

Karaciğerde hepatit B antijenlerinin immunoperoksidaz tekniği ile gösterilmesi

Olca KANDEMİR, Tahir E. PATIROĞLU

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD, KAYSERİ

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına 1988-1990 yılları içinde gönderilmiş bütün karaciğer biyopsi materyalleri arasından seçilen primer karaciğer tümörü, hepatit, siroz, presiroz, nekroz vakaları ile karaciğer biyopsisi olarak rapor edilmiş toplam 109 vakada immunoperoksidaz tekniği ile avidin biotin metodu kullanarak ışık mikroskopu seviyesinde hepatit B surface antijeni ve hepatit B core antijeni araştırıldı.

HBs Ag için değerlendirdiğimiz 109 vakanın 72'sinde (%66) değişen şekil ve miktarlarda pozitiflik elde ettik. HBs Ag, hepatositlerde intrasitoplazmik veya membranöz boyanma gösterdi. Bazı vakalarda hücreler arasında, Disse mesafelerinde ve bazen de safra yollarında pozitif boyanma izledik. 109 vakanın 48'inde (%44) HBc Ag pozitif boyandı. Toplam 43 vakada hem HBs Ag hem de HBc Ag tesbit edildi. 28 vakada hepatit B belirleyicilerinin (marker) serum değerleri ile doku değerleri karşılaştırıldı. Serumda HB Ag negatif bulunmuş 10 vakanın 8'inde dokularda pozitif boyanma görüldü. [Türk Tıp Araştırma 1992, 10(3): 133-138]

Anahtar Kelimeler: Karaciğer, Hepatit, HBs Ag, HBc Ag

Karaciğer seçici bir grup hepatotropik virusdan biri olan hepatit B virusu (HBV), lipoprotein tabakası ile çevrili ve merkezinde 3200 nükleotidden oluşmuş $1.8-2.3 \times 10^8$ çift zincirli DNA ile DNA polimeraz ihtiva eden 42 nm çapında küre şeklinde viryondur (1). İlk olarak 1965'de Blumberg multipl transfüzyon geçiren iki hemofili hastasında, bir Avustralya yerlisinden elde ettiği serumdaki antijen ile reaksiyona giren antikor tesbit etti. Daha sonra elektron mikroskop çalışmaları ile hepatit B enfeksiyonu geçiren hastaların serumunda HBV'na ait bazı partiküller tarif edildi (2-6). Huang ve Cabral parafin kesitlerde Hepatit B surface antijeni (HBs Ag) ve core antijenini (HBc Ag) immunoperoksidaz (IPT) ve immunofloresan teknikleri kullanarak göstermişlerdir. HBs Ag hepatosit sitoplazmasında, stoplazma membranında bulunabildiği halde HBc Ag nükleus, nükleus membranı ve sitoplazmada görülebilir. HBc Ag sitoplazmada sentezlenip nükleusa taşınır (2,3).

HBs Ag histokimyasal olarak orsein ve aldehit fuksin boyaları ile hepatosit sitoplazmalarında gösterilebilirken, HBc ve HBe Ag sadece immunohistokimya metodları ile veya elektron mikroskopta gösterilebilmektedir (7). Ülkemizde hepatit B insidansının yüksek olduğu göz önüne alınarak, hepatit, siroz, hepatosellüler karsinom tanısı almış karaciğer dokularında HBV antijenlerini tesbit etmek gayesiyle etiyolojiye yönelik olan bu çalışma planlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

1988-1990 yılları içinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına gönderilmiş 109 karaciğer numunesi kullanıldı. Çalışma retrospektif ve prospektif olarak yapıldı. 67'si erkek 42'si kadın olan bu hastaların yaş ortalaması 45.3'dü. En genç hasta 12 günlük olup en yaşlı hasta ise 85 yaşındaydı. Vakaların bölümümüzde almış oldukları tanılar Tablo 1'de gösterilmiştir. 109 vakanın 83'ü spesifik bir tanı almıştı. Bunlardan, hepatit tanısı almış olan vakalar içinde kronik aktif hepatit, kronik persistan hepatit, akut viral hepatit tanıları vardı. Ayrıca spesifik tanı almamış, mikroskobisinde morfolojik değişiklik izlenmeyen ve rastgele seçilmiş 26 vakaya ait karaciğer biyopsileri, sonuçları karşılaştırmak gayesiyle kontrol grubu olarak kullanıldı.

Geliş Tarihi: 18.10.1991

Kabul Tarihi: 13.4.1992

Yazışma Adresi: Olca KANDEMİR
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji ABD Talaş Yolu,
38039-KAYSERİ

Tablo 1. Çalışmaya alınan vakaların tanıları ve sayıları

Tanı	Vaka sayısı
Hepatit	25
Siroz	25
KAH+Siroz	12
Presirotik süreç	5
Hepatosellüler karsinom	9
Anaplastik karsinom	
Metastaz	t.
Kolestaz	5
KC Biyopsi	26
Toplam	109

Tablo 2. Spesifik tanı almış vakalar ile kontrol grubunun HBs Ag pozitifliği açısından mukayesesi

Vakalar	Toplam	HBsAg(+)	HBsAg%
Çalışma	83	58	69.88
Kontrol	26	14	53.84
Toplam	109	72	66

SD: 107, t:1.6, P>0.05

Tablo 3. HBs antijenleri (+) ve (-) olan vaka sayıları ile bunların yıllara göre dağılımı

Yıllar	HBsAg(+)	HBsAg (-)	Toplam
1988	14(%77.8)	4(%22.2)	18
1989	20(%74)	7 (%26)	27
1990 +	38(%59.4)	26 (%40.6)	64
Toplam	72 (%66)	37(%34)	109

X²=3.16, P>0.05

Yıllar arasında HBs Ag pozitifliği açısından gözlenen farklar istatistik olarak anlamsızdır.

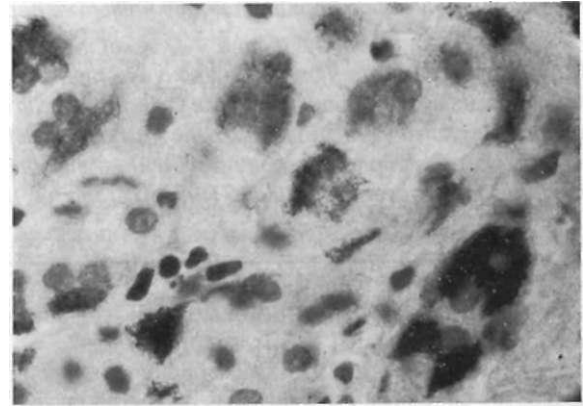
Gönderilen materyellerin hepsi %10'luk formalinde tesbit edildi, ototeknikonda rutin doku takibinden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan yapılan 5 mikronluk kesitlerde rutin hematoksiyen-eozin ve HBs Ag ile HBc Ag'ni göstermek için IPT avidin biotin metodu çalışıldı.

Çalışmamızda 1-Anti Hepatit B Surface Ag (HBs Ag), Product code: H 1310, 2-Anti hepatitis B core/surface Ag (HBc/sAG), Product code: H 2320, 3-Immuntain Hepatitis B core Ag, Polyclonal Rabbit Primary Antibody Set (CKHCS), 4-Strept A-B Universal Kit kullandık. İstatistiki değerlendirme, X² ve iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testleri ile yapıldı (10).

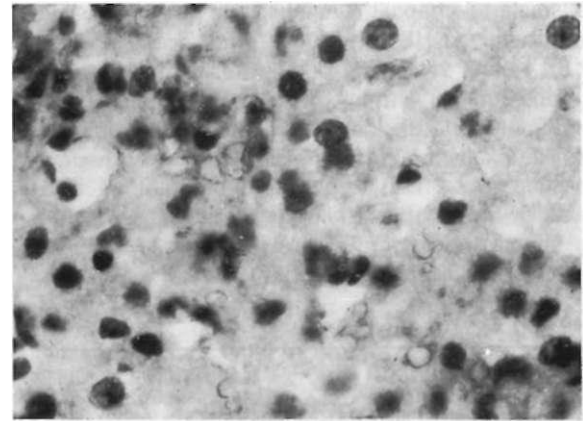
BULGULAR

Bu çalışmada kullanılan toplam 109 vakaya ait preparatları IPT sonuçlarına göre iki grup halinde değerlendirilip karşılaştırıldı.

1. Hepatit B Surface Antijeni: Hepatit, siroz, hepatit+siroz, kanser ve kolestaz tanıları almış toplam 83 vaka ile spesifik bir tanı almamış 26 vaka çalışmaya alındı. HBs Ag yönünden spesifik tanı almış ve almamış vakalar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olmadığı gibi (Tablo 2), yıllar arasında da vakalardaki HBs Ag pozitiflik oranı farksızdı (Tablo 3). 109 vakanın 72'si (%66) HBs Ag pozitif boyandı. HBs Ag pozitif sahalarda AEC kromojeni parlak narçığı kırmızısı renginde boyanma sağladı (Şekil 1). Pozitif olan 72 vakayı incelediğimizde beş farklı şekilde boyanma izledik. Sıklık sırasına göre: 1 .Diffüz, 2.Ekzantrik ve hilal şeklinde, 3.Perinükleer 4.Noktalı, 5.Membranöz boyanmaları tarif ettik (Şekil 2). Pozitif boyananların 38'inde (%52.7) bu şekillerden sadece birine uyan boyanma izlenirken diğerlerinde farklı şekilde boyanan hepatositler aynı dokuda karışım halinde gözlemlendi (Tablo 4). Vakaların %51.3'ünde membranöz boyan-



Şekil 1. HBsAg (+++) immunoreaktivite gösteren kronik aktif hepatit vakasında noktalı, diffüz, ekzantrik ve hilal şeklinde boyanan hepatositler izlenmektedir (Avidin-biotin metodu, X1000).



Şekil 2. HBs AG pozitif bir vakada membranöz boyanalar ve hücrelerarası mesafelerdeki boyanma dikkati çekiyor (Avidin-biotin metodu, x1000).

Tablo 4. HBs Ag pozitif vakalarda boyanma şekilleri

Boyanma Şekli	Diffüz Saf/Miks	Ekzantrik Saf/Miks	Perinükleer Saf/Miks	Noktalı Saf/Miks	Membranöz Saf/Miks
Vaka Sayısı	5/9	8/11	1/5	12/8	12/15
Toplam	14(%19.4)	19(%26.3)	6(%8.3)	20(%27.7)	37(%51.3)

Tarif edilen dört tip boyanma dokularında tek başına veya daha ziyade diğer şekillerle birlikte görüldü. Vaka sayılarını gösteren satırda ilk sayı tek tip boyanan vakaları (saf), ikincisi diğer tiplerle birlikte gözlenen (miks) vaka sayılarını vermektedir.

Tablo 5. HBs Ag pozitif vakalarda boyanma miktarı

HBs Ag Miktarı	+	+	+	+	+	+	Toplam
Vaka sayısı	41	16	15	72			

ma en yüksek oranda ve en az (%8.3) perinükleer boyanma izlendi. Bütün vakaların %19.4'ünü meydana getiren diffüz boyanma şeklinde, hepatosit sitoplazmaları nükleusdan membrana kadar yaygın pozitiflik gösteriyordu. İkinci sıklıkta görülen ekzantrik boyanma şeklinde nükleusun bir tarafında kalan sitoplazma kısmı yoğun olarak boyanmaktaydı. Bunların bazılarında hilal şeklinde pozitiflik dikkati çekti. Perinükleer boyanmada ise daire şeklinde nükleusun etrafındaki dar bir kısımda pozitiflik elde edildi. Hepatosit sitoplazmalarında dağınık ve noktalar halindeki pozitiflik, noktalı boyanma olarak tarif edildi. Membranöz boyanmada, ince çizgi şeklinde sitoplazma membranları üzerinde lokalize pozitiflik elde edildi (%37).

Dokularda HBs Ag miktarını da gözden geçirdik. Pozitif boyanan hücrelerin sayısına göre dokulara sıfırdan üç pozitifite kadar değerler verdik (Tablo 5). Tanılar ile ilişkisini araştırdık (Tablo 6). Tanı verilmiş bütün vakalarda (+) boyanma en yüksek sayıda izlendi. Dokulardaki HBs Ag miktarı yönünden tanı verilmiş vakalar arasında anlamlı bir fark yoktu ve kontrol grubu ile de farklılık göstermemekteydi. HBs Ag (+) ve (-) vakaların almış oldukları tanılar Tablo 7'de gösterilmiştir. HBs Ag'lerinin tanılarına göre dağılımında 5'den küçük değerleri yok etmek için tümör, presiroz, siroz ve siroz+kronik aktif hepatit kolonlarını birleştirmemiz gerekti. Ayrıca hepatit ile kolestaz vakaları da birlikte gösterildi. X^2 önemlilik tes-

tine göre tanılar arasında HBs Ag muhtevası yönünden ortaya çıkan fark önemli bulundu ($P<0.05$). Burada farklılığı meydana getiren tümör, siroz, presiroz, KAH+siroz birleşik kolonudur. Bu kolonu çıkarırsak önemlilik yok olur. Yani Tümör, siroz, presiroz vakalarında HBs Ag pozitifliği diğer vakalardan anlamlı olarak daha yüksektir.

HBs Ag pozitif 72 vakanın 14'ünde (%19.4) hepatositlerdeki boyanma ile birlikte hepatosit sitoplazmasından ve membranından ayrı olarak, sinüzoide yakın ince çizgi halinde Disse mesafelerinde ve hücreler arasında pozitiflik izledik (Şekil 2). Dört vakada sinüzoidlerdeki birkaç Kupffer hücresinin diffüz boyandığını gördük. Sinüzoidlerdeki bu hücreler muhtemelen HBs Ag pozitif hepatositleri fagosite ettikleri için pozitiflik kazanmışlardı. Bir başka değişik bulgu ise safra duktus hücreleri ve yer yer safrada pozitiflik görülmesiydi. 109 vakanın 37'sinde (%33.0) safra duktus sistemine ait hücreler, bazılarında da safra materyali pozitif boyandı.

2. Hepatit B Core Antijeni: DAB kromojeni kullanılarak IPT avidin biotin metodu ile 109 vakaya ait bütün karaciğer dokularında HBc Ag araştırdığımızda 48'inde (%44) değişen derecelerde pozitiflik elde ettik (Tablo 9). HBc Ag'nin tanılara göre dağılımını incelediğimizde çalışma ve kontrol grubunda (+) veya (-) vakaların sayıları arasındaki farkın anlamsız olduğunu gözledik ($P>0.05$).

HBc Ag'nin hücrelerdeki lokalizasyonuna göre vakaları üçe ayırdık (A, B, C). Pozitif vakaların 10'un- da (%20;84) sadece nükleuslarda pozitif boyanma (A yerleşimi), 30'unda (%62.5) sadece sitoplazmada diffüz veya granüler boyanma (C yerleşimi), geri kalan 8 vakada ise (%16.66) hem sitoplazmik hem de nükleer boyanma (B yerleşimi) izledik. HBc Ag poziti-

Tablo 6. 109 vakada HBs Ag miktarı ve almış oldukları tanılar

HBs Ag Miktarı	Tümör	Hepatit	Siroz	KAH+S	Presiroz	Kolestaz	KC	Topmam
0	2	12	4	3	2	2	12	37
+	6	6	12	5	2	2	8	41
+	2	3	5	2	0	1	3	16
+	1	4	4	2	1	0	3	15
Toplam	11	25	25	12	5	5	26	109

Tablo 7. HBs antijeninin vakalara göre dağılımı

HBsAg	Tm+S+PS	Hepatit + Kol.	KC Biyopsisi	Toplam
Negatif	11	14	12	37
Pozitif	42	16	14	72
Toplam	53	30	26	109

$\chi^2-8, P<0.05$

Tablo 8. HBV antijenlerinin serumdaki ve dokudaki değerlerinin mukayesesi

Serumda HBs Ag	—	HBs Ag	Dokuda HB Ag HBcAg	HBs+cAg	Toplam
SE-	1	8	1	8	18
—	2	1	—	7	10
Toplam	3	9	1	15	28

Tablo 9. HBc antijeninin tanılara göre dağılımı

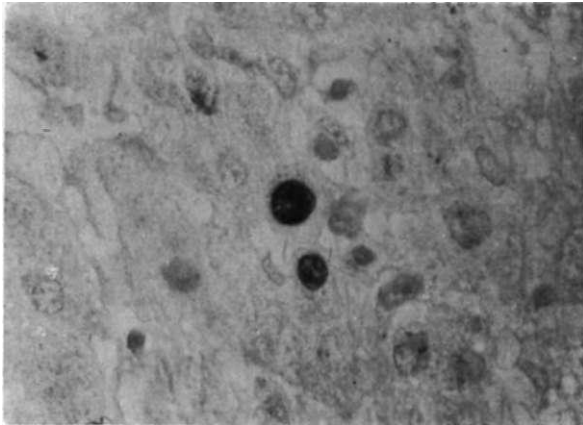
Hepatit BAg	Tümör	Hepatit+Kol	Siroz	KAH+S	Kontrol	Toplam
HBc AG +	5	13	15	6	9	48
HBc—	6	17	10	11	17	61
Toplam	11	30	25	17	26	109

$\chi^2=1.79, P<0.05$

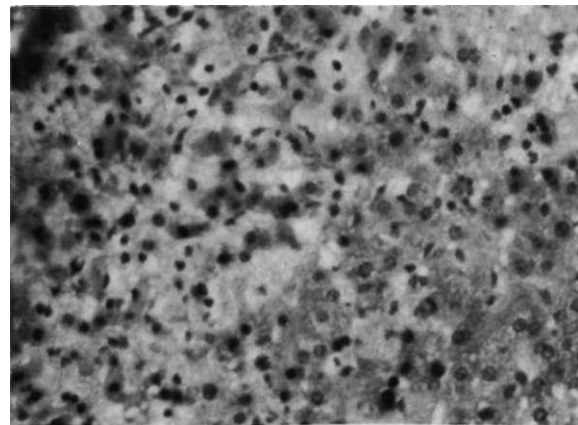
tif olduğu halde HBs Ag negatif boyanan 5 vaka görüldü. Bizim çalışmamızda A lokalizasyonu gösteren dokularda pozitiflik oldukça düzensiz dağılmakta idi. Bazı dokularda sadece bir nodulun bir sahasında çok sayıda nükleus boyanırken diğer sahalarda çok seyrek pozitiflik görülen, hatta hiç pozitiflik göstermeyen alanlar ya da nodüller bulunduğu dikkati çekti. Küçük bir biyopsi eğer bu sahalardan alınmış olsaydı negatif sonuç verecekti. 109 vakadaki HBs Ag

ve HBc Ag pozitifliği Venn şeması ile gösterildi (Şekil 1).

Serum Değerleri: Vakaların sadece 28'inde hepatit B belirleyicilerinin serum değerlerini elde edebildik ve bunları doku değerleri ile karşılaştırdık (Tablo 8). Serumda HBs Ag negatif olan 10 vakadan 8'inde dokuda IPT ve HBs Ag pozitif bulundu. HBs Ag pozitif bulunan bu 8 vakanın 7'sinde aynı zamanda HBc Ag de pozitiflikti.



Şekil 3. A Lokalizasyonu Gösteren Bir Vakada HBc Ag Pozitif İki Hepatosit Nükleusu DAB Kromojeni ile Kahverengi Boyanmıştır (Avidin-biotin metodu, x1000).



Şekil 4. Sitoplazmada yerleşen HBc Ag (C Lokalizasyonu) Pozitif Boyanmıştır (Avidin-biotin metodu, x400).

TARTIŞMA

HBV antijenlerini göstermek için 109 vakaya IPT avidin biotin metodu uyguladık. Avidin biotin, IPT'nin en son ve gelişmiş olan metodudur. Burada yumurta beyazından elde edilen bir glukoprotein olan avidinin, 4 molekül vitamin biotine nonimmünolojik olarak bağlanabilmesi esastır. Üç madde kullanılır: 1) Primer antikor, 2) Sekonder antikor biotinle konjügedir ve primer antikora bağlanma özelliğine sahiptir. 3) Peroksidazla konjuge biotin ve avidin kompleksi. Bu metotta avidinin biotine kuvvetli afinitesi, diğer konjuge antikor tekniklerinden daha büyük sensitivite sağlamaktadır (3,8,9).

Bulgular sırasıyla gözden geçirildi. 109 vakanın 72'sinde (%66) HBs Ag pozitif. Tanı almış vakaların %69.8'inde (58/83), kontrol grubunun ise %53.8'inde (14/26) pozitif boyanma tespit edildi. Her iki grup arasında HBs Ag pozitifliği yönünden görülen sayısal fark istatistiki olarak anlamsızdı.

Tanımlara göre HBs Ag pozitif vakaların dağılımına baktığımızda tümör, siroz, presiroz vakalarında anlamlı şekilde yüksek olduğu halde hepatit tanısı almış vakalar ile hiç bir morfolojik değişiklik izlenmemiş vakalar arasında HBs Ag pozitifliği yönünden önemli bir fark görülmedi (Tablo 7). Bu da taşıyıcılığın yüksek oranda bulunduğunu düşündürmektedir. Ayrıca 1988-1990 yılları arasında HBs Ag pozitif vakaların dağılımında anlamlı bir fark yoktu. Yani zaman içerisinde bu problemin çözülmesi için hiç bir şey yapılmamış ya da yapılanlar faydasız olmuştur.

HBs Ag muhtevasına göre pozitif boyanan dokulara O'dan (+++)e kadar değerler verdik. Bunun için Ulich ve Kaneko'nun rapor ettikleri çalışmalardan yararlandık (11,12). (-): Hiç boyanma yok, (+): Bir lobda 1-4 hepatosit boya almış, (++): Bir lobda 5-10 hepatosit boyanmış, (+++): Diffüz immünoreaktivite, 10 veya daha fazla hücre boyanmış.

Borchard ve Gusmann ise HBs Ag'nin lokalizasyonuna ve boyanma şekline göre sınıflandırmalar yapmışlardır (13). Biz de bundan yararlanıp beş tip boyanma tarif ettik. 1) Diffüz, 2) Ekzantrik ve hilal şeklinde, 3) Perinükleer, 4) Noktalı, 5) Membranöz boyanmalar izledik.

1977'de Yamada ve arkadaşları PAP metodu kullanılarak yaptıkları ışık ve elektron mikroskop çalışmalarında HBs Ag ve HBc Ag'ni karaciğer dokularında göstermişlerdir. Aynı çalışmada HBs Ag hepatosit sitoplazmasında endoplazmik retikulum sisternalarında veya sitoplazma zarında gözlenmiş olup intersellüler sahalarda ve Disse mesafesinde pozitiflik gösteren vakalar bildirilmiştir (5). Bizim çalışmamızda da 14 vakada (%12.8) Disse'de HBs Ag pozitif boyanma gösterildi.

Serum değerlerini elde edebildiğimiz 28 vakayı incelediğimizde ELISA yöntemi ile serumda hiç bir

HBV Ag bulunamamış olan 10 vakanın 8'inin karaciğer dokusunda IPT ile pozitif boyanma izlendi. Serumda çok düşük titrelerde HBs Ag negatif sonuç verebilir. Buna göre serumunda HBV Ag bulunamamış vakaların taşıyıcı olmadığı söylenemez.

Daha önce yapılan çalışmalarda HBc Ag'nin hepatositlerde 3 tip lokalizasyonu (A, B, C) tarif edilmiştir (5,7). Biz de vakalarımızı HBc Ag lokalizasyonuna göre değerlendirdik. 48 vakadaki A, B, C şeklinde boyanmaların tanılarına göre dağılımını inceledik. Vakalar HBc Ag lokalizasyonu açısından özellik göstermiyordu.

Yamada ve arkadaşları elektron mikroskop ile IPT uygulayarak yaptıkları çalışmada HBs ve HBc Ag'lerini karaciğer dokularında göstermişler bazı dokularda sadece HBs, birkaçında sadece HBc Ag ve bir kısım vakada da bunların birlikte bulunduğunu belirtmişler (5). Kaneko ve arkadaşlarının 1990'da yaptıkları IPT çalışmalarında aynı zamanda HBc ve HBs Ag'lerinin gösterildiği dokularda çoğu hepatositlerde bu Ag'lerin birbirinden bağımsız olarak bulunduğunu çift boyama sağlayarak izlemişlerdir. Sadece birkaç hepatosit hem HBs Ag hem de HBc Ag için pozitiflik vermiştir (11). Aktivite göstermeyen vakalarda HBc Ag nükleusta, aktif enfeksiyonda ise sitoplazmada bulunmuştur. Aynı çalışmada sitoplazmik HBe Ag'nin de yüksek viral replikasyonu gösterdiği ve nükleer HBe Ag'nin ise düşük virüs replikasyon bulgusu olduğu belirtilmiştir (11). Dokuda HBe Ag negatif ve HBc Ag pozitif olan hastalarda ise HBc Ag'nin düşük seviyede devam eden virüs replikasyonunun halen en iyi markeri olduğu bildirilmiştir (7). Bizim vakalarımızda HBc Ag'nin lokalizasyonu ile tanımlar arasında bağlantı kurulamadı. Yani hepatosellüler karsinom, siroz, hepatit vakaları ile kontrol grubundaki vakaların HBc Ag pozitifliği herhangi bir lokalizasyon gösterebilir. Eğer HBc Ag sitoplazmada tesbit edilmişse tanı ne olursa olsun, virüsün replikasyon döneminde olduğunu söyleyebiliriz. Buna göre HBV'na ait belirleyicilerin lokalizasyonu, hastalığın prognozu ve virüsün aktivitesini göstermek açısından değerlidir ve bunu rutin boyalarla değerlendirenleyiz.

109 vakalık serimizde yaptığımız çalışmanın sonuçlarını özetlersek: HBV taşıyıcılığı önemli bir sağlık problemidir. Siroz, presiroz ve hepatosellüler karsinom etyolojisinde yüksek sıklıkta HBV bulunmaktadır. Karaciğerde HBV Ag'lerini tesbit etmek için IPT kullanmak hem kolay hem geçerli, hem de vakalar biriktirilerek çalışılırsa ucuz sayılabilecek bir tercihtir (8). HBV Ag'lerinin dokuda gösterilmesi teşhis, takip ve tedavi açısından patolog ve kliniğe yardımcı, yol göstericidir. Virüs taşıyıcılığı, replikasyonu ve hastalığın aktivitesi hakkında fikir verir. Ayrıca bundan sonra yapılacak bu tür çalışmalar da önleyici sağlık hizmetlerinin başarı çizgisini kontrol edecektir.

Demonstration of hepatitis B viral antigens in the liver by using immunoperoxidase technique

Hepatitis B surface antigen and hepatitis B core antigen were detected by using avidin biotin immunoperoxidase method with light microscope in selected 109 cases from all liver biopsy specimens which had been sent to the Department of Pathology at the University of Erciyes from 1988 to 1990. These specimens had been reported as primary hepatic tumors, hepatitis, cirrhosis, precirrhosis, necrosis and hepatic abscesses. We detected different patterns and amounts of HBs Ag in 72 of 109 cases (66%). HBs Ag showed intracytoplasmic and membraneous staining in hepatocytes. In some cases we found positivity in the intercellular and Disse's spaces and sometimes in the biliary ductuli. In 48 cases out of 109 (44%) HBc Ag reacted positively. Totally in 43 cases both HBs Ag and HBc Ag were detected. In 28 cases serologic values were compared with intrahepatic hepatitis B markers. In 8 cases out of 10 with negative serums we found HBs Ag positive in tissues.

[*Turk J Med Res 1992, 10(3): 133-138*]

Key Words: Liver, Hepatitis, HBs Ag, HBc Ag

KAYNAKLAR

1. Sherlock DS. Disease of the Liver Biliary System: Oxford, London: Blackwell Science Pub (7th ed), 1987: 251-301.
2. Cabral GA, Gyorkey F, Gyorkey P, Melnick N, Dreesman GR. Immunohistochemical and electron microscopic detection of hepatitis B surface and core antigens. *Exp Mol Pathol* 1978; 29:156-69.
3. Huang SN. Immunohistochemical demonstrations of hepatitis B core and surface antigens in paraffin sections. *Lab Invest* 1975; 33:88-95.
4. Ray MB, Desmet YJ, Bradburne AF, Desmyter J, Fevery J, De Groote J. Differential distribution of hepatitis B surface antigen and hepatitis B core antigen in the liver of hepatitis B patients. *Gastroenterology* 1976; 71:462-67.
5. Yamada G, Nakane PK. Hepatitis B core and surface antigens in liver tissue. *Lab Invest* 1977; 36:649-59.
6. Tapp E, Jones DM. HBs and HBc Ag in the livers of asymptomatic hepatitis B carriers. *J Clin Pathol* 1977; 32:671-7.
7. Gerber MA, Thung N. The diagnostic value of immunohistochemical demonstration of hepatitis viral antigens in the liver. *Hum Pathol* 1986; 18:771-4.
8. Bourne A. Handbook of Immunoperoxidase Staining Methods, Dako Corporation 22, North Milpas Street, Santa Barbara, CA 93103, 1983:6.
9. Falini B, Taylor CR. New developments in immunoperoxidase techniques and their applications. *Arch Pathol Lab Med* 1983; 107:105-17.
10. Sümbüloğlu K. İstatistiksel Değerlendirme, Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik, Matiş Yayınları, Ankara, 1978:93-186.
11. Kaneko S, Miller RH, Bisceglie AMD, Fienston SM, Hoofnagle JH, Purcell RH. Detection of hepatitis B virus by polymerase chain reaction. *Gastroenterology* 1990; 99:793-8.
12. Ulich TR, Anders K, Layfield L, Cheng L, Lewin KJ. Chronic active hepatitis of hepatitis B and non A, non B etiology. *Arch Pathol Lab Med* 1985; 109:403-7.
13. Borchard F, Gusmann V. Detection of HBs Ag containing cells in liver biopsies by different stains and classification of positively reacting ground-glass hepatocytes. *Virchows Arch Pathol Anat* 1979; 384:245-61