

HEPATİT D VİRUSU - DELTA VİRUSU

Y Doç Dr Selim BADUR

İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul

Günümüzde Hepatit D virusu (HDV) veya Delta virusu olarak isimlendirilen hepatit etkenine ait ilk bulgular, 1977 yılında İtalya'da Rizzetto ve ark (17) tarafından bildirilmiştir. Araştırmacılar kronik karaciğer hastalarında hepatit B virusu (HBV) antijenlerinin karaciğer hücreleri ve serumdaki dağılımını inceleyen çalışmaları sırasında, kor antijeninin nükleer hücre içi fluoresans görünümünü andıran; ancak elektron mikroskopunda kor partiküllerinin bilinen 27 nm'lik nükleokapsit şekline farklı yapılar saptanmıştır. Bu görüntünün sadece HBsAg pozitif hastaların karaciğer hücrelerinde gözlenmiş olması, başlangıçta HBV nükleokapsitinin o güne dek bilinmeyen yeni bir antijenik variantının ortaya çıkartılmış olduğunu düşündürmüştür. Nitekim konjüгат olarak kor antikoları içeren serumları kullanıldığı bu konudaki ilk yayınlarda, belirlenen yeni antijenin, kor antijeninin değişime uğramış şekli veya ön maddesi olarak değerlendirildiği görülmektedir. Bu çalışmalarda, yeni antijenin sadece HBsAg varlığında belirlenebildiği; antijenin, hepatositlerde intranükleer yerleşime sahip olduğu ve serumda spesifik antikor sentezine yol açtığı bildirilmiştir (21). Ancak kısa bir süre sonra, 1980'li yılların başında, İtalyan araştırmacıların, Fransız ve ABD'den ekipler ile yaptıkları ortak çalışmalar sonucunda, söz konusu antijenin, HBV'den ayrı yeni bir virusa ait olduğu gösterilmiş ve bu yeni hepatit etkenine Hepatit D virusu (HDV) veya Delta virusu adı verilmiştir (17, 21). Bugün, Delta virusunun, HBsAg taşıyıcılarında ağır hastalık tablosuna yol açan; akut veya kronik hepatitiden sorumlu; mutlak patojen özelliğe sahip bir virus olduğu anlaşılmıştır (4).

Şempanzelerde yapılan deneysel infeksiyon çalışmaları, Delta virusunun replikasyonu için konakda B tipi viral hepatitin varlığını gerektiren, defektif eksik bir virus olduğunu göstermiştir. Tüm diğer viruslar gibi, yapıtaşlarının sentezinde konak hücre metabolizmasından yararlanmasının yanı sıra, Delta virusu kılıfını oluşturacak bir diğer virusun HBV'nun varlığına gerek gösterir (16). HDV bilinen tüm hayvan RNA viruslarından daha küçük bir RNA genomuna sahiptir; bu durum, virusun replikasyonunu tek başına gerçekleştirememesinin nedenini oluşturur. HBV'na zorunlu bağımlılığı ile ilgili olarak serumda belirlenen Delta virusu partiküllerinin, iç kısımda delta antijeni ve genomu; dışında ise HBsAg kılıfından ibaret, hibrid partiküller olduğu anlaşılmıştır (21). HBV'u ile söz konusu yakın ilişkisi nedeniyle delta virus infeksiyonu, HB antijenemisi ile paralellik gösterir ve delta hepatitinin seyri, konakdaki HBV infeksiyonunun tipine ve gelişimine bağlı olarak farklılıklar gösterir.

Delta antijeni içeren karaciğer hücrelerinin elektron ve immun elektron mikroskobu ile incelenmeleri, etkenin ultrastrüktürel morfolojisini ya da etken virusa özgün partikülleri aydınlatmaya yeterli olmamıştır (6). Delta virusunu içeren nükleuslarda, genellikle, çapları 20-30 nm'lik, yoğun

yuvarlak yapılardan ibaret, nonspesifik kümelenmeler görülür. Deneysel olarak infekte edilen şempanzelerde, NANBH'lerinde gözlenene benzer biçimde, sitoplazmik tübüler yapılar da gösterilmiştir. Buna karşılık, bugün için bilinen delta virusunun yapısını, infekte şempanze ve insanların kanlarında yapılan incelemelerde belirlemek mümkün olmuştur (18). Nitekim, infeksiyonun akut döneminde elde edilen serum örneklerine densite gradient santrifügasyonu uygulaması sonunda, HBV'nun çeşitli partikülleri arasında ilave bir pikin varlığı gözlenmiştir. CsCl'de 1.25 g/cm³'lük yoğunluğa sahip olan bu partiküller Delta virusuna aittir (3). Ortalama 36 nm çapındaki partikülün iç kısmında küçük bir RNA molekülü ve Delta antijeni yer almakta olup, dış kısımda HBsAg'ninden ibaret lipoprotein yapısında bir kılıf bulunur (16). Serumdan ultrasantrifügasyon işlemi ile elde edilen çökeltide Delta antijeninin direkt olarak gösterilememesi; antijenik özelliğin ancak deterjanlar ile muameleden sonra ortaya çıkartılması; delta antijeninin partikülün iç kısmında yer aldığı ve HBsAg kılıfı ile maskelendiğinin bir diğer kanıtıdır. Delta virus partiküllerinde, RNA'nın iç kısımda örtülü olarak bulunması, nükleik asidi, serumdaki RNA'az enzimlerinin etkisinden korumaktadır; bu durum, partiküllerin yapısı bozulmadıkça, delta infeksiyonunun uzun süre varlığını korumasına ve serumda RNA'nın uzun süre kalıcılığına yol açmaktadır.

Deterjanlar ile partiküllerin muamelesi sonucunda elde edilen serbest Delta-RNA'sı 500.000 molekül ağırlığında olup, küçük RNA viruslarının nükleik asitinin dörtte biri kadardır. Jel elektroforezi ile RNA molekülünün 1678 nükleotidi bulunduğu ve çember şeklinde tek zincirden ibaret olduğu anlaşılmıştır; özellikle bitki viruslarında rastlanan bu yapısal özelliğe, insandaki hastalık etkenleri arasında ilk kez Delta virusunun genomunda rastlanmamıştır (10). Virus partikülü revers transkriptaz içermez ve bu nedenle negatif strand virus özelliğindedir; genomun kömplemanter ipciği, mRNA rolü oynar (4,22). Delta-RNA'sının, HBV'nun bir bölümü ile homoloji göstermediği p³² işaretli HBV-DNA propları ile yapılan hibridizasyon çalışmaları ile kanıtlanmıştır; delta RNA'sının revers transkripsiyonu ile elde edilen DNA propları, sadece delta-RNA'sının belirli bölgeleri ile birleşirler. Ayrıca, yapılan elektroforez çalışmaları, delta-RNA'sının, konak ribozom RNA'sından da farklı olduğunu göstermiştir (16).

Infekte kişilerden sağlanan ve fluoressein ya da peroksidaz ile işaretlenmiş immunglobulinlerden yararlanarak, direkt immunfluoresans yöntemi uyarınca, karaciğerde delta antijenini göstermek mümkündür. Antijen hepatositlerin nükleusunda, granüler, globüler ya da yaygın homojen şekilde boyanır; sitoplazmada yer alması ise daha enderdir (21). Serumda antijenin gösterilmesi için, son yıllarda RIA ve ELISA tekniğinden yararlanılan çalışmalar yapılmıştır; deneyin ilk

aşamasında, serum örneği deterjanlar ile muamele edilerek, HBsAg'ninden oluşan lipoprotein kılıf parçalanır ve iç kısımdaki Delta antijeni açığa çıkarılır (5). Ayrıca, rekombinant DNA tekniği ile hazırlanmış komplemanter DNA molekülleri kullanarak, moleküler hibridizasyon yöntemi ile serumda direkt virus RNA'sını göstermek mümkündür(2).

Anti-Delta antikorlarının RIA veya ELISA ile aranmasında, antijen olarak infekte karaciğerden, türe veya guanidin ile ekstrah edilen delta antijeni kullanılmıştır; son çalışmalarda akut faz serumlarından elde edilen antijenin daha uygun sonuçlar verdiği bildirilmektedir. Elde edilen antijen 68.000 molekül ağırlığında, ısıya ve çeşitli kimyasal maddelere dirençli bir proteindir (20). Antikor aramada kompetisyon esasına dayanan klasik ELISA yöntemi ile total Anti-Delta antikorlarını saptamak mümkündür; ayrıca anti-IgM kaplı katı fazlardan yararlanarak, IgM sınıfı anti-Delta antikorlarını da belirlemek olasıdır (1).

Delta infeksiyonların akut veya kronik seyretmesine bağlı olarak, farklı serolojik göstergelerden yararlanılır. Akut delta infeksiyonlarında öncelikle karaciğerde delta antijeni belirir; hemen sonra ve sadece kısıtlı bir süre için kanda antijen mevcuttur. Ancak antijeneminin, klinik belirtilerden hemen önce meydana gelmesi ve süratle kaybolması antijen aramanın tanıdaki değerini azaltmaktadır. Daha sonra oluşacak spesifik antikor sentezi ise, antijen uyarısı ile orantılıdır; eğer antijenemi çok yetersiz düzeyde seyrederek ise antikor yanıtı gelişmez. Eğer antijenemi, birçok akut delta infeksiyonunda görüldüğü şekliyle kısa süreli olur ise, sadece IgM'lerden oluşan zayıf bir antikor yanıtı ortaya çıkar. Eğer antijenemi uzun sürer ise, önce IgM, sonra IgG'lerden meydana gelen antikor yanıtı gözlenir. Kronik delta infeksiyonlarında ise antijen karaciğerde uzun süre vardır. Serumdaki antijen düzeyi başlangıçta çok yüksektir; serokonversiyonu takiben, düşük oranda antijenemi devam eder. Anti-Delta antikorları, yüksek titrede ve aktif infeksiyon süresince vardır (16, 21).

Çok sayıda örnekte yapılan tarama çalışmaları, yeni ya da geçirilmiş B tipi infeksiyonu göstergesi bulunmayanlarda, Delta antijen ya da antikoruna rastlanmadığını kanıtlamıştır. Bu durum, Delta infeksiyonunun HBV infeksiyonuna bağımlı olmasından kaynaklanmaktadır. Daha önce HBV ile temas etmemiş şempanzelerle, karaciğerinde delta antijeni saptanan kişilerden alınan ve HBsAg ile anti-Delta antikorları içeren serumların verilmesinin, Delta infeksiyonuna yol açtığı gösterilmiştir: bu tip serumların inoküle edildiği hayvanlarda HB ve Delta infeksiyonu birlikte oluşmaktadır. Buna karşılık, Anti-HBs antikorlarına sahip, HBV'na bağışık hayvanların Delta infeksiyonuna dirençli oldukları gösterilmiştir. Kronik HBsAg taşıyıcısı olan şempanzelerin inokülasyonunda ise, Delta hepatitinin inkübasyon süresinin kıaldığı; delta antijeni sentezinin yoğunlaştığı; buna karşılık HBV replikasyonunun azaldığı gözlenmiştir. Tüm bu bulgular Delta infeksiyonunun gelişmesi için HBV varlığının zorunlu olduğunu göstermektedir. Delta virusu, HBV infeksiyonuna duyarlı tüm memeli hayvanlarda, infeksiyon oluşturur. Ayrıca, HBV'u dışındaki diğer hepadnavirüsler da, delta infeksiyonunun meydana gelmesinde, yardımcı virus rolünü oynayabilirler: Örneğin "woodchuck" hepatit virusu; bu hayvan-

larda görülen delta infeksiyonlarında etkenin memelilerde görülen Delta virusunun aynısı olduğu; 35-37nm'lik partiküllerden ibaret olup, "woodchuck" hepatit virusu yüzey antijeni ile kaplı olduğu gösterilmiştir (14).

İnsanda görülen Delta infeksiyonları, aslında HBV ile HDV'unun birlikte rol oynadıkları koinfeksiyonlardır. Ancak B tipi hepatitin akut ya da kronik olmasına bağlı olarak, söz konusu koinfeksiyonda klinik ve biyolojik seyri farklılık göstermektedir.

1- Her iki etkenin beraberce neden oldukları "çifte primo-infeksiyonda", öncelikle serumda HBsAg, karaciğerde ise HBcAg'nin belirlediği B tipi hepatit tablosu ortaya çıkmaktadır. Bir-iki hafta sonra, karaciğerde sitoliz tablosu ile karakterize Delta virusu replikasyonu belirir, Karaciğerde delta antijeninin belirmesi ise bu bölgedeki HBcAg miktarının azalması ile birlikte seyrederek. Bu tip infeksiyonlarda delta antijenemisi ender olarak ve kısa süreli görülür. Bunu takiben serokonversiyon meydana gelir ve infeksiyonun tek göstergesi olan anti-Delta antikorları oluşur (19). Anti-HBc antikorlarından farklı olarak, anti-Delta antikorları, akut infeksiyondan sonra varlıklarını uzun süre korumazlar. Ancak belirtilen bu tablo, kişinin bağışık sistemine ve organizmaya giren her iki virusun infeksiyözitesine bağlı olarak farklılıklar gösterir. Bu tip olgularda, Delta antijenemisinin saptanması çok enderdir ve serolojik tanıda infeksiyonun tek göstergesi anti-Delta antikorlarının belirmesidir (21).

Ancak antijeneminin zayıf olması nedeniyle, yeterli uyarı gerçekleşmeyebilir: sonuçta düşük titrede ve özellikle IgM'lerden oluşan antikor cevabı görülür: birçok olguda IgG'lere hiç rastlanmaz. Ayrıca bu tip olgularda, Delta infeksiyonunun serolojik hiçbir gösterge olmaksızın seyredileceği ve sadece karaciğerde antijenin belirlenebileceği unutulmamalıdır.

Delta virusunun, HBV replikasyonuna süpressör etkisi bulunduğundan, akut koinfeksiyona, yakalananların çoğunda önce HBV'nun daha sonra buna zorunlu bağımlılığı olan HDV'nun ortadan kaybolduğu görülür. Delta virusunun replikasyonu HBsAg antijenemisi ile kısıtlı olduğundan, bu tip koinfeksiyonlarda kronik delta infeksiyonuna sık rastlanmaz. Ancak, damar içi uyuşturucu kullananlarda olduğu şekliyle, parenteral yoldan yoğun ve sürekli HBV inokülasyonuna maruz kalanlarda, Delta replikasyonu uzun sürer ve klinik tablo ağırlaşarak, fulminant hepatit ile sonlanabilir. Klinik olarak her iki virus ile birlikte gelişen, "Çifte infeksiyon" akut B tipi viral hepatitden ayırt edilemez; ancak hastalık tablosu daha ağır seyretmektedir, olguların dörtte birinde, transaminazların iki hafta ara ile iki kez artış gösterdikleri saptanmıştır.

2- HBV ile daha önceden infekte olmuş kronik HBV taşıyıcılarında, Delta virusu süperinfeksiyonu çok daha ciddi sonuçlara neden olur (7,13). HBsAg taşıyıcılarında, zaten mevcut olan HBV viremi nedeniyle, delta virus replikasyonu fazla miktarda ve süratle gerçekleşir; önce karaciğerde yoğun delta antijeni sentezi, sonra serumda delta virus antijenemisi meydana gelir; bu esnada HBV antijenlerinin azaldıkları hatta tamamen kayboldukları gözlenir. Taşıyıcılarda, Delta süperinfeksiyonu, karaciğerin önemli oranda harabiyetine ve fulminant hepatite yol açar.

Ancak süperinfeksiyonlarında gözlenen en önemli bulgu, kronik delta infeksiyonuna sık rastlanılmasıdır (8). Süperinfeksiyona maruz kalan taşıyıcıların % 80'inde kronik delta infeksiyonu meydana gelir; bunlarında % 70'inde kronik aktif hepatit; % 20'sinde siroz saptanırken, ancak küçük bölümünde kronik pesistant hepatit ortaya çıkar. Kronik delta olgularında karaciğerde delta antijeni uzun süre saptanabilir; buna karşılık antijenemi kısa sürelidir ve serumda IgG sınıfı antikorlar yüksek titrede bulunur (21). Delta süperinfeksiyonunun ne şekilde gelişme göstereceği, var olan B tipi hepatitin durumu ile ilgilidir, kişide HBeAg var ise, akut tablo ağır seyretmekte; anti-HBe varlığında ise, kronikleşmeye daha sık rastlanmaktadır.

Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda, B tipi akut veya kronik viral hepatit olgularında rastlanılan anti-delta antikorları sıklığı tablo 9'da gösterilmiştir.

Ülkemizde ise, İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılan bir incelemede, aynı fakültenin İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji biriminde AVH tanısı konulan olguların % 11'inde, KVH tanısı konularının ise % 20'sine Anti-HDV antikorları saptanmıştır.

HDV infeksiyonlarına tüm dünyada rastlanmaktadır. Ancak çeşitli ülkelerde yapılan anti-HDV antikorları taramaları, infeksiyonun oldukça heterojen bir biçimde dağılım gösterdiğini belirlemiştir. Güney Avrupa ülkeleri, Orta Afrika ve Orta Doğu ülkeleri, Delta infeksiyonunun endemik ola-

rak bulunduğu bölgelerdir (15). Özellikle Kuzey Avrupa ülkeleri başta olmak üzere, bazı ülkelerde, HDV infeksiyonuna, damar için uyuşturucu kullanma alışkanlığı olanlarda toplumun diğer kesimlerine oranla çok daha sık rastlanmaktadır (9, 11, 12). Örneğin ABD'de damar içi uyuşturucu kullananların % 27'sinde, İsviçre'de % 33'ünde, İngiltere'de % 42'sinde, Danimarka'da % 44'ünde, İsveç'te ise % 72'sinde anti-Delta antikorları saptanmıştır (21). Ülkemizde ise İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalımızda inceleme olanağı bulduğumuz damar içi uyuşturucu kullanma alışkanlığı olanların % 37.1'inde Anti-HDV antikorları belirlenmiştir. 1977 yılında Napoli'de ve 1981 yılında Venezuella'da daha sonra Kolombiya ve Brezilya'da hepatit Delta epidemileri saptanmıştır (21). Buna karşılık, HBV taşıyıcılık oranının yüksek olduğu uzak doğu Asya Ülkelerinde beklenen aksine HDV infeksiyonları yaygın değildir.

HDV'nun bulaşma yolları, HBV'na benzer biçimde kan, kan ürünleri ve cinsel ilişkidir. Yakın temas sonucu aile içi horizontal bulaşmaya ait çeşitli bulgular mevcuttur; ancak HBV infeksiyonlarındakinin aksine, anneden çocuğa vertikal geçiş olasılığı azdır.

Günümüzde HDV infeksiyonlarından korunmada en etkili yolun, replikasyonu için varlığına gerek gösterdiği HBV'u infeksiyonlarından korunma (örneğin HBV aşısı) olduğu kabul edilmektedir(21).

Tablo 9. AHV ve KHV olgularında anti-HDV sıklığı.

Ülke	AVH'lerde (%)	KVH'lerde (%)
İtalya	<10	25
İsveç	9,6	23,5
Küveyt	13	66
Kanada	0	13,6
Yunanistan	---	30,8
Senegal	---	21
Kenya	---	13

KAYNAKLAR

- 1- Aragona M, Macagnos, Caredda F, Crivelli O, Lavarini C, Maran E, Farci P, Purcell R H, Rizzetto M: Serological response to the hepatitis delta virus in hepatitis D, *Lancet* 1: 478 (1987).
- 2- Bergmann K F, Gerin J L: Antigens of hepatitis Delta virus in the liver and serum of humans and animals, *J Infect Dis* 154: 702 (1986).
- 3- Bonino F, Hoyer B, Ford E, Shih W-K, Robert H, Purcell R H, Gerin J L: The Delta agent HBsAg particles with Delta antigen and RNA in the serum of a HBV carrier, *Hepatology* 1: 127 (1981).
- 4- Bonino F, Smedile A: Delta agent (Type D) hepatitis, *Sem Liv Dis* 6:28 (1986).
- 5- Butl M, Esteban R, Jardi R, Esteban J-I, Fuardia J: Serological diagnosis of acute delta hepatitis, *J Med Virol* 18:81 (1986).
- 6- Canese M.G. Rizzetto M, Arico S, Crivelli O, Zanetti A R, Macchiorlatti E, Ponzetto A, Leona L, Mollo F, Verme G: An ultrastructural and immunohistochemical study on the Delta antigen associated with the hepatitis B virus, *J Pathol* 128: 169 (1979).
- 7- Colombo M, Cambierrri R. Rumi M G, Ronchi G, Del Ninno E, De Franchis R: Long-term superinfection in Hbs carriers and its relationship with the course of chronic hepatitis, *Gastroenterology* 85: 235 (1983).
- 8- Govindarajan S, Kanal G C, Peters R L: Prevalence of delta-antibody among chronic hepatitis B virus infected patients in the Los Angeles area: its correlation with liver biopsy diagnosis, *Gastroenterology* 85: 160 (1983).
- 9- Hansson B G, Moestrup T, Widell A, Nordenfelt E: Infection with Delta-agent in Sweden: introduction of a new hepatitis agent, *J Infect Dis* 146: 472 (1982).
- 10- Koe A, Dijkama R, Arnberg A C, Vander Meide P H, Schellekens H: The hepatitis delta virus possesses a circular RNA, *Nature* 323: 558 (1986).
- 11- Kunches L M, Craven D E, Werner B G: Seroprevalence of hepatitis B virus and delta agent in parenteral drug abusers. Immunogenicity of hepatitis B vaccine, *Am J Med* 81: 591 (1986).
- 12- Lee S-D, Wang J-Y, Wu J-C, Chiang Y-T, Tsai Y-T, Lo K-J : Hepatitis B and D virus infection among drug abusers in Taiwan, *J Med Virol* 20:247 (1986).
- 13- Lindh G, Weiland O, Hansson B G, Svedmyr A: Delta infection among patients with chronic hepatitis B in the Stockholm region, *Infection* 12: 27 (1984).
- 14- Ponzetto A, Purcell R H, Gerin J L: The apparent transmission of the delta agent to the Eastern woodchuck, *Fed Rep* 41: 445 (1982).
- 15- Parcell R H, Gerin J L: Epidemiology of the delta agent; an introduction, "Viral hepatitis and Delta infection" kitabında, s.113, Alan R.Liss Inc, New York (1983).
- 16- Rizzetto M: The Delta agent, *Hepatology* 3: 729 (1983).
- 17- Rizzetto M, Canese M G, Arico S, Crivelli D, Bonino F, Trepo C G, Verme G: Immunofluorescence detection of a new antigen/antibody system (delta/Antidelta) associated with hepatitis B virus in liver and serum of HBsAg carriers, *Gut* 18: 997 (1977).
- 18- Rizzetto M, Hoyer B, Canese M G, Shih J W K, Purcell R H, Gerin J L: Delta antigen: the association of Delta antigen with hepatitis B surface antigen and ribonucleic acid in the serum of Delta infected chimpanzees, *Proc Natl Acad Sci, USA*, 77: 6124 (1980).
- 19- Rizzetto M, Verme G, Recchia S, Bonino F, Farci P, Arico S, Calzia R, Picciotto A: Chronic HBsAg hepatitis with intrahepatic expression of Delta antigen An active and progressive disease unresponsive to immunosuppressive treatment, *Ann Intern Med* 98: 437 (1983).
- 20- Shattock A G, Morgan B M: Sensitive enzyme immunoassay for the detection of delta antigen and anti-delta, using serum as the delta antigen source, *J Med Virol* 13: 73 (1984).
- 21- Trepo C, Rizzetto M: Le virus de l'hepatite Delta (VHD): troisieme virus des hepatites identifié, *Gastroenterol Clin Biol* 10: 248 (1986).
- 22- Wang K-S, Choo Q-L, Weiner A J, Ou J-H Najarian R C, Thayer R M, Mullenbach G T, Denniston K J, Gerin J L, Houghton M: Structure, sequence and expression of the hepatitis delta viral genome, *Nature* 323: 508 (1986).