

ASPECTOS HISTOLÓGICOS DO FÍGADO NOS PORTADORES ASSINTOMÁTICOS DO ANTIGÉNIO DE SUPERFÍCIE DA HEPATITE B (AgHBs)

J. O. Soares, F. Ramalho, A. Baptista e M. Carneiro de Moura

Serviço de Anatomia Patológica, Hospital de Santa Maria, Centro de Gastroenterologia da Universidade de Lisboa. Instituto de Anatomia Patológica, Faculdade de Medicina de Lisboa. Lisboa. Portugal.

RESUMO

Vinte e cinco dadores de sangue portadores assintomáticos do AgHBs aceitaram submeter-se a biópsia hepática para documentação morfológica de eventual lesão do fígado. Treze indivíduos tinham valores normais da função hepática e, em 12 havia parâmetros bioquímicos anormais. As biópsias foram classificadas, de forma cega, em: normal (1), alterações inespecíficas *minor* (7) e *major* (8), hepatite crónica persistente - HCP (5), hepatite crónica activa - HCA (2) e hepatite crónica lobular - HCL (2). Em 18 biópsias havia necrose intralobular focal (72%) e, em 22, padrões nucleares de actividade regenerativa dos hepatocitos (88%). Foi observada inflamação intralobular em 21 casos (84%) e portal em 18 (72%). Vinte e três biópsias apresentavam hepatocitos com citoplasma em *vidro moído* (92%). Fibrose, predominantemente focal e ligeira, foi encontrada em 18 casos (72%), e, esteatose, também ligeira e em focos, em 10 casos (40%). Havia hiperplasia das células de Kupffer em 22 casos (88%). Em 13 portadores com transaminases normais havia hepatite crónica em dois (1 HCP e 1 HCA). Dos 12 portadores em que as transaminases eram normais 4 tinham HCP, 1 HCA e 2 HCL. Concluiu-se que 36% dos portadores assintomáticos do AgHBs tinham doença hepática crónica, e que a presença de função hepática normal não excluía a existência de doença hepática grave. A reavaliação histológica dos portadores de AgHBs e a correlação com outros parâmetros, designadamente os marcadores séricos do vírus, poderão contribuir para o esclarecimento do significado patológico da persistência da antigenémia nestes indivíduos.

Desde a descoberta do antigénio Austrália e da sua associação com o vírus da hepatite B,¹ um largo espectro de situações de patologia hepática, quer formas de hepatite aguda, quer formas de hepatite crónica, tem sido relacionado etiopatogenicamente com este vírus.

O rastreio do AgHBs no soro dos dadores de sangue vem identificando, de forma crescente, uma população particular de indivíduos portadores crónicos de antigenémia sem doença clínica ou com manifestações subclínicas, traduzidas em discretas alterações bioquímicas da função hepática.

O interesse do estudo destes portadores crónicos assintomáticos do AgHBs deriva não só da sua importância epidemiológica na transmissão do vírus como, também, do facto de possibilitar um melhor conhecimento do seu comportamento biológico e, designadamente, das relações hospedeiro-vírus.

Os estudos efectuados no sentido de documentar as alterações histológicas presentes em indivíduos portadores assintomáticos do AgHBs registam resultados diversos, desde alterações inespecíficas mínimas²⁻⁵ a formas de doença hepática crónica, como a hepatite crónica activa e a cirrose hepática.⁶⁻⁸ A incidência de patologia hepática

é, pois, muito variada nas séries publicadas e o prognóstico dos indivíduos portadores crônicos do AgHBs permanece por esclarecer.

No presente estudo procuram documentar-se as alterações histológicas do fígado num grupo de indivíduos portadores assintomáticos do AgHBs, rastreados no Serviço de Sangue do Hospital Santa Maria, usando-se um protocolo sistematizado de leitura das biópsias hepáticas. Os resultados são analisados comparativamente com os dados publicados na literatura.

MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e cinco doadores voluntários de sangue portadores assintomáticos do AgHBs aceitaram submeter-se a biópsia hepática para documentação morfológica de eventual lesão hepática.

A idade média dos indivíduos era de 34 anos, com variação de 13 a 60 anos. Dezoito indivíduos eram do sexo masculino e sete do sexo feminino. Dos 25 portadores crônicos, 13 tinham valores normais de transaminasémias, enquanto que 12 apresentavam valores daqueles enzimas superiores ao normal. Nenhum dos indivíduos tinha história de ingestão crônica de álcool ou de toxicodependência.

As biópsias percutâneas foram realizadas com agulha de Menghini: Os fragmentos foram fixados em formalina a 4% e processados para observação em microscopia de luz, segundo a técnica convencional. Foram utilizadas as colorações de hematoxilina-eosina, Gordon-Sweet (reticulina), Perls (ferro) e Shikata modificada (AgHBs).⁹

Foram analisados os seguintes aspectos morfológicos: arquitetura lobular, tractos portais, integridade da lâmina limitante, fibrose, alterações degenerativas e necrose dos hepatocitos, padrões de regeneração dos hepatocitos (polimorfismo nuclear, células binucleadas, multinucleólos, mitoses), infiltrados intralobulares e portais, hepatocitos de citoplasma em *vidro moído* (*ground glass*) siderose, hiperplasia e tumefacção das células de Kupffer.

Foram considerados como critérios histológicos de classificação da hepatite crônica:^{10, 11} *hepatite crônica persistente* (HCP) — arquitetura hepática conservada, alargamento dos espaços-porta com infiltração por mononucleados, focos ocasionais de lesão hepatocelular e de degenerescência eosinófila; *hepatite crônica activa* (HCA) — alargamento dos tractos portais com inflamação e destruição da interface parenquima-mesenquima com fibrose, associado a evidência de lesão hepática intralobular mais ou menos grave; *hepatite crônica lobular* (HCL) — colapso focal com necrose acidófila e lítica, inflamação e regeneração por todo o lóbulo com moderada infiltração portal linfocitária. A leitura das lâminas foi feita por dois observadores (J.O.S. e A. B.), sem conhecimento de informação clínica e bioquímica.

Foi feita apreciação semiquantitativa das alterações observadas em ligeira, moderada e grave.

RESULTADOS

Os 25 casos estudados foram classificados de acordo com o tipo e intensidade das lesões observadas (Quadro 1). Assim uma só biópsia foi considerada *normal* não tendo sido encontradas quaisquer alterações.

Em 7 casos as lesões foram classificadas de *mínimas*. Nessa designação englobam-se alterações não específicas e quantitativamente pouco expressivas: escassos e

Quadro 1

Classificação histológica das biópsias hepáticas em 25 portadores do AgHBs

Normal	1
Alterações inespecíficas	
minor (lesões mínimas)	7
major	8
Hepatite crónica persistente	5
Hepatite crónica activa	2
Hepatite crónica lobular	2
Total	25

pequenos focos de necrose intralobular, ligeira infiltração inflamatória intralobular, hepatocitos com citoplasma em *vidro moído*, focos de esteatose ou ligeira fibrose portal.

Oito casos foram classificados de *alterações inespecíficas major*. Essas alterações (necrose focal intralobular, inflamação intralobular e portal, fibrose, hiperplasia das células de Kupffer), embora com expressão quantitativa significativa, não tinham, no conjunto do quadro histológico, características próprias dos padrões patológicos das formas de hepatite crónica.

Dos restantes 9 casos, 5 foram classificados de hepatite crónica persistente, 2 hepatite crónica activa e 2 com hepatite crónica lobular.

Necrose intralobular

Foi observada necrose focal dos hepatocitos em 18 dos 25 casos (72%). Era ligeira em 9 casos, moderada em 8 e intensa em 1.

As 7 biópsias em que não foi encontrada necrose intralobular correspondiam a casos classificados de normal,¹ lesões mínimas,³ alterações inespecíficas major² e hepatite crónica persistente¹. Todos os casos de hepatite crónica activa e lobular tinham hepatocitolise moderada ou intensa. Também, nestes casos, foi identificada a presença abundante de corpos eosinófilos.

Regeneração celular

Expressões morfológicas nucleares indicativas de regeneração celular foram um achado muito frequente em todos os casos estudados, sendo mais constantes o polimorfismo dos núcleos dos hepatocitos (21/25) e a presença de binucleação (23/25). De realçar a presença de figuras de mitose em 52% dos casos (13/25) considerando o ritmo lento de renovação celular das células parenquimatosas hepáticas.

Os grupos com alterações inespecíficas *major*, hepatite crónica persistente e hepatite crónica activa foram aqueles em que coexistiram, com mais frequência, os quatro parâmetros estudados (polimorfismo nuclear, binucleação, multinucleolos e mitoses).

Inflamação intralobular

Somente não foi encontrada inflamação intralobular em 4 casos (16%); nos 21 restantes (84%) havia inflamação ligeira em 12, moderada em 8 e intensa em 1.

Os 8 casos com inflamação intralobular moderada correspondiam aos casos de hepatite crónica activa e lobular e, também, a 2 biópsias classificadas de hepatite crónica persistente e 2 com alterações inespecíficas *major*.

Inflamação dos tractos portais

O alargamento dos espaços-porta por infiltração celular inflamatória foi encontrado em 18 casos (72%), sendo ligeiro em 7, moderado em 6 e intenso em 5. Os casos de intensa infiltração inflamatória portal correspondiam a 3 casos de hepatite crónica persistente e aos 2 casos de hepatite crónica activa. Nestes últimos, havia perda de integridade da interface parenquima-mesenquima com imagens características de necrose de tipo *piece meal*.

Fibrose

Foi observada fibrose em 18 casos (72%), sendo ligeira em 14, moderada em 3 e intensa em 1. Relativamente ao padrão de distribuição da fibrose, era largamente predominante a fibrose portal.

Hepatocitos de citoplasma em vidro moído

Células hepáticas com aspecto característico do seu citoplasma em *vidro moído* foram observadas em 23 dos 25 casos (92%). A sua presença foi classificada de ligeira (células isoladas, dispersas no lóbulo hepático, em número inferior a 20% do total dos hepatocitos) em 11 biópsias, de moderada (pequenas ilhotas de células num total de 20 a 50% de hepatocitos) em 7 biópsias, e de intensa (grandes toalhas de células em quantidade superior a 50% de hepatocitos) em 5 casos.

Hepatocitos corando pelo método de Shikata foram observados em 16 dos 25 casos. Em geral, o número de células coradas era inferior ao número de hepatocitos com citoplasma em *vidro moído*, tal como observado nas lâminas coradas pela hematoxilina-eosina.

Esteatose

A presença de gotas de gordura nos hepatocitos foi observada em 10 portadores (40%). Tratava-se, em geral, de gotas de pequena e média dimensões, em quantidade ligeira, e com distribuição em pequenos focos, sem preferência por qualquer zona do lóbulo hepático.

Células de Kupffer

Em 22 casos (85%) foi observada, difusamente, hiperplasia das células de Kupffer. Em 12 deles (46%) essa hiperplasia acompanhava-se de tumefacção do citoplasma. Não foi encontrado pigmento nas células de Kupffer.

Ferro

Nos 25 casos estudados somente em 3 havia acumulação de hemosiderina nos hepatocitos, em todos eles em quantidade ligeira.

Lipofuscina

Acumulação de pigmento castanho-dourado junto do polo biliar dos hepatocitos com as características usuais da lipofuscina e, corando positivamente pelo PAS, foi observada em 9 dos 25 casos.

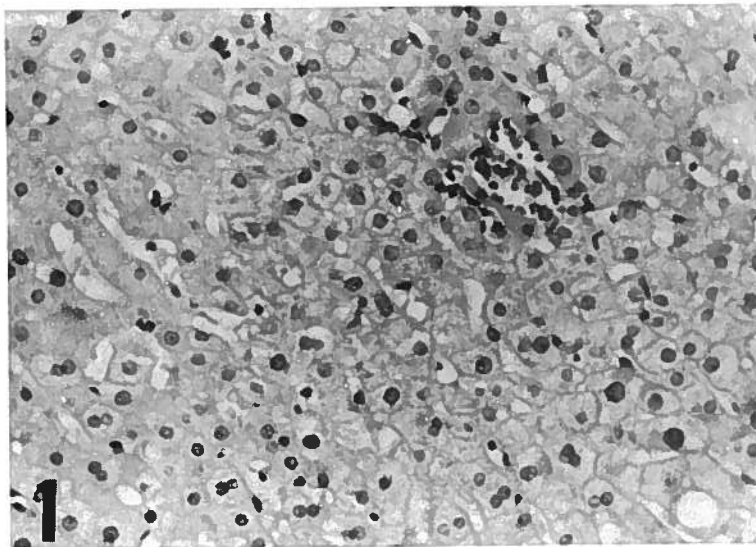


Fig. 1 — Foco de necrose intralobular. X 250.

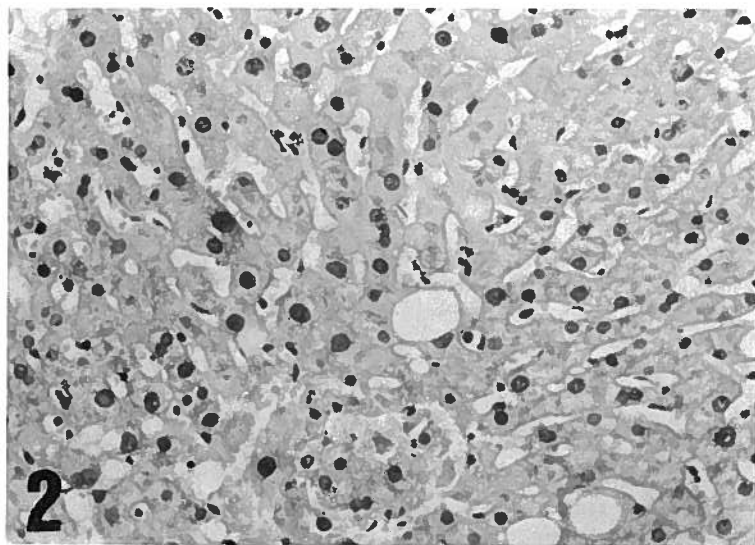


Fig. 2 — Hepatocitos com citoplasma em «vidro moido». Polimorfismo dos núcleos dos hepatocitos. Hiperplasia das células de Kupffer. $\times 250$.

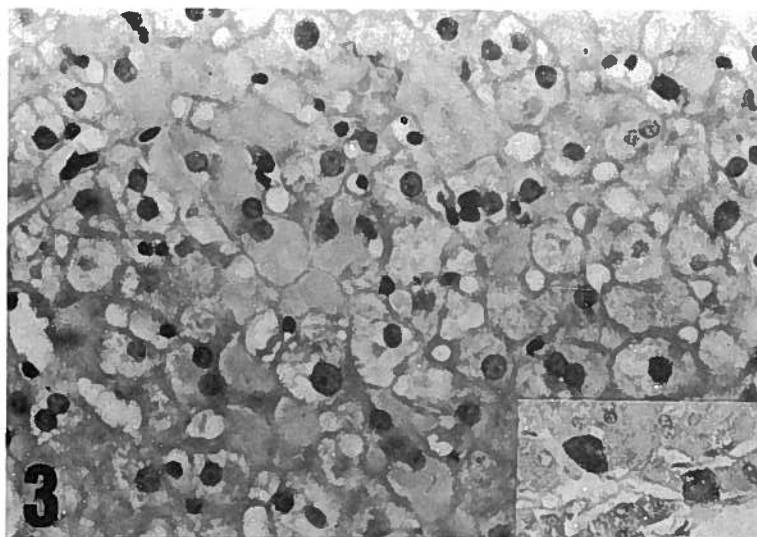


Fig. 3 — Hepatocitos com citoplasma em «vidro moido». Acentuado polimorfismo do núcleo dos hepatocitos. Vários hepatocitos binucleados. Em 'inclusão' hepatocitos com citoplasma corados positivamente pela orceína. $\times 400$.

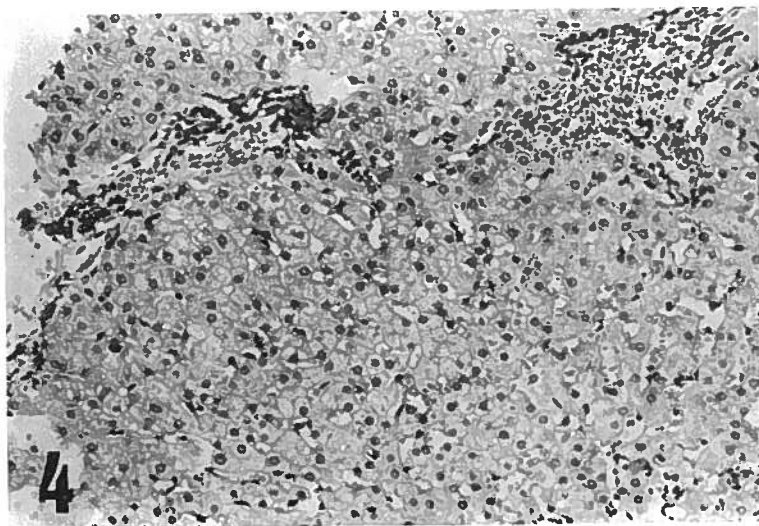


Fig. 4 — *Hepatitis crónica persistente*. $\times 160$.

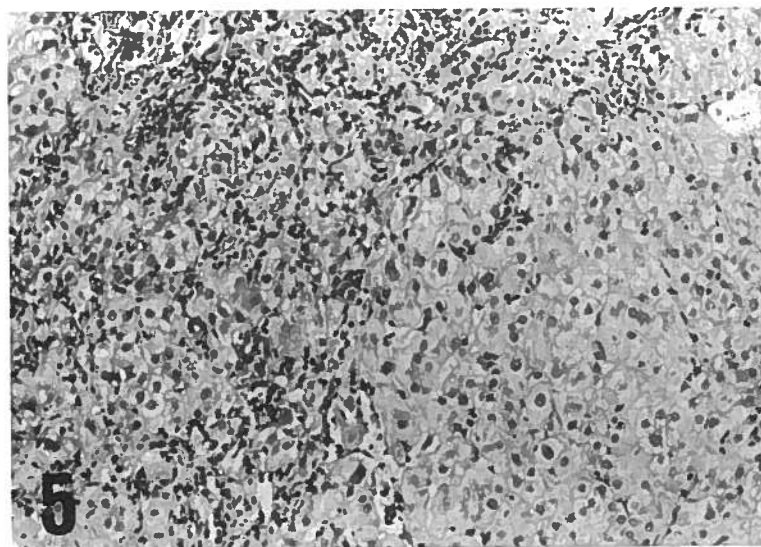


Fig. 5 — *Hepatitis crónica activa*. $\times 160$

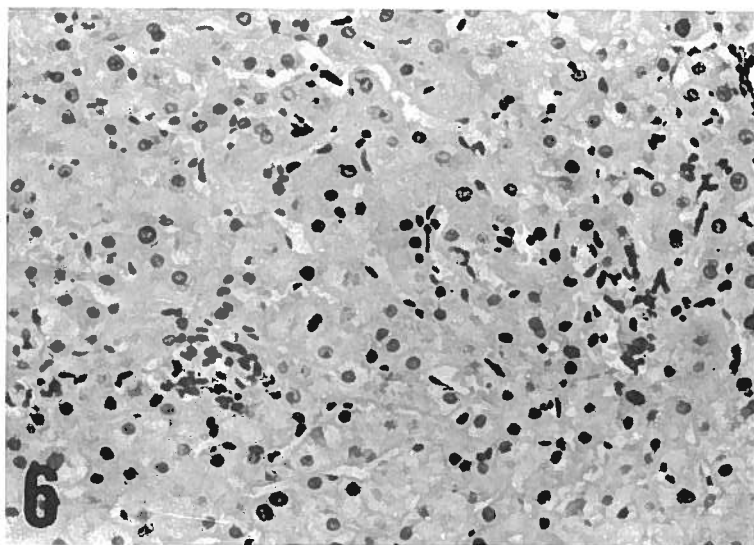


Fig. 6 — Hepatite crónica lobular. Área do lóbulo hepático com necrose celular e marcada inflamação. $\times 250$.

DISCUSSÃO

Sendo relativamente numerosa a literatura que aborda os aspectos clínicos, laboratoriais e histológicos dos portadores crônicos do antígeno de superfície da hepatite B (AgHBs) são, contudo, muito diversos e, por vezes, contraditórios os resultados das diferentes séries. A frequência e gravidade de doença hepática nos portadores crônicos varia de mínima a intensa e, designadamente em relação à incidência de hepatopatia crónica histologicamente comprovada, os valores variam de 1,8% a 77,7%.^{2-8, 12-18}

A primeira dificuldade no cotejo das séries publicadas resulta do próprio conceito de portador assintomático. Em alguns trabalhos incluem-se portadores de antigenemia com documentação de outros factores aceites como concorrentes na etiologia de doença hepática crónica, como sejam o álcool e certas drogas. Outras séries não englobam os portadores que, embora sem doença clínica, não têm valores bioquímicos de função hepática, nomeadamente de transaminases, normais.^{13, 19}

O presente estudo comporta portadores de antigenemia persistente sem doença clínica, sem história de outros factores etiológicos de doença hepática crónica e, quer com valores normais de transaminases.¹³ quer com valores anormais daqueles enzimas.¹²

O estudo histológico das 25 biópsias de portadores crônicos de AgHBs documenta doença hepática crónica (hepatite crónica persistente, hepatite crónica activa e hepatite crónica lobular) em 9, o que corresponde a uma percentagem de 36%. Em relação à incidência de doença hepática crónica em portadores com valores bioquímicos de função hepática normais (8%), ela é semelhante à encontrada por Sampliner e col. (8,9%)¹⁷ e, inferior às restantes séries publicadas, com excepção da de Velasco e col. (2,9%)²⁰ (Quadro 2). Relativamente aos indivíduos portadores de AgHBs com valores de função hepática anormais, a incidência de doença hepática crónica é semelhante à das restantes séries, ainda aqui com valores inferiores na série de Velasco e col. (Quadro 2).²⁰

Quadro 2

Incidência de doença hepática crónica em portadores assintomáticos do AgHBs (§)

Série	N.º biópsias	% total	FH N	FH ↑
Bolin et al. ² (1973)	18	77,7%	38,8%	38,8%
Woolf et al. ⁸ (1974)	34	44,1%	14,7%	29,4%
Velasco et al. ²⁰ (1978)	35	20,0%	2,9%	17,1%
Koretz et al. ¹³ (1978)	23	13,0%	13,0%	(x)
Sampliner et al. ¹⁷ (1979)	34	41,2%	8,9%	32,3%
DeFranchis et al. ¹⁹ (1980)	68	27,9%	27,9%	(x)
Soares et al. (1980)	25	36,0%	8,0%	28,0%

(§) *Doença hepática crónica* engloba hepatite crónica persistente, activa e lobular.

(x) As séries de Koretz et al. e DeFranchis et al. incluem somente portadores assintomáticos do AgHBs com valores normais da função hepática (FN).

A classificação de *normal* em biópsias hepáticas de portadores crónicos do AgHBs é escassamente referida em todas as séries (1 caso no presente estudo), com excepção de Velasco e col.²⁰ (Quadro 3).

Quinze biópsias apresentavam alterações hepáticas inespecíficas. Considerámos um subgrupo com alterações *minor* (7 casos) e outro com alterações *major* (8 casos). Os portadores com lesões mínimas tinham biópsias com alterações quantitativamente escassas e qualitativamente pouco significativas. Os portadores com alterações inespecíficas *major* tinham lesões hepáticas suficientemente importantes para justificarem ser considerados como grupo isolado já que, designadamente em relação à sua catamnese poderão, eventualmente, comportar-se como grupo de prognóstico diferente. Esta questão é também posta por Woolf e col.⁸ ao considerarem que as biópsias que classificaram de *alterações inespecíficas*, pela quantidade de necrose focal intralobular, devem ser consideradas diferentemente das referidas com a mesma designação, por exemplo, por Ricci e col.,¹⁸ e que são, na realidade, mínimas alterações da morfologia normal. Em apoio daquela interpretação, Tapp e col.,²¹ em estudo catamnético que englobou os portadores crónicos incluídos na série publicada por Woolf e col.,⁸ detectaram a evolução para hepatite crónica persistente, em 4 de 6 indivíduos com importante necrose focal intralobular, embora em nenhum tivesse sido documentada evolução para hepatite crónica activa. Contudo, DeFranchis e col. em publicação recente,¹⁹ referem a evolução ocorrida em 24 meses para hepatite crónica activa em um portador cuja primeira biópsia havia sido classificada de alterações inespecíficas.

A incidência da hepatite crónica persistente nas séries publicadas é variada, desde 8,0%²⁰ a 44,4%,¹² tendo sido, na presente série, de 20,0%. Embora os critérios de classificação sejam os recomendados pelo Grupo Internacional,¹⁰⁻¹¹ é provável que a discrepância resulte da subjectividade da leitura das biópsias, sendo possível que algumas biópsias classificadas de alterações inespecíficas em que há importante alargamento portal por células inflamatórias sejam, em outras séries, consideradas como hepatites crónicas persistentes.

Quadro 3

Classificação histológica	Bolin et al.	Woolf et al.	Velasco et al.	Koretz et al.	Sampliner et al.	DeFranchis et al.	Soares et al.
	1973	1974	1978	1978	1979	1980	1980
N	1	3	10	2	1	3	1
AI	2	16	18	18	19	46	15
HCF	8	11	4	3	0	16	5
HCA	5	3	1	0	4	3	2
HCL	2	0	0	0	7	0	2
CH	0	1	2	0	3	0	0
TOTAL	18	34	35	23	34	68	25

N — normal; AI — alterações inespecíficas; HCF — Hepatite crónica persistente; HCA — hepatite crónica activa; HCL — hepatite crónica lobular.

Hepatite crónica activa tem sido encontrada em todas as séries que incluem indivíduos portadores com valores anormais da função hepática (Quadro 3). No presente trabalho, um dos casos de hepatite crónica activa tinha parâmetros bioquímicos normais, observação também referida por Sampliner e col.,¹⁷ Bolin e col.¹² e DeFranchis e col.¹⁹ Estes casos apoiam a ideia de que doença hepática progressiva grave pode ocorrer na ausência de alterações bioquímicas da função hepática.

Considerada na última revisão da hepatite crónica pelo Grupo Internacional de Estudo do Fígado,¹¹ a hepatite crónica lobular parece vir a ganhar crescente aceitação como quadro morfológico autónomo, desde a descrição original de Popper e Schaffner.²² Dois casos da série de Bolin e col.¹² e 7 casos da série de Sampliner e col.¹⁷ correspondem, pela descrição do quadro histopatológico, a formas de hepatite crónica lobular que, segundo Scheuer são formas de doença hepática relativamente frequentes nos portadores crónicos do AgHBs.²³ Provavelmente as hepatites crónicas lobulares correspondem também às formas descritas nos trabalhos de Piccinino e col.^{14, 15} como

resolving-like hepatitis e as referidas por Feinman e col.³ como *hepatites benignas crônicas persistentes com infiltração inflamatória lobular predominante* (10 em 29 casos). Em relação aos achados histológicos, considerados independentemente do diagnóstico final, constata-se a elevada percentagem de necrose intralobular focal (72% dos casos), em geral associada a inflamação intralobular. Estes focos poderão corresponder a um processo de eliminação do vírus pelo organismo. Os focos de hepatocitolise com inflamação mais exuberante e com grande quantidade de histiocitos, correspondem provavelmente, às descrições de granulomas histiocitários de Woolf e col.⁸ e Piccinino e col.¹⁴

A elevada percentagem de ocorrência de padrões morfológicos de regeneração dos hepatocitos está, provavelmente, em relação com a necrose hepatocitária. Embora se trate de parâmetros de apreciação subjectiva e, como tal, exigindo um estudo quantitativo para a sua apreciação mais correcta, a sua frequência sugere que a cinética celular do fígado se encontra acelerada nos portadores crónicos do AgHBs.

Só em 2 casos não foi detectada presença de hepatocitos com citoplasma em *vidro moído*, sendo esta percentagem (92%) um pouco mais elevada do que é geralmente referido na literatura.^{19, 21}

A esteatose ocorrida em 40% dos casos foi um achado mais frequente do que o que se encontra referido na literatura, estando excluída a concomitância de ingestão de álcool ou drogas hepatotóxicas.

A hiperplasia das células de Kupffer, observada em 88% dos casos, tem sido igualmente referida como muito frequente nas diversas séries publicadas e é expressão não específica de lesão hepática.

CONCLUSÕES

1.º — A incidência de doença hepática crónica em portadores assintomáticos do AgHBs é significativa, sobretudo naqueles que apresentam valores bioquímicos da função hepática anormais, em que atinge, aproximadamente, um terço dos casos. Por essa razão parece indisputável a indicação para biopsar estes indivíduos, no sentido de determinar a extensão e gravidade de eventual lesão hepática.

2.º — A indicação para biopsar os portadores assintomáticos com função hepática normal é mais difícil de considerar como absoluta. Os quadros histopatológicos graves (hepatite crónica activa e cirrose hepática) são achado de baixa ocorrência nas diferentes séries publicadas. Contudo, a existência de valores bioquímicos normais não exclui doença hepática grave, de significado prognóstico, como se documenta no presente trabalho e nas publicações de Bolin e col.,¹² Sampliner e col.¹⁷ e DeFranchis e col.¹⁹

3.º — O prognóstico dos indivíduos portadores de hepatite crónica lobular permanece por estabelecer e novos dados serão necessários para o reforço da sua individualização como entidade distinta das outras formas de hepatite crónica.

4.º — As evoluções documentadas em estudos catamnéticos de *alterações inespecíficas para hepatite crónica persistente e activa* e de *hepatite crónica persistente para hepatite crónica activa*, sugerem a necessidade de rebiopsar estes indivíduos para uma noção mais precisa do valor da informação histológica no prognóstico dos portadores crónicos.

5.º — A reavaliação histopatológica dos portadores crónicos e o estudo correlacionado de outros parâmetros, nomeadamente os marcadores séricos do vírus B, poderão contribuir para um melhor esclarecimento do significado patológico da persistência da antigenémia nestes indivíduos.

SUMMARY

LIVER HISTOLOGY IN ASYMPTOMATIC CARRIERS
OF HEPATITIS B ANTIGEN (HBsAg)

Twenty-five blood donors HBsAg asymptomatic carriers were subjected to liver biopsy to study an eventual hepatic lesion. Thirteen individuals presented normal hepatic biochemistry and 12 had abnormal laboratorial liver tests. The biopsies were classified as: normal (1), minor (7) and major (8) inespecific alterations, chronic persistent hepatitis - CPH (5), chronic active hepatitis - CAH (2) and chronic lobular hepatitis - CLH (2). Focal intralobular necrosis was found in 18 biopsies (72%) and 22 cases showed nuclear patterns of hepatic cell regeneration (88%). Intralobular inflammation was present in 21 cases (84%) and portal tract inflammation in 18 cases (72%). Ground glass hepatocytes were observed in 23 biopsies (92%). Fibrosis mostly slight and focal was found in 18 cases (72%) and steatosis also slight in 10 cases (40%). There was Küpffer cell hyperplasia in 22 cases (88%). Two of the 13 carriers with normal transaminases presented chronic hepatitis (1 CPH and 1 CAH). From 12 carriers with abnormal transaminases, 4 had CPH, 1 had CAH and 2 CLH. We concluded of the presence of chronic liver disease in 36% of the HBsAg asymptomatic carriers and that a normal liver biochemistry does not exclude severe hepatic lesion. It is stressed that the histological reevaluation of the HBsAg carriers and its correlation with other parameters, namely the serological markers of the virus could clarify the significance of the persistence of the antigenaemia in these individuals.

BIBLIOGRAFIA

1. BLUMBERG BS, ALTER HJ, VISNICH S: A new antigen in leukemia sera. *JAMA* 1965; 191: 541.
2. ANDERSEN RE, SUN SL, BERG HS: Histology in asymptomatic chinese military personnel with hepatitis B antigenaemia. *Am J Dig Dis* 1978; 19: 693.
3. FEINMANN SV, COOTER N, SINCLAIR JC, WROBEL DM, BERRIS B: Clinical and epidemiological significance of the HBsAg (Australia antigen) carrier state. *Gastroenterology* 1975; 68: 113.
4. GRIFFIN AM: Hepatitis B antigenemia in apparently healthy blood donors. *JAMA* 1973; 226: 753.
5. REINICKE V, DYBKJAER E, POULSEN H, BANKE O, LYLLOFF K, NORDENFELT E: A study of Australian antigen positive blood donors and their recipients with special reference to liver histology. *N Engl J Med* 1972; 286: 867.
6. SIMON JB, PATEL SK: Liver disease in asymptomatic carriers of hepatitis B antigen. *Gastroenterology* 1974; 66: 1020.
7. SINGLETON JW, FITCH RA, MERRIL DA, KOHLER PF, RETTBERG WAH: Liver disease in Australia-antigen-positive blood-donors. *Lancet* 1971; 2: 785.
8. WOOLF IL, BOYES BE, JONES DM, WHITTAKER JS, TAPP E, MACSWEEN RNM, RENTON PH, STRATTON F, DYMOCK IW: Asymptomatic liver disease in hepatitis B antigen carriers. *J Clin Path* 1974; 27: 348.
9. DEODHAR KP, TAPP E, SCHEUER PJ: Orcein staining of hepatitis B antigen in paraffin sections of liver biopsies. *J Clin Path*, 1973; 28: 66.
10. DeGROOTE J, DESMET VT, GEDIGK P, KORB G, POPPER H, POULSEN H, SCHEUER PJ, SCHMID M, THALER H, UEBLINGER E, WEPLER W: A classification of chronic hepatitis. *Lancet* 1968; 2: 626.
11. REVIEW BY AN INTERNATIONAL GROUP: Acute and chronic hepatitis revisited. *Lancet* 1977; 2: 914.
12. BOLIN TD, DAVIS AE, LIDDELOW AG: Liver disease and cell-mediated immunity in hepatitis-associated antigen (HAA) carriers. *Gut* 1973; 14: 365.
13. KORETZ RL, LEWIN KJ, REBHUN D J, GITNICK GL: Hepatitis B surface antigen carriers — To biopsy or not to biopsy. *Gastroenterology* 1978; 75: 860.

14. PICCININO F, SAGNELLI E, MANZILLO G, PASQUALE G: Liver histology in 34 «HBsAg long-term healthy carriers». *Acta Hepato-Gastroenterologica* 1977; 23: 148.
15. PICCININO F, MANZILLO G, SAGNELLI E, BALESTRIERI GC, MAIO G, PASQUALE G, FELACO FM: The significance of the Australia Antigen (HBsAg) persistent healthy carrier status: A long-term follow-up study of 34 cases. *Acta Hepato-Gastroenterologica* 1978; 25: 171.
16. RICCI G, DE BAC C, CARAMIA F: Liver disease in Australia Antigen carriers. *Lancet* 1972; 1: 494.
17. SAMPLINER RE, HAMILTON FA, ISERI OA, TABOR E, BOITNOTT J: The liver histology and frequency of clearance of the hepatitis B surface antigen (HBsAg) in chronic carriers. *Am J Med Sci* 1979; 277: 17.
18. SUN S - C, BEASLEY RP, ANDERSEN KE, BERG HS, HSU C - P, LEE W - C: Serial liver biopsy observations in hepatitis B antigen carriers by light and electron microscopy. *Am J Dig Dis* 1976; 21: 366.
19. DeFRANCHIS R, D'ARMINIO A, VECCHI M, RONCHI G, DEL NINNO E, PARAVICINI A, FERRONI P, ZANETTI R: Chronic asymptomatic HBsAg carriers: Histologic abnormalities and diagnostic and prognostic value of serologic markers of the HBV. *Gastroenterology* 1980; 79: 521.
20. VELASCO M, GONZALEZ - CERÓN M, DE LA FUENTE C, RUIZ A, DONOSO S, KATZ R: Clinical and pathological study of asymptomatic HBsAg carriers in Chile. *Gut* 1978; 19: 569.
21. TAPP E, JONES DM, HOLLANDER D, DYMOCK IW: Serial liver biopsies in blood donors with persistent HBs antigenemia. *J Clin Path* 1976; 29: 884.
22. POPPER H, SCHAFFNER F: The vocabulary of chronic hepatitis. *N Engl J Med* 1971; 284: 1154.
23. SCHEUER, PJ: Chronic hepatitis. In: Pathology of the liver, Ed MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, Churchill Livingstone, Londres, p. 249, 1979.

Pedido de separatas: *J. O. Soares*
Serviço de Anatomia Patológica
Hospital de Santa Maria
Av. Egas Moniz
1600 Lisboa Codex