

MUCINAS DEL APARATO GENITAL MASCULINO DE LA BABA
(*CAIMAN CROCODILUS CROCODILUS*)

Mucins of the Male Genital Tract of the Spectacled Cayman
(*Caiman crocodilus crocodilus*)

Francisco J. Cabrera A.^{*,1} y Gisela C. García C.*

**Laboratorio de Histoquímica, Cátedra de Histología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, Apartado 4563, Maracay 2101, Estado Aragua, Venezuela.*

Correo-E: francisco.cabrera@ucv.ve

Recibido: 17/09/07 - Aprobado: 06/12/07

RESUMEN

Se realizó el estudio histoquímico de mucinas en las vías espermáticas de nueve babas adultas, utilizando las coloraciones Hematoxilina-Eosina, PAS, PAS-Digerido (Diestasa) y PAS-Azul de Alcian a pH 1,0 y 2,5. Los hallazgos encontrados fueron: reacción PAS. positiva en el epidídimo caudal; reacción positiva a PAS y PAS-Azul de Alcian a pH 2,5 y 1,0 en el colículo seminal, surco eyaculador del pene y superficie dorsal del pene, evidenciando la presencia de mucinas neutras, sialomucinas y sulfomucinas, respectivamente; reacción positiva a PAS y PAS-Azul de Alcian a pH 2,5 en la superficie dorsal y ventral del pene, evidenciando la presencia de mucinas neutras y sialomucinas. Se analizan las posibles correlaciones fisiológicas, tomando en cuenta la ausencia de glándulas sexuales anexas en esta especie.

(Palabras clave: *Caiman crocodilus crocodilus*, aparato masculino, tejidos animales, mucina, Apure)

ABSTRACT

A histochemical study of mucins from the male spermatic tract of the spectacled cayman was carried out. Nine mature spectacled caymans were used. Samples of the genital tract were stained with Hematoxylin-Eosin; PAS; PAS-Amylase; and PAS-Alcian Blue. This last stain used two different pH values (1.0 and 2.5). The following findings were evidenced: 1. A positive PAS reaction at the caudal epididymis; 2. A positive reaction to PAS and PAS-Alcian Blue at both pHs in the seminal coliculus, the ejaculatory ductus and the dorsal aspect of the penis, which demonstrates the presence of neutral mucins, sialomucins and sulphomucins, respectively; and 3. A positive reaction to PAS and PAS-Alcian Blue at pH 2.5, on both the dorsal and ventral surface of the penis, confirming the presence of neutral mucins and sialomucins. The possible physiological correlations are discussed, taking into consideration the absence of annexe sexual glands in this species.

(Key words: *Caiman crocodilus crocodilus*, male genital system, animal tissues, mucin, Apure)

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

INTRODUCCIÓN

Las mucinas son definidas como proteínas fuertemente combinadas con oligosacáridos y unidas a residuos de serina o treonina mediante enlaces covalentes tipo éster. Las proteínas centrales de las mucinas contienen típicamente una serie de dominios repetidos y consecutivos, enriquecidos con serina, treonina y prolina, siendo muchas de estas proteínas de carácter polimórfico (Lagow *et al.*, 1999; Rose y Voynow, 2006). Constituyen un grupo heterogéneo de sustancias, en el que algunos autores incluyen a los mucopolisacáridos (Lynch *et al.*, 1972). Inicialmente, se habían descrito dos grandes grupos de mucinas: mucinas neutras y mucinas ácidas sulfatadas y no sulfatadas de acuerdo a la clasificación de Spencer (Lynch *et al.*, 1972). Estas últimas surgen por asociación con grupos ácidos tales como el radical sulfato (sulfomucinas) y el ácido siálico (sialomucinas), siendo estos grupos fácilmente evidenciables en los tejidos mediante pruebas histoquímicas (Martoja y Martoja, 1970; Lynch *et al.*, 1972).

Los mucopolisacáridos neutros y las mucoproteínas son indistinguibles entre sí desde el punto de vista histoquímico (conforman el grupo de mucinas neutras), ya que ambas sustancias son tintorialmente indiferentes frente a las coloraciones basadas en reacciones ácido-base. Por otro lado, ambos tipos de sustancias reaccionan en forma positiva al ser sometidos a la reacción aldehído-fucsina-ácido peryódico de Schiff (coloración PAS; Martoja y Martoja, 1970). El glucógeno, polisacárido de reserva de los tejidos animales, también es secretado a nivel del glicocálix en muchas membranas mucosas, y como tiene propiedades tintoriales similares a las mucinas neutras, es necesario eliminarlo de la muestra mediante la pre-digestión con la enzima diastasa, antes de aplicar la coloración PAS (PAS-Digerido con Diastasa; Prophet *et al.*, 1995). Además, el glucógeno intracelular normal (glucógeno- β), existe solo en forma de pequeñas inclusiones granulares con diámetro entre 15 y 30 nm, imposibles de apreciar con microscopía de luz y que no afectan las características tintoriales del citoplasma (Geneser, 2001).

La función de las mucinas secretadas por las láminas epiteliales de diversas mucosas, tales como la intestinal y las de las vías respiratorias, ha sido estudiada en forma exhaustiva. Las mucinas neutras,

abundantes en la superficie luminal del estómago y secretadas así mismo por las glándulas de Brunner del duodeno, están relacionadas con funciones de protección de las mucosas que las secretan. Las sialomucinas son muy abundantes en el colon y en el tracto respiratorio profundo, donde cumplen funciones netamente lubricantes. Las sulfomucinas se encuentran en grandes cantidades en el intestino grueso y tracto respiratorio superior, teniendo funciones mixtas en estos segmentos de sus respectivos sistemas (Lynch *et al.*, 1972). Además, las mucinas en conjunto pueden tener un papel como barrera para la difusión de solutos, así como contribuir a la formación de un micro-ambiente favorable para el crecimiento de ciertos microorganismos fermentadores en el ciego de los roedores, posiblemente limitando el crecimiento de otros (Sakata y Engelhardt, 1981). También forman parte del dinámico sistema de defensa de las mucosas presente en el tracto gastrointestinal, donde se asocian a proteínas protectoras secretadas por el epitelio, ya sea por medio de la interacción molecular directa o proporcionando a estas proteínas de un medio acuoso y viscoso-elástico en el cual con sus funciones defensivas (Corfield *et al.*, 2001).

El papel de las mucinas en el tracto reproductor parece estar asociado a las funciones de barrera protectora mencionadas anteriormente, protegen las mucosas del tracto reproductor contra la colonización y posterior infección por parte de microorganismos patógenos, evitan la proteólisis epitelial, modulan la adhesión tisular, participan en la transducción de señales e inhiben la función inmunitaria celular y además, proveen de un lubricante para la superficie epitelial y evitan su deshidratación (Lagow *et al.*, 1999). Por otra parte, se ha observado que algunos glucoconjugados se unen a los espermatozoides durante su paso a través de las vías espermáticas, (Burkett *et al.*, 1987a;b). Estos glucoconjugados son principalmente glucoproteínas, que poseen propiedades tintoriales similares a las mucinas y mucoproteínas y pueden ser evidenciados en conjunto mediante las pruebas histoquímicas básicas (Lynch *et al.*, 1972).

En el presente trabajo, se realizó una descripción inicial del patrón de distribución de las mucinas neutras y ácidas en el tracto reproductor masculino de la baba o caimán común (*Caiman crocodilus crocodilus*), una subespecie endémica de los llanos venezolanos, de gran valor comercial como fuente de

carne y piel, aunque subexplotada, y cuya anatomía y fisiología reproductiva no habían sido objeto de estudio hasta años recientes (Cabrera y García, 2004; Cabrera *et al.*, 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de tejido de nueve (9) babas adultas de sexo masculino, capturadas durante la época reproductiva (Britton, 2000) en los predios de la Agropecuaria "Guafillas", ubicada en el Distrito Muñoz del Estado Apure, Venezuela. Las muestras obtenidas mediante necropsia fueron fijadas en formol neutro al 10% v/v a un pH de 7,0 durante un mínimo de 48 horas; luego fueron procesadas manualmente mediante la Técnica de Inclusión en Parafina siguiendo el procedimiento descrito por Prophet *et al.* (1995) y cortadas en secciones de 5 μ m de grosor. Las secciones así obtenidas fueron teñidas con las coloraciones de rutina: Hematoxilina-Eosina, PAS, PAS-Digerido (Diastasa) y PAS- Azul de Alcian a pH 1,0 y 2,5. Los campos microscópicos de interés fueron fotografiados mediante un Fotomicroscopio Nikon Eclipse E400 y un Fotomicroscopio Zeiss III (Carl Zeiss, Inc.® 1975). Las fotomicrografías fueron digitalizadas y procesadas mediante el uso del programa ADOBE® Photoshop 6.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cabrera *et al.*, 2007, en estudios previos, describieron las características histológicas de los órganos del aparato genital masculino del *Caiman crocodilus crocodilus*, y señalaron como hallazgo relevante, la presencia de células con capacidad de secreción aparentemente mucosa a nivel de los epitelios de revestimiento del epidídimo, colículo seminal, saco ciego, surco eyaculador y la superficie externa del cuerpo del pene. Con el fin de determinar las características de esta secreción mucosa, se utilizaron las coloraciones PAS, PAS-Digerido (Diastasa) y PAS-Azul de Alcian, esta última a dos pH diferentes (2,5 y 1,0). De esta manera se pudieron constatar los siguientes hallazgos:

1. Epidídimo

Se identificaron gránulos de secreción mucoide en el citoplasma apical y supranuclear de las células del epitelio de revestimiento de la porción caudal del

epidídimo. Estos gránulos dieron reacción positiva con la coloración PAS (Figura 1), pero no con las coloraciones Azul de Alcian, a dos valores de pH utilizados (2,5 y 1,0), lo cual descartó la presencia de mucopolisacáridos ácidos (sialo- y sulfo-mucinas), a nivel del epidídimo; mientras que la coloración PAS-Digerido (Diastasa) descartó la presencia de glucógeno, lo cual indica que el contenido de estos

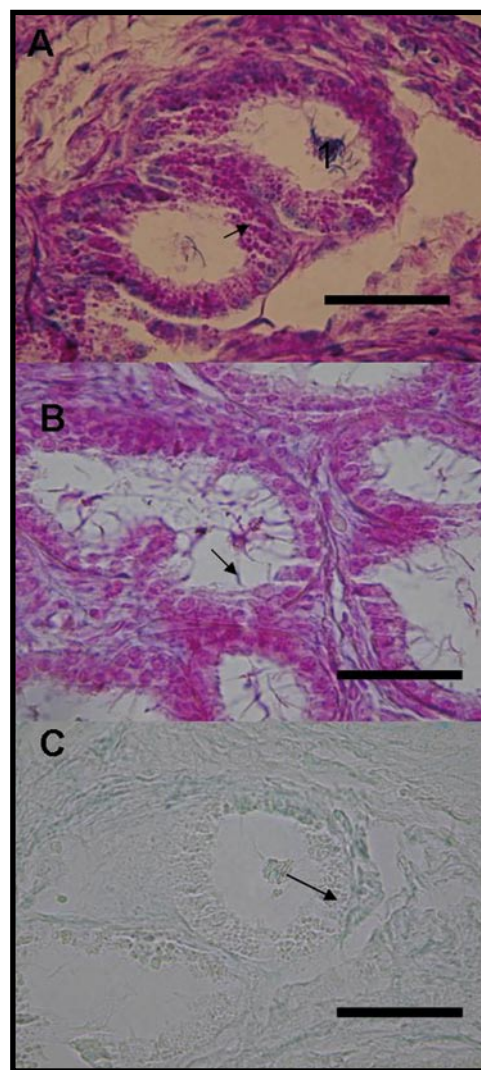


Figura 1. Cortes seriados a nivel distal de la cola del epidídimo de Baba (*Caiman crocodilus crocodilus*): **A)** Los segmentos distales del epidídimo se caracterizan por un epitelio cúbico simple, con núcleos redondos en posición basal y citoplasma lleno de gránulos de secreción PAS positivos (flecha). Obsérvese el borde apical convexo de las células epiteliales, indicativo de la presencia de un mecanismo de secreción apocrino. No se evidencian estereocilios en los bordes apicales, pero sí cabezas de espermatozoides en la luz tubular. 1: Espermatozoides. Coloración PAS; **B)** Coloración PAS-Azul de Alcian pH 2,5 negativa. La flecha indica un grupo de estereocilios **C)** Coloración PAS-Azul de Alcian pH 1,0 negativa. La flecha señala gránulos citoplasmáticos sin afinidad por la coloración usada. ESCALAS: 50 μ m.

gránulos consiste en mucopolisacáridos neutros y mucoproteínas. Aparentemente, el mecanismo de secreción es apocrino, dado el tamaño de los gránulos y la deformación que causan en el borde apical de las células del epidídimo. La Figura 1 también permite observar la presencia de estereocilios en los segmentos de esta estructura. De acuerdo a estos resultados, se logró determinar que la porción caudal del epidídimo produce gránulos contentivos de mucinas neutras, ya sean mucopolisacáridos o mucoproteínas, pero no se descarta que el epidídimo posea propiedades secretoras relacionadas con estos gránulos y otras sustancias, para las cuales las técnicas histoquímicas seleccionadas no resultan útiles.

2. Conductos deferente y eyaculador

En ninguno de los segmentos examinados, se observó reacción positiva con las coloraciones PAS y PAS-Azul de Alcian (Figura 2). En el conducto deferente se ha reportado la presencia de células caliciformes cuyo contenido citoplasmático incluye un producto de secreción tintorialmente indiferente, pero nuestros hallazgos descartan que sean de naturaleza mucoide.

3. Órgano copulador

El examen histoquímico del órgano copulador revela las siguientes características a nivel del surco eyaculador, saco ciego y colículo seminal: todo el epitelio de revestimiento de estas zonas reacciona positivamente a algunas de las coloraciones especiales aplicadas (PAS y PAS-Azul de Alcian a pH 2,5 y 1,0), pero no se presentó reacción alguna en la coloración PAS-Digerido (Diestasa), tanto a nivel de glándulas intraepiteliales unicelulares como a nivel de glándulas intraepiteliales multicelulares (Figuras 3 a 5).

La reacción positiva a PAS y PAS-Azul de Alcian a pH 2,5, también se presenta en el epitelio dorsal del órgano copulador (cilíndrico estratificado con células caliciformes), ya que es una extensión del epitelio del surco eyaculador, como puede verse en la Figura 6-A a 6-C. Por su parte, el epitelio ventral de este órgano (plano estratificado mucoso) reacciona positivamente a la coloración PAS y PAS-Azul de Alcian a pH 2,5, revelando la presencia de mucosustancias neutras (caso de la reacción PAS positiva) y sialomucinas (reacción PAS-Azul de Alcian pH 2,5 positiva), pero su reacción negativa a

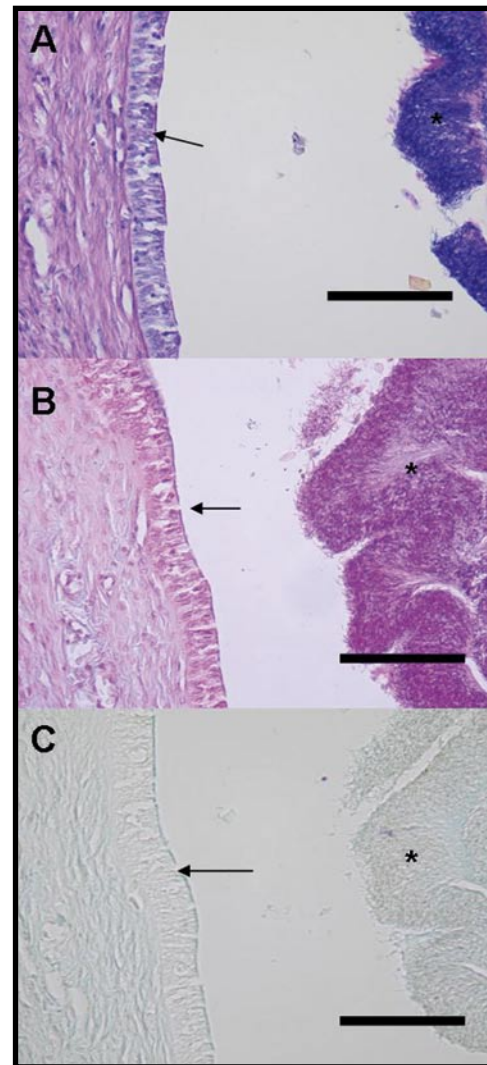


Figura 2. Conducto Eyaculador: **A.** Reacción PAS. Negativa a nivel citoplasmático y muy débil a nivel del borde apical (flecha). **B.** Reacción PAS-Azul de Alcian pH 2,5 negativa (flecha). **C.** Reacción PAS-Azul de Alcian pH 1,0 negativa (flecha). Asterisco: Masa de espermatozoides. Todas las escalas insertas en estas microfotografías equivalen a 50 μ m.

la coloración PAS-Azul de Alcian a pH 1,0 sugiere que este epitelio no posee sulfomucinas (Figura 7). Un resumen de los hallazgos histoquímicos puede observarse en la Tabla 1.

DISCUSIÓN

Las glicoproteínas y otras sustancias mucoides constituyen una porción extensa de las secreciones epididimarias (Frohlich y Young, 1996), las cuales asumen funciones importantes en la inhibición de la proteólisis espermática, en la formación de agregados celulares mediante la inclusión en la membrana

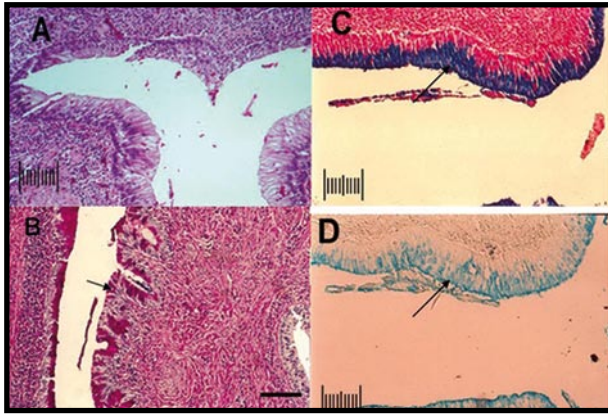


Figura 3. Fondo y borde del Surco Eyaculador: **A.** Coloración Hematoxilina-Eosina. **B.** Reacción PAS. positiva en una glándula intraepitelial unicelular (flecha). **C.** Reacción PAS-Azul de Alcian pH 2,5 positiva (flecha). **D.** Reacción PAS-Azul de Alcian pH 1,0 positiva (flecha). Todas las escalas insertas en estas microfotografías equivalen a 100 μm .

celular de los espermatozoides, en la producción de glicoproteínas secretadas por el epidídimo (Lagow *et al.*, 1999), en la eliminación de espermatozoides no viables (NagDas *et al.*, 2000), maduración espermática (Gatti *et al.*, 2000) y protección contra infecciones (Rao *et al.*, 2003; Zanich *et al.*, 2003). Todas estas glicoproteínas, o sus análogos, deben estar presentes, entre otras sustancias, en la secreción epididimaria del *Caiman crocodilus crocodilus*, para garantizar la eficiencia reproductiva. Un indicio a favor de esta aseveración es la localización de las reacciones positivas a mucosustancias neutras en la cola del epidídimo, donde las actividades arriba señaladas, deben llevarse a cabo con mayor intensidad.

Tomando en cuenta la ausencia de glándulas anexas en esta especie (Cabrera y García, 2004), así como la ausencia de reacciones tintoriales en el conducto deferente, a pesar de contar con células de aspecto secretor (Cabrera *et al.*, 2007), debe considerarse la posibilidad de que el conducto deferente y el conducto eyaculador posean secreciones de carácter enzimático que actúen en la regulación de la modificación post-testicular de la superficie de la membrana espermática, una función que en los mamíferos cumplen las secreciones de las glándulas anexas (Konrad *et al.*, 1998).

Las propiedades protectoras de las mucinas neutras y las sulfomucinas a nivel del órgano copulador, tal como son descritas por Lynch *et al.* (1972) y por Lagow *et al.* (1999), podrían

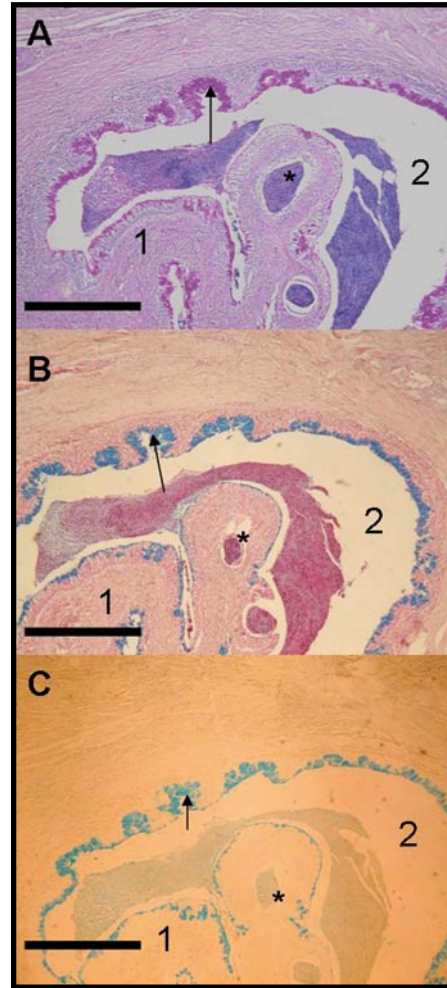


Figura 4. Colículo Seminal del Surco Eyaculador: **A.** Reacción PAS positiva (flecha). **B.** Reacción PAS-Azul de Alcian pH 2,5 positiva (flecha). **C.** Reacción PAS-Azul de Alcian pH 1,0 positiva (flecha). En todas las microfotografías: 1. Colículo Seminal; 2. Luz del saco ciego del surco eyaculador; Asterisco: Conducto Eyaculador. Todas las escalas insertas en estas microfotografías equivalen a 200 μm .

resultar de utilidad en estos segmentos de las vías espermáticas, proporcionando alguna forma de amortiguación del pH o, limitando de algún modo el crecimiento de microorganismos en estas zonas (Sakata y Engelhardt, 1981). Las sialomucinas y en menor grado, las sulfomucinas detectadas, resultan importantes por sus propiedades lubricantes que se relacionan con el pasaje del líquido seminal y con la fisiología de la cópula.

En la actualidad, los glicoconjugados del aparato genital de los animales domésticos se diagnostican por medio de reacciones con lectinas, ya que se busca la identificación de terminales N-glucídicos específicos; sin embargo, desde el punto de vista genético, las

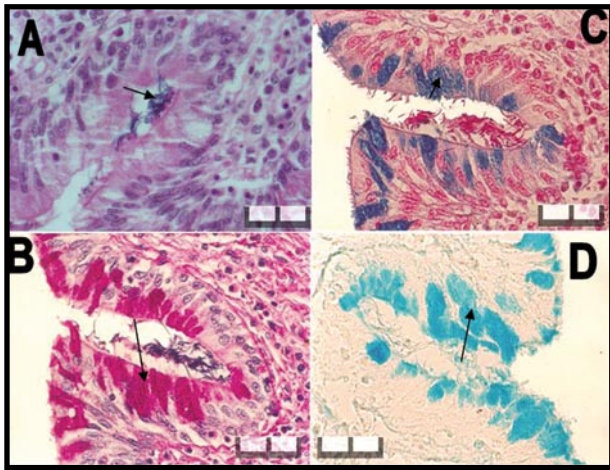


Figura 5. Glándulas Intraepiteliales del Surco Eyaculador: **A.** Coloración Hematoxilina-eosina. Flecha: Cúmulo de espermatozoides. **B.** Reacción PAS positiva (flecha). **C.** Reacción PAS-Azul de Alcian pH 2,5 positiva (flecha). **D.** Reacción PAS-Azul de Alcian pH 1,0 positiva (flecha). Los cortes son seriados y corresponden a la misma glándula. Las escalas insertas equivalen a 20 µm.

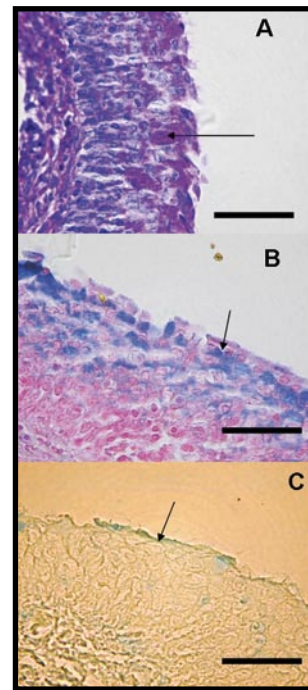


Figura 6. Epitelio Dorsal del Cuerpo del Pene: **A.** Reacción PAS positiva (Flecha) **B.** Reacción PAS-Azul de Alcian pH 2,5 positiva (Flecha). **C.** Reacción PAS-Azul de Alcian pH 1,0 negativa (Flecha). Las escalas insertas en cada micrografía equivale a 50 µm.

glicoproteínas epididimarias se clasifican según la estructura de su núcleo protéico en moléculas MUC 1 al 9, entre otras (Lagow *et al.*, 1999), y la caracterización de los núcleos proteicos de estos glicoconjugados no entra dentro de los métodos de la Histoquímica si no de la Biología Molecular. La comparación detallada entre otras especies y *Caiman crocodilus crocodilus* no es posible con la metodología usada en este trabajo porque en los estudios actuales en animales domésticos y en el hombre, la clasificación de Spencer, basada en la coloración PAS, está siendo reemplazada por métodos más precisos. Por otro lado, el *Caiman crocodilus crocodilus* no posee glándulas anexas en el aparato reproductor masculino (Cabrera y García, 2004), así que no pueden esperarse analogías regionales en las secreciones que se liberan en las vías espermáticas. Por tal motivo, llegar a caracterizar las mucinas del aparato reproductor masculino de la baba a un nivel equivalente al del conocimiento actual en los mamíferos y el hombre, requiere cumplir las mismas etapas ya cumplidas en estas últimas especies.

Finalmente, debemos considerar en futuros estudios el papel que pueda jugar el aparato urinario en la producción de fluido seminal en esta especie, función que ha sido demostrada con amplitud en lagartos, tortugas y serpientes (Peek y McMillan, 1979; O'Shea *et al.*, 1993), pero no en crocodilianos.

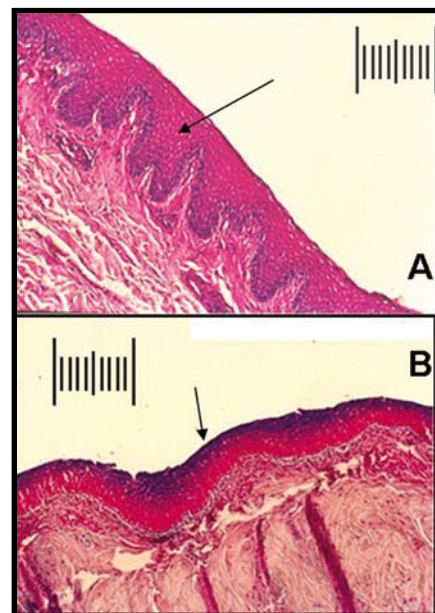


Figura 7. Epitelio Ventral del Cuerpo del Pene: **A.** Reacción PAS positiva (Flecha). **B.** Reacción PAS-Azul de Alcian pH 2,5 positiva (Flecha). La escala inserta en ambas micrografías equivale a 100 µm.

Tabla 1. Resumen de Hallazgos Histoquímicos

Prueba realizada	PAS-D	PAS	AB (pH 2,5)	AB (pH 1,0)
Sustancia detectable:	Glucógeno	Mucinas neutras	Sialomucinas	Sulfomucinas
Estructuras estudiadas:				
Epidídimo caudal	-	+	-	-
Conducto eyaculador	-	-	-	-
Colículo seminal	-	+	+	+
Surco eyaculador	-	+	+	+
Superficie dorsal del pene	-	+	+	-
Superficie ventral del pene	-	+	+	-

Leyenda: 1) PAS-D: PAS. Digerido (Diastasa); 2) PAS: Reacción del Ácido Periódico de Schiff; 3) AB: Reacción PAS-Azul de Alcian.

CONCLUSIONES

Se localizaron secreciones mucosas neutras en los segmentos distales del epidídimo, en el epitelio de revestimiento del surco eyaculador y en la superficie externa del cuerpo del pene. Estas secreciones mucosas contienen mucopolisacáridos neutros, mucoproteínas y glicoproteínas, que se deberían integrar al líquido seminal con el fin de garantizar la maduración espermática, un cierto nivel de protección contra el pH ácido del medio cloacal y, posiblemente, contra el crecimiento de microorganismos.

Tanto el epitelio de revestimiento del surco eyaculador como la superficie externa del cuerpo peneano poseen secreciones mucosas ácidas, relacionadas con funciones lubricantes. La secreción mucosa ácida del surco eyaculador está compuesta de sialomucinas y sulfomucinas, mientras que la secreción de la superficie externa del cuerpo peneano evidencia únicamente sialomucinas. La presencia de sialomucinas en la mucosa externa del órgano copulador constituye un aspecto importante de la fisiología de la cópula. La presencia de estas mucosustancias lubricantes a nivel del surco eyaculador indicaría que el semen posee una gran densidad y que puede presentar una consistencia densa en fresco, al menos en la época del año en que se realizaron las capturas.

En el futuro, se hace necesario ahondar en la identificación, por medio de técnicas inmunológicas, de las glicoproteínas involucradas en

la maduración espermática, así como realizar estudios inmunohistoquímicos y ultraestructurales en las vías espermáticas y sistema urinario, con el fin de esclarecer el papel de cada segmento en la producción del fluido seminal de *Caiman crocodilus crocodilus*.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro más sincera gratitud al personal del Laboratorio de Histoquímica de la FCV-UCV (Histotecnólogo Estefanía Flores) por su colaboración y buen hacer en la realización de esta investigación.

REFERENCIAS

- Britton, A. 2000. Crocodilian species- *Caiman crocodilus* (Spectacled Caiman): <http://www.flmnh.ufl.edu/natsci/herpetology/brittoncros/csp-ccro.htm>. Hosted by the Crocodilian Specialist Group. Copyright© 1995- 2006 by Florida Museum of Natural History, University of Florida. Consultado el 15-08-2000.
- Burkett, B. N.; Schulte, B. A.; Spicer, S. S. 1987a. Histochemical Evaluation of Glycoconjugates in the male reproductive tract with lectin-horseradish Peroxidase Conjugates: I. Staining of Principals cells and Spermatozoa in the mouse. *Am. J. Anat.*, 178:11-22.
- Burkett, B. N.; Schulte, B. A.; Spicer, S. S. 1987b. Histochemical evaluation of glycoconjugates in the male reproductive tract with lectin-horseradish peroxidase conjugates: II. Staining of ciliated cells, basal cells, flask cells and clear cells in the mouse. *Am. J. Anat.*, 178:23-29.

- Cabrera, A. F. J.; García C., G. C. 2004. Características anatómicas del aparato genital masculino del *Caiman crocodilus crocodilus*. *Rev. Fac. Cs. Vets. UCV*. 45:55-63.
- Cabrera, A. F. J.; García C., G. C.; González-Vera, M. A.; Rossini, M. 2007. Características histológicas del aparato genital masculino de la baba (*Caiman crocodilus crocodilus*). *Rev. Cien. FCV-LUZ/ XVII*:123-130.
- Carl Zeiss, Inc. ® West Germany. 1975. Manual del fotomicroscopio III para luz transmitida; Aumento del Microscopio y Escala de Reproducción; pag 24. Carl Zeiss D-7082 Oberkochen. 38 p.
- Corfield, A. P.; Carrol, D.; Myerscough, N.; Probert, C. S. 2001. Mucins in the gastrointestinal tract in health and disease. *Front. Biosci.*, 6:1321-1357.
- Frohlich, O.; Young, L. G. 1996. Molecular cloning and characterization of EPI-1, the major protein in chimpanzee (*Pan troglodytes*) cauda epididymis fluid. *Biol. Reprod.*, 54:857-864.
- Gatti, J. L.; Druat, X.; Syntin, P.; Gúerin, Y.; Dacheux, J. L.; Dacheux, F. 2000. Biochemical characterization of two ram cauda epididymal maturation-dependent sperm glycoproteins. *Biol. Reprod.*, 62:950-958.
- Geneser, F. 2001. Capítulo 3: Citoplasma. En: Histología sobre bases moleculares. 3ª Ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 815 p.
- Konrad, L.; Schiemann, P.; Renneberg, H.; Wennemuth, G.; Fini, C.; Aumüller, G. 1998. Expression and enzymatic activity of ecto 5'-nucleotidase in the human genital tract. *Biol. Reprod.*, 59:190-196.
- Lagow, E.; Desousa, M. M.; Carson, D. D. 1999. Mammalian reproductive tract mucins. *Human Reprod. Update*. 5:280-292.
- Lynch, M. J.; Raphael, S. S.; Mellor, L. D.; Spare, P. D.; Inwood, J. H. 1972. Capítulo 38: Tinción de los cortes. En: Métodos de Laboratorio. 2ª Ed. Nueva Editorial Interamericana, México. 1470 p.
- Martoja, R.; Martoja P.M. 1970. Técnicas de Histología Animal. Toray-Masson S. A., Barcelona. 350 p.
- NagDas, S.K.; Winfrey, V.P.; Olson, G.E. 2000. Identification of a hamster epididymal region-specific secretory glycoprotein that binds non-viable spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 63:1428-1436.
- O'Shea, J. E.; Bradshaw, S. D.; Stewart, T. 1993. Renal vasculature and excretory system of the agamid Lizard *Ctenophorus ornatus*. *J. Morph.*, 217:287-299.
- Peek, W. D.; Mcmillan, D.B. 1979. Ultrastructure of the tubular nephron of the Garter Snake *Thamnophis sirtalis*. *Am. J. Anat.*, 154:103-111.
- Prophet, E. B., Mills, B.; Arrington, J. B.; Sobin, L. H., (Ed.) 1995. Manual de métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América. Traducción de la 5ª Edición inglesa. Washington. 400 p.
- Rao, J.; Herr, J. C.; Reddi, P.; Wolkowicz, M. J.; Bush, L. A.; Sherman, N. E.; Black, M.; Flickinger, C. J. 2003. Cloning and characterization of a novel sperm-associated isoantigen (E-3) with defensin and lectin-like motif expressed in rat epididymis. *Biol. Reprod.*, 68:290-301.
- Rose, M. C.; Voynow, J. A. 2006. Respiratory tract mucins genes and mucin glycoproteins in health and disease. *Physiol. Rev.*, 86:245-78.
- Sakata, T.; Engelhardt, W. W. 1981. Luminar mucin in the large intestine of mice, rats and guinea pigs. *Cell. Tiss. Res.*, 219:629-635.
- Zanich, A.; Pascall, J. C.; Jones, R. 2003. Secreted epididymal glycoprotein 2D6 that binds to the sperm's plasma membrane is a member of the B-defensin superfamily of pore-forming glycopeptides. *Biol. Reprod.*, 69:1831-1842.