

Morfologia do desenvolvimento pós-natal dos ductos eferentes no camundongo negro isogênico

¹Antonio Marcos Orsi

¹Maíra Aparecida Stefanini

²Hamilton Emídio Duarte

³Silvana Martinez Baraldi Artoni

¹Eduardo Duarte Aires

¹Célia Cristina Leme Beu

¹ Departamento de Anatomia - Instituto de Biociências
UNESP - Botucatu - SP

² Departamento de Ciências Morfológicas - Centro de
Ciências Biológicas - UFSC - SC

³ Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal -
UNESP - Jaboticabal - SP, Brasil.

Aceito para publicação em 23/06/97.

Resumo

Por meio de estudos morfológicos, estruturais, sobre o desenvolvimento pós-natal dos ductos eferentes (DE), epididimários, no camundongo negro isogênico, em diferentes idades pós-natais, entre 10 e 60 dias, pôde-se observar que aos 10 dias, as células epiteliais dos DE já apresentam uma certa diferenciação ultra-estrutural, comparativamente com as mesmas células estudadas nos DE destes roedores adultos (Orsi et al., 1996). As-

sim, na idade de 10 dias, as células ciliadas (C) já puderam ser observadas, e algumas células não ciliadas (NC) mostraram características subcelulares sugestivas de ocorrência de processo secretório apócrino, em nível de citoplasma apical. Outras observações, em nível de microscopia de luz, foram feitas sobre a morfologia dos DE, entre 20 e 60 dias, levando-se a pressupor uma diferenciação muito precoce do epitélio tubular eferencial nesta espécie.

Unitermos: Dúctulos eferentes, desenvolvimento pós-natal, morfologia, camundongo.

Summary

The aim of this paper was to describe the morphological features of the epididymal efferent ductules (ED) in the black isogenic mouse, between 10 and 60 days of age. It was observed that at 10 days of postnatal age the epithelial lining of the ED showed relative differentiation, comparatively to the same epithelial lining studied in adult mice (Orsi et al., 1996). Thus, ciliated (C) cells, at 10 days of age, could be still noticed, and non-ciliated (NC) cells showed subcellular features, that suggested occurrence of a precocious process of apocrine secretion. Other observations, at light microscope level, were made on ED morphology, between 20 and 60 days, and allowed us to conclude that a precocious process of tubular epithelial differentiation occurred in this species.

Key words: Efferent ductules, postnatal development, morphology, mouse.

Introdução

Os dúctulos eferentes (DE) de mamíferos, no seu segmento morfológico adtesticular e, principalmente, no segmento epididimário (Hamilton, 1975; Hemeida et al., 1978; Jones e

Jurd, 1987; Vicentini et al., 1990), têm merecido descrições morfológicas e histofisiológicas, que abordam, principalmente, em nível do epitélio de revestimento tubular, a ocorrência de processos fisiológicos complexos. Dentre estes se destacam: (1) transcitose (exocitose e endocitose), observada em nível do citoplasma apical das células não ciliadas (NC); (2) ciliogênese e movimentação do fluido seminífero, por intermédio de movimentos pendulares dos cinetócilios das células ciliadas (C); (3) absorção do fluido seminífero, em grande volume, com influência na fase fluida da secreção testicular precedente, quando esta atravessa o lúmen dos DE, e, (4) secreção celular (Crabo, 1965; Hamilton, 1975; Hemeida et al., 1978; Alsum e Hunter, 1978; Orsi et al., 1980, 1985 e 1996; Jones e Jurd, 1987; Goyal e Williams, 1988; Hermo et al., 1988; 1992; Vicentini et al., 1990; Stoffel et al., 1991; Arrighi et al., 1994; Santos, 1995).

Quanto ao desenvolvimento pós-natal dos DE de mamíferos, com destaque ao rato albino (Hermo et al., 1992), neste roedor em fase pré-puberal (21 dias), as células NC não estão plenamente desenvolvidas, diferentemente dos achados de Francavilla et al. (1986), na mesma espécie, que descreveram células NC já morfológicamente desenvolvidas na precoce idade de 8 dias, após o nascimento. Por outro lado, Hermo et al. (1992), concordantemente com as observações dos últimos AA citados, caracterizaram células C já com cinetócilios definidos em idade juvenil precoce, nos DE de rato. Acresce-se que células C já morfológicamente definidas foram encontradas nos DE: do homem aos 3 meses de idade (Jonté e Holstein, 1987) e do búfalo juvenil aos 4 meses de idade (Santos, 1995).

Especificamente em células NC dos DE, tanto no trabalho de Hermo et al. (1992) como no trabalho de Santos (1995), foram caracterizados, em idades juvenis, em ambas as espécies enfocadas, papéis citofisiológicos ativos nestas células, tais como: a endocitose, descrita pelos primeiros AA, e atividade secretória,

descrita pela última autora. Acreditamos que estas características histofisiológicas, observadas em nível dos DE de mamíferos em fase juvenil, se destacam pela precocidade funcional verificada. Acrescidas de análises morfológicas pertinentes sobre a estrutura dos DE, merecem novas investigações e estudos. Logo, objetiva o presente trabalho, em nível de contribuição morfológica, descrever algumas características sobre o desenvolvimento pós-natal dos DE adepididimários do camundongo isogênico, para o qual, na literatura ao alcance, não foram encontrados estudos similares.

Material e Métodos

Os segmentos adepididimários dos DE foram coletados de 28 camundongos negros isogênicos (*Mus musculus*, L.), da linhagem C57.BL.6J, sendo 4 animais de cada uma das 7 faixas etárias, respectivas, de: 10, 20, 30, 35, 40, 45 e 60 dias de idade. Imediatamente após o sacrifício dos roedores, sob saturação anestésica, foram retirados, conjuntamente, os testículos-epidídimos, bilaterais, e dissecados, sob microscópio estereoscópico Olympus SZ (Micronal-Mettler do Brasil). Separou-se, na seqüência, o conjunto dos DE, localizado junto ao pólo vascular do testículo e ao segmento inicial do epidídimo (Orsi et al., 1993). O material foi colocado sobre placa de cera com quantidade apropriada de fixador histológico, para a sua dissecção. A fixação prosseguiu por imersão dos preparados dos DE em líquido de Bouin, com vistas à rotina de microscopia de luz, e/ou em fixador de Karnovsky (Karnovsky, 1965), para os estudos de microscopia eletrônica de transmissão (MET), dos materiais coletados de camundongos aos 10 e 60 dias, respectivamente.

Os fragmentos dos tecidos fixados em Bouin foram processados para microscopia óptica: inclusão em *paraplast* (Oxford Labware, USA); microtomia (cortes de 5 a 7 μm); colorações com HE, tricrômico de Masson, PAS/H e PAS (Lillie, 1965), e

documentação fotográfica em microscópio Olympus BH-2 (Micronal-Mettler do Brasil). Neste material histológico, coletado entre 10 e 60 dias de idade, com o uso de ocular micrométrica de 10x, utilizando-se 2 secções histológicas transversais diferentes foram realizadas 10 medidas, para cada roedor, em cada faixa etária (totalizando 20 medidas de cada parâmetro, para cada idade), das variáveis: diâmetro tubular (DT), diâmetro luminal (DL) e altura epitelial (AE), do epitélio tubular, dos DE (Tabela 1, em Resultados). As medidas foram realizadas no Olympus BH-2, com a fixação das observações histomorfométricas na objetiva de 40x, do equipamento.

Os tecidos coletados em Karnovsky (aos 10 e 60 dias), após estar completa a fixação, por 3 horas a 4°C, foram lavados em tampão fosfato pH 7,3, 0,1M; pós-fixados em OsO₄ a 1%, no tampão fosfato; desidratados; incluídos em Epon Araldite (Sigma, USA), e, cortados em ultramicrótomo (60 a 80 nm). Os cortes ultrafinos foram contrastados com citrato de chumbo e acetato de uranila (Watson, 1958; Reynolds, 1963); analisados e documentados, fotograficamente, em MET Philips EM 301, no Centro de Microscopia Eletrônica da UNESP, em Botcatu, SP.

Resultados

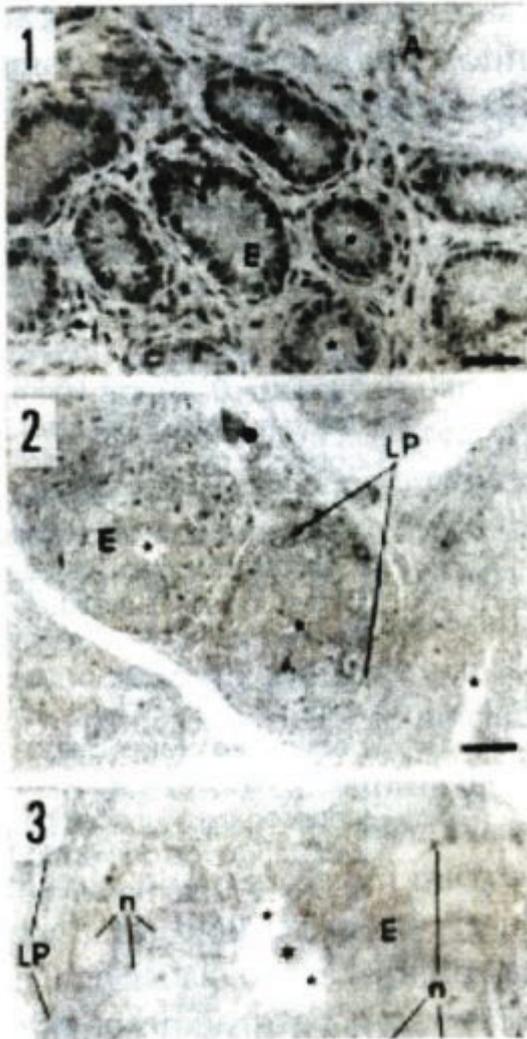
Os valores médios das variáveis: diâmetros tubulares e luminiais e alturas epiteliais, em micrômetros, dos DE do camundongo isogênico nas diferentes idades em dias (10 a 60 dias), são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1: Variabilidades de: diâmetro tubular (DT); diâmetro luminal (DL) e altura epitelial (AE), médias, dos ductos eferentes (DE) do camundongo isogênico, em diferentes idades em dias, expressas pela média aritmética \pm desvio padrão das médias, dos valores, em micrômetros (mm).

Variáveis	DT	DL	AE
Dias			
10	50,0 \pm 2,9	8,6 \pm 1,7	22,0 \pm 2,8
20	59,9 \pm 2,7	31,0 \pm 2,9	20,4 \pm 1,7
30	66,3 \pm 4,1	37,9 \pm 3,6	20,9 \pm 3,3
35	89,0 \pm 3,7	50,1 \pm 2,8	23,9 \pm 1,7
40	87,6 \pm 4,2	41,0 \pm 4,3	23,4 \pm 1,8
45	91,9 \pm 4,5	48,3 \pm 4,4	23,6 \pm 3,3
60	92,3 \pm 3,7	48,3 \pm 3,9	23,8 \pm 2,5

Aos *10 dias* de idade pós-natal, os DE do camundongo isogênico (Figuras 1 a 3, Tabela 1), aparecem como túbulos com diâmetro tubular médio pequeno; com luz muito reduzida, estreita, irregular, ou ausente (Figura 1), e com revestimento por epitélio já com características de pseudoestratificado cilíndrico, especialmente nos preparados de 0,5 mm, do material incluído em Epon-Araldite (Figura 3).

A borda estereociliada, ou microvilosa, apical, do epitélio eferencial, mostra-se pouco nítida aos 10 dias (Figuras 2, 3), embora, em nível ultra-estrutural, já se notem algumas poucas expansões citoplasmáticas apicais nas células NC (Figuras 4, 6), que se evidenciam, outrossim, em nível de microscopia óptica, em algumas secções transversais dos DE (Figura 3). No epitélio tubular observa-se, ainda, algumas figuras de mitose (Figura 1), sendo indicativas de processo citogênico ativo; pouco peculiar aos epitélios dos ductos vetores do testículo.

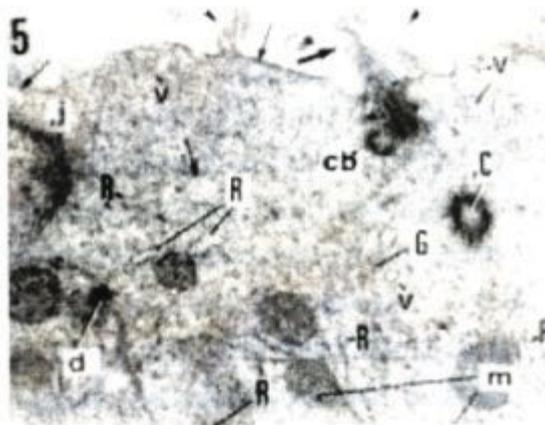


Figuras 1-3: Ductos eferentes (DE) adepididimários do camundongo isogênico, aos 10 dias de idade, (1: HE, barra = 50 mm; 2: AT, barra = 10 mm; 3: AT, barra = 5 mm, secções predominantemente transversais dos ductos). Indicados: A: albugínea, E: epitélio tubular, cabeças de setas: figuras de mitoses, LP: lâmina própria tubular, rosácea: interstício tubular, n: núcleos de células epiteliais, setas: núcleos celulares na LP, (*): expansão citoplasmática apical.

O estroma peritubular, ou lâmina própria (LP), dos DE aos 10 dias (Figuras 2, 3), com um padrão morfológico repetitivo nas outras faixas etárias, é representado por 2 a 3 camadas de células alongadas (mióides), com colágeno interposto entre as células, e, se segue pelo interstício tubular (Figura 2), formado por tecido conjuntivo frouxo, com pequenos vasos sanguíneos; células próprias deste tecido e colágeno, em menor quantidade do que na LP. A delimitação dos ductos eferentes adepididímicos se faz pela delicada túnica albugínea, constituída por tecido conjuntivo denso não modelado (Figura 1).

Ultra-estruturalmente, o epitélio eferencial, aos 10 dias de idade, mostra-se formado, predominantemente, por células não ciliadas (NC), dotadas de escassos microvilos apicais que proeminam na estreita luz tubular. Há grande quantidade de mitocôndrias alongadas, dispostas predominantemente em po-

sição apical; os núcleos celulares se dispõem adbasalmente. Os núcleos são ovalados, preenchidos por eucromatina, com nucléolos evidentes e com focos de heterocromatina aderentes à membrana nuclear (Figura 4).



Figuras 4 e 5 - Células não ciliadas (NC) e ciliadas (C*), do epitélio eferencial aos 10 dias de idade (MET, secções transversais, 4: barra = 1,0mm; 5: barra = 0,25 mm). Apon-tados: n: núcleos celulares, cabeças de setas maiores: focos de heterocroma-tina, cabeças de setas menores: microvilos, estrela: luz tubular, (*): protrusão intraluminal, R: RER, G: área de Golgi, C: centríolo, cb: corpúsculo basal, seta es-pessa: cílio, setas delga-das: formações vesicula-res (endosomas), j: junções ínti-mas (zônulas de aderência/oclusão), d: desmosoma.

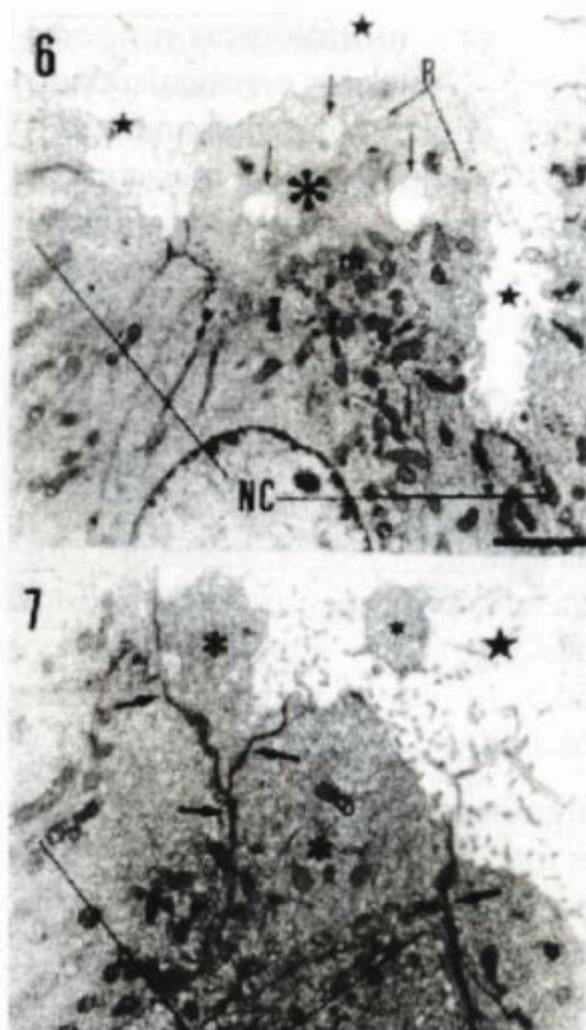
Aos 10 dias, o epitélio eferencial já demonstra atividade de ciliogênese, com a observação de cílios verdadeiros (cinetocílios), ancorados em corpos basais no citoplasma apical, de algumas células ciliadas (C) (Figura 5), sempre observadas em menor número que as células NC, como também se observou nos eferentes do adulto (Orsi et al., 1996). Tanto as células C, como as NC, exibem alguns poucos microvilos curtos (Figura 4), que nas células C se interpõem entre os cinetocílios (Figura 5).

Especialmente em nível do citoplasma apical das células NC, mas também nas células C com menor evidência, aos 10

dias se verificam algumas características morfológicas notórias, tais como presenças de: (1) cisternas lamelares e vesiculares do RE, predominantemente do tipo granular, com ribosomas aderidos ou livres; (2) um complexo de Golgi discreto, mas com os sáculos evidentes, em cujas adjacências há vesículas de diferentes dimensões e eletropacidades, revestidas por membranas; (3) reticulação e vesiculação citoplasmática apical, como possível indício de formação, ainda incipiente nesta idade, do “sistema tubular apical” (“ST”, Hermo et al., 1988), e, (4) vesículas apicais, com conteúdo claro e circunscritas por membrana eletrodensa, evidenciando possíveis atividades de endocitose e pinocitose. Entre as membranas plasmáticas de células epiteliais adjacentes, observa-se certo espaçamento, embora hajam reforços de membranas feitos por junções íntimas: desmosomas; zônulas de oclusão e zônulas de aderência observados, principalmente, em nível mais apical (Figura 5).

No citoplasma apical de algumas células NC, aos 10 dias, se vêem expansões citoplasmáticas intraluminais (Figura 6), confirmando observações em microscopia de luz (Figura 3). Quando presentes, estas expansões citoplasmáticas apicais (eca) podem ser evidenciadas com as seguintes configurações: (1) as eca são contínuas ao citoplasma apical, contendo cisternas do RE, mitocôndrias, corpos multivesiculares e corpos eletrodensos, talvez lisosomas secundários, observados na parte expandida do citoplasma supranuclear (Figura 6); (2) as eca aparecem como protrusões intraluminais, formadas por citoplasma aparentemente “amorfo” (pouco definido em orgânulos citoplasmáticos), (Figura 4), e/ou (3) as eca, aparentemente, são resultantes de fragmentação do citoplasma apical, sendo então delineadas por membranas plasmáticas laterais, de duas células adjacentes, relativamente distantes entre si. Neste caso, há presença de material vesiculado circunscrito por membrana, ou destacado na luz tubular (Figura 7).

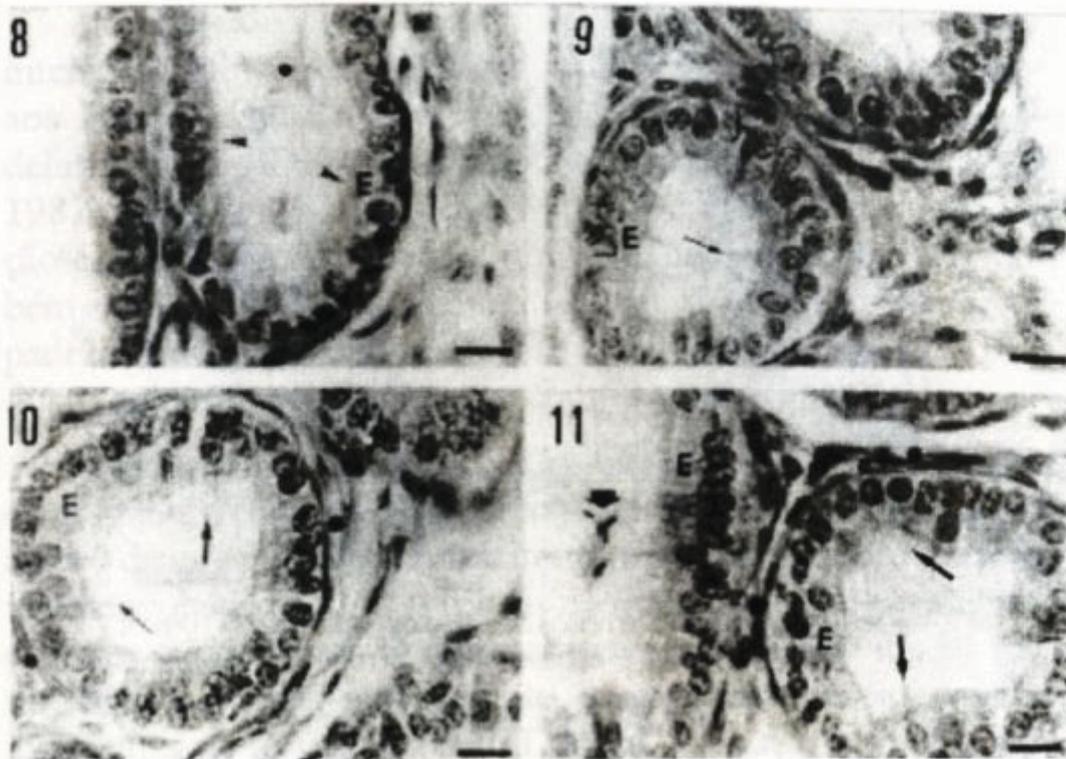
Aos 20 dias de idade, observa-se nos DE do camundongo isogênico, além de uma relativa expansão tubular, uma real ex-



Figuras 6 e 7 - Células não ciliadas (NC) do epitélio eferencial aos 10 dias de idade (secções transversais, 6 e 7: barras = 1,0 μ m). Indicados: (* maiores): expansões citoplasmáticas apicais, R: RER, m: mitocôndrias, cabeças de setas: corpos eletrondensos, setas: membranas plasmáticas adjacentes (notar espaçamentos), estrelas: luz tubular, (* menor): material destacado na luz tubular.

pansão luminal dos túbulos (Tabela 1), relativamente aos *10 dias*. Os núcleos das células epiteliais se observam também em posição justabasal, com ligeiro festonamento na posição nuclear; escassez da margem estereociliada apical, e presença intraluminal de fluido e material de esfoliação celular (Figura 8), provavelmente oriundo de descamação celular da via seminífera precedente aos DE.

Aos *30 dias*, o epitélio eferencial nos DE (Figura 9), já mostra maior regularidade morfológica em termos de disposição nuclear. As características básicas de pseudoestratificação, relativamente aos *20 dias* (Figura 8) já se definem melhor, mas cremos somente se consolidam, efetivamente, aos *35 dias* de idade pós-natal (Figura 10). A margem estereociliada apical aos *30 dias* (Figura 9) é melhor definida que aos *20 dias*, e em ambas as idades a luz tubular ou é observada predominantemente vazia, ou está parcialmente preenchida por fluido e descamação celular.



Figuras 8 a 11 - Epitélio eferencial do camundongo isogênico aos: 20 dias (8), 30 dias (9), 35 dias (10), e 45 dias (11), (HE, barra = 10 μ m). Indicados: cabeças de setas: margem epitelial apical, (·) estofoliação epitelial na luz tubular, (*): lâmina própria, setas delgadas: estereocílios, setas: cílios, seta espessa: espermatozóides.

A partir dos *35 dias* (Figura 10), com padrões repetitivos nos DE aos *40 dias* (Figura 11), *45 dias* (Figura 12), e aos *60 dias* (Orsi et al., 1996), nota-se que a pseudoestratificação epitelial se define no epitélio cilíndrico tubular, e a margem estereociliada com microvilos longos, é vista, apicalmente, com melhor definição à microscopia óptica. Os cílios têm origem no citoplasma supranuclear, com eosinofilia mais elevada nos preparados de microscopia óptica (Figura 10), que aparentemente corresponde à área citoplasmática apical, onde se observam corpos basais em MET (Figura 5). O glicocalix adluminal se define nos preparados corados com PAS, e a membrana basal se faz nitidamente PAS-positiva (Figura 12), sendo circundada pelas células mióides da LP tubular (Figuras 10 e 11).

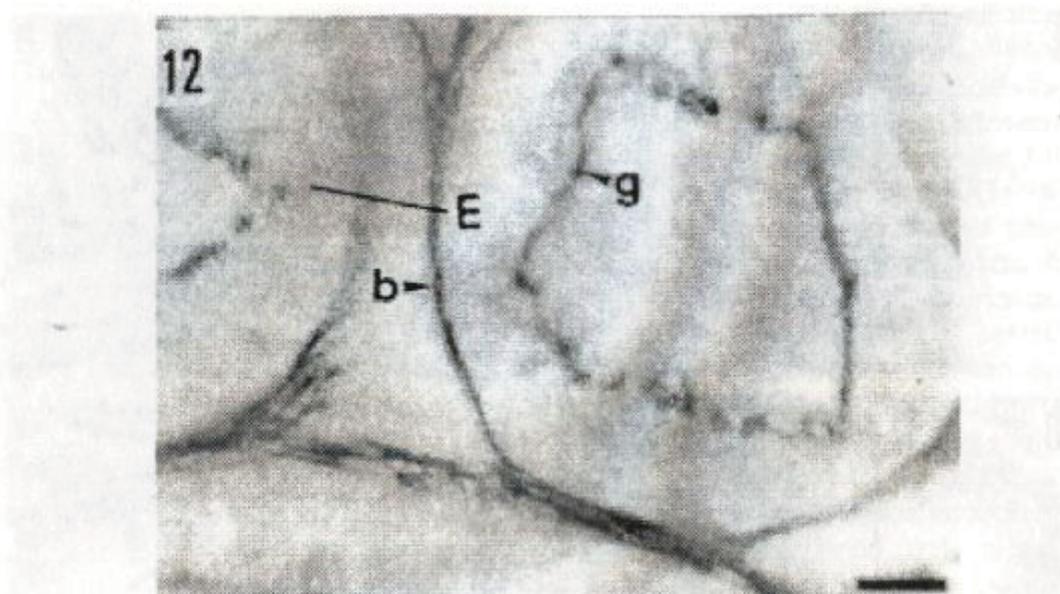


Figura 12 - DE adepididimários aos 45 dias (PAS, barra = 10mm).
Apontados: E: epitélio tubular, b: membrana basal, g:
"glicocalix".

Discussão

As observações morfológicas feitas nos DE do camundongo isogênico, aos *10 dias* de idade pós-natal, resguardadas as peculiaridades espécie-específicas, podem ser comparadas com descrições similares feitas nos DE de rato albino juvenil aos 8 dias e 21 dias (Francavilla et al., 1986; Hermo et al., 1992, respectivamente), e de búfalo jovem aos 4 meses de idade (Santos, 1995). Assim, no camundongo, os DE aos *10 dias* aparecem como túbulos com diâmetro pequeno e luz muito reduzida, ou ausente, à semelhança do que se descreveu para o rato albino de *21 dias* (Hermo et al., 1992). O últimos autores caracterizaram os DE do rato como "túbulos cordonais", apesar de terem luz reduzida, o que caracterizamos também nos DE do camundongo. Os DE, do camundongo, embora tenham luz muito reduzida, não têm aspecto compacto. Isto porque, em secções transversais de corte os DE se individualizam, sendo a lâmina própria, circundante dos túbulos, já definida; com 2 a 3 camadas de células alongadas, como também se viu no búfalo juvenil (Santos, 1995).

Entre os túbulos eferentes do camundongo, se observa o interstício tubular, com padrão morfológico similar ao descrito aos DE do adulto (Orsi et al., 1996). A delicada albugínea delimitante dos DE epididimários (*Coni vasculosi*, Jones e Jurd, 1987), já se faz nítida, nesta idade precoce, quanto à sua organização estrutural por tecido conjuntivo denso não modelado, também observada noutras idades, no camundongo isogênico. Um padrão similar a este, de estrutura albugínica, foi descrito para o ducto epididimário de bovino zebu (Orsi et al, 1985).

Além destas considerações, como nas observações de Hermo et al. (1992), para os DE do rato jovem, os DE do camundongo aos 10 dias de idade não apresentaram epitélio tubular plenamente desenvolvido. Assim, as células não ciliadas (NC), em ambas as espécies, não estavam totalmente desenvolvidas nas idades juvenis, registrando-se, por exemplo, as características subcelulares incipientes de formação do “ST apical”, descrito no rato albino adulto (Hermo et al., 1988). As formações vesiculares/tubulares apicais do “ST” parecem ser características das células NC, uma vez que foram observadas e descritas em diferentes mamíferos (Hermo et al., 1988; Vicentini et al., 1990; Stoffel et al., 1991; Arrighi et al., 1994) , assim como as notamos, também, no citoplasma apical das células NC dos DE de adultos nesta espécie (Orsi et al., 1996).

Os dados anteriormente comentados, concordantemente com a discussão prévia de Hermo et al. (1992), discordam de descrição anterior de Francavilla et al. (1986), que haviam caracterizado, em suas observações, células NC “desenvolvidas” nos DE de rato muito jovem. Por outro lado, concordando com Hermo et al. (1992), que por sua vez concordaram com Francavilla et al. (1986), nos DE de camundongo jovem (10 dias), já se observam células ciliadas (C) e o processo de ciliogênese. Este dado talvez, se relacione ao papel ativo dos cinetocilios observados na margem luminal das células C eferenciais, relativamente ao mecanismo de transporte ativo do

fluido seminífero e do seu conteúdo de espermatozóides, antes discutido (Orsi et al., 1996). Acresce-se, ainda, que células C foram também notadas no epitélio tubular eferencial do búfalo jovem, aos 4 meses de idade (Santos, 1995), e de meninos aos 3 meses de idade (Jonté e Holstein, 1987).

As características subcelulares descritas em ambos os tipos de células epiteliais dos DE (NC e C), no camundongo juvenil (10 dias), se aproximam, em linhas gerais, de observações feitas nos DE de rato jovem (Herms et al., 1992), destacando-se a atividade endocitótica precoce, em nível do citoplasma apical das células NC. Entretanto, no citoplasma apical destas células, no rato albino juvenil (21 dias), não foram caracterizadas expansões citoplasmáticas apicais, como vimos nas células NC do camundongo isogênico, indicando possível atividade secretória apócrina.

Similarmente às nossas observações, relativas à aparente fragmentação do citoplasma apical das células NC eferenciais, no camundongo aos 10 dias, com a verificação de protrusões intraluminais, formadas a partir do citoplasma, tendo orgânulos citoplasmáticos visíveis, ou com a presença de formações destacadas na luz tubular, tendo conteúdo amorfo ou vesiculoso, Manin et al. (1995) observaram, com o uso de recursos avançados de MET, secreção apócrina no ducto deferente do camundongo albino, adulto, feita a partir de células principais. Ademais, Santos (1995) descreveu uma aparente fragmentação do citoplasma supranuclear de células NC nos DE de búfalo jovem (4 meses), discutindo a possibilidade de preceder um processo de secreção apócrina. Como destacamos anteriormente (Orsi et al., 1996), um processo de secreção apócrina, em nível do epitélio eferencial, em mamíferos, é discutível, sendo aceito por alguns autores (Goyal e Williams, 1988; Santos, 1995), e negado por outros (Stoffel et al., 1991).

Quanto aos passos seguintes da diferenciação e desenvolvimento morfológico pós-natal dos DE do camundongo isogênico, as observações feitas a partir dos *20 e 30 dias* de idade, em linhas

gerais, talvez pudessem ser comparadas às observações feitas nos DE do rato albino pré-puberal, aos 39 dias (Herms et al., 1992), apesar de aparentes diferenças na cinética da espermatogênese entre ambas as espécies, uma vez que para o rato descreveu-se o alcance da puberdade aos 44 dias (Ekwall et al., 1984), que talvez ocorra algo mais precocemente no camundongo, em face de estudos anteriores (Vergouwen et al., 1991).

No epitélio tubular dos DE do camundongo isogênico, conforme nossas observações, e nos DE do rato (Herms et al., 1992), nas faixas etárias antes citadas, observaram-se expansões dos diâmetros tubular e luminal (DT, DL) dos túbulos (vide Tabela 1), e o epitélio tubular mostrou-se mais diferenciado. Entretanto, a borda estereociliada no epitélio eferencial do camundongo, aos 20 dias, se revelou pouco definida, havendo maior expansão relativa dos microvilos aos 30 dias.

Aos 35 dias de idade, aparentemente, etapa puberal no camundongo isogênico (Orsi, dados não publicados), com observações similares dos 40 dias em diante, definiram-se: (1) os microvilos que se destacam dos cinetócios, mesmo na dimensão de microscopia óptica aqui enfocada; (2) o "glicocalix" apical, PAS-positivo, bem evidenciado aos 45 dias (vide Figura 12); (3) um padrão, mais regular, de pseudoestratificação do epitélio cilíndrico, que se assemelha ao descrito no adulto (Orsi et al., 1996), e, (4) a regularidade da membrana basal PAS-positiva (Figura 12), que é circunscrita pela lâmina própria, já bem evidenciada aos 10 dias de idade (Figura 3).

Para concluir, todas as observações morfológicas realizadas sobre a histologia do desenvolvimento pós-natal dos ductos eferentes do camundongo isogênico, pressupõem a ocorrência de um processo de diferenciação relativamente precoce do epitélio eferencial. Este, contudo, parece ser dependente dos eventos testiculares puberais, como antes enfatizaram Herms et al. (1992), nas descrições sobre a morfologia do desenvolvimento dos ductos

vetores do testículo, em rato albino. No entanto, para os últimos AA citados, os exatos papéis funcionais das células epiteliais eferenciais (NC e C), durante o processo de desenvolvimento pós-natal, aguardaria ser devidamente estabelecido. O assunto portanto continua aberto, para futuras investigações morfofuncionais.

Agradecimentos

À Senhora Maria Irene Faggian Alves, pela formatação final do manuscrito; ao Sr. Gelson Rodrigues pelo auxílio na parte técnica, e, ao CNPq pelo auxílio financeiro (Proc. 35.0599/91.2, CB).

Referências Bibliográficas

- Alsum, D. J. ; Hunter, A. G. 1978. Regional histology and histochemistry of the ductus epididymis in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). **Biol. Reprod.**, **19**: 1063-1069.
- Arrighi, S.; Romanello, M. G.; Domeneghini, C. 1994. Ultrastructure of the epithelium that lines the ductuli efferentes in domestic equidae, with particular reference to spermatophagy. **Acta Anat.**, **149**: 174-184.
- Crabo, B. 1965. Studies on the composition of epididymal content in bulls and boars. **Acta Vet. Scand.**, **6** (Suppl. 5): 1-94.
- Ekwall, H.; Janson, A.; Sjoberg, P.; Ploen, L. 1984. Differentiation of the rat testis between 20 and 120 days of age. **Arch. Androl.**, **13**: 27-36.
- Francavilla, S.; Moscardelli, S.; Bruno, B.; Barcellona, P. S.; de Martino, C. 1986. The postnatal maturation of efferent tubules in the rat. A light and electron microscopy study. **J. Embryol. Exp. Morphol.**, **96**: 51-63.
- Goyal, H. O.; Williams, C. S. 1988. The ductuli efferentes of the goats: a morphological study. **Anat. Rec.**, **220**: 58-67.

- Hamilton, D.W. 1975. Structure and function of the epithelium lining the ductuli efferentes, ductus epididymidis and ductus deferens in the rat. *In*: Greep, R.O. and Astwood, (Eds). E.B., **Handbook of physiology**, Amer. Physiol. Soc., Sect. 7, v. 5, Washington D.C., p. 259-301.
- Hemeida, N.A.; Sack, W.O.; McEntee, K. 1978. Ductuli efferentes in the epididymis of boar, goat, bull and stallion. **Am. J. Vet. Res.**, **39**: 1892-1900.
- Hermo, L.; Spier, N.; Nadler, N.J. 1988. Role of apical tubules in endocytosis in nonciliated cells of the ductuli efferentes of the rat: a kinetic analysis. **Am. J. Anat.**, **182**: 107-119.
- Hermo, L.; Barin, K.; Robaire, B. 1992. Structural differentiation of the testicular excurrent duct system of rats, during postnatal development. **Anat. Rec.**, **223**: 205-228.
- Jones, R.; Jurd, K.M. 1987. Structural differentiation and fluid reabsorption in the ductuli efferentes testes of the rat. **Aust. J. Biol. Sci.**, **40**: 79-90.
- Jonté, G.; Holstein, A.F. 1987. On the morphology of the transitional zones from the rete testis into the ductuli efferentes and from the ductuli efferentes into the ductus epididymidis. Investigations on the human testis and epididymis. **Andrologia**, **19**: 398-412.
- Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **J. Cell Biol.**, **27**: 137a-138a.
- Lillie, R.D. 1965. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 3^a ed. McGraw-Hill, New York, 715 pp.
- Manin, M.; Lecher, P.; Martinez, A.; Tournadre, S.; Jean, Cl. 1995. Exportation of mouse vas deferens protein, a protein without a signal peptide, from mouse vas deferens epithelium: a model of apocrine secretion. **Biol. Reprod.**, **52**: 50-62.
- Orsi, A.M.; Melo, V.R.; Ferreira, A.L.; Silva, Z. 1980. Estrutura do epitélio de revestimento dos ductulos eferentes no

- epididímo do gambá sul-americano (*Didelphis azarae*). **Ciênc. Cult.**, **32**: 1373-1376.
- Orsi, A.M.; Vicentini, C.A.; Valente, M.M.; Oliveira, J.A.; Moreira, J.E.; Melo, V.R. 1985. Estructura del estroma conjuntivo del epidídimo en el bovino cebú (*Bos indicus*). **Zbl. Vet. Med. C. Anat. Histol. Embryol.**, **14**: 236-241.
- Orsi, A.M.; Viotto, M.J.S.; Silva, T.P. ; Gomes, E.R. 1993. Histologia regional e desenvolvimento pós-natal do epididímo do camundongo negro isogênico (*Rodentia: Muridae*). **Rev. Bras. Ciênc. Morfol.**, **10**: 53-60.
- Orsi, A.M.; Vicentini, C.A.; Viotto, M.J.S.; Beu, C.C.L.; Stefanini, M.A. 1996 . Histochemical and ultrastructural characteristics of black isognic mouse efferent ductules. **Rev. Brasil. Biol.**, (in press).
- Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. **J. Cell Biol.**, **17**: 208-212.
- Santos, J.N. 1995. **Estrutura e ultraestrutura do epitélio epididimário de búfalos (*Bubalus bubalis*), em diferentes idades**. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, 95 pp.
- Stoffel, M.; Friess, A.E. ; Kholer, T. 1991 . Efferent ductules of the boar: a morphological study. **Acta Anat.**, **142**: 272-280.
- Vergouwen, R. P. E. A.; Jacobs, S.G.P.M.; Huiskamp, R.; Davids, J. A. G. De Rooij, D. G.1991. Proliferative activity of gonocytes, Sertoli cells and interstitial cells during testicular development in mice. **J. Reprod. Fert.**, **93**: 233-243.
- Vicentini, C.A.; Orsi, A.M.; Gregório, E.A. 1990 . Fine structure of the ductuli efferentes of the hamster (*Mesocricetus auratus*). **Gegenb. morphol. Jahrb.**, **136**: 111-118.
- Watson, M.L. 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. **J. Biophys. Biochem. Cytol.**, **4**: 475-478.