

HEPATİT B VİRUS İLE BAZI İMMUN PARAMETRELERİN İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Neşe Saltoğlu*, Salih Çetiner**, Yeşim Taşova*, Özlem Güler*, Nazan Alpaslan**, İsmail H. Dündar*

ÖZET

Hepatitis B virus enfeksiyonuna maruz kalan olguların % 10'unda enfeksiyon kronikleşmektedir. Kronikleşmeye eğilimden kişinin immun yapısının sorumlu olduğu belirtilmiştir. T lenfositlerin hem immuniteden hem de hepatit B virus immunopatolojisinin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Hepatit B'den iyileşmede veya kronikleşmenin izlenmesinde immun parametreler yol göstericidir. Ayrıca hastalıktan korunma da tümü ile immunizasyona dayanmaktadır. Bazı kişilerin (ör: immunosupresiflerin) aşı ile immunizasyona cevap vermediği bilinmektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı bu prelininer çalışmada HBV enfeksiyonuna maruz kalmış akut HBV'li(n:20), kronik HBV'li(n:20) olgularda, ayrıca HBV'ye ait yüzey antijen(HBsAg) ile 1 doz aşılanmış (n:20) olgularda, HBV markerleri negatif ve sağlıklı olan(n:40) olgularda bazı ana hücrel immunité parametreleri araştırıldı; bunların sonuçları birbirleriyle kıyaslandı. Ayrıca HBV aşısının immun parametreler üzerine etkileri aşı ile in vitro muamele edilerek de (n:20) incelendi. İmmun parametrelerden CD4, CD8, CD4/CD8, CD56 %leri ve antijenik uyarıya cevabı belirlemek için DNA indeksi tüm olgularda flow-cytometry ile belirlendi. Hepatit markerleri EIA (Abbott) yöntemi ile saptandı.

Akut HBV'li grupta kontrol ve kronik HBV'li gruba oranla CD4 artışı(p<0.05, p<0.024); kronik HBV'de kontrole oranla CD8' de azalma(p<0.04); 1 doz aşı ile karşılaşan grupta kontrole oranla CD4 artışı (p<0.05); in vitro aşı ile stimüle edilen grupta in vivo stimüle edilen gruba oranla DNA indeksinde değişiklik (p<0.05) saptandı. Gerek olgu sayısı gerekse inkübasyon süresi ve de aşı konsantrasyonları hususunda daha kapsamlı çalışmalarla daha uygun sonuçların alınabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler:Hepatitis B, İmmun parametreler

SUMMARY

THE EVALUATION OF CORRELATION BETWEEN HBV AND SOME IMMUN PARAMETERS

10% of cases who exposed to hepatitis B virus infection(HBV) exhibit a course of chronic infection. The immunity of the case is reported to be responsible for the chronicity of infection. T cells are suggested to play an important role both in immunity and immunopathology of HBV. The recovery or chronicity of infection is followed by immune parameters. Besides, protection from infection completely depends on immunisation. It is known that in some people haven't response to hepatitis B vaccination. Taking all these reasons into consideration at this prelininer study, we investigated some cellular immunity parameters at cases with acute HBV infection, chronic HBV infection and one dose vaccinated cases. Results are compared with healthy HBV negativ population. The effect of HBV vaccine on immune parameters is investigated by lymphocyte culture and in vitro inhibition of it by vaccine. To evaluate the response to antigenic stimulation CD4, CD8,CD4/CD8,CD56 are detected by flowcytometry. EIA (Abbott) method is used for hepatit markers. When compared with cases of chronic hepatitis and controls, increment of CD4 (p<0.05, p<0.024) was found in cases of acute hepatitis. Depression of CD8 at cases with chronic hepatitis was detected when compared with controls(p<0.04). The CD4 levels of in vivo dose vaccinated group were higher than controls (p<0.05). The difference of DNA index was istatically significant in vaccine stimulated group in vitro whencompared^{with} vaccinated group in vivo (p<0.05). Futher investigation on more crowded population may be helpful about incubation period and vaccine concentrations.

GİRİŞ

Eski Yunan döneminden beri bilinen, kişi ve toplum sağlığını önemli ölçüde etkileyen hepatitle- rin etyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalar 1963 de etkenlerin ayrılabilir hale gelmesi ile ayrı bir boyut kazanmıştır(1). Özellikle geniş bir hastalık spektru-

mu oluşturan HBV enfeksiyonu pek çok özelliği ile dikkati çekmiştir ve çekmeye de devam etmektedir. Zira hala cevaplandırılmamış bir sürü sorunun yanısıra 300 milyonu aşan kronik taşıyıcısı ve kronik hepatitli olguların varlığı, hepatoma ile ilişkisi bu ilginin kaynağını teşkil etmektedir(2). HBV enfeksiyonlu kişilerin yaklaşık %10'unda kronikleşme-

* Çukurova Tıp Fakültesi Klin. Bakt. ve İnfeksiyon Hast. ABD

** Çukurova Tıp Fakültesi Merkez Lab.

*** Çukurova Tıp Fakültesi Bioistatistik ABD

nin ortaya çıkmasında konağın immun cevabının rolü olduğu kesinlikle bilinmektedir. Bu konuda humoral immuniteden çok sellüler immunité suçlanmaktadır(3). Bu ilişkiyi ortaya koymak üzere HLA antigenleri ile kronikleşmenin assosiasyonundan, HBV ile sellüler immun parametrelerin muhtelif ilişkilerine varıncaya kadar pek çok çalışma yapılmıştır. Nitekim hepatit B virusu infeksiyonunda HBV nükleoproteinlerinin hem helper hem de sitotoksik T lenfositler için major bir hedef olduğu bunun yanısıra natural killerlerin de hepatitlerin prognozunda önemli rolü olduğu gösterilmiştir (3, 4).

HBV infeksiyonunun sağıtılmasında günümüz koşullarında tedavinin yeterli olmayışı profilaksiyi tümüyle ön plana çıkarmıştır. Ancak bundan yararlanmada da yine kişilerin immun durumu bir anlam ifade etmektedir. Bu nedenle hemodializ hastalarında ve perinatal immunizasyona cevap vermeyen bebeklerde aşı dozunun artırılması yoluna gidilerek bir immun yanıt sağlanmaya çalışılmaktadır (5, 6).

Bu nedenlerle akut ve kronik hepatit B virüs infeksiyonlu olgularda bazı sellüler immun parametreleri araştırmanın yanısıra HBV'nin ve de HBV nin bir komponenti olan ve aşı olarak uygulanan HBsAg'nin immunogenitesini belirlemeye yönelik in vivo ve in vitro DNA indekslerini belirlemek amacı ile bu çalışma planlanmıştır.

Bu amaçla akut B hepatitli olgular, kronik HBV taşıyıcılarını ve kronik hepatitlileri içeren kronik HBV infeksiyonlu olgular ile HBV'ne ait HBsAg ile 1 doz aşı yoluyla karşılaşan olgularda sellüler immun parametrelerden CD4(Helper T), CD8(Supresor T), CD4/CD8, CD56(Naturel killer), araştırılmış ve aynı parametrelerin araştırıldığı kontrol grubu ile kıyaslanmıştır.

DNA indekslerinin belirlenmesi bir stimulusda hücrelerin ne ölçüde uyarılabileceği ve bunun sonucunda gösterdiği nükleer aktivitenin saptanılması bakımından değerlidir. Çalışmanın bu kısmından amaçlanan uyarıların yetersizliğinin immun yanıt yetersizliği ile paralellliğini ortaya koymanın yanısıra daha henüz aşı programının erken bir safhasında serokonversiyonu saptayamaz iken aşuya yanıtın bu parametre ile değerlendirilip değerlendirilemeyeceğinin ortaya konulmasını sağlamaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 3 Ocak 1994- 30 Temmuz 1996 tarihleri arasında Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon

Hastalıkları ABD ile Merkez Laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmaya alınan olguların 51'i erkek, 49'u kadın(toplam 100 olgu) olup yaş ortalamaları 24.7+/-3.6±17-45 arasında idi. Çalışma grubumuz 5 gruptan oluşmaktaydı. Akut HBV'li, kronik HBV'li, in vivo 1 doz aşılı ve in vitro aşı ile lenfositleri muamele edilen olgular ile kontrol grubunu kapsamaktaydı. Tüm çalışma gruplarında lenfosit subgruplarından CD4(T helper), CD8(T supresor), CD56 (Natural killer) hücrelerinin yüzdeleri ile DNA indeksi flow-cytometry (Epics-XL-MCL-Coulter) cihazı ile ölçüldü.

Bunun için olguların herbirinden EDTA'lı tüp- re yaklaşık 1'er ml. kan alındı ve alınan bu kanlar 100'er mikrolitrelik porsiyonlar halinde temiz tüplere taksim edildi ve her tüpe uygun monoklonal (Coulter) antikorlardan 10'ar mikrolitre ilave edildi. örnekler Q-prep (coulter) cihazından geçirilerek flow cytometryde çalıştırılacak duruma getirildi. 20 dakikalık inkübasyondan sonra bu örnekler flow-cytometryden geçirilerek CD4, CD8 ve CD56'ların %'leri ölçüldü.

Hücre siklusu başlıca 4 kompartmandan oluşmaktadır. G0G1 fazında hücrelerin DNA içeriği 2N dir. Bu safha pre DNA sentez aşamasıdır. Uyarılan hücredeki nükleer aktivasyon ile hücre DNA sentez aşamasına yani S fazına girer. Bunu takip eden safhada G2 yani post DNA sentez aşamasıdır ki hücrenin DNA içeriği 4 N dir. Sonraki M fazı yani mitozis aşamasından sonra hücre tekrar normal 2N lik DNA içeriğine kavuşur. Hücre siklus kinetiğine göre DNA indeksi özellik gösteren hücrelerin yani stimüle olmuş hücrelerin DNA içeriğinin normal diploid hücrelerin DNA içeriğine bölünmesi ile elde edilen bir indeks olup bir stimulusda hücrelerin ne ölçüde uyarılabildiğini ve bunun sonucunda nükleer aktivite gösterdiğini ortaya koyması bakımından önemlidir(7).

İşte bu nedenle yukarıda belirtilen ve in vivo koşullarda HBV ile karşılaşarak stimüle olan olgu gruplarındaki DNA indekslerinin tayin edilmesi ve karşılaştırılmasının yanısıra in vitro koşullarda aşı ile enkübe edilmek suretiyle uyarılan hücrelerin DNA indeksleri tayin edilmiş ve elde edilen veriler gerek yukarıda belirtilen olgu grupları ile gerekse aşısız enkübe edilen in vitro kontrol grubunun verileriyle kıyaslanmıştır. 1'in üstündeki değerler stimülasyona hücrelerin uyarılarak yanıt verdiğinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir.

DNA indeksi içinde aynı kanlardan 100'er mikrolitre ayrı tüplere alındı ve örnekler DNA-Prep coulter cihazından geçirilerek flow-cytometry cihazi-

zı için çalışma durumuna getirildi. 20 dakika oda ısısında inkübe edildikten sonra flow -cytometry cihazından geçirilerek DNA indeksleri ölçüldü.

Yukarıdaki işlemler, Akut hepatit B'li grup, Kronik hepatit B'li grup, HBsAg negatif kontrol grubu ve 1 doz hepatit B aşılı gruba uygulandı. HBsAg ve anti-HBs leri negatif olan aşısız gruba ise aşağıdaki prosedür uygulandı.

Olguların her birinden EDTA'lı tüplere 1'er ml. heparinli tüplere de yaklaşık 10 ml olmak üzere iki ayrı kan alındı. EDTA'lı tüplere alınan kanlardan yukarıda açıklanan yöntemle DNA indeksleri saptandı. Heparinli tüplere alınan kanlardan da ficoll (Histopaque 1077-SİGMA) gradient yöntemi ile her olgunun lenfositleri ayrıldı, bu lenfositler temiz tüplere aktarıldı ve 3 kez RPMI-1640 (Seromed) medium ile (1800 RPM'de santifij edilerek) yıkandı. Son yıkamadan sonra tüplerin üzerindeki süpernatantlar atılarak dipteki lenfosit pelleti RPMI-1640 medium ile resuspansedildi ve hücre sayısı 5000 hücre/mm³'e ayarlandı. Bu süspansiyondan 2 ml alınıp temiz bir tüpe aktarıldı. Daha sonra bunun üzerine de RPMI-1640 medium ile 0.4 pg/ml ye ayarlanmış Gen Hevac-B (Pasteur) aşısını içeren solüsyondan 2 ml eklendi. Bu oranlarda in vivo koşullara uygunluk gözetildi. 37°C de 72 saat inkübe edildi. 72. saatin sonunda flow-cytometry ile DNA indekslerine bakıldı.

İn vitro kontrol grubunda da lenfositler ayrılarak 3 kez RPMI medium ile yıkandı. Son yıkamadan sonra hücre süspansiyon-RPMI-1640 ile 5000 hücre/mm³'e ayarlandı. 37°C de 72 saat inkübe edildi. 72. saatin sonunda yukarıda tanımlanan yöntemle DNA indeksleri ölçüldü.

BULGULAR

Çalışma gruplarında gerek cinsiyet, gerekse yaş ortalamaları yönünden istatistiksel anlamlı fark bulunmadı (p>0.05, p>0.05). Akut viral hepatit B'li olgularda (n:20) HBV'üne ait parametreler HBsAg 20(%100), HBeAg 14 (%70) , Anti-HBc-IgM 17 (%85) pozitif olarak bulunurken, sellüler immün parametreler ise CD4 %45.8, CD8 %24.8, CD4/CD8 1.96, CD56 (NK) %25.4 DNA indeksi 1.0 olarak bulunmuştur.

Kronik HBV enfeksiyonu olan (Kronik B hepatitli ve kronik HBV taşıyıcısı) olgulardan (n:20) HBV'ne ait parametreler HBsAg 20(%100), HBeAg10 (%50), Anti-HBe 7 (%35), Anti-HBc 19 (%95) pozitif; immün parametreler CD4 %40.1, CD8 %21.6, CD4/CD8 1.85, CD56 %22.1, DNA

indeksi 0.96 olarak bulunmuştur (Tablo 1).

Aşılanan olgu grubunda (n:20) ,HBsAg, antiHBc total, antiHBs tümünde negatif (%0) ;bir kez aşılardan sonra immün parametreler CD4 %44.8, CD8 %22.6, CD4/CD8 2.21, CD56 %20.6 ve DNA indeksi 0.99 olarak bulunmuştur.

Bu in vivo çalışma grubunun kontrolü olan sağlıklı (hepatit markerleri negatif ve KCFT leri normal) kişilerin (n:40) immün parametreleri CD4 %41.3, CD8 %25.3, CD4/CD8 1.84, CD56 %25.7 DNA indeksi 1.09 olarak bulunmuştur (Tablo 1).

Bulgularımızı kıyasladığımızda akut hepatitli olgularda diğer immün parametreler açısından kontrol grubundan belirgin bir fark gözlenmez iken CD4 artışı anlamlı bulunmuştur (P<0.05)(Tablo 2).

Kronik HBV enfeksiyonlu grupta, beklenildiği üzere tüm sellüler immün parametreler hem akut hepatitli olgulardan hem de kontrollerden düşük olarak bulunmuştur (Kontrol/kronik CD4 P>0.905, CD8 P<0.004, CD56 P>0.05, DNA indeksi P<0.05; Akut/kronik CD4 P<0.05, CD8 P>0.05, CD56 P>0.05 DNA indeksi P<0.05), HBV ile aşı yolu ile karşılaşan olguların immün parametreleri ise; tüm parametreler açısından akut hepatitlilerden düşük ve geneli itibari ile kronik HBV enfeksiyonlulardan ise yüksektir. Buna mukabil kontrol grubu ile kıyaslandığında CD4 artışı belirgin olarak görülmektedir (p<0.05)(Tablo 2).

İn vivo HBV ile aşı yoluyla karşılaşan olguların DNA indeksi in vitro olarak hücreleri HBV aşısı ile inkübe edilen olguların DNA indeksi ile kıyaslandığında, aşı ile inkübe edilenlerde anlamlı P<0.05 bir artış görülmektedir. Ancak bunun önem arzemesi için in vitro kontrol ile kıyaslama yapıldığında arada anlamlı bir farkın olmadığı görülmüştür (p>0.05).

TARTIŞMA

Hepatit B virus enfeksiyonunda konağın immün cevabı akut viral hastalıktan iyileşmeden ya da hastalığın kronikleşmesinden sorumlu olabilmektedir (8, 9). HBV enfeksiyonlu olgularda virusun kendisi hepatositlere sitotoksik etkili olmayıp, karaciğer hücre hasarı konağının immünolojik reaksiyon paternlerine bağlıdır (3). İn vitro çalışmalarda hücresel uyarılmış sitotoksitenin akut ve kronik HBV de infekte karaciğer hücre hasarını gösteren immün mekanizmalar olduğu düşünüldükçe HBsAg ye maruz kalan kişilerde T lenfosit proliferatif cevabı incelenmiştir (10).

Tablo 2. Çalışma gruplarında immün profilin karşılaştırılması

Akut HBV n: 20	Kontrol grubu n: 40	Kronik HBV n: 20	İnvivo 1 doz aşılı grup
CD4 % 45.8±6.06	p< 0.05	p< 0.024	p> 0.05
CD8 % 24.8±0.9	p> 0.05	p> 0.05	p> 0.05
CD4/CD8 1.96	p> 0.05	p> 0.05	p> 0.05
CD56 % 25.4±19.8	p> 0.05	p> 0.05	p> 0.05
DNA indeksi 1.0±0.44	p> 0.05	p< 0.004	p> 0.05

Kronik HBV n: 20 grup n: 20	Kontrol grubu n:40	Akut HBV n: 20	İnvivo 1 doz aşılı
CD % 40.1±8.94	p> 0.05	p< 0.024	p> 0.05
CD % 21.6±6.56	p< 0.04	p> 0.05	p> 0.05
CD4/CD8 1.85	p> 0.05	p> 0.05	p> 0.05
CD56 % 22.1±13.65	p> 0.05	p> 0.05	p> 0.05
DNA indeksi 0.96±0	p< 0.05	p< 0.05	p> 0.05

İn vivo aşılı grup n: 20	Kontrol grubu n: 40
CD % 44.8±7.29	p< 0.05
CD8 % 22.6±7.22	p> 0.05
CD4/CD8 2.21	p> 0.05
CD56 % 20.6±11.4	p> 0.05
DNA indeksi 0.99±0	p> 0.05

Hepatit B virusüne konakçının immün yanıtı maruz kalmayı takiben oluşur ve HBV ye erken immün yanıt virüsün intrahepatik yayılımını sınırlandırmada etkili olabilecektir (11).

HBV nin bir çok antigenik komponentine karşı immün yanıtlar araştırılmıştır . Bu antigenlerden HBsAg en çok çalışılmıştır. Bu antigene karşı oluşan antikor Hepatit B aşısı ile immünizasyonu takiben de oluşur. HBV aşısı ile aşılanan kişilerde de HBsAg ye karşı spesifik lenfositik aktivasyon meydana gelmektedir(12). Ancak HBV ye karşı doğal bağışıklanma ile aktif bağışıklanma arasında immunolojik yanıt açısından büyük farklılıklar olduğu bildirilmiştir (13). Kronik HBsAg taşıyıcılığı gelişiminde antigenin tanınma prosesinde veya hepatit B virus antigenlerinden yalnızca birine cevap oluşturma gibi spesifik immün defektler sorumlu tutulmaktadır 14). Ayrıca kronik taşıyıcılarda anormal immün regülatuar lenfositlerin varlığı söz konusu olabilir(14). Asemptomatik taşıyıcılarda HBsAg ye karşı spesifik hücresel cevabın bozuk olduğu savunulmakta ve bozukluğa HBsAg ile karşılaşmış periferik kan lenfositlerin transformasyon ve stimülasyonunun yokluğu, lökosit migrasyonunun olmaması ve migratuar inhibisyon faktörünün üretilmesi neden olarak ileri sürülmektedir (13).

Hepatit B virüs infeksiyonlarında HBsAg'ye lenfosit cevabı akut ve kronik infeksiyonlar da or-

taya konulmuştur (15). HBsAg ye karşı antikor cevabı T lenfositler tarafından düzenlenmektedir. T hücrelerin primer olarak hem immüniteden hem de hepatit B virus infeksiyonunun immunopatolojisinden sorumlu olduğu düşünülmektedir(16). HBsAg' ye karşı sellüler immün yanıtın virusun temizlenmesinde anahtar rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (11).

Bazı hepatitli kişilerde supresör/sitotoksik lenfosit sayısının düşük olduğu gösterilmiştir (11). Bizim çalışmamızda da akut hepatit ve kontrol grubuna oranla kronik hepatit B'lilerde supresör/sitotoksik sayısı düşük bulunmuştur. Alternatif olarak T hücre fonksiyonları HBsAg veya HBs/AntiHBs kompleksi ile de bloke edilebilir (11). Ferrari ve arkadaşları akut ve kronik hepatit B'li hastalarda HBsAg ye T hücre cevabını zayıf/belirlenemez seviyede bulmuşlardır (17).

Akut hepatit B li olgularda ise HBV ye T hücre cevabı daha az incelenmiştir (17). Akut viral hepatitli hastalarda supresör hücre cevabı normal iken kronik aktif hepatitte supresör hücrelerde defekt bulunmuş, aktivitenin %50 azaldığı gösterilmiştir (8, 13, 18). Kronik aktif hepatitte supresör hücre aktivitesinin azalması, lenfosit subpopülasyonundaki değişikliklerle açıklanabilir (18). Buna karşın akut viral hepatitli hastalarda supresör aktivite ise indüklenebilir bulunmuştur. Bu bulgular supresör

hücrelerin kronik aktif hepatitli hastalarda azalmasının bu hastalıkta karaciğer hücre hasarının devamından sorumlu olabileceğini telkin etmektedir. Akut hepatit B'li hastalarda supresör hücre aktivitesi geçici olarak değişmiş, oysa kronik aktif hepatitli hastalarda T hücre fonksiyon düzenlenmesi eksik bulunmuştur. (18).

Ayrıca regülatuar T lenfositlerinin fonksiyon defekti antiHBs sentezlenmesinin yokluğuna yol açabilir (14). Kronik hepatit B'de T hücre cevabı akut hepatitte gözlenenenden önemli derecede düşüktür (12). Kronik aktif hepatitli hastalarda periferik kan lenfosit sayısında da azalma belirtilmiştir (18). Bu supresör hücre ile ilişkili olabilir. Alternatif olarak anormal helper hücre popülasyonu varlığı, supresör hücre aktivitesini maskeleyebilir(18). Bizim çalışmamızda CD8 sayısında akut hepatitli grup ve kontrole oranla kronik hepatit B'li hastalarda önemli azalma mevcuttur. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Yenicesu ve ark. yaptığı çalışmada kronik hepatit B'li hastalarda CD8 düzeyleri belirgin düşük bulunmuştur(19). Ancak bir başka çalışmada kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda defektif supresör hücre fonksiyonu gösterilmiş ise de supresör hücre sayısı ile önemli ilişki saptanmamıştır(20).

Çalışmamızda aşı ile stimüle edilen grupta CD4(+) hücrelerin stimülasyonu gözlenmiştir. Bir çalışmada adjuvantsız düşük doz aşı injeksiyonunun sitotoksik T lenfosit cevabını indüklediği, solubl protein antigenlerinin CD4 (+) hücreleri stimüle ettiği bildirilmiştir (21).

Çeşitli çalışmalarda CD4/CD8 oranında kronik aktif hepatitli hastalarda azalma gösterilmiş, bunun karaciğer harabiyeti veya viral replikasyona bağlı olabileceği düşünülmüştür (22). Bizim çalışmamızda kronik hepatitli hastalarda CD4/CD8 oranında kontrol grubuna oranla önemli fark yoktu, bu kronik olgu grubunda her iki lenfosit subgrubunun birlikte düşük olmasından kaynaklanmaktadır.

Kronik HBV enfeksiyonunda doğal killerlerin rolüne ait kanıtlar yetersizdir. Akut HBV enfeksiyonunun erken döneminde doğal killer aktivitesinde artış gösterilmiştir (4, 23)

Akut viral hepatit B'de NK potansiyel olarak karaciğer hücre nekrozunun olduğu bölgelerde predominant olarak saptanmıştır. (24). Konvelsan dönem boyunca hastalarda normal değerler gözlenir iken akut hepatit B seyri sırasında erken dönemde NK sitotoksitesi gösterilmiştir (4). Doğal killer hücreler spesifik T lenfositler tamamen etkili olmadan önce akut viral hepatit B' de kontrol mekanizmasında önemli rol oynayabilir (4).

Akut viral hepatitte erken dönemde saptanan NK aktivitesindeki artış, bu hücrelerin HBV'nin immunopatogeneğinde önemli rol üstlendiğini hastalığın prognozunu değerlendirmede önemli olabileceğini göstermekte, ayrıca doğal killer aktivitesi ile sayısı arasında doğru orantı bildirilmektedir (4, 25). Bizim çalışmamızda da akut hepatit B'li hastalarda NK sayısı kronik hepatitli gruba oranla yüksek bulunmakla birlikte; istatistiksel anlamlı fark olmamasına neden olarak tüm akut hepatitli olguların erken dönemde olmamaları gösterilebilir.

HBV aşısı ile aşılama sırasında spesifik aktivasyon meydana gelmektedir. Ancak gerek akut olgularımızda gerekse aşı ile inkübe edilenlerde DNA indeksinde kontrollere oranla anlamlı bir artış gözlenmemiştir. Bu , akut olgular için örneklerin hastalığın farklı zamanlarında alınmış olmasından kaynaklanır iken; aşı yapılan olgularda ise uygulamanın tek dozla sınırlı olmasından kaynaklanabileceği düşünülebilir. Nitekim eş zamanlılığın sağlanabildiği aşı ile inkübasyonlu invitro çalışma grubunda DNA indeksi yükselme eğilimi göstermiştir. Buna karşın kronik olgularda diğer tüm olgu gruplarından düşük olduğu gözlenmektedir. Burada amaçlanan erken dönemde aşının etkinliğini ortaya koymak idi. Ancak bu bir prelininer çalışma olup gerek olgu sayısı gerekse inkübasyon süresi ve de aşı konsantrasyonları hususunda daha kapsamlı çalışmalarla daha uygun sonuçlar alınabileceğine inanılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Badur S; Hepatit B virusu (HBV) -Virolojik ve serolojik tanı, 'K. Kılıçtırgay (ed), Viral Hepatit' 92, 1. Baskı Kitabında s 45, 1992, Viral Hepatitle Savaşım Derneği, İstanbul.
2. Kılıçtırgay K: Hepatit B enfeksiyonu ve konak cevabı. Flora Derg. 1996, 1: 52-55.
3. Mondelli M, Manns M, Ferrari C: Does the immune response play a role in the pathogenesis of chronic liver disease? Arch Pathol Lab Med, 1988, 112:489-497.
4. Chemello L, Mondelli M, Bortolotti F et al: Natural killer activity in patients with acute viral hepatitis. Clin.exp.Immunol, 1986, 64: 59-64.
5. Altınay B: Hepatit B'den özgül korunma 'K. Kılıçtırgay (ed), Viral Hepatit'94, 2. Baskı kitabında s 121, 1994, Viral Hepatitle Savaşım Derneği, İstanbul.
6. Tan KL, Goh KT, Oon CJ, Chan KH: Immunogenicity of recombinant yeast-derived hepatitis B vaccine in nonresponders to perinatal immunization. JAMA, 1994, 271: 859-861.
7. Russell P: Essential Genetics, DNA replication and the cell cycle in eucaryotes, second edition, p. 55-64, Oxford, London.
8. Kakumu S, Yata K, Kashio T: Immunoregulatory T-cell function in acute and chronic liver disease. Gastroenterology, 1980, 79: 613-19.
9. Halson RG, Hoofnagle JH, Minuk GY et al: Cell-mediated immunity to hepatitis B surface antigen in

- man. Clin. Exp. Immunol, 1984, 57: 257-264.
10. Mishra A, Rao KV, Durgapal H et al: Human T-helper cell responses to a synthetic peptide derived from the hepatitis B surface antigen. Immunology, 1993, 79: 362-67.
 11. Vento S, Rondanelli R, Ranieri S et al. Prospective study of cellular immunity to hepatitis B virus antigens from early incubation phase of acute hepatitis B. Lancet, 1987, 18: 119-122.
 12. Fernan A, Cayzer CJ, Cooksley WG: HBsAg-induced antigen-specific T and B lymphocyte responses in chronic hepatitis B virus carriers and immune individuals. Clin. Exp. Immunology, 1989, 76: 222-226
 13. Sylvan SP, Hellström UB, Lundbergh PR: Detection of cellular and humoral immunity to hepatitis B surface antigen in asymptomatic HbsAg carriers. Clin Exp. Immunology, 1985, 62: 288-295.
 14. Dusheiko GM, Hoofnagle JH, Cooksley WG et al: Synthesis of antibodies to hepatitis B virus by cultured lymphocytes from chronic hepatitis B surface antigen carriers. J. Clin. Investigation, 1983, 71: 1104-1113.
 15. Fattovich G, Alberti A, Crivellaro C et al. Cellular immunity to the hepatitis B virion in acute hepatitis type B. Clin. Exp. Immunol, 1983, 53: 645-50.
 16. Celis E, Kung P, Chang TW: Hepatitis B virus-reactive human T lymphocyte clones: Antigen specificity and helper function for antibody synthesis. J. Immunol, 1984, 132: 1511-15.
 17. Ferrari C, Penna A, Bertoletti A et al: Cellular immune response to hepatitis B virus encoded antigens in acute and chronic hepatitis B virus infection. J. Immunology, 1990, 145: 3442-49.
 18. Kashio T, Hotta R, Kakumu S: Lymphocyte suppressor cell activity in acute and chronic liver disease. Clin. Exp. Immunol, 1981, 44: 459-66.
 19. Yenicesu M, Özdemir Ç, Arpacı F. ve ark.: HbsAg pozitif kronik taşıyıcı ve HBsAg pozitif kronik hepatit olgularında T lenfosit alt grupları. Gastroenteroloji, 1991, 2: 146-151.
 20. Alexander GJ, Nouriaria KT, Eddleston AL et al: Contrasting relation between suppressor cell function and suppressor cell number in chronic liver disease. Lancet, 1983, 1: 8387
 21. Schirmberg R, Melber K, Kuhröber A et al: Immunization with soluble hepatitis B virus surface protein elicits murine H-2 Class I-restricted CD8+ cytotoxic T lymphocyte responses in vivo. J. Immunol, 1994, 152: 1110
 22. Alexander GJ, Mondelli M, Naumol NV et al: Functional characterization of peripheral blood lymphocytes in chronic HBsAg carriers. Clin Exp, Immunol, 1986, 63: 498-507.
 23. Echevarria S, Casafont F, Miera M: Il-2 and NK activity in acute type B hepatitis. Hepatogastroenterology, 1991, 38: 307.
 24. Eggink HF, Houthoff HJ, Hutema S et al: Cellular and humoral immune reactions in chronic active liver disease. Lymphocyte subsets and viral antigens in liver biopsies of patients with acute and chronic hepatitis B. Clin. Exp. Immunol., 1984, 56: 121-28.
 25. Ulutan F, Usta D: Akut viral hepatitlerde doğal öldürücü (Natural Killer-NK) hücre aktivitesinin saptanması. Türk Mikrobiol Cem Derg, 1993, 23: 198-202.