

**MIOCARDITE EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGOS ALBINOS POR VÍRUS
PIRY (BeAn 24232). Estudo anátomo-patológico em microscopia óptica e em
microscopia eletrônica com demonstração da partícula viral**

Ronaldo de ARAÚJO (1), Leônidas B. DIAS (2), Marialva T. F. ARAÚJO (3), Francisco
PINHEIRO (4) e Ermelinda R. C. MOUTINHO (5)

R E S U M O

A inoculação experimental de camundongos albinos recém-nascidos por via intracerebral com o vírus Piry determina o desenvolvimento de uma miocardite de tipo seroso que chega a induzir necrose de fibrocélulas. A modificação mais precoce é mitocondrial, estabelecendo-se focos de hiperplasia destas organelas nas fibras cardíacas que coincidem com o locus de aparecimento e reduplicação das partículas viróticas 39 horas após a inoculação. As partículas viróticas, encontradas pela primeira vez em fibras miocárdicas, são idênticas às já descritas no cérebro de camundongos, tendo o formato típico dos rabdovírus e medindo em média 150 a 160 nm, sempre acompanhados de partículas esferoidais ou circulares.

I N T R O D U Ç Ã O

O vírus Piry (BeAn 24232) foi isolado pela primeira vez no Instituto Evandro Chagas, Belém, Brasil, do fígado e do baço de um **Phyllomys opossum**. É considerado um rabdovírus e antigenicamente pertence ao grupo da estomatite vesicular juntamente com os vírus Cocal e Chandipura. Inquéritos epidemiológicos executados na Região Amazônica pelos técnicos do Instituto Evandro Chagas mostram alta prevalência de casos humanos em provas de neutralização em camundongos (PINHEIRO 22). Além disso o vírus tem-se mostrado altamente infectante para os técnicos que com ele trabalham: além de outros, dois dos que tomam parte na presente pesquisa, em épocas diferentes, apresentaram infecção virótica durante a manipulação dos animais infectados experimentalmente com o citado agente.

Assim o vírus Piry tem estabelecida sua patogenicidade para a espécie humana e, dada sua alta prevalência na Amazônia, torna-se necessário conhecê-lo melhor. O presente trabalho é um estudo da miocardite induzida experimentalmente em camundongos recém-nascidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram inoculados 18 camundongos albinos recém-nascidos, por via intracerebral, com 0,02 ml de uma suspensão de tecidos cerebral de camundongos previamente inoculados com o vírus Piry (BeAn 24232) do estoque do Instituto Evandro Chagas, Belém. Os animais foram sacrificados por decapitação 14, 24 e 39 horas após a inoculação, utilizando-se três

Trabalho realizado no Núcleo de Patologia Regional e Higiene da Universidade Federal do Pará e aprovado no Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Projeto SIP/02-006). Integrante de pesquisa conjunta com o Instituto Evandro Chagas (Belém) e o Instituto Bernhard-Nocht (Hamburgo)

- (1) Patologista Chefe da Seção de Microscopia Eletrônica do NPRH da UFPA. Coordenador Programa Virologia Tropical do Convênio CNPq-KFA
- (2) Patologista Chefe do Laboratório de Experimentação Animal do NPRH
- (3) Patologista Chefe do Laboratório de Microscopia Eletrônica do NPRH
- (4) Virologista Chefe da Seção de Virologia do Instituto Evandro Chagas
- (5) Patologista do NPRH

animais de cada vez. A seqüência foi encerrada com 39 horas porque a partir desta coleta os animais morreram espontaneamente.

Para a microscopia óptica os fragmentos de coração foram fixados em formol a 10%, incluídos em parafina e os cortes corados com hematoxilina e eosina, analisando-se um total de 9 animais.

Para a microscopia eletrônica fragmentos de tecido cardíaco de 1 mm foram fixados em aldeído glutárico a 2% em tampão cacodilato com pH 7,2. Após lavagem no tampão foram pós-fixados em tetraóxido de ósmio por 1 hora e, após desidratação com álcool, incluídos em Epon. Os cortes ultra-finos foram contrastados com hidróxido de chumbo e acetato de

uranila é examinados e fotografados em microscópio Siemens Elmiskop 101. Foram utilizados fragmentos de ventrículo de dois animais de cada coleta, desprezando-se todos os animais que tiveram morte espontânea; estudaram-se, portanto, 6 animais.

RESULTADOS

MICROSCOPIA ÓPTICA

Ao exame histológico chama a atenção a presença de uma miocardite serosa representada por áreas de desagregação dos feixes, por acentuado edema intersticial e por pequenas áreas de tumefação segmentar de fibras cardíacas associadas ou não aos focos edemato-

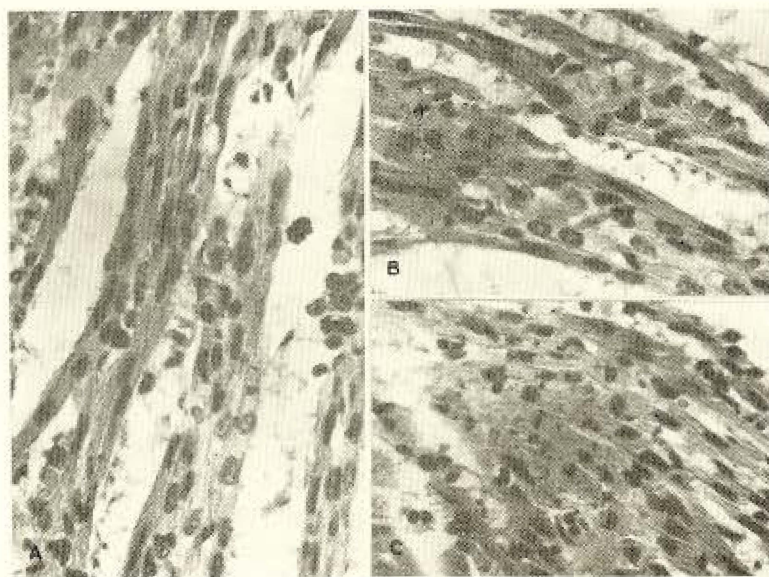


Fig. 1 — A) Dissociação das fibras miocárdicas por acentuado edema, algumas delas com áreas de tumefação segmentar do sarcoplasma. H. & E., 310 X. B e C) Áreas focais de fibras retratadas e com perda da estriação, além de evidentes sinais de sofrimento nuclear com cariorexis e cariopico-nose. H. & E., 310 X.

tos (Fig. 1). Nas áreas edematosas as fibras, além de dissociação de seus feixes, mostram, individualmente, sarcoplasma claro, finamente grumoso, particularmente em posição paranuclear; nestas fibrocélulas os núcleos apresentam-se ligeiramente vesiculosos, com rarefação cromatinica. Não há uma nitida identificação dos capilares cujos elementos endo-

teliais mostram-se desagregados e com alterações degenerativas. Raramente são encontradas células mononucleares acumuladas em pequenos focos nas áreas de injúria miocárdica.

Nas pequenas áreas de tumefação segmentar das fibras cardíacas há maior afinidade

pelos corantes ácidos, as fibrocélulas apresentam perda de estriação, citoplasma de aspecto fôcco e denso e núcleos retraídos, intensamente corados, de aparência cariopienótica.

MICROSCOPIA ELETRÔNICA

Tanto no material colhido 14 como 24 horas após a inoculação os achados são semelhantes, com discreta maior intensidade no segundo e são descritos conjuntamente.

As fibras cardíacas apresentam três grupos de lesões bem distintos entre si, por vezes concomitantes no mesmo corte em áreas diversas. O primeiro grupo lesional está representado basicamente por alterações exclusiva-

mente mitocondriais: tumefação, cristólise intensa e rarefação da matriz. Embora estas mitocôndrias alteradas possam ser encontradas em toda a extensão das fibrocélulas, a lesão é predominante nas de posição para-nuclear e ocasionam distorção do contorno nuclear que apresenta chanfraduras nas áreas correspondentes às mitocôndrias mais tumefeitas e vizinhas. Nestas células a estrutura nuclear é conservada e as miofibrilas estão intactas; raros e muito pequenos são os focos onde o sarcoplasma apresenta algumas pequenas vesículas de retículo endoplasmático dilatado. O segundo grupo lesional é constituído por fibrocélulas nas quais a modificação mais saliente é a acentuada palidez nuclear por grande diminuição dos grumos cromatínicos centrais

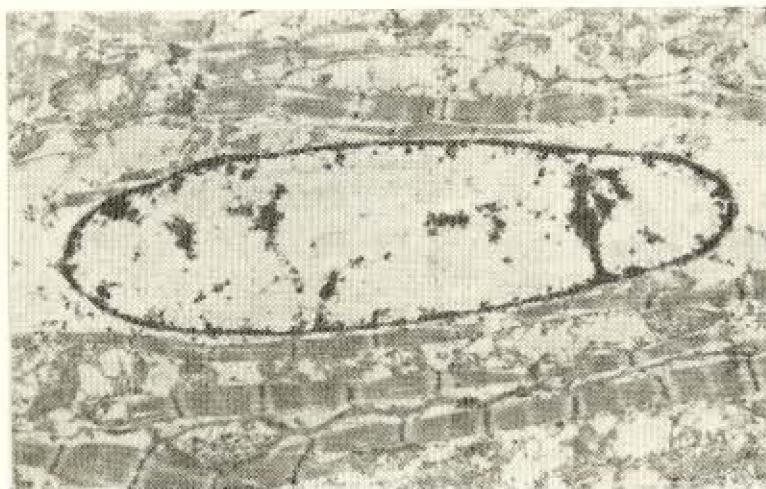


Fig. 2 — Fibrocélula cardíaca com acentuada diminuição dos grumos cromatínicos nucleares e sarcoplasma peri-nuclear ampliado e despojado de mitocôndrias. Aumento mic. eletr.: 4.000. Aumento final: 8.000.

periféricos (Fig. 2). É uma constante que em volta destes núcleos o sarcoplasma esteja ampliado e o número de mitocôndrias acentuadamente reduzido. O terceiro grupo lesional está basicamente representado por áreas focais de tumefação das fibrocélulas. Esta ampliação do diâmetro transversal das fibras é produzido por duas modificações distintas: a primeira é uma hiperplasia focal de mitocôndrias com modificações similares às do primeiro grupo lesional embora de menor intensidade (Fig. 3A,B) e situadas em sarcoplasma bastante claro; a segunda também é uma hiperplasia fo-

cal de mitocôndrias, porém com a peculiaridade de apresentar cristas conservadas e a matriz mais eletrondensa que o habitual e situadas em sarcoplasma denso com aumento dos ribosomas e dos grânulos glicogênicos e algumas pequenas vesículas (Fig. 3C).

As modificações intersticiais estão representadas por edema e numerosas vesículas ou "figuras de mielina". Os capilares mostram células endoteliais com grande aumento numérico das vesículas de pinocitose e por vezes com separação da superfície de contato con-

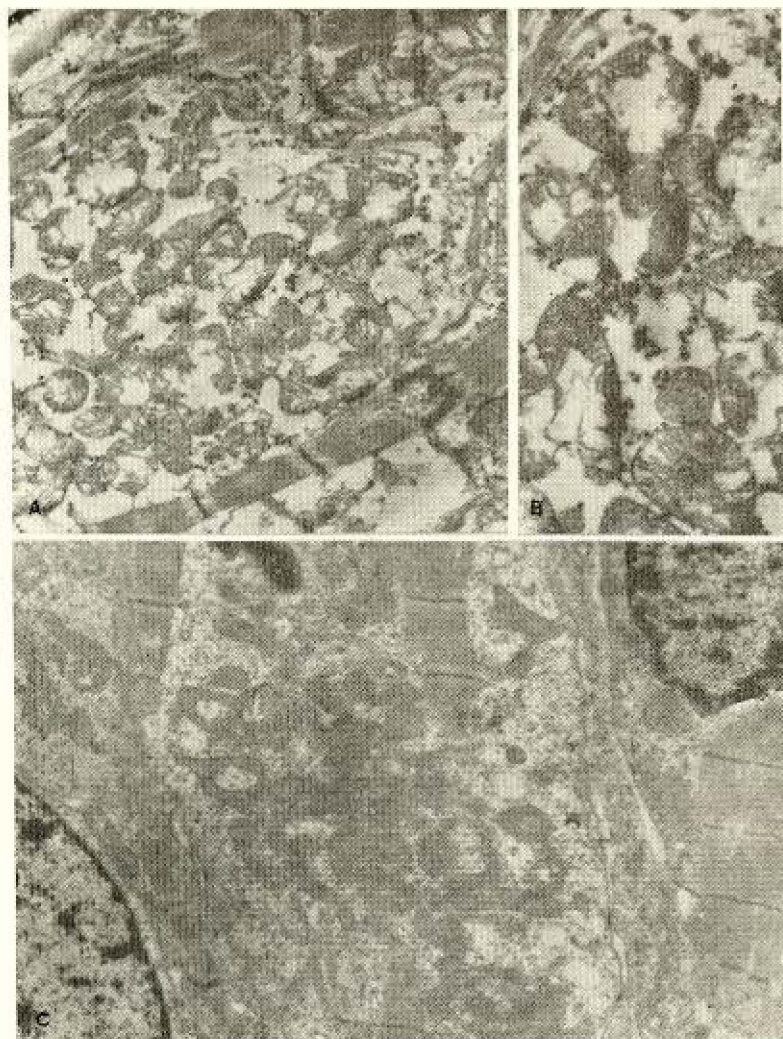


Fig. 3 — Zonas de hiperplasia mitocondrial. Em A com tumefação, cristólise e rarefação da matriz em zona de sarcoplasma claro com diminuição dos ribossomas e grânulos de glicogênio. Aumento mic. eletr.: 6.000. Aumento final: 12.000. Em B detalhe das alterações anteriores com aumento final de 24.000. Em C mitocôndrias com estrutura conservada e matriz com maior eletrondensidade em sarcoplasma denso, com aumento de ribossomas e glicogênio e ocasionais vesículas. Aumento de mic. eletr.: 4.000. Aumento final: 8.000.

as células vizinhas que mostram interrupção das zonas de maior eletrondensidade. Outras vezes as células endoteliais estão tumefeitas, com núcleos alargados e com aspecto pálido na porção central.

39 Horas após a inoculação as modificações já descritas estão presentes e, de regra,

ampliadas e acrescidas de novos achados. As fibras musculares mostram as modificações mitocondriais já descritas acrescidas de formação de vesículas e numerosas figuras de mielina. Algumas fibrocélulas mostram grandes citosomas (Fig. 4) arredondados, de estrutura complexa, delimitados por membrana única e constituídos por retículo endoplasmá-



Fig. 4 — Grande citosoma de estrutura complexa em fibra muscular cardíaca. Aumento de mic. eletr.: 6.000. Aumento final: 24.000.

tico dilatado, vesículas de dimensões variáveis e corpos densos irregulares, unidos por matriz granulosa e eletrondensa. Por vezes as células intersticiais vizinhas exibem idênticas formações. As fibrocélulas estão modificadas nestas áreas, apresentando esgarçamento de miofibrilas e irregularidade dos discos intercalares e franca ruptura com separação dos miofilamentos. A alteração mais saliente das fibrocélulas é sem dúvida a necrose que foi encontrada apenas em fibras com partículas virais ou em outras em sua vizinhança. A lesão parece iniciar nas zonas de tumefação anteriormente descritas nas quais há aumento progressivo da formação de vesículas e compactação das mitocôndrias e fragmentação e dissolução posterior das miofibrilas que são substituídas por material irregular e finalmente granuloso; cria-se assim (Fig. 5,A,B) um aspecto de vacuolização e dissolução e esfacelo das fibras.

A replicação virótica efetua-se nas fibrocélulas cardíacas, particularmente no retículo endoplasmático das zonas de hiperplasia mitocondrial (Fig. 5A,6). O retículo que contém as partículas está dilatado ou transformado em vesículas de contorno circular e de tamanho variável e de cuja membrana o vi-

rus emerge com o aspecto de "brotamento" ("budding") (Fig. 6). São pouco numerosas as partículas formadas a partir do sarcolema.

A partícula virótica tem a forma de bastão ("bullet shape") típico dos rabdovírus (Fig. 6) aparecendo às vezes como circular. Quando se mede numerosos bastões e se calcula o tamanho médio obtém-se um valor entre 150 e 160 nm; a partícula de maior comprimento mede 380 nm.

As modificações intersticiais estão representadas por edema com grande aumento numérico das vesículas já descritas e aumento da população celular, discreto e focal. Estas células intersticiais mostram escassa ou nenhuma alteração morfológica, porém por vezes são encontrados citosomas idênticos aos descritos nas fibras cardíacas (Fig. 4).

Nos capilares, além das alterações já descritas há alguns poucos e pequenos fagossomas e alguns núcleos mostram vesículas claras, por vezes 4 ou 5 deles, em um só núcleo.

COMENTARIOS

As modificações mitocondriais parecem ser as mais freqüentes e as mais precoces uma

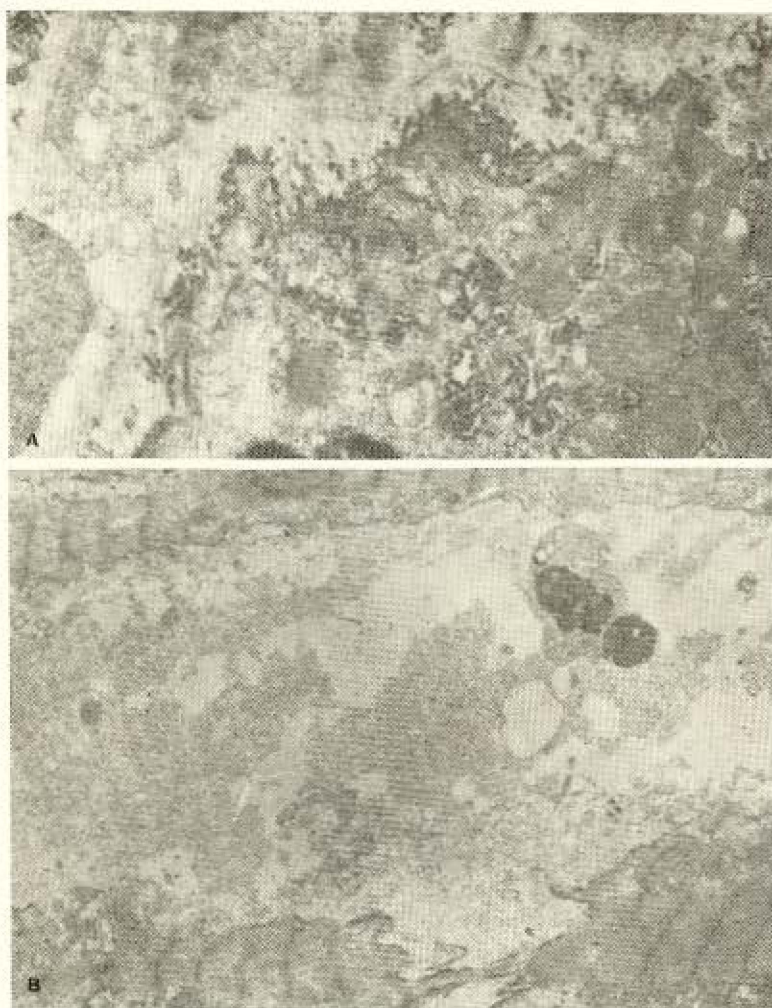


Fig. 5 — Necrose de fibrocélulas cardíacas. Em A fase inicial de ruptura e dissolução de fibra com numerosas partículas virais. Aumento de mic. eletr.: 6.000. Aumento final: 24.000. Em B fase final com esfacelo e dissolução da fibra. Aumento de mic. eletr.: 2.500. Aumento final: 10.000.

vez que são as únicas que aparecem isoladamente nos primeiros animais sacrificados.

A tumefação e a cristólise das mitocôndrias são conhecidas modificações inespecíficas presentes em condições capazes de produzir hipóxia e isquemia do miocárdio (LINDNER¹³, MOLBERT¹⁸, HAUSAMEN & POCHE⁸). Porém existem outras condições geradoras das mesmas modificações, tais como alterações enzimáticas (ITO⁹, LUSE & col.¹⁴), deficiências proteicas (SVOBODA & col.²⁷), deficiências vitamínicas (SUZUKI²⁶) e, tam-

bém, infecções por numerosos vírus como o da hepatite do camundongo (MIYAI & col.¹⁷, VETTERLEIN & HESSE³⁰, RUEBNER & col.²⁴, o Coxsackie B₃ (RABIN & col.²³), os reovírus (JENSON & col.¹²). Parece lógico supor, dada a multiplicidade de causas citadas, que estas alterações são induzidas por modificações bioquímicas comuns, presentes nas infecções pelos vírus citados e pelo que agora descrevemos.

Igualmente numerosas são as condições que produzem aumento do número das mito-



Fig. 6 — Partículas do vírus Piry em vesículas e retículo endoplasmático dilatado de fibra cardíaca, nas áreas de hiperplasia de mitocôndrias. Predominância de partículas em bastão com tamanho médio de 150 a 160 nm; algumas partículas têm formato circular. Aumento de mic. eletr.: 13.000. Aumento final: 52.000.

côndrias; no coração, a causa mais comumente descrita é a hipertrofia (MEESSEN¹⁶, CAULFIELD⁵, KLEITKE & col.¹¹ e ARCOS & col.²). TAFURI²⁸ descreve o achado desta mitocondriose também na infecção com *T. cruzi*. Os focos de mitocondriose têm dois aspectos distintos: em um deles as organelas estão tumefeitas, claras, com destruição das cristas (ou seja, uma superposição lesional); em outro há completa conservação estrutural, com moderado aumento da eletrondensidade da matriz. A mitocondriose descrita é portanto do tipo focal, isto é, presente apenas em algumas partes das células e por vezes é acompanhada de fenômenos degenerativos. Dada a relativa frequência com que estes acúmulos mitocondriais estão situados em zonas com ruptura de miofibrilas é possível supor que pelo menos em parte o aumento numérico seja um acúmulo devido a bloqueio de sua movimentação normal (WEBSTER³²). O vazio sarcoplasmático documentado na Fig. 2 é outro achado que corrobora a possibilidade do deslocamento mitocondrial perinuclear.

Apenas WILLS³¹ na bibliografia por nós compulsada relata achado de mitocondriose

em infecção virótica. A depressão na formação de ATP seria um dos mecanismos da produção da alteração (SCARPELLI²⁵). Não foi possível identificar conglomerados de corpos densos em vesículas em relação com focos de mitocondriose como é descrito para focos de degeneração Walleriana (WEBSTER³², WETTSTEIN & SOTELO³³, TANI²⁹ e ZELENA & col.³⁴). Apenas nas próprias mitocôndrias há formação de pequenas vesículas no espaço interno ou formação das chamadas "figuras de mielina".

Os citosomas descritos embora em parte possam lembrar formações relacionadas com o "locus" de multiplicação virótica, no nosso material parecem representar exclusivamente focos de degeneração citoplasmática de vesícula que é muito nítida a relação das partículas virais com as zonas de hiperplasia mitocondrial e o sarcolema.

A necrose das fibrocélulas cardíacas parece diretamente relacionada com a multiplicação virótica uma vez que só foi encontrada em células parasitadas ou em sua imediata vizinhança. As fibras mostram dissociação de

discos intercalares, afastamento das miofibrilas e dos miofilamentos com dissolução progressiva dos elementos estruturais sem que se formem membranas delimitantes. Trata-se portanto da necrose que à microscopia óptica é denominada de necrose de coliquação (COSSEL⁶). Este tipo de desenvolvimento da necrose explica porque à microscopia óptica em certas áreas tem-se a impressão de que o processo inflamatório induz exclusivamente a modificações intersticiais, por si já não muito intensas: torna-se muito difícil distinguir a coliquação das miofibrilas das extremidades determinadas pela incidência do corte, principalmente na vizinhança das áreas de edema intersticial mais intenso. Nos focos de necrose as modificações nucleares estão representadas por ruptura da membrana, condensação cromatina e presença de fragmentos nucleares muito eletrondensos. Em algumas áreas estas alterações nucleares precedem a dissolução das miofibrilas.

A palidez dos núcleos (demonstrada na Fig. 2) pode ser interpretada como alteração celular do tipo reversível mas que pode se acentuar e chegar à necrose, tal como é já conhecido na evolução de outros processos lesivos (MULLER¹⁹, BESSIS⁴, MAJNO¹⁵), não guardando relação com a multiplicação virótica como foi descrito para certos arbovirus (ARAÚJO & BULLON¹).

A partícula virótica documentada é idêntica à descrita no cérebro do camundongo (BERGOLD & MUNZ³), sendo, entretanto, este o primeiro relato de sua localização no miocárdio. São predominantes as partículas com formato de bastão, não tendo sido visualizada área alguma que sugira que as partículas esféricas podem reunir-se para constituir-as em bastão, como proposto por BERGOLD & MUNZ³. Um bom número das partículas esféricas parece diferenciar-se dos cortes transversais das partículas em bastão por possuir o envelope mais eletrondenso. As partículas em bastão, além do envelope com pequenas protruções filamentosas, mostram capsídio mais pálido com coluna central mais escura; não pudemos identificar estriações transversais. Tampouco foram encontradas modificações citoplasmáticas interpretáveis como matriz viral como a descrita por MURPHY & col.²⁰.

As alterações intersticiais são representadas predominantemente por tumefação edematosa. Os poucos pequenos focos de células mononucleares não foram encontrados nos cortes ultra-finos. Entretanto, várias células intersticiais mostram modificações inespecíficas que são, porém, frequentemente encontradas nas infecções a vírus (DAVID⁷), inclusive a constituição de citosomas, o que parece indicar sua participação no processo infeccioso. Nossos achados, entretanto, são muito escassos para uma sugestão sobre o papel representado por estas células. Já nas células endoteliais dos capilares as modificações foram sempre frequentes e relativamente intensas. A hipertrofia do citoplasma com aumento das vesículas de pinocitose é sinal certo de hiperatividade celular. O afrouxamento da união entre estas células sugere a possibilidade da passagem de componentes viróticos para o interstício, papel que elas obrigatoriamente desempenham dada a existência da viremia já comprovada (PINHEIRO²², OLIVA²¹) e o aparecimento das partículas virais nas fibrocélulas. Finalmente, o desenvolvimento de citosomas e a vacuolização nuclear indicam que a participação das células endoteliais no desenvolvimento da miocardite se faz sempre com dano celular.

SUMMARY

Electron microscopic findings in mouse heart following experimental inoculation of Piry-Virus (Type BeAn 24232)

The intracerebral inoculation of Piry-Virus in newborn mice induces a type of serous myocarditis with focal tumefaction of muscle fibers and necrosis. Virus particles are found mainly in vesicles and dilated endoplasmatic reticulum of heart muscle cells 39 hours after inoculation. They have the typical bullet shape of rhabdoviruses, with 150 to 160 nm of mean length but spherical particles are also seen. Focal hyperplasia of muscle cell mitochondria with or without tumefaction seems to be the earliest cellular modification and are coincident with virus replication loci.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAÚJO, R. & BULLON, A. — Elektronenmikroskopische Befunde in der Lunge nach Infektion mit

- dem Arbovirus BeAn 67949 bei der Maus. *Virchows Arch. Abt. A. Path. Anat.* 355: 238-252, 1972.
2. ARCOS, J. C.; SOHAL, R. S.; SUN, S. C.; ARGUS, M. F. & BURCH, G. E. — Changes in ultrastructure and respiratory control in mitochondria of rat heart hypertrophic by exercise. *Exp. Molec. Path.* 8: 49-65, 1968.
 3. BERGOLD, G. H. & MUNZ, K. — Characterisation of Piry Virus. *Arch. f. ges. Virusforsch.* 31: 152-167, 1970.
 4. BESSIS, M. — Studies on cell agony and death. An attempt at classification. *Ciba Found. «Cellular Injury»* 1: 287-328, 1964.
 5. CAULFIELD, K. B. — Fine structure of normal and diseased heart. *Progr. Cardiovasc. Dis.* 5: 610-630, 1963.
 6. COSSEL, L. — Elektronenmikroskopische Befunde beim intravitalem Untergang von Leberepithelzellen. Beitrag Zur Kenntnis Von Kolliquations und Koagulationsekrosen. *Beitr. Path. Anat.* 133: 156-185, 1966.
 7. DAVID, H. — Zellschädigung und Dysfunktion. Vol. XI de *Protoplasmatologia*. Viena, Springer, 1970.
 8. HAUSAMEN, T. U. & POCHE, R. — Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Wirkung von Alupent auf die Ultrastruktur des Herzmuskels der Ratte. *Virchow. Arch. Path. Anat.* 339: 225-233, 1965.
 9. ITO, S. — Light and electron microscopic study of membranous cytoplasmic organelles. *Symp. Int. Soc. Cell Biol.* 1: 129-148, 1962.
 10. JENSON, A. B.; RABIN, E. R.; PHILLIPS, C. S. & MELNICK, J. L. — Reovirus encephalitis in newborn mice. An electron microscopic and virus assay study. *Amer. J. Path.* 47: 223-239, 1965.
 11. KLEITKE, B.; SCHULZE, W. & WOLLENBERGER, A. — Über das Verhalten der Mitochondrien des Rattenherzens bei Belastung durch experimentelle Aortenkonstriktion und körperliches Training. *Acta Biol. Med. Germ.* 17: 343-348, 1966.
 12. KOESTNER, A.; KASZA, L. & KINDIG, O. — Electron microscopy of tissue cultures infected with porcine poliоencephalomyelitis virus. *Amer. J. Path.* 48: 129-147, 1966.
 13. LINDNER, E. — Die Submikroskopische Morphologie des Herzmuskels. *Z. Zellforsch.* 45: 702-746, 1957.
 14. LUSE, S. A.; BURCH, H. B. & HUNTER, F. E. — Ultrastructural and enzymatic changes in the liver of the riboflavin deficient rat. *V Int. Cong. Electr. Mic.*, Philadelphia, Vol. II, VV-5, 1962.
 15. MAJNO, G. — Death of liver tissue. In «*The Liver*», ROULLER, C. (ed.). Vol. II. New York, Academic Press, 267-313, 1964.
 16. MEESSEN, H. — Ultrastructure of the myocardium. Its significance in myocardial disease. *Amer. J. Cardiol.* 22: 319-327, 1967.
 17. MIYAI, K.; SLUSSER, R. J. & RUEBNER, B. H. — Viral hepatitis in mice. *Exp. Mol. Path.* 2: 464-480, 1963.
 18. MOLBERT, E. — Die Herzmuskelzelle nach akuter Oxidationshemmung im elektronenmikroskopischen Bild. *Beitr. Path. Anat.* 118: 421-435, 1957.
 19. MULLER, E. — Zelltod und Necrose in morphologischer Sicht. *Naturwiss. Rdsch.* 16: 251-257, 1963.
 20. MURPHY, F. A.; SHOPE, R. E.; METSELLAR, D. & SIMPSON, D. I. H. — Characterization of Mount Elgon-bat virus, a new member of the Rhabdovirus Group. *Virology* 40: 288-297, 1970.
 21. OLIVA, O. — Informação pessoal.
 22. PINHEIRO, F. P.; BENSABATH, G.; ANDRADE, A. H. P.; LINS, Z. C.; FRAIHA, H.; TANG, A. T.; LAINSON, R.; SHAW, J. J. & AZEVEDO, M. C. — Infectious Diseases along Brazil's Trans-Amazon highway: Surveillance and Research. *Bull. Pan Amer. Health. Org.* 8: 111-121, 1974.
 23. RABIN, E. R.; HASSAN, S. A.; JENSON, A. B. & MELNICK, J. L. — Coxsackievirus E₃ myocarditis in mice. An electron microscopic, immunofluorescent and virus assay study. *Amer. J. Path.* 44: 775-797, 1964.
 24. RUEBNER, B. H.; OSORN, J. & MEDFARIS, D. N. — Electron microscopy of the hepatocellular and Kupfer cell lesions of mouse hepatitis, with particular reference to the effect of cortisone. *Amer. J. Path.* 51: 163-190, 1967.
 25. SCARPELLI, D. G. — Mitochondrial enlargement and hyperplasia produced by the prolonged administration of 2, 4-dinitrophenol. *Amer. J. Path.* 48: 15a, 1966.
 26. SUZUKI, T. — Electron microscopic study on myocardial lesions in thiamine-deficient rats. *J. Electron Microscopy* 16: 386-387, 1967.
 27. SVOBODA, D. J.; GRADY, H. & HIGGINSON, J. — The effects of chronic protein deficiency in rats. II — Biochemical and ultrastructural changes. *Lab. Invest.* 15: 731-749, 1966.
 28. TAFURI, W. L. — Alterações ultra-estruturais dos componentes muscular, intersticial e nervoso do coração, esôfago e intestinos na doença de Chagas experimental e humana. [Tese Professor Titular]. Belo Horizonte, 1974.

ARAÚJO, R. de; DIAS, L. B.; ARAÚJO, M. T. F.; PINHEIRO, F. & MOUTINHO, E. R. C. — Miocardite experimental em camundongos albinos por vírus Piry (BeAn 24232). Estudo anátomo-patológico em microscopia óptica e em microscopia eletrônica com demonstração da partícula viral. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 20:102-111, 1978.

29. TANI, E. — Electron microscopic study on Wallerian degeneration of optic nerve. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 23: 162, 1964.
30. VETTERLEIN, W. & HESSE, R. — Die Virushepatitis des Menschen und der Maus im elektronenmikroskopischen Bild. *Arch. Exp. Vet. Med.* 19: 231-240, 1965.
31. WILLS, E. J. — Acute infective hepatitis. Fine structural and cytochemical alterations in human liver. *Arch. Path.* 67: 102-109, 1968.
32. WEBSTER, H. F. — Transient focal accumulations of axonal mitochondria during the early stages of Wallerian degeneration. *J. Cell Biol.* 12: 361-383, 1962.
33. WETTSTEIN, R. & SOTELO, J. R. — Electron microscope study on the regenerative process of peripheral nerves of mice. *Z. Zellforsch.* 59: 708-730, 1963.
34. ZELENA, J.; LUBINSKA, L. & GUTMANN, E. — Accumulation of organelles at the ends of interrupted axons. *Z. Zellforsch.* 91: 200-219, 1968.

Recebido para publicação em 8/2/1977.