

ÖN ÇALIŞMA: HEPATİT B AŞISINA YANITSIZ OLGULARDA DOKU TİPLERİNİN İNCELENMESİ

Hatice HASMAN*, Ali ŞENGÜL**, Nurcan BAYKAM*, Başak DOKUZOĞUZ*, Levent DOĞANCI***

* Ankara Numune Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, ANKARA

** Gülhane Tıp Fakültesi İmmunoloji Bölümü, ANKARA

*** Gülhane Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ABD, ANKARA

Dünya Aşı ve Bağışıklama Kongresi'nde (26-30 Nisan, 1998, İstanbul) sunulmuştur.

Özet

Bu çalışmada rekombinant hepatit B aşısına (rHBA) yanıtızlığın immunregülatuvar mekanizması değerdendirildi. 0,1 ve 6. aylarda uygulanan üç doz rHBA'dan sonra 8 yanıtız (anti HBs titreleri <10mIU/ml) ve 3 düşük yanıtlı (anti-HBs titreleri 10-100 mIU/ml) olgunun HLA antijenleri saptandı. HLA A, B, C, DR ve DQ antijenlerinin analizi için kompleman aracılı lenfositotosik yöntem kullanıldı. Sonuçlar, aralarında akrabalık ilişkisi olmayan, HLA class-I antijenleri için 1294, HLA class-II antijenleri için 918 kişilik kontrol grupları ile karşılaştırıldı. HLA B50, C6, DR7, DR16, DQ2, DQ5 ve DQ7 oranları bakımından çalışma ve kontrol grupları arasındaki fark, istatistiksel açıdan anlamlı bulundu.

Anahtar Sözcükler: HLA, yanıtızlık, hepatit B aşısı.

Summary

PRELIMINARY STUDY: DETECTION OF TISSUE TYPES FOR NONRESPONSIVENESS TO HEPATITIS B VACCINE

In this study, immunoregulatory mechanism of nonresponsiveness to recombinant hepatitis B vaccine was evaluated. HLA antigens of 8 non responders (anti HBs titers < 10 mIU/ml) and 3 hyporesponders (anti HBs titers 10-100 mIU/ml) after three dose vaccination at 0h,1th and 6th months were detected. Complement mediated lymphocytotoxicity assay was used for analyse of HLA A, B, C, DR, DQ antigens. Results were compared with control group which was included in 1294 unrelated individuals for HLA class-I antigens and 918 unrelated individuals for HLA class-II antigens. The difference of HLA B50, C6, DR7 DR16, DQ2, DQ5, DQ7 rates were statistically significant between study and control groups.

Key Words: HLA, nonresponsiveness, hepatitis B vaccine.

Giriş

Çoğu sağlıklı bireyde Hepatitis B surface antijenine (HBsAg) karşı rHBA ile yeterli antikor yanıtı sağlanırken, bazı bireylerde bu yanıt yetersiz kalmakta yada hiç oluşmamaktadır. Bu durum, Hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu açısından, sağlık personeli, homoseksüeller, ilaç bağımlıları ve endemik bölgelerde yaşayanlar gibi yüksek risk gruplarında önemli bir problemdir (1). Japonya, Tayvan ve diğer bazı ülkelerde yapılan çalışmalarda, insanlarda HBsAg'ne karşı oluşan immun yanıtın major histocompatibility complex (MHC) genlerinde düzenlendiği gösterilmiştir (2). Şimdiye kadar yapılmış, insanlarda ve farelerde HBsAg'e karşı immun yanıtın genetik regülasyonunu aydınlatıcı çalışmaların sınırlı olmasını dikkate alarak, çalışmamızı HLA doku tiplerinin rHBA'na yetersiz immun yanıt ile olası ilişkisini araştırmak amacıyla planladık (3).

Gereç ve Yöntem

0, 1 ve 6. aylarda rHBA ile üç doz aşı sonrasında 8 yanıtız (anti HBs <10 mIU/ml) ve 3 düşük yanıtlı (anti HBs 10-100 mIU/ml) olgunun HLA antijenleri araştırıldı. Olguların tümünün ELISA yöntemi ile HBs Ag, anti-HBs, anti-Hbc, HBe Ag, anti-HBe açısından ve PCR yöntemi ile HBV-DNA açısından negatif oldukları gösterildi. Her bir olgudan elde edilen periferel venöz kanda bulunan lenfositler Ficoll-Hypaque gradient santrifüj işlemi ile ayrıldı. Daha sonra ticari koşullarda tanımlanan yöntemlere uygun olarak T ve B lenfositler ayrıldı. HLA A, B, C, DR and DQ antijenlerinin analizinde kompleman aracılı lenfositotoksit yöntem kullanıldı. Test lenfositlerin %50'sinden fazlasının fluoresan röfle vermediği durumda pozitif kabul edildi. Kontrol grubu, aralarında akrabalık ilişkisi olmayan, HLA class-I antijenleri için 1294, HLA class-II antijenleri için 918 sağlıklı erişkinden oluşturuldu ve HLA A, B, C, DR and DQ antijenleri aynı yöntemle tiplendirildi. Yanıtız olgularda ve kontrol grubunda saptanan HLA sıklık oranları x2 testi kullanılarak karşılaştırıldı. P<0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmanın yapıldığı popülasyondan elde edilen sonuçlar, HBsAg'ne düşük yanıt ya da yanıtızlık ile HLA B 50, C 6, DR 7, DR 16, DQ 16, DQ 2, DQ 5, DQ 7 doku tipleri arasında anlamlı bir ilişkili olduğunu gösterdi. 11 yanıtız ve düşük yanıtlı olgu arasında, DQ7 dışındaki HLA antijenlerinin sıklık oranı, genel popülasyonda saptanan orandan daha yüksek bulundu. Yanıtız ve düşük yanıtlı olguların %18.2'sinde DQ7 antijeni saptandı ve bu oran genel popülasyona göre (%63.8) anlamlı derecede düşük bulundu. Çalışma ve kontrol grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (tablo1).

Tartışma

Hepatit B aşısına immün yanıt ve HLA doku tipleri arasındaki ilişki konusunda şimdiye kadar yapılmış çalışmalar kısıtlı olup, elde edilen bulgular HLA gen ya da genlerini, oluşan immün yanıtı kontrol ettiğini düşündürmektedir (3-11). HLA antijenleri tarafından sunulan HBsAg'nin T hücrelerince tanınabilmesi için, HLA antijenleri ile uygun olarak bağlanma özelliğinde olması gerekir (12). Tayvan'daki Çinli olgularda yapılan bir çalışmada hepatit B aşısına düşük yanıt oranı HLA DRw14-DRw52 doku tipleri ile ilişkili bulunmuş ve HLA DRw14, DRw52 doku tiplerinin, HBsAg'nin T hücrelerine defektif presentasyonu ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (13). Aşıya yanıtız Japon olgularda ise HLA bölgelerine bağlı immün supresyon genlerinden söz edilmiş; bu genlerin HBsAg ile birlikte HLA Bw54, DR4, DRw53 antijenlerine düzensiz olarak bağlandığı ve aşıya yanıtızlığın bu doku tipleri ile ilişkili olduğu üzerinde durulmuştur (3). Durupınar ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise, rHBA'na yanıtız olgularda HLA A10, Cw4 sıklığının artmış ve DR7 sıklığının ise azalmış olduğu gösterilmiştir (14). Plazma kökenli HBV aşısı uygulanan Kafkasyalı yanıtız olgularda da HLA DR3 ve HLA DR7 oranı daha yüksek bulunmuştur (15). Ayrıca yapılan bir başka aşı denemesinde de, düşük yanıtlı 23 olguda HLA DR7'nin predominansı ve DR1'in yokluğu gösterilmiştir (15). Çalışmalardan elde edilen bu sonuçlar, spesifik bir haplotipin HBsAg'ne yanıtızlıktan sorumlu olabileceğini göstermektedir. Bizim çalışmamızda, yanıtız ve düşük yanıtlı olgularda HLA B50, C6, DR7, DN16, DQ2, DQ5 doku tipleri sıklığının genel popülasyona göre daha yüksek ve HLA DQ7 doku tipi sıklığının daha düşük olduğu gözlemlendi. Hepatit B aşısına düşük yanıtlı olgularda, tetanus toksoidine ve influenza aşısına karşı da yetersiz immün yanıt oluştuğu gösterilmiş ve farklı etnik gruplardaki bu spesifik düşük yanıtın düzenlenmesinden HLA-DR bölgesindeki farklı allellerin sorumlu olabileceği, sonuçta bu durumun genetik bir temele dayandığı öne sürülmüştür (2,17,18). Ancak farklı etnik gruplardaki HBsAg'ne düşük yanıt ile farklı HLA-DR allelleri arasındaki bu ilişkinin nedenleri tam olarak anlaşılammıştır. HLA-DR lokusları içindeki polimorfizmin yüksek olması ve farklı etnik popülasyonlardaki HLA tipleri dağılımının farklı olması nedeniyle, HBsAg'nin immunojenik peptidleri class II molekülleriyle ilişkili spesifik DR bölgesine uygun olarak bağlanamamakta ve bu da HBsAg'ne karşı spesifik immün

yanıtın eksikliğine yol açabilmektedir. (2,4). Son zamanlarda DNA aşılı ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, her toplumda farklı HLA doku antijenleri olduğu ve bunlardan en sık rastlanılanların sunabileceği HBV epitoplarının, DNA aşılı tarafından üretilmesinin planlanması gerektiği öne sürülmüştür (12). Ayrıca zayıf peptid sunumu yapabilen class II moleküllerini kodlayan HLA DR2 ve HLA DR7'nin persistan HBV enfeksiyonu ile ilişkili olduğunun ve buna karşılık HLA-DRB*1302 ve onun bir süpertipi olan HLA-DR6 ailesinin persistansa karşı koruyucu olduğunun gösterilmesi, kaliteli immun yanıtın oluşmasında HLA doku tiplerinin oynadığı rolün önemini bir kez daha ortaya koymaktadır (19). Yine otoimmun hepatit ile HLA A1, B8, B14, C4A, DR3 ve DR4; akut hepatit ile de HLA A2 doku tiplerinin ilişkili olduğu öne sürülmektedir (19). Alternatif olarak, her etnik populasyon için spesifik olan DR bölgeleri ile ilişkili class II molekülleri, sıkı yapısal konformasyonlar oluştururlar ve rHBA'nın antijenik peptidlerinin bu yapıya bağlanması sonucunda, T hücre reseptörlerinin aktivasyonu sağlanamayabilir. Yapılan bir çalışmada DR14 antijeni saptanan düşük yanıtı olguların tümü DR52 ile ilişkili bulunmuş; DR14 ve DR52 arasındaki bu %100 ilişkinin olasılıkla her iki allelin aşırı ve dengesiz bağlantısından kaynaklanabileceğine dikkat çekilmiştir (2). Sonuçta, hepatit B aşısı yanında tetanus ve influenza aşılına karşı da oluşabilen immun yanıtınsızlığın HLA doku tipleri ile olan ilişkisi hakkındaki istatistiksel bulgular, bu yanıtınsızlıkta genetik faktörlerin rol oynadığını düşündürmektedir ve söz konusu genetik faktörler, altta yatan mekanizmaların anlaşılmasında da önemlidir (3). Bu sınırlı çalışmada olgu sayısı karşılaştırma yapmak için yetersiz olmakla birlikte elde ettiğimiz veriler, rHBA'na yanıtınsızlığın HLA doku tipleri ile ilişkili olabileceğini düşündürdü. Ancak bu süreçteki gerçek mekanizmaların tam olarak aydınlatılabilmesi ve olası defektlerin identifikasyonu için olgu sayısı daha fazla çalışmalar gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Chiou S, Yamachi K, Nakanishi T: Nature of immunological nonresponsiveness to hepatitis B vaccine in healthy individuals. *Immunology*, 1988, 64: 545-50.
2. Hsu HY, Chang MH, Ho HN et al: Association of HLA-DR14-DR 52 with low responsiveness to hepatitis B vaccine in Chinese residents in Taiwan. *Vaccine*, 1993 11(14): 1437-40.
3. Watanabe H, Matsushita S, Kamikawaji H, Hirayama K, Okumura M, Sasazuki: Immun suppression gene on HLA-Bw54-DR4-DRw53 haplotype controls nonresponsiveness in humans to hepatitis B surface antigen via CD8+ suppressor T cells. *Human Immunol*, 1988, 22: 9-17.
4. Alper CA, Kruskall MS, Bagley DM et al: Genetic prediction of nonresponse to hepatitis B vaccine. *N Eng J Med*, 1989, 321 (11): 708-12.
5. Barnaba V, Franco A, Alberti A, Benvenuto R, Balsano F: Selective killing of hepatitis B envelope antigen-specific B cells by class I-restricted, exogenous antigen specific T lymphocytes. *Nature*, 1990, 345: 258-60.
6. Benacerraf B: Role of MHC gene products in immune regulation. *Science*, 1981, 212: 1229-38.
7. Gorzynski TJ, David CS: Immune-response gene-associated antigens (Ia/DR). Structure and function in immunologically related diseases. *Mayo Clin Proc*, 1983, 58: 457-66.
8. Milich DR, Alexander H, Chissari FV: Genetic regulation of the immune response to hepatitis B surface antigen (HBsAg). III. Circumvention of nonresponsiveness in mice bearing HBsAg nonresponder haplotypes. *J Immunol*, 1983, 130 (3): 1401-7.
9. Milich DR, Roels GGL, Chissari FV, 1983: Genetic regulation of the immun response to hepatitis B surface antigen (HBs Ag). II. Qualitative characteristics of the humoral immune response to the a, d, and y determinants of HBsAg. *J Immunol*, 1983, 130 (3): 1395-400.
10. Milich DR, Roels GGL, Louie RE, Chissari FV. 1984: Genetic regulation of the

- immun response to hepatitis B surface antigen (HBs Ag). IV. Distinct H-2-linked Ir genes control antibody responses to different HBsAg determinants on the same molecule and map to the I-A and I-C subregions. *J Exp Med*, 1984, 159: 41-56.
11. Stubs SH, Berasain C, Golvano JJ, Lasarte JJ, Prieto I, Sarobe P, Prieto J, Cuesta FB: Overcoming class II-linked non-responsiveness to hepatitis B vaccine. *Vaccine*, 1994, 12 (10): 867-71.
 12. Akarca US: Kronik B hepatitinde interferon dışı tedaviler ve interferon ile yapılan kombinasyonlar, "Kılıçturgay K, Badur S (eds), *Viral Hepatit'2001, 1.Baskı*" Kitabında s 152-73, 2001, Viral Hepatitle Savaşım Derneği. İstanbul.
 13. Hsu HY, Chang MH, Hsieh RP, Ni YH, Chi WK: Humoral and cellular immune responses to hepatitis B vaccination in hepatitis B surface antigen-carrier children who cleared serum-hepatitis B surface antigen. *Hepatology*, 1996 24 (6): 1355-1360.
 14. Durupınar B, Ökten G: HLA tissue types in nonresponders to hepatitis B vaccine. *Indian J Pediatr*, 1996, 63 (3): 369-73.
 15. Craven DE, Awdeh ZL, Kunches LM et al: Nonresponsiveness to hepatitis B vaccine in health care workers. Results of reavaccination and genetic typings. *Ann Int Med*, 1986, 105: 356-60.
 16. Milich DR, Chisari FV: Genetic regulation of the immun response to hepatitis B surface antigen (HBs Ag) I. H-2 restriction of the murine humoral immun response to the a and d determinants of HBs Ag. *J Immunol*, 1982, 129 (1): 320-5.
 17. De Vires RRP, Kreeftenberg HG, Loggen HG, Van Rood JJ. In vitro immune responsiveness to vaccinia virus and HLA. *N Eng J Md*, 1977, 297 (13): 692-96.
 18. Sasazuki T, Kohno Y, Iwamoto I, Tanimura M: Association between an HLA haplotype and low responsiveness to tetanus toxoid in man. *Nature*, 1978, 272: 359-61.
 19. Kılıçturgay K: Viral hepatitle immunopatogez, "Kılıçturgay K, Badur S (eds), *Viral Hepatit'2001, 1. Baskı*" Kitabında s 304-15, 2001, Viral Hepatitle Savaşım Derneği. İstanbul.