

# Hepatit B virüsü ile enfekte sağlıklı taşıyıcılarda Hepatit B virüs yüzey antijeni ile intradermal aşı tedavisi\*

Oğuz Dikbaş<sup>1</sup>, Fehmi Tabak<sup>2</sup>, Yıldırım Aktuğlu<sup>2</sup>

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, <sup>1</sup>İç Hastalıkları Anabilim Dalı, <sup>2</sup>Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul

**Amaç:** Bu çalışmada, sağlıklı hepatit B taşıyıcılığında intradermal hepatit B aşısı uygulaması ile hepatit B yüzey antijenlerine karşı antikor oluşumunun araştırılması amaçlanmıştır. **Yöntem:** 0, 3, 7, 14, 28. günlerde, 30 sağlıklı hepatit B taşıyıcısına rekombinant hepatit B aşısı (H-B Vax II) intradermal olarak ön kol dorsal yüze uygulandı. Kontrol grubu olarak 30 olgu tedavisiz izlendi. **Bulgular:** Aşılama sonucunda tedavi grubunda bir olguda HBsAg negatifleşti, kontrol grubunda bir olguda HBsAg negatifleşti ve anti-HBs antikor geliştirdi. Transaminaz değerlerinde her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmadı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında çalışma grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir anti-HBs antikor yanıtı oluşmadı. **Sonuç:** Kronik hepatit B'de aşı tedavisi başarılı sonuçlar alınmasına rağmen, sağlıklı hepatit B taşıyıcılığında başarılı olunamaması her iki klinik durumun immünopatogenezinin farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Hepatit B virüsü, sağlıklı taşıyıcı, intradermal aşı tedavisi

**Intradermal vaccine therapy with hepatitis B surface antigen in healthy hepatitis B virus infected patients.**

**Objective:** The aim of this study was to determine whether hepatitis B vaccination could elicit antibody response against hepatitis B surface antigen in healthy hepatitis B carriers. **Methods:** Thirty healthy hepatitis B virus (HBV) carriers were vaccinated with hepatitis B vaccine (H-B Vax II) on days 0,3,7,14, and 28 consecutively by intradermal route on the dorsal side of the forearm. The control group was elucidated from 30 healthy HBV carriers and observed without any vaccination. **Results:** In the therapy group, in one patient has become negative, in the control group, one patient has become positive for antibody against hepatitis B surface antigen (anti-HBs). There was no statistically significant difference between the two groups with respect to transaminase levels. There was also no statistically significant difference between therapy and control group according to the anti-HBs response. **Conclusion:** The reason for failure of anti-HBs seroconversion after vaccination in healthy HBV carriers in contrast to the success obtained in chronic B hepatitis patients can be explained by the difference in the immunopathogenesis of the two clinical conditions.

**Key Words:** Hepatitis B virus, healthy carrier, intradermal vaccine therapy

**Genel Tıp Derg 2002;12(2):47-50**

Hepatit değişik nedenlere bağlı olarak gelişebilen, hücre nekrozu ile karakterize karaciğerin inflamasyonudur. Hepatitler viral etkenlere, ilaç ve toksik maddelere, yağlanmaya, alkole, otoimmün nedenlere ve iskemiye bağlı olarak gelişebilir. Hepatit B bunlar içinde sık rastlanması nedeniyle

önemli bir yer tutar. Hepatit B virüsü (HBV) hepadnaviridae ailesinin orthohepadnavirüs cinsinde yer alan, hepatotropik 42 nm çapında, zarflı ve kısmen çift sarmallı sirküler deoksiribonükleik asit (DNA) virüsüdür. Hepadnaviridae ailesi içinde insanda enfeksiyon oluşturan tek tür HBV'dir. HBV'nin en önemli rezervuarı insandır. HBV dört yolla bulaşmaktadır. Bunlar parenteral, cinsel temas, taşıyıcı annenin intrapartum ve perinatal dönemde taşıyıcı annenin intrapartum ve perinatal dönemde enfeksiyonu bebeğine geçirmesi ile ve bu üç yol dışında yakın temasla olan bulaşmadır. HBV enfeksiyonu akut hepatit, kronik hepatit, fulminan

\*Dr. Oğuz Dikbaş'ın uzmanlık tezinden özetlenmiştir.

Yazışma adresi: Dr. Oğuz Dikbaş, Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Medikal Onkoloji Bilim Dalı 06100, Sıhhiye, Ankara. E-posta: oguzdikbas@hotmail.com.

hepatit, sağlıklı hepatit B taşıyıcılığı, karaciğer sirozu, hepatosellüler kanser gibi komplikasyonlara yol açabilmektedir (1).

HBV olguların bir bölümünde kronik enfeksiyon ile seyredilmektedir. Hepatit virüsü sitopatojenik değildir. Hepatit B virüsünün gidişini konağın immün yanıtı belirler. Hastalığın kronikleşmesi karaciğerde viral replikasyonun devam etmesine ve hastanın immünolojik durumuna bağlıdır. Eğer konağın immün yanıtı zayıf ise virüs karaciğer hasarı oluşturmaksızın çoğalmaya devam eder. Böyle hastalara sağlıklı HBV taşıyıcısı denir. Virüs ile enfekte hepatositlerin eliminasyonu, enfekte hepatositlerin üzerindeki insan lökosit antijenleri (HLA) proteinlerine eşlik eden viral determinantların sitotoksik T hücreleri tarafından tanınmasına bağlıdır. Yaşamın ilk dönemlerinde kronikleşmeye eğilim hepadnaviral enfeksiyonun bir özelliğidir. Yaş ile enfeksiyonun kronikleşmesi arasında ters bir ilişki vardır. HBeAg pozitif anneden doğan bebeklerin HBV'ye tolerans göstermesi, virüsün kalıcılığına yol açabilir. Farelerde bunu doğrulayan çalışmalar vardır (2). Diğer bir muhtemel kronikleşme nedeni ise T hücrelerinin klonal delesyonudur. Sitotoksik T lenfosit (CTL) yanıtının gücü virüsün kalıcılığını belirler (3,4). Viral devamlılığın, konağın immunogenetik yapısı ile ilişkisi araştırılmıştır. Akut HBV enfeksiyonunda CD8 (+) T hücre proliferasyonu ve aktivasyonu artar. Bu durum kronik enfeksiyonda görülmez. Kronik enfeksiyonlu hastalarda CD8 (+) T hücre yanıtı zayıf düzeydedir (5). Kronikleşmede CTL'lerin antijen sunumunda bir defektin varlığı diğer bir olasılıktır. Muhtemel kronikleşme nedenlerinden bir başkası ise hepatit B virüs x antijenidir (6). Altı aydan uzun süre serumda HBsAg saptanması kronikliği ifade eder. Serum transaminaz değerleri normal olan ve karaciğer hastalığının diğer belirtileri olmayan HBsAg pozitif kişilere sağlıklı taşıyıcı denir (7).

## Yöntem

Çalışmaya kronik sağlıklı HBV taşıyan 60 olgu alındı. Otuz olgu çalışma, 30 olgu kontrol grubunu oluşturdu.

Çalışmaya alınma kriterleri;

1. En az altı ay süre ile HBsAg'nin pozitif olması,

2. En az altı ay süre ile alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinin normal seyretmesi,
3. Hibridizasyon veya polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile HBV DNA'nın negatif bulunması,
4. Başlangıç direkt-indirekt bilirubin, alkalen fosfataz, albumin, globulin, protrombin zamanı, alfa fetoprotein düzeylerinin normal bulunması,
5. Fizik muayene ve/veya ultrasonografi ile asit ve splenomegalinin saptanmaması.

Bu koşulları sağlamayan B tipi kronik hepatit tanısı olan hastalar, Hepatit D virüs (HDV) pozitif, Hepatit C virüsüne karşı antikor (anti-HCV) pozitif ve başka hastalığı bulunan (Diabetes mellitus, kronik böbrek yetersizliği, malignite vb.) olgular çalışmaya alınmadı.

Çalışma ve kontrol grubuna olgular randomizasyon ile seçildi. Bu kriterleri sağlayan kontrol ve çalışma grubundaki olguların izlendiği 4 aylık sürenin başlangıcında, birinci ayda ve ikinci ayda ALT ve AST ölçümleri ile yine başlangıçta, ikinci ayda ve dördüncü ayda HBsAg, anti-HBs ölçümleri yapıldı. Çalışma grubuna 0, 3, 7, 14 ve 28. günlerde rekombinant HBsAg (H-B Vax II flakon) aşısı 5 mikrogram, intradermal olarak ön kol dorsal yüzüne uygulandı. Kontrol grubu ise tedavisiz izlendi.

Olguların serolojik incelemeleri Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) laboratuvarında yapıldı. HBV-DNA hibridizasyon ölçümü için Digene Hybrid Capture System (Murex Diagnostics; Chatillon, Fransa) kullanıldı. HBsAg, anti-HBs, Hepatit B virüs e antijeni (HbeAg), Hepatit B virüs e antijenine karşı antikor (anti-HBe), Hepatit B virüs kor antijenine karşı antikor (anti-HBc) ölçümleri için Micro ELISA yöntemi (Sanofi Diagnostics Pasteur, Coquette, Fransa) kullanıldı.

İstatistiksel değerlendirme SPSS programında; nicel verilerde Student'in t testi, niteliksel verilerde ki-kare ve Fisher exact testleri kullanıldı.

## Bulgular

Çalışma grubundaki olguların 14'ü kadın, 16'sı erkek idi. Kontrol grubundaki olguların ise 11'i kadın, 19'u erkek idi. İki grup arasında cinsiyet dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Çalışma grubundaki olguların yaş ortalaması 37 (13-68), kontrol grubundaki olguların yaş ortalaması 33 (14-57) idi. İki grup arasında yaş ortalaması bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Çalışma ve kontrol grubunda toplam 60 sağlıklı hepatit B taşıyıcısı bulaşma risk faktörleri yönünden tarandığında; birinci sırada dental girişim, ikinci sırada cerrahi girişim geliyordu. Bunları da aile içi hepatit B öyküsü takip ediyordu.

Çalışma grubunun başlangıç ALT ortalaması  $27.00 \pm 10.06$  IU, ikinci ay ALT ortalaması  $25.97 \pm 14.09$  IU ( $P=0.695$ ); başlangıç AST ortalaması  $25.30 \pm 6.55$  IU, ikinci ay AST ortalaması  $24.83 \pm 9.81$  IU ( $P=0.796$ ) bulundu. Kontrol grubunun başlangıç ALT ortalaması  $22.60 \pm 8.82$  IU, ikinci ay ALT ortalaması  $23.07 \pm 9.10$  IU ( $P=0.655$ ); başlangıç AST ortalaması  $21.83 \pm 4.62$  IU, ikinci ay AST ortalaması  $21.23 \pm 5.64$  IU ( $P=0.512$ ) tespit edildi. Çalışma grubunda başlangıç AST değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksekti ( $P<0.05$ ). Ancak klinik olarak normal sınırlar içindeydi. Çalışma ve kontrol grubunda başlangıç ve ikinci ay ALT ve ikinci ay AST düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo).

Çalışmamızın sonunda çalışma grubunda 30 olgunun 29'unda serolojik değişiklik saptanmadı. Bir olguda HBsAg negatifleşti. Kontrol grubunda ise bir olguda HBsAg negatifleşti ve anti-HBs pozitifleşti. Yirmidokuz olguda serolojik değişiklik izlenmedi. Çalışma grubunda bir olguda tedavi sırasında ALT'de minimal bir yükselme ( $47$  IU/L), diğer bir olguda çalışma sonunda ALT'de iki kata yakın bir yükselme, yine başka bir olguda çalışma sonunda iki katın altında ( $57$  IU/L) yükselme saptandı. Kontrol grubunda ise sadece bir olguda takip sırasında ALT yüksekliği ( $47$  IU/L) saptandı. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Bu çalışma sırasında aşı uygulanan kronik sağlıklı HBV taşıyıcılarında yan etki gözlenmedi.

## Tartışma ve sonuç

Çalışmamızda kronik hepatit B'li olgularda kullanılan ve bu olguların bir bölümünde HBV-DNA'nın kaybolmasına ve transaminazların normale dönmesine yol açan HBV aşılarının kronik sağlıklı taşıyıcılarda farklı bir şekilde (sık aralar ve

Tablo: Gruplara göre transaminaz ortalama değerleri ve karşılaştırmaları.

	Aşı Grubu		Kontrol Grubu		t	p*
	ort	SS	ort	SS		
AST						
Başlangıç	25.30	6.55	21.83	4.62	2.37	0.021
İkinci ay	24.83	9.81	21.23	5.64	1.74	0.088
t P**	0.26	0.796	0.66	0.512		
ALT						
Başlangıç	27.00	10.06	22.60	8.82	1.80	0.077
İkinci ay	25.97	14.09	23.07	9.10	0.95	0.348
t P	0.40	0.695	0.45	0.655		

intradermal uygulama) uygulanması ve bu uygulamanın HBsAg'nin negatifleşmesine katkısı araştırıldı (8-15). Kuduz profilaksisinde uygulanan bulaş sonrası intradermal aşılama şemasından yola çıkıldı (16-19). Kuduz profilaksisinde intradermal aşılama ile intramüsküler aşılama kadar başarılı sonuçlar alındığı saptanmıştır (17,19). Çalışmamızda, kuduz profilaksisinde bulaş sonrası 0, 3, 7, 30, 90. günlerde uygulanan intradermal aşı şeması değiştirilerek, 0, 3, 7, 14, 28. günlerde intradermal rekombinant HBV aşısı uygulandı. HBV enfekte olgularda, hepatit B yüzey antijeni ile karşılaşmamış intradermal lenfomonositer hücrelerin, intradermal aşı uygulaması yoluyla hümmoral ve hücrenel yanıt oluşturabileceği düşünüldü. Bu uygulama ile kuduz aşısında olduğu gibi, hepatit B virüs enfekte taşıyıcılarda bir ay gibi kısa bir sürede hızlı bir serokonversiyon oluşturulması amaçlandı. Ayrıca olgulara uyguladığımız şemada 40 mikrogramlık tek bir flakon tedavi boyunca yeterli olduğu için önemli bir ekonomik katkı sağlandı.

Günümüzde sağlıklı hepatit B taşıyıcılarında HBsAg'yi ortadan kaldırmak için herhangi bir tedavi bulunmamaktadır. Deneysel bir çalışmada (11) hepatit virüsü ile kronik olarak enfekte Amerikan dağ sıçanlarına T helper lenfositleri tarafından tanınan, ispermeçet balına myoglobininin 106-118'inci aminoasit zincirini içeren peptit ile dağ sıçanı hepatit virüsü yüzey antijeni kombine edilerek uygulanmış ve tüm sıçanlarda anti-HBs yanıtı oluşturulmuştur. Diğer bir deneysel çalışmada (10) HBV-transjenik farelere plasebo kontrollü aşılama; 12 ay süreyle ayda bir kez yüksek doz HBsAg içeren aşının

intraperitoneal uygulanması şeklinde yapılmış, HBV DNA, HBsAg ve HBeAg pozitif transjenik farelerin bir grubuna Complete Freund's Adjuvanı (CFA) içinde HBsAg içeren aşı, intraperitoneal olarak ayda bir kez ve 12 ay süreyle uygulanmış, diğer gruba ise ayda bir kez olmak üzere 12 ay süreyle intraperitoneal olarak yalnız CFA verilmiştir. Oniki aylık takip sonrasında, aşı uygulanan 32 farenin 25'inde HBsAg, 30'unda HBeAg negatifleşmiş ve 5'inde ise anti-HBs gelişmiştir.

Kronik B hepatitli olgular üzerinde yapılan HBsAg içeren aşı çalışmaları, interferon ile birlikte (8,9,15), tek başına (12) veya hepatit B immüno globulin (13) ile yapılmış, olumlu sonuçlar alınmıştır. Dienstag ve arkadaşlarının (14) kronik hepatit B taşıyıcısı olgular üzerinde yaptığı bir çalışmada ise aşı tedavisi sonucunda başarı elde edilememiştir.

Çalışmamızda kontrol grubunda bir olguda HBsAg pozitifliği kaybolup anti-HBs oluştu. Çalışma grubunda ise bir olguda HBsAg pozitifliği kayboldu fakat anti-HBs oluşmadı. Bu sonuçlar ile çalışma ve kontrol grubunu karşılaştırdığımızda, HBsAg pozitifliğinin kaybolması açısından her iki grubun parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Çalışmada olumlu sonuç alınamamasının nedeni; kronik hepatit B ile sağlıklı HBsAg taşıyıcılığının immüno patogenezinin farklılığı olabilir. Sağlıklı hepatit B taşıyıcılığında konağın genetik ya da kazanılmış immünotoleransı sık ve lokal olarak uygulanan HBsAg'ye rağmen immün yanıtın oluşmamasına neden olmuş olabilir.

## Kaynaklar

1. Beasley RP. Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988;61:1942-56.
2. Milich DR, Jones JE, Hughes JL, Price J, Raney AK, McLachlan A. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero? *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:6599-603.
3. Kılıçturgay K. Viral Hepatitte İmmüno patogenez. In: Kılıçturgay K (ed). *Viral Hepatit'98*, 1. Baskı, İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği, 1998:238-45.
4. Bertoletti A, Southwood S, Chesnut R, Sette A, Falco M, Ferrara GB, et al. Molecular features of the hepatitis B virus nucleocapsid T cell epitope 18-27: Interaction with HLA and T-cell receptor. *Hepatology* 1997;26:1027-34.

5. Chisari FV, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol* 1995;13:29-60.
6. Feitelson MA, Duan LX. Hepatitis B virus X antigen in the pathogenesis of chronic infections and the development of hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol* 1997;150:1141-57.
7. Kurt H. Klinik Bulgular. In: Kılıçturgay K (ed). *Viral Hepatit'98*, 1. Baskı, İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği, 1998:101-6.
8. Pol S, Couillin I, Michel ML, Driss F, Nalpas B, Carnot F, et al. Immunotherapy of chronic hepatitis B by anti-HBV vaccine. *Acta Gastroenterol Belg* 1998; 6:228-33.
9. Fruttaldo L, Schettino G, Mongio F. Anti-HBV vaccination before therapy with interferon (IFN) in chronic B hepatitis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 1997;1:197-201.
10. Akbar SM, Kajino K, Tanimoto K, Kurose K, Masumoto T, Michitaka K, et al. Placebo controlled trial of vaccination with hepatitis B virus surface antigen in hepatitis B virus transgenic mice. *J Hepatol* 1997;26:131-37.
11. Hervas-Stubbs S, Lasarte JJ, Sarobe P, Prieto J, Cullen J, Roggendorf M, et al. Therapeutic vaccination of woodchucks against chronic woodchuck hepatitis virus infection. *J Hepatol* 1997; 27:726-37.
12. Şentürk H, Tabak F, Akdoğan M, et al. Therapeutic vaccination with a pre S2 containing vaccine in chronic hepatitis B: A promising approach. *Hepatology* 1998;28 (Suppl): 588A.
13. Wen YM, Wu XH, Hu DC, Zhang QP, Guo SQ. Hepatitis B vaccine and anti-HBs complex as approach for vaccine therapy. *Lancet* 1995;345:1575-76.
14. Dienstag JL, Stevens CE, Bhan AK, Szmunness W. Hepatitis B vaccine administered to chronic carriers of hepatitis B surface antigen. *Ann Intern Med* 1982;96:575-79.
15. Pol S. Immunotherapy of chronic hepatitis B by anti-HBV vaccine. *Biomed Pharmacother* 1995;49:105-9.
16. Chutivongse S, Wilde H, Supich C, Baer GM, Fishbein DB. Postexposure prophylaxis for rabies with antiserum and intradermal vaccination. *Lancet* 1990;335:896-8.
17. Briggs DJ, Banzhoff A, Nicolay U, Sirikwin S, Dumavibhat B, Tongswas S, et al. Antibody response of patients after postexposure rabies vaccination with small intradermal doses of purified chick embryo cell vaccine or purified Vero cell rabies vaccine. *Bull World Health Organ* 2000;78:693-8.
18. Suntharasamai P, Chaiprasithikul P, Wasi C, Supanaranond W, Auewarakul P, Chanthavanich P, et al. A simplified and economical intradermal regimen of purified chick embryo cell rabies vaccine for postexposure prophylaxis. *Vaccine* 1994; 12:508-12.
19. Charanasri U, Meesomboon V, Kingnate D, Samuthananont P, Chaeychomsri W. Intradermal simulated rabies postexposure prophylaxis using purified chick embryo rabies vaccine. *J Med Assoc Thai* 1994; 77:157-60.