

ALTERACIONES MORFOLÓGICAS DEL TIROIDES DE RATAS WISTAR MACHO TRATADAS CON ESTRADIOL Y ACETATO DE TRENOLONA

(Thyroid Morphological Alterations of Male Wistar Rats Treated with Oestradiol and Trenbolone Acetate)

A. Bernabé*, A. Gázquez***, A. Méndez** y M. A. Gómez*

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

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

*** Departamento de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura.

Recibido: 25 marzo

RESUMEN

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

Como material de estudio hemos utilizado el tiroides de 35 ratas Wistar macho, distribuidas en dos grupos: uno de 28 animales dividido en siete lotes de cuatro animales cada uno, y otro de 7 animales 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 de acetato de trenbolona. Ambos grupos se sacrificaron en los días uno, tres, cinco, siete, quince, treinta y sesenta postimplantación.

La glándula tiroides muestra una hiperactividad en el primer lote de experimentación, caracterizada por un aumento de todas las estructuras glandulares en donde hay un predominio de folículos de síntesis; en los lotes 4.º y 5.º se observa una desorganización folicular e hiperplasia bociógena o folicular, debido a una disminución de las estructuras glandulares, presentándose una gran desorganización folicular tanto a nivel central como periférico, con gran cantidad de folículos sin coloide, a modo de células en mosaico. En los dos últimos lotes, a los 30 y 60 días, se encuentra una recuperación folicular con gran cantidad de folículos de almacenamiento revestidos por células planas y con claros fenómenos de degeneración celular, por lo que se instaura un bocio coloide.

Palabras clave: Tiroides, estradiol, acetato de trenbolona, morfometría.

SUMMARY

Structural and ultrastructural modifications in thyroid 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.

Thyroid gland shows a hyperactivity in the first experimentation lot, characterized by an increase in all gland structures where there is a predominance of synthesis follicles. In lots 4 and 5 a follicular disorganization and bociogenic or follicular hyperplasia is observed, due to a decrease of gland structures, appearing a great follicular disorganization both at central and periferic level, with a great amount of follicles without colloid seeming-like mosaic cells. In the last two lots, those of days 30th and 60th, a follicular recovering is found with a great amount of storing follicles lined by flat cells and with clear indications of cellular regeneration, so a colloid goitre is set up.

Keywords: Thyroid, oestradiol, trenbolone, acetate, morphometry.

INTRODUCCIÓN

Dentro de los anabolizantes, FERRANDO (1980) clasifica al estradiol y acetato de trenbolona en el grupo de los compuestos esteroídicos naturales, de los que matiza que sólo son eficaces en su utilización parenteral, ya que en administración oral y absorción intestinal son inactivados en el hígado.

Los esteroides naturales, utilizados como «finalizadores» en los animales de abasto, se encuentran bajo control sanitario según la legislación vigente. Con el presente trabajo pretendemos determinar patrones histológicos y morfológicos de la glándula tiroidea que reflejen la acción de dichos anabolizantes.

Para su realización, tomamos como referencia los trabajos de MOLINA (1982) en corderos implantados con estradiol y acetato de trenbolona, de ELSE OLEN (1969) en cricetos en donde detalla la instauración experimental del bocio hiperplásico y del bocio coloide, los de DENEY y cols. (1981) en ratones sometidos a una dieta deficitaria en yodo, los de GARCÍA GARCÍA (1981) en ratas tratadas con TRH, y los de DONALDSON y cols. (1981) en novillos implantados con acetato de trenbolona y estradiol, por citar algunos, junto con una extensa relación de trabajos que se refieren a la histología normal del tiroides.

MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos utilizado como 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, que se distribuyeron en dos grupos: uno de 28 animales y otro de 7 utilizado como testigo.

A los 28 animales del primer grupo se les 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 Implater».

Los animales de experimentación y los testigos se mantuvieron bajo idénticas condiciones ambientales, de alimentación y manejo.

El sacrificio de los animales se realizó según el cuadro n.º 1.

Para el estudio estructural de la glándula tiroidea se fijó en formol y se incluyó en parafina. Los cortes de 3 a 5 μ m de espesor, se tiñeron con Hematoxilina-Eosina (Hematoxilina de Carazzi).

En el estudio ultraestructural las muestras fueron fijadas en glutaraldehído al 5%, según el proceder de SABATTINI y cols. (1963), y se fijaron en tetróxido de osmio al 2% en solución tampón fosfato. Se deshidrataron en una escala ascen-

CUADRO 1
DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES
UTILIZADOS Y EDAD DE SACRIFICIO

LOTE	N.º DE ANIMALES EXPERIMENTACIÓN	N.º DE ANIMALES TESTIGO	EDAD	SACRIFICIO
1	4	1	61	1 día p.i.
2	4	1	63	3 día p.i.
3	4	1	65	5 día p.i.
4	4	1	67	7 día p.i.
5	4	1	75	15 día p.i.
6	4	1	90	30 día p.i.
7	4	1	120	60 día p.i.

dente de acetonas, añadiendo a la de 70%, acetato de uranilo al 1% y ácido fosfotúngstico al 0'5% para conseguir un contraste previo. Posteriormente, las muestras son tratadas con óxido de propileno y Araldita para, finalmente, ser incluidas en Araldita (DURCAPAN ACM). De los bloques obtenidos, se realizaron cortes de 40 a 60 nm. de espesor que son contrastados con acetato de uranilo en solución saturada y citrato de plomo, según REYNOLDS (1963).

Estudio morfométrico. Los cortes de las muestras de tiroides, incluidos en parafina y de un grosor de 3 a 5 μ m, se estudiaron en fotografías a 480 y 720 aumentos, para el estudio morfométrico de los folículos tiroideos, o bien directamente con un objetivo de 16.

Los datos estadísticos obtenidos fueron: la media del área del folículo y de la cavidad folicular, la media del diámetro del folículo y de la cavidad, la media de los perímetros folicular y de la cavidad, así como el índice de varianza, desviación típica y error standar.

Para la comparación estadística entre el grupo experimental y el grupo testigo se ha utilizado el U-test y el T-test.

RESULTADOS

En el primer lote de experimentación el tiroides de los animales sacrificados a las 24 horas p.i. se encuentra constituido por folículos de gran tamaño (figura 2) en la porción periférica y de menor tamaño en la central; el epitelio folicular representa el 43'09% de la superficie glandular (cuadro 2; figura 13) y se encuentra formado por células cúbicas o cilíndricas que, con el microscopio electrónico (figura 3), presentan el núcleo central o ligeramente basal. En el citoplasma el

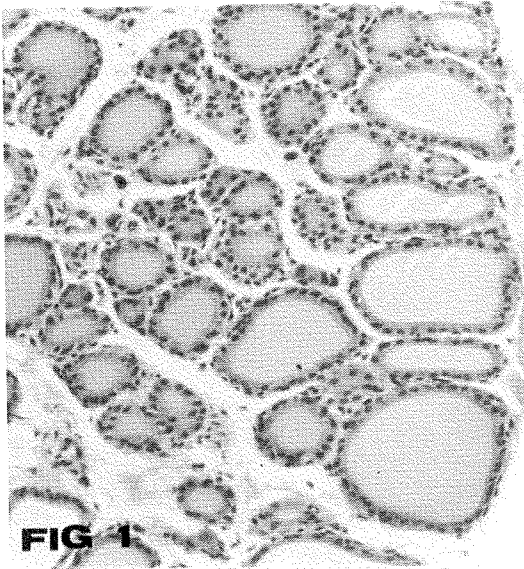


FIG 1

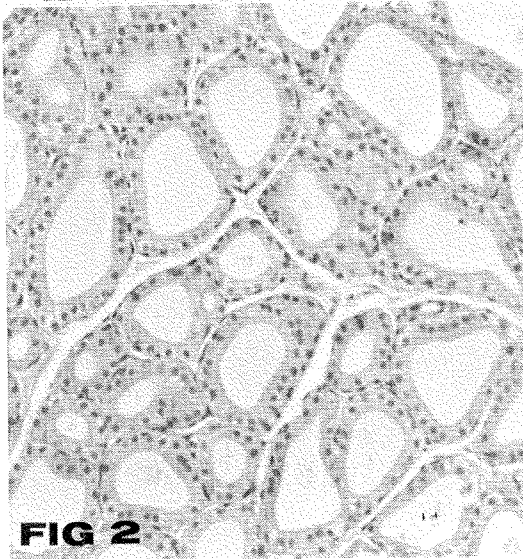


FIG 2

FIGURA 1. Lote Testigo. En el parénquima tiroideo se observan los folículos centrales de pequeño diámetro y los periféricos de mayores diámetros. Hematoxilina-Eosina. X 190.

FIGURA 2. Lote Primero. Aumento del volumen del epitelio folicular, del folículo y de la cavidad folicular, destacándose los folículos de mayor tamaño en la porción periférica de la glándula. Hematoxilina-Eosina. X 190.

retículo endoplásmico granular se constituye por cisternas y vesículas, mientras que el complejo de Golgi se dispone en posición supranuclear y está poco desarrollado. Entre las mitocondrias y las cisternas de retículo endoplásmico granular, los lisosomas se encuentran en escaso número y conteniendo un material homogéneo y electrodensito.

En la superficie libre de las células las microvellosidades son poco numerosas y cortas.

Los folículos tiroideos están rodeados por un tejido conectivo rico en vasos sanguíneos.

En el análisis morfométrico (cuadros 3 y 4; figura 13) destacamos un aumento de todos los parámetros, siendo muy superiores a los obtenidos en el lote testigo.

En el segundo lote y 3 días p.i. se mantiene la disposición normal de los folículos tiroideos; el epitelio folicular disminuye al 21'01% (cuadro 2) y se encuentra formado por células cúbicas o cilíndricas en las que sobresale un aumento del retículo endoplásmico granular en la porción apical de la célula (figura 4), mientras que el complejo de Golgi no presenta modificaciones. En la superficie libre de la célula las microvellosidades están en escaso número.

En el tejido intersticial, tanto con el microscopio óptico como con el microscopio electrónico destacamos la presencia de un edema poco manifiesto y de células cebadas.

Mediante el análisis morfométrico del folículo tiroideo y de la cavidad folicular (cuadros 3 y 4; figura 13) observamos una normalización en el área del folículo y de la cavidad folicular al compararlos con el lote testigo.

En el tercer lote, 5.º día p.i., se aprecia una arquitectura parcialmente desorganizada, en especial en la zona central de la glándula (figura 5), en la que resalta el menor tamaño de algunos

CUADRO 2
ESTUDIO MORFOMÉTRICO DEL EPITELIO
FOLICULAR

LOTES	EPITELIO FOLICULAR ÁREA MEDIA X (µm ²)	DENSIDAD VOLUMÉ- RICA (Vv)	SIGNIFICA- CIÓN ESTA- DÍSTICA
T	2.361	33'25	
1	3.663	43'09	+++
2	1.952	29'01	n.s.
3	1.882	30'11	n.s.
4	1.577	33'87	n.s.
5	1.518	28'26	n.s.
6	3.107	30'60	n.s.
7	2.409	42'10	++

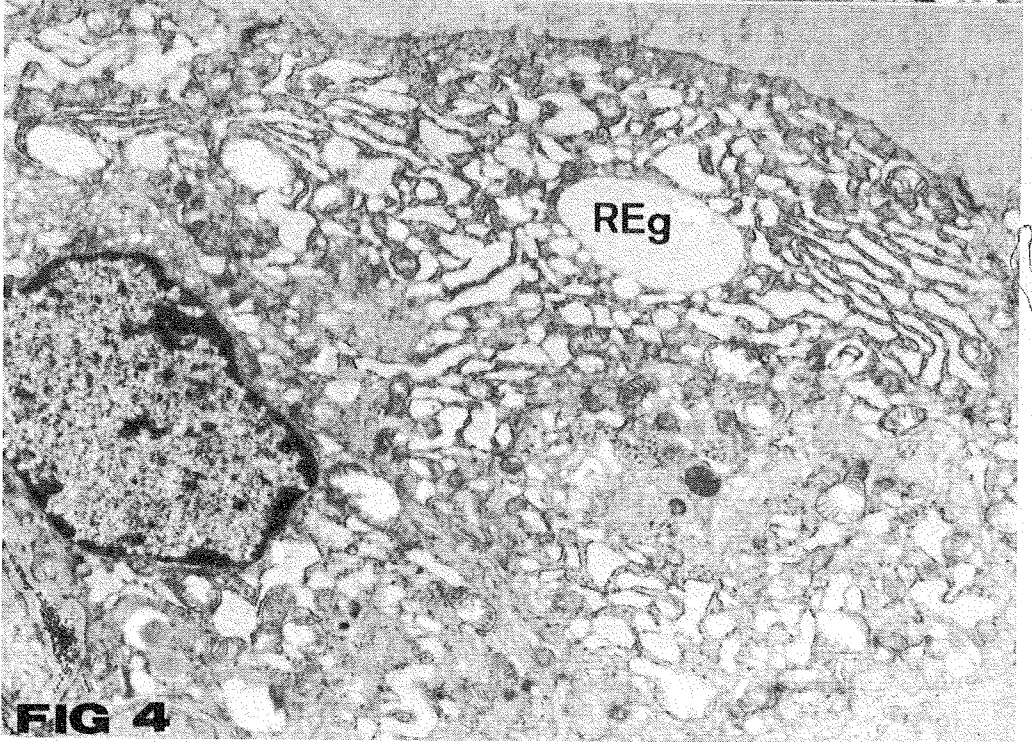
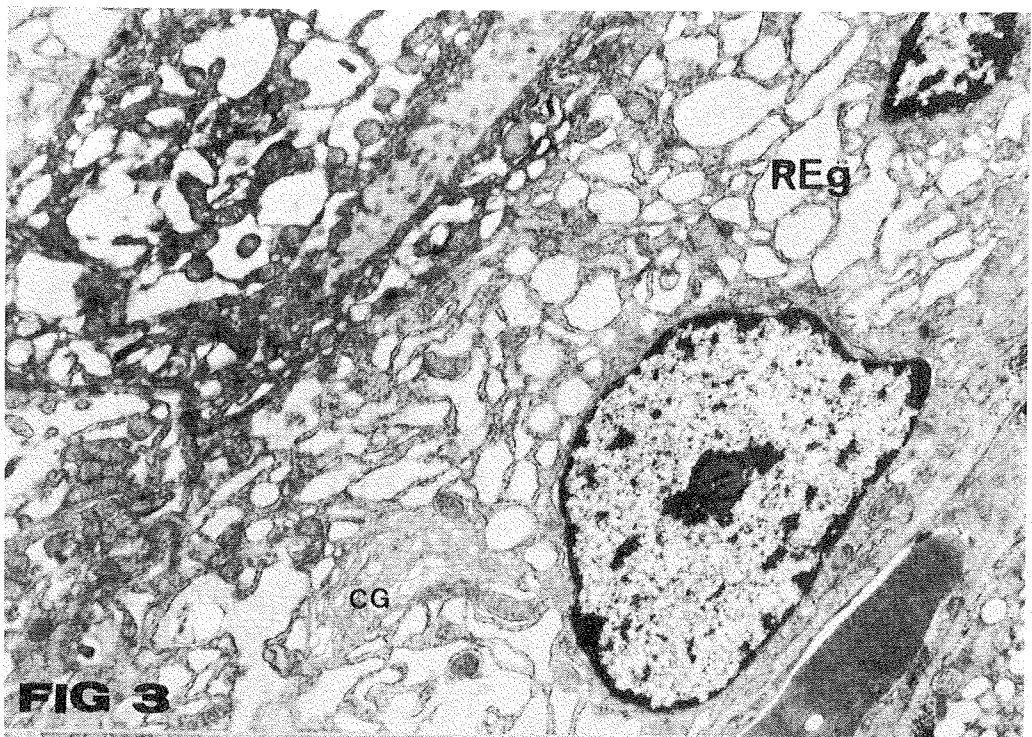


FIGURA 3. Lote primero. Célula folicular con abundante retículo endoplásmico granular (REg) y gran desarrollo del Complejo de Golgi (CG). X 13.500.

FIGURA 4. Segundo Lote. Célula folicular con el citoplasma muy vacuolizado por las dilataciones de las cisternas del retículo endoplásmico granular (REg). X 11.500.

CUADRO 3
ESTUDIO ESTADÍSTICO DEL FOLÍCULO TIROIDEO

LOTE	DIÁMETRO (μm)			MÁX.	ÁREA (μm^2)		PERÍMETRO (μm)			SIGNIFI- CACIÓN ESTA- DÍSTICA
	MÁX.	MÍN.	\bar{X}		MÍN.	\bar{X}	MÁX.	MÍN.	\bar{X}	
T	181	33	78($\pm 1'9$)	27.352	915	4.751(± 273)	609	112	244($\pm 6'0$)	+++
1	322	34	97($\pm 3'0$)	43.664	806	7.140(± 432)	1.139	119	305($\pm 8'5$)	n.s.
2	174	29	76($\pm 2'0$)	21.788	587	4.513(± 208)	558	89	204($\pm 5'5$)	n.s.
3	261	27	76($\pm 2'0$)	22.369	593	4.662(± 295)	900	90	237($\pm 6'5$)	+++
4	194	27	63($\pm 1'6$)	17.551	456	3.148(± 164)	537	78	198($\pm 4'5$)	+++
5	150	25	60($\pm 1'4$)	14.501	401	2.895(± 144)	444	72	190($\pm 4'5$)	+++
6	250	44	101($\pm 2'6$)	34.254	1.044	7.245(± 406)	696	131	306($\pm 8'0$)	+++
7	197	39	87($\pm 2'8$)	23.980	369	5.729(± 375)	692	129	273($\pm 9'0$)	+++

CUADRO 4
ESTUDIO ESTADÍSTICO DE LA CAVIDAD FOLICULAR

LOTE	DIÁMETRO (μm)			MÁX.	ÁREA (μm^2)		PERÍMETRO (μm)			SIGNIFI- CACIÓN ESTA- DÍSTICA
	MÁX.	MÍN.	\bar{X}		MÍN.	\bar{X}	MÁX.	MÍN.	\bar{X}	
T	155	12	52($\pm 2'0$)	21.969	95	2.412(± 219)	542	36	162(± 6)	+++
1	265	11	73($\pm 2'5$)	40.514	119	4.051(± 354)	1.105	43	219(± 8)	++
2	144	12	57($\pm 1'5$)	15.831	120	2.561(± 154)	485	40	179(± 5)	++
3	319	12	57($\pm 2'5$)	17.486	53	2.780(± 234)	852	30	178(± 6)	n.s.
4	165	9	44($\pm 1'5$)	12.848	39	1.571(± 120)	469	21	136(± 4)	+++
5	128	8	40($\pm 1'5$)	10.375	36	1.377(± 101)	372	20	127(± 4)	+++
6	222	16	76($\pm 2'5$)	26.719	216	4.138(± 280)	614	52	225(± 7)	+++
7	163	21	62($\pm 2'5$)	17.069	262	3.319(± 278)	479	60	199(± 8)	+++

folículos pudiendo llegar a medir tan sólo 27 μm de diámetro (cuadro 3); el epitelio folicular se encuentra constituido por células cilíndricas que en las porciones centrales de la glándula y con el microscopio óptico las encontramos dispuestas a modo de mosaico, y en las que la cavidad folicular aparece sin contenido aparente.

Con el microscopio electrónico y en los folículos centrales, destacamos en las células foliculares el aumento en el número de mitocondrias, de distinta morfología, tamaño y densificación de su matriz; el retículo endoplásmico se dispone a modo de cisternas paralelas, mientras que en los folículos periféricos, la disposición es a modo de cisternas con contenido similar al de la cavidad folicular, junto con la presencia de gotas de coloide en el citoplasma apical de la célula y procedentes de la reabsorción del coloide. El complejo de Golgi se encuentra bien desarrollado. Las microvellosidades están aumentadas en número y tamaño.

En el tejido intersticial destaca la presencia de un edema cada vez más abundante y el que las

células cebadas se presentan en mayor número.

En el análisis morfométrico, el porcentaje en que se encuentra el epitelio folicular es menor al descrito en el lote anterior (cuadro 2) hecho que igualmente ocurre con el resto de parámetros estudiados (cuadros 3 y 4).

En el cuarto lote, 7.º día p.i., el tiroides presenta un mayor grado de desorganización (figura 6), principalmente en los folículos centrales. En estos últimos el epitelio folicular muestra un área media de 1.577 micrómetros cuadrados (cuadro 2) y se encuentra constituido por células cilíndricas que se disponen a modo de mosaico, presentando una mayor acidofilia en la porción apical que, con el microscopio electrónico, comprobamos se debe a una mayor cantidad de mitocondrias localizadas a este nivel (figura 7). Igualmente destacamos el gran desarrollo del retículo endoplásmico granular que ocupa casi toda la célula. El complejo de Golgi está bien desarrollado.

Las gotas de coloide y los cuerpos densos (figura 8) presentes en el citoplasma apical que,

por una parte van a incrementar la cantidad de coloide, y por otra proceden de la reabsorción coloidal, nos indican una mayor actividad glandular, así como explican el mayor número y tamaño de las microvellosidades (figura 9), aunque no encontremos imágenes de formación de pseudópodos.

En el tejido intersticial se mantienen los fenómenos edematosos (figura 6) y la presencia de células cebadas.

Con el análisis morfométrico destacamos una disminución en todos los valores obtenidos anteriormente (cuadros 3 y 4; figura 13), quedando muy por debajo de los encontrados en los animales testigo.

En el lote quinto, a los 15 días p.i., se aprecia una mayor desorganización folicular (figura 10) y un mayor número de folículos por campo, debido a la gran disminución de tamaño que experimentan en este lote. Las características estructurales y ultraestructurales de las células foliculares (cuadro 2) se asemejan a las del lote anterior aunque hemos de resaltar en el análisis morfométrico. El menor resultado obtenido en lo que respecta al área de la cavidad folicular, folículo tiroideo y porcentaje epitelial, sobresaliendo igualmente la presencia de algunos folículos constituidos por células planas con fenómenos de degeneración y formación de figuras de mielina y donde los lisosomas son muy manifiestos.

En el lote sexto, 30 días p.i., la glándula tiroidea sufre una transformación evidente que se caracteriza por la presencia de folículos tiroideos de gran tamaño (figura 11) tanto en la región central como en la periférica, con un mayor porcentaje del área y volumen de todas las estructuras estudiadas en su análisis morfométrico (cuadros 2, 3 y 4; figura 13), aumentando el coloide almacenado y constituyendo de este modo verdaderos folículos de almacenamiento.

El epitelio folicular está formado por células planas con una inactividad celular manifiesta y con fenómenos degenerativos muy acentuados.

Con el microscopio electrónico se observa que las células, de morfología plana (figura 12), presentan el núcleo paralelo a la membrana basal del folículo tiroideo. El retículo endoplásmico granular está constituido por delgadas cisternas y con un contenido moderadamente electrodenso; en las mitocondrias se observan figuras de mielina y tumefacción mitocondrial como fenómenos de degeneración celular.

La superficie libre celular se caracteriza por una clara disminución del número de microvellosidades, encontrándose a veces de escaso tamaño e incluso ausencia de las mismas.

En el tejido intersticial se mantiene el edema.

En el lote séptimo, a los 60 días p.i., los folículos tiroideos centrales y periféricos se encuentran

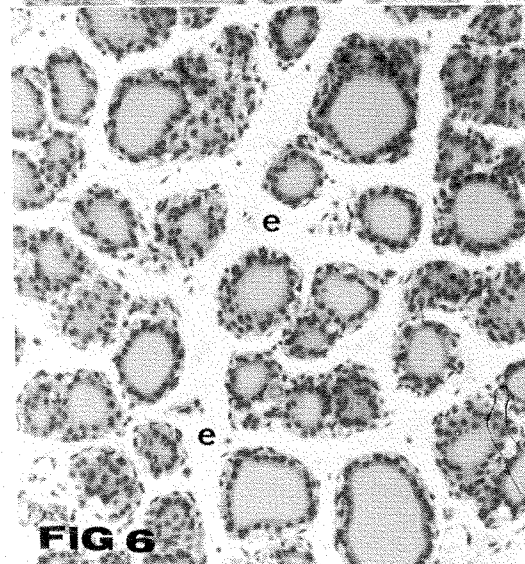
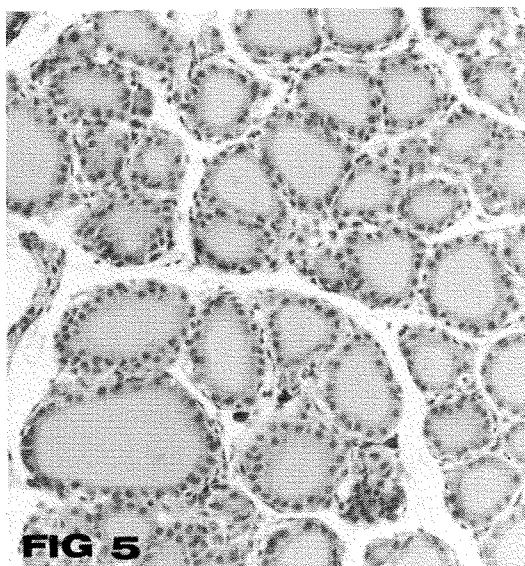


FIGURA 5. Tercer Lote. Parénquima tiroideo de características muy similares a las del lote testigo. Hematoxilina-Eosina. X 190.

FIGURA 6. Lote Cuarto. Parénquima tiroideo con evidente disminución del tamaño de los folículos junto con un fuerte edema intersticial (e). Hematoxilina-Eosina. X 190.

FIGURA 7. Lote Cuarto. Célula folicular con un aumento del número de las mitocondrias en la porción apical de la célula (flechas). X 9.500.

FIGURA 8. Lote Cuarto. Célula folicular con la presencia de gotas de coloide (C). X 20.000.

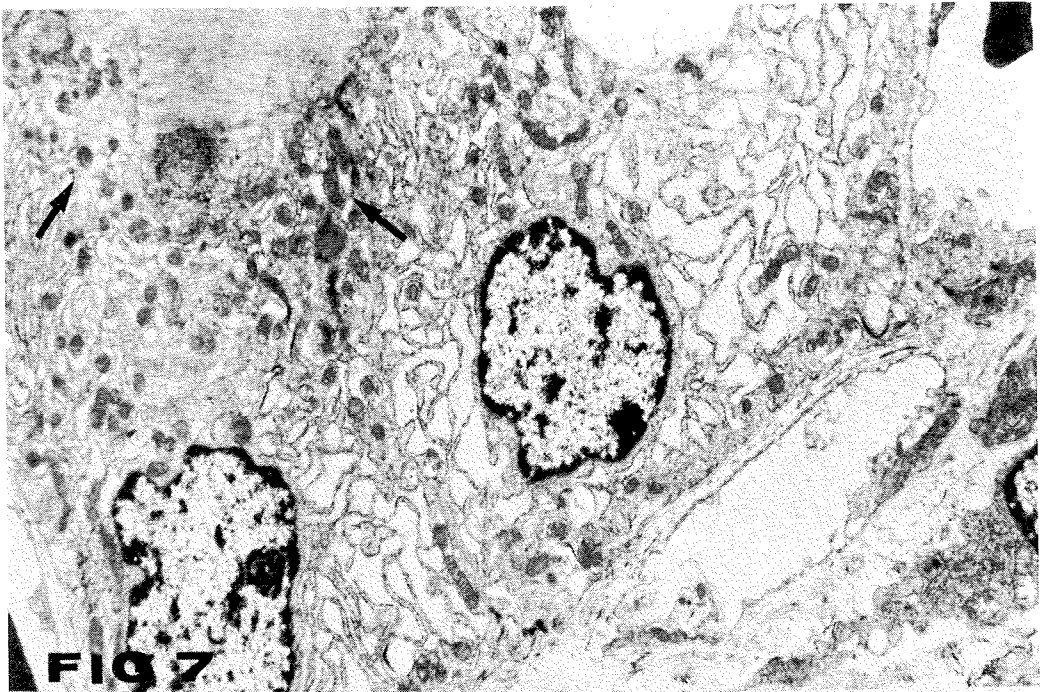


FIG 7

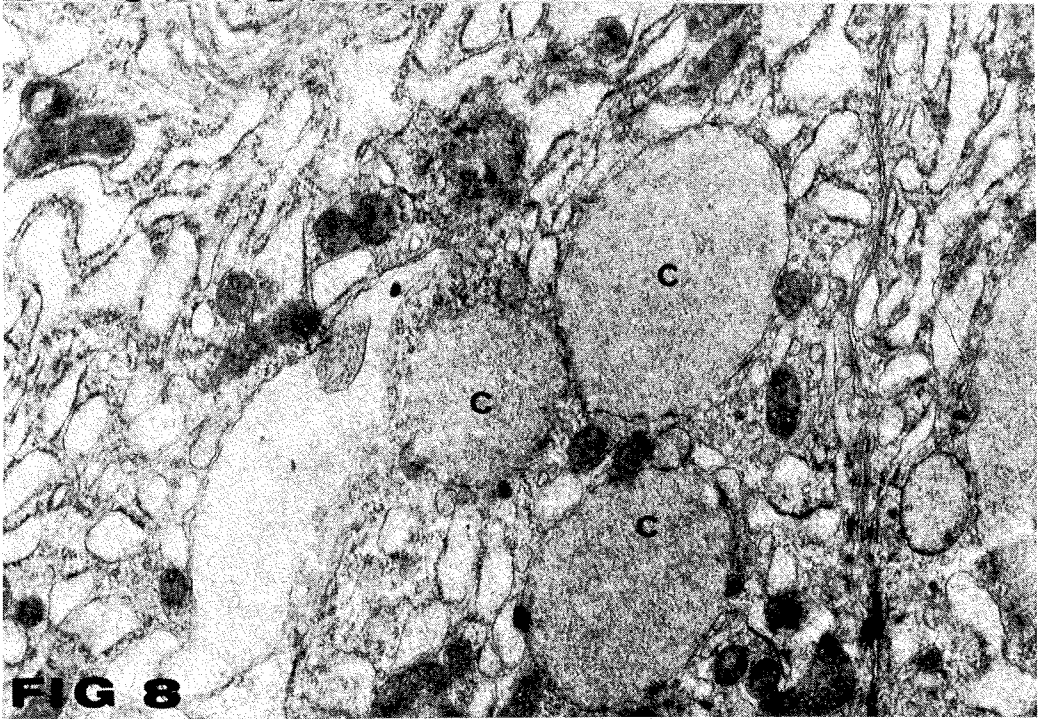


FIG 8

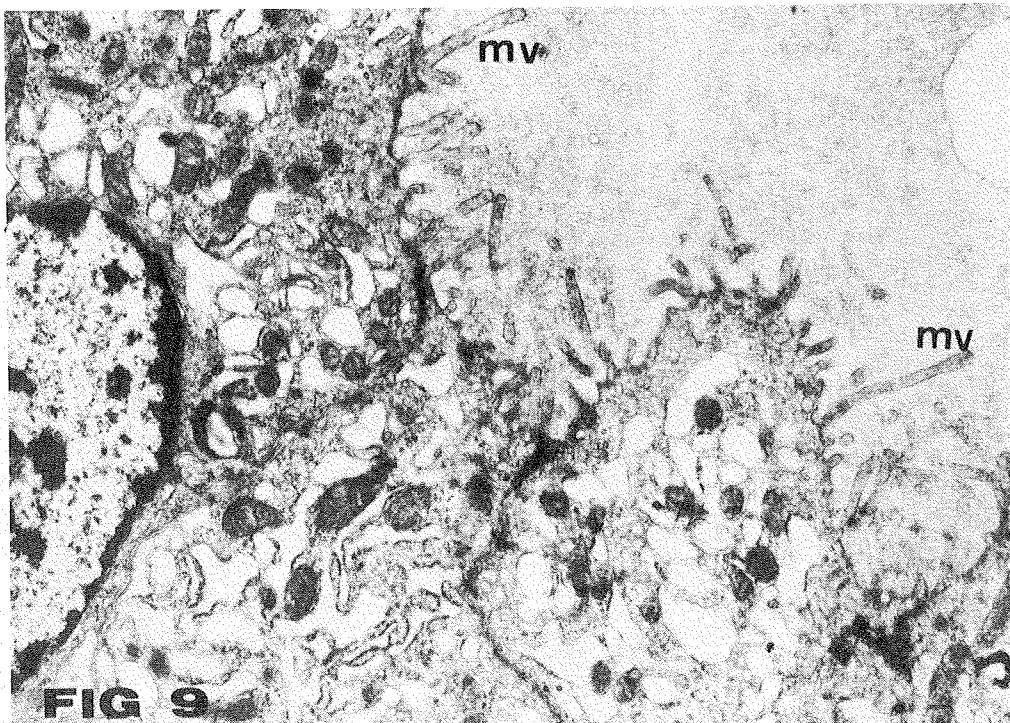


FIGURA 9. Lote Cuarto. Porción apical de la célula folicular que muestra un aumento del número y tamaño de las microvellosidades (mv). X 15.000.

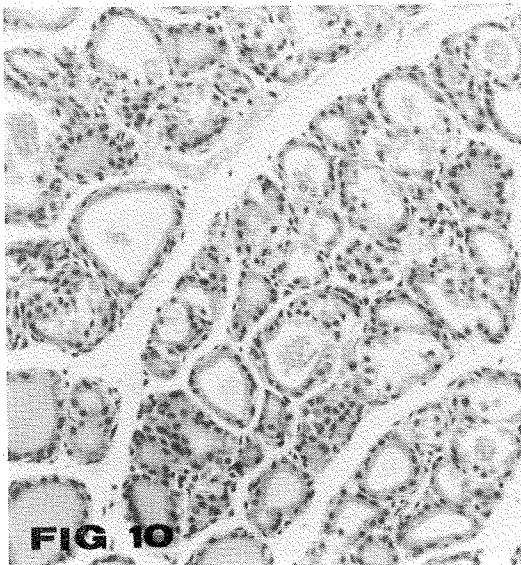


FIGURA 10. Lote Quinto. Parénquima tiroideo con desorganización folicular. Hematoxilina-Eosina. X 190.

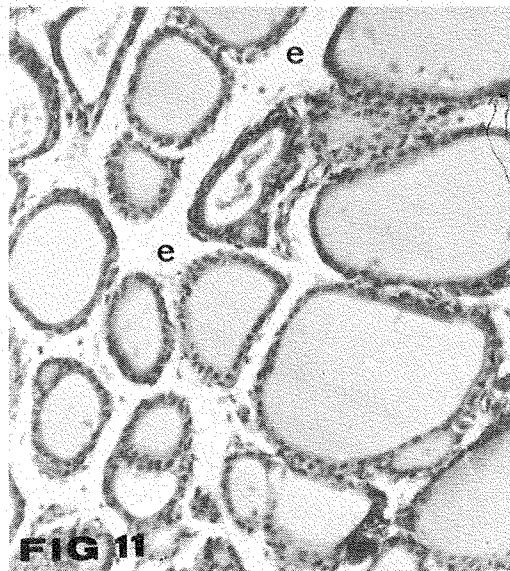


FIGURA 11. Lote Sexto. Aumento del número de los folículos de almacenamiento y un edema intersticial manifiesto (e). Hematoxilina-Eosina. X 190.

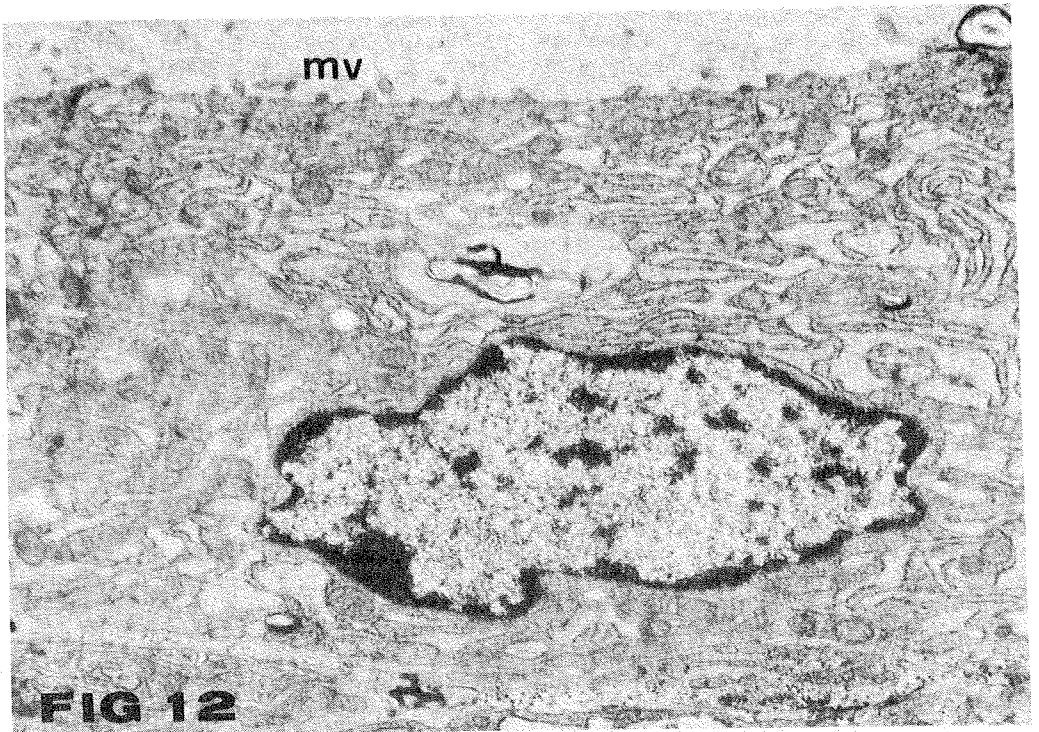


FIGURA 12. Lote Sexto. Aumento folicular de morfología plana, con disminución del número y tamaño de las microvellosidades (mv) y escaso desarrollo de sus organoides citoplasmáticos. X 15.000.

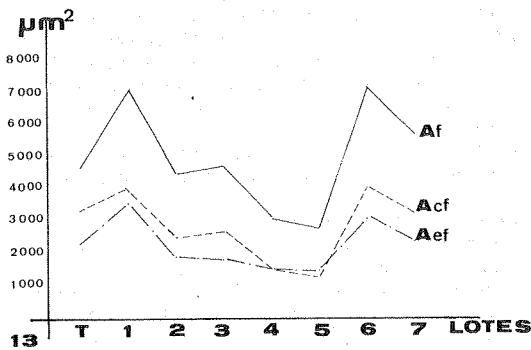


FIGURA 13. Representación gráfica del área folicular, de la cavidad folicular y del epitelio folicular (AF, Acf, Aef).

aumentados de tamaño, aunque algo menos al observado en el lote anterior (cuadros 3 y 4; figura 13); la recuperación folicular se hace más evidente, y existe un mayor número de folículos de almacenamiento con gran cantidad de coloide y revestidos por células planas que, con el microscopio electrónico, presentan un buen desarrollo del re-

tículo endoplásmico y principalmente un gran número de lisosomas y cuerpos densos a los electrones. Igualmente se observa con frecuencia células con fenómenos degenerativos y con abundantes figuras de mielina.

Los datos morfométricos encontrados están muy por encima de los obtenidos en el grupo testigo (cuadros 2, 3 y 4; figura 13), pero inferiores a los observados en el lote anterior con lo que la recuperación folicular es manifiesta en esta última fase.

DISCUSIÓN

La localización de los folículos tiroideos de menor tamaño tiene lugar en las porciones centrales de la glándula, mientras que los de mayor tamaño se encuentran en la región periférica, coincidiendo con GRASSE (1972) en la localización de dichos folículos y en los valores que da a los mismos: para los centrales 40 µm de diámetro y 120 µm para los periféricos, muy semejantes a los encontrados por nosotros y que oscilan entre los 33 µm y 181 µm de diámetro, siendo el valor medio 78 µm de diámetro.

En el primer lote, al día de la implantación existe un aumento del volumen de todas las estructuras glandulares con diferencias muy significativas en relación con el lote testigo, y los resultados obtenidos a nivel ultraestructural se corresponden con lo descrito por DONIACH (1967) y por TAMURA y FUJITA (1981), y considerados por ellos como folículos de síntesis, en donde las células de morfología preferentemente cilíndrica, presentan un buen desarrollo de todos sus organoides.

Esta activación inicial va seguida de fenómenos regresivos glandulares a partir del tercer día al decimoquinto (lotes 2.º al 5.º), observándose un descenso paulatino de todos los componentes glandulares, no siendo las diferencias significativas entre el segundo y tercer lote al ser comparados con el testigo, pero siendo muy significativas en los lotes 4.º y 5.º. Un proceso similar se observa en lo que respecta a las medidas de la cavidad folicular y que se corresponden con el volumen coloidal. MOLINA (1982) a los 30 días p.i. describe fenómenos similares.

En estos lotes observamos una desorganización paulatina de los folículos tiroideos tanto en los centrales como en los periféricos, desorganización que se acentúa hacia el día 15 p.i. en donde los acúmulos de células foliculares, sin contenido central aparente, son más evidentes. Estas imágenes coinciden con las descritas por DENEFF y cols. (1981) en ratones con bocio hiperplásico experimental por dieta deficitaria en yodo. La instauración de un abundante edema intersticial ha sido igualmente descrito por MOLINA (1982) en corderos a los 30 días p.i. con estradiol y acetato de trenbolona.

La mayor activación celular observada con el microscopio electrónico y que corresponde a células que presentan una morfología de cúbica a cilíndrica, y con buen desarrollo de su sistema vacuolar, disponiéndose entre sus cisternas abundantes mitocondrias con matriz densa a los electrones, ha sido también descrita por ELSE OLEN (1969) en bocio hiperplásico experimental en cricetos. Asimismo coincidimos con este mismo autor en la presencia de gotas de coloide, cuerpos densos y lisosomas en la porción apical del citoplasma, hecho observado por GARCÍA GARCÍA (1982) en ratas inoculadas con dos dosis de TRH.

Además, destacamos un aumento del número y tamaño de las microvellosidades en la porción apical de la célula, hecho igualmente observado por ELSE OLEN (1969), en cricetos con bocio hiperplásico experimental.

En los lotes 6.º y 7.º (30 y 60 días p.i.) se instauran fenómenos de regeneración folicular, con la aparición de gran cantidad de folículos de almacenamiento y cuyos valores nos dan dife-

rencias muy significativas al compararlos con el lote testigo, y están localizados tanto en las porciones centrales de la glándula como en las periféricas. DONIACH (1967), FUJITA (1975) los definen como folículos en reposo.

El folículo tiroideo se caracteriza en esta última fase por presentar gran cantidad de coloide en la cavidad folicular rodeado por células de morfología plana que, con el microscopio electrónico se encuentran constituidas por retículo endoplásmico granular y complejo de Golgi escasamente desarrollados, presentándose como células inactivas, en donde las microvellosidades de la porción libre de la célula son más cortas, en escaso número e incluso llegando a desaparecer. El núcleo se dispone en el eje mayor de la célula y paralelo a la membrana basal. Estos hechos coinciden con las descripciones que ELSE OLEN (1969) hace en bocio coloide experimental en cricetos. Estos resultados podrían explicar los obtenidos por DONALDSON y cols. (1981) que observan una disminución de los niveles plasmáticos de tiroxina en terneros entre los 14 y 21 días p.i. de estradiol y acetato de trenbolona.

Así pues, aunque la recuperación folicular se acentúa a los 60 días p.i., los fenómenos bociogénicos se mantienen al seguir observándose las alteraciones descritas a los 30 días p.i.

BIBLIOGRAFÍA

- DENEFF, J. F., U. BJÖRKMANN, R. EKHOLM (1980): Structural and functional characteristics of isolated thyroid follicles. *Jour. Ultrastr. Res.* 71: 185-202.
- DONALDSON, I. A., I. C. HART, R. Y. HEITZMAN (1981): Growth hormone, insulin, prolactin and total thyroxine in the plasma of sheep implanted with anabolic steroid trenbolone acetate alone or with oestradiol. *Res. Vet. Sci.* 30: 7-15.
- DONIACH, I. (1967): The structure of the thyroid gland. *Symposium on the Thyroid gland. J. Clin. Path.* 20: 309.
- ELSE OLEN, M. D. (1969): The fine structure of experimentally induced hyperplastic and colloid goiter in the hamster. *Lab. Invest.* 21(4): 336-346.
- FERRANDO, R. (1980): Los Anabolizantes esteroídicos y no esteroídicos y la ganadería. *Bull. Ac. Ad. Nat. Méd.* 164(6). Publicado en la circular informativa de la revista del Consejo General de Colegios Oficiales Veterinarios. Febrero 1981.
- FUJITA, H. (1975): Fine structure of the thyroid gland. *Int. Rev. Cytol.* 40: 197-280.
- GARCÍA GARCÍA, J. M. (1981): Aspectos morfológicos de la citología de la pars distalis adenohipofisaria y de la glándula tiroidea por acción de la TRH. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.
- GRASSE, P. P. (1972): *Traité de Zoologie*. Ed. Masson et Cie. Paris.
- MOLINA, M. (1982): Estudio de las alteraciones morfológicas del sistema endocrino de cordero—Hipófisis, Adrenales, Tiroides— tratados con estradiol y ace-

tato de trenbolona. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.
REYNOLDS, E. S. (1963): The use of lead citrate at high pH as and electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17: 208.
SABATINI, D. D., K. 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.
TAMURA, S., H. FUJITA (1981): Fine estructural aspects on the cold follicle in the aged mouse thyroid. *Arch. Histol. Jap.* 44: 177-188.

