

ESTUDO ESTEREOOLÓGICO DOS DUCTOS GRANULOSOS E ESTRIADOS DE GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES DE RATOS MACHOS E FÊMEAS.

**STERELOGIC STUDY OF THE CONVOLUTED GRANULAR
TUBULES AND STRIATED DUCTS OF MALE AND FEMALE RAT
SUBMANDIBULAR GLANDS**

Rumio TAGA*

Ana Stela ACHÔA**

Luiz Carlos PARDINI***

Avaliou-se através de métodos estereológicos, as várias dimensões dos ductos granulosos e dos ductos estriados de glândulas submandibulares de ratos, de ambos os sexos. Em média, os ductos granulosos representam uma estrutura cilíndrica de 6.096,2 cm de comprimento e 37,7 μm de diâmetro, com um volume compartmental de 68,4 mm^3 e uma superfície externa total de 67,7 cm^2 , e constituída por $595,2 \times 10^5$ células com volume celular de 994,5 μm^3 ; enquanto que, os ductos estriados representam um túbulo de 1.322,9 cm de comprimento e diâmetro de 32,0 μm , tendo um volume total de 10,9 mm^3 e uma superfície externa total de 11,8 cm^2 , e formado por $185,2 \times 10^5$ células com volume celular de 652,6 μm^3 . A análise estatística não mostrou diferenças entre sexos, para nenhuma das dimensões quantificadas.

UNITERMOS: Ducto granuloso; Ducto estriado; Glândula submandibular; Morfometria.

* Professor Associado, Laboratório de Histologia, Departamento Morfologia, Faculdade de Odontologia de Bauru - USP. Pesquisador do CNPq.

** Bolsista do CNPq - Proc. nº 135290/85 IC

*** Professor Dr. do Departamento de Estomatologia, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP.

INTRODUÇÃO

Uma característica morfológica marcante das glândulas submandibulares de roedores, é a presença entre os ductos intercalar e estriado de um segmento altamente desenvolvido e convoluto, designado de ducto granuloso ou túbulo granular convoluto^{3,7,8,10,11,12,22,23}.

Esses túbulos foram extensivamente pesquisados, principalmente depois da descoberta em seus grânulos de secreção, por Levi Montalcini e Cohen em 1960¹⁴, do fator de crescimento nervoso. Hoje já se conhece inúmeros outros fatores biologicamente ativos produzidos e secretados pelas células desses túbulos. Por outro lado, os túbulos convolutos são responsáveis pela existência de um evidente dimorfismo sexual nas glândulas submandibulares do camundongo^{3,9,10,11,23,24}. No rato no entanto, essas enormes diferenças não foram observadas^{8,11,12,13}.

Desse modo, o objetivo desta pesquisa foi de determinar as dimensões morfométricas dos ductos granulosos e ductos estriados das glândulas submandibulares de ratos machos e fêmeas.

A análise desses dados numéricos permitirá verificar também se existe nas glândulas submandibulares do rato alguma diferença morfológica ligada ao sexo.

MATERIAIS E MÉTODOS

ANIMAIS

Utilizamos um total de 20 ratos albinos (linhagem *Wistar*), 10 machos e 10 fêmeas, provenientes do Biotério Central da Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo. Todos os animais eram adultos de aproximadamente 140 a 160 dias de idade e foram escolhidos por sorteio de um lote de 50 animais, mantidos com ração balanceada + leite em pó e água à vontade.

Dos animais escolhidos, 10 (5 machos e 5 fêmeas) foram utilizados nas avaliações estereológicas, enquanto que, com os demais, determinamos a densidade (d) da glândula submandibular.

PROCEDIMENTO HISTOLÓGICO PARA A ANÁLISE ESTEREOLOGICA

Após avaliação da massa corporal, o animal foi anestesiado por inalação de éter etílico, as suas glândulas submandibulares foram rapidamente

retiradas e as suas massas determinadas em uma balança de precisão Mettler H-20. A seguir, essas glândulas sofreram o seguinte processamento:

- a) fixação em fluido de Helly por 3 horas;
- b) lavagem em água corrente por uma noite;
- c) 30 minutos em etanol 70%;
- d) 30 minutos em etanol 80%;
- e) 30 minutos em etanol 95%;
- f) 2 banhos de 30 minutos cada em etanol 100%;
- g) 2 banhos em xilol até a completa diafanização;
- h) 2 banhos em parafina fundida à 58° C de 30 minutos cada;
- i) inclusão em parafina nova.

Cortes semi-seriados de 6 µm com espaçamento de 50µm foram obtidos e corados pelo método do tricrômico de Masson, modificado por Goldner¹⁷.

AVALIAÇÃO DA DENSIDADE (d) E DO VOLUME PROCESSADO DA GLÂNDULA SUBMANDIBULAR

Para o cálculo de dados estereológicos de natureza absoluta como por exemplo, o volume total, número total de células, comprimento total, etc, é necessário que conheçamos o volume processado (Vp) das glândulas. Desde que tenhamos a massa fresca (m) da glândula, a sua densidade (d) e o fator para corrigir a retração (RF) provocada pelo processamento histológico, este volume (Vp) pode ser facilmente calculado pela relação: $Vp = m/d \cdot RF$

A densidade (d) da glândula submandibular foi obtida através do método de Scherle²⁶, segundo indicações de Pardini e Taga²⁰. Realizamos as medições em 20 glândulas provenientes de 5 animais machos e 5 fêmeas. A densidade (d) média foi de 1,089 g/cm³ para a glândula dos ratos machos e de 1,077 g/cm³ para as fêmeas. Como fator de retração (RF) utilizamos os valores obtidos por Pardini¹⁸ em glândulas submandibulares de camundongos machos e fêmeas, que foram respectivamente de 0,8556 e 0,8643.

AVALIAÇÃO ESTEREOLOGICA DA DENSIDADE DE VOLUME (Vvi), VOLUME TOTAL (Vti), DENSIDADE DE SUPERFÍCIE (Svi), SUPERFÍCIE TOTAL (Sti) E RELAÇÃO SUPERFÍCIE-VOLUME (s/vi).

Para a avaliação dos parâmetros estereológicos citados, utilizamos objetiva de imersão 100x e ocular Zeiss Kpl 8x contendo um graticule de integração II Zeiss, constituído de 10 linhas paralelas e 100 pontos simetricamente distribuídos em uma área quadrangular.

Em 50 campos histológicos por animal, escolhidos por casualização sistemática (Weibel³¹), contamos o número de pontos sobre núcleo (Pni), citoplasma (Pciti) e lume (Pli) das estruturas (i) em estudo e o número total de pontos sobre a glândula (Pt), assim como, o número de intersecções (Ii) entre as bordas das imagens das estruturas e as linhas paralelas do sistema-teste (com comprimento total, L = comprimento de 10 linhas x 50). De posse desses dados calculamos, segundo indicações de Weibel³² e Aherne & Dunnill¹, a densidade de volume, Vvi = Pni + Pciti + Pli/Pt; o volume total, Vti = Vvi . Vp; a densidade de superfície, Svi = 2Ii/L; a superfície externa total; Sti = Svi . Vp; e a relação superfície-volume, s/vi = Vvi/Svi.

O "erro" ou coeficiente de variação da proporção, presente nas avaliações de Vvi, foi estimada pela relação: e = $\sqrt{1 - Ppi/Pt} \cdot Ppi$ (Schaeffer²⁵), onde: e = "erro"; Ppi = Vvi; e Pt = número total de pontos sobre

AVALIAÇÃO DO DIÂMETRO (Di) E DO COMPRIMENTO TOTAL (Cti) DAS ESTRUTURAS

a glândula.

Os diâmetros médios dos túbulos convolutos e dos ductos estriados foram obtidos através da medição de 25 transecções transversais de cada tipo de estrutura por animal. Essas medidas foram realizadas com objetiva 40x e ocular micrométrica Olympus 10x, tipo Ramsden. De posse do raio médio ($r_i = Di/2$) e do volume total da estrutura (Vti), calculamos o seu comprimento total (Cti) pela relação: Cti = Vti / $\pi \cdot r^2$

AVALIAÇÃO DO VOLUME NUCLEAR (Vni) E CITOPLASMÁTICO (Vciti)

(Pardini, Achôa e Taga¹⁹).

Para a obtenção do volume nuclear realizamos com a ocular micrométrica Olympus 10x, tipo Ramsden e objetiva de imersão 100x, a medida dos diâmetros

ortogonais de 20 núcleos de cada categoria por animal. O volume nuclear médio foi calculado pela fórmula do volume da esfera: $V = 4/3 \pi r^3$.

No sentido de obtermos o volume citoplasmático (Vciti), determinamos inicialmente a densidade de volume celular dos núcleos (pni) nas células de cada estrutura (i), pela relação: $pni = Pni/Pni + Pcti$. Este valor da densidade de volume nuclear está superestimado devido ao efeito Holmes³². Para a correção desta superestimativa calculamos o fator K_o pela relação: $K_o = 1 + 3t/2Dni$ (Weibel³¹). onde t = espessura do corte e Dni = diâmetro nuclear médio. A densidade de volume corrigida dos núcleos (pni corr.) será: $pni \text{ corr} = ni/k_o$. Por outro lado, a densidade de volume corrigida do citoplasma foi calculada subtraindo de 1 o valor de $\rho_{\text{citicorr.}} = 1 - \rho_{\text{ni corr.}}$. De

AVALIAÇÃO DO NÚMERO ABSOLUTO DE CELULAS EM CADA ESTRUTURA

De posse desses dados, calculamos o Vciti das células de cada estrutura pela relação: $Vciti = Vni \times \rho_{\text{citicorr.}} / ni_{\text{corr.}}$

O número absoluto de células (Ni) foi obtido pela relação: $Ni = Vvni_{\text{corr.}} \times Vp / Vni$, onde $Vvni_{\text{corr.}}$ = densidade de volume corrigida dos núcleos na

ANÁLISE ESTATÍSTICA

glândula, Vp = volume glandular processado e Vni = volume nuclear. A densidade de volume corrigida dos núcleos na glândula foi obtida pelo seguinte cálculo: $Vvni_{\text{corr.}} = (Pni/Pt)/k_o$

Os dados obtidos nos animais machos foram confrontados com os das fêmeas através da análise de variância¹⁵, a um nível de probabilidade de erro máximo de 5%.

RESULTADOS

Os dados ponderais dos ratos machos e fêmeas utilizados nessa pesquisa, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Média e erro padrão da média da massa corporal e da massa glandular absoluta e relativa dos ratos adultos machos e fêmeas utilizados nas avaliações morfométricas.

Animais/ parâmetro	Rato macho (A)	Rato fêmea (B)	A X B**
Massa corporal	$343,9 \pm 1,01$	$199,9 \pm 0,94$	$P < 0,01$

Massa glandular absoluta	437,3 ± 0,01	347,7 ± 0,003	P < 0,01
Massa glandular relativa	0,13 ± 0,002	0,17 ± 0,002	P < 0,01

Os resultados da análise de variância mostrou que a massa corporal e glandular à fresco dos ratos machos são maiores do que as das fêmeas ($P < 0,01$). A massa

glandular relativa (massa glandular . 100/massa corporal) é estatisticamente maior nas fêmeas ($P < 0,01$).

Na Tabela 2 estão apresentados os dados morfométricos obtidos para o ducto granuloso e ducto estriado de glândulas submandibulares de ratos machos e fêmeas.

Pela análise dos dados apresentados na Tabela 2, verificamos que não houve diferença estatisticamente

TABELA II - Parâmetros morfométricos de ductos granulosos e estriados de glândulas submandibulares de ratos machos e fêmeas.

Estrutura Glandular	Parâmetro Morfométrico	Unidade	ANIMAIS		Nível de Probabilidade*
			Macho	Fêmea	
GRANULOSO	densidade volume	%	22,0 Ω1± 3,00	22,0 Ω1± 3,00	P > 0,05
	volume total	mm ³	76,1 Ω1± 10,08	60,8 Ω1± 7,35	P > 0,05
	densidade superfície	cm ² /cm ³	212,3 Ω1± 11,62	222,0 Ω1± 26,33	P > 0,05
	superfície total	cm ²	73,3 Ω1± 4,90	62,2 ± 7,48	P > 0,05
	relação sup./volume	cm ² /cm ³	998,1 Ω1± 71,35	1020,0 ± 11,20	P > 0,05
	DUCTO	diâmetro	Ω1μm	38,76 Ω1± 0,595	36,60 ± 1,177
	comprimento total	cm	6484,61 Ω1± 915,63	5707,8 Ω1± 536,48	P > 0,05
	diâmetro nuclear	Ω1μm	5,20 Ω1± 0,144	5,39 Ω1± 0,039	P > 0,05
	volume nuclear	Ω1μm	74,47 Ω1± 5,913	81,95 Ω1± 1,915	P > 0,05
	volume citoplasmático	Ω1μm ³	998,3 Ω1± 79,38	834,2 Ω1± 109,91	P > 0,05
ESTRIADO	número de céls.	gland (x10 ⁵)	645,6 Ω1± 92,29	544,9Ω1 ± 83,61	P > 0,05
	densidade volume	%	3,0 Ω1± 0,60	4,0 Ω1± 0,70	P > 0,05
	volume total	mm ³	9,6 Ω1± 1,86	12,3 Ω1± 2,07	P > 0,05
	densidade superfície	cm ² /cm ³	28,8 Ω1± 3,20	49,6 Ω1± 11,93	P > 0,05
	superfície total	cm ²	9,9 Ω1± 0,95	13,8 Ω1± 3,30	P > 0,05
	DUCTO	relação sup./volume	cm ² /cm ³	1121,3 Ω1± 159,01	1098,9 Ω1± 82,70
	diâmetro	Ω1μm	32,56 Ω1± 0,571	31,45 Ω1± 0,746	P > 0,05
	comprimento total	W1cm	1145,1 ± 221,07	1500,8 Ω1± 256,36	P > 0,05
	diâmetro nuclear	Ω1μm	5,30 Ω1± 0,208	5,36 Ω1± 0,073	P > 0,05
	volume nuclear	Ω1μm ³	79,32 Ω1± 8,159	80,81 Ω1± 3,276	P > 0,05
	volume citoplasmático	Ω1μm ³	559,7 Ω1± 58,62	585,3 Ω1± 48,14	P > 0,05
	número de céls.	gland (x10 ⁵)	186,2 Ω1± 37,98	184,2 Ω1± 24,18	P > 0,05

* Obtidos pela análise de variância

significante entre sexos, para nenhum dos parâmetros quantificados, tanto para o ducto granuloso como para o ducto estriado.

DISCUSSÃO

O conhecimento das dimensões do sistema de ductos intralobulares de glândulas salivares de mamíferos, tem grande interesse não só para a área da morfologia, como também para a fisiologia, uma vez que nesses ductos ocorrem sensíveis modificações qualitativas e quantitativas na composição da saliva^{2,16,21,22}.

Foi nesse sentido, que na presente pesquisa avaliamos através de métodos estereológicos, as dimensões dos ductos granulosos e ductos estriados de glândulas submandibulares de ratos machos e fêmeas.

Convém salientar, que os ductos granulosos são estruturas extremamente desenvolvidas presentes somente em glândulas submandibulares de roedores, inexistindo nos demais mamíferos^{3,12,22}.

Enquanto no camundongo essas estruturas exibem diâmetro, densidade de volume, tamanho, relação túbulo/ácino (T/A) e quantidade de grânulos de secreção marcadamente maiores nos machos do que nas fêmeas^{5,9,10,23,30}, no rato a existência ou não de diferenças morfológicas ligadas ao sexo é assunto desde a muito tempo, para ser esclarecido. Assim, enquanto uns pesquisadores^{11,27}, não conseguiram verificar nenhuma diferença, outros^{6,8} observaram diferenças pelo menos de diâmetro médio.

A massa glandular absoluta foi maior nos machos do que fêmeas, no entanto, a massa glandular relativa exibe valor maior nas fêmeas, isto mostra que no rato, nesse caso, não ocorre proporcionalidade entre o tamanho das glândulas e a massa corporal.

A análise estereológica desenvolvida nessa pesquisa mostrou que os túbulos convolutos e ductos estriados de glândulas submandibulares de ratos machos exibem densidade de volume, volume total, densidade de superfície, superfície externa total, relação superfície-volume, diâmetro médio, comprimento total, volumes nuclear e citoplasmático e número absoluto de células semelhantes aos das fêmeas. Não se verificou diferenças estatísticas ao nível de 5% para nenhuma das dimensões quantificadas.

Desse modo, os resultados dessa pesquisa, vem confirmar inequivocamente a inexistência de dimorfismo sexual nas glândulas submandibulares do rato.

Apesar dos túbulos convolutos e ductos estriados exibirem características morfológicas e funcionais distintas, ambos estão intimamente relacionados, não só devido à continuidade compartimental, como também a origem ontogenética dos primeiros à partir dos segundos^{7,8,28,29}. Assim, fica clara a importância de salientarmos aqui algumas das dimensões e relações numéricas entre as duas estruturas.

Os túbulos convolutos representam em média uma estrutura cilíndrica de 6.096,2 cm de comprimento e diâmetro médio de 37,7 µm, com um volume total de 68,4 mm³ e formados por $595,2 \times 10^5$ células com um volume médio de 994,5 µm³, enquanto que os ductos estriados representam um cilindro de 1.322,9 cm de comprimento e um diâmetro de 32,0 µm com volume

total de 10,9 mm³ e constituídos por $185,2 \times 10^5$ células, com um volume médio de 652,6 µm³.

Portanto, as dimensões de comprimento total, volume total, número absoluto de células e volume celular médio dos ductos granulosos foram, respectivamente, 360%, 527%, 221% e 52% maiores, do que aquelas obtidas para os ductos estriados.

The various dimensions of the convoluted granular tubules and striated ducts of submandibular glands of male and female rats were evaluated by stereological methods. The results showed on the average that the convoluted granular tubules represent a cylindrical structure with: length of 6096.2 cm, diameter of 37.7 µm, compartmental volume of 68.4 mm³, total external surface of 67.7 cm², and constituted by 595.2×10^5 cells with cellular volume of 994.5 µm³;

while that, the striated ducts represent a tubule with: length of 1322.9 cm, diameter of 32.0 µm, total volume of 10.9 mm³, total external surface of 11.8 cm², and formed by 185.2×10^5 cells with cellular volume of 652.6 µm³. The statistical analysis did not show differences between sexes, for none of the quantified dimensions.

UNITERMS: Convolute granular tubule; Striated duct; Submandibular gland; Morphometry

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida a Ana Stela Achôa, ao Sr. Giovanni Quagliato pelos serviços técnicos de histologia e a Sra. Beonildes Teresinha Ruiz Correia pelos serviços de digitação do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHERNE, W.; DLUNNILL, M.S. *Morphometry*. London, Edward Arnold, 1982.

- 2.BURGEN, A. S. The secretion of potassium in saliva. **J. Physiol.** v. 132, p. 20-39, 1956.
- 3.CHRÉTIEN, M. Action of testosterone on differentiation and secretory activity of a target organ: the submaxillary gland of the mouse. **Int. Rev. Cytol.** v.50, p. 333-96, 1977.
- 4.CUTLER, L. S.; CHAUDHRY, A. P. Cytdifferentiation of striated duct cells and secretory cells of the convoluted granular tubules of the submandibular gland. **Am. J. Anat.**, v. 143, n.2, p. 201-18, Jun. 1975.
- 5.DISHER, L. Histogenesis of the mouse submandibular salivary gland. **Anat. Rec.**, v. 157, p. 235, Ap. 1967 (Abstract).
- 6.GRAD, B.; LEBLOND, C. P. The necessity of testis and thyroid hormones for the maintenance of the serous tubules of the submaxillary gland in the rat. **Endocrinology**, v. 45, p. 250-66, Oct. 1949.
- 7.GRESIK, E. W. ; Mac Rae, F. W. The postnatal development of the sexually dimorphic duct system and of amylase activity in the submandibular glands of mice. **Cell Tissue Res.**, v. 157, p. 411-22, 1975.
- 8.JACOB, F.; LEESON, C. R. The post-natal development of the rat submaxillary gland. **J. Anat.**, v. 93, p. 201-16, 1959.
- 9.JAYASINGHE, N. R.; COPE, G. H.; JACOB, S. Morphometric studies on the development and sexual dimorphism of the submandibular gland of the mouse. **J. Anat.**, v. 172, p. 115-28, Oct. 1990.
- 10.LACASSAGNE, A. Dimorphisme sexual de la glande sous-maxillaire chez la souris. **C. R. Soc. Biol. Fil.**, v. 133, p. 180-1, 1940 .
- 11.LACASSAGNE, A. Réactions de la glande sous-maxillaire à l'hormone male, chez la souris et le rat. **C. R. Soc. Biol. Fil.**, v. 133, p. 539-40, 1940 .
- 12.LEESON, C. R. Structure of salivary glands: In: **HANDBOOK of Physiology**. Washington, **W0Amer. Physiol. Soc.**, 1967. v. 2. p. 463-95.
- 13.LEESON, C. R.; JACOB, F. An electron microscopic study of the rat submaxillary gland during its post-natal development and in the adult. **J. Anat.**, v. 93, p. 287-95, 1959.
- 14.LEVI-MONTALCINI, R.; COHEN, S. Effects of the extract of the mouse submaxillary salivary glands on the sympathetic system of mammals. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 85, p. 324-41, 1960.
- 15.LISON, L. **Statistique appliquée à la biologie expérimentale**. Paris, Gouthiers-Villars, 1958.
- 16.MANGOS, J. A.; MC SHERRY, N. B.; NOUSIA-ARVANITAKIS, D. Autonomic regulation of secretion and transductal fluxes of ions in the rat parotid. **Am. J. Physiol.**, v. 225 , n.3, p. 683-8, Sept.1973.
- 17.MARTOJA, R.; MARTOJA-PIERSON, M. **W0Técnicas de histologia animal**. Barcelona, Toray-Masson, 1970.
- 18.PARDINI, L. C. **W0Estudo morfométrico da glândula submandibular do camundongo**. Comparação entre sexos. 1985/Dissertação de Mestrado - Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo.
- 19.PARDINI, L. C. ; ACHÔA, A. S.; TAGA, R. Morphometric evaluation of the total length of the striated ducts in the rat submandibular glands. **Rev. bras. Ciênc. morfol.**, v. 10 , n.2, p. 93-7, July./Dec., 1993.
- 20.PARDINI, L. C.; TAGA, R. Evaluation on the density of the mouse submandibular gland by the method of Scherle. **Rev. Fac. Odont. Ribeirão Preto**, v. 23, p. 205-7, 1986.
- 21.PETERSON, O. H. Formation of saliva and potassium transport in the perfused cat submandibular gland. **J. Physiol.**, v. 216, p. 129-42, 1971.
- 22.PINKSTAFF, C. A. The cytology of salivary glands. **W0Int. Rev. Cytol.**, v. 63, p. 141-61, 1980.
- 23.RAYNAUD, J. Contrôle hormonal de la glande sous-maxillaire de la souris. **W0Bull. Biol. Fr. Belg.** v. 94, p. 399-523, 1960.
- 24.SAWADA, K.; NOUMURA, T. Effect of castration and sex steroids on sexually dimorphic development of the mouse submandibular gland. **Acta Anat.** ,v. 140, n. 2, p. 97-104, Feb., 1991.
- 25.SCHAEFER, A. The mathematical basis of stereology. **W0Microscopion (18 + 19)**, v. 7, p. 3-13, 1970.
- 26.SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. **Mikroskopie**, v. 26, p. 57-60, 1970.
- 27.SREEBNY, L. M. et al. Post-natal changes in proteolytic activity and in the morphology of the submaxillary gland in the male and female albino rats. **Growth**, v. 19, p. 57-74, 1955.
- 28.SRINIVASAN, R.; CHANG, W.W.L. The development of the granular convoluted duct in the rat submandibular gland. **Anat. Rec.**, v. 182, n.1, p. 29-40, May, 1975.
- 29.SRINIVASAN, R.; CHANG, W.W.L. The post-natal development of the submandibular gland of the mouse. **Cell. Tiss. Res.**, v. 198, p. 363-71, 1979.
- 30.TRAVILL, A. The effect of pregnancy on the submandibular glands of mice. **Anat. Rec.**, v. 155, n.2, p. 217-22, Jun., 1966.
- 31.WEIBEL, F.R. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. **Int. Rev. Cytol.**, v. 26, p. 235-302, 1969.

Endereço para correspondência:

Dr. Rumio Taga - Depto de Histologia

Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisola 9-75

C. P. 73 - CEP 17.043-101 BAURU SP