

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXXVI, 36

SECTIO D

1981

I Klinika Ginekologii Operacyjnej. Instytut Położnictwa i Chorób Kobietych. Akademia
Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr med. Henryk Zrubek
Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny. Akademia Medyczna
w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Józef Staszyc

Marian SEMCZUK, Tamara MAJEWSKA

**Wpływ podawania alkoholu etylowego na strukturę przedniego płata
przysadki mózgowej szczura białego, traktowanego estrogenami,
testosteronem i gonadotropiną**

Влияние введения этилового спирта на структуру передней доли гипофиза белой
крысы, получающей эстрогены, тестостерон и гонадотропин

Effect of Administering Ethyl Alcohol upon the Structure of the Pituitary Gland's
Anterior Lobe in White Rats Treated with Estrogens, Testosterone and Gonadotropin

Zdaniem wielu badaczy, ostra i przewlekła intoksykacja alkoholowa znacznie zaburza aktywność osi podwzgórze—przysadka—gonada u licznych gatunków (1, 9, 13, 17), powodując upośledzenie nie tylko hormonalnej, ale i generatywnej funkcji gonady (1, 7, 8, 10, 14, 16).

Długotrwałe podawanie alkoholu etylowego wpływa w pierwszym rzędzie na biosyntezę, metabolizm i uwalnianie testosteronu (1, 8, 13, 14, 17). U mężczyzn—przewlekłych alkoholików obserwuje się kliniczne objawy hypoandrogenizmu, jak: osłabienie popędu płciowego bądź impotencję, gynekomastię, zanik gruczołów płciowych, co znalazło potwierdzenie w obniżonej zawartości testosteronu w surowicy krwi (1, 9, 13, 14, 17).

W poprzednich badaniach własnych stwierdzono obniżenie wagi przysadki i zmiany w jej budowie morfologicznej u przewlekle alkoholizowanych szczurów (11), zaś u mężczyzn—przewlekłych alkoholików wzrost stężenia hormonu luteinizującego i obniżenie poziomu testosteronu w surowicy krwi (9).

Biorąc powyższe pod uwagę, wydawało się celowe przesłedzenie na własnym modelu doświadczalnym, czy zaobserwowane w poprzednich badaniach własnych zmiany w obrębie przedniego płata przysadki mózgowej (11) są następstwem zaburzonej aktywności hormonalnej jądra, czy

też mogą wynikać z bezpośredniego toksycznego działania alkoholu etylowego na ten narząd bądź ośrodki podwzgórza, co wtórnie prowadzić może między innymi także do upośledzenia produkcji testosteronu przez komórki Leydiga.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 48 szczurach samcach szczepu Wistar w wieku 3—4 mies. i początkowym ciężarze ciała 150—200 g. Wszystkie zwierzęta przebywały przez cały czas trwania doświadczenia w oddzielnych klatkach. Karmione były paszą granulowaną LSM, a do picia podawano im wodę w dowolnych ilościach.

Zwierzęta podzielono na trzy grupy, zależnie od rodzaju podawanych im leków. Zwierzęta grupy I otrzymywały dwa razy w tygodniu 1 mg dwupropionianu stilbestrolu. Zwierzęta grupy II otrzymywały również dwa razy w tygodniu 1 mg dwupropionianu stilbestrolu oraz codziennie 3 mg propionianu testosteronu, zaś zwierzęta grupy III otrzymywały dwa razy w tygodniu 1 mg dwupropionianu stilbestrolu, a codziennie 100 UJ Biogonadyli — ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej — produkcji Lubelskiej Wytwórni Surowic i Szczepionek. Wszystkie preparaty hormonalne podawano drogą iniekcji podskórnych.

W każdej z badanych grup wydzielono grupę doświadczalną, której zwierzęta poza wymienionymi lekami otrzymywały codziennie rano na czczo przez sondę żołądkową alkohol etylowy w dawce 3 g/kg wagi ciała oraz grupę kontrolną, której zwierzęta otrzymywały tylko wyżej wymienione leki.

Badania mikroskopowe przysadki mózgowej zwierząt grup badanych i kontrolnych przeprowadzono w 51, 102 i 153 dniu trwania doświadczenia, uwzględniając czas trwania jednego cyklu płciowego i całej spermatogenezy u szczurów rasy Wistar.

Ostatnią dawkę hormonów i alkoholu zwierzęta otrzymywały 24 godz. przed zabiciem.

Określano dokładnie wygląd makroskopowy przysadki mózgowej i jej wagę. Utrwalone w płynie Carnoya skrawki barwiono hematoksyliną i eozyną, metodą trójbarwną Massona oraz metodą PAS. Określano bezwzględną oraz względną wagę przysadki (mg/g wagi ciała). Uzyskane dane liczbowe poddano analizie statystycznej według testu *t* Studenta.

WYNIKI BADAŃ

Srednie wartości wagi ciała, względne wagi przysadki mózgowej w mg/g wagi ciała zwierząt poszczególnych grup doświadczalnych i kontrolnych wraz z ich analizą statystyczną zestawiono w tab. 1.

Tab. 1. Porównanie ciężaru ciała, ciężaru przysadki i relatywnej wagi przysadki (w mg/g wagi ciała) zwierząt grup doświadczalnych i kontrolnych. Wyniki podano jako średnią \pm SD

Comparison of body weight, weight of the pituitary gland, relative body weight (in mg/g body weight) of the animals in control and experimental groups. Results are presented as \pm SD mean

| Grupy | n | Ciężar ciała g | Ciężar przysadki (mg) | Relatywna waga przysadki (mg/g wagi ciała) |
|-------|----|-------------------|-----------------------------|--|
| I K | 6 | 231,6 \pm 17,2 | 10,42 \pm 0,10 | 0,045 \pm 0,006 |
| I D | 10 | 198,0 \pm 12,2* | 8,32 \pm 0,26 | 0,042 \pm 0,022 |
| II K | 6 | 270,0 \pm 17,3 | 23,76 \pm 0,32 | 0,088 \pm 0,019 |
| II D | 10 | 267,0 \pm 15,0 | 21,36 \pm 0,21 | 0,08 \pm 0,014 |
| III K | 6 | 252,5 \pm 14,0 | 16,41 \pm 0,12 | 0,065 \pm 0,009 |
| III D | 10 | 209,0 \pm 35,4* | 18,81 \pm 1,27 | 0,09 \pm 0,036 |

K — grupa kontrolna, D — grupa badana.

* Różnice statystyczne istotne w odniesieniu do odpowiadającej grupy kontrolnej ($P < 0,05$).

K — control group, D — experimental group.

* Statistical significant differences with regard to the control group ($P < 0.05$).

Grupa I badana (po 51 dniach trwania doświadczenia)

Grupa kontrolna. W preparatach barwionych metodami standardowymi obserwuje się komórki ułożone w regularne pasma i skupiska. Przebieg naczyń krwionośnych zbliżony do prawidłowego (11). Miejscami dostrzega się różnej wielkości obszary o delikatnym, włóknistym utkaniu, w których całkowicie brak komórek. „Wyspy” te nie mają ostrych, określonych granic, wciskając się miejscami między pasma komórkowe (ryc. 1). Barwienie metodą PAS wykazuje dodatnią reakcję barwną w ścianach naczyń krwionośnych, natomiast słabszą w komórkach. Spotyka się nieliczne komórki PAS pozytywne z nie wybarwionymi jądrami (ryc. 2).

Grupa doświadczalna. Obrazy mikroskopowe przedniego płata przysadki mózgowej tej grupy zwierząt są zbliżone do odpowiadających im w grupie kontrolnej, z tym że „wyspy” o bezkomórkowej strukturze wydają się rozleglejsze. Obok obszarów prawidłowo unaczynionych obserwuje się pola beznaczyniowe (ryc. 3).

Grupa II badana (po 102 dniach trwania doświadczenia)

Grupa kontrolna. Przedni płatek przysadki po zabarwieniu metodami histologicznymi okazał się w większości utworzony przez zwartą tkankę gruczołową, której komórki ułożone są w regularne pasma. Układ

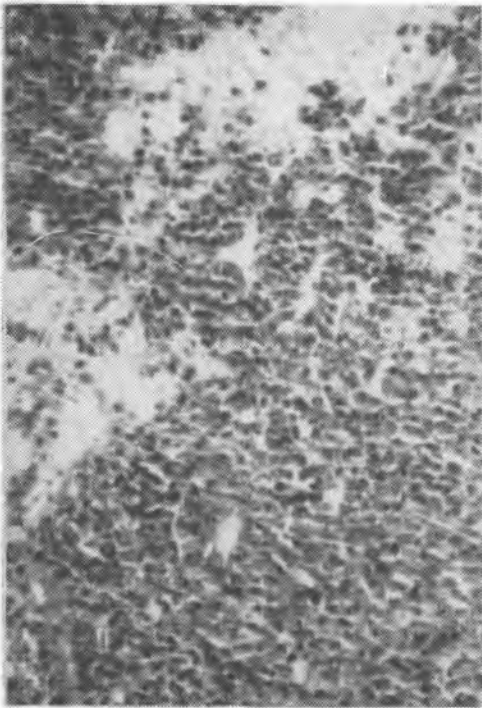
naczyń regularny, choć miejscami włókniczki są niewidoczne. Dostrzega się nieliczne „wyspy” o włóknistej strukturze, na których terenie niejednokrotnie obecne są owalne lub wieloboczne komórki. Intensywna reakcja PAS dodatnia występuje w naczyniach krwionośnych. Spostrzega się także, w porównaniu z wyżej omawianymi grupami, znacznie więcej komórek PAS pozytywnych. Wiele z nich spotyka się na terenie „wysp” (ryc. 4).

Grupa doświadczalna. W preparatach mikroskopowych obecnie analizowanej grupy spostrzega się rozszerzone naczynia krwionośne, bardzo gęsto rozmieszczone. W obszarach o strukturze włóknistej obserwuje się znacznie większą ilość komórek niż w grupie kontrolnej, jak również komórki te wydają się większe (ryc. 5). Reakcja PAS w obrębie naczyń krwionośnych jest bardzo intensywna; obserwuje się także dużo komórek PAS pozytywnych szczególnie na terenie „wysp” (ryc. 6).

Grupa III badana (po 153 dniach doświadczenia)

Grupa kontrolna: W środkowych obszarach części gruczołowej przysadki obserwuje się bardzo dużo rozszerzonych naczyń krwionośnych, w obszarach obwodowych natomiast znacznie mniej albo nie ma ich wcale. Komórki gruczołowe na obwodzie płata leżą tak gęsto, że tworzą jak gdyby zespolenie komórkowe. W obszarach wypełnionych włóknistą tkanką łączną, które dostrzega się i w tej serii preparatów, notuje się dużą ilość komórek z wybitnie zasadochłonnymi jądrami, co wyróżnia te komórki od pozostałych. Obserwuje się je także w obwodowej części płata. Po zastosowaniu metody PAS uwidoczniły się komórki w obszarach „wysp” i wokół nich. Było ich stosunkowo dużo (ryc. 7).

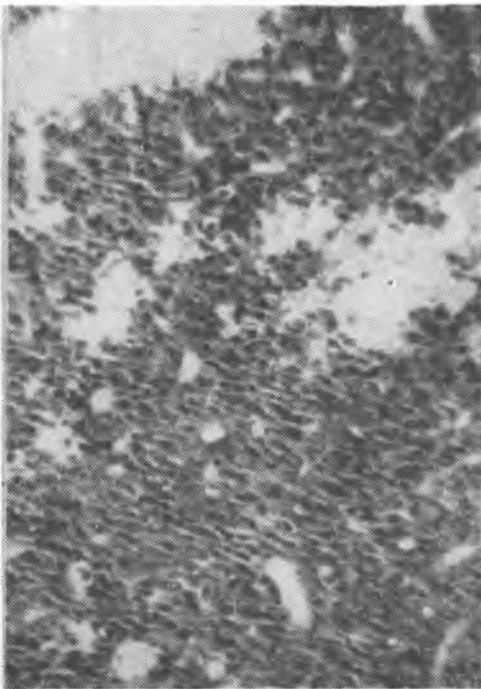
Grupa doświadczalna. Po zabarwieniu metodami standardowymi uwidoczniły się w części gruczołowej przysadki zwarte masy dużych komórek, rozmieszczonych przy naczyniach krwionośnych. Naczynia te wewnątrz części gruczołowej były poszerzone, idąc w kierunku obwodowym ilość ich jak gdyby zmniejszała się. Typowych obszarów wypełnionych tkanką włóknistą nie obserwuje się w tej serii badań, a widoczne są one jako przestrzenie wypełnione silnie barwiącymi się komórkami (ryc. 8). Zastosowanie metody PAS uwidoczniło wyraźnie ściany naczyń krwionośnych. W części środkowej przysadki obserwuje się znaczną ilość komórek PAS dodatnich, jednak na obwodzie części gruczołowej spotykano ich jeszcze więcej.



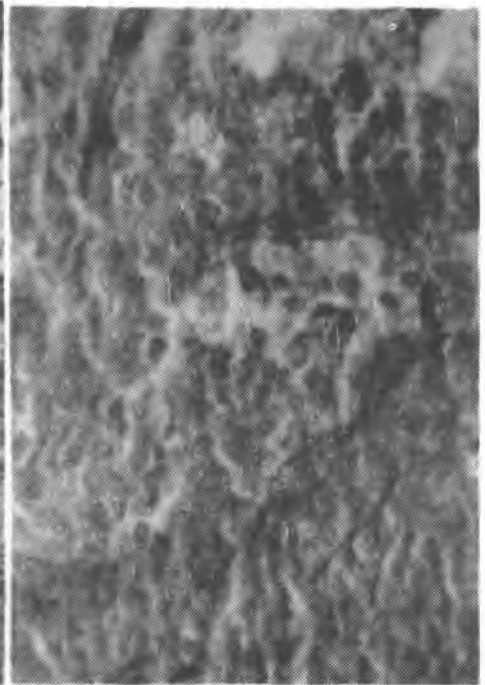
Ryc. 1



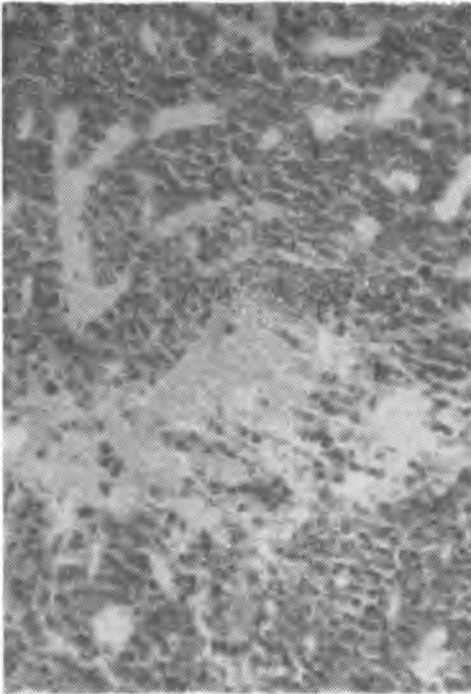
Ryc. 2



Ryc. 3



Ryc. 4



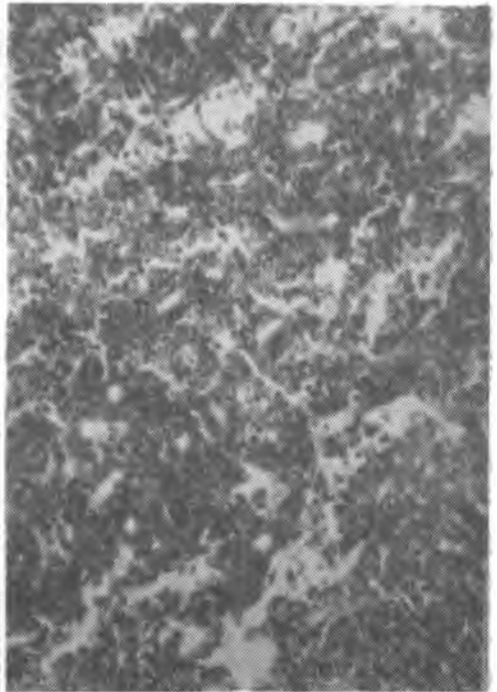
Ryc. 5



Ryc. 6



Ryc. 7



Ryc. 8

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Podobnie jak w poprzednich badaniach własnych, tak również i obecnie trudno jest ustalić jednoznacznie ścisłą zależność między wagą przysadki; jej strukturą mikroskopową a intoksykacją alkoholową. W dostępnym piśmiennictwie brak jest zupełnie doniesień na ten temat.

U zwierząt otrzymujących estrogeny w obrębie części gruczołowej przysadki spotyka się nieregularne pola różnej wielkości, pozbawione zupełnie komórek, zaś po zastosowaniu metody PAS notuje się zmniejszoną ilość komórek zasadochłonnych, a w nich osłabioną reakcję barwną. Równocześnie podawanie alkoholu etylowego przyczyniło się do nasilenia tych zmian. Po podaniu testosteronu i estrogenów obserwuje się prawidłową strukturę części gruczołowej przysadki, a zwraca uwagę fakt, że nawet w miejscach „wysp” obecne są elementy komórkowe. W grupie zwierząt otrzymujących obok hormonów alkohol etylowy spostrzega się zwiększenie ilości komórek zasadochłonnych oraz wyraźne rozszerzenie naczyń krwionośnych, co zaobserwowano także we wcześniejszych badaniach własnych u zwierząt otrzymujących przewlekłe alkohol etylowy (11). W grupie zwierząt otrzymujących estrogeny i gonadotropinę oraz hormony i alkohol widoczna jest między wyraźnie rozszerzonymi naczyniami krwionośnymi bardzo duża ilość powiększonych komórek gruczołowych.

Znając wpływ estrogenów na przedni płąt przysadki mózgowej, należy sądzić, że ich nadmiar doprowadził do wytworzenia się obszarów bezkomórkowych, które powstają w wyniku rozpadu komórek zasadochłonnych i częściowo kwasochłonnych. Należy podkreślić fakt, że w obecnych badaniach własnych równoczesne podawanie alkoholu przyczyniło się do zwiększenia rozległości tych obszarów, w przeciwieństwie do poprzednich badań własnych (11), gdzie już po 51 dniach podawania alkoholu etylowego obserwowano zwiększenie ilości komórek zasadochłonnych, zaś w obecnej pracy w tym samym okresie, przy łącznym podawaniu estrogenów i alkoholu — wyraźne zmniejszenie ilości tych komórek. Wskazuje to na wcześniejszy wpływ estrogenów na przedni płąt przysadki mózgowej aniżeli alkoholu. Wiadomo także, że estrogeny w swoim działaniu na przedni płąt przysadki mózgowej doprowadzają także do rozszerzenia naczyń krwionośnych i zwiększenia ich ilości (4). W poprzednich badaniach własnych u zwierząt poddanych przewlekłej intoksykacji alkoholowej zaobserwowano także wyraźne rozszerzenie naczyń w obrębie analizowanego narządu (11). Powyższe zmiany okazały się niecharakterystyczne, bowiem obserwowano je także u zwierząt traktowanych nie tylko estrogenami (4), ale także substancjami toksycznymi, jak np. dwusiarczek węgla (2).

Znane są prace omawiające rezerwę czynnościową układu podwzgórzowo-przysadkowego (1, 9, 13, 14, 16, 17). Niskie stężenie testosteronu

w surowicy krwi w przypadkach przewlekłej intoksykacji alkoholowej jest momentem wyzwalającym nadprodukcję gonadotropin. Obniżony poziom testosteronu może wynikać z jednej strony ze zmian poalkoholowych w obrębie komórek Leydiga w jądrze (8, 16) i nie poddawać się stymulowaniu przez zwiększoną zawartość gonadotropin w surowicy krwi (14, 7), a także może być następstwem zaburzenia czynności wątroby w warunkach przewlekłej intoksykacji alkoholowej. Van Thiel i wsp. (16, 17) sądzą, że hyperestrogenizm może także hamować aktywność osi przysadka—gonada, zarówno w produkcji testosteronu, jak i gonadotropin. Ponadto znany jest fakt, że podawanie szczurom samcom w pierwszych godzinach życia jednorazowej dawki stilbestrolu prowadzi do powstania zmian degeneracyjnych w obrębie przysadki mózgowej (5). Znane są doniesienia o podwyższonym poziomie gonadotropin w surowicy krwi przewlekłych alkoholików, ale także są dane o ich niskich poziomach w tych przypadkach (1, 8, 14, 17). Stwierdzona w obecnych badaniach zwiększona ilość komórek zasadochłonnych, szczególnie w grupach otrzymujących łącznie z hormonami alkohol etylowy, jak również zwiększona ich aktywność wskazuje na większe zapotrzebowanie ustroju w takich przypadkach na gonadotropinę. Należy przyjąć, że powodem tego jest niski poziom testosteronu w surowicy krwi (1, 13, 14, 16, 17).

Niektórzy autorzy dalej sądzą, że w układzie podwzgórzowo-przysadkowym nie ma zmian charakterystycznych dla działania specyficznych substancji toksycznych, a obserwowane zmiany są następstwem zaburzenia homeostazy ustroju (3, 6). Stwierdzone w obecnych oraz wcześniejszych badaniach własnych zmiany w obrębie przysadki mózgowej, w warunkach przewlekłej intoksykacji alkoholowej wydają się wtórne wobec stwierdzonych we wcześniejszych badaniach własnych zmian anatomicznych i czynnościowych w obrębie gonady (7, 8).

Biorąc to pod uwagę, mało prawdopodobna wydaje się sugestia C i c e r o i wsp. (1), że pierwotne zmiany w przebiegu intoksykacji alkoholowej obserwuje się w obrębie przysadki mózgowej, a upośledzenie funkcji gonady jest wtórne. Ostatecznym potwierdzeniem słuszności obecnej własnej koncepcji będą badania nad poziomem gonadotropin i testosteronu w surowicy krwi w warunkach przewlekłej intoksykacji alkoholowej, będące w toku.

PIŚMIENNICTWO

1. C i c e r o T. J., B a d g e r T. M.: Effects of Alcohol on the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in the Male Rat. *J. Pharmacol. Exper. Therapeutics* **201**, 427, 1977.
2. G o n d z i k M.: Histologiczny i histochemiczny obraz jąder szczurów poddanych działaniu dwusiarczku węgla. *Pat. Pol.* **2**, 129, 1970.

3. Litwin M.: Blood Viscosity in Shock. *Am. J. Surg.* **110**, 313, 1965.
4. Miętkiewski K.: Wpływ estrogenów na przysadkę. *Folia Morphol.* **1**, 9, 1959.
5. Miętkiewski K., Malendowicz K.: Wpływ jednorazowej dawki dwuproopionianu stilbestrolu wprowadzonego noworodkowi szczura samca na przysadkę mózgową. *Endokrynol. Pol.* **2**, 157, 1968.
6. Schramm R. W., Schrammowa H.: Biochemiczne i fizjologiczne podstawy działania alkoholu. *Psych. Pol.* **3**, 343, 1967.
7. Semczuk M.: Morphological Research on the Male Gonad in Long-Lasting Alcoholization of Rats. *Gegen. Morph. Jahr.* **124**, 546, 1978.
8. Semczuk M.: Aktywność dehydrogenazy 3- β -hydroksysterydowej i struktura morfologiczna komórek Leydiga jądra szczura białego w warunkach przewlekłej intoksykacji alkoholowej (w druku).
9. Semczuk M., Szymański W.: Zawartość testosteronu i hormonu luteinizującego w surowicy krwi oraz fruktozy w plazmie nasienia przewlekłych alkoholików. *Pamiętnik V Sympozjum Sekcji Płodności i Niepłodności PTG, Lublin 12 VI 1978.*
10. Semczuk M., Żrubek H., Czajka R.: Dalsze badania nad morfologią nasienia mężczyzn dotkniętych przewlekłym alkoholizmem. *Pol. Tyg. Lek.* **33**, 961, 1978.
11. Semczuk M.: Wpływ przewlekłego podawania alkoholu etylowego na obraz morfologiczny przedniego płata przysadki mózgowej szczura białego (w druku).
12. Semczuk M., Majewska T.: Wpływ alkoholu etylowego na stan morfologiczny gonady szczura białego traktowanego estrogenami, testosteronem i gonadotropiną (w druku).
13. Symons A. M., Marks V.: Effects on Alcohol on Weight Gain and the Hypothalamic—Pituitary—Gonadotropin Axis in the Maturing Male Rat. *Biochem. Pharmacol.* **24**, 955, 1975.
14. Van Thiel D. H., Lester R., Sherins R. J.: Hypogonadism in Alcoholic Liver Disease: Evidence for a Double Defect. *Gastroenterology* **67**, 1188, 1974.
15. Van Thiel D. H. i wsp.: Plasma Estrone, Prolactin, Neurophysin and Sex Steroid Binding Globulin in Chronic Alcoholic Men. *Metabolism* **24**, 1015, 1975.
16. Van Thiel D. H. i wsp.: Alcohol-Induced Testicular Atrophy. *Gastroenterology* **69**, 326, 1975.
17. Van Thiel D. H., Lester R.: Alcoholism: Its Effect on Hypothalamic—Pituitary Gonadal Function. *Gastroenterology* **71**, 318, 1976.

Otrzymało 2 V 1980.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Przedni płat przysadki mózgowej szczura grupy I kontrolnej. Barwienie metodą Massona. Widoczne obszary o bezkomórkowej strukturze — „wyspy”. Pow. ok. 200 \times .

Ryc. 2. Przedni płat przysadki mózgowej szczura grupy I kontrolnej. Barwienie metodą PAS. Pow. ok. 400 \times .

Ryc. 3. Przedni płat przysadki mózgowej szczura grupy I doświadczalnej. Barwienie metodą Massona. Pow. ok. 200 \times .

Ryc. 4. Przedni płat przysadki mózgowej szczura grupy II kontrolnej. Barwienie metodą PAS. Na terenie „wysp” — komórki PAS dodatnie. Pow. ok. 400X.

Ryc. 5. Przedni płat przysadki mózgowej szczura grupy II doświadczalnej. Barwienie metodą Massona. Obok „wysp” dużo rozszerzonych naczyń krwionośnych włosowatych. Pow. ok. 200X.

Ryc. 6. Przedni płat przysadki mózgowej szczura grupy II doświadczalnej. Barwienie metodą PAS. Reakcja PAS dodatnia w ścianach naczyń krwionośnych oraz komórkach zasadochłonnych. Pow. ok. 400X.

Ryc. 7. Przedni płat przysadki mózgowej szczura grupy III kontrolnej. Barwienie metodą PAS. Znacznie zwiększona ilość komórek zasadochłonnych. Pow. ok. 400X.

Ryc. 8. Przedni płat przysadki mózgowej szczura grupy III doświadczalnej. Barwienie metodą Massona. Pow. ok. 200X.

РЕЗЮМЕ

Белым крысам-самцам, разделенным на три группы, подавали два раза в неделю 1 мг дипропионата стибестрола. Вторая группа животных, кроме вышеупомянутых препаратов, получала ежедневно 3 мг пропионата тестостерона, а третья группа — ежедневно 100 UJ хорионового гонадотропина. В каждой группе животных выделено опытную подгруппу, животные которой, кроме вышеупомянутых препаратов, получали в желудок этиловый спирт (3 г/кг веса тела), а также выделено контрольную подгруппу животных, которые получали только вышеупомянутые гормоны.

Гипофиз животных исследовали на 51, 102 и 153 опытный день. После определения макроскопического вида и веса железы, зафиксированные срезы окрашено гематоксилином и эозином, а также методом Массона. Применено также PAS реакцию.

У животных, получающих гормоны, в передней доли гипофиза замечено бесклеточные зоны фибринозной структуры, на которых после введения тестостерона и эстрогенов, образовывались базофильные клетки. Этиловый спирт повышал количество PAS-положительных клеток и расширял капилляры. Кажется, что возникшие в передней доли гипофиза изменения являются вторичными по сравнению с изменениями выступающими в мужской гонаде после длительной спиртной интоксикации.

SUMMARY

Male rats divided into three groups were given 1 mg of stilbestrol dipropionate each twice a week. Apart from this drug animals of the II group were given daily 3 mg of testosterone propionate each and animals of the III group — daily 100 UJ of human chorionic gonadotropin. An experimental group was selected from each of the above 3 groups and in the experimental groups, apart from the above mentioned drugs, animals were given ethyl alcohol in the dose of 3 g/kg body weight (intragastrically). Control groups were also selected in groups I, II, III in which only the above mentioned drugs were administered.

The pituitary glands of the animals were studied after 51, 102 and 153 days of the experiment. After determining the macroscopic appearance and the gland's

weight, fixed sections were stained with hematoxilin and eosin as well as with Masson's method. The PAS reaction was also used.

In the anterior lobe of the pituitary gland of the animals treated with hormones, acellular areas with fibrous structure were observed in which after the administering of testosterone and estrogens basophilic cells appear. Ethyl alcohol caused an increase in the amount of PAS positive cells as well as a distinct widening of the capillary vessels. It seems that the changes in the pituitary gland's anterior lobe are secondary to the changes taking place in male gonad after long lasting alcohol intoxication.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. The anterior lobe of the pituitary gland of a rat, I control group. Stained after the method of Masson. Visible areas of acellular structure — "islets". Magn. ca $\times 200$.

Fig. 2. The anterior lobe of the pituitary gland of a rat, I control group. Stained with PAS. Magn. ca $\times 400$.

Fig. 3. The anterior lobe of the pituitary gland of a rat, I experimental group. Stained after the method of Masson. Magn. ca $\times 200$.

Fig. 4. The anterior lobe of the pituitary gland of a rat, II control group. Stained with PAS. Magn. ca $\times 400$. In the area of "islets" — PAS positive cells.

Fig. 5. The anterior lobe of the pituitary gland of a rat, II experimental group. Stained after the method of Masson. Numerous widened capillary vessels beside the "islets". Magn. ca $\times 200$.

Fig. 6. The anterior lobe of the pituitary gland of a rat, II experimental group. Stained with PAS. PAS positive reaction in the walls of blood vessels and in basophilic cells. Magn. ca $\times 400$.

Fig. 7. The anterior lobe of the pituitary gland of a rat, III control group. Stained with PAS. Considerably increased amount of basophilic cells. Magn. ca $\times 400$.

Fig. 8. The anterior lobe of the pituitary gland of a rat, III experimental group. Stained after the method of Masson. Magn. ca $\times 200$.

