

Kronik hepatit B'li hastalarda karaciğer dokusu ICAM-1 ve ICAM-3 düzeyleri

The level of ICAM-1 and ICAM-3 in liver tissue in patients with chronic hepatitis B

Cengiz PATA¹, Ayşe POLAT², Naci TİFTİK¹, Aziz YAZAR¹, Kerem SEZER¹, Özlen BAĞDATOĞLU³, Ahmet KIYKIM¹, Engin ALTINTAŞ¹

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı¹, Patoloji Anabilim Dalı² ve Biyokimya Anabilim Dalı³, Mersin

Giriş ve amaç: Hücrelerarası adezyon molekülü (ICAM)-1 esas olarak lökositlerin inflamasyonun olduğu dokuya ait hücrelerle adezyonundan, ICAM-3 ise daha çok lenfositlerin immün sistemin diğer hücreleriyle adezyonundan sorumludur. Yetersiz dentritik hücre fonksiyonu hepatit B virüs enfeksiyonunun kronikleşmesinden sorumlu tutulmakta olup ICAM-3 dentritik hücrelerin lenfositlerle adezyonundan asıl sorumlu moleküldür. Bu çalışmanın amacı kronik hepatit B'li hastalarda ICAM-1 ve ICAM-3 düzeylerini belirlemektir. **Gereç ve yöntem:** Çalışmaya HBs Ag pozitif, histopatolojik olarak kronik hepatit tanısı konulmuş 31 olgu ile viral ve otoimmün markerları negatif olup karaciğer biyopsisi normal olarak değerlendirilmiş 24 olgu alındı. Olguların biyokimyasal ve serolojik tetkikleri yapıldı, karaciğer dokusunda hepatosit, sinüzoid endotel ve lenfositlerinde ICAM-1 ve ICAM-3 düzeyleri immünohistokimyasal metodla bakıldı, sonuçlar boyanma yoğunluğuna göre 0-3 aralığında skorlanarak değerlendirildi. **Bulgular:** Kronik hepatitli olgularda hepatosit ICAM-1 skorunun (1.48±0.9) kontrol grubundan (0.66±0.4) yüksek olduğu görülürken (p<0.001), bu olgularda sinüzoid endotel ve lenfositlerinde ICAM-3 düzeyinin kontrol grubundan yüksek olmadığı görüldü (p>0.05). **Sonuç:** Kronik hepatitli olgularda karaciğerde lenfositik ICAM-3 skorunda beklendiği gibi artış olmayıp, hastalığın fizyopatolojisinde ICAM-3'le ilişkili fonksiyonların, bağlı olarak dentritik hücre-T lenfosit adezyonunun yetersizliğinin rolü olabileceği düşünülebilir.

Anahtar sözcükler: Kronik hepatit B, ICAM-1, ICAM-3.

GİRİŞ

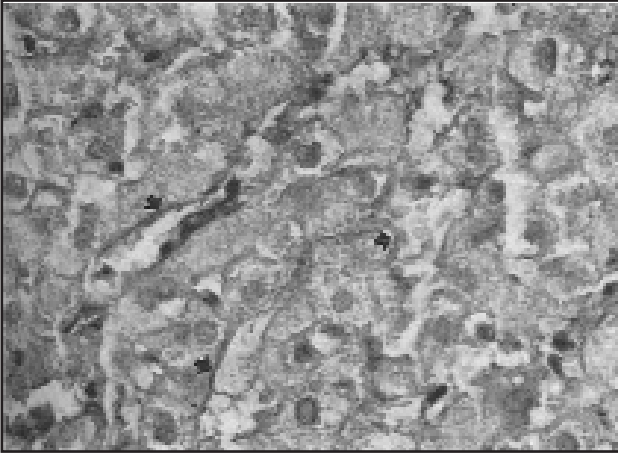
Hepatit B yeryüzünde yaklaşık üçyüz milyon insanı etkileyen yaygın bir enfeksiyondur. Virüs alındıktan sonra konakçının oluşturacağı immün yanıtın yeterliliğine göre enfeksiyon sonlandırılır veya konakçı kronik virüs taşıyıcısı haline gelir. Bundan sonra karaciğerde ucu fibrozise kadar varan kronik hastalık dönemi başlar. Immün yanıtın oluşmasında MHC ile sınırlanmış T lenfosit yanıtı ve buna bağlı oluşan sitokinler rol oynamakta olup adezyon molekülleri hücreler arası etkileşimin sağlanması için gerekli olan moleküllerdir (1). Hücrelerarası adezyon molekülü (ICAM)-1 ve ICAM-3 immün-

Background and aims: Whereas intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 is primarily responsible for the adhesion between the leucocytes and cells of inflammatory tissue, ICAM-3 is responsible for the adhesion between lymphocytes and other cells of the immune system. Chronic Hepatitis B infection is caused by inadequate dendritic cell function and ICAM-3 is the primary molecule causing the adhesion between dendritic cells and lymphocytes. The aim of this study was to determine the ICAM-1 and ICAM-3 expression of patients with chronic hepatitis B infections. **Materials and methods:** Thirty one patients with HBs-Ag positivity and histopathologically diagnosed as chronic hepatitis and 20 cases with normally liver biopsy results entered the study. Biochemical and serological evaluation of cases was made; ICAM-1 and ICAM-3 expression were determined by immunohistochemical methods in the hepatocytes, sinusoidal endothelium and lymphocytes of the liver tissues. Results were evaluated according to staining density with a score of 0-3. **Results:** Hepatocyte ICAM-1 expression (1.48 ± 0.9) was higher in chronic hepatitis cases (p<0.001) than the control group (0.66 ± 0.4) but there was no significant difference in ICAM-3 levels in sinusoidal endothelium and lymphocytes (p>0.005). **Conclusions:** As there was not such an increase in liver lymphocyte ICAM-3 as expected in chronic hepatitis patients, the suggests that ICAM-3 related functions and inadequate dendritic cell-T lymphocyte adhesion may play a role in the pathophysiology of this disease.

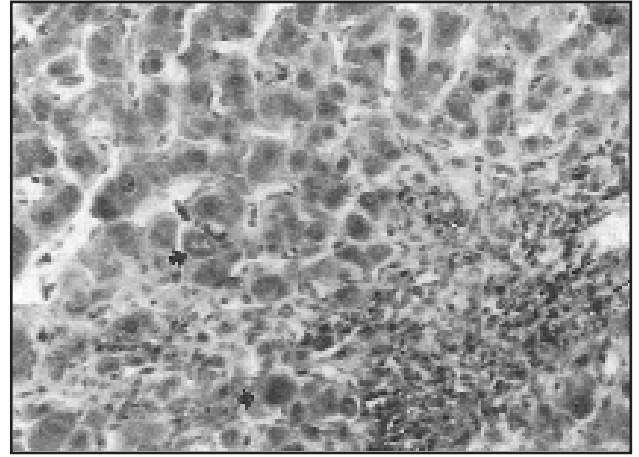
Key words: Chronic Hepatitis B, ICAM-1, ICAM-3.

globülün süperalesinden olup beş tip ICAM mevcuttur (2). Bunlardan ICAM-1 ve 2 sıklıkla vasküler endotelden sentezlenmekte olup, ICAM-3 daha çok istirahat halindeki lenfositlerden sentezlenmektedir (3,5).

ICAM-1 dağılımı sınırlı dokularda olmakla birlikte, sentezi interlökin (IL)-1, tümör nekrotize edici faktör (TNF) ve interferon (IFN) gama gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin kontrolünde olup inflamasyon halinde fibroblastlarda, tümör hücrelerinde, bilier epitel hücrelerinde ve hepatositlerde sentezlenebilmektedir (6,7). ICAM-



Resim 1. Sinüzoidal endotel ve lenfoid hücrelerde ICAM-1 ekspresyonu (X40)



Resim 2. Hepatositlerde (kalın ok) ve portal alandaki (ince ok) lenfoid hücrelerde ICAM-3 ekspresyonu (X25)

1 sentezlendiği dokularda nötrofil kemotaksisi, MHC ile sınırlanmış ve MHC ile sınırlanmamış hücre ölümünden sorumludur (8).

ICAM-3 beş immunglobulin yapıdan oluşur ve immün cevabın başlamasını sağlayan asıl moleküldür (9). Tirozin kinaz ve protein kinaz C tarafından fosforile edilerek aktivasyonu sağlanır (10). Son yıllarda çeşitli çalışmacılar tarafından ICAM-3'ün dentritik hücrelerin T lenfositleriyle adezyonunu sağlayan ana molekül olduğu, bu işlemi dentritik hücreler üzerindeki DC-SIGN reseptörlerini kullanarak gerçekleştirdiği bildirilmiştir (11,12). Öte yandan kronik hepatit B (KHB) fizyopatolojisinde dentritik hücrelerin virusü yeterince işleyip immün sisteme sunamamasının oluşan immün yanıtın yetersizliğine yol açtığına dair görüşlerin ön plana çıkması bu adezyon molekülünün önemini arttırmaktadır (13,14).

Bu çalışmanın amacı KHB' li hastalarda karaciğer dokusu ICAM-1 ve ICAM-3 düzeylerini saptamak ve bu adezyon moleküllerinin hastalığın seyri ile ilişkisini belirlemektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hasta Seçimi

2000 yılı içerisinde Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesi İç Hastalıkları kliniklerinde KHB tanısı alan 31 olgu çalışma grubu olarak alındı. Kronik hepatit B tanısı; HBS Ag pozitif,

Hbe Ag pozitif/negatif olup dört aydan uzun süre normal ALT değerinin (<40IU) 1.5 katı yüksekliği olan, PCR-HBV DNA'sı pozitif olguların karaciğer biyopsisi histopatolojik sonucuna göre konuldu. Kronik alkolizm, metabolik veya otoimmün karaciğer hastalığı hikayesi veya dekompanse karaciğer hastalığı bulunanlar çalışmaya alınmadı. Öte yandan serolojik olarak uygun kitler kullanılarak hepatit A,C, Delta , Epstein Bar Virus, Sitomegalovirüs ve otoimmün hepatit varlığı ekarte edildi. Kontrol grubu olarak çalışma süresince ve daha önceki dönemlerde hastanemiz polikliniklerine başvurup karaciğer enzim yüksekliği bulunan (>6ay, >60IU) ancak serolojik viral (Hepatit A,B, C, Delta, EBV, CMV) ve otoimmün (düz kas antikoru, anti mitokondriyal antikor, anti nükleer antikor) hepatit markerları negatif ,bilinen kronik hastalığı ve ilaç kullanım öyküsü bulunmayıp enzim yüksekliğinin sebebini belirlemek üzere karaciğer biyopsisi yapılan ve karaciğer biyopsisi histopatolojik tanısı normal olan 24 olgu alındı (15). Bu olguların belirlenmesinde öncelikle patoloji laboratuvarı arşiv kayıtlarından yararlanıldı. Ayrıntılı fizik muayene, biyokimyasal tetkikler ve karaciğer dokusu ICAM-1 ve ICAM-3 düzeyi belirlenmesi her iki grupta gerçekleştirildi. Hepatit markerlarının ölçülmesi Abbott USA elisa kitleri ile Random access Elisa Sisteminde AXYM cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. HBs Ag ve Anti HCV için kesim noktası sırasıyla 2 ve 1 olarak kabul edildi.

Tablo 1. Çalışma ve kontrol grubu karakteristik ve demografik bilgileri

	<i>Çalışma Grubu(n:31)</i>	<i>Kontrol Grubu(n:24)</i>
Yaş (yıl)	38.3±9.1	39.5±9.09
Cinsiyet (K/E)	21/11	11/9
Albümin (gr/dL)	4.0±0.4	4.6±0.6
D.Bilirubin (gr/dL)	2.4±4.2	1.02±0.4
ALT (I/U)	97.2±54.06	60.37±15.7
Grade	5.74±4.2	-
Stage	1.32±1.2	-

Histopatoloji

Karaciğer organ biyopsisi ultrasonografi rehberliğinde 16 numara iğne kullanılarak yapıldı. Dokular %10 formalin içerisinde saklandı. Doku örnekleri rutin olarak parafin bloklara gömüldü, 4-5µm kalınlığında kesitler alındı ve hemotoksilin-eozin, periodik asid-schiff, Van-Gieson, Gomori retikülin, mason trikrom ve Pearl'ün demir histokimyasal boyaları ile gerekli boyama işlemi yapıldı. Parçalar ışık mikroskopunda değerlendirildi (Olympus 3x50). Çalışma ve kontrol grubu karaciğer biyopsileri patoloji laboratuvarında aynı potolog tarafından değerlendirildi, biyopsi örnekleri HAI'ye göre (peacemeal nekroz, lobüler dejenerasyon ve portal inflamasyon) toplam 18 puan üzerinden derecelendirildi (16,17).

İmmünohistokimya

İmmünohistokimyasal boyanma için kesitler deparafinize edildikten ve hidrojen peroksitle endojen peroksidaz aktivitesi inhibe edildikten sonra, 20 dakika sitrat buffer (0.01 mol/l) içerisinde mikrodalgada ısıtıldı. Ardından ICAM-1 (CD54) monoklonal mouse antikoru (dilüsyon 1:75, Seratec, UK) ve ICAM-3 (dilüsyon 1:150 Neomarkers, USA) damlatıldı ve 4°C'de 1 gece

inkübe edildi. Amplifikasyon ve enzim sistemi için biotinli tavşan anti-mouse sekonder antikoru ve streptavidin-peroksidaz molekülü, kromojen olarak AEC sistemi (Labvision TP-125-BM) ve zıt boyama için Mayer hematoksilen kullanıldı.

İmmünohistokimyasal yöntemle uygulanan ICAM-1 ve ICAM-3'ün hepatositler, sinüzoid endotel hücreleri ve sinüzoidal lenfositlerin boyanma paterni ve boyanma yoğunluğu değerlendirildi. Derecelendirilme dokuların boya alma yoğunluğuna göre semikantitatif olarak boya almayan (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) boyanan olmak üzere dört kategoride yapıldı.

İstatiksel Değerlendirme

Grupların karşılaştırılmasında Man Whitney U testi, Student-t testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkinin belirlenmesi için Pearson Korelasyon Analizi testi kullanıldı. İstatiksel olarak anlamlı değer $p<0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Hasta ve kontrol grubu yaş ve cinsiyet olarak birbirine benzerdi ($p>0.05$). Çalışma ve kontrol grubu Albümin (Alb) ve direkt bilirubin (DB) değerleri birbirine benzerken ALT ortalama değerleri çalışma grubunda (97.2±54.06) kontrol grubundan (60.37±15.7) anlamlı yüksekti ($p<0.05$) (Tablo 1). Çalışma grubunda ortalama viral yük 324±467.77 pq/ml olarak hesaplandı. Yine çalışma grubu histolojik aktivite indeksi (HAI) grade ve stage'i ortalamaları sırasıyla 5.74±4.2 ve 1.32±1.2 olarak belirlendi. Çalışma ve kontrol grubu arasında sinüzoidal lenfosit ve endotel ICAM-1 ve ICAM-3 skorları arasında anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, Tablo 2). Çalışma grubu hepatosit ICAM-1 skorunun (1.48±0.9) kontrol grubu hepatosit ICAM-1 skorundan (0.66±0.4) anlamlı yüksek olduğu gözlenirken ($p=0.001$) çalışma grubu hepatosit

Tablo 2. Çalışma ve kontrol grubu hepatosit, sinüzoid endotel ve lenfositleri ICAM-1 ve ICAM-3 ortalama skorları.

	ICAM-1			ICAM-3		
	<i>Sinüzoidal Lenfosit</i>	<i>Sinüzoidal Endotel</i>	<i>Hepatosit</i>	<i>Sinüzoidal Lenfosit</i>	<i>Sinüzoidal Endotel</i>	<i>Hepatosit</i>
Çalışma Grubu (n:31)	0.25±0.4	0.32±0.47	1.48±0.9	1.64±0.9	1.06±0.44	0.93±0.96
Kontrol Grubu (n:24)	0.34±0.3	0.2±0.41	0.66±0.4	1.25±0.9	0.91±0.5	0.75±0.5
P Değeri	0.89	0.58	0.001	0.9	0.53	0.08

Tablo 3. Anti Hbe Ag pozitif ve Hbe Ag pozitif olan olguların hepatosit, sinüzoid endoteli ve lenfosit ICAM-1 ve ICAM-3 ortalama skorları.

	ICAM-1			ICAM-3		
	<i>Sinüzoidal Lenfosit</i>	<i>Sinüzoidal Endotel</i>	<i>Hepatosit</i>	<i>Sinüzoidal Lenfosit</i>	<i>Sinüzoidal Endotel</i>	<i>Hepatosit</i>
Anti Hbe Ag Pozitif Grup (n:22)	0.22±0.6	0.30±0.14	1.54±0.3	1.58±0.2	1.22±0.3	0.84±0.6
Hbe Ag Pozitif Grup (n:11)	0.28±0.3	0.34±0.82	1.44±0.4	1.69±0.7	0.9±0.4	1.13±0.5
p	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

ICAM-3 skoru (0.93±0.96) ile kontrol grubu hepatosit ICAM-3 skoru arasında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (p=0.08) (Resim-1,2).

Kronik hepatitli olguların patoloji skor ortalamaları karşılaştırıldığında hepatosit ICAM-1 skorunun (1.48±0.9) ICAM-3 (0.93±0.96) skorundan anlamlı yüksek olduğu (p=0.001), sinüzoidal lenfosit ve endotel ICAM-3 skorlarının ICAM-1 skorlarından anlamlı yüksek olduğu gözlemlendi (p=0.001, p=0.001).

Korelasyon analiz sonucunda kronik hepatitli olgularda hepatosit ICAM-1 skorunun stage ile negatif (r=-0.39, p=0.03), grade (r=0.52, p=0.002) ve viral yük (r=0.46, p=0.008) ile pozitif korelasyonu olduğu görüldü. Yine bu olgularda doku ICAM-3 skoru ile grade arasında ve ICAM-1 arasında korelasyon olmadığı gözlemlendi (r=0.34, r=0.28, p>0.05).

Kronik hepatit B'li olguların 22 sinin AntiHBe Ag 'si pozitif (pre-core mutant grup) 11'in ise HbeAg'ni pozitif olarak belirledi. Bu iki grup olgunun karşılaştırması yapıldığında doku ICAM-1 ve ICAM-3 düzeyleri arasında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (p>0.05) (Tablo-3).

TARTIŞMA

Inflamasyon ve ilgili olarak gelişen immunolojik yanıtta lökositler, diğer lökositler, vasküler endotel ve trombosit gibi hücrelerle adezyon oluştururlar. Lökosit ve özellikle lenfositlerin kendi aralarında etkileşiminden asıl sorumlu adezyon molekülü ICAM-3' iken ICAM-1 daha çok endotel ve inflamasyonun gerçekleştiği organa spesifik hücrelerin lökositlerle adezyonundan sorumludur (8,11).

ICAM-1 inflamasyon sonucunda oluşan immun yanıt sonrasında salınımı artan sitokinlere (TNF, IFN-gama gibi) bağlı sentezlenmekte olup inflamasyonun erken mediatörü olarak kabul edilir

(6). İlk olarak Horiike ve arkadaşları tarafından kronik hepatit B' de ICAM-1'in inflamasyonun aktif fazında yükseldiği, HAI grade'i ile pozitif korele bir şekilde arttığı gösterilmiştir (18). Öte yandan çeşitli çalışmacılar ICAM-1 ekspresyonunun viral yük ve ALT enzim yüksekliğine paralel olarak yükseldiğini ve hastalığın şiddetinin iyi bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir (18-20). Çalışmamız sonucunda kronik hepatitli olgularda literatürle uyumlu olarak hepatosit ICAM-1 düzeyleri yüksek çıkmış, viral yük ve HAI grade'i ile pozitif korelasyon göstermiştir. Yine ICAM-1 düzeyinin HAI grade skoruyla pozitif, stage skoruyla negatif korelasyonunun olması fibrozis süreci başladığında inflamasyonun azalmaya başladığını düşündürmektedir.

ICAM-3' ün özellikle istirahat halindeki T lenfositlerinde sentezlendiği ve dentritik hücreler ile T lenfositlerinin etkileşimini sağlayan ana adezyon molekülü olduğu çeşitli çalışmacılar tarafından gösterilmiştir (11,12,21). İnflamatuvar dermatoz, AIDS, romatoid artrit, membranoproliferatif glomerülonefrit ve troiditler gibi birçok viral ve otoimmün kronik hastalıkta doku ICAM-3 düzeylerinin yüksekliği bildirilmiştir (22-25). Bu çalışma kronik B hepatitinde doku ICAM-3 düzeyleri ile ilgili literatürdeki ilk çalışma olup, beklenenin aksine, karaciğer doku ICAM-3 düzeyleri kontrol grubundan farklı çıkmamıştır. Kronik hepatitte sürekli bir inflamasyon ve o bölgede başta lenfositler olmak üzere inflamasyona ait hücrelerde birikme, bu hücreler tarafından salınan ilgili moleküllerin varlığında artış beklenen bir durumdur. Ancak sinüzoid endotel ve lenfositlerinde ICAM-3 düzeyinin kontrol grubundan farklı çıkmamış olması bu bölge hücrelerinin ICAM-3 ekspresyonunda yetersizlik olduğunu düşündürmektedir. Öte yandan viral hepatitlerin kronikleşmesinde konakçıya ait yetersiz immun yanıtın yeri uzun yıllardır bilinmekte olup antijen sunan dentritik hücrelerle

ilgili aksaklıkların bu yetersiz immün yanıtın önemli bir parçasını oluşturduğuna inanılmaktadır (13,14,26). Tanımato ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada kronik B ve C hepatitinde CD 83 pozitif dentritik hücrelerin inflamasyon alanında artmış miktarda bulunduğunu göstermiş olmaları dentritik hücrelerle ilgili bozukluğun niteliksel olduğunu düşündürmektedir (27). Çalışmamız sonuçları göz önüne alındığında muhtemel bozukluklardan birisinin ICAM-3'ün yetersiz ekspresyonu ve buna bağlı dentritik hücreyle T lenfosit etkileşiminin yeterince gerçekleşmemesi olabileceği düşünülebilir. Öte yandan bu çalışmanın dentritik hücrelerin hücre kültüründe üretilmesi ve spesifik hücre

markerlarıyla tanımlanmasından sonra adezyon molekülleriyle etkileşiminin belirlenerek yapılması durumunda hipotezimiz olan düşüncenin kesin kanıtı olabileceği aşikardır. Bundan sonraki çalışmamız bu yönde planlanmış olup girişimlerimiz sürmektedir.

Çalışmamız sonuçlarına göre kronik hepatitli olgularda doku ICAM-1 düzeyi artmıştır ve bu adezyon molekülünün karaciğerdeki inflamasyonun markerı olarak kullanılması uygun bir yaklaşım olacaktır. Bunun yanında kronik hepatitli olgularda karaciğer dokusu lökosit kaynaklı ICAM-3 düzeyi normal olup bu durumun oluşan yetersiz immün yanıtı hazırlayan parçalardan biri olabileceği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. Gitlin N. Subclinical portal-systemic encephalopathy. *Am J 1- T Lymphocytes and Naturel Killer Cells*. Imboden JB. In: Sities DP, Terr AI, Parslow TG ed. *Medical Immunology 9th Ed*. Prentice-Hall Internatiol Inc, New Jersey, USA, 1997; 30-145.
2. Funatsu O, Sato T, Kotovuori P, et al. Structural study of linked oligosaccharides of human intercellular adhesion molecule-3 (CD50). *Biochem* 2001; 268:1020-29.
3. Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990; 346: 425-32.
4. Vazeux R, Hoffman PA, Tomita JK, et al. Cloning and charecterization of a new intracellular adhesion molecule ICAM-3. *Nature* 1992; 360:485-88.
5. Hernandez-Caselles T, Rubio G, Campanero M, et al. ICAM-3, the third LFA-1 counter receptor, is a costimulatory molecule for both resting and activating T lymphocytes. *Eur J Immunol* 1993; 23: 2799-806.
6. Simson KJ, Hayes PC. Soluble adhesion molecules in immun mediated liver disease. *Gut* 1995; 36:805-8.
7. Gearing AJH, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today* 1993; 14:506-12.
8. Boyd AW, Wawyrk SSO, Burns GF, et al. ICAM-1 has a central role in cell-cell mediated immune mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 85: 3095-11.
9. de Fougerolles AG, Qin X and Springer TA. Characterization of the function of the function of intercellular adhesion molecule ICAM-3 and comprasion with ICAM-1 and ICAM-2 in immune response. *J Exp Med* 1994; 179:619-24.
10. Skubitz KM, Ahmed K, Campbell KD and Skubitz APN. CD 50 (ICAM-3) is phospho-riLATED on tyrosine kinase activity in human neutrophils. *J Immunol* 1995; 154:2888-95.
11. Getjenbeek TGH, Torensma R, van Viliet SJ, et al. Identification of DC-SIGN, a novel dentritic cell spesific ICAM-3 receptor that supports primer immun responses. *Cell* 2000; 100:575-85.
12. Soilleux EJ, Barten R, Trowsdale J. DC-SIGN arelated gene, DC-SIGNR; and CD 23 form a cluster on 19p13. *J Immunol* 2000; 165: 2937-42.
13. Kurose K, Akbar F, Yamamoto K, et al. Production of antibody to hepatitis B surface antigen (anti-HBS) by murine hepatitis B virus carriers: neonatal tolerance versus antigen presentation by dentritic cells. *Immunology* 1997; 92:494-500.
14. Akbar SMF, Onji M. Hepatitis B virus transgenimic mice as an investigate tool to study immunopathology during the HBV infection. *Int J Exp Path* 1998; 79:279-91.
15. Davern TJ, Scharschmidt BF. *Biochemical Liver Test*. Feldman M, Scharschmidt B.F, Slesinger M.H. *Gastrointestinal and Liver Disease*. W.B. Saunders Company, Philedelphia, Pennsylvania 1998, 119-20.
16. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, et al. Classification of chronic hapatitis: Diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 19: 1513-20.
17. Doran F, Polat A, Varinli S, et al. Histolojik aktivite indeksine göre 500 kronik hepatit olgusunda grade'lendirme ve stage'lendirme. *Ankara Pat*
18. Horiike N, Onji M, Kumon I, et al. Intercellular adhesion molecule-1 expression on the hepatocyte membrane of patients with chronic hepatitis B and C. *Liver* 1993; 13:10-4.
19. Doi T, Yamada G, Mizuna M, et al. Immunohistochemical study of the distribution of intercellular adhesion molecule-1 and lymphocyte function-associated antigen-1 in chronic type B hepatitis. *J gastroenterol* 1994; 29:164-71.
20. Huang YS, Wu JC, Chan CY, et al. Circulating intercellular adhesion molecule-1 in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Chung Hua I Tsa Chih* 1999; 62:487-95.
21. Starling GC, Mc Lellan AD, Egner W, et al. Intercellular adhesion-molecule-3 is the predominant co-stimulatory ligand for leukocyte function antigen -1 on human blood dentritic cells. *Eur J Immunol* 1995; 25:2528-32.
22. Ma, ontazeri A, Kanitakis J, Zambruno G, et al. Expression of ICAM-3/CD50 in normal and diseased skin. *Br J Dermatol* 1995; 133:377-84
23. Littler AJ, Buckley CD, Wordsworth P, et al. A disinct profile of six soluble adhesion molecules (ICAM-1, ICAM-3, VCAM-1, E-Selectin, L-Selectin and P-Selectin) in rhumotoid arthritis. *BR J Rheumatol* 1997; 36:2:164-9.
24. Soma J, Saito T, Ootaka T, et al. Intercellular adhesion molecule-1, intercellular adhesion molecule-3 and leukocyte accumulation in membranoproliferative glomerulonefritis type-1. *Am J Kidney Dis* 1996; 28:685-95.
25. Bashirova AA, Geinjenbeek TB, van Duijnhoven GC, et al. A dentritic cell spesific intercellular adhesion molecule-3 grabbing non-integrin (DC-SIGN) related protein is highly expressed on human liver sinusoidal endothelial cells and promotes HIV-1 infection. *J Exp Med* 2001; 19:571-78.
26. Akbar SMF, Abe M, M Toshikazu. Mechanism of activation of vaccine therapy in murine hepatitis B virus carriers: vaccine-induced activation of antigen presenting dentritic cells. *J Hepatol* 1999; 30: 755-64.
27. Tanimoto K, Akbar F, Michitaka K, et al. ResAntigen-presenting cells at liver tissue in patients with chronic viral liver diseases: CD83-positive mature dentritic cells at the vicinity of focal and confluent necrosis. *Res Hep* 2001; 21:117-25.