

Hemodiyaliz hastalarında rekombinan hepatit B aşısının antikor cevabına etki eden faktörler

Dr. Ali KOŞAR*, Dr. Mahmut DALMAZ*, Dr. Hakkı POLAT*, Dr. F. Nurten YEKSAN**,
Dr. Süleyman TÜRK*, Dr. Mehdi YEKSAN*

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hemodiyaliz Ünitesinde düzenli olarak diyaliz programına bağlı 22 erkek, 14 kadın araştırmaya dahil edildi. Hastalara 0, 1 ve 6.ncı aylarda 20 microgram rekombinant hepatit B aşısı intramusküler olarak deltoid kasına yapıldı. Anti-HBs, C3, C4 ve total IgG düzeyleri ölçüldü. T4 ve T8 sayısı immun floresans yöntemi (IFA) ile sayıldı. Elde edilen sonuçlar minitab istatistik programı ile bilgisayarda değerlendirildi. Hastaların % 69.04'ünde antikor düzeyi koruyucu düzeyde idi. Hepatit B aşının antikor cevabı ile T4 lenfosit, yaş ve serum kreatinin seviyesi arasında istatistiki olarak pozitif korelasyon bulundu ($r = 0.05$, $p < 0.05$). C3, C4, total lenfosit, T8 lenfosit, T4:T8 oranı, diyaliz süresi, ağırlık, cinsiyet, anti-HCV pozitifliği, karaciğer fonksiyon testleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir korelasyon yoktu. [Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 1(4):263-267, 1994]

Anahtar Kelimeler: Hemodiyaliz, hepatit B aşısı, immun yetersizlik

The factors affect the antibody answer to recombinant hepatitis B vaccine in hemodialysis patients

22 male, 14 female hemodialysis patients (HDP) were included in this study. 20 microgram recombinant Hepatit B vaccine were given at 0, 1st and 6th months in deltoid muscle. The level of anti-HBs, C3, C4, Total IgG were performed by ELISA. Total lymphocytes count were performed by Technon HI 873. T4, T8 lymphocytes and T4:T8 ratio were measured by IFA. Data were analysed by minitab computer programme. The level of anti-HBs were protective 69.04 percent of patients. There was a significant correlation between age, T4 lymphocyte, level of serum creatinin and anti HBs levels ($p < 0.05$). But there was no correlation between weight, sex, anti-HCV antibody positivity, duration of dialysis, abnormal liver functions, C3, C4, T8 lymphocytes, T4:T8 ratio and immun response to hepatitis B vaccination in HDP. [Journal of Turgut Özal Medical Center 1(4):263-267, 1994]

Key Words: Hemodialysis, hepatitis B vaccine, immun deficiency

Hemodiyaliz hastalarında hepatit B aşısına antikor cevabının normal insanlara göre daha düşük olduğu bildirilmektedir¹⁻⁵. Antikor cevabının düşük olmasının en önemli nedeni diyaliz hastalarında immun sistemin baskılanmış olmasından kaynaklanmaktadır. Hemodiyaliz hastalarında kronik üremi başta olmak üzere diyalize girme süresi, kullanılan filtrenin membranı gibi değişik

faktörler immun sistemi baskılamaktadır⁶⁻⁸. Hemodiyaliz hastalarında hastanın immun yapısı yanında aşı cevabını yaş, cins, ağırlık ve kullanılan bazı ilaçlarla, sigaranın etkilediği belirtilmiştir⁹⁻¹¹. Bazı çalışmalarda ise cinsiyetin aşı cevabı üzerinde etkisi olmadığı bildirilmiştir¹¹. Diyaliz hastalarında relatif bir lenfopeni bulunmaktadır. Kronik üremi primer olarak T lenfositlerin proliferasyonunu

* : Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı - Konya

** : Konya S.S.K. Hastanesi İç Hastalıkları Kliniği - Konya

Koşar ve ark.

Hemodiyaliz hastalarında rekombinan hepatit B aşısının antikor cevabına etki eden faktörler

engellemektedir. Bir yıldan daha uzun süre diyalize giren hastalarda T4 sayısında kısmi bir azalma olduğu fakat T4:T8 oranının değişmediği bildirilmiştir¹². Başka çalışmalarda ise diyaliz hastalarında T4, T8 sayısı ve T4:T8 oranının normal insanlara göre daha düşük olduğu bildirilmiştir¹³. Bir çalışmada da lenfosit sayısı ile aşı cevabı arasında anlamlı korelasyon olduğu bildirilmiştir¹⁴. Literatürde hepatit B aşısının antikor cevabına etki eden faktörler konusunda kesin bir fikir birliği yoktur.

Bu çalışmamızda hemodiyaliz hastalarında total lenfosit, T4, T8, T4:T8 oranı, C3, C4, total IgG, yaş, cinsiyet, ağırlık, diyaliz süresi, karaciğer fonksiyon testleri, serum kreatinin seviyesi ve anti-HCV pozitifliği gibi değişik faktörlerin hepatit B aşısının antikor cevabına etkisini incelemeyi amaçladık.

MATERYAL VE METOD

Araştırmaya 1992-93 yıllarında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hemodiyaliz Ünitesinde düzenli olarak diyalize giren 36 hasta dahil edildi. Araştırmaya dahil edilen hastaların HBsAg ve Anti-HBs'leri negatifti. Hemodiyaliz hastalarının 14'ü kadın, 22'si erkekti. Hastalarda yaş dağılımı 18 ile 60 arasında değişmekte olup ortalama yaş 35.2±2.6 idi. Hastalar düzenli olarak haftada iki veya üç kez polysulfone membranlı makinalarda 4 saat süre ile diyalize giriyordu. Tüm hastalar aktif D3 vitamini, alüminyumlu fosfor bağlayıcıları, kalsiyum, B vitamini, esansiyel aminoasit, gerekli olanlara antihipertansif, oral veya parenteral demir preparatları alıyordu. Araştırmaya dahil edilen hastalardan immünsüpresif tedavi alan yoktu. Hastalara rızası alınarak 0.5 ml.'sinde 20 mikrogram rekombinant hepatit B aşısı bulunan (GENHEVAC HEPATIT B) 0, 1 ve 6.ncı aylarda deltooid adalesine intramusküler yapıldı. HbsAg, Anti-HBs, anti-HBc, Anti-HCV, Total IgG, C3, C4 seviyesi tayini S.Ü.Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapıldı. Bunun için hastalardan 5 cc kan alındı. Serumları ayrıldı ve -20°C'de deep-freezde saklandı. HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV seviyeleri Cerez 900 HDI ELISA cihazı ile Welkozyme kitleri kullanılarak yapıldı. Total IgG, C3, C4 tayini Cerez 900 HDI ELISA cihazı ile Radial diffusion complement IgG, C3 ve C4 kitleri kullanılarak yapıldı. SGOT, SGPT, keratinin S.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında Technicon H1 System 873 cihazı ile yapıldı. Hemoglobin, hematokrit, lökosit, lenfosit ve total lenfosit sayımları Technicon RA-XT otomatik

cihazı ile yapıldı. T4 ve T8 lenfositleri anti-T4 ve anti-T8 monoklonal antikorları kullanılarak, immunfloresans yöntemi ile Sero-Tek, anti-human antibodies, England kiti kullanılarak yüzde olarak değerlendirildi. Total lenfosit sayısından yararlanarak mm³'teki T4 ve T8 sayısı bulundu. T4 ve T8 sayısından yararlanılarak T4:T8 oranı hesaplandı. Çalışma sonuçlarını değerlendirirken anti-HBs seviyelerinin cut off değerlerini dikkate alarak istatistiki çalışmaları yapıldı. Sonuçlar "Apps/minitab" istatistik pogramı ile bilgisayarda Student's t testi ve korelasyon analizleri ile karşılaştırıldı.

BULGULAR

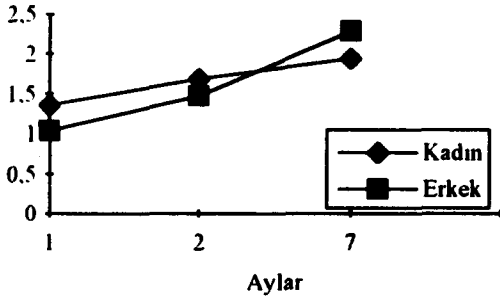
Araştırmaya dahil edilen hastaların 22'si erkek 14'ü kadındı. Yaşları 14 ile 60 arasında değişmekte olup ortalama 35±2.6/ yıl idi. Diyaliz süreleri 7 ay ile 108 ay arasında değişmekte olup ortalama 42.4±5.2 ay idi. Hastalarda ilk doz aşı yapıldıktan 1 ay sonra elde edilen anti-HBs'nin cut off optik dansite (OD) düzeyleri 1.21±0.5 idi. Hastaların 18'sinde (% 50' sinde) antikor seviyesi koruyucu düzey olan 10 IU/L'nin üzerinde idi. Hastalarda 2'nci doz aşı yapıldıktan 1 ay sonra yani ilk dozdan 2 ay sonra elde edilen anti-HBs'nin cut off OD düzeyleri 1.56±0.10 idi. Anti-HBs düzeyi hastaların 20'sinde (% 55.4 ünde) koruyucu düzey olan 10 IU/L'nin üzerinde idi. 3'ncü doz aşından sonra yani ilk doz aşından 7 ay sonra hastalarda anti-HBs'nin cut off değerleri 2.18 ±0.40 idi. Hastaların 25'inde (% 69.04 ünde) koruyucu düzey olan 10 IU/L' nin üzerinde idi. Hastalarda 7'nci aydaki antikor düzeyleri 1'nci 2'nci aydaki antikor düzeylerine göre anlamlı derecede artmıştı. Bu artış istatistiki olarak anlamlı bulundu (p<0.001).

Anti-HBs seviyesi 1'nci ayda kadınlarda 1.36±0.17, erkeklerde 1.037±0.15, 2'nci ayda kadınlarda 1.68±0.16, erkeklerde 1.47±0.12 idi, 7'nci ayda kadınlarda 1.94±0.37, erkeklerde 2.28±0.3 olarak tesbit edildi. İki grup arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0.05). Erkek ve kadınlarda anti-HBs seviyeleri Şekil I'de görülmektedir.

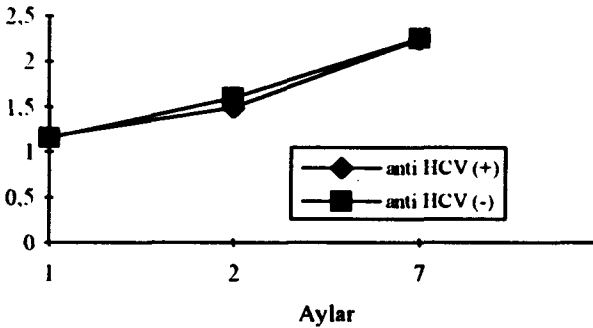
Anti-HCV pozitif hastalarda anti-HBs düzeyi 1'nci ayda 1.773±0.18, 2'nci ayda 1.449±0.16, 7'nci ayda 2.24±0.20 idi. Anti HCV negatif hastalarda anti-HBs düzeyi 1'nci ayda 1.16±0.14, 2'nci ayda 1.66±0.13, 7'nci ayda 2.25±0.10 idi. İki grup arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0.05). Şekil II'de anti-HCV pozitif ve negatif

Koşar ve ark.

Hemodiyaliz hastalarında rekombinan hepatit B aşısının antikor cevabına etki eden faktörler



Şekil 1. Kadın ve erkeklerde 1, 2, 3'ncü aylarda anti-HBs düzeyleri.



Şekil 2. Anti-HCV pozitif ve negatif hastalarda 1, 2, 3'ncü aylarda anti-HBs düzeyi

hastalarda anti-HBs seviyesi verilmiştir.

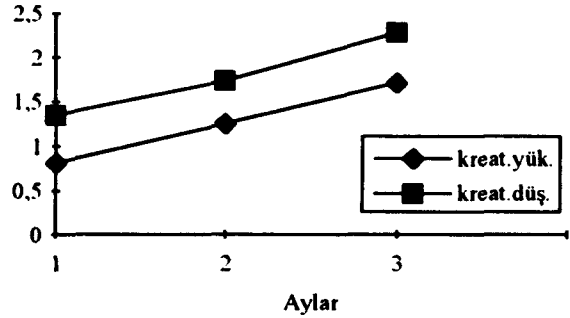
Kreatin seviyesi diyaliz sonrası 7 mg/dl'nin altında olan hastalarda anti-HBs seviyesi 1'nci ayda 1.34 ± 0.3 , 2'nci ayda 1.73 ± 0.10 , 7'nci ayda 2.28 ± 0.27 idi. Diyaliz sonrası kreatin seviyesi 7 mg/dl'nin üzerinde olan hastalarda anti-HBs düzeyi 1'nci ayda 0.817 ± 0.18 , 2'nci ayda 1.25 ± 0.18 , 7'nci ayda 1.71 ± 0.44 idi. İki grup arasında birinci ve 2'nci ayda ($p < 0.05$) için 7'nci ayda ise ($p < 0.1$) için istatistik olarak anlamlı fark vardı. Yani kreatinin seviyesi düşük hastalarda antikor cevabı kreatinin düzeyi yüksek olan hastalara göre daha iyiydi. Şekil III'de kreatinin seviyesi 7 mg/dl'nin altında ve üstünde olan hastalarda anti-HBs düzeyleri verilmiştir.

Tablo I. Anti-HBs ile değişik parametreler arasındaki korelasyon sonuçları

Özellik	Yaş	Ağır.	SGPT	SGOT	Tot.L.	T4	T8	T4:T8	C3	C4
r	0.421	0.103	0.128	0.143	0.209	0.299	0.281	0.161	0.130	0.097

$\alpha 0.05$ için $r = 0.349$, $\alpha 0.1$ için $r = 0.290$ 'dan büyük olması istatistik açıdan anlamlı olmaktadır.

Yaş: yıl, SGPT: U/L, SGOT: U/L, Tot.L.: Total lenfosit/mm³



Şekil 3. Kreatin seviyesi 7 mg/dl'nin altında ve üstünde olanlarda anti-HBs düzeyleri

Hastaların yaş ortalaması 35 ± 2.6 idi ve yaş ile aşı cevabı arasında istatistik olarak anlamlı korelasyon vardı ($P < 0.05$). Ağırlıkları ortalamaları 45 ± 13 kg, ortalama SGOT değeri 43 ± 13 U/L, SGPT 45 ± 12 U/L idi. Anti-HBs ağırlık, SGOT, SGPT arasında anlamlı bir korelasyon yoktu ($p > 0.05$). Tablo I'de değişik parametrelerle anti-HBs arasındaki korelasyon sonuçları verilmiştir.

Araştırmaya dahil edilen HHD'da total lenfosit sayısı 1692 ± 93 mm³, T4 lenfosit sayısı 582 ± 93 mm³, T8 lenfosit sayısı 470 ± 40 mm³, T4 : T8 oranı ise 1.718 idi. Total lenfosit, T8, T4 ve T4:T8 oranı arasında zayıf bir korelasyon vardı. Fakat bu istatistik olarak anlamlı bir değildi ($p > 0.05$).

Hastalarda C3 düzeyi 102 ± 3.5 mg/dl idi (normali: 70 - 176 mg/dl). C4 ise 34.46 ± 1.8 mg/dl idi (normali 16.3 - 44.7). Total IgG düzeyi 1123 ± 28 mg/dl idi (normali 564-1765). C3, C4 ve total IgG ile anti-HBs seviyeleri arasında istatistik olarak anlamlı korelasyon yoktu ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

Sağlıklı kişilerde hepatit B aşısının antikor cevabını yaş, ağırlık, konağın immun yapısı, cinsiyet, sigara içme gibi değişik faktörlerin etkilediği bildirilmiştir^{11,15}. Sağlıklı kişilerde yaş ile hepatit B aşısının antikor cevabı arasında pozitif

Koşar ve ark.

Hemodiyaliz hastalarında rekombinan hepatit B aşısının antikor cevabına etki eden faktörler

korelasyon olduğu ve yaş büyüdükçe aşı cevabının azaldığı, yaş küçüldükçe aşı cevabının arttığı bildirilmiştir¹². Hemodiyaliz hastalarında da hepatit B aşısının antikor cevabı ile yaş arasındaki ilişki incelenmiş ve sağlıklı kişilerde olduğu gibi aşı cevabı ile yaş arasında pozitif korelasyon olduğu ortaya konmuştur^{10,16,17}. Bu çalışmada da hepatit B aşısının antikor cevabı ile yaş arasında istatistiki olarak anlamlı korelasyon vardı.

Sağlıklı kişilerde ve hemodiyaliz hastalarında hepatit B aşısının antikor cevabı ile cinsiyet arasında ilişki olduğu ve kadınlarda erkeklere göre koruyuculuk oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir^{11,13,17}. Burugera ve ark. 80 diyaliz hastasında yaptıkları çalışmada kadınlarda koruyucu antikor oranını %60, erkeklerde ise %53.6 olarak bulmuşlardır ve aradaki farkın istatistiki olarak anlamlı olmadığını belirtmişlerdir. Horak ve ark. 28 kişilik diyaliz hastasında yaptıkları çalışmada 4 doz hepatit B serum aşısı yaptıktan sonra aşı cevabının kadınlarda daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir¹³. Bu çalışmada anti-HBs düzeyleri bakımından kadın ve erkekler arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktu. Ayrıca erkek ve kadınların yaş ortalamaları, ortalama diyaliz süreleri, diyalize girme sıklıkları, kullanılan membranlar açısından da anlamlı bir fark yoktu. Bundan başka aşı cevabına etki edebilecek lenfosit subtipleri, kompleman seviyeleri açısından da kadın ve erkekler arasında anlamlı bir fark yoktu. Bu durumun diğer araştırmacı grupların seçmiş olduğu örneklerle bağlı olabileceği, daha büyük gruplarla ve daha uzun süreli çalışmaların konuya açıklık getirebileceği kanaatindeyiz.

Kronik hemodiyaliz hastalarında hem hepatit B hem de hepatit C virüs (HCV) enfeksiyonlarına ve taşıyıcılığına sık olarak rastlanmaktadır. HCV enfeksiyonları diyaliz hastalarında prognozu etkileyen önemli faktörlerden birisidir. İmmun sistem üzerindeki yaptığı değişiklikler tam olarak ortaya konmamıştır¹¹. Bu yüzden bu çalışmada anti-HCV pozitifliğinin hepatit B aşısının antikor cevabı üzerine etkili olup olmadığını inceledik. Anti-HCV pozitif hastalarda T8 sayısı yüksek ve T4:T8 oranı daha düşük olmasına rağmen hepatit B aşısının antikor cevabı ile anti-HCV arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki bulamadık.

Hemodiyaliz hastalarında kronik üremi başta olmak üzere diyalize girme süresi, kullanılan filtrenin membranı gibi değişik faktörler immün sistemi baskılamaktadır⁶⁻⁸. Üremi nedeni ile immün sistemi baskılanmış diyaliz hastalarında hepatit B

aşısının antikor cevabının da daha düşük olması gerekir. Bu çalışmada kronik hemodiyaliz hastalarını kreatin değerleri 7 mg/dl'nin altında ve üstünde olanlar diye iki gruba ayırdık. Kreatinin seviyesi 7 mg/dl'nin altında alan hastalarımızda 7 mg/dl'nin üstünde olan hastalarımıza göre hepatit B aşısının antikor cevabını daha yüksek olarak bulduk. Bu da kronik üreminin immün sistemi baskıladığının indirek bir göstergesi olarak yorumlanabilir.

Aşılarla karşı immün cevap T ve B hücrelerinin işbirliği ile oluşmaktadır. T4 (T helper,Th) lenfositler özel reseptörleri aracılığıyla antijen sunan hücrelerden antijeni alırlar ve antijene karşı cevap oluşmasında önemli rol oynarlar. Bu hücrelerden birisindeki bozukluk aşı cevabının bozulmasına neden olacaktır¹⁷. Kronik hemodiyaliz hastalarında lenfopeni vardır ve T lenfosit sayısı azalmıştır. T lenfosit fonksiyonlarında da bozukluk bulunmaktadır. Bu yüzden bu hastalarda T lenfositlerin rol aldığı immün fonksiyonlarda yetersizlik bulunmaktadır¹¹. Bu çalışmada hepatit B aşısının antikor cevabı ile lenfositler arasındaki ilişkiyi incelediğimizde T4 lenfosit sayısı ile aşı cevabı arasında zayıf ta olsa anlamlı korelasyon vardı. Daha anlamlı bir korelasyon olması beklenirken zayıf bulunmasında değişik faktörlerin rolü olduğu kanaatindeyiz. Çünkü, periferdeki bu lenfositlerin sayısını çok değişik faktör (enfeksiyonlar, analiz yöntemleri, fiziksel ve psikolojik stres, ilaçlar) etkilemektedir¹⁶. Bu çalışmaya dahil edilen hastalar incelendiğinde hastaların %47'sinde anti-HCV pozitifliği. Yani viral bir enfeksiyon taşıyorlardı. Anti-HCV pozitif ve negatif hastalarda T4, T8 ve T4:T8 oranını karşılaştırdığımızda; anti-HCV pozitif hastalarda T8 sayısını daha yüksek ve T4:T8 oranını ise daha düşük bulduk. Eğer bu durum olmasaydı, çalışmamızda anti-HBs ile lenfositler arasındaki korelasyon daha belirgin olacaktı.

Hastalarımızda C3,C4 ve total IgG normal sınırlar içinde idi. Hemodiyaliz hastalarında hepatit B aşısının antikor cevabı ile C3, C4 ve IgG arasında istatistiki olarak anlamlı bir korelasyon tesbit edemedik. Buda muhtemelen serum C3, C4 ve IgG seviyesinin bir çok faktörden etkilenmesinden kaynaklanmaktadır¹⁸.

KAYNAKLAR

1. Yalçındağ Ş. Aşı Bilgisi. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınevi. İstanbul 1988;37-43.
2. Fujiyama S, Yoshida K, Sato T, Shimada H,

Koşar ve ark.

Hemodiyaliz hastalarında rekombinan hepatit B aşısının antikor cevabına etki eden faktörler

- Deguchi T. Immunogenicity and safety of recombinant yeast derived hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. *Hepatogastroenterology* 1990; 37(suppl 2): 140-4.
3. Burugera M, Rodico JL, Alcazar JM, Oliver A. Effect of different dose levels and vaccination schedules on immune response to a recombinant DNA hepatitis B vaccine in HP. *Vaccine* 1990; (8 suppl):S47-9.
 4. Crosnier J. Hepatitis B in hemodialysis: vaccination against HBs antigen. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 1981;18:231-40.
 5. Horak W, Leither C, Kemenesi W, Pinggera W. Efficacy and tolerance of hepatitis B vaccination on medical personel and hemodialysis patients. *Wien Klin Wochenschr* 1984;17:96(4):161-5.
 6. Tetta C, Fidelio T, Licata C. Production of TNF alpha in patients on hemodifiltration. *Nephron* 1992;61(2): 135-8.
 6. Urena P, Herbelin A, Zingraf J. Permeability of sellulosic and non-sellulosic membranes to endotoxin subunits and cytokine production during in vitro hemodialysis. *Nephron Dial Transplant* 1992; 7(1):16-28.
 7. Hollinger BF. Factors influencing the immune response hepatitis B vaccine, booster dose guidelines and vaccine protocol recommendations. *Am J Med* 1989;87(3):36-40.
 8. Leijts S, Kramer P, Heijtkink RA, Hop WC, Schalm SW. Hepatitis B vaccination of hemodialysis patients. *Eur Clin Invest* 1990;20(5):540-5.
 9. Burugera M, Cramades M, Mayor A, Sanchez JM, Rodes J. Immunogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine in HP. *Postgrad Med J* 1987;(63 suppl 2):155-8.
 10. De-greaff PA, Dankert J, De Zeeuw D, Gips CH, Van-Der-Hem-GK. Immune response to two different hepatitis B vaccines in hemodialysis patients. *Nephron*. 1985; 40(2):155-60.
 11. Laurence J. T-Cell subsets in health, infectious disease, and idiopathic T4 T lymphocytopenia. *Ann Intern Med* 1993;119:55-62.
 12. Raska K, Raskova J, Shea SM, Frankel RM. T cell subsets and cellular immunity in end stage renal disease. *Am J Med* 1983;75(5):734-40.
 13. Senneseal JJ, Nippen P, Verbellen DL, Verbellen DL. Treatment with recombinant human erythropoietin inceases antibody titers after hepatitis B vaccination in dialysis patients. *Kidney Int* 1991;40(1):121-8.
 14. Denis F, Mounier M, Hessel L. Hepatitis B vaccination in elderly. *J Infect Dis* 1984; 149: 1019.
 15. Batorelli P, Brunetto MR, Minutello MA. T lymphocyte response to HCV in different clinical courses of infection. *Gastroenterology* 1993; 104: 580-7.
 16. Plasman GS, Heinz G, Wagner G, Derfler K. T-cell selection ant T-cell receptor variable beta chain usage in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrology* 1992;37(5):252-9.
 17. Kılıçturgay K. Viral Hepatit 92. *Tayf Ofset. İstanbul* 1992:9.
 18. Kılıçturgay K. İmmunolojiye Giriş. *Tayf Ofset. Bursa* 1994:54.

Yazışma adresi : Dr. Ali KOŞAR
Selçuk Üniveristesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları ABD
KONYA