

## ALTERACIONES MORFOLÓGICAS DE LA ADENOHIPOFISIS DE RATAS WISTAR MACHO TRATADAS CON ESTRADIOL Y ACETATO DE TRENBOLONA

### Adenohypophysis Morphological Alterations of Male Wistar Rats Treated With Oestradiol and Trenbolone Acetate

A. Bernabé\*, A. Blanco\*\*, M. A. Sierra\*\* y E. Mozos\*\*

\* Departamento de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

\*\* Departamento de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.

Recibido: 25 abril

#### RESUMEN

En el presente trabajo hemos estudiado estructural y ultraestructuralmente las modificaciones que se presentan en el parénquima adenohipofisario, de ratas tratadas con estradiol y acetato de trenbolona.

Como material de estudio hemos utilizado las adenohipófisis, de 35 ratas Wistar macho, distribuidas en dos grupos: uno de 28 animales, divididos en siete lotes de cuatro animales cada uno, y otro de 7 que se utilizó como testigo. A cada una de las ratas del primer grupo se le implantó, subcutáneamente detrás de la oreja, una pastilla que contenía 2'5 miligramos de estradiol y 17'5 miligramos de acetato de trenbolona. Ambos grupos se sacrificaron en los días uno, tres, cinco, siete, quince, treinta y sesenta días postimplantación.

En la glándula adenohipofisaria hemos encontrado como modificaciones más significativas, un menor número de células TSH, y un aumento en las LTH, LH y FSH, siendo las dos primeras (LTH y LH) las que más han acusado dicho aumento, pues las FSH sólo aumentan en el primer día de la implantación. Las células ACTH y STH no sufren modificación.

**Palabras clave:** Adenohipofisis, estradiol, acetato de trenbolona, inmunocitoquímica.

#### SUMMARY

Structural and ultrastructural modifications in adenohypophysis parenchyme of rats treated with oestradiol and trenbolone acetate have been studied.

Thirty-five male Wistar rats were used as material of study distributed in two groups: one of 28 animals divided in seven lots of four animals each, and other of seven animals used as witness. In every rat of the first group a tablet containing 2'5 mg of oestradiol and 17'5 mg of trenbolone acetate was implanted subcutaneously behind the ear. Both groups were sacrificed on the first, third, fifth, seventh, fifteenth, thirtieth and sixtieth day postimplantation.

Most significative modifications found in adenohypophysis gland were a decrease in number of TSH cells, and an increase in the LTH, LH, FSH ones, the first two (LTH and LH) being the ones that most suffered the increase, for the FSH ones only increased in the first day of implantation. ACTH and STH cells did not suffer any modification.

**Keywords:** Adenohypophysis, oestradiol, trenbolone acetate, immunocitochemistry.

## INTRODUCCIÓN

La utilización de «finalizadores» en el ganado de abasto viene siendo desde hace tiempo una práctica habitual.

FERRANDO (1980) los clasifica en anabolizantes y sustancias antihormonales. Los primeros los divide en: anabolizantes de síntesis como el dietiltestosterol (DES), dienestrol, hexestrol y sus derivados; compuestos esteroídicos naturales como la testosterona, estradiol, estrona, progesterona y sus derivados; y sustancias presentes en vegetales superiores y hongos con acción estrogénica y anabolizante o fitoestrógenos como la genisteína y el cumestrol. Entre las sustancias antihormonales, los antitiroideos como los tiouracilos e isotiocianatos.

Este mismo autor dice que los anabolizantes de síntesis administrados por vía parenteral o enteral son perjudiciales a los animales de laboratorio bien directamente o por el intermedio de los residuos en carnes y vísceras animales. Los compuestos esteroídicos naturales administrados vía oral se absorben en intestino y se inactivan en el hígado, siendo verdaderamente eficaces por vía parenteral. Y con relación a los fitoestrógenos, indica que pueden provocar accidentes en los animales.

Al estar bajo control la utilización de los «finalizadores» y por la dificultad que entraña la lucha contra la utilización incontrolada, es por lo que pretendemos determinar unos patrones histológicos que nos sirvan de base a estudios posteriores en animales de abasto y que reflejen la acción de dichos compuestos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente trabajo hemos utilizado como

CUADRO I  
NÚMERO DE ANIMALES UTILIZADOS Y  
EDAD DE SACRIFICIO

Lote	N.º de animales experimentación	N.º de animales testigo	Edad	Sacrificio (día p.i.)
1	4	1	61	1
2	4	1	63	3
3	4	1	65	5
4	4	1	67	7
5	4	1	75	15
6	4	1	90	30
7	4	1	120	60

animales de experimentación 35 ratas Wistar macho de 60 días de edad y con un peso aproximado de 200 gramos al comienzo de la experiencia y que fueron distribuidos en dos grupos: uno de 28 animales y otro de 7 utilizado como testigo.

A los 28 animales del primer grupo se le implantó subcutáneamente detrás de la oreja, una pastilla de tipo comercial que contenía 2'5 miligramos de estradiol y 17'5 miligramos de acetato de trenbolona, mediante una aguja de implantación modelo «Synovex Implanter». El sacrificio se realizó según el cuadro n.º 1.

Para el estudio morfológico, tanto con técnicas selectivas como de inmunoperoxidasa y distribución celular, hemos seguido los mismos métodos y esquemas descritos por POOLE y KORNEGAY (1982) y que se recogen en la figura 23.

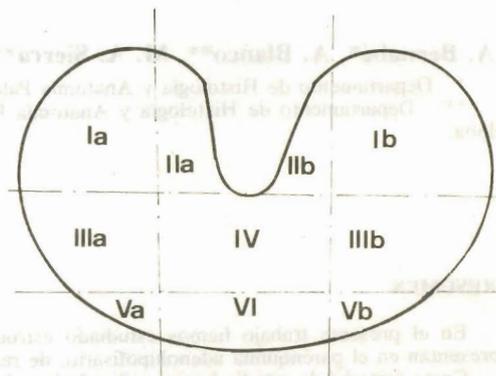


FIGURA 23. Representación gráfica de la adenohipófisis dividida en diez cuadrantes.

Las muestras fueron fijadas en formalol y líquido de Bouin para, posteriormente ser incluidas en parafina. Se realizaron cortes de 3 a 5 micras de espesor que se tiñeron con las técnicas de Hematoxilina-Eosina (Hematoxilina de Carazzi), PAS, DIPAS y tetracromo de HERLANT. Además, hemos utilizado como técnica inmunocitoquímica para el estudio de la adenohipófisis la de la inmunoperoxidasa. Las muestras se fijaron en Bouin-sublimado de Holland, que permite una mejor conservación de las estructuras celulares, concretamente la de los gránulos de secreción.

Básicamente, con esta última técnica pretendemos evidenciar un antígeno, en nuestro caso las hormonas FSH, LH, TSH, ACTH, LTH y STH, utilizando un anticuerpo (antihormona) correspondiente, obtenido en conejo, y que nos ha sido proporcionado por la National Pituitary Agency, de EE.UU., y aplicamos un anticuerpo secundario que servirá de puente con el anticuerpo primario y el complejo PAP; este anti-

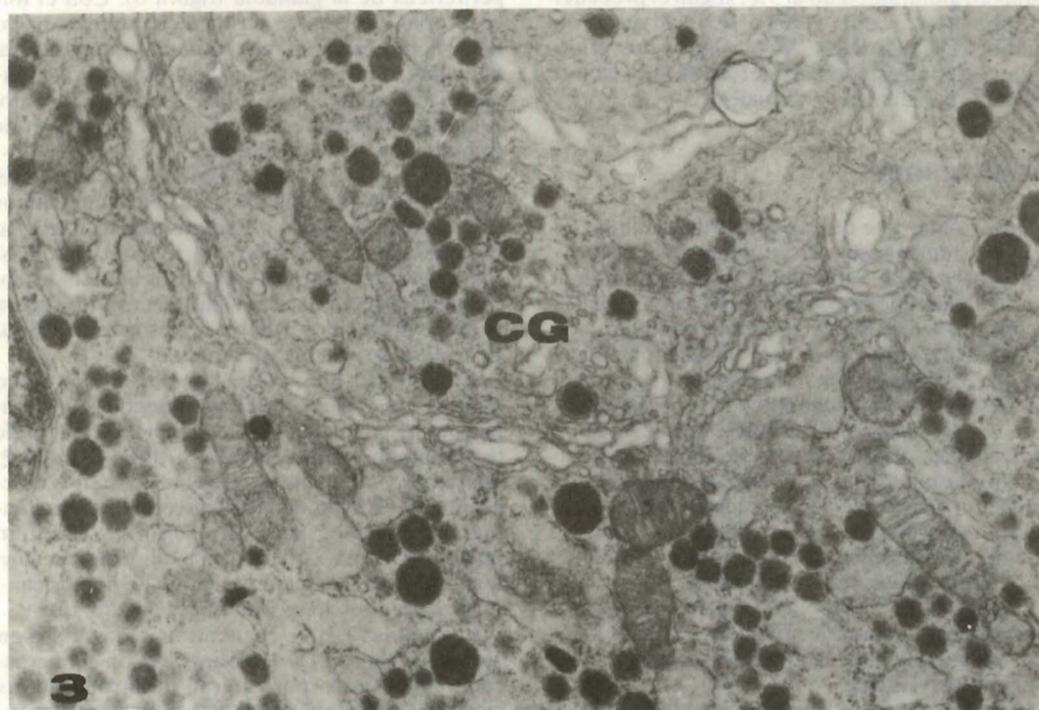
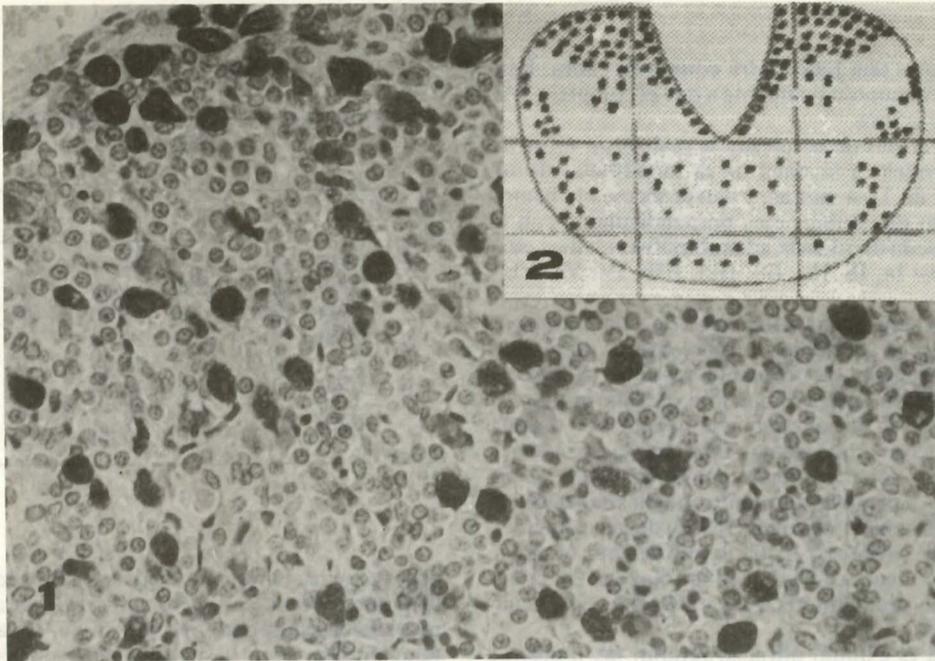


FIGURA 1. Lote primero. Detalle parénquima adenohipofisario en donde las células FSH se encuentran distribuidas de forma aislada y en pequeños acúmulos. Reacción Inmunoperoxidasa. X 320.  
 FIGURA 2. Lote primero. Distribución de las células FSH, en corte transversal de la adenohipófisis, paralelo a la línea de la mandíbula. Reacción Inmunoperoxidasa.  
 FIGURA 3. Lote primero. Célula FSH. Detalle complejo de Golgi (CG) con abundantes imágenes de formación de gránulos de secreción.  $\times 15.500$ .

cuerpo es una IgG contra conejo en cabra. Esto obliga inmunológicamente a que el complejo PAP sea anticabra.

Los cortes de las piezas se realizaron sobre un eje paralelo a la línea de la mandíbula, de un grosor de 3 ó 4 micras, y a esta sección le hemos trazado dos dobles ejes perpendiculares con lo que queda dividida la adenohipófisis en diez cuadrantes: Ia, Ib, IIa, IIb, IIIa, IIIb, IV, Va, Vb y VI.

Para determinar la localización y porcentaje de las células adenohipofisarias, con la utilización de la técnica anteriormente descrita, se han observado los cortes con un microscopio óptico con un objetivo 10, al cual se le adaptó una cámara clara, con la que hemos dibujado las condensaciones y distribuciones celulares sobre el esquema, que posteriormente con un analizador de imagen semiautomático (IBAS) de la casa KONTRON, se obtuvo el porcentaje del área ocupada por las diversas células en la totalidad de la superficie adenohipofisaria y en los diferentes cuadrantes.

Para el estudio ultraestructural, las muestras fijadas en glutaraldehído al 5%, según el proceder de SABATTINI y col. (1963), se incluyeron en Araldita (DURCAPAN ACM), para posteriormente ser contrastados los cortes de 40 a 60 nm siguiendo las técnicas habituales.

## OBSERVACIONES

En el primer lote de experimentación, a las 24 horas p.i., destacamos un aumento en el porcentaje de las células FSH (18'43%) que con la técnica de la inmunoperoxidasa suero anti-FSH las encontramos a modo de pequeños acúmulos distribuidos uniformemente por la adenohipófisis (cuadro 2, figura 1), pero sobre todo en la porción más cefálica de los cuadrantes Ia y Ib (figura 2). Con el microscopio electrónico destacamos en estas células, un gran desarrollo de sus orgánoides citoplasmáticos con numerosas imágenes de formación de gránulos de secreción (figura 3), así como la distribución típica de las cisternas del retículo endoplásmico granular y la polaridad de los gránulos de secreción (figura 4).

El resto de los componentes celulares no presenta variación numérica evidente (cuadro 2), si bien resaltamos una ligera disminución en las células LTH y TSH.

A los tres días p.i., que corresponden al segundo lote, las células que presentan mayor variación numérica, son las células LH que pasan de 5'48% en el lote anterior al 8'93% para, posteriormente, ir disminuyendo progresivamente hasta el final de la experiencia, pero de forma paulatina (cuadro 2). Este aumento numérico se

CUADRO 2

### PORCENTAJE DE CELULAS ADENOHIPOFISARIAS

LOTES	LH	FSH	ACTH	TSH	LTH	STH
T	5'32	15'76	4'30	14'90	7'91	26'35
1	5'49	18'43	4'50	13'00	7'00	26'00
2	8'93	15'43	4'50	13'00	7'00	26'20
3	7'20	15'43	4'53	13'10	7'15	26'30
4	7'10	12'00	4'55	13'00	13'70	26'25
5	6'80	12'00	4'50	10'80	13'00	26'00
6	6'50	12'07	4'61	10'77	13'70	26'20
7	6'70	12'33	4'51	10'80	13'77	26'25

observa más claramente mediante la reacción de la inmunoperoxidasa suero anti-LH (figura 5) y a nivel de los cuadrantes IIa, IIb, Va y Vb, aunque también se concentra su distribución en las zonas periféricas de la glándula (figura 6). Con el microscopio electrónico destaca el gran desarrollo del retículo endoplásmico granular que presenta dilatadas e intercomunicadas sus cisternas (figura 7). El complejo de Golgi, bien desarrollado, presenta abundantes imágenes de formación de gránulos de secreción (figura 8).

En este mismo lote las células FSH vuelven al porcentaje normal (cuadro 2), si bien detectamos la presencia de quistes celulares a partir de dilataciones de las cisternas del retículo endoplásmico granular, que presentan un contenido homogéneo de mediana densidad electrónica (figura 9). Este hecho no se vuelve a presentar a lo largo de todo el proceso experimental.

En el tercer lote, correspondiente a los cinco días p.i., las células FSH, disminuidas en su número, presentan menor reacción a las técnicas de la inmunoperoxidasa suero anti-FSH (cuadro 2, figuras 11 y 12), aunque con el microscopio electrónico el retículo endoplásmico granular se encuentra dilatado, pero sin llegar a constituir quistes celulares; existe formación y almacenaje de gránulos de secreción, aunque en menor cantidad que en los lotes anteriores (figura 12).

Las células LH se encuentran aumentadas en número (cuadro 2) y se distinguen con el microscopio electrónico por el gran desarrollo de las cisternas de retículo endoplásmico granular, entre las que se disponen gránulos de secreción a modo de acúmulos y repartidos por el citoplasma.

Igualmente resaltamos en las células TSH la presencia de gránulos de secreción intracisternales (REg), lo que se considera como un fallo en

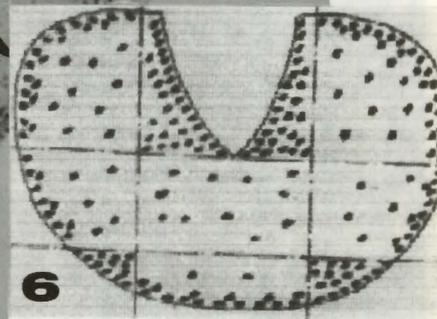
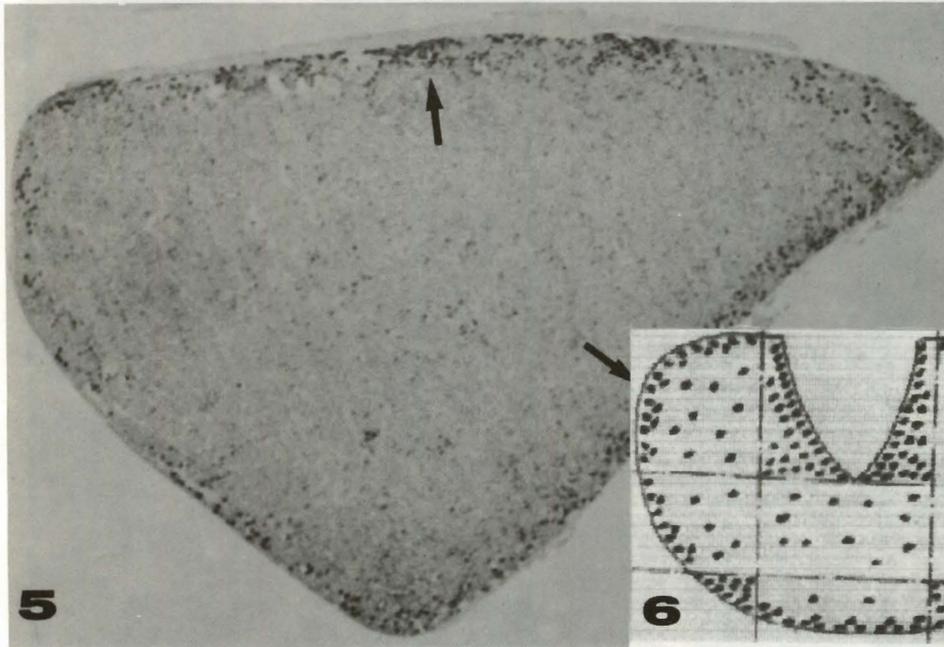
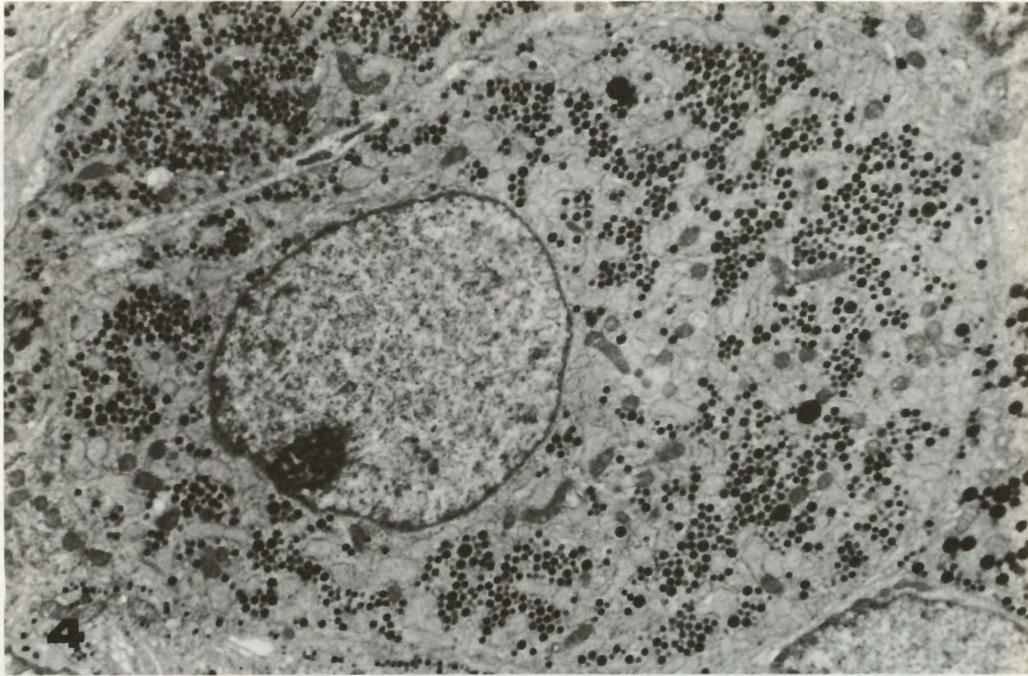


FIGURA 4. Lote primero. Célula FSH con abundantes gránulos de secreción.  $\times 10.500$ .  
 FIGURA 5. Lote segundo. Parénquima adenohipofisario en donde se aprecian las células LH distribuidas en la zona periférica. Reacción Inmunoperoxidasa suero anti-LH.  $\times 120$ .  
 FIGURA 6. Lote segundo. Distribución de las células LH, en corte transversal adenohipofisario. Reacción Inmunoperoxidasa.

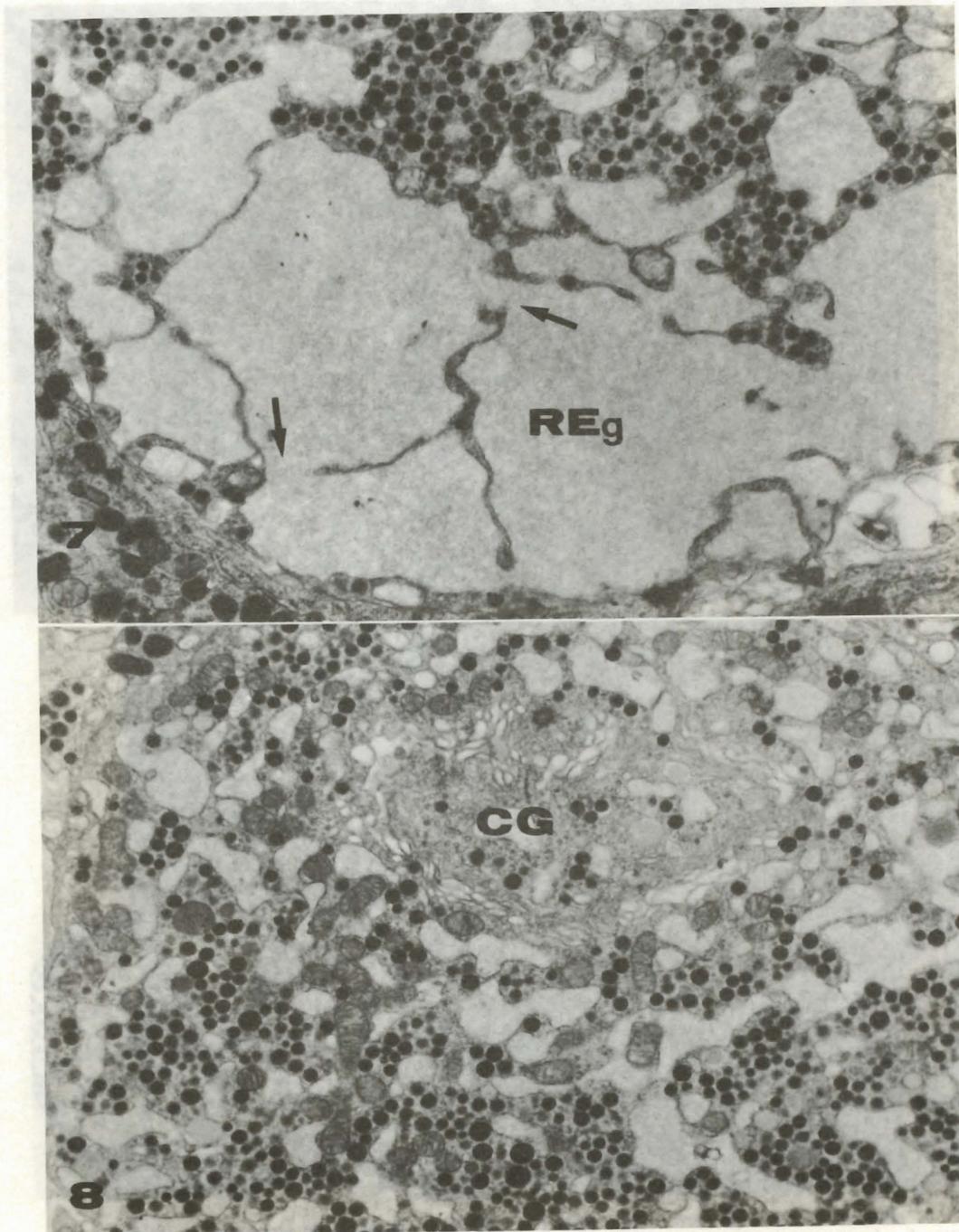


FIGURA 7. Lote segundo. Detalle célula LH, con amplias dilataciones de las cisternas del retículo endoplásmico granular (REg) comunicadas entre sí (flechas).  $\times 14.500$ .

FIGURA 8. Lote segundo. Célula LH. Se observa gran desarrollo del complejo de Golgi (CG).  $\times 11.500$ .

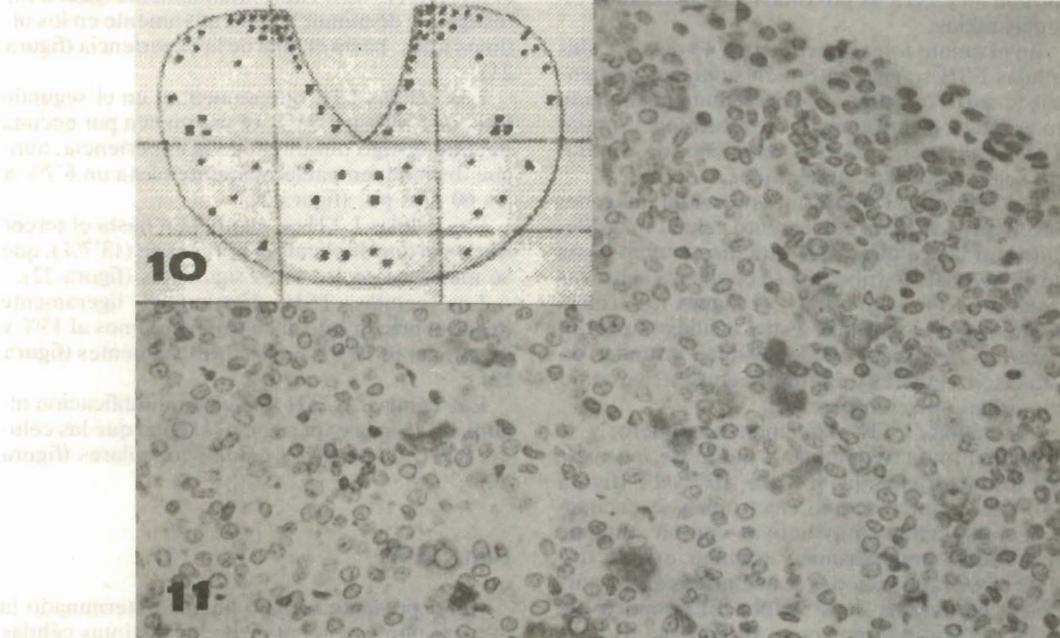
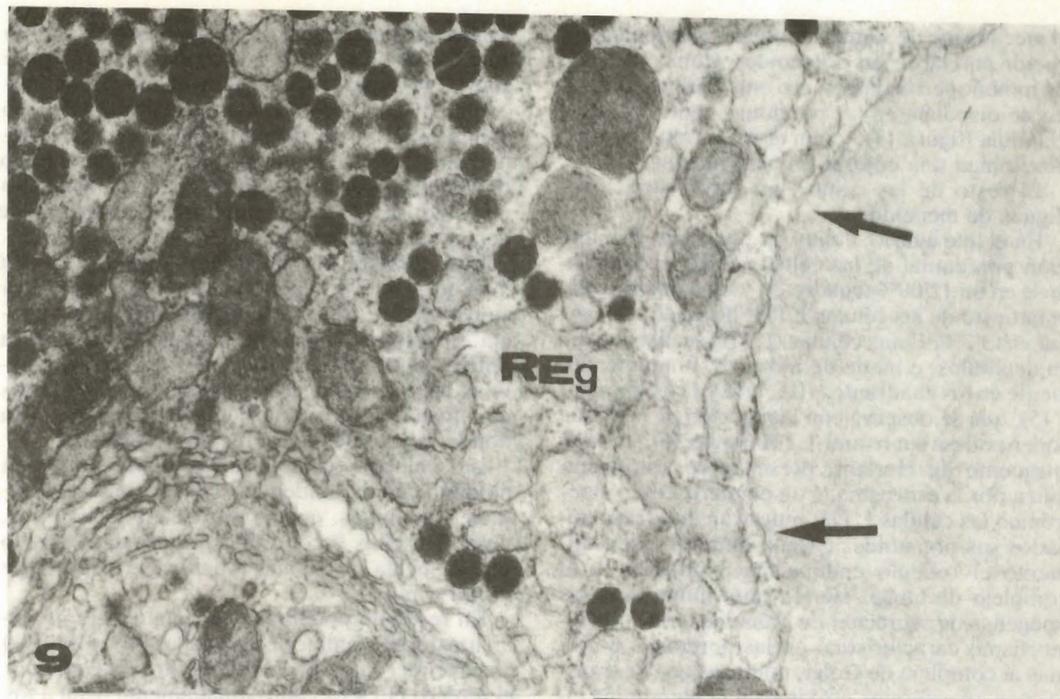


FIGURA 9. Lote segundo. Detalle célula FSH. Se aprecia la pared del quiste celular (flechas) y las dilataciones del retículo endoplásmico granular (Reg).  $\times 15.500$ .

FIGURA 10. Lote tercero. Esquema de la distribución de las células FSH en corte transversal adenohipofisario. Reacción Inmunoperoxidasa.

FIGURA 11. Lote tercero. Las células FSH se encuentran en menor número y dan menos intensa la reacción inmunoperoxidasa suero antiFSH.  $\times 320$ .

el mecanismo de síntesis protéica, y la desorganización parcial de sus organoides. Con la reacción de inmunoperoxidasa suero anti TSH estas células se disponen en las porciones centrales de la glándula (figura 13), y con el tetracromo de Herlant toman una coloración azul intensa.

El resto de las células no sufre variaciones dignas de mención.

En el lote cuarto, 7 días p.i., hay una disminución porcentual de las células FSH, encontrándose en un 12'09% (cuadro 2), y un aumento muy manifiesto de las células LTH, llegando a alcanzar el 13'7%. Estas células (LTH) se distribuyen en acúmulos, a modo de mosaico, fundamentalmente en los cuadrantes IIIa, IIIb y IV (figuras 14 y 15), que se observa con la reacción de la inmunoperoxidasa suero anti-LTH (figura 16), y con el tetracromo de Herlant, presentando coloración rojiza por la eritrosina. Con el microscopio electrónico las células LTH, muestran muy desarrollados sus organoides citoplasmáticos, esencialmente el retículo endoplásmico granular y el complejo de Golgi, siendo muy numerosas las imágenes de secreción de gránulos, con su pleomorfismo característico en las porciones próximas al complejo de Golgi, mientras que se transforman en esféricos próximos a la membrana citoplasmática.

En el quinto lote experimental, 15 días p.i., las células FSH se encuentran en su menor porcentaje (cuadro 2, figura 17) y presentan un aumento en gránulos electrodensos, de morfología similar a lisosomas, con lo que los fenómenos de crinofagia se encontrarían aumentados.

Las células LH empiezan a presentar imágenes degenerativas, pero el elemento celular más alterado son las células TSH que disminuyen hasta un 10'8% y su distribución se condensa sobre los cuadrantes IV, IIIa, IIIb, y VI (figura 13). Con el microscopio electrónico estas células muestran cisternas de retículo endoplásmico granular dilatadas, irregulares y diferentes entre sí, así como una desgranulación parcial.

Las células LTH mantienen su número, y su distribución en acúmulos, a modo de mosaico, por los cuadrantes Ia, Ib, IIIa, IIIb y IV (figura 15). Con el microscopio electrónico se encuentran como células muy activas con un aumento del retículo endoplásmico granular que se dispone en estratificaciones concéntricas en las porciones periféricas de la célula. El complejo de Golgi, constituido por ocho o diez dictiosomas (figura 18), se dispone próximo al núcleo y presenta además abundantes imágenes de formación de gránulos de secreción.

En los lotes sexto y séptimo, 30 y 60 días p.i., se mantienen las modificaciones del lote anterior. Las células LTH son el elemento celular más predominante en lo que respecta a su número

(cuadro 2) y actividad, dando una fuerte reacción ante las técnicas de la inmunoperoxidasa suero anti-LTH (figura 19) y del tetracromo de Herlant, con el que se muestran muy eritrosinófilas. Con el microscopio electrónico destaca el gran desarrollo del retículo endoplásmico granular a modo de cisternas paralelas (figura 20) y del complejo de Golgi, siendo muy numerosas las imágenes de secreción de gránulos.

Las células STH y ACTH no sufren variación a lo largo de toda la experiencia en lo que respecta a su porcentaje (cuadro 2), distribución y morfología, si bien destacamos que, con la reacción de la inmunoperoxidasa suero anti-ACTH, estas células se presentan como elementos estrellados que mandan pedicelos hacia los capilares, en donde se produce la secreción hormonal.

Las células y cavidades foliculares no tienen modificaciones evidentes, encontrándose cavidades con cilios, que se proyectan hacia la luz, como sin ellos y con microvellosidades. Por lo que respecta al coloide folicular se puede presentar o no.

En resumen podemos decir que existe un aumento del porcentaje de las células FSH (18'43%) en el primer lote, mantenerse entre el segundo y el tercero (15'43%) aproximadamente igual a los testigos, y disminuir significativamente en los últimos lotes, hasta el final de la experiencia (figura 21).

Las células LH, que aumentan en el segundo lote, de 5'49% a 8'93%, se mantienen por encima del lote testigo durante toda la experiencia, aunque disminuyen paulatinamente hasta un 6'7% a los 60 días p.i. (figura 21).

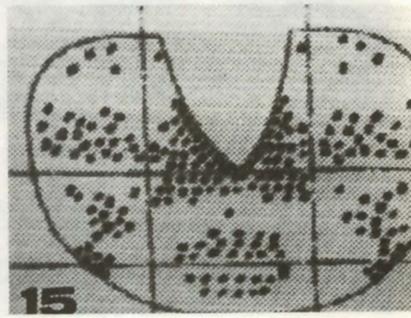
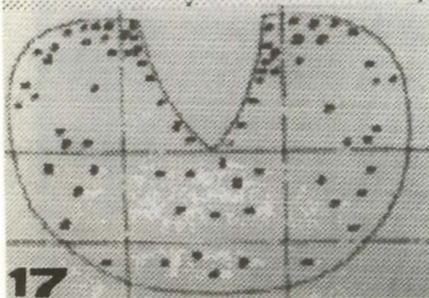
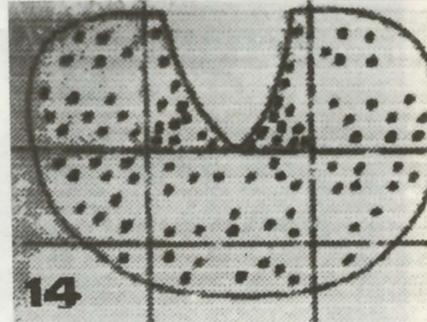
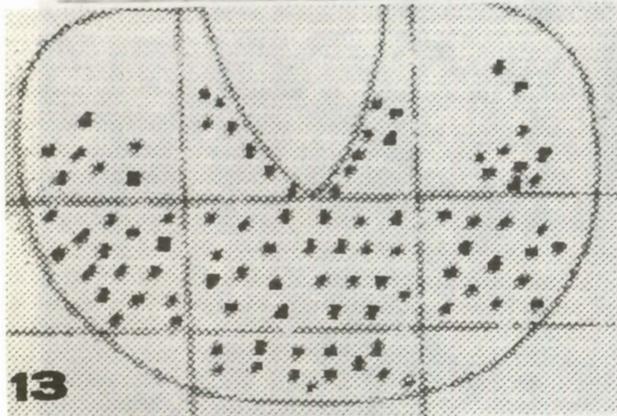
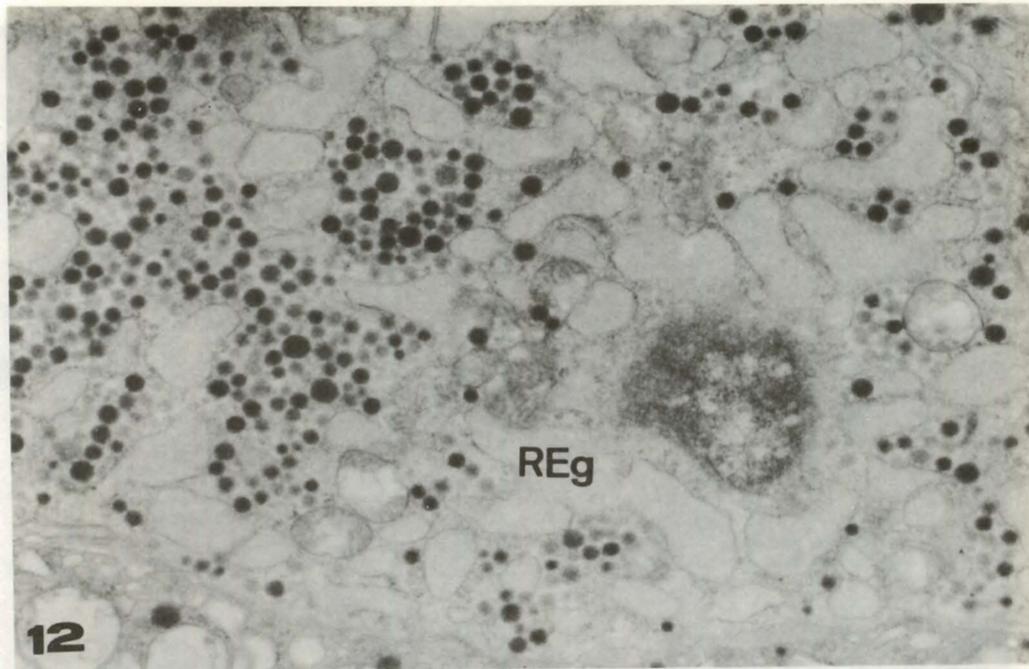
Las células LTH se mantienen hasta el tercer lote en el que duplican su porcentaje (13'7%), que se mantiene en los lotes siguientes (figura 22).

Las células TSH disminuyen ligeramente desde el primer lote al cuarto, próximos al 13% y descender al 10'8% en los lotes siguientes (figura 22).

Las células ACTH no sufren modificación alguna en toda la experiencia, al igual que las células STH, cavidades y células foliculares (figura 22).

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo hemos determinado la localización y porcentaje de las distintas células adenohipofisarias mediante técnicas histoquímicas y de inmunoperoxidasa en ratas Wistar macho tratadas con estradiol y acetato de trenbolona en forma de implante subcutáneo detrás de la oreja. Igualmente hemos realizado planos histológicos semejantes a los obtenidos por POOLE y KORNEGAY (1982), coincidiendo con ellos en la



- FIGURA 12. Lote tercero. Célula FSH con dilatación de las cisternas del retículo endoplásmico granular, entre las que se encuentran escasos gránulos de secreción.  $\times 15.000$ .
- FIGURA 13. Lote tercero. Distribución de las células TSH en corte transversal adenohipofisario. Reacción Inmunoperoxidasa.
- FIGURA 14. Lotes primero, segundo, tercero. Distribución de las células LTH en corte transversal adenohipofisario. Reacción Inmunoperoxidasa.
- FIGURA 15. Lotes cuarto, quinto, sexto y séptimo. Distribución de las células LTH en corte transversal adenohipofisario. Reacción Inmunoperoxidasa.
- FIGURA 17. Lotes cuarto, quinto, sexto y séptimo. Distribución de las células FSH en corte transversal adenohipofisario. Reacción Inmunoperoxidasa.

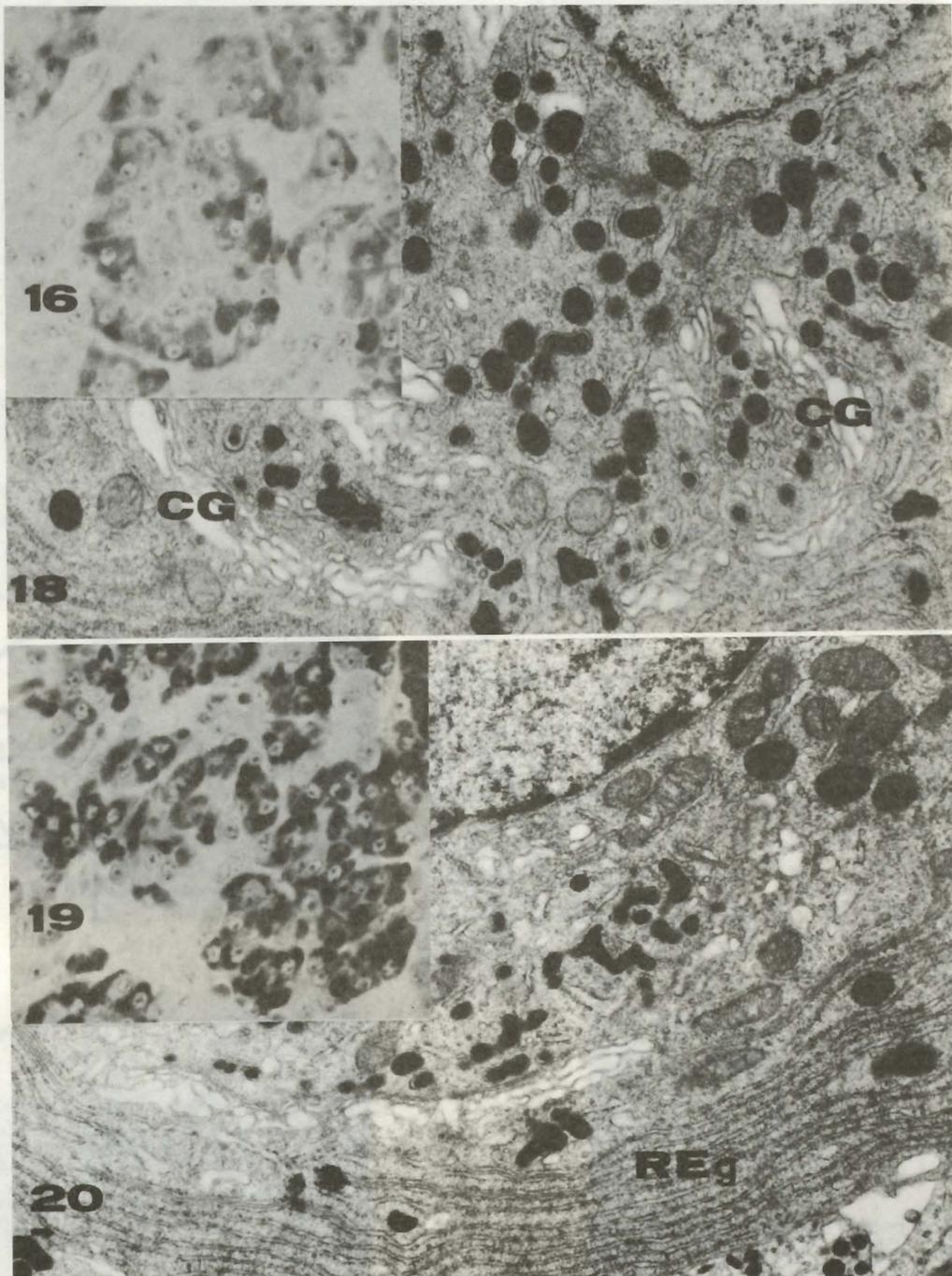


FIGURA 16. Lote cuarto. Detalle parénquima adenohipofisario. Se aprecian abundantes células LTH distribuidas a modo de mosaico. Reacción Inmunoperoxidasa suero anti-LTH.  $\times 320$ .

FIGURA 18. Lote quinto. Célula LTH, con abundantes discitosomas y gránulos de secreción.  $\times 13.500$ .

FIGURA 19. Lote séptimo. Parénquima adenohipofisario con abundantes células LTH distribuidas en acúmulos y mostrando una fuerte reacción Inmunoperoxidasa suero anti-LTH.  $\times 320$ .

FIGURA 20. Lote séptimo. Detalle célula LTH. Se destaca el gran desarrollo del retículo endoplásmico granular (REg).  $\times 13.500$ .

distribución de las células gonadotropas y lactotropas, pero no en los porcentajes que dan por tratarse de ratas en diestro.

Las células FSH se encuentran reactivadas al día p.i. (de 15'76% en los animales testigo al 18'43% en el lote experimental) y distribuidas en las porciones rostrales de la glándula y próximas a la pars intermedia, hecho comprobado por la reacción de inmunoperoxidasa suero anti-FSH y por la actividad celular que manifiestan las imágenes de microscopía electrónica. Pero en el transcurso de la experiencia se estabilizan iniciando la formación de quistes celulares a los tres días p.i., a partir de cisternas dilatadas de retículo endoplásmico granular, hecho igualmente observado por GARCÍA RUZ (1980) en ratas macho castradas, pero que desaparecen en el resto de la experiencia. A partir del cuarto lote de células FSH disminuyen a un 12% aproximadamente y se mantiene hasta el séptimo lote.

Las células LH se presentan en un 5'32% en el lote testigo, porcentaje que no varía hasta el segundo lote donde se obtienen valores del 8'93% de la totalidad de la población celular adenohipofisaria, sufriendo a partir de aquí un descenso paulatino entre los lotes 3.º y 7.º, cuyos valores oscilan entre el 7'2% y el 6'7% respectivamente. Estos valores coinciden con los obtenidos por MOLINA (1982) en corderos implantados con estradiol y acetato de trenbolona.

El aumento de las células LH que tiene lugar a los tres días p.i., se presenta en las porciones laterales, caudal y en las zonas periféricas que rodean a la pars intermedia, coincidiendo con los estudios de POOLE y KORNEGAY (1982). Junto con este mayor porcentaje, existe un aumento en su actividad celular, como se deduce de su ultraestructura, aún sin confirmación bioquímica, coincidiendo con las observaciones de GARCÍA RUZ (1980) en ratas macho a los 3, 5 y 7 días postgonadectomía y con GARNER y BLAKE (1981) en ratas a los 7, 19 y 35 días postcastración.

Las células que reaccionan con más intensidad son las LTH, reactivación que se produce a partir del séptimo día p.i. (4.º lote), ya que en los tres primeros lotes y con las técnicas habituales y de inmunoperoxidasa, no observamos variación en su número, siendo éste muy próximo al observado en el lote testigo (7'91%), aunque muy inferior al encontrado por POOLE y KORNEGAY (1982) en ratas en diestro (28'2% en la porción central, y el 36'6% en la periférica), pero superior al obtenido por MOLINA (1982) en corderos (2%). A partir del séptimo día se duplica el número de células manteniéndose así a lo largo de toda la experiencia, hecho igualmente descrito por este último autor a los sesenta días p.i. en corderos. Este aumento celular tiene lugar en las zonas que normalmente ocupan y que contactan con la pars

intermedia y laterales de la porción dorsal, tal y como indican POOLE y KORNEGAY (1982).

Con el microscopio electrónico no se observa reactivación celular hasta el cuarto lote, en donde se aprecia una activación en la síntesis de gránulos de secreción y una rápida expulsión de los mismos, ya que no se almacenan, lo que coincide con los estudios realizados por ZAMBRANO y DEIS (1970) que, en ratas con trasplantes de estradiol en hipotálamo, destacan un aumento del retículo endoplásmico granular y de la actividad secretora. El aumento del retículo endoplásmico granular viene representado por la disposición paralela de las cisternas, hechos igualmente descritos en ratas por POOLE y cols. (1980) y HYMER y cols. (1961), estos últimos después de un tratamiento con estrógenos y durante la lactación.

Las restantes células adenohipofisarias,

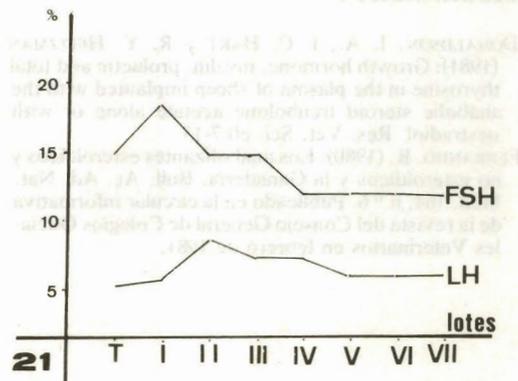


FIGURA 21. Representación gráfica del porcentaje de las células FSH y LH en el parénquima adenohipofisario.

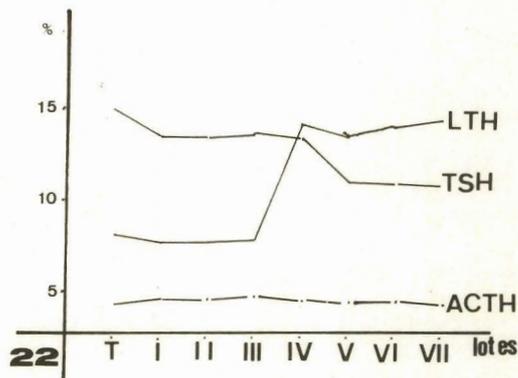


FIGURA 22. Representación gráfica del porcentaje de células LTH, TSH y ACTH en el parénquima adenohipofisario.

ACTH, TSH y STH, apenas sufren modificaciones cuantitativas como cualitativas, si bien las células TSH descienden en su porcentaje (del 13% en el primer lote al 10'8% en el séptimo), no coincidiendo con los resultados de MOLINA (1982) en corderos, ya que este autor indica un aumento del 8% de los lotes experimentales sobre los testigos.

Con respecto a las células STH, coincidimos con los resultados obtenidos por DONALDSON y cols. (1981), en novillos, en que el acetato de trenbolona y el estradiol no producen un efecto significativo sobre dicha hormona en el plasma, dada la poca variabilidad morfométrica y morfológica observada en dichas células.

#### BIBLIOGRAFÍA

- DONALDSON, I. A., I. C. HART y R. Y. HEITZMAN (1981): Growth hormone, insulin, prolactin and total tyrosine in the plasma of sheep implanted with the anabolic steroid trenbolone acetate alone or with oestradiol. *Res. Vet. Sci.* e0:7-13.
- FERRANDO, R. (1980): Los anabolizantes esteroidicos y no esteroidicos y la Ganadería. *Bull. Ac. Ad. Nat. Méd.* 164, n.º 6. Publicado en la circular informativa de la revista del Consejo General de Colegios Oficiales Veterinarios en febrero de 1981.
- GARCÍA RUZ, C. (1980): Contribución al estudio histológico de las células gonadotropas hipofisarias en ratas Wistar macho, castradas. Tesis doctoral. Facultad de Biológicas. Universidad de Córdoba.
- GARNER, L. L., C. A. BLAKE (1981): Ultrastructural, Immunocytochemical study of the LH secreting cell of the rat anterior pituitary gland: changes occurring after ovariectomy. *Biol. Reprod.* 24:416-474.
- HYMER, V. C., W. H. MCSHAN, R. G. CHRISTIANSEN (1961): Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland from lactating and estrogen treated rats. *Endocrinology*, 69:81-84.
- MOLINA, M. (1982): Estudio de las alteraciones morfológicas del sistema endocrino de corderos —hipofisis, adrenales, tiroides— tratados con estradiol y acetato de trenbolona. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.
- POOLE, M. C. MAHESH, A. COSTOFF (1980): Intracellular dynamics in pituitary mamotropes throughout the rat cycle: I. Morphometric methodologic and hormonal correlations with cellular and nuclear volumes. *Am. J. Anat.* 158:3-13.
- POOLE, M. C., W. D. KORNEGAY (1980): Cellular distribution within the rat adenohypophysis: A morphometric study. *Anat. Rec.* 204:45-53.
- SABATINI, M. C., BENSCH, R. J., BARNETT (1963): Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular structures and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J. Cell. Biol.* 17:19-58.
- ZAMBRANO, D., R. P. DEIS (1970): The adenohypophysis of female rats after hipotalamic oestradiol implants: an electron microscopic study. *J. Endocrinol.* 47:101-108.

