

## HEPATİT B VİRUS AŞISINA GERÇEK YANITSIZ ÇOCUKLARDA ÇÖLYAK HASTALIĞI SEROPOSITİVİTESİ

The Seropositivity of Celiac Disease in Children with True Non-Responsiveness to Hepatitis B Vaccine

Dilek Yılmaz ÇİFTDOĞAN<sup>1</sup>  
Tümer PALA<sup>2</sup>  
Tamer ŞANLIDAĞ<sup>3</sup>  
Vildan ÜRK<sup>4</sup>  
Ayşe ARISOY<sup>5</sup>  
Fikret ÇAVUŞOĞLU<sup>6</sup>  
Beril ÖZBAKKALOĞLU<sup>7</sup>  
Erhan ESER<sup>8</sup>  
Erhun KASIRGA<sup>9</sup>,

1 Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa.

2 Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sağlık Yüksekokulu, Manisa.

3 Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa.

4 Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa.

5 Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul.

6 Manisa 6 No'lu Sağlık Ocağı, Manisa.

7 Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa.

8 Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Manisa.

9 Doçent Doktor, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Gastroenteroloji ve Beslenme Bilim Dalı, Manisa.

### ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Günümüzde Hepatit B virüs enfeksiyonuna bağlı mortaliteyi, kronik karaciğer hastalığını ve beraberinde görülen komplikasyonları önlemek için HBV aşıları rutin olarak kullanılmaktadır. Aşıya yanıtızlık yaş, cinsiyet, kronik hastalıklar ve HLA haplotipleri ile ilişkilidir. Genetik zemin üzerinde ortaya çıkan otoimmün bir hastalık olan çölyak hastalığında (ÇH) HBV aşısına yanıtızlık daha sık görülmektedir. Bu çalışmada rekombinan HBV aşısına gerçek yanıtız çocuklarda AGA ve AEA antikorlar yoluyla ÇH seropozitivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metod:** Bu çalışmada doğumdan sonra standart doz ve miktarda HBV aşılması yapılmış yaşları 8-24 ay arasında olan 153 çocuktan, aşıya gerçek yanıtız 13 çocuk (5 kız, 8 erkek) saptandı. Bu çocuklarda çölyak hastalığı için ELISA yöntemi ile antiigliadin IgA, antiigliadin IgG ve antiendomisyal IgA antikor düzeyleri belirlendi.

**Bulgular:** HBV aşısına tam yanıtız ortalama yaşları  $14.0 \pm 2.67$  ay olan 13 çocuğun antiigliadin ve antiendomisyal antikor sonuçları değerlendirildiğinde, iki çocukta antiigliadin IgA pozitifliği saptanırken üç çocukta antiigliadin IgG pozitif, bir çocukta hem antiigliadin IgA hem de antiigliadin IgG pozitif, bir çocukta antiigliadin IgA ve antiendomisyal antikor ve bir çocukta da sadece antiendomisyal antikor pozitif olarak belirlendi.

**Sonuç:** Çocukluk çağıında HBV aşısına gerçek yanıtız çocuklarda ÇH'a yönelik öncelikle tarama testleri yapılarak hastanın değeriendirilmesi ve serolojik pozitiflik saptananlarda histopatolojik inceleme ile kesin ÇH tanısı konulmasının gerekli olduğu düşünölmüşür.

**Anahtar Sözcükler:** Hepatit B aşısı, Çölyak hastalığı, Çocuk

## SUMMARY

**Objective:** Universal hepatitis B virus (HBV) vaccination has been carried out in most countries to prevent mortality, chronic liver disease and complications of hepatitis B virus infections during last decade. Unresponsiveness to HBV vaccine is related with age, sex, chronic diseases and HLA haplotypes. Unresponsiveness to HBV vaccine is seen more often in the celiac disease. It's reported that HLA types which are related with HBV vaccine unresponsiveness like HLA-DRB1 are also related with celiac disease. The aim of this study was to determine the cases of celiac disease in children unresponsive to HBV vaccine.

**Material and Method:** In this study 153 children at the age of 8 to 24 months whose HBV vaccines were done at a standard dosage were included. 13 of the children (5 girls, 8 boys) were true non-responders to vaccine. Antigliadin IgA, antigliadin IgG and antiendomysial IgA antibody levels were detected by ELISA method for celiac disease in true non-responders children.

**Results:** When antigliadin and antiendomysial antibody results of 13 children at the age of  $14.0 \pm 2.67$  months were evaluated; two children were antigliadin IgA positive, three children were positive for antigliadin IgG, one children was positive for both antigliadin IgA and IgG, one children for antigliadin IgA and antiendomysial antibody and one children for only antiendomysial antibody.

**Conclusion:** It's concluded that screening tests might be used in children who are true non-responders to HBV vaccine. If the serology is positive, histopathological investigation must be done to diagnose celiac disease.

**Key Words:** Hepatitis B Vaccines, Celiac Disease, Child

**Geliş tarihi:**

**Kabul tarihi:** 20.02.2007

## GİRİŞ

En sık rastlanan kronik karaciğer hastalığı nedenlerinden olan hepatit B virus (HBV) enfeksiyonu ülkemiz ve dünyanın en önemli sağlık sorunlarından birisidir. HBV enfeksiyonu erişkinlerin % 2-20'sinde ve yenidoğanların % 95'inde kronikleşir (1). Günümüzde HBV enfeksiyonundan korunmak için rekombinan DNA teknolojisiyle üretilen aşılar kullanılmaktadır (2). Aşılanan kişilerin % 4-10'unda aşıya yanıtsızlık olarak kabul edilen koruyucu anti-HBs düzeyleri (>10 mIU/ml) elde edilememektedir (3, 4). Bu kişilerin büyük bölümünde 4. dozda HBV aşısıyla koruyucu antikor düzeyleri sağlanır. Dördüncü doz aşından sonra yeterli antikor düzeyinin elde edilememesi durumu aşıya gerçek yanıtsızlık olarak tanımlanır ve aşılanmış kişilerin yaklaşık olarak % 0.4'ünde görülür (3, 5). Aşıya yanıtsızlığın yaş, cinsiyet, kronik hastalıklar ve doku tipleriyle ilişkili olduğu bilinmektedir (5-8). Bazı erişkin yaş grubu çalışmalarında çölyak hastalığı (ÇH) olgularında HBV aşısına yanıtsızlığın daha sık görüldüğü vurgulanmıştır (13). ÇH genetik zemin üzerinde ortaya çıkan ve ince barsak mukozasında yangısal hasara neden olan kalıcı gluten intoleransı ile karakterize otoimmün bir hastalıktır (9). ÇH tanısında anti-gliadin (AGA) ve anti-endomysial (AEA) antikor pozitifliği çok değerlidir (9-12).

Bu çalışmanın amacı rekombinan HBV aşısına gerçek yanıtsız çocuklarda AGA ve AEA antikorları yoluyla ÇH seropositivitesinin araştırılmasıdır.

## MATERYAL VE METOD

### Çalışma Bireyleri

Bu çalışmaya 2002 yılı Aralık ayında Manisa ilinde biri kentsel diğeri kırsal iki sağlık ocağı bölgesinde HBV standart aşılama şemasını (Euvax B, Berk ile 0., 1. ve 6. aylarda) bitirmiş yaşları 8-24 ay arasında olan 153 çocuk alındı. Son aşından en az bir ay sonra alınan kan örneğinde anti-HBs <10 IU/L olan toplam 15 çocuğa ek doz HBV aşısı uygulandı. Ek doz aşı

uygulanmasından bir ay sonrasında bakılan anti-HBs <10 IU/L olan 13 çocuk (5 kız, 8 erkek) HBV aşısına gerçek yanıtsız olarak tanımlanıp, ÇH yönünden serolojik tarama testleri ile değerlendirildiler. Düşük doğum ağırlığı olanlar, prematürite ve ek hastalık öyküsü olanlar çalışmaya alınmadı. HBV aşısına tam yanıtsız çocukların yaş ortalaması  $14.0 \pm 2.67$  ay (11.0-18.0 ay) idi. Çocukların tümünde herhangi bir yakınma olmayıp, fizik muayene bulguları normaldi. Ailelere konu ile ilgili bilgi verilerek, kan örneklerinin alınması için izinleri alındı. Çocukların demografik özellikleri ve serolojik tarama testlerine ait sonuçlar Tablo I'de verildi.

**Tablo I.** Olguların demografik özellikleri ve Çölyak hastalığına yönelik serolojik inceleme sonuçları.

| Hasta No | Cinsi yet | Yaş (ay) | AGA<br>IgG - IgA |     | AEA<br>IgA |
|----------|-----------|----------|------------------|-----|------------|
| 1        | K         | 14       | (-)              | (+) | (-)        |
| 2        | E         | 11       | (+)              | (-) | (-)        |
| 3        | E         | 17       | (-)              | (+) | (+)        |
| 4        | E         | 17       | (-)              | (-) | (-)        |
| 5        | E         | 11       | (-)              | (-) | (-)        |
| 6        | E         | 15       | (-)              | (-) | (-)        |
| 7        | E         | 12       | (-)              | (-) | (-)        |
| 8        | K         | 13       | (+)              | (-) | (-)        |
| 9        | K         | 12       | (+)              | (-) | (-)        |
| 10       | E         | 18       | (-)              | (-) | (+)        |
| 11       | E         | 18       | (-)              | (+) | (-)        |
| 12       | K         | 12       | (-)              | (-) | (-)        |
| 13       | K         | 12       | (+)              | (+) | (-)        |

### Serolojik İnceleme

Tüm çocukların HBV göstergeleri (HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, HBeAg ve anti-HBe) standart ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) (Dia-Sorin, Italy) yöntemi ile belirlendi. Anti-HBs titresinin 10 IU/L altında olması aşıya yanıtsızlık olarak değerlendirildi. Aşıya yanıtsız 13 çocukta ELISA yöntemi ile anti-gliadin IgA, anti-gliadin IgG ve anti-endomysial IgA antikor düzeyleri mikrolisa (RADIM, Italy) yöntemi ile belirlendi.

## BULGULAR

HBV aşısına gerçek yanıtsız 13 çocuğun antiigliadin ve antiendomisyal antikor sonuçları değerlendirildiğinde, iki çocukta antiigliadin IgA pozitifliği saptanırken üç çocukta antiigliadin IgG pozitif, bir çocukta hem antiigliadin IgA hem de antiigliadin IgG pozitif, bir çocukta antiigliadin IgA ve antiendomisyal antikor ve bir çocukta da sadece antiendomisyal antikor pozitif olarak bulundu (Tablo I).

## TARTIŞMA

Günümüzde HBV'ye karşı aşılama hastalığa karşı etkin bir koruma sağlamaktadır. Aşılama ile sağlanan koruma HBV yüzey antijenine (HBsAg) karşı üretilen CD4<sup>+</sup> T hücrelerine bağlı antikor üretimi ile sağlanmaktadır (16, 17). Rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen standart üç doz aşı uygulaması ile koruyucu antikor düzeyi sağlıklı erişkinlerin % 90'ında, sağlıklı çocukların ise % 95'inden fazlasında sağlanmaktadır (18). Bununla beraber aşılanmış bireylerin % 4-10'u 10 mIU/mL'nin üzerinde koruyucu antikor üretmemektedir. Aşıya yanıtı olmayan olgulara uygulanan dördüncü doz ek aşıdan sonra anti-HBs düzeyinin hala 10 mIU/L'nin altında olması aşıya tam yanıtsızlık olarak tanımlanır (3-5). Bu çalışmada anti-HBs düzeyi 10 mIU/mL ve üzeri yeterli olarak kabul edildiğinde HBV aşılama sonrasında koruyucu antikor varlığının %90 gibi bir düzeyde olduğu saptanmıştır. Anti-HBs düzeyi 10 mIU/mL'nin altındaki antikor düzeyi yetersiz yanıt olarak kabul edildiğinde bu çalışmada HBV aşılmasına yanıtsızlık % 10 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Türkiye ve diğer bazı ülkelerdeki serokonversiyon düzeyi ile benzerdir (19).

HBV aşısına yanıtsızlığı belirleyen faktörler arasında erkek cinsiyet, ileri yaş, obezite, sigara kullanımı, immunsupresyon ve kronik böbrek yetmezliği gibi bazı kronik hastalıklar vardır (5). En büyüğü 18 aylık olan 13 olgunun hiçbirinde kronik hastalığı ya da immün yetmezliği düşündürecek herhangi bir yakınma ve klinik bulgu yoktu.

ÇH proksimal ince barsağı tutan ve glutene karşı kalıcı intolerans ile karakterize bir enteropati olup, patogeneğinde çevresel, genetik ve immunolojik faktörler rol oynamaktadır. Hastalık kronik ishal, malabsorbsiyon, distansiyon gibi tipik ya da boy kısalığı, puberte gecikmesi, tekrarlayan karın ağrıları, steatore ve ödem gibi atipik bulgularla karşımıza çıkabilir (20, 21). Histopatolojik olarak karakteristik bulguların olmasına karşın klinik semptomların olmadığı sessiz ÇH ile genetik yatkınlığı olmasına karşın histopatolojik ve klinik bulguların olmadığı latent ÇH, tipik ÇH'a göre daha geç tanı alabilir (22). ÇH'nın tanısında kullanılan serolojik testler, AGA, anti-EMA ve doku transglutaminaz (anti-tTG) antikorlarıdır. Serolojik testler gluten enteropatisinin tanısında, taramada ve glutensiz diyetle olan uyumun ve yanıtın izleminde kullanılmaktadır (9). ÇH'nın serolojik tanısında kullanılan anti-EMA IgA'nın sensitivite oranı % 90 ve spesifite oranı % 95'tir. AGA IgA'nın sensitivite ve spesifite oranı ise % 80 olarak belirtilmektedir (23, 24). Buna göre AGA ve veya anti-EMA pozitif saptanan 8 olguda da sessiz ya da latent ÇH olabilir. Bu olgularda ÇH'ını düşündürecek herhangi bir yakınma ve bulgu olmadığından ve bu nedenle ailelerinden onay alınamadığından kesin tanı için planlanan ince bağırsak biyopsileri yapılamadı.

HBV'ye karşı aşılama yanıtı normal immün yanıttaki; antijen alımında, işlenmesinde (processing) ve sunumundaki defektler, T hücre repertuarındaki defektler yada B hücreleri tarafından anti-HBs üretimi için gerekli olan T hücre yardımının olmaması gibi pek çok patolojiden kaynaklanabilir. HBV aşılama karşı yanıtsızlığın major histokompatibilite kompleksi (MHC) içindeki genler tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir (25). Önceki çalışmalarda HLA-DRB1 ile HBV aşısına yanıt verme durumu arasında güçlü bir ilişki olduğu belirtilmiştir (3, 26). Thomas ve ark.'larının çalışmasında HBV aşısına karşı oluşturulan immün yanıt üzerinde HLA DRB1 allellerinin önemli etkilerinin olduğu gösterilmiştir (27). HLA-DRB1\*13 allellerinin immün yanıtın

ortaya çıkmasında olumlu etkisinin olduğu saptanmıştır. HBsAg'e yanıtsızlık ise DRB1\*3 ile ve DRB1\*14 ile ilişkili bulunmuştur (28). HBV aşısına yanıtsız olanlarda immünizasyon için kaçınılmaz olan bellek B hücre oluşumu ve B hücre farklılaşması için gerekli Th2 cevabın indüklenmesinde bir defekt olabilir (25). Th1 cevabı ile düzenlenen hücre bazlı enflamatuvar reaksiyonu regüle etmek için gereken benzer Th2 yanıtının yokluğu ÇH gelişiminde de gözlenmektedir. Bu Th2 cevap yokluğunun bireyin HLA genotipine bağlı olduğu düşünülmektedir (13). HLA-DRB1 alleleri ile ÇH arasında ilişki olduğu ve özellikle HLA-DRB1\*0301'in ÇH'ı için risk faktörü olduğu belirtilmektedir (10). Yapılan bir

çalışmada klinik ve patolojik olarak ÇH tanısı konulan 19 erişkin hastanın 13 ünde (% 68) HBV aşısına karşı cevap tespit edilememiş ve ÇH, HBV aşısına yanıtsızlığın HLA genotipi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (10).

Sonuç olarak; HBV aşısına tam yanıtsız çocuklarda asemptomatik bile olsalar ÇH yönünden öncelikle tarama testleri yapılarak hastanın değerlendirilmesi ve serolojik pozitiflik saptananlarda ince barsak biyopsisi yapılarak kesin ÇH tanısı konulmasının uygun olacağı olduğu düşünülmüştür. Ayrıca HBV aşısına tam yanıtsızlık ile ÇH ve doku tipleri arasındaki ilişkiyi göstermek için daha geniş olgu serileri ile yapılacak çalışmalara gereksinim vardır.

## KAYNAKLAR

1. Lebray P, Pichard AV, Michel ML et al. Presented at The EASL 2002 International Consensus Conference on hepatitis B, Geneva, September 12 to 14, 2002.
2. Couillin I, Pol S, Mancini M at al. Specific vaccine therapy in chronic hepatitis B: induction of T cell proliferative responses specific for envelope antigens. *J Infect Dis*. 1999; 180: 15-26.
3. De Silvestri A, Pasi A, Martinetti M at al. Family study of non-responsiveness to hepatitis B vaccine confirms the importance of HLA class III C4A locus. *Genes Immun*. 2001; 2: 367-72.
4. Schuenke KW, Cook RG, Rich RR. Binding specificity of a class II-restricted hepatitis B epitope by DR molecules from responder and nonresponder vaccine recipients. *Hum Immunol*. 1998; 59: 783-93.
5. Yu AS, Cheung RC, Keefe EB. Hepatitis B vaccines. *Clin Liver Dis*. 2004; 8 (2): 283-300.
6. Martinetti M, De Silvestri A, Belloni C at al. Humoral response to recombinant hepatitis B virus vaccine at birth: role of HLA and beyond. *Clin Immunol*. 2000; 97: 234-40.
7. Poland GA. Hepatitis B immunization in health care workers. Dealing with vaccine nonresponse. *Am J Prev Med*. 1998; 15: 73-7.
8. Reid KC, Grizzard TA, Poland GA. Adult immunizations: recommendations for practice. *Mayo Clin Proc*. 1999; 74: 377-84.
9. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001; 120: 636-51.
10. Sollid LM. Molecular basis of celiac disease. *Annu Rev Immunol*. 2000; 18: 53-81.
11. Jennings J, Howdle PD. New developments in celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2003; 19: 118-29
12. Farrell RJ, Kelly CP. Celiac Sprue *N Engl J Med* 2002; 346: 180-7.
13. Noh KW, Poland GA, Murray JA. Hepatitis B vaccine nonresponse and celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2003; 98: 2289-92.
14. Zang GQ, Xi M, Feng ML, Ji Y, Yu YS, Tang ZH. Curative effects of interferon-alpha and HLA-DRB1 -DQA1 and -DQB1 alleles in chronic viral hepatitis B. *World J Gastroenterol*. 2004; 10: 2116-8.
15. Hohler T, Gerken G, Notghi A. et al. HLA-DRB1\*1301 and \*1302 protect against chronic hepatitis B. *J Hepatol* 1997;26:503-7.
16. Ada G. Vaccines and vaccination. *N Engl J Med*. 2001; 345: 1042-53.
17. Sell S. Immunology, immunopathology and immunity. Washington, DC: ASM Press, 2001.
18. Kanra G, Kara A. Hepatit B Aşıları. *Katkı Pediatri Dergisi* 1998; 19: 205-18.
19. Serter D. Hepatit virüsleri ve viral hepatitler. *Nobel Tıp Kitabevi*, 1997: 191-2.

20. Catassi C, Fabiani E. The spectrum of coeliac disease in children. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1997; 11: 485-507.
21. Cellier C, Flobert C, Cormier C, Roux C, Schmitz J. Severe osteopenia in symptom-free adults with a childhood diagnosis of coeliac disease. *Lancet* 2000; 355: 806.
22. Careaga MG, Kerner JA. Malabsorptive disorders. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*. (17<sup>th</sup> ed). Philadelphia: WB Saunders, 2004: 1264-6.
23. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BM, Meijer JW, Mulder CJ. Sensitivity antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 888-94.
24. Dähele A, Kingstone K, Bode J, Anderson D. Anti-endomysial antibody negative celiac disease. *Dig Dis Sci* 2002; 40: 214-21.
25. Schuenke KW, Cook RG, Rich RR. Binding specificity of a class II-restricted hepatitis B epitope by DR molecules from responder and nonresponder vaccine recipients. *Hum Immunol*. 1998; 59:783-93.
26. Li M, Li R, Huang S. et al. The relationship between nonresponse to hepatitis B vaccine and HLA genotype/haplotype. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 2002; 36:180-3.
27. Hohler T, Gerken G, Notghi A. et al. MHC class II genes influence the susceptibility to chronic active hepatitis C. *J Hepatol*. 1997;27:259-64.
28. Hohler T, Meyer CU, Notghi A. et al. The influence of major histocompatibility complex class II genes and T-cell Vbeta repertoire on response to immunization with HBsAg. *Hum Immunol*. 1998; 59: 212-8.

**Yazışma Adresi:**

Dr. Dilek YILMAZ ÇİFTDOĞAN  
Celal Bayar Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı  
MANİSA