



ABRIR EVOLUCIÓN POST - TxH: A

II. EVOLUCION POST-TxH: B. DISTRIBUCION DE LOS ESPECIMENES SEGUN DIAGNOSTICO ANATOMOPATOLOGICO (DAP).

Los 109 especímenes que permitieron evaluar los acontecimientos morfológicos descritos se han reagrupado según sus DAPs con la finalidad de describir la evolución histopatológica y establecer una correlación clinicopatológica.

B.1. DAP: ESTADO DE PORTADOR DEL VHB SIN HEPATITIS (12 especímenes, 6 pacientes) (Datos en tabla 5).

Estos especímenes hepáticos portadores del VHB sin hepatitis corresponden a los de los 5 pacientes que lo fueron durante todo el seguimiento o en su último período, y al de otro caso (nº17) que sólo lo fué al principio del mismo.

En estos tejidos fué más frecuentemente positivo el HBcAg (100%) que el HBsAg (75%). El HBcAg siempre mostró una tinción exclusivamente de tipo nuclear. El HBsAg, en las biopsias tempranas, fué escaso y mostró el característico patrón citoplasmático homogéneo anteriormente descrito en el apartado general. El incremento antigénico progresivo objetivado en el injerto de largo seguimiento (caso 15) fué a expensas de un patrón de tinción de tipo membranoso (figura 5). En estos tejidos hepáticos se realizaron otros DAPs en relación con complicaciones propias del curso postrasplante. Las alteraciones de los tests de función hepática se atribuyeron a estas complicaciones.

TABLA 5. DAP: ESTADO DE PORTADOR DEL VHB SIN HEPATITIS

Caso	T*	DAPs	Bioquímica hepática			Inmunohistoquímica			Serología							
			ALT	FA	BIL	HBsAg	HBcAg nuc/cit	HDAg	VHB			VHD		VHC		
									sAg	as	eAg	ae	ADN	sHD	ARN	sHC
n° 1	114	CM	740	594	10,9	+	+/-	++++	+	-	-	+	-	+	+	nr
	184#	RC	200	900	20	+	+/-	++	+	-	-	+	+	+	+	nr
	263#	RC	221	935	25	-	+/-	+	+	-	-	+	-	+	-	nr
n° 2	549#	RC	326	842	43	++	++/-	++	+	-	-	+	-	+	-	nr
	601#	RC	546	1835	42	++	++/-	++	+	-	-	+	-	+	-	nr
	690#	RC	273	1080	52	++	++/-	+	+	-	-	+	-	+	-	nr
n° 6	68	I	200	300	4	+	+/-	-	+	-	-	-	-	-	nr	nr
n° 12	17	CF	193	309	4,9	-	+/-	-	+	-	-	+	-	-	nr	nr
n° 15	176	CM	230	587	1,8	++	++/-	-	+	-	+	-	+	-	nr	-
	288	CM	79	90	2	+++	+++/-	-	+	-	+	-	+	-	nr	-
	584	CM	225	152	1,9	+++	++++/-	-	+	-	+	-	+	-	nr	-
n° 17	27	CM	238	58	1	-	+/-	-	+	-	-	+	-	-	nr	**

CM=cambios mínimos; RC=rechazo crónico; I=laqueamia; CF=colestasia funcional; #=en tto con alfa interferon; T*=días post-TxH; ALT=alanina transferasa (normal <40 U/L); FA=fosfatasa alcalina (normal <110 U/L); BIL=bilirrubina (normal <1 mg/100ml); sAg=HBsAg; as=anti-HBs; eAg=HBeAg; ae=anti-HBe; sHD=anti-HD; sHC=anti-VHC; nr=no realizado; **=positiviza más tarde; Gradiente de hepatocitos positivos: +=ocasional, ++=leve, +++=moderado, ++++=elevado.

B.2. DAP: HEPATITIS LOBULILLAR (7 especímenes, 6 pacientes)
(datos detallados en la tabla 6).

El diagnóstico de hepatitis lobulillar se realizó el día 148±82 post-TxH (intervalo: 40º-260º día). Las alteraciones microscópicas más características fueron desorden trabecular debido a anisocitosis y anisocariosis de los hepatocitos y a frecuentes cuerpos acidófilos, y escaso infiltrado inflamatorio interhepatocitario (figura 6).

Las 6 hepatitis lobulillares desarrolladas en pacientes con infección recurrente del VHB cursaron con una variable expresión antigénica tisular. El estudio inmunohistoquímico mostró en tejido tanto HBcAg aislado (2 casos), como HBsAg aislado (1 caso), presencia de ambos antígenos virales (1 caso) o ausencia de los dos (2 casos). La negatividad antigénica en estas dos últimas hepatitis agudas se debió, en una de ellas a que el desarrollo de la misma precedió a la demostración de los antígenos virales en el injerto (caso nº6), y en la otra a que el cuadro instaurado fué una necrosis hepática masiva que cursó con pérdida de la previa antigenicidad tisular (caso nº25).

La hepatitis lobulillar del injerto no infectado por el VHB pertenecía a un paciente anti-VHC positivo en este momento, correspondiendo al único que lo fué permanentemente durante todo el seguimiento.

Los test de función hepática realizados durante estas tomas biópsicas mostraron preferente hepatocitolisis y moderada colestasis.

TABLA 6. DAP: HEPATITIS LOBULILLAR

Caso	Tª	DAPs	Bioquímica hepática			Inmunohistoquímica			Serología							
			ALT	FA	BIL	HBsAg	HBcAg nuc/cit	HDAg	VHB				VHD		VHC	
									eAg	ee	eAg	ee	ADN	eHD	ARN	eHC
nº 2	140	HL	2325	177	10	-	+/-	++++	+	-	-	+	-	+	-	nr
nº 6	40	HL	289	309	4	-	-	-	+	-	-	-	-	-	nr	nr
nº 7	70	HL	170	61	1,4	-	+/-	-	+	-	-	+	-	-	nr	nr
nº 18	150	HL	745	147	1,1	++	++/-	-	+	-	-	+	+	-	nr	-
nº 23	105	HL	133	159	2,6	-	-/-	-	-	+	-	+	-	-	nr	+
nº 25	260	HL	542	176	6,4	+	-/-	-	+	-	-	+	-	-	nr	-
	270	NHM	1300	320	25,3	-	-/-	-	+	-	-	+	-	-	nr	-
media:	148		786	193	7,3											
SD:	82		730	85	7,9											

HL=hepatitis lobulillar; NHM=necrosis hepática masiva. Otras abreviaturas referidas en la Tabla 5.

B.3. DAP: HEPATITIS CRONICA (22 especímenes, 12 pacientes)
(datos detallados en la tabla 7).

El DAP más inicial de hepatitis crónica se hizo a los 310 ± 192 días pos-TxH (intervalo: 102° - 671° día).

Los especímenes con hepatitis crónica activa mostraron necrosis erosiva periportal con relevante infiltrado inflamatorio plasmocelular en la perifería de los espacios porta (figura 7A). Frecuentemente se observó además un componente de necrosis multifocal a nivel del lobulillo con escaso infiltrado inflamatorio interhepatocitario. El estudio histológico en biopsias sucesivas mostró una progresiva ampliación fibrosa porto-portal que evolucionó hasta la formación de septos fibrosos porto-portales (figura 7B).

Se observaron variaciones de este cuadro morfológico característico de hepatitis crónica activa. En un injerto la necrosis erosiva era escasa y se mantuvo estable 4 meses por lo que se consideró una hepatitis crónica persistente. En otro injerto el cuadro histológico fué de hepatitis crónica activa con necrosis en puentes (hepatitis subaguda) (figura 8). Finalmente, en otro el progresivo cuadro desestructurante fué el de una hepatitis colestásica fibrosante (figura 9).

Entre los 8 injertos infectados por el VHB, 7 mostraron HBSAg y HBcAg y el otro (caso nº8) que expresó solamente HBSAg. La tinción del HBcAg fué constantemente nuclear y citoplasmática y en todos los tejidos hepáticos sin efecto antiviral se observó un gradiente moderado o extenso de hepatocitos inmunopositivos (figura 10).

TABLA 7. DAP: HEPATITIS CRONICA

Caso	T*	DAPs	Bioquímica hepática			Inmunohistoquímica			Serología							
			ALT	FA	BIL	HBsAg	HBeAg nuc/cit	HDag	VHB			VHD		VHC		
									sAg	as	eAg	as	ADN	sHD	ARN	sHC
n° 2	475#	HCA	1011	322	9,5	++	++/+	+++	+	-	-	+	+	+	+	nr
	489#	HCA	953	327	9,8	++	++/+	+++	+	-	-	+	-	+	-	nr
n° 4	123	HCA	1877	191	30	+	++/+	++++	+	-	-	+	-	+	-	-*
n° 7	102	HCA	48	38	1	++	++/++	-	+	-	+	+	+	-	nr	nr
	169	HCA	243	43	1,1	+++	++++/++++	-	+	-	+	-	+	-	nr	nr
n° 8	671	HCA	60	86	1,2	-	-	-	+	-	-	+	-	-	nr	-
	827	HCA	62	90	1,1	+++	-	-	+	-	-	-	-	-	nr	-*
n° 11	236	HCA	276	400	1,6	+++	+++/**	-	+	-	+	-	+	-	nr	-*
n° 13	147	HCA	126	77	1,6	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	nr	-
	287	HCA	140	90	2	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	nr	-
	323	HCA	273	136	1,6	-	-/-	-	-	+	-	-	-	-	nr	-*
n° 14	410	HCP	31	126	1,6	-	-/-	-	-	-	-	+	-	-	nr	-
	661	HCP	36	120	1	-	-/-	-	-	-	-	+	-	-	nr	-*
n° 16	127	HCF	336	296	6,5	+++	+++/**	-	+	-	+	-	+	-	nr	-
	172	HCF	384	304	13	+++	++++/++++	-	+	-	+	-	+	-	nr	-
	196	HCF	106	171	24	++++	++++/++++	-	+	-	+	-	+	-	nr	-
n° 17	193	HCA	482	101	2,2	++++	++++/**	-	+	-	-	+	+	-	nr	-*
n° 18	204	HS	120	190	8	+++	+++/**	-	+	-	-	+	+	-	nr	-
	216	HS	110	186	9,4	++++	++++/**	-	+	-	-	+	+	-	nr	-
n° 23	410	HCA	70	80	3	-	-/-	-	-	+	-	+	-	-	nr	+
n° 26	624	HCA	520	418	1,3	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	nr	-
	643	HCA	656	334	32	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	nr	-*
media:	310		369	187	7,3											
SD:	192		431	116	9,3											

HCA-hepatitis crónica activa; HCP-hepatitis crónica persistente; HCF-hepatitis colestásica fibrosante; HS-hepatitis subaguda; #-en tratamiento con alfa-interferon; Otras abreviaturas referidas en la Tabla 5.

El HBsAg mostró un grado moderado o elevado de hepatocitos inmunoteñidos y el patrón de tinción fué constantemente de tipo citoplasmático homogéneo (figura 11).

Los 4 injertos no infectados por el VHB pertenecían a pacientes que mostraron infección por el VHC en el curso postrasplante, pero en este momento el anti-VHC fué positivo solamente en el caso que lo fué durante todo el seguimiento.

Coincidiendo con estas tomas biópsicas, los test de función hepática mostraron un cuadro de hepatocitolisis con una tasa media de ALT moderadamente aumentada. Sin embargo, en el 50% de los especímenes el estudio bioquímico paralelo mostró solamente discreta elevación enzimática, con niveles de ALT inferiores a 3 veces el valor normal.

B.4. DAP: CIRROSIS (12 especímenes, 5 pacientes) (datos detallados en la tabla 8).

Los primeros especímenes que documentaron la cirrosis fueron obtenidos el día 475±201 post-TxH, si bien una de ellas se diagnosticó el día 180º.

Tres de las 5 cirrosis mostraron un patrón morfológico micronodular (figura 12). En 4 casos se estudiaron las piezas de resección del injerto y 2 de ellas asociaban ductopenia mayor del 50% y estenosis lumbinales de arterias hiliares por acúmulos de macrófagos espumosos subendoteliales (rechazo crónico).

TABLA 8. DAP: CIRROSIS

Caso	Tª	DAPs	Bioquímica hepática			Inmunohistoquímica			Serología							
			ALT	FA	BIL	HBsAg	HBcAg nuc/cit	HDAg	VHB			VHD		VHC		
									sAg	se	eAg	se	ADN	sHD	ARN	sHC
nº 4	180 #	CI	153	211	9,5	+	+/-	+	+	-	-	+	-	+	-	-
	200 #	CI	146	214	8,9	-	-/-	+	-	-	-	+	-	+	-	-
	455	CI	389	173	3,8	-	-/-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
	594	CI	372	283	4,1	-	-/-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
	729	CI	172	133	7	-	-/-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
nº 7	497	CI	180	105	7,5	++++	+++ / ++	-	+	-	+	-	+	-	nr	nr
	519	CI	138	112	14,3	++++	+++ / ++	-	+	-	+	-	+	-	nr	nr
nº 11	539	CI	132	117	0,5	++++	+++ / ++	-	+	-	+	-	+	-	nr	-*
nº 13	371	CI	119	956	46,5	-	-/-	-	-	+	-	-	-	-	nr	-
	404	CI/RC	125	850	40	-	-/-	-	-	+	-	-	-	-	nr	+
nº 26	791	CI	322	504	29	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	nr	+
	834	CI/RC	328	229	7	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	nr	+
media:			475													
DS:			201													
			215	324	14,8											
			100	280	14,5											

CI=cirrosis; RC=rechazo crónico; Otras abreviaturas referidas en la Tabla 5.

Los 3 injertos cirróticos infectados por el VHB expresaron ambos antígenos tisulares (HBsAg y HBeAg). El gradiente antigénico tisular fué elevado y mantenido excepto en el paciente antiHD positivo tratado con foscarnet (caso nº4). El HBsAg mostró el característico patrón citoplasmático difuso propio de los especímenes con hepatitis crónica existiendo además con frecuencia un componente membranoso y marginal asociado (figura 13). La tinción del HBeAg fué, igual que en los tejidos hepáticos con hepatitis crónica, de tipo nuclear y citoplasmático.

Las 2 cirrosis desarrolladas en injertos no infectados por el VHB pertenecían a pacientes anti-VHC positivos.

Los test de función hepática mostraron una bioquímica hepatocitolítica y muy colestásica.

B.5. DAP: CAMBIOS MINIMOS (8 especímenes, 8 pacientes)
(datos detallados en la tabla 9).

Mínimas alteraciones microscópicas se observaron en los 8 especímenes de los 8 pacientes asintomáticos no reinfectados por el VHB ni por el VHD que autorizaron biopsias tardías protocolizadas (445±138 días postrasplante). En 7 casos éste fué el cuadro morfológico del injerto al final del seguimiento, mientras que en el restante paciente (caso nº26) constituyó solamente la etapa evolutiva previa al posterior desarrollo de hepatopatía en el injerto. Los test de función hepática paralelos al momento de la toma biopsica fueron casi normales.

TABLA 9. DAP: CAMBIOS MINIMOS

Caso	T*	DAPs	Bioquímica hepática			Inmunohistoquímica			Serología							
			ALT	FA	BIL	HBsAg	HBcAg	HDag	VHB		ADN	VHD		VHC		
									sAg	es		sAg	es	sHD	ARN	sHC
n° 3	768	CM	21	51	0,5	-	-	-	+ ^s	-	-	+	-	+	-	-
n° 9	463	CM	40	90	1,2	-	-	-	-	+	-	+	-	-	nr	-
n° 10	326	CM	36	179	1	-	-	-	-	-	-	+	-	-	nr	-*
n° 20	492	CM	39	102	0,8	-	-	-	-	+	-	+	-	-	nr	+
n° 21	400	CM	21	100	1	-	-	-	-	+	-	+	-	-	nr	-
n° 22	363	CM	29	104	1,3	-	-	-	-	+	-	+	-	-	nr	-
n° 24	365	CM	21	75	1,7	-	-	-	-	+	-	+	-	-	nr	-
n° 26	433	CM	162	165	0,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nr	-*
media:	451		46	108	1											
SD:	130		44	40	0,3											

CM=cambios mínimos; s=negativiza espontáneamente 80 días después; Otras abreviaturas referidas en la Tabla 5.

B.6. DAPs: DISFUNCIONES HEPATICAS NO RELACIONADAS CON LA INFECCION DEL INJERTO POR VHB, VHD O VHC (datos detallados en la tabla 10).

Los hallazgos histopatológicos identificaron también variadas causas de disfunción del injerto en períodos previos a la hepatopatía atribuible al VHB, VHD y/o VHC. Los diagnósticos microscópicos realizados fueron los habituales en el curso de cualquier serie de pacientes trasplantados.

TABLA 10. DISFUNCIONES HEPATICAS NO RELACIONADAS CON LA INFECCION DEL INJERTO POR VHB, VHD O VHC.

DAP	Nº de pacientes	Nº de especímenes	Días post-TxH mids (intervalo)
Rechazo agudo	11	18	26±27 (7-96)
Patología biliar	4	8	56±57 (6-155)
Colestasis func.	4	7	50±28 (8-86)
Isquemia	2	2	21±4 (17-25)
Hepatitis CMV	2	2	41±1 (40-41)
Rechazo crónico	1	1	336
Esteatosis	1	1	5

DISCUSSION

Los resultados han mostrado que algunos de los pacientes re infectados por el VHB durante el curso postrasplante han sufrido coinfección o superinfección por otros virus hepatotropos (VHD, VHC). Con el fin de comentar ordenadamente estos resultados y de poder valorar la interrelación que ha existido entre estas infecciones y el curso clinicopatológico, los comentarios se han distribuido en tres apartados:

- I. Recurrencia de la infección por el VHB.
- II. Recurrencia de la infección por el VHD.
- III. Infección por el VHC.

I. RECURRENCIA DE LA INFECCION POR EL VHB

La indicación del trasplante hepático como terapéutica de las hepatopatías terminales HBsAg-seropositivas es cuestionada por el alto porcentaje de recurrencia de reinfección y de hepatitis en el injerto. En ésta y en otras series (17, 46, 53, 54, 72, 90, 98, 123, 142, 160, 161, 169, 230, 238) se ha observado recidiva en al menos la mitad de los pacientes. Sin embargo, los porcentajes de reinfección se reportan también más bajos (40, 124, 152, 157, 187, 207, 208). Esta variabilidad en la prevalencia de la recidiva puede estar condicionada por aquellos factores a los que se ha atribuido capacidad de influir en la reinfección viral: 1) el estado replicativo del VHB pre-TxH, cuyo conocimiento depende de los tests empleados para valorarlo, 2) el uso de inmunoprofilaxis y/o de otras terapéuticas antivirales y 3) el tipo de hepatopatía terminal indicativa del TxH.

I.A. FACTORES DE RIESGO Y TERAPIAS PREVENTIVAS.

La existencia de **replicación del VHB pre-TxH** se ha referido que constituye un importante factor de riesgo de recidiva de la infección viral (121, 137, 152, 198). En el presente estudio este hecho ha sido también observado. En nuestros pacientes, la infección del injerto por el VHB se ha asociado significativamente con la presencia de un estado replicativo del VHB en el momento del trasplante. Pero aunque este resultado ha sido concordante con el de la mayoría de los estudios publicados que especifican esta asociación (11, 54, 152, 169,

207, 208, 238), nuestro estudio difiere en el número de marcadores virales utilizados para determinar la replicación del VHB pretrasplante hepático. En dichas series, los únicos marcadores de replicación que se han valorado para conocer el estado infectivo pre-TxH han sido los serológicos (HBeAg y/o DNA viral séricos), sin considerar la positividad o negatividad del HBcAg tisular en el hígado nativo. Sus resultados muestran que la recidiva de la infección viral acontece en la práctica totalidad de los pacientes HBeAg y/o ADN-VHB seropositivos pretrasplante, pero también en un relevante porcentaje (oscilante entre un 29 y un 75%) de casos trasplantados con estos marcadores negativos. En el presente trabajo, además de los marcadores serológicos, también se ha valorado el HBcAg en el hígado nativo para determinar la actividad replicativa del VHB pre-TxH. La incorporación de este marcador ha resultado ser de gran utilidad en el estudio de la replicación pretrasplante, y por consiguiente, muy útil también en la predicción de un mayor riesgo de recidiva. Seis de nuestros 10 pacientes replicantes eran casos con cirrosis cuyo único marcador positivo de replicación del VHB fué el HBcAg en el hígado nativo. A pesar de su estado anti-HBe y de la negatividad del ADN viral en suero pre-TxH, todos ellos infectaron el injerto. Estos resultados indicarían que la ausencia preoperatoria de HBeAg y del ADN del VHB en el suero no siempre significa replicación viral inactiva o ausente y por tanto bajo riesgo de recidiva, ya que puede existir en el hígado nativo actividad replicativa del VHB serologicamente silente. Por lo tanto,

creemos que es importante valorar el HBcAg tisular en el estudio preoperatorio de la replicación viral, especialmente en aquellos pacientes cirróticos HBsAg-seropositivos que son propuestos para trasplante por tener los marcadores serológicos de replicación viral negativos.

La inmunoprofilaxis pasiva administrada de forma prolongada ha sido, hasta el momento, la medida terapéutica que ha obtenido mejores resultados en la prevención de la reinfección viral. La mayoría de los estudios realizados (40, 70, 124, 152, 157, 187, 207, 208) han conseguido, con este tratamiento, reducir el porcentaje de recurrencias hasta cifras que oscilan entre el 18 y el 36%. En nuestro trabajo, la administración prolongada de inmunoprofilaxis pasiva ha cursado también con un significativo menor número de recidivas. Solamente el 14% de los pacientes que la recibieron infectaron el injerto, frente al 63% de recurrencias que mostraron los que no la recibieron. Sin embargo, se describe que la inmunoprofilaxis pasiva puede retrasar el inicio de la reinfección viral (29, 124, 152, 207, 208), hecho que implica que se cuestione parcialmente su éxito (11, 121, 198). En general, casi todas las recidivas tardías que se han descrito con este tratamiento han ocurrido durante los primeros 15 meses de seguimiento, pero se refieren también casos aislados más tardíos, a los 2 años del trasplante (152, 207, 208). En nuestra serie, el único paciente reinfectado entre los tratados con inmunoprofilaxis pasiva prolongada desarrolló la infección del injerto tardíamente, a los 10

meses de la cirugía. El tiempo medio de seguimiento en los restantes casos así tratados fué de 16 meses. Este período de seguimiento ha sido similar o superior al de la mayoría de los estudios realizados que utilizan este tipo de modalidad terapéutica para prevenir la reinfección viral (17, 39, 40, 70, 124, 147), siendo la posibilidad de una recurrencia pasados 16 meses del trasplante ya muy baja (152). Por lo tanto, el presente trabajo apoya que este tipo de medida preventiva consigue reducir el número de recidivas, si bien son necesarios más estudios con largo seguimiento para poder determinar realmente su eficacia a muy largo plazo.

La influencia que puede ejercer el **tipo de hepatopatía terminal** en la reinfección viral es un tema actualmente controvertido. El alto riesgo de recidiva en el grupo de pacientes cirróticos HBsAg-seropositivos es un dato ampliamente demostrado (11, 46, 53, 152, 160, 161, 169, 208, 238). La controversia radica en si el grupo de pacientes trasplantados por hepatitis fulminante B muestran, con respecto a los cirróticos, menor riesgo de infección recurrente postrasplante. Mientras varios autores describen este hecho (11, 109, 166, 176, 207, 208), otros refieren, por el contrario, similares porcentajes de recurrencias entre unos pacientes y otros (121, 169, 238). Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con estos últimos. La incidencia de infección del injerto por el VHB no fué significativamente menos frecuente en los pacientes agudos urgentes que en los trasplantados por cirrosis. El bajo o nulo porcentaje de

recidivas observado en algunas series de pacientes trasplantados por hepatitis fulminante se ha atribuido a la ausencia de actividad replicativa viral que éstos mostraban pretrasplante (207, 208). Tanto en este trabajo como en el de Todo y col (238), existió un similar porcentaje de recurrencias objetivado en los dos grupos y ello coincide con que también el porcentaje de casos con replicación viral pretrasplante era similar en ambos. Todo ello apoya que el mayor o menor riesgo de recidiva en los pacientes trasplantados por hepatitis fulminante podría estar básicamente condicionado por el estado infectivo del VHB (replicativo, no replicativo) que éstos presentan en el momento del trasplante. Sin embargo, la incompleta e irregular información que sobre este factor se detalla en la literatura que ha estudiado la reinfección postrasplante en la hepatitis fulminante B (64, 109, 166, 176, 231) junto a la todavía limitada experiencia que hasta hoy existe en este campo, impiden descartar que en las discordancias deban ser considerados otros factores (protocolización previa, etc.)

I.B. EVOLUCION MORFOLOGICA DE LOS INJERTOS

I.B.1. Posibilidades evolutivas

El estudio morfológico secuencial de los 13 injertos hepáticos con infección recurrente por el VHB documentó el establecimiento de 4 tipos básicos de posibilidades evolutivas: 3 injertos permanecieron durante todo el seguimiento en estado de "portador no agresivo" del VHB, dos mostraron un cuadro de hepatitis autolimitada, uno instauró una

necrosis hepática masiva (hepatitis fulminante), y los 7 restantes (54%) desarrollaron una hepatitis crónica progresiva que en 3 casos evolucionó a la cirrosis.

La recurrencia de la infección ha provocado, en éste y en la mayoría de los estudios publicados que especifican la evolución morfológica de los injertos hepáticos re infectados por el VHB (45, 54, 121, 161, 207, 208, 238) el desarrollo de hepatitis crónica en más de la mitad de los casos, proporción netamente superior que las restantes posibilidades evolutivas.

I.B.2. Características de las hepatitis recurrentes

Histologicamente, las hepatopatías observadas en el injerto hepático han sido las descritas en la infección por virus hepatotropos del hígado no trasplantado (6, 107, 108) pero con peculiaridades morfológicas y patocrónicas.

En las **hepatitis lobulillares** iniciales y en el componente lobulillar de las hepatitis crónicas, el infiltrado inflamatorio que acompañaba a la necrosis hepatocelular fué escaso. Este signo histológico, descrito inicialmente por Demetris y col. (53, 54) y referido posteriormente por otros autores (46, 153) se ha atribuído al estado de inmunosupresión del paciente (53, 54).

En un caso, la lesión hepática estuvo caracterizada por una intensa fibrosis, proliferación ductulillar y colestasis, descripción morfológica detallada ya por Corman y col. (42) y definida posteriormente por Davies y col. (46) como **hepatitis colestásica fibrosante**, entidad clinicopatológica

observada únicamente en el hígado trasplantado.

Casi todos los cuadros histológicos con criterios de hepatitis crónica y también una de las tres cirrosis establecidas se diagnosticaron antes del año postrasplante. Este peculiar curso acelerado de la hepatitis recurrente, detallado también en otros estudios (46, 54, 125, 152, 207, 238) podría estar influenciado por el tratamiento inmunosupresor (49, 164). Sin embargo, dentro del controvertido efecto que la inmunosupresión ejerce sobre la lesión hepática producida por el VHB (59) incluso los más desalentadores estudios realizados en pacientes inmunodeprimidos por trasplante renal (106, 163) describen un curso morfológico menos agresivo, detallando evolución a la cirrosis generalmente no antes de los 3 años de seguimiento. Por lo tanto, la extrema rapidez y agresividad de la hepatopatía en el injerto hepático no parece explicable solamente por el estado de inmunosupresión y sugiere la participación de otros mecanismos asociados.

El otro hallazgo llamativo fué el frecuente patrón micronodular que expresaron estas cirrosis postrasplante, en contraste con el clásico patrón macronodular que habitualmente produce la infección crónica por virus hepatotropos en el hígado no trasplantado (108, 212). Este cambio morfológico sugiere una escasa regeneración hepatocelular del nódulo cirrótico.

Entre todas estas hepatopatías, la hepatitis crónica activa que se diagnostica en un período temprano postrasplante plantea frecuentemente problemas de diagnóstico diferencial con el rechazo celular. Además de la necrosis erosiva

y la ausencia de endotelitis como signos altamente sugestivos de hepatitis crónica activa (53), el alto componente inflamatorio de células plasmáticas en el infiltrado inflamatorio portal, presente en la mayoría de los especímenes con hepatitis crónica activa, ha sido también otro signo morfológico de gran utilidad para distinguir ambos procesos clinicopatológicos en su presentación.

I.B.3. Correlación clínico-patológica.

Los test de función hepática en las distintas formas anatomoclínicas de hepatitis han mostrado un perfil preferentemente hepatocitolítico con variable intensidad del componente colestásico, cuadro bioquímico de características cualitativas habituales de las hepatitis en la población normal pero a veces cuantitativamente muy distinto en las hepatitis crónicas postrasplante. En los pacientes no inmunosuprimidos el grado de hepatocitolisis es generalmente concordante con el de la actividad de la hepatopatía (71, 165, 210). Por el contrario, en el presente estudio esta concordancia frecuentemente no se ha objetivado. En el 50% de los especímenes con DAP de hepatitis crónica, el estudio analítico de la función hepática obtenido simultáneamente a la toma biopsica mostraba discreta elevación enzimática (niveles de transaminasas sólo 2 o 3 veces superior a lo normal) a pesar de la severidad histológica de la lesión hepática. Esta escasa alteración bioquímica discordante con la agresividad de los cambios morfológicos es un hecho frecuentemente descrito en hepatitis de pacientes inmunodeprimidos por tras-

plante renal (89, 163, 164). En el trasplante hepático, Müller y col. (152), unos de los pocos autores que estudian la correlación entre la hepatopatía recurrente en el injerto y el perfil bioquímico hepático, descubren también escasa elevación enzimática en sus hepatitis recurrentes postrasplante. Los resultados obtenidos en el presente trabajo, los de Müller y col., y lo observado durante el curso clínico de hepatitis en el contexto de pacientes con trasplante renal demuestra que los enzimas hepáticos son un marcador poco predictivo del grado de actividad de la hepatopatía en el paciente inmunosuprimido yatrogenicamente.

I.C. EVOLUCION SEROLOGICA E INMUNOHISTOQUIMICA

En este estudio, la seropositividad para HBsAg precedió a la detección de la infección viral en el injerto en casi todos los pacientes. El HBsAg sérico fué positivo desde el primer mes de la cirugía y, durante un período variable de tiempo su positividad cursó en ausencia inmunohistoquímica de antígenos del VHB en el injerto. La persistencia en el suero del HBsAg postrasplante sin demostrable infección hepática concomitante representa probablemente la expresión serológica de síntesis extrahepática del VHB (121, 131, 246). Por lo tanto, la observación de este hecho precediendo a la demostración de los antígenos virales en el injerto, hallazgo observado en éste y en otros estudios (53, 54, 238, 248) es concordante con la hipótesis actualmente más aceptada (60, 69, 121, 152, 186, 207, 208, 260) que atribuye a la síntesis extrahepática del VHB (23, 48, 172, 258) causa principal del

establecimiento de la infección en el injerto hepático.

Una vez instaurada la infección viral en el injerto, todos los pacientes permanecieron HBsAg seropositivos y la mayoría de ellos desarrollaron además signos de replicación activa del VHB. Paradójicamente, el anti-HBcIgM sérico estuvo ausente en casi todos ellos. Este anticuerpo, marcador serológico positivo en pacientes inmunocompetentes con hepatitis B aguda y crónica (9, 92, 129, 217), es considerado un buen indicador tanto de la actividad replicativa del virus (9, 219) como del grado de lesión morfológica hepática (9, 31, 218). En el presente estudio, sin embargo, este hecho (correlación negativa entre ausente expresión serológica de anti-HBcIgM y replicación viral / severidad de la hepatopatía) no se ha observado. El único paciente que positivizó este marcador coincidiendo con el inicio de la reinfección por el VHB fué el que desarrolló una hepatitis fulminante, entidad clinicopatológica constantemente asociada a un muy alto título de anti-HBcIgM en el suero (77, 239). En los restantes casos la recurrencia no se acompañó de la aparición serológica del mismo a pesar de la existencia de actividad replicativa e instauración, en varios de ellos, de severa hepatopatía en el injerto. Nuestros resultados son similares a los obtenidos por O'Grady y col. (161), unos de los escasos autores que estudian la evolución de este marcador en la recurrencia de la infección por el VHB postrasplante hepático. En su trabajo, ellos describen también escasa expresión serológica del mismo a pesar de la intensa actividad replica-

tiva y severa lesión hepática que mostró la recurrencia de la infección viral. En pacientes no trasplantados con hepatitis B, la marcada disminución o pérdida del anti-HBcIgM que acontece tras la administración de tratamiento esteroideo se ha atribuído al efecto inhibidor que éste ejerce sobre la inmunidad humoral (220). En base a ello, la supresión de la inmunidad humoral que padece el paciente trasplantado (89) podría también justificar esta falta de respuesta inmunológica a la actividad de la infección viral recurrente postrasplante hepático.

En su prevalente evolución a la cronicidad, la reinfección viral mostró un progresivo y marcado incremento de la actividad replicativa del VHB. En las fases más iniciales de la recurrencia, el nivel de actividad replicativa todavía era muy bajo, como indica la expresión sólo ocasional del HBcAg nuclear en el tejido hepático y la ausencia del DNA sérico viral (210). Sin embargo, pasados los tres primeros meses de seguimiento el estudio inmunohistoquímico de los injertos documentó un intenso incremento de la expresión nuclear del HBcAg, incremento que persistió hasta alcanzar una expresión masiva y abarcar virtualmente la práctica totalidad de los núcleos hepatocitarios. Asimismo, paralelamente a esta intensa expresión inmunohistoquímica nuclear de HBcAg (localización topográfica del antígeno indicativa de replicación viral [71, 101, 102, 154, 179]) el ADN sérico del VHB fué constantemente positivo. Este incremento progresivo y severo del nivel de actividad replicativa en la cronificación de la

infección viral recurrente por el VHB post-TxH es un hecho que también han descrito otros autores. Demetris y col. (54), Davies y col. (45), Phillips y col. (169) y Hopf y col. (98) relatan, en sus trabajos, similar curso evolutivo del HBcAg nuclear en los injertos hepáticos, refiriendo también la progresión de un inicial patrón de expresión de tipo focal hacia un patrón de tinción de tipo difuso a medida que aumenta el tiempo de seguimiento. Por otra parte, O'Grady y col. (161) en su serie de pacientes HBsAg-seropositivos sometidos a trasplante hepático describen también, mediante estudio de cuantificación del ADN viral en suero, un masivo incremento del mismo en la práctica totalidad de los casos recurrentes que evolucionan a la cronicidad. Este patrón altamente infeccioso de la reinfección viral postrasplante hepático es congruente con el que se ha descrito en pacientes crónicamente infectados por el VHB sometidos a trasplante renal, donde tras el prolongado estado de inmunosupresión se describe también un marcado incremento de la replicación viral (50, 62, 89, 106).

Un hallazgo relevante ha sido el peculiar curso inmunohistoquímico que ha expresado el HBsAg en el injerto paralelamente al progresivo incremento de HBcAg nuclear. En el hígado no trasplantado, entre las distintas combinaciones descritas entre la expresión tisular de HBsAg y HBcAg, un punto generalmente en común es la relación inversamente proporcional que existe entre ambos antígenos virales (14, 35, 154, 180, 234), es decir, extensa expresión de HBsAg cuando

el HBcAg es escaso o ausente y, por el contrario, focal tinción del mismo cuando el HBcAg es difuso. En el presente trabajo, junto al progresivo incremento de HBcAg tisular se apreció también un paralelo incremento del HBsAg el cual, además, mostró preferentemente un patrón de tinción de tipo citoplasmático homogéneo. Esta sorprendente expresión tisular masiva y simultánea de ambos antígenos la relatan también otros autores. Davies y col. (46) en su definición de la hepatitis colestásica fibrosante, describen similar expresión antigénica en todos los injertos que desarrollan esta particular forma morfológica de hepatitis B. Aunque los autores no especifican la evolución y relación secuencial entre ambos antígenos a lo largo del seguimiento, detallan en estos injertos extensa positividad para HBcAg nuclear junto a una relevante y generalizada expresión citoplasmática homogénea de HBsAg. La similitud con nuestros resultados todavía es mayor en el recientemente publicado trabajo de Phillips y col. (169), ya que estos autores también estudian secuencialmente el curso de ambos antígenos. En su trabajo, ellos describen también un simultáneo, rápido y masivo incremento de HBsAg citoplasmático homogéneo paralelamente a HBcAg nuclear. Esta sobrecarga antigénica compartida entre HBcAg y HBsAg citoplasmático homogéneo, observado en éste y en los anteriormente citados estudios, no se ha descrito en la hepatitis B del hígado no trasplantado. Lo excepcional no es que en el tejido hepático el HBcAg nuclear coexista con un patrón citoplasmático homogéneo de HBsAg (asociación que sí se ha descrito con frecuencia en la hepatitis B del hígado

no trasplantado (35, 102, 103) sino que ambos antígenos se expresen con tanta intensidad. La razón de esta severa sobrecarga de antígenos se ha sugerido (169) que podría estar relacionada con la dosis de virus a que el injerto es expuesto bajo el ya establecido estado de inmunosupresión.

I.D. CORRELACION VIROLOGICO-MORFOLOGICA

Analizadas separadamente las características histopatológicas y las características virológicas que la infección recurrente por el VHB ha mostrado en el curso postrasplante, el otro importante punto a comentar es la correlación que ha existido entre ambas.

En el contexto de **la hepatitis B que se desarrolla en un hígado no trasplantado**, los mecanismos por los que se explican las lesiones hepatocelulares resultan de la combinación de un virus B infectivo pero no citopático y del ataque inmune contra los hepatocitos que albergan este virus (73, 144, 145, 242, 243). Algunas de las principales razones que apoyan este tipo de mecanismo son:

1ª) La yuxtaposición morfológica que en el lobulillo hepático existe entre necrosis hepatocelular y infiltrado inflamatorio mononuclear (143).

2ª) La relación inversamente proporcional existente entre el grado de actividad necroinflamatoria histológica y a) la cantidad de HBsAg en el tejido hepático: los mayores acúmulos de HBsAg se observan en portadores "sanos" del virus (95, 159, 180, 134) y b) nivel de expresión tisular de la actividad replicativa viral: mientras altos niveles de replicación

(abundantes núcleos hepatocitarios con positividad inmunohistoquímica del HBcAg) cursan frecuentemente sin o con sólo mínima lesión hepática, la agresividad de la hepatopatía y progresiva evolución a la cirrosis habitualmente acontece con bajo nivel de replicación viral (34, 35, 71, 80, 101, 144, 154).

En el contexto de la **hepatitis B que se desarrolla en un hígado trasplantado** las observaciones antedichas no están presentes:

1) En éste y en otros estudios (46, 53, 54, 153, 238) la extensa degeneración acidófila de los hepatocitos que mostró el lobulillo hepático contrastaba con un escaso o nulo componente inflamatorio adyacente.

2) Los intensos cambios histopatológicos documentados en este estudio en los diagnósticos de hepatitis crónica y su rápida progresión hacia la cirrosis coexistieron con un alto nivel inmunohistoquímico de replicación viral (patrón difuso de HBcAg nuclear) y abundante expresión inmunohistoquímica de HBsAg. Resultados muy similares describen los estudios postrasplante anteriormente citados, especialmente el de Phillips y col. (169) que también refiere una instauración y una progresión de la hepatopatía crónica paralelas a una masiva expresión tisular de ambos antígenos y, aunque en menor grado, el de Davies y col. (46), que refiere idéntico espectro inmunohistoquímico si bien situado en el subtipo de hepatopatía por ellos denominada hepatitis colestásica fibrosante.

Recientemente, estudios experimentales con distintos modelos de animales (33, 43, 167) han demostrado que un progresivo acúmulo intracitoplasmático de HBsAg producido tras la síntesis excesiva del mismo puede ser citotóxico para los hepatocitos. Es interesante resaltar que la masiva expresión tisular de HBsAg citoplasmático homogéneo fué exclusivo de los injertos que desarrollaron hepatitis crónica. También es oportuno destacar que el caso que permaneció en constante estado de portador sin hepatitis con largo seguimiento expresó un patrón HBsAg tisular del tipo membranoso, clásicamente descrito en pacientes inmunodeprimidos portadores no agresivos del VHB (14, 84, 180, 257).

Por otra parte, estudios clínicos (85, 101, 103) han sugerido que la localización citoplasmática del HBCAg podría tener efecto citopático para los hepatocitos y, muy recientemente, estudios experimentales con cultivos celulares (202) han demostrado el efecto citotóxico de este antígeno cuando se acumula a alto nivel intracelular. En este trabajo la práctica totalidad de los especímenes con hepatitis crónica expresaban extensa positividad inmunohistoquímica para HBCAg citoplasmático, a diferencia de la expresión exclusivamente nuclear que el antígeno mostró en los tejidos hepáticos portadores del VHB sin hepatitis.

Por lo tanto, la simultánea presencia de síntesis masiva intracelular de estos dos antígenos virales y severidad progresiva de las lesiones morfológicas junto con la disociación entre abundante daño celular y componente inflamatorio ausente no apoya un mecanismo patogénico inmunológico de la lesión

hepatocelular. Por el contrario, estas observaciones sugieren que en el injerto hepático el daño celular podría ser debido al supuesto potencial citopático del VHB.

En síntesis, en el presente estudio se ha demostrado que la infección crónica por el VHB del hígado trasplantado difiere con respecto a la descrita en el no trasplantado en: 1) una mayor prevalencia de hepatitis crónica, 2) un curso morfológico de la misma mucho más rápido, 3) una falta de yuxtaposición morfológica entre necrosis hepatocelular e infiltrado inflamatorio interhepatocitario y 4) una relación directamente proporcional entre la cantidad de antígenos virales intracelulares y la severidad de la lesión hepática. En base a estas diferencias, este trabajo apoya fuertemente la reciente propuesta de Lake y Wright (121) de que la hepatitis B recurrente postrasplante hepático es una enfermedad fisiopatologicamente distinta a la que se describe en el paciente no sometido a trasplante hepático.

II. RECURRENCIA DE LA INFECCION POR EL VHD.

Los 4 pacientes cirróticos anti-HD positivos desarrollaron recurrencia de la infección por el VHD en el curso postrasplante. Este resultado confirma el alto riesgo de recidiva de la infección viral, referida entre el 70% y el 100% de los casos según las series (1, 45, 46, 135, 136, 162, 187, 196).

II.A. EVOLUCION VIROLOGICA.

El concepto del VHD como "defectivo" está basado en las observaciones de que la infección por el VHD no puede instaurarse (es decir, éste no puede replicar ni expresarse) sin la ayuda de la infección activa del VHB (110, 139, 140, 189, 190). En consecuencia, hasta ahora se ha pensado que las dos únicas formas posibles de interacción entre ambos virus son: a) la **coinfección** simultánea por el VHB y VHD en un paciente sano, y b) la **superinfección por el VHD** en un paciente crónicamente infectado por el VHB (97, 110, 191).

En el presente trabajo, el estudio serológico e inmunohistoquímico postrasplante hepático ha demostrado, por el contrario:

1º) **Instauración de la infección recurrente por el VHD sin acompañante reactivación de la del VHB:** Durante al menos los 3 primeros meses postrasplante, se detectó una mantenida expresión tisular de actividad replicativa del VHD sin demostración simultánea de coinfección hepática ni replicación serológica del VHB. Estos resultados han sido también recién-

temente referidos por otros autores (45, 46, 133, 162, 196). La observación, en éste y en los previamente citados estudios, de establecimiento de la infección por el VHD en el injerto a pesar de la ausencia de signos de actividad del VHB apoya por tanto la sugerencia de Ottobrelli y col. (162) de que la infección por el VHD puede no ser necesariamente dependiente de la del VHB.

2º) Desarrollo de la recurrencia de la infección por el VHB prosiguiendo a la del VHD: En los 3 pacientes que desarrollaron recurrencia de la infección por el VHB, la expresión tisular de HBCAg fué posterior a la del HDAG. Esta instauración de la replicación del VHB después de la del VHD sólo ha sido descrita en el contexto del trasplante hepático (45, 46, 133, 162). En el hígado no trasplantado, incluso en la coinfección simultánea por el VHB y VHD, la actividad replicativa del VHB precede a la del VHD (158, 193, 240). Por consiguiente, esta particular relación virológica secuencial entre el VHB y el VHD observada postrasplante hepático traduce una posible tercera forma de interacción entre ambos virus: la **sobreinfección por el VHB.**

En el curso virológico postrasplante hepático, otros hallazgos de interés han sido:

3º) La precocidad con que fué detectada la reinfección por el VHD: El HDAG fué demostrado muy tempranamente, a los 17±7 días de la cirugía. Este breve espacio de tiempo entre el implante del injerto hepático y su infección por el VHD también ha sido referido en otras series de pacientes anti-HD

positivos sometidos a TxH (133, 162). Ello es indicativo del corto período de incubación de este tipo de reinfección viral. Esta brevedad en la instauración de la replicación del VHB había sido observada a nivel experimental en cultivos celulares (78) e en inoculaciones seriadas del virus en chimpancés (239). Su interés reside en la aportación al escaso conocimiento que existe en cuanto a su real tiempo de incubación en el hombre.

4^o) **La modificación del curso infectivo del VHD en función de la instauración o no de la recurrencia del VHB:** Posteriormente al período inicial de aislada reinfección por el VHD, el HDAG tisular experimentó un marcado incremento coincidiendo con la detección de HBcAg en los 3 injertos que desarrollaron la infección por el VHB, y desapareció del tejido hepático estudiado en el injerto que no la instauró. La mayoría de los estudios que describen desarrollo de la reinfección del VHB después de la del VHD (45, 46, 133, 162) también relatan un masivo incremento de inmunotinción hepatocitaria del antígeno coincidiendo con el establecimiento de la segunda reinfección viral. Algunos (46, 187) refieren asimismo transitoriedad del HDAG tisular si no se instaura posteriormente la reinfección por el VHB. Esta modificación de la actividad replicativa del VHD en función de la reactivación o no del VHB postrasplante hepático es congruente con el referido (223, 240) papel modulador que el VHB ejerce sobre el VHD.

5º) **La mayor sensibilidad de los métodos de demostración del HDAg tisular frente a los del ARN sérico para detectar la recurrencia del VHD postrasplante:** En el curso postrasplante, la expresión inmunohistoquímica del HDAg en el tejido hepático fué el marcador más precoz para detectar la instauración de la reinfección viral. En los 4 pacientes la inicial positividad tisular de HDAg no se acompañó de paralela presencia sérica del ARN viral y esta ausencia inicial persistió, en 3 de ellos, durante al menos los tres primeros meses de seguimiento. La expresión inmunohistoquímica de HDAg en el tejido hepático como único signo de actividad infectiva del VHD es un hecho descrito por otros autores (1, 136, 187, 196). La similitud de resultados entre éste y los anteriormente citados estudios califica al estudio inmunohistoquímico como el mejor método diagnóstico de recidiva de la infección por el VHD postrasplante hepático.

II.B. CORRELACION VIROLOGICO-MORFOLOGICA.

Clásicamente, el desarrollo de la hepatitis histológica que sigue a la sincrónica o metacrónica infección de un paciente por el VHB y VHD se ha considerado que dependía fundamentalmente del VHD (192, 195, 221) en base a su carácter altamente patógeno (140, 185, 190, 191, 195) y citopático (110, 190, 191, 240). Además, una de las principales razones indicativas de esta directa citopatogenicidad del VHD había sido que la presencia intrahepática de HDAg se asociaba invariablemente a lesión hepatocelular (188, 190, 191, 232).

En el presente trabajo, la secuencia de acontecimientos virológico-morfológicos que ha tenido lugar a lo largo del curso postrasplante ha sido distinta. El correlativo estudio inmunohistoquímico e histopatológico de los injertos ha documentado:

- 1º) **La permanente expresión tisular de HDAg no se acompañó de signos histológicos de hepatitis** durante la etapa inicial de aislada infección del injerto por el VHD. Este hecho demuestra la existencia de un estado de portador no agresivo del virus postrasplante. Nuestros resultados han sido muy similares a los descritos por los trabajos que han estudiado la evolución morfológica del injerto tras la recurrencia de la infección por el VHD (45, 46, 133, 162), en los que se relata también constante ausencia de lesión hepática mientras existe únicamente infección recurrente por el VHD.
- 2º) **El desarrollo de hepatitis histológica se objetivó una vez instaurada la infección recurrente por el VHB.** Esta hepatopatía coincidió con la aparición de HBCAg e incremento del HDAg en el tejido hepático. Esta interdependencia de ambos virus necesaria para que se establezca la lesión morfológica es un rasgo que también refieren los previamente citados estudios (45, 46, 133, 162).

Por lo tanto, la observación en el presente trabajo de un período de "portador sano" del VHD y de instauración del cuadro hepático sólo cuando existe concomitante infección hepática por el VHB, apoya la hipótesis de Ottobrelli y col. (162) y de Davies y col. (45) de que el VHD aislado puede no ser citopático.

III. INFECCION POR EL VHC.

La recidiva postrasplante de la infección VHC ha sido reportada con variada frecuencia (138, 177, 183) y, al menos, se observó en un paciente de esta serie. En otros 9 pacientes se demostró infección por el VHC postrasplante hepático. Esta infección por el VHC pudo provenir del receptor, del injerto implantado o de la sangre transfundida (184). El fenómeno "ventana" en la determinación serológica del anti-VHC (5, 65, 68) hace posible que el VHC pueda ser responsable de hepatitis inesperadas en el injerto hepático. En 4 pacientes que habían negativizado postrasplante todos los marcadores de infección del VHB, la infección por el VHC explicó el desarrollo de una hepatopatía crónica en el injerto. En otros 4 pacientes con hepatitis en el injerto la infección por el VHC coexistió con infección por el VHB. La secuencia evolutiva demostró antígenos del VHB y hepatitis en el injerto antes de la seroconversión a anti-VHC. Sin embargo, no fué posible determinar que grado de responsabilidad tuvo cada uno de estos virus en la lesión hepática.

En base a esta frecuente coexistencia de infección de más de un virus en el seguimiento postrasplante de pacientes HBsAg seropositivos, la posibilidad de una etiología multiviral de las hepatitis postrasplante debe ser tomada en cuenta.

CONCLUSIONES

- 1^a. En un tiempo de seguimiento de 532 ± 296 días, el 50% de los pacientes HBsAg seropositivos sometidos a trasplante hepático desarrollaron infección del injerto por el VHB.
- 2^a. La recurrencia fué significativamente más frecuente en los pacientes con replicación viral activa pretrasplante que en los no replicativos ($p=0,02$). Fué menos frecuente en los pacientes tratados con inmunoprofilaxis pasiva prolongada que en los que no recibieron este tratamiento ($p=0,03$).
- 3^a. La histología de los injertos hepáticos infectados por el VHB documentó:
 - desarrollo de hepatitis en el 76,9% y ejemplificación de los siguientes tipos anatomoclínicos: lobulillar, subaguda, fulminante, crónica activa y colestásica fibrosante.
 - una secuencia evolutiva extraordinariamente rápida desde infección sin lesión hasta cirrosis.
- 4^a. El primer signo de infección del injerto por el VHB fué la expresión inmunohistoquímica focal de HBCAg. Ésta fué seguida de rápida progresión a patrón difuso de HBCAg y HBsAg, rasgo indicativo de sobrecarga viral hepatocelular permitida por la inmunosupresión.

- 5^a. La rápida y masiva extensión intrahepática de los antígenos virales asociada al curso acelerado de la hepatopatía permiten describir a la hepatitis B recurrente postrasplante hepático como una enfermedad fisiopatológicamente distinta a la hepatitis B del paciente no trasplantado.
- 6^a. En los pacientes HBsAg y anti-HD seropositivos:
- la infección del injerto por el VHD fué muy precoz (17±7 días postrasplante) y siempre precedió a la del VHB.
 - la hepatitis histológica no se desarrolló hasta el momento en que el injerto expresó la infección recurrente por el VHB. Este hallazgo indica que el VHD aislado puede no ser citopático.
- 7^a. En esta serie de casos el trasplante hepático también prolongó la supervivencia de los pacientes. Un factor imprevisto y fortuito fué la infección por el VHC que empeoró el curso postrasplante de pacientes que habían superado la infección por el VHB.

FIGURAS

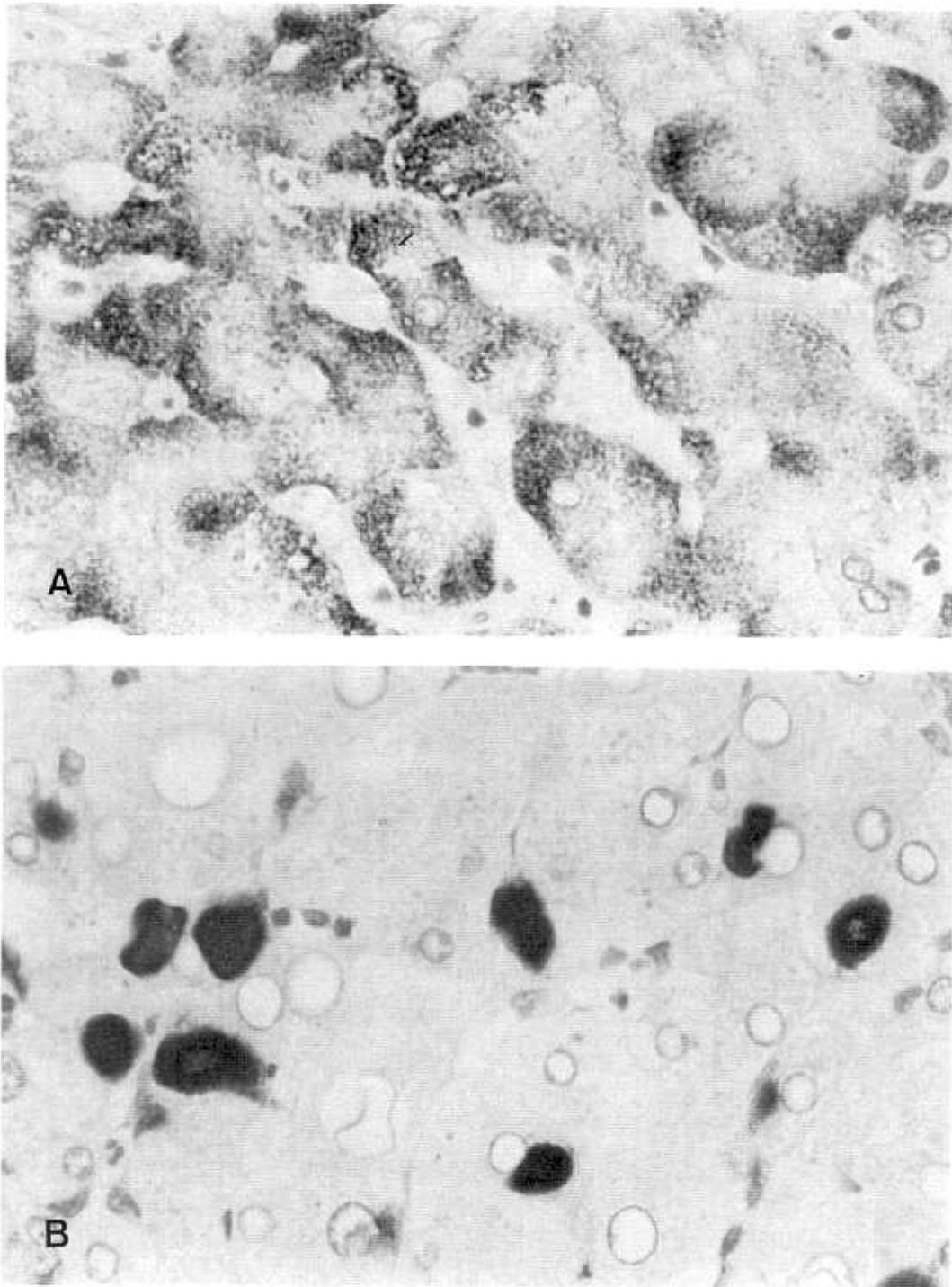


FIGURA 1. HBSAG EN HIGADO NATIVO CIRROTICO: Patrones de tinción dominantes: A.) de tipo marginal; B.) de tipo globular (Inmunoperoxidasa, x400).

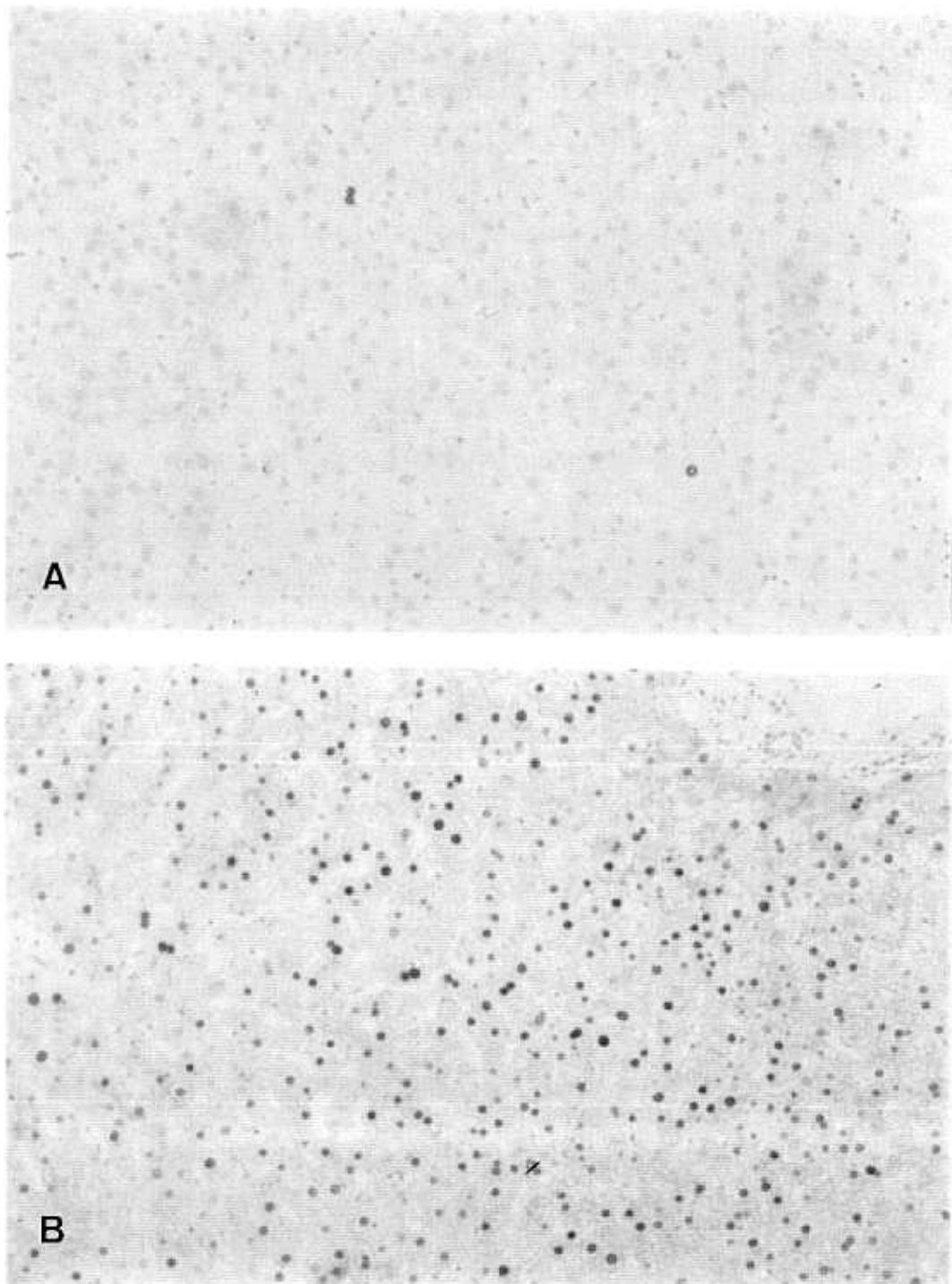


FIGURA 2. INCREMENTO SECUENCIAL DE HBcAG EN EL INJERTO:
A.) Positividad nuclear ocasional en biopsia inicial (día 27 postTxH); B.) Tinción nuclear masiva al final del seguimiento (día 584 postTxH) (Inmunoperox. x100).

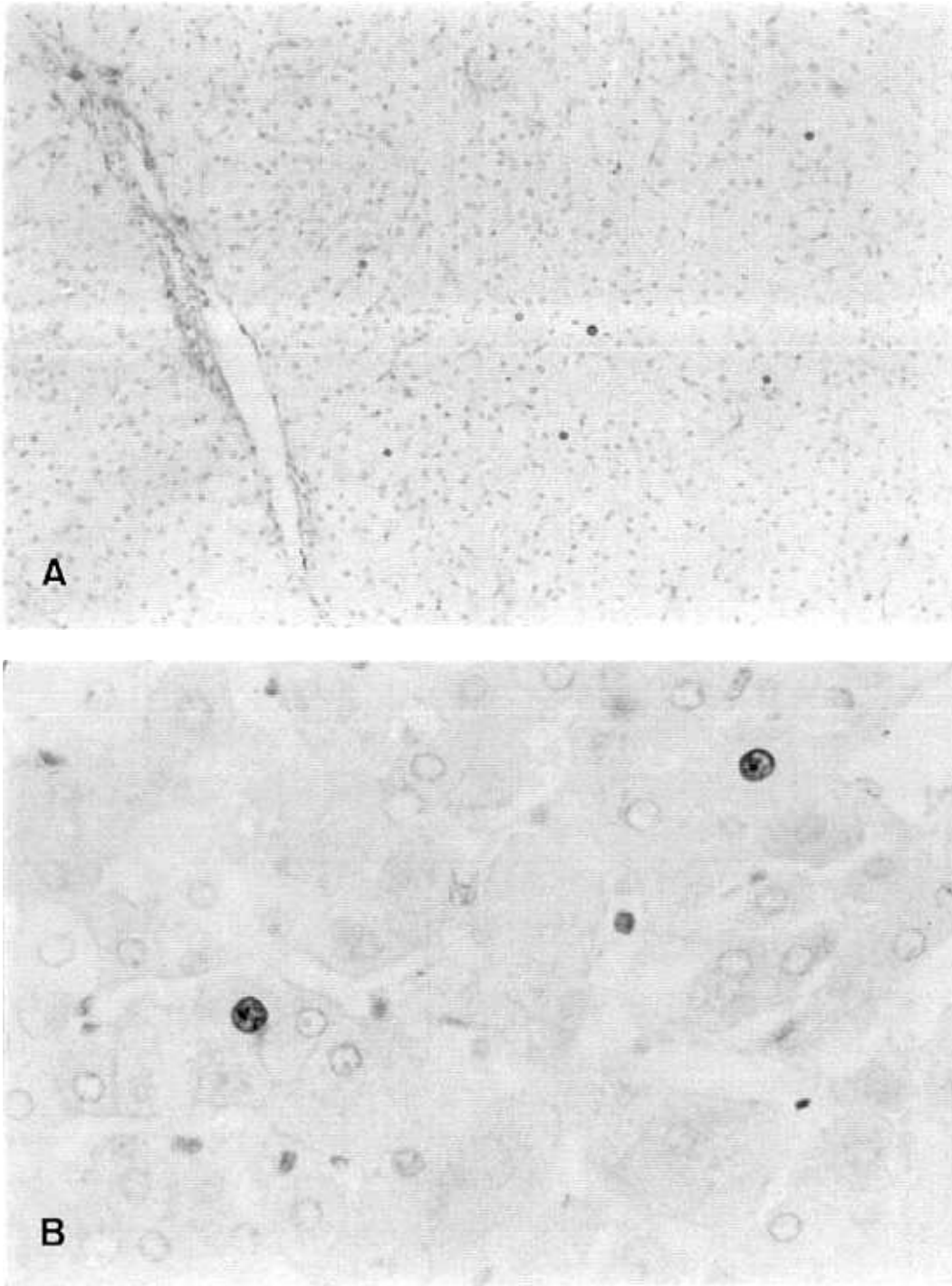


FIGURA 3. HDAG EN AISLADA INFECCION DEL INJERTO POR EL VHD: A.) Especimen del día 8 PostTxH sin lesión necroinflamatoria y con positividad nuclear para HDAG inferior al 5% de los hepatocitos (Inmunoperoxidasa, x100); B.) Detalle (x400).

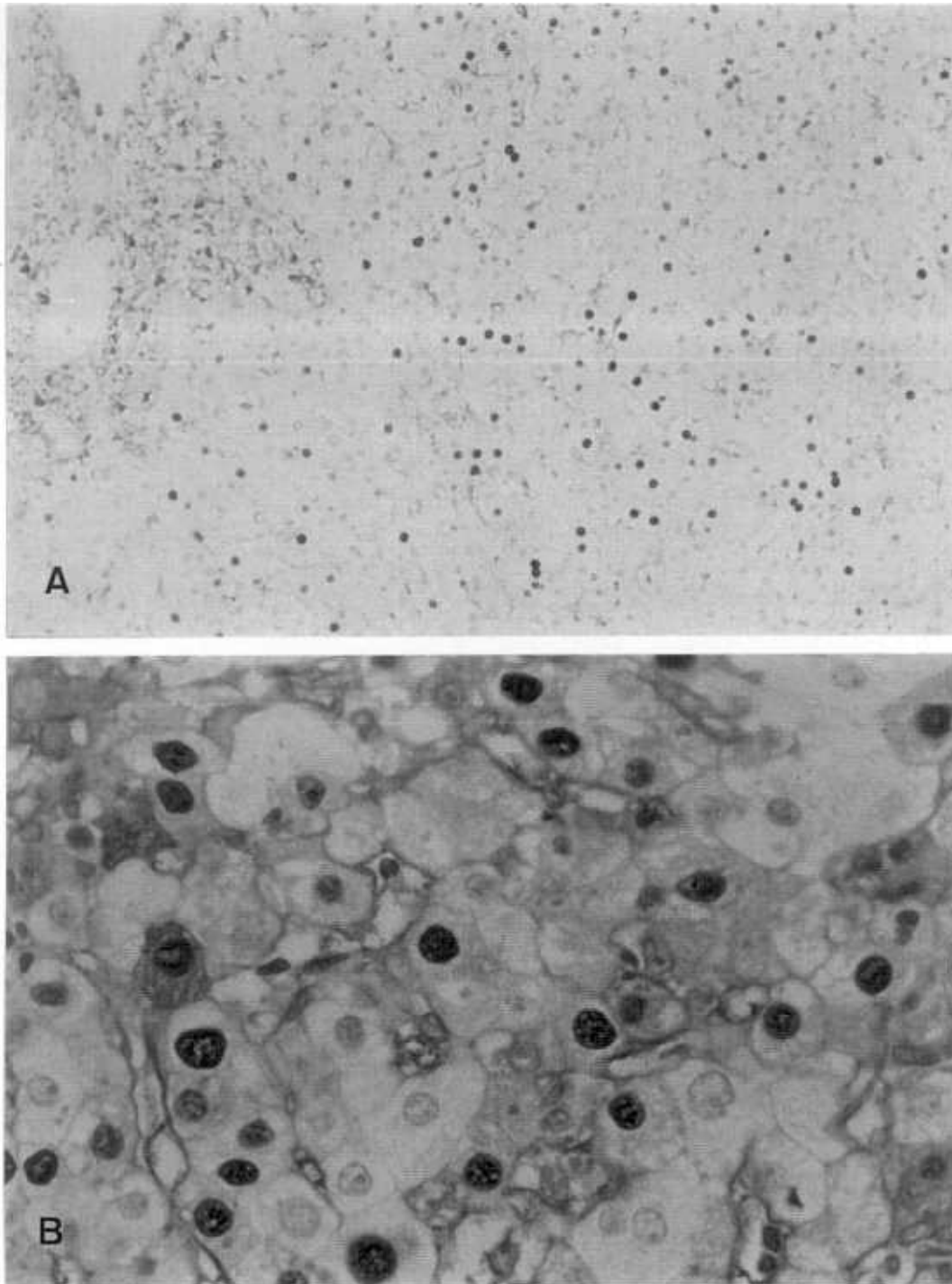


FIGURA 4. HDAG EN INJERTO INFECTADO POR VHD Y VHB:
A.) Biopsia hepática del día 140 postTxH con lesión
hepatítica portal y más del 70% de hepatocitos HDag
positivos (Inmunoperoxidasa, x100). B.) La tinción
es nuclear y, ocasionalmente, citoplasmática (x400).

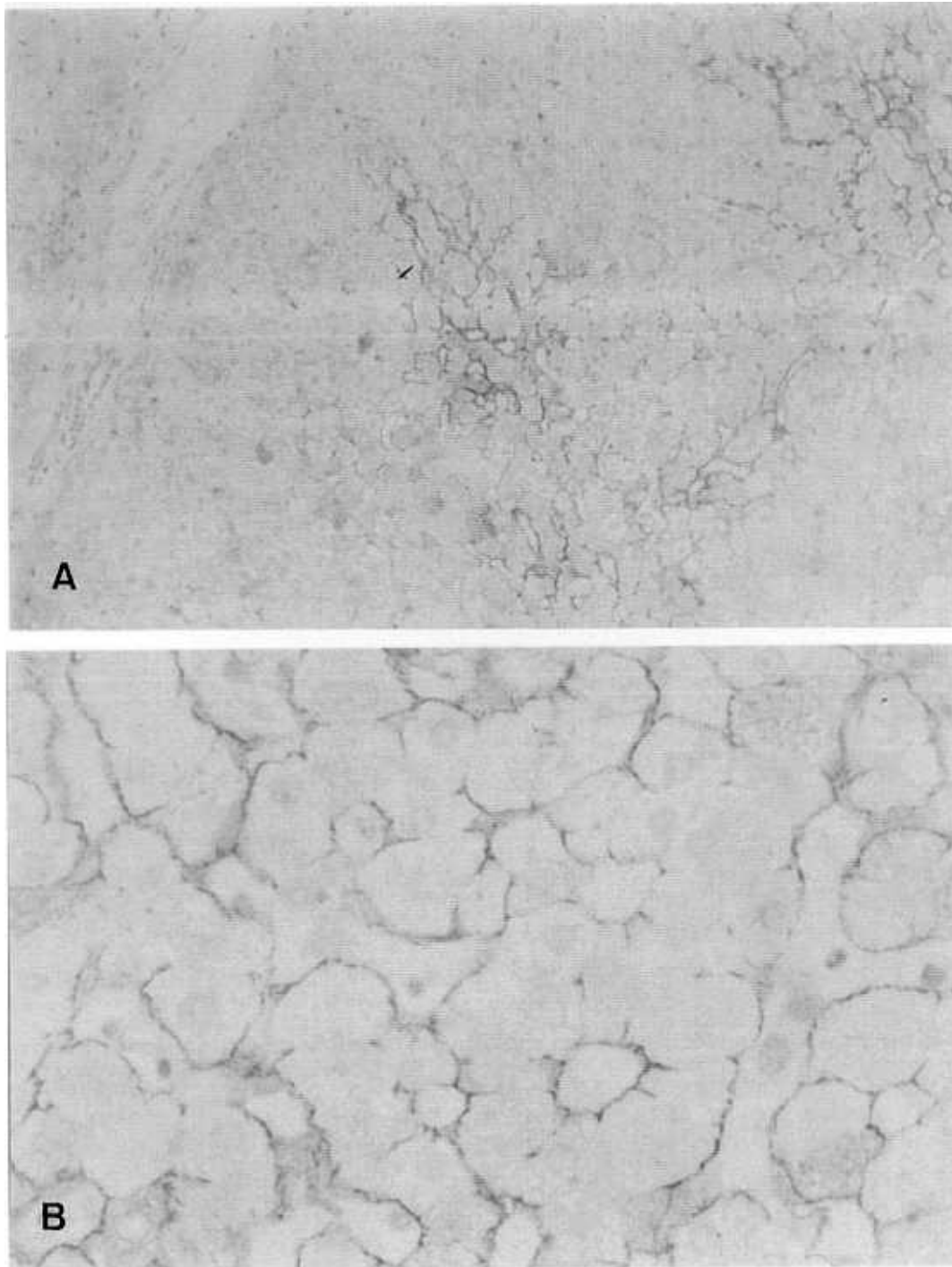


FIGURA 5. HBSAG EN INJERTO PORTADOR SANO DEL VHB:
 A.) Especimen hepático del día 584 postTxH con espacio porta conservado y extensa expresión membranosa de HBsAg (Inmunoperoxidasa, x100); B.) Detalle de la positividad limitada a la membrana celular (x400).

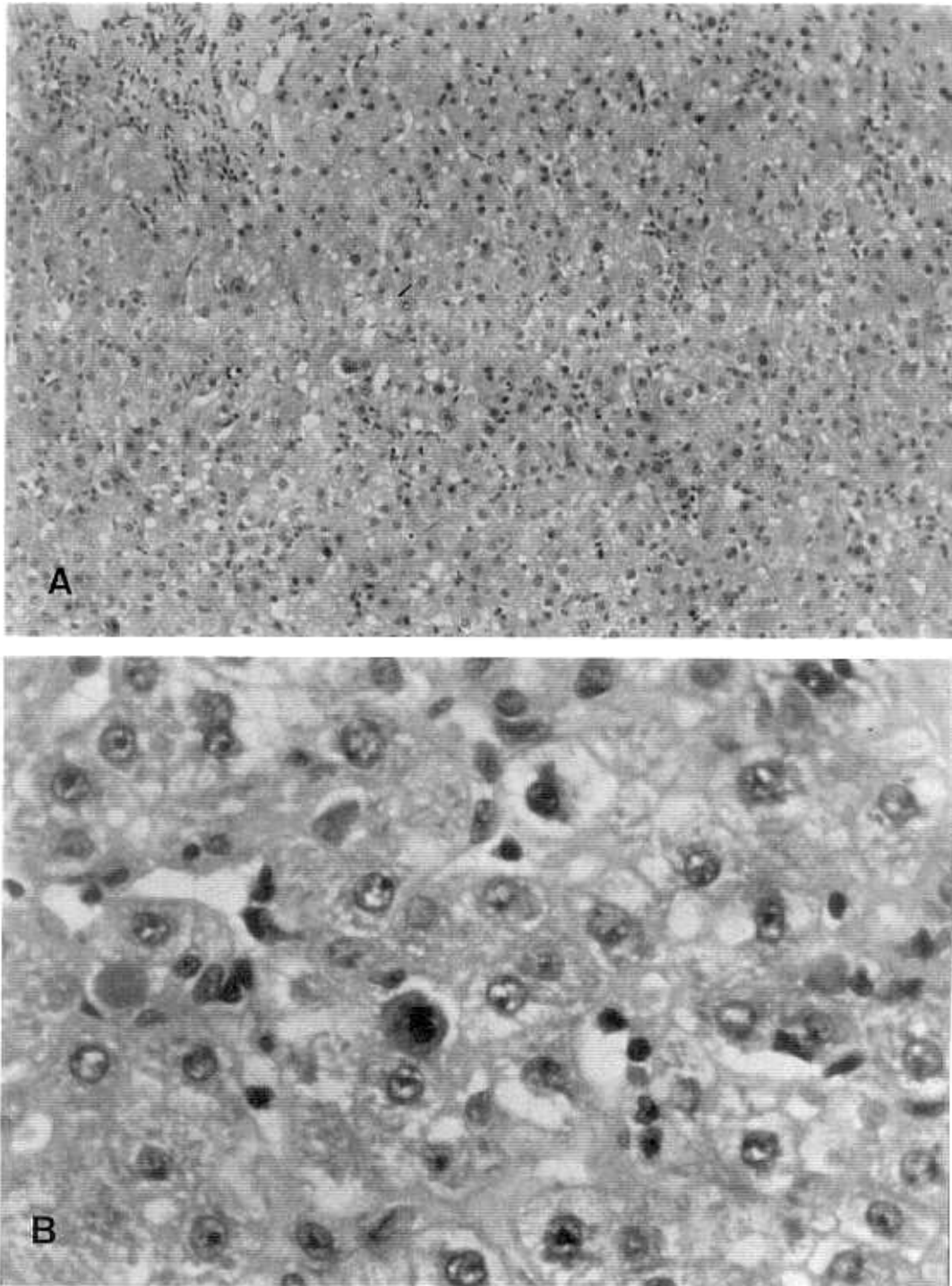


FIGURA 6. HEPATITIS AGUDA LOBULILLAR:

A.) Lobulillo hepático con desorden trabecular, anisocitosis y anisocariosis de los hepatocitos, frecuentes cuerpos acidófilos y escaso infiltrado mononuclear (HE, x100); B.) Detalle (x400).

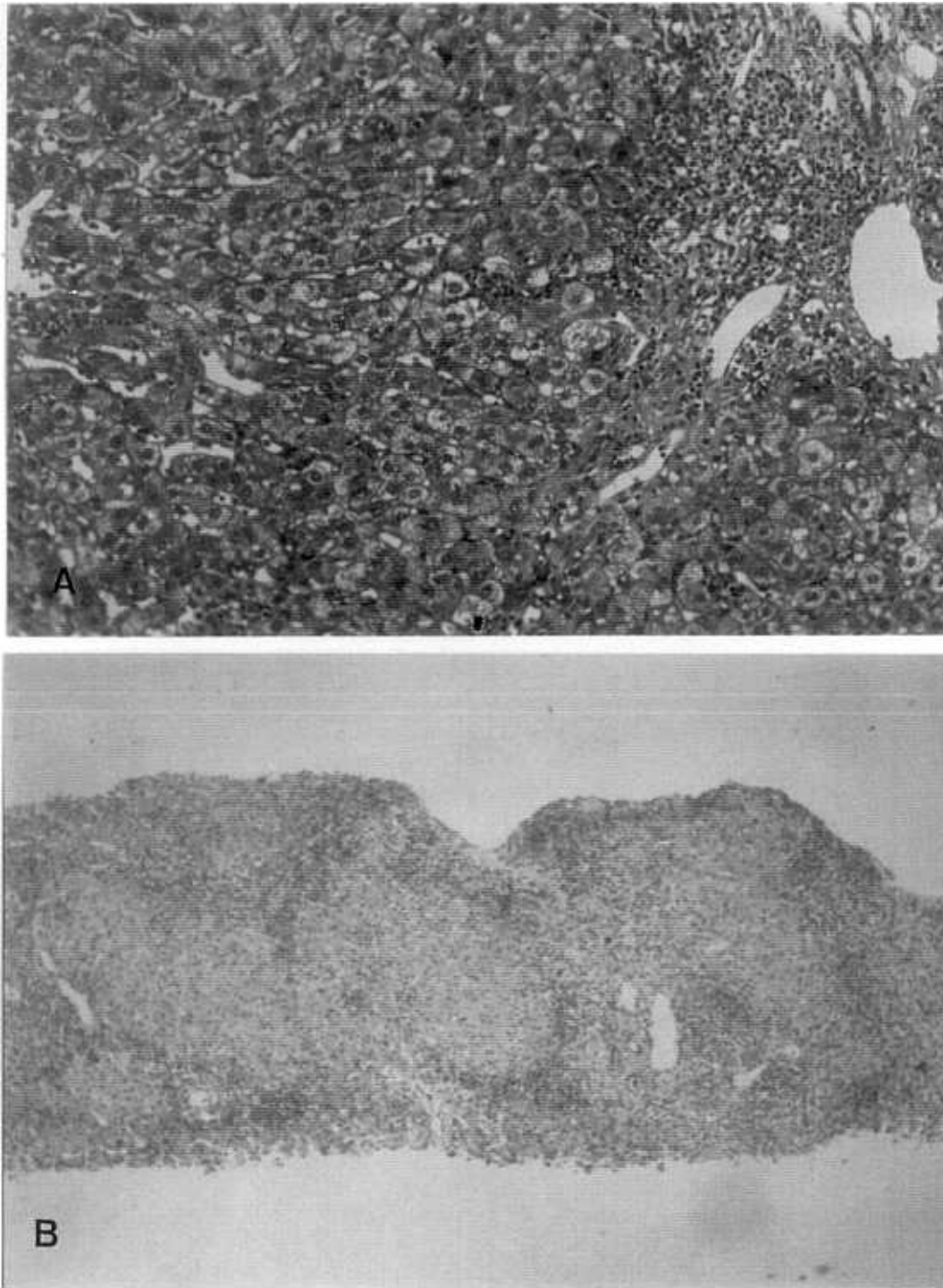


FIGURA 7. HEPATITIS CRONICA ACTIVA: A.) Biopsia hepática del día 147 postTxH con inflamación y necrosis erosiva periportal (Masson x100). B.) Especímen biópsico del mismo injerto en el día 323 postTxH, con puentes fibrosos porto-portales (HE x400)

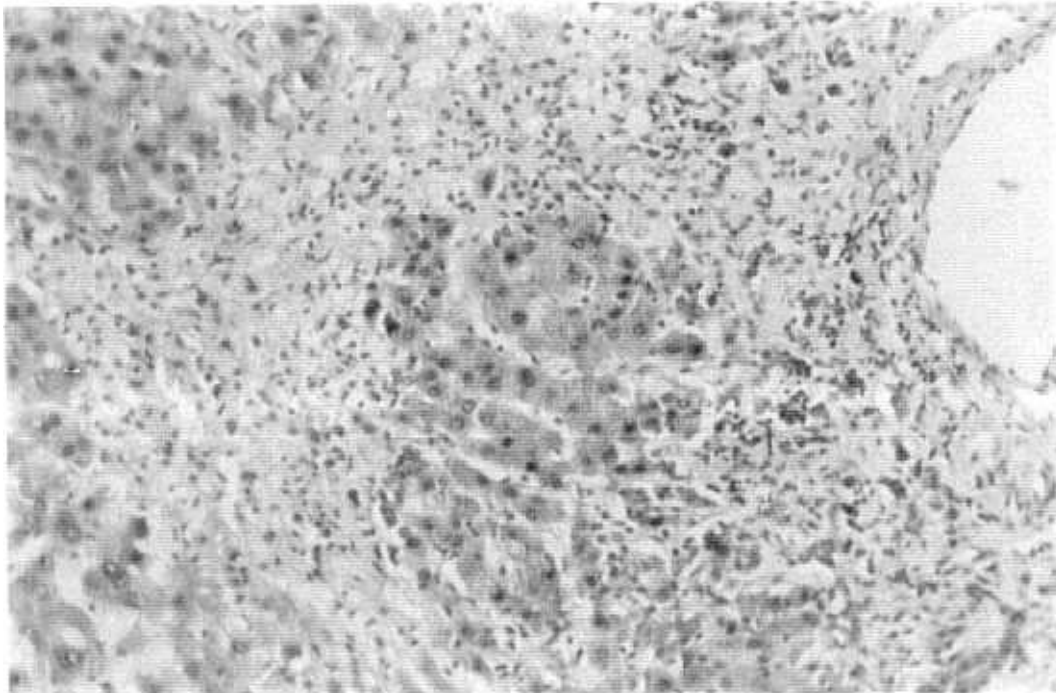


FIGURA 8. HEPATITIS SUBAGUDA: Puente de necrosis contiguo a espacio porta con infiltrado inflamatorio e interrupción de la membrana limitante (HE, x100).

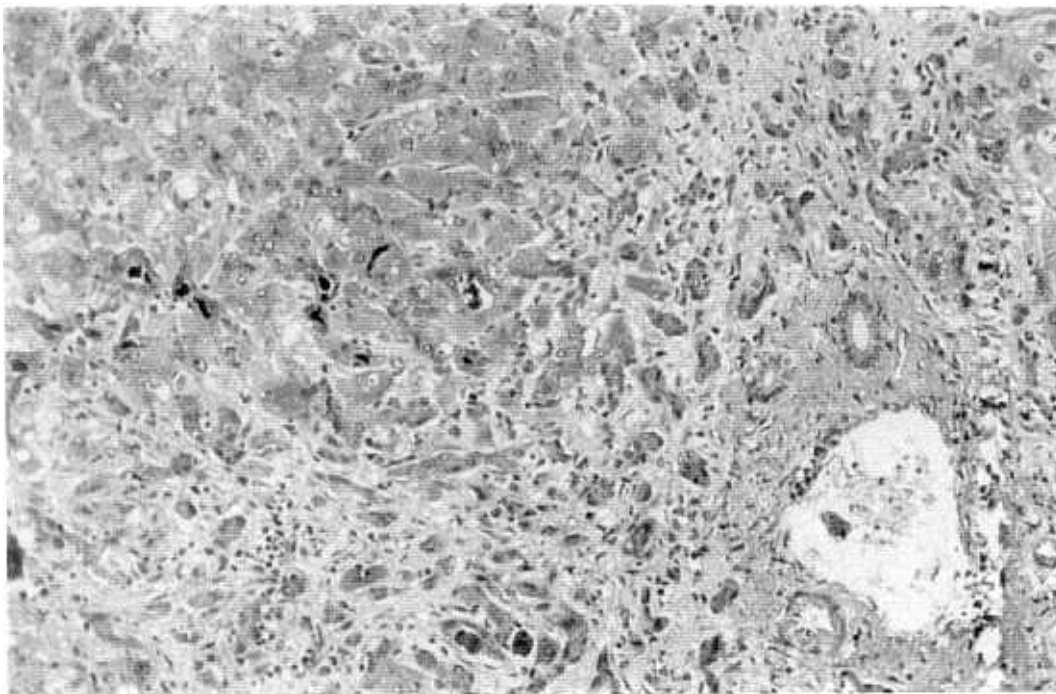


FIGURA 9. HEPATITIS COLESTASICA FIBROSANTE: Tejido hepático con proliferación ductulillar, colestasis y collagenización sinusoidal (Masson, x100).

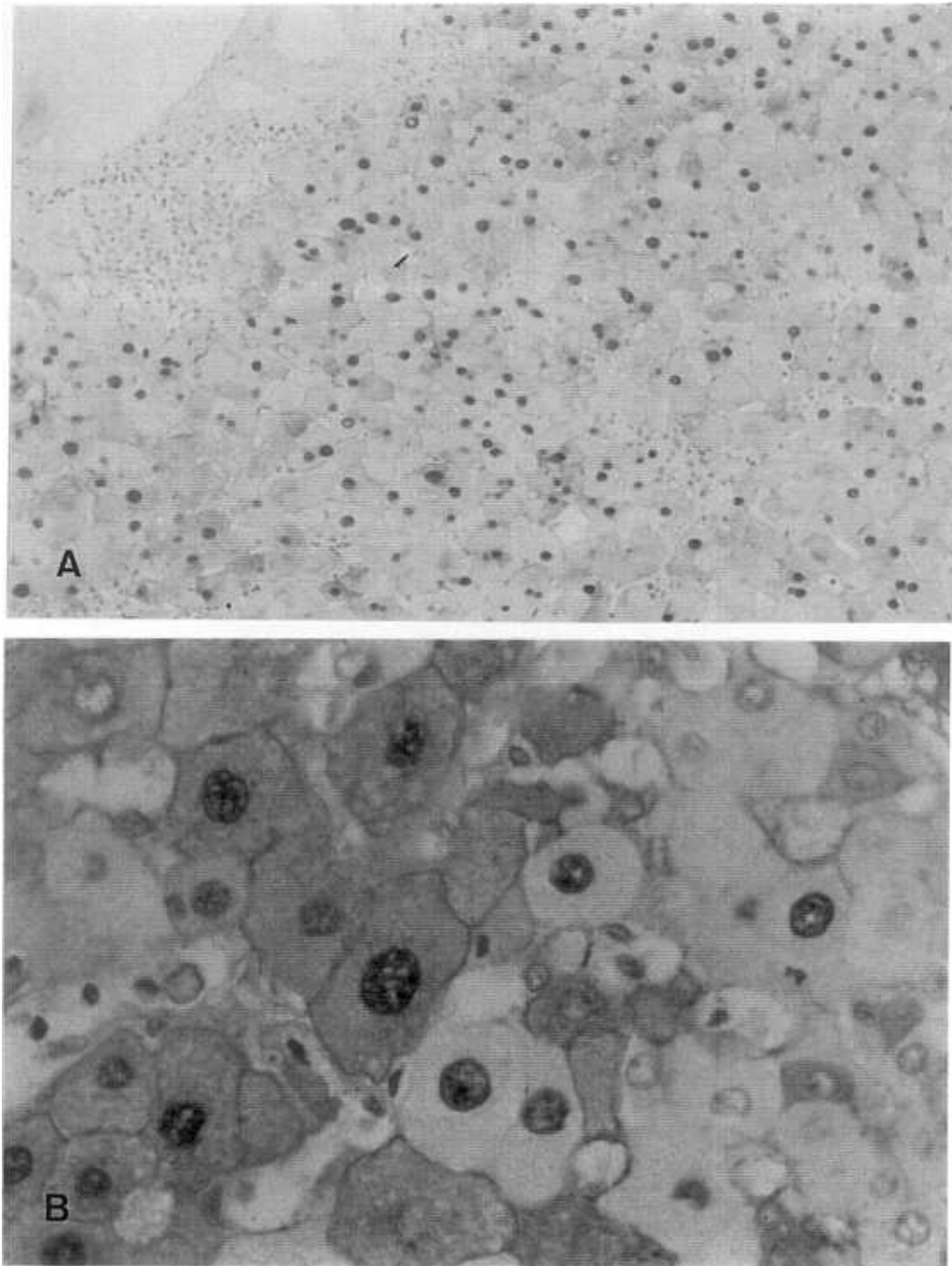


FIGURA 10. HBcAG EN INJERTO HEPATICO CON HEPATITIS CRONICA: A.) Parénquima hepático con necrosis erosiva del espacio porta y expresión hepatocitaria de HBcAg marcada, de localización nuclear y citoplasmática (Inmunoperoxidasa, x100); B.) Detalle (x400).

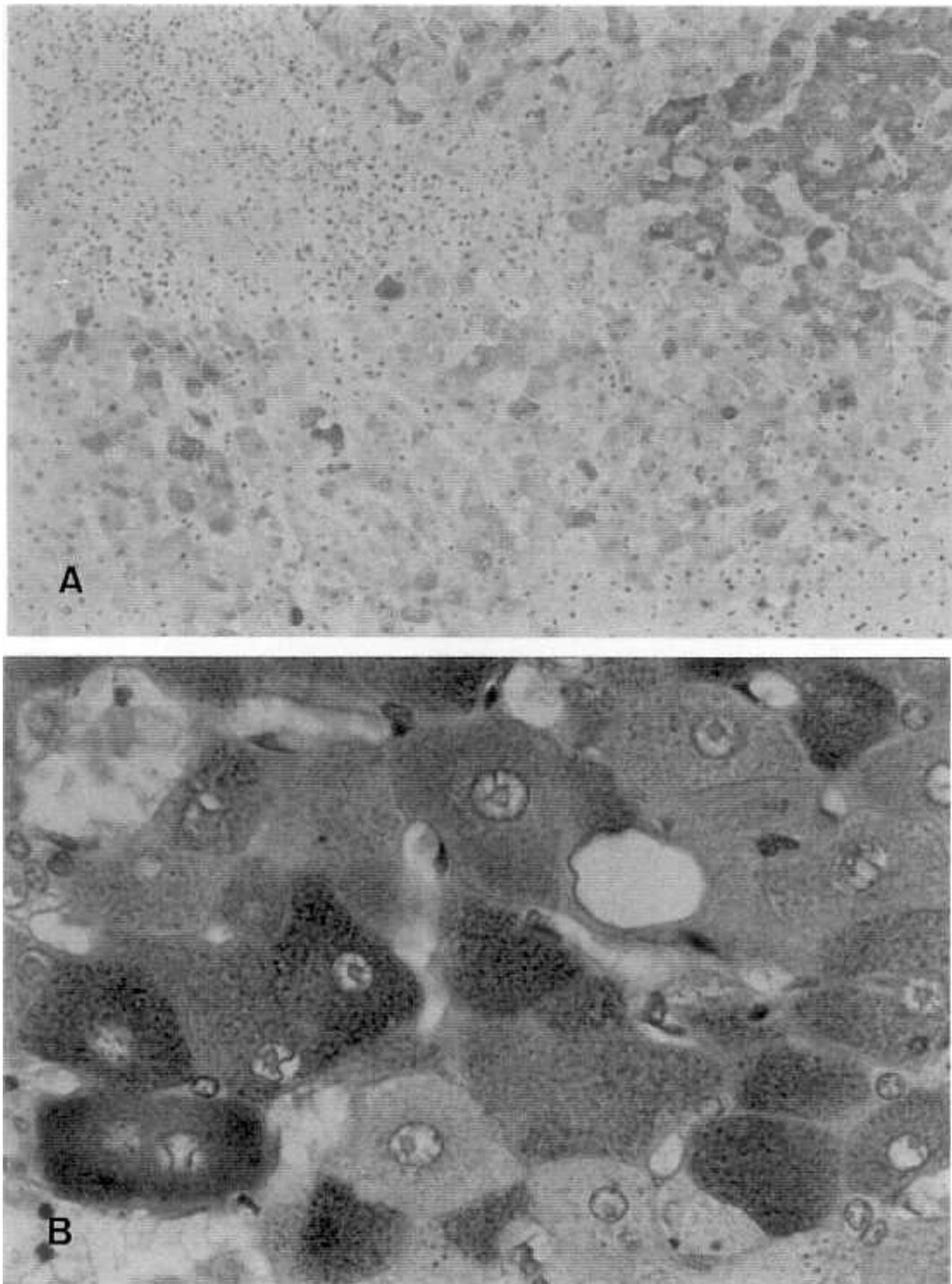


FIGURA 11. HBsAG EN INJERTO HEPATICO CON HEPATITIS CRONICA: A.) Cuadro de hepatitis crónica activa con masiva expresión hepatocitaria de HBsAg citoplasmático (Inmunoperoxidasa, x100); B.) Detalle del carácter homogéneo de la tinción en el citoplasma (x400).

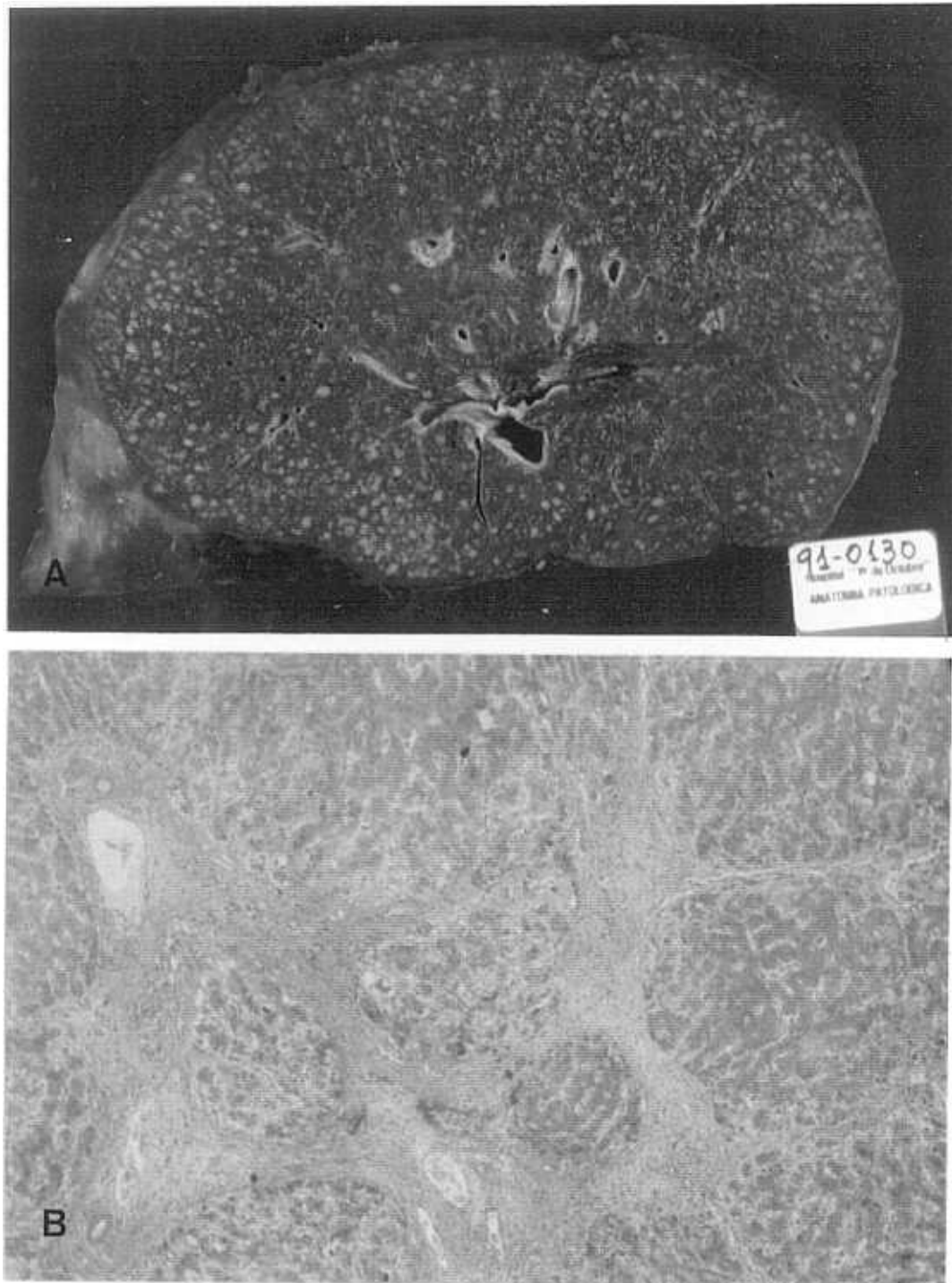


FIGURA 12. INJERTO HEPATICO CON CIRROSIS B RECURRENTE:
A.) Pieza de hepatectomía de injerto hepático (día 180 post-TxH) con cirrosis de patrón micronodular; B.) Corte histológico (Masson, x40).

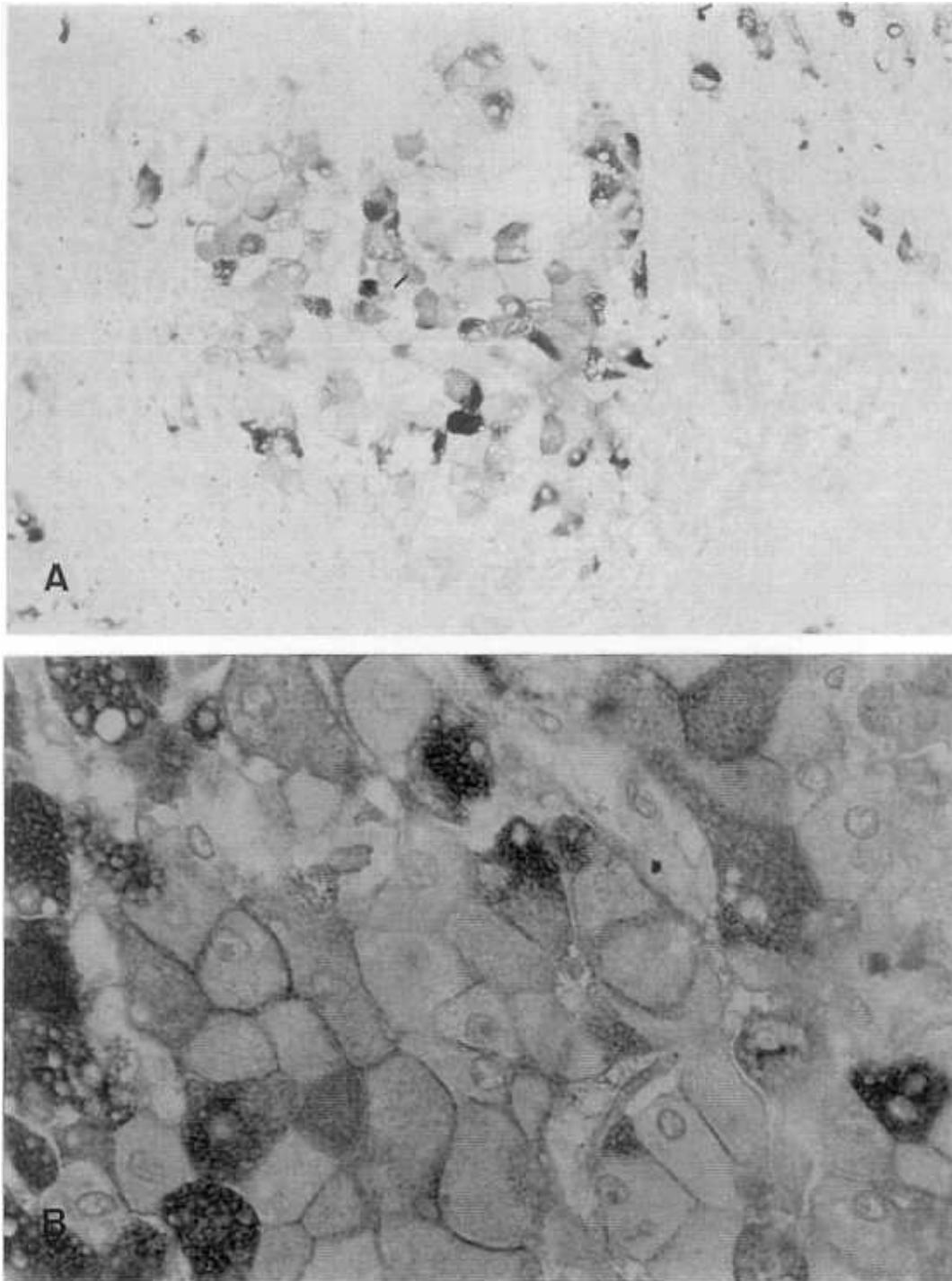


FIGURA 13. HBsAG EN INJERTO HEPATICO CON CIRROSIS B:
A.) Nódulo cirrótico con extensa inmunopresión
citoplasmática homogénea de HBsAg (Inmunoperoxidasa
x100). B.) Detalle que muestra un componente de tinción
membranosa asociado (x400).

BIBLIOGRAFIA

1. **Agnes S, Avolio AW, Magalini SC, Nanni G, Foco M, Serino F, Hassan G, y col.** Results of liver transplantation for hepatitis delta disease without immunoprophylaxis. *Transplant Proc* **1989**; 21:2426-2428.
2. **Albin C, Robinson WS.** Protein kinase activity in hepatitis B virus. *J Virol* **1980**; 34:297-302.
3. **Alexander GLM, Fagan E, Hegarty JE, Yeo J, Eddleston AL, Williams R.** Controlled clinical trial of acyclovir in chronic hepatitis B virus infection. *J Med Virol* **1987**; 21:81-87.
4. **Almeida JD, Rubenstein D, Stott EJ.** New antigen antibody system in Australia antigen positive hepatitis. *Lancet* **1971**; 2:1225-1227.
5. **Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, Melpolder JC, Houghton M, Choo QL, Kuo G.** Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* **1989**; 321:1494-1500.
6. **Anthony PP, Ishak KG, Nayak NC, Poulsen HE, Scheuer PJ, Sobin LH.** The morphology of cirrhosis: definition, nomenclature and classification. *Bull WHO* **1977**; 55:521-550.
7. **Bain VG, Danicls HM, Chanas A, Alexander GJM, Williams R.** Foscarnet therapy in chronic hepatitis B virus E antigen carriers. *J Med Virol* **1989**; 29:152-155.
8. **Balfour HJ, Jr.** Management of cytomegalovirus disease with antiviral drugs. *Rev Inf Dis* **1990**; 12 (Suppl.7):S849-S856.

9. **Bänninger P, Altorfer J, Frösner GG, Pirovino M, Gudat F, Bianchi L, Grob PJ y col.** Prevalence and significance of anti-HBcIgM (radioimmunoassay) in acute and chronic hepatitis B and blood donors. *Hepatology* 1983; 3:337-342.
10. **Barker LF, Chisari FV, McGarth PP, Dalgard DW, Kirschstein RL.** Transmission of type B viral hepatitis to chimpanzees. *J Inf Dis* 1973; 127:648-662.
11. **Belli L, Dusheiko G, Rolles K, Burroughs AK.** Liver transplantation for chronic viral hepatitis. *Ital J Gastroenterol* 1991; 23:36-41.
12. **Bergmann KF, Gerin JL.** Antigens of hepatitis delta virus in the liver and serum of humans and animals. *J Infect Dis* 1986; 514:702-705.
13. **Berninger M, Hammer M, Hoyer B, Gerin JL.** An assay for the detection of the DNA genome of hepatitis B virus in serum. *J Med Virol* 1982; 9:57-68.
14. **Bianchi L, Spichin HP, Gudat F:** Chronic hepatitis. Pathology of the liver. MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ eds. Edinburgh, Churchill Livingstone. 1987; 310-341.
15. **Bird GLA, Smith H, Portmann B, Alexander GJM, Williams R.** Acute liver descompensation on Withdrawal of cytotoxic chemotherapy and immunosuppressive therapy in hepatitis B carriers. *Q J Med* 1989; 73:895-902.
16. **Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S.** A "new" antigen in leukemia sera. *JAMA* 1965; 191:541-546.

17. **Blumhardt G, Neuhaus P, Bechstein WO, Steffen R, Hopf U, Möller B, Raakow R, y col.** Liver transplantation in HBsAg positive patients. *Transplant Proc* **1990**; 22:1517-1518.
18. **Bonino F, Hoyer B, Nelson J, Engle V, Gerin J.** Hepatitis B virus DNA in the sera of HBsAg carriers: a marker of active hepatitis B virus replication in the liver. *Hepatology* **1981**; 1:386-391.
19. **Bonino F, Negro F, Brunetto MR, Verme G.** Hepatitis delta virus infection. In: *Progress in liver disease*; Popper H, Schaffner F eds., WB Saunders Company, **1990**:485-496.
20. **Boyer JL, Klatskin G.** Pattern of necrosis in acute viral hepatitis. Prognostic value of bridging (subacute hepatic necrosis). *N Engl J Med* **1970**; 283:1063-1071.
21. **Bras G, Brandt KH.** Vascular disorders. In: *Mac Sween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, eds. Pathology of the liver.* 2nd ed. New York. NY: Churchill Livingstone Inc; **1987**:478-502.
22. **Brechot C, Hadchouel M, Scotto J, Fonck M, Potet F, Vyas GN, Tiollais P.** State of hepatitis B virus DNA in hepatocytes of patients with hepatitis B surface antigen-positive and -negative liver diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* **1981**; 78:3906-3910.
23. **Brechot C, Lugassy C, Dejean A, Pontisso P, Thiers V, Berthelot P, Tiollais P.** Hepatitis B virus DNA in infected human tissues. In: *Viral Hepatitis and Liver Disease*, edited by Vyas GN, Dienstag JL, Hoofnagle JH. NY: Grune and Stratton; **1984**:395.

24. Brechot C, Bernuau J, Thiers V, Dubois F, Goudeau A, Rueff B, Tiollais P, y col. Multiplication of hepatitis B virus in fulminant hepatitis B. Br Med J 1984; 288:270-271.
25. Buti M, Esteban R, Roggendorf M, Fernandez J, Jardí R, Rashed R, Allende H, y col. Hepatitis D virus RNA in acute delta infection: serological profile and correlation with other markers of hepatitis D virus infection. Hepatology 1988; 8:1125-1129.
26. Buti M, Esteban R, Jardí R, Rodríguez-Frías F, Casacuberta J, Esteban JI, Allende E, y col. Chronic delta hepatitis: detection of hepatitis delta virus antigen in serum by immunoblot and correlation with other markers of delta viral replication. Hepatology 1989; 10:907-910.
27. Calne RY, Rolles K, White DJG, Thiru S, Evans DB, McMaster P, Dunn DC, y col. Cyclosporine A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases and 2 livers. Lancet 1979; 2:1033-1036.
28. Calne RY. Diagnosis of rejection. In: Calne RY, ed. Liver transplantation. 2ªed. Orlando, Grune & Stratton, Inc., 1987:301-302.
29. Carey WD, Tuthill R, Winkelmann E, Vogt D, Broughan T. Clinical and pathological sequelae of orthotopic liver transplantation in chronic B hepatitis. In: Viral hepatitis and liver disease. Zuckerman AJ, ed. New York: Alan R. Liss, 1988; 801-807.

30. **Carey W, Pimentel R, Westveer MK, Vogt D, Broughan T.** Failure of hepatitis B immunization in liver transplant recipients: Results of a prospective trial. *Am J Gastroenterol* 1990; 85:1590-1592.
31. **Chau KH, Hargie MP, Decker RH, Mushahwar IK, Overby LR.** Serodiagnosis of recent hepatitis B infection by IgM class anti-HBc. *Hepatology* 1983; 3:142-149.
32. **Chen ML, Shieh YSC, Shim KS, Gerber MA.** Comparative studies on the detection of hepatitis B virus DNA in frozen and paraffin sections by the polimerase chain reaction. *Modern Pathol* 1991; 4:555-558
33. **Chisari FV, Filippi P, Buras J, McLachlan A, Popper H, Pinkert CA, Palmiter RD y col.** Structural and pathological effects of syntesis of hepatitis B virus large envelope polipeptide in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 6909-6913.
34. **Chu CM, Karayiannis P, Fowler MJF, Monjardino J, Liaw YF, Thomas H.** Natural history of chronic hepatitis B virus infection in Taiwan. Studies of hepatitis B virus DNA in serum. *Hepatology* 1985; 5:431-434.
35. **Chu CM, Liaw YF.** Intrahepatic distribution of hepatitis B surface and core antigens in chronic hepatitis B virus infection. Hepatocyte with cytoplasmic/membranous hepatitis B core antigen as a possible target for immune hepatocytolysis. *Gastroenterology* 1987; 92:220-225.
36. **Colina F, Mollejo M, Moreno E, Alberti N, García I, Gómez-Sanz R, Castellano G.** Effectiveness of histopathological diagnoses in disfunction of hepatic transplantation. *Arch Pathol Lab Med* 1991; 115:998-1005.

37. **Colina F.** The role of histopathology in hepatic transplantation. *Sem Diag Pathol* 1992; 9:200-209.
38. **Colina F, Mollejo M, Alberti A, Marchall T, Jucá NT, Fiaño C.** Histopatología y trasplante hepático. *Gastroenterología y Hepatología* 1992; 15:108-114.
39. **Colledan M, Gislou M, Doglia M, Fassati LR, Ferla G, Gridelli B, Rossi G, y col.** Liver transplantation in patients with B viral hepatitis and delta infection. *Transplant Proc* 1987; 19:4073-4076.
40. **Colledan M, Grendele M, Gridelli B, Rossi G, Fassati LR, Ferla G, Doglia M, y col.** Long-term results after liver transplantation in B and delta hepatitis. *Transplant Proc* 1989; 21:2421-2423.
41. **Colombo P, Di Blasi F, Magrin S, Fabiano C, Di Marco V, D'Amelio L, Lojacono F, y col.** Smouldering hepatitis B virus replication in patients with chronic liver disease and hepatitis delta virus superinfection. *J Hepatol* 1991; 12:64-69.
42. **Corman JL, Putman CW, Iwatsuki S, Redeker AG, Porter KA, Peters RL, Schröter G, y col.** Liver allograft. Its use in chronic active hepatitis with macronodular cirrhosis, hepatitis B surface antigen. *Arch Surg* 1979; 114:75-78.
43. **Czisari FB, Klopchin K, Moryama T, Pasquinelli C, Dunsford HA, Fell S, Pinkert CA, y col.** Molecular pathogenesis of hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus transgenic mice. *Cell* 1989; 59:1145-1156.
44. **Dane DS, Cameron CH, Briggs M.** Virus-like particles in serum of patients with Australia antigen associated hepatitis. *Lancet* 1970; 1:695-698.

45. **Davies SE, Portmann B, O'Grady JG, Alexander GJM, Williams R.** Can hepatitis D virus infection following liver transplantation be non-cytopathic?. (Abstract) *Hepatology* **1990**; 12:399.
46. **Davies SE, Portmann BC, O'Grady JG, Aldis PM, Chaggar K, Alexander GJM, Williams R.** Hepatic histological findings after transplantation for chronic hepatitis B virus infection, including a unique pattern of fibrosing cholestatic hepatitis. *Hepatology* **1991**; 13:150-157.
47. **Davis GL, Hoofnagle JH.** Interferon in viral hepatitis: role in pathogenesis and treatment. *Hepatology* **1986**; 6:1038-1041.
48. **Davison F, Alexander GJM, Trowbridge R, Fagan EA, Williams R.** Detection of hepatitis B virus DNA in spermatozoa, urine, saliva and leucocytes, of chronic HBsAg carriers: a lack of relation-ship with serum markers of replication. *J Hepatol* **1987**; 4:37-44.
49. **Degos F, Marcellin P, Benhamou JP.** Traitement de l'hépatite chronique active due à l'infection par le virus de l'hépatite B. *Gastroenterol Clin Biol* **1988**; 12:845-854.
50. **Degos F, Lugassy C, Degott C, Debure A, Carnot F, Thiers V, Tiollais P, y col.** Hepatitis B virus and hepatitis B-related viral infection in renal transplant recipients. A prospective study of 90 patients. *Gastroenterology* **1988**; 94:151-156.
51. **Deinhart F.** Predictive value of markers of hepatitis virus infection. *J Inf Dis* **1980**; 141:299-305.

52. Demetris AJ, Lasky S, Van Thiel DH, Starlz TE, Dekker A: Pathology of hepatic transplantation. A review of 62 adult allograft recipients immunosuppressed with a cyclosporine steroid regimen. *Am J Pathol* 1985; 118: 151-161.
53. Demetris AJ, Jaffe R, Sheahan DG, Burnham J, Spero J, Iwatsuki S, Van Thiel DH, y col. Recurrent hepatitis B in liver allograft recipients. Differentiation between viral hepatitis B and rejection. *Am J Pathol* 1986; 125:161-172.
54. Demetris AJ, Todo S, Van Thiel DH, Fung JJ, Iwaki Y, Sysyn G, Ming W, y col. Evolution of hepatitis B virus liver disease after hepatic replacement. Practical and theoretical considerations. *Am J Pathol* 1990; 137:667-676.
55. Desmet VJ. Cholestasis: extrahepatic obstruction and secondary biliary cirrhosis. In: Mac Sween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, eds. *Pathology of the Liver*. 2nd ed. New York, NY: Churchill Livingstone Inc; 1987:364-423.
56. Di Bisceglie AM, Negro F. Diagnosis of hepatitis delta virus infection. *Hepatology* 1989; 10:1014-1016.
57. The ACG Committee on FDA-related matters under the primary authorship of AM Di Bisceglie and JH Hoofnagle. Antiviral therapy of chronic viral hepatitis. *Am J Gastroenterol* 1990; 85:650-654.
58. Dienstag JL. Acute hepatitis. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Brawnwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Wilson JD, Martin JB and Fauci AS eds. McGraw-Hill Book Company; New York. 1987: 1325-1338.

59. **Dienstag JL.** Renal transplantation and hepatitis B. *Gastroenterology* **1988**; 94:235-238.
60. **Doffoel M, Vetter D, Wolf P.** Peut-on évaluer le risque de récurrence de la maladie initiale après transplantation hépatique?. *Gastroenterol Clin Biol* **1989**; 13:963-966.
61. **Dousset B, Calmus Y, Merrigi F, Houssin D.** Récurrence de la maladie initiale après transplantation hépatique. *Gastroenterol Clin Biol* **1989**, 13:984-996.
62. **Dusheiko G, Song E, Bowyer S, Whitcutt M, Maier G, Meyers A, Kew MC.** Natural history of hepatitis B virus infection in renal transplant recipients_a fifteen year follow-up. *Hepatology* **1983**; 3:330-336.
63. **Edwards MS.** Hepatitis B serology: Help in interpretation. *Pediatr Clin North Am* **1988**; 35:503-515.
64. **Emond JC, Aran PP, Whittington PF, Broelsch CE, Baker AL.** Liver transplantation in the management of fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* **1989**; 96: 1583-1588.
65. **Esteban JI, González A, Hernández JM, Viladomiu L, Sanchez C, Lopez-Talavera JC, Lucea D y col.** Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in a study of transfusion associated hepatitis. *N Engl J Med* **1990**; 323:1107-1112.
66. **Farci P, Smedile A, Lavarini C, Piantino P, Crivelli O, Caporaso N, Toti M, y col.** Delta hepatitis in inapparent carriers of hepatitis B surface antigen. *Gastroenterology* **1983**; 85:669-673.

67. **Farci P, Karayiannis P, Brook MG, Smedile A, Lai ME, Balestrieri A, Saldanha JA, y col.** Treatment of chronic hepatitis delta virus (HDV) infection with human lymphoblastoid alpha interferon. *Q J Med* **1989**; 73:1045-1054.
68. **Farci P, Alter HJ, Wong D, Miller RH, Shih JW, Jett B, Purcell RH.** A long term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* **1991**; 325:98-104.
69. **Feray C, Zignego AL, Samuel D, Bismuth A, Reynès M, Tiollais P, Bismuth H, y col.** Persistent hepatitis B virus infection of mononuclear blood cells without concomitant liver infection. *Transplantation* **1990**; 49:1155-1158.
70. **Ferla G, Colledan M, Doglia M, Fassati LR, Gislou M, Gridelli B, Rossi G, y col.** B hepatitis and liver transplantation. *Transplant Proc* **1988**; 20 (Suppl 1):566-569.
71. **Franca STM, Kiyosawa K, Imai Y, Sodeyama T, Hayata T, Nakano Y, Nakamura M y col.** Change of intrahepatic expression of hepatitis-B core antigen during the clinical course of type-B chronic hepatitis. *Scand J Gastroenterol* **1989**; 24:454-460.
72. **Freeman RB, Sanchez H, Lewis WD, Sherburne B, Dzik WH, Khettry U, Hing S, y col.** Serologic and DNA follow-up data from HBsAg-positive patients treated with orthotopic liver transplantation. *Transplantation* **1991**; 51:793-797.
73. **Gerber MA, Thung SN.** Biology of disease. Molecular and cellular pathology of hepatitis B. *Lav Invest* **1985**; 52:572-590.

74. **Gerber MA, Thung SW.** The diagnostic value of immunohistochemical demonstration of hepatitis viral antigens in the liver. *Hum Pathol* **1987**; 18:771-774.
75. **Gerlich WH, Lüer W, Thomssen R and the Study Group of Viral hepatitis of the Deutsche Forschungsgemeinschaft.** Diagnosis of acute and inapparent hepatitis B virus infections by measurement of IgM antibody to hepatitis B core antigen. *J Inf Dis* **1980**; 142:95-101.
76. **Gerlich W, Robinson WS.** Hepatitis B virus contains protein attached to the 5' terminus of its complete DNA strand. *Cell* **1980**; 21:801-809.
77. **Gimson AE, Tedder RS, White YS, Eddleston ALWF, Williams R.** Serological markers in fulminant hepatitis B. *Gut* **1983**; 24:615-617.
78. **Glenn JS, Taylor JM, White JM.** In vitro-synthesized hepatitis delta virus RNA initiates genome replication in cultured cells. *J Virol* **1990**; 64:3104-3107.
79. **Govindarajan S, Lim B, Peters RL.** Immunohistochemical localization of the delta antigen associated with hepatitis B virus in liver biopsy sections embedded in araldite. *Histopathology* **1984**; 8:63-67.
80. **Govindarajan S, Fong T-L, Valinluck B, Edwards V, Redeker AG.** Markers of viral replication in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Am J Clin Pathol* **1988**; 89:233-237.
81. **Gowans EJ, Burrell CJ, Jilbert AR, Marmion BP.** Detection of hepatitis B virus DNA sequences in infected hepatocytes by in situ hybridization. *J Med Virol* **1981**; 8:67-78.

82. Grody WW, Cheng L, Lewin KJ. In situ viral DNA hybridization in diagnostic surgical pathology. Hum Pathol 1987; 18:535-543.
83. Grond J, Gouw ASH, Poppema S, Slooff MJH, Gips CH. Chronic rejection in liver transplants: a histopathologic analysis of failed grafts and antecedent serial biopsies. Transplant Proc 1986; 18 (Suppl 4):128-135.
84. Gudat F, Bianchi L, Sonnabend W, Thiel G, Aenishanslin W, Stalder GA. Pattern of core and surface expression in liver tissue reflects state of specific immune response in hepatitis B. Lab Invest 1975; 32:1-9.
85. Gudat F, Bianchi L. Evidence for biphasic sequences in nuclear HBcAg formation and cell membrane directed flow of core particles in chronic hepatitis B. Gastroenterology 1977; 73:1194-1197.
86. Hadziyannis SJ, Lieberman HM, Karvountzis GG, Shafritz DA. Analysis of liver disease, nuclear HBcAg, viral replication, and hepatitis B virus DNA in liver and serum of HBeAg vs. anti-HBe positive carriers of hepatitis B virus. Hepatology 1983; 3: 656-662.
87. Hadziyannis SJ, Sherman M, Lieberman HM, Shafritz DA. Liver disease activity and hepatitis B virus replication in chronic delta antigen-positive hepatitis B virus carriers. Hepatology 1985; 5:544-547.
88. Hanson CA, Sutherland DE, Snover DC. Fulminant hepatic failure in an HBsAg carrier renal transplant patient following cessation of immunosuppressive therapy. Transplantation 1985; 39:311-312.

89. **Harnett JD, Zeldis JB, Parfrey PS, Kennedy M, Sircar R, Steinmann TI, Guttman RD.** Hepatitis B disease in dialysis and transplant patients. *Transplantation* **1987**; 44:369-376.
90. **Hart J, Busuttil RW, Lewin KJ.** Disease recurrence following liver transplantation. *Am J Surg Pathol* **1990**; 14 (Suppl 1):79-91.
91. **Hobbs KEF.** Liver transplantation. A review. *J Hepatol* **1987**; 4:148-153.
92. **Hoofnagle JH.** Specific IgM and IgG antibody responses during type B hepatitis. In: Berk PD, Chalmers TC, eds. *Frontiers in liver disease*. New York: Thieme-Stratton, **1981**: 208-212.
93. **Hoofnagle JH, Dusheiko GM, Schafer DF, Schafer D, Jones EA, Micetich KC, Young RC y col.** Reactivation of chronic hepatitis B virus infection by cancer chemotherapy. *Ann Intern Med* **1982**; 96:447-449.
94. **Hoofnagle JH, Hanson RG, Minuk GY, Pappas SC, Schafer DF, Dusheiko GM, Straus SE, y col.** Randomized controlled trial of adenine arabinoside monophosphate for chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* **1984**; 86:150-157.
95. **Hoofnagle JH, Shafritz DA, Popper H.** Chronic type B hepatitis and the "healthy" HBsAg carrier state. *Hepatology* **1987**.; 7:758-763.
96. **Hoofnagle JH, Peters M, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, Di Bisceglie A, Hallahan C, y col.** Randomized, controlled trial of recombinant human alpha interferon in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* **1988**; 95:1318-1325.

97. **Hoofnagle JH.** Type D (Delta) hepatitis. *JAMA* **1989**; 261: 1321-1325.
98. **Hopf U, Neuhaus P, Lobeck H, König V, Küther S, Bauditz J, Bechstein WO, y col.** Follow-up of recurrent hepatitis B and delta infection in liver allograft recipients after treatment with recombinant interferon-alpha. *J Hepatol* **1991**; 13:339-346.
99. **Hsu SM, Raine L, Fanger H.** Use of avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques. A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* **1981**; 29:577-580.
100. **Hsu HC, Lin WSJ, Tsai MJ.** Hepatitis B surface antigen and hepatocellular carcinoma in Taiwan: with special reference to its types and localization in tumor cells. *Cancer* **1983**; 52:1825-1832.
101. **Hsu HC, Su IJ, Lai MY, Chen DS, Chang MH, Chuang SM, Sung JL.** Biologic and prognostic significance of hepatocyte hepatitis B core antigen expressions in the natural course of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* **1987**; 5:45-50.
102. **Hsu HC, Lai MY, Su IJ, Chen DS, Chang MH, Yang PM, Wu CY, y col.** Correlation of hepatocyte HBsAg expression with virus replication and liver pathology. *Hepatology* **1988**; 8:749-754.
103. **Hsu HC, Lin YH, Chang MH, Su IJ, Chen DS.** Pathology of chronic hepatitis B virus infection in children: with special reference to the intrahepatic expression of the hepatitis B virus antigens. *Hepatology* **1988**; 8:378-382.

104. **Huang S-N, Neurath AR.** Immunohistologic demonstration of hepatitis B viral antigens in liver with reference to its significance in liver injury. *Lav Invest* 1979; 40:1-17.
105. **Huang S-N.** Immunohistochemical demonstration of hepatitis B core and surface antigens in paraffin sections. *Lav Invest* 1985; 33:88-95.
106. **Huang CC, Lai MK, Fong MT.** Hepatitis B liver disease in cyclosporine-treated renal allograft recipients. *Transplantation* 1990, 49:540-544.
107. **International Group.** Acute and chronic hepatitis revisited. *Lancet* 1977; 2:914-919.
108. **Ishak KG.** Light microscopic morphology of viral hepatitis. *Am J Clin Pathol* 1976; 65:787-827.
109. **Iwatsuki S, Esquivel CO, Gordon RD, Shaw BW, Starzl TE, Shade RR, Van Thiel DH.** Liver transplantation for fulminant hepatic failure. *Semin Liver Dis* 1985; 5:325-328.
110. **Jacobson IM, Dienstag JL.** The delta hepatitis agent: "Viral hepatitis, type D". *Gastroenterology* 1984; 86:1614-1617.
111. **Kahan BD, Flechner SM, Lorber MI, Jensen C, Golden D, Van Buren CT.** Complications of cyclosporin therapy. *World J Surg* 1986; 10:348-360.
112. **Kaplan PM, Greenman RLO, Gerin JL, Purcell RH, Robinson WS.** DNA polymerase associated with human hepatitis B antigen. *J Virol* 1973; 12:995-1005.

113. Keller GH, Huang D-P, Shih W-K, Manak MM. Detection of hepatitis B virus DNA in serum by polymerase chain reaction amplification and microtiter sandwich hybridization. *J Clin Microbiol* 1990; 28:1411-1416.
114. Kojima T, Callea F, Desmyter J, Sakurai I, Desmet VJ. Immuno-light and electron microscopic features of chronic hepatitis D. *Liver* 1990; 10:17-27.
115. Kovarik J, Mayer G, Ponanka E, Scharz M, Trainol O, Graf H, Smolen J: Adverse effect of low-dose prophylactic human recombinant leukocyte interferon-alpha treatment in renal transplant recipients. *Transplantation* 1988; 45:402-405.
116. Kramer P, Tenkate FWJ, Bijnen AB, Jeekel J, Weimar W. Recombinant leukocyte interferon A induces steroid-resistant acute vascular rejection episodes in renal transplant recipients. *Lancet* 1984; i:989-990.
117. Krugman S, Giles JP. Viral hepatitis: new light on an old disease. *JAMA* 1970; 212:1019-1029.
118. Krugman S, Overby LR, Mushahwar IK, Ling CM, Frösner GG, Deinhardt F. Viral hepatitis type B: studies on natural history and prevention reexamined. *N Engl Med J* 1979; 300:101-111.
119. Kuo MYP, Chao M, Taylor J. Initiation of replication of the human hepatitis delta virus genome from cloned DNA:role of delta antigen. *J Virol* 1989; 63:1945-1950.
120. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, Miyamura T, y col. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244:362-364.

121. Lake JR, Wright TL. Liver transplantation for patients with hepatitis B: What have we learned from our results?. *Hepatology* 1991; 13:796-799.
122. Lampertico P, Malter JS, Colombo M, Gerber MA. Detection of hepatitis B virus DNA in formalin-fixed, paraffin-embedded liver tissue by the polymerase chain reaction. *Am J Pathol* 1990; 137:253-258.
123. Lauchart W, Müller R, Pichlmayr R. Immunoprophylaxis of hepatitis B virus reinfection in recipients of human liver allografts. *Transplant Proc* 1987; 19:2387-2389.
124. Lauchart W, Müller R, Pichlmayr R. Long-term immunoprophylaxis of hepatitis B virus reinfection in recipients of human liver allografts. *Transplant Proc* 1987; 19:4051-4053.
125. Lautz HU, Müller R, Wittekind C, Mauz S, Barg-Hock H, Ringe B, Pichlmayr R, y col. Unusually rapid development of a HBsAg-positive liver cirrhosis after liver transplantation. *Klin Wochenschr* 1989; 67:1061-1065.
126. Lavine JE, Lake JR, Ascher NL, Ferrell LD, Ganem D, Wright TL. Persistent hepatitis B virus following interferon alfa therapy and liver transplantation. *Gastroenterology* 1991; 100:263-267.
127. Lefkowitz JH. Bile ductular cholestasis: an ominous histopathologic sign related to sepsis and "cholangitis lenta". *Hum Pathol* 1982; 13:19-24.
128. Lefkowitz JH, Goldstein H, Yatto R, Gerber MA. Cytopathic liver injury in acute delta virus hepatitis. *Gastroenterology* 1987; 92:1262-1266.

129. **Lemon SM, Hoofnagle JH.** IgM antibody to hepatitis B core antigen in patients with chronic type B hepatitis. In: Szmuness W, Alter HJ, Maynard JE, eds. Viral hepatitis. 1981 International Symposium. Philadelphia: Franklin Institute Press, 1981; 723-724.

130. **Lever AML.** Mechanisms of virally induced liver damage. *J Hepatol* 1987; 4:399-403.

131. **Levy GA, Sherker A, Fung LS, Greig PD, Sherman M, Blendis LM.** Relevance of hepatitis B viral DNA in assessment of potential liver allograft recipients. *Transplant Proc* 1989; 21:3333-3334.

132. **Maddrey WC, Friedman LS, Munoz SJ, Hahn EG.** Selection of the patient for liver transplantation and timing of surgery. In: *Transplantation of the liver*, Maddrey WC ed. NY, Elsevier 1988; 23-58.

133. **Maggi G, Alberti A, Bettale G, De Carlis L, Del Favero E, Minola E, Rizzi P, y col.** Hepatitis B (HBV) and delta (HDV) virus reinfection in liver transplantation. (Abstract) *Hepatology* 1990; 12:1017.

134. **Manake K, Yamada G, Nagashima H.** Immunohistochemical study of HLA class I antigens on the hepatocytes of patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterol Jpn* 1986; 21:357-364.

135. **Marinucci G, Valeri L, Di Giacomo C, Morganti D, Chieco S, Rossi M, Alfani D, y col.** Is delta infection an aggravating factor in liver allograft recipients?. *Transplant Proc* 1985; 17 (Suppl 2):125-126.

136. **Marinucci G, Valeri L, Alfani D, Rossi M, Di Giacomo C, Cortesini R.** Delta infection and liver disease recurrence in hepatic allografts. *Transplant Proc* **1986**; 18:1402-1404.
137. **Martin P, Friedman LS.** Recurrent hepatitis B in liver transplant recipients-no easy answers. *Gastroenterology* **1991**; 101:1131-1133.
138. **Martin P, Muñoz SJ, Di Bisceglie AM, Rubin R, Waggoner JG, Armenti V, Moritz MJ, y col.** Recurrence of hepatitis C virus infection after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* **1991**; 13:719-721.
139. **Masson WS, Taylor JM.** Experimental systems for the study of hepadnavirus and hepatitis delta virus infections. *Hepatology* **1989**; 9:635-645.
140. **Masson WS, Taylor JM.** Liver transplantation: A model for the transmission of hepatitis delta virus. *Gastroenterology* **1991**; 101:1741-1743.
141. **Maynard JE.** Hepatitis B: global importance and need of control. *Vaccine* **1990**; 8:S18-S20.
142. **McCaughan GW, Gallagher ND, Parsons C, Painter D, Thompson JF, Sheil AGR.** Hepatic transplantation for hepatitis B-associated liver disease. *Transplant Proc* **1992**; 24:194-195.
143. **Millard PR, Herbertson BM, Evans DB, Calne RY.** Azathioprine hepatotoxicity in renal transplantation. *Transplantation* **1973**; 5:527-530.
144. **Mills CT, Perrillo R.** Relationship between histology, aminotransferase levels, and viral replication in chronic hepatitis B. *Gastroenterology* **1990**; 99:519-524.

145. Mondelli M, Naumov N, Eddleston ALWF. The immunopathogenesis of liver cell damage in chronic hepatitis B virus infection. *Advances in Hepatitis Research*. FV Chisari ed. NY, Masson USA; 1984:144-151.
146. Montaña L, Aranguibel F, Boffill M, Goodall AH, Janossy G, Thomas HC. An analysis of the composition of the inflammatory infiltrate in autoimmune and hepatitis B virus-induced chronic liver disease. *Hepatology* 1983; 3:292-296.
147. Mora NP, Klintmalm GB, Poplawski SS, Cofer JB, Husberg BS, Gonwa TA, Goldstein RM. Recurrence of hepatitis B after liver transplantation: Does hepatitis-B-immunoglobulin modify the recurrent disease?. *Transplant Proc* 1990; 22:1549-1550.
148. Moreno Gonzalez E, Landa García I, Calleja Kempin J, Gómez Gutiérrez J, Jover Navalón JM, Arias Díaz J, Riaño D, y col. Resultados del homotrasplante ortotópico clínico de hígado. Valoración de 15 injertos. *Cirugía Española* 1987; 13:925-945.
149. Moreno González E, Landa García JI, Calleja Kempin J, Gómez Gutiérrez M, Jover Navalón JR, Arias Díaz J, Riaño D, y col. Utilización de la arteria hepática derecha del receptor en la reconstrucción arterial del trasplante hepático clínico. *Rev Esp Enf Ap Digest* 1988; 73:315-321.
150. Moreno González E, Perez-Cerdá F, Calleja Kempin J, Landa García I, Gómez Gutiérrez M, Jover Navalón JM, Riaño Carrera D, y col. Valoración de la estrategia quirúrgica como factor clave de los resultados postoperatorios del trasplante hepático. *Rev Esp Enf Ap Digest* 1988; 74:499-503.

151. **Moreno González E, García García I, González Pinto I, Gómez Sanz R, Loinaz Seguro C, Riaño Carrera D, Bercedo Martínez J, y col.** Trasplante hepático ortotópico: Resultados del Hospital "12 de Octubre". *Rev Esp Enf Digest* 1990; 78:295-302.
152. **Müller R, Gubernatis G, Farle M, Niehoff G, Klein H, Wittekind C, Tusch G, y col.** Liver transplantation in HBs antigen (HBsAg) carriers. Prevention of hepatitis B virus (HBV) recurrence by passive immunization. *J Hepatol* 1991; 13:90-96.
153. **Nakhleh RE, Schwarzenberg SJ, Bloomer J, Payne W, Snover DC.** The pathology of liver allografts surviving longer than one year. *Hepatology* 1990; 11:465-470.
154. **Naoumov NV, Portmann BC, Tedder RS, Ferns B, Eddleston ALWF, Alexander GJM, Williams R.** Detection of hepatitis B virus antigens in liver tissue. A relation to viral replication and histology in chronic hepatitis B infection. *Gastroenterology* 1990; 99:1248-1253.
155. **Negro F, Chiaberge E, Oliviero S, Hammer M, Berninger M, Canese MG, Bonino F.** Hepatitis B virus DNA (HBV-DNA) in anti-HBe positive sera. *Liver* 1984; 4:177-183.
156. **Negro F, Bonino F, Di Bisceglie A, Hoofnagle JH, Gerin L.** Intrahepatic markers of hepatitis delta virus infection: a study by in situ hybridization. *Hepatology* 1989; 10:916-920.
157. **Neuhaus P, Steffen R, Blumhardt G, Bechstein W, Keck H, Lemmens HP, Neuhaus R y col.** Experience with immunoprophylaxis and interferon therapy after liver transplantation in HBsAg positive patients. *Transplant Proc* 1991; 23:1522-1524.

158. **Nicholson KG.** Hepatitis delta infections. *Br Med J* 1985; 190:1370-1371.

159. **Nowoslowski A, Madalinski K, Brzosko W, Krawczynski K.** Cellular localisation of australia antigen in the liver of patients with the lymphoproliferative disorders. *Lancet* 1970; 7:494-498.

160. **O'Grady JG, Williams R.** Liver transplantation for viral hepatitis. *Br Med Bull* 1990; 46:481-491.

161. **O'Grady JG, Smith HM, Davies SE, Daniels HM, Donaldson PT, Tan KC, Portmann B, y col.** Hepatitis B virus reinfection after orthotopic liver transplantation. Serological and clinical implications. *J Hepatol* 1992; 14:104-111.

162. **Ottobrelli A, Marzano A, Smedile A, Recchia S, Salizzoni M, Cornu C, Lamy ME, y col.** Patterns of hepatitis delta virus reinfection and disease in liver transplantation. *Gastroenterology* 1991; 101: 1649-1655.

163. **Parfrey PS, Forbes RDC, Hutchinson TA, Beaudoin JG, Dauphinee WD, Hollomby DJ, Guttmann RD.** The clinical and pathological course of hepatitis B liver disease in renal transplant recipients. *Transplantation* 1984; 37:461-466.

164. **Parfrey PS, Forbes RDC, Hutchinson TA, Kenick S, Farge D, Dauphinee WD, Seely JF, y col.** The impact of renal transplantation on the course of hepatitis B liver disease. *Transplantation* 1985; 39:610-615.

165. **Paz MOA, Brenes F, Karayiannis P, Yowett TP, Sheuer PJ, Thomas HC.** Chronic hepatitis B virus infection and patterns of inflammatory activity: serological, clinical

- and histological correlations. *J Hepatol* **1986**; 3:371-377.
166. Peleman RR, Gavaler JS, Van Thiel DH, Esquivel C, Gordon R, Iwatsuki S, Starzl TE. Orthotopic liver transplantation for acute and subacute hepatic failure in adults. *Hepatology* **1987**; 7:484-489.
167. Persing DH, Varmus HE, Ganem D. Inhibition of secretion of HBsAg by related pre-surface polypeptide. *Science* **1986**; 234:1388-1391.
168. Phillips MJ, Poucell S. Modern aspects of the morphology of viral hepatitis. *Hum Pathol* **1981**; 12:1060-1084.
169. Phillips MJ, Cameron R, Flowers MA, Blendis LM, Greig PD, Wanless I, Sherman M, y col. Post-transplant recurrent hepatitis B viral liver disease. Viral-burden, steatoviral, and fibroviral hepatitis B. *Am J Pathol* **1992**; 140:1295-1308.
170. Pichlmayr R, Ringe B, Lauchart W, Wonigeit K. Liver transplantation. *Transplant Proc* **1987**; 19:103-112.
171. Pignatelli M, Waters J, Brown D, Lever A, Iwarson S, Schaff Z, Gerety R, y col. HLA class I antigens on the hepatocyte membrane during recovery from acute hepatitis B virus infection and during interferon therapy in chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* **1986**; 6:349-353.
172. Pontisso P, Poon MC, Tiollais P, Brechot C. Detection of hepatitis B virus DNA in mononuclear blood cells. *Br Med J* **1984**; 288:1563-1566.

173. **Popper H, Thung SN, Gerber MA, Hadler SC, De Monzon M, Ponzetto A, Anzola E, y col.** Histologic studies of severe delta agent infection in venezuelan indians. *Hepatology* 1983; 3:906-912.
174. **Popper H.** Changing concepts of the evolution of chronic hepatitis and the role of piecemeal necrosis. *Hepatology* 1983; 3:758-762.
175. **Porter KA.** The pathology of rejection in human liver allografts. *Transplant proc* 1988 (Suppl 1):483-485.
176. **Portmann B, O'Grady J, Williams R.** Disease recurrence following orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 1986; 18 (suppl 4):136-143.
177. **Poterucha JJ, Rakela J, Ludwig J, Taswell HF, Wiesner RH.** Hepatitis C antibodies in patients with chronic hepatitis of unknown etiology after orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 1991; 23:1495-1497.
178. **Rakela J, Wooten RS, Batts KP, Perkins JD, Taswell HF, Krom RA.** Failure of interferon to prevent recurrent hepatitis B infection in hepatic allograft. *Mayo Clin Proc* 1989; 64:429-432.
179. **Ramalho F, Brunetto MR, Rocca G, Piccari GG, Batista A, Chiaberge E, Lavarini C, y col.** Serum markers of hepatitis B virus replication, liver histology and intrahepatic expression of hepatitis B core antigen. *J Hepatol* 1988; 7:14-20.
180. **Ray MB, Desmet VJ, 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; 71:462-467.

181. Ray MB, Desmet VJ, Fevery J, De Groote J, Bradburne AF, Desmyter J. Distribution patterns of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in the liver of hepatitis patients. *J Clin Pathol* 1976; 29:94-100.
182. Ray RA, Lewin KJ, Colonna J, Goldstein LI, Busuttil RW. The role of liver biopsy in evaluating acute allograft dysfunction following liver transplantation: a clinical histologic correlation of 34 transplants. *Hum Pathol* 1988; 19:835-848.
183. Read AE, Donegan E, Lake J, Ferrell L, Galbraith C, Kuramoto IK, Zeldis JB, y col. Hepatitis C in patients undergoing liver transplantation. *Ann Intern Med* 1991; 114:282-284.
184. Read AE, Donegan E, Lake J, Ferrell L, Galbraith C, Kuramoto IK, Zeldis JB, y col. Hepatitis C in liver transplant recipients. *Transplant Proc* 1991; 23:1504-1505.
185. Redeker AG. Delta agent and hepatitis B. *Ann Intern Med* 1983; 98:542-543.
186. Repp R, Mance A, Bertram U, Niemann H, Gerlich WF, Lampert F. Persistent hepatitis B virus replication in mononuclear blood cells as a source of reinfection of liver transplants. *Transplantation* 1991; 52:935.
187. Reynès M, Zignego L, Samuel D, Fabiani B, Gugenheim J, Tricottet V, Brechot C, y col. Graft hepatitis delta virus reinfection after orthotopic liver transplantation in HDV cirrhosis. *Transplant Proc* 1989; 21:2424-2425.

188. Rizzetto M, Canese MG, Aricò S, Crivelli O, Trepo C, Bonino F, Verme G. Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated with hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. *Gut* 1977; 18:997-1003.
189. Rizzetto M, Hoyer B, Canese MG, Shih JWK, Purcell RH, Gerin JL. Delta agent: Association of delta antigen with hepatitis B surface antigen and RNA in serum of delta-infected chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77:6124-6128.
190. Rizzetto M, Canese MG, Gerin JL, London WT, Sly DL, Purcell RH. Transmission of the hepatitis B virus-associated delta antigen to chimpanzees. *J Infect Dis* 1980; 141:590-602.
191. Rizzetto M. The delta agent. *Hepatology* 1983; 3:729-737.
192. Rizzetto M, Verme G, Recchia S, Bonino F, Farci P, Aricò S, Calzia R, y col. Chronic hepatitis in carriers of hepatitis B surface antigen, with intrahepatic expression of delta antigen. *Ann Intern Med* 1983; 98:437-441.
193. Rizzetto M, Verme G. Delta hepatitis-present status. *J Hepatol* 1985; 1:187-193.
194. Rizzetto M, Rosina F, Saracco G, Bellando PC, Actis GC, Bonino F, Smedile A, y col. Treatment of chronic delta hepatitis with alpha-2-recombinant interferon. *J Hepatol* 1986; 3:2295-2305.

195. Rizzetto M, Verme G, Gerin JL, Purcell RH. Hepatitis delta virus disease. In: Progress in liver disease; Popper H, Schaffner F, eds. Philadelphia: Grune & Stratton, 1986; 417-431.
196. Rizzetto M, Macagno S, Chiaberge E, Verme G, Negro F, Marinucci G, Di Giacomo C, y col. Liver transplantation in hepatitis delta virus disease. Lancet 1987; 2:469-471.
197. Rizzetto M, Ponzetto A, Forzani I. Hepatitis delta virus as a global health problem. Vaccine 1990; 8: S10-S14.
198. Rizzetto M, Recchia S, Salizzoni M. Liver transplantation in carriers of the HBsAg. J Hepatol 1991; 13:5-7.
199. Robinson WS, Clayton DA, Greenman RL. DNA of human hepatitis B virus candidate. J Virol 1974; 14:384-391.
200. Robinson WS, Lutwick LI. The virus of hepatitis type B. N Engl J Med 1976; 295; 1232-1236.
201. Robinson WS. Genetic variation among hepatitis B related viruses. Ann New York Acad Sci 1980; 354:371-378.
202. Roingeard P, Romet-Lemonne JL, Leturcq D, Goudeau A, Essex M. Hepatitis B virus core antigen (HBcAg) accumulation in an HBV nonproducer clone of HepG2-transfected cells is associated with cytopathic effect. Virology 1990; 179:113-120.

203. Ruebner BH, Montgomery CK. Hepatic injury produced by infectious agents and miscellaneous diseases. Pathology of the Liver and Biliary Tract. New York, NY: John Wiley & Sons Inc; 1982:60-76.
204. Rustgi V, Hoofnagle JH, Gerin JL, y col. Hepatitis B virus markers in patients with acquired immunodeficiency syndrome. Ann Intern Med 1985; 102:795-797.
205. Sagnelli E, Piccinino F, Manzillo G, Felaco FM, Filippini P, Maio G, Pasquale G, y col. Effect of immunosuppressive therapy on HBsAg-positive chronic active hepatitis in relation to presence or absence of HBeAg and anti-HBe. Hepatology 1983; 3:690-695.
206. Samuel D, Benhamou JP, Bismuth H, Gugenheim J, Ciardullo M, Saliba S. Criteria of selection of liver transplantation. Transplant Proc 1987; 19:2383-2386.
207. Samuel D, Bismuth A, Mathieu D, Arulnaden JL, Reynes M, Benhamou JP, Brechot C, y col. Passive immunoprophylaxis after liver transplantation in HBsAg-positive patients. Lancet 1991; 337:813-815.
208. Samuel D, Bismuth A, Serres C, Arulnaden JL, Reynes M, Benhamou JP, Brechot C, y col. HBV infection after liver transplantation in HBsAg positive patients: experience with long-term immunoprophylaxis. Transplant Proc 1991; 23:1492-1494.
209. Sánchez-Tapias JM, Vilar JH, Costa J, Bruguera M, Ballesta AM, Rodes J. Natural history of chronic persistent hepatitis B. Relationship between hepatitis B virus replication and the course of the disease. J Hepatol 1984; 1:15-27.

210. **Sánchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, Parés A, Bruguera M, Rodés J.** Analysis factors predicting early seroconversion to anti-HBe in HBeAg-positive chronic hepatitis B. *J Hepatol* **1988**; 6:15-22.
211. **Scheig R.** Normal hepatic function foiled by HBV infection after liver transplantation. *Am J Gastroenterol* **1990**; 85:1555-1556.
212. **Scheuer PJ.** Cirrhosis. In: *Liver Biopsy Interpretation*. London, England: Baillière Tindall; **1981**: 117-132.
213. **Scheuer PJ.** Vascular disorders. *Liver Biopsy Interpretation*. 4th ed. London, England: Baillière Tindall; **1988**:173-185.
214. **Scullard GH, Smith CI, Merigan TC, Robinson WS, Gregory PB.** Effects of immunosuppressive therapy on viral markers in chronic active hepatitis B. *Gastroenterology* **1981**; 81:987-991.
215. **Shafritz DA, Hadziyannis SJ.** Hepatitis B virus DNA in liver and serum, viral antigens and antibodies, virus replication and liver disease activity in patients with persistent hepatitis B virus infection. In: *Advances in hepatitis research*. Chisari FV ed. NY, Masson publishing USA, Inc. **1984**:80-90.
216. **Sherlock S.** Hepatitis B: The disease. *Vaccine* **1990**; 8 (Suppl):6-9.
217. **Shimizu M, Ohyama M, Takahashi Y, Udo K, Kojima M, Kametani M, Tsuda F, y col.** Immunoglobulin M antibody against hepatitis B core antigen for the diagnosis of fulminant type B hepatitis. *Gastroenterology* **1983**; 84:604-610.

218. Sjogren M, Lemon SM. Low molecular weight IgM antibody to hepatitis B core antigen in chronic hepatitis B virus infection. *J Infect Dis* 1983; 148:445-451.
219. Sjogren M, Hoofnagle JH. Immunoglobulin M antibody to hepatitis B core antigen in patients with chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 1985; 89:252-258.
220. Sjogren MH, Hoofnagle JH, Waggoner JG. Effect of corticosteroid therapy on levels of antibody to hepatitis B core antigen in patients with chronic type B hepatitis. *Hepatology* 1987; 7:582-585.
221. Smedile A, Dentico P, Zanetti A, Sagnelli E, Nordenfelt E, Actis GC, Rizzetto M. Infection with the delta agent in chronic HBsAg carriers. *Gastroenterology* 1981; 81:992-997.
222. Smedile A, Rizzetto M, Denniston K, Bonino F, Wells F, Verme G, Consolo F, y col. Type D hepatitis: the clinical significance of hepatitis D virus RNA in serum as detected by a hybridization-based assay. *Hepatology* 1986; 6:1297-1302.
223. Smedile A, Rosina F, Saracco G, Chiaberge E, Lattore V, Fabiano A, Brunetto R, y col. Hepatitis B virus replication modulates pathogenesis of hepatitis D virus in chronic hepatitis D. *Hepatology* 1991; 13:413-416.
224. Snover DC, Freese DF, Sharp HL, Bloomer JR, Najarian JS, Ascher NL. Liver allograft rejection : an analysis of the use of biopsy in determining outcome of rejection. *Am J Surg Pathol* 1987; 11:1-10.
225. Snover DC. Viral infections. In: Biopsy diagnosis of liver disease. Snover DC ed. Baltimore, Williams Wilkins. 1992; 127-154.

226. Starzl TE, Marchioro TL, Von Kaulla K, y col. Homotransplantation of the liver in humans. Surg Gynecol Obstet 1963; 117:659-676.
227. Starzl TE, Koep LJ, Halgrimson CG, Hood J, Schroter GPJ, Porter KA, Weil IIR. Fifteen years of clinical liver transplantation. Gastroenterology 1979; 77:375-388.
228. Starzl TE, Iwatsuki S, Klintmalm G, Schroter GPJ, Weil R III, Koep LJ, Porter KA, y col. Liver transplantation 1980, with particular reference to cyclosporine A. Transplant Proc 1981; 13:281-285.
229. Starzl TE, Demetris AJ, Van Thiel D. Liver transplantation. N Engl J Med 1989; 321:1014-1922.
230. Steininger R, Muhlbacher F, Langle F, Gnant M, Sautner T, Gotzinger P, Walgram M, y col. Experiences with liver transplantation in hepatitis B antigen positive liver cirrhosis. Wien Klin Wochenschr 1991; 103:573-576.
231. Stieber AC, Iwatsuki S, Starzl TE. Orthotopic liver transplantation for fulminant and subacute hepatic failure. ASAIO Transactions 1988; 34:959-964.
232. Stöcklin E, Gudat F, Krey G, Durmuller V, Gasser M, Schmidt M, Stalder G. Delta-Antigen in hepatitis B: immunohistology of frozen and paraffin-embedded liver biopsies and relation to HBV infection. Hepatology 1981; 1:238-242.
233. Takahashi K, Akahane Y, Gotanda T, Mishiro T, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Demonstration of hepatitis e antigen in the core of Dane particles. J Immunol 1979; 122:275.

234. Tapp E, Jones DM. HBsAg and HBeAg in the livers of asymptomatic hepatitis B antigen carriers. *J Clin Path* 1977; 30:671-677.
235. Thomas HC, Lever AML, Scully LJ, Pignatelli M. Approaches to the treatment of hepatitis B virus and delta-related liver disease. *Semin Liver Dis* 1986; 6:34-41.
236. Thung SN, Gerber MA, Klion F, Gilbert H. Massive hepatic necrosis after chemotherapy withdrawal in a hepatitis B virus carrier. *Arch Intern Med* 1985; 145:1313-1314.
237. Tiollais P, Pourcel C, Dejean A. The hepatitis B virus. *Nature* 1985; 317:489-495.
238. Todo S, Demetris AJ, Van Thiel D, Teperman L, Fung JJ, Starzl TE. Orthotopic liver transplantation for patients with hepatitis B virus-related liver disease. *Hepatology* 1991; 13:619-626.
239. Trepo CG, Robert D, Motin J, Trepo D, Sepetjian M, Prince AM. Hepatitis B antigen (HBsAg) and/or antibodies (Anti-HBs and Anti-HBe) in fulminant hepatitis: pathogenic and prognostic significance. *Gut* 1976; 17:10-13.
240. Trepo C, Rizzetto M. Le virus de l'hépatite Delta (VHD): troisième virus des hépatites identifié. *Gastroenterol Clin Biol* 1986; 10:248-254.
241. Van Thiel DH, Gavalier JS, Tarter RE, Starzl TE. Past, present and future of liver transplantation. In: Maddrey WC ed, *Transplantation of the liver*. NY: Elsevier 1988;1-22.

242. Vento S, Hegarty JE, Alberti A, O'Brian CJ, Alexander GJM, Eddleston ALWF, Williams R. T lymphocyte sensitization to HBcAg and T-cell-mediated unresponsiveness to HBsAg in hepatitis B virus-related chronic liver disease. *Hepatology* 1985; 5:192-197.
243. Vento S, Eddleston ALWF. Immunological aspects of chronic active hepatitis. *Clin Exp Immunol* 1987; 68:225-232.
244. Verme G, Rocca G, Rizzi R, Mollo F, David E, Solcia E, Sessa F. Histopathology of chronic delta hepatitis. *Prog Clin Biol Res* 1983; 143: 169-176.
245. Villari D, Raimondo G, Smedile V, Rodinó G, Brancatelli S, Longo G, Squadrito G, y col. Hepatitis B-DNA replication and histological patterns in liver biopsy specimens of chronic HBsAg positive patients with and without hepatitis delta virus superinfection. *J Clin Pathol* 1989; 42:689-693.
246. Vogel W, Dietze O, Judmaier G, Then P, Schmid TH, Margreiter R. Delayed clearance of HBsAg after transplantation for fulminant delta-hepatitis. [Letter] *Lancet* 1988; 2:52.
247. Weller IVD, Fowler MJF, Monjardino J, Thomas HC. The detection of HBV DNA in serum by molecular hybridization: A more sensitive method for the detection of complete HBV particles. *J Med Virol* 1982; 9:273-280.
248. White HM, Brunt EM, Regenstein F, Hanto DW, Marsh JW, Peters MG. Effect of alpha-interferon and immune globulin therapy on hepatitis B viral infection in transplanted liver recipients. [Abstract]. *Hepatology* 1990; 12:867.

249. Wiesner RH, Ludwig J, Van Hoek B, Krom RAF. Current concepts in cell-mediated hepatic allograft rejection leading to ductopenia and liver failure. *Hepatology* 1991; 14:721-729.
250. Wight DCG. Differential diagnosis of cholestasis in liver allografts. *Transplant Proc* 1986; 18 (Suppl 4):152-156.
251. Williams JW, Vera S, Peters TG, Van Voorst S, Britt LG, Dean PJ, Haggitt R, y col. Cholestatic jaundice after hepatic transplantation: a nonimmunologically mediated event. *Am J Surg* 1986; 151:65-70.
252. Williams JW. History of liver transplantation. In: Williams JW ed; *Hepatic Transplantation*. WB Saunders Company 1990; 2-10.
253. Wright HI, Gavalier JS, Van Thiel DH. Preliminary experience with alpha-2b-interferon therapy of viral hepatitis in liver allograft recipients. *Transplantation* 1992; 53:121-124.
254. Wu TT, Hsu HC, Chen DS, Sheu JC, Su IJ, Chen SL, Chuang SM. Clearance of hepatitis B surface antigen (HBsAg) after surgical resection of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1987; 4:45-51.
255. Wu JC, Lee SD, Govindarajan S, Kung TW, Tsai YT, Lo KJ, Ting LP. Correlation of serum delta RNA with clinical course of acute hepatitis delta virus superinfection in Taiwan: a longitudinal study. *J Infect Dis* 1990; 161:1116-1120.

256. Yamada G, Nakane PK. Hepatitis B core and surface antigens in liver tissue. Light and electron microscopic localization by the peroxidase-labeled antibody method. *Lav Invest* 1977; 36:649-659.
257. Yamada G, Feinberg LE, Nakane PK. Hepatitis B. Cytologic localization of virus antigens and the role of the immune response. *Hum Pathol* 1978; 9:93-109.
258. Yoffe B, Burns DK, Bhatt HS, Donegan E, Ferrell L, Ascher WL, Roberts JP, y col. Extrahepatic hepatitis B virus DNA sequences in patients with acute hepatitis B infection. *Hepatology* 1990; 12:187-192.
259. Yoffe B, Noonan CA. Hepatitis B virus. New and evolving issues. *Dig Dis Sci* 1992; 37:1-9.
260. Zignego AL, Samuel D, Gugenheim J, y col. Hepatitis B virus replication and mononuclear blood cell infection after liver transplantation. In: Zuckerman AJ, ed. *Viral Hepatitis and Liver Disease*. NY: Alan R. Liss, 1988; 808-809.