser humano.

En resumen, en este modelo de cirrosis experimental no se ha podido demostrar la asociación de enfermedad hepática o hiperprolactinemia. Tampoco parece probable, en vista de los resultados, que la PRL sea la responsable de la disfunción renal de los individuos cirróticos. El catabolismo hepático de la hormona no parece muy importante en el mantenimiento de sus niveles plasmáticos.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado con una ayuda del Instituto Nacional de la Salud (FIS, núm. 020/1981). Agradecemos a Marta Antón y Emilia

Blanco su colaboración técnica, a Marina Bello por el cuidado de los animales de experimentación y a la National Pituitary Agency, NIAMDD, por la donación de los materiales necesarios para el RIA de rPRL.

#### BIBLIOGRAFIA

1. LEVY, M.: «The kidney in liver disease». En: «Sodium and water homeostasis». Brenner, B. M., y Stein, J. H. (eds.). *Contemporary issues in Nephrology*, vol. 1, 73-116. Churchill Livingstone, New York, 1978.
2. JUNG, Y., y RUSSFIELD, A. B.: «Prolactin cells in the hypophysis of cirrhotic patients». *Arch. Pathol.*, 94, 265-269, 1972.
3. VAN THIEL, D. H.; GAVALER, S. S.; LESTER, R.; LORIAUX, D. L., y BRAUNSTEIN, G. D.: Plasma estrone, prolactin, neurophysin and sex steroids binding globulin in chronic alcoholic men». *Metabolism*, 24, 1015, 1975.
4. VAN THIEL, D. H.; LESTER, R.; McCLAIN, C. J.; ELSON, M. C., y MAC MILLIN, M. J.: «Evidence for autonomous secretion of prolactin in some alcoholic men with cirrhosis and gynecomastia». *Metabolism*, 27, 1778-1784, 1978.
5. MORGAN, M. Y.; JAKOBOVITS, A. W.; GORE, M. B. R.; WILLS, M. R., y SHERLOCK, S.: «Serum prolactin in hepatic disease and its relationship to gynecomastia». *Gut*, 19, 170-174, 1978.
6. PICKFORD, G. E., y PHILLIPS, J. G.: «Prolactin, a factor promoting survival of hypophysectomized killfish in fresh water». *Science*, 130, 454-455, 1960.
7. ENSOR, D. M., y BALL, J. N.: «Prolactin and osmoregulation in fishes». *Fed. Proc.*, 31, 1615-1623, 1972.
8. ENSOR, D. M., y PHILLIPS, J. G.: «The effect of salt loading on the pituitary prolactin level of domestic duck and juvenile herring or less black backed gulls». *J. Endocrinol.*, 48, 167-172, 1970.
9. LUCCI, M. S.; BENGELE, H. H., y SOLOMON, S.: «Suppressive action of prolactin on renal response to volume expansion». *Am. J. Physiol.*, 229, 81-85, 1975.
10. BAUMANN, G., y LORIAUX, B.: Failure of endogenous prolactin to alter renal salt and water excretion and adrenal function in man». *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43, 643-649, 1976.
11. BERL, T., y BETTER, O. S.: «Renal effects of prolactin, estrogen and progesterone». En: «Hormonal function and the kidney». Brenner, B. M., y Stein, J. H. (eds.). *Contemporary issues in Nephrology*, vol. 4, 194-214. Churchill Livingstone, New York, 1979.
12. HORROBIN, D. F.; MANRO, M. S., y NASSAR, A. B.: «Hepatorenal syndrome and prolactin». *N. Engl. J. Med.*, 290, 408, 1974.
13. McLEAN, B. K.; McLEAN, A. E. M., y SUTTON, P. M.: «Instant cirrhosis: an improved method for producing cirrhosis of the liver in rats by simultaneous administration of carbon tetrachloride and fenobarbitone». *Br. J. Exp. Pathol.*, 50, 502-506, 1969.
14. LOPEZ-NOVOA, J. M.; RENGEL, M. A.; RODICIO, J. L., y HERNANDO, L.: «A micropuncture study of salt and water retention in chronic experimental cirrhosis». *Am. J. Physiol.*, 232, 315-318, 1977.
15. DOOLAN, P. D.; ALPEN, E. L., y THEIL, C. B. A.: «A clinical appraisal of the plasma concentration and endogenous clearance of creatinine». *Am. J. Med.*, 32, 65-79, 1972.
16. MARTIN OAR, J. E.; PECES, R.; LOPEZ NOVOA, J. M., y HERNANDO, L.: «Pathogenesis of hyperprolactinemia in uremic rats». *Endocrinology*, 108, 2283-2286, 1981.
17. GERBER, M. A., y POPPER, H.: «Relation between central canals and portal tracts in alcoholic hepatitis». *Human Pathology*, vol. 3, 2, 199-207, 1972.
18. VAN THIEL, D. H.; McClain, C. J.; ELSON, M. C., y McMILLIN, M. J.: «Hyperprolactinemia and TRH responses in men with alcoholic liver disease». *Alcoholism. Clin. Exp. Res.*, 2, 344-346, 1978.
19. BRATUSCH-MARRAIN, P.; BJÖRKMAN, O.; WALDHAUSL, W., y WAHREN, J.: «Hepatic disposal of endogenous GH and prolactin in man». *Eur. J. Clin. Inv.*, 9, 257-260, 1979.
20. BAUER, A. G. C.; WILSON, J. H. P., y LAMBERTS, S. W. J.: «The kidney is the main site of prolactin elimination in patients with liver disease». *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51, 70-73, 1980.
21. MAJUMDAR, S. K.: «Serum prolactin in chronic alcoholics». *Practitioner*, 222, 693, 1979.