O'rinov Eldor Erkin o'g'li – tayanch doktorant
Dolimov Toxir Kenjabekovich – t.f.d
Respublika Ixtisoslashtirilgan Epidemiologiya, Mikrobiologiya, Yuqumli va Parazitar Kasalliklar Ilmiy–Amaliy Tibbiy Markazi (Toshkent, O'zbekiston)

O'ZBEKISTONDA SURUNKALI GEPATIT BILAN KASALLANGAN BEMORLARDA GEPATIT DELTA VIRUSI (HDV) GENOTIPLARI

Annotatsiya. *Ushbu ilmiy tadqiqot O'zbekistonda surunkali gepatit bilan kasallangan bemorlarda gepatit delta virusi (HDV) genotiplarining tarqalishini aniqlashga bag'ishlangan. 32 nafar bemordan olingan namunalar tahlil qilindi. Ulardan 30 nafarida HDV–RNA musbat bo'lib, Sanger sekvenslash orqali tahlil qilindi. Sekvens natijalariga ko'ra, barcha 30 namunada HDV–1 genotipi aniqlandi. Klinik jihatdan, bemorlarning 23 nafarida jigar sirrozi, 3 nafarida F2 darajali fibroz, 6 nafarida esa F3 darajali fibroz qayd etildi. Ushbu natijalar HDV–1 genotipining O'zbekistonda surunkali gepatit D bilan kechuvchi bemorlar orasida ustunligini ko'rsatadi.*
Kalit so`zlar. *Gepatit delta virusi, HDV, genotiplash, sekvenslash, filogenetik tahlil*

Urinov Eldor Erkin ugli – doctoral student
Dolimov Toxir Kenjabekovich – D.M.Sc.
Republican Specialized Scientific–Practical Medical Center of Epidemiology, Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases (Tashkent, Uzbekistan)

GENOTYPES OF HEPATITIS DELTA VIRUS (HDV) IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS IN UZBEKISTAN

Abstract. *This study investigates the prevalence of hepatitis delta virus (HDV) genotypes among patients with chronic hepatitis in the Republic of Uzbekistan. Samples collected from 32 patients were analyzed. Of these, 30 tested positives for HDV–RNA and were subsequently subjected to Sanger sequencing. The sequencing results revealed that all 30 samples belonged to genotype HDV–1. Clinically, liver cirrhosis was diagnosed in 23 patients, while 3 had stage F2 fibrosis and another 6 had stage F3 fibrosis. These findings indicate the predominance of HDV–1 genotype among patients with chronic hepatitis D in Uzbekistan.*
Key words: *hepatitis delta virus, HDV, genotyping, sequencing, phylogenetic analysis.*

Уринов Элдор Эркин угли – докторант
Долимов Тохир Кенжабекович – д.м.н
Республиканский *специализированный научно–практический медицинский* центр эпидемиологии, *микробиологии и инфекционных, паразитарных заболеваний (Ташкент, Узбекистан)*

ГЕНОТИПЫ ВИРУСА ГЕПАТИТА D (HDV) У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В УЗБЕКИСТАНЕ

Аннотация. *Настоящее исследование посвящено изучению распространённости генотипов вируса гепатита D (HDV) у пациентов с хроническим гепатитом в Республике Узбекистан. Были проанализированы образцы, полученные от 32 пациентов. У 30 из них выявлена положительная РНК HDV, после чего проведено секвенирование методом Сэнгера. По результатам секвенирования во всех 30 случаях определён генотип HDV–1. С клинической точки зрения, у 23 пациентов диагностирован цирроз печени, у 3 — фиброз стадии F2, и у 6 — фиброз стадии F3. Полученные результаты свидетельствуют о*

доминировании генотипа HDV–1 среди пациентов с хроническим гепатитом Д в Узбекистане.

Ключевые слова: *вирус гепатита D, HDV, генотипирование, секвенирование, филогенетический анализ.*

Kirish. Gepatit D yoki delta virusi (HDV) — nuqsonli virus bo‘lib, uning hayot sikli gepatit B virusi (HBV)ga to‘liq bog‘liqdir, HDV infeksiyaning samarali kechishini ta'minlash, ya’ni gepatotsitga kirish va undan chiqish uchun HBVning barcha uchta qobiq oqsili — gepatit B yuzasidagi antigenlar (HbsAg)dan foydalanadi [1]. HDV taxminan 1700 nukleotiddan iborat bo‘lgan manfiy ipli bir zanjirli RNK genomiga ega. So‘nggi takliflarga ko‘ra, u **Ribozyviria** sohasiga kiruvchi **Kolmioviridae** oilasining **Deltavirus** turkumiga tasniflanmoqda [2]. HDV gepatotsit ichiga HbsAg dan foydalanmay kirishi, uning genomi samarali replikatsiya bo`lishi va HDAg ko’rinishida ifodalanishi mumkin, shunga qaramay, yuqumli zarrachalarning secretsiyasi sodir bo`lmaydi. Demak, HDV faqatgina HBV bor joydagina (organizmda) rivojlanishi hamda kasallik chaqirishi mumkin. Shuning uchun HDV HBV bilan bir vaqtda (koinfeksiya) yoki HBV bor holatlarda (superinfeksiya) yuqishi mumkin [3]. Surunkali gepatit D–virusli gepatitlar orasida eng agressivi hisoblanadi va sirroz, jigar yetishmovchiligi, gepatosellular karsinoma rivojlanish xavfini oshiradi [3]. HDV sutemizuvchilarni zararlashi mumkin bo`lgan eng kichik virus bo`lib, faqatgina insonlar virusning tabiiy rezervuari hisoblanadi. O`zining o`ziga xos xususiyatlaridan kelib chiqqan holda gepatit D virusi o`simlik viroidlari yoki dumaloq hujayrali RNKlardan kelib chiqishi taxmin qilingan va hozirda Delta viruslar qatorining yagona a’zosi hisoblanadi [4]. HDV ning har biri yuqori geterogenlikka ega 8 xil genotipi ma’lum [5]. Genotip–1 butun dunyoda keng tarqalgan, ko’proq Yevropa va Shimoliy Amerika davlatlarida predominantlik qiladi, Genotip–3 Janubiy Amerikada aniqlangan, genotip 2– va 4 Sharqiy Osiyoda va genotip 5–8 esa Afrika davlatlarida tarqalgan [6]. Aniq sifatli tahlillar kam bo’lishiga qaramay, jigarda kasallik kechishning og’irlik darajasi genotiplarga bog’liqligini ko’rish mumkin. Genotip 1 bilan taqqoslaganda genotip 2 va 4 dan jigardagi yallig’lanish jarayoni nisbatan yengilroq kichadi. Osiyo davlatlarida o’tkazilgan tadqiqotlar natijalariga ko’ra genotip 2 bilan zararlangan bemorlarda jigar sirrozi, gepatosellular karsinoma va o’lim ko’rsatkichlari 1– genotipga nisbatan kamroq ekanligi aniqlangan [7]. Genotip 3 esa o’tkir infeksiyaning og’ir kechishiga va o’tkir jigar yetishmovchiligi rivojlanish xavfi oshishiga sabab bo’ladi [8]. HBV va HDV evolutsiyasiga ko’ra, mikst gepatitlarda aniq genotiplar kombinatsiyasini ko’rish mumkin, olib borilgan tahlillarda eng ko’p HDV 3 genotipi va HBV ning F genotipi birga kelishi aniqlangan [9]. Biroq bu assotsiatsiya faqatgina geografik tarqalishiga ko’ra shartli hisoblanadi, ya’ni, qa’tiy kombinatsiya hisoblanmaydi [8], HDV virioni HBV ning turli xil genotiplariga birikish xususiyatiga ega [10].

Ushbu tadqiqotning maqsadi — O’zbekistondagi surunkali delta gepatiti bilan kasallangan bemorlardan olingan izolyatlardan to‘g‘ridan–to‘g‘ri sekvenslash yo‘li bilan HDV genotiplarini aniqlash.

Tekshiruv materiallari va usullari. Ushbu tekshiruvga surunkali HDV infeksiyasi bilan zararlangan 32 nafar bemor jalb etildi. Tadqiqot 2023–2024 yillar davomida RIEMYuPKIATM va TTA ilmiy laboratoriyasida olib borildi.

Surunkali delta gepatiti tashxisi qo‘yilgan bemorlardan olingan qon zardobi namunalari HDV RNKni aniqlash va genotiplash uchun asosiy material sifatida foydalanildi. Har bir bemordan olingan 140 mkl zardob namunalaridan virusli RNK ajratib olish QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Germaniya) to‘plami yordamida, ishlab chiqaruvchining tavsiya etilgan protokollariga muvofiq amalga oshirildi. Ajratilgan RNK eritmalari ifloslanishning oldini olish va sifatini saqlab qolish maqsadida –80 °C haroratda maxsus kriogeneratorlarda saqlab qo‘yildi.

Ajratilgan virusli RNK asosida HDV genomining komplementar DNK (kDNK) nusxasi REVERTA–L teskari transkripsiya reagentlar to‘plami (Sintol, Rossiya) yordamida olindi. Teskari transkripsiya

reaksiyasi ishlab chiqaruvchining ko‘rsatmalariga binoan amalga oshirildi. Reaksiya 42 °C da 60 daqiqa davomida termosiklda inkubatsiya qilindi. PZR orqali HDV genomining delta antigen kodlovchi C–terminal sohasiga tegishli fragment ko‘paytirildi. Tashqi va ichki (nested) praymerlar Primer3Plus dasturida, HDV ning 1–8 genotiplariga tegishli konservativ ketma–ketliklar asosida ishlab chiqildi (1–jadval). Tanlangan praymerlarning nukleotid ketma–ketligi va ularning joylashuvi tafsilotlar 2–jadvalda keltirilgan. PCR ikki bosqichda o‘tkazildi. Birinchi bosqichda tashqi praymerlar (nt 858–881 va 1289–1312), ikkinchi bosqichda esa ichki praymerlar (nt 883–906 va 1265–1288) ishlatildi. PCR mahsulotlari 1% agaroz gel elektroforezida vizualizatsiya qilindi, kutilgan fragment uzunligi 359 bp ni tashkil etdi. Mahsulotlar Sanger sekvenslash usuli orqali, BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, AQSh) yordamida sekvenslandi. Sekvens natijalari ABI Prism 310 Genetic Analyzer qurilmasida o‘qildi. Olingan ketma–ketliklar ClustalW yorda-mida tekislanib, GenBank ma’lumotlar bazasidagi 17 ta ma’lumot bilan solishtirildi. Filogenetik tahlil TREECON dasturida 100 marta bootstrap asosida bajarildi.

1 jadval.

HDV 1–8 shtammlarining nomi va guruhga mansubligi

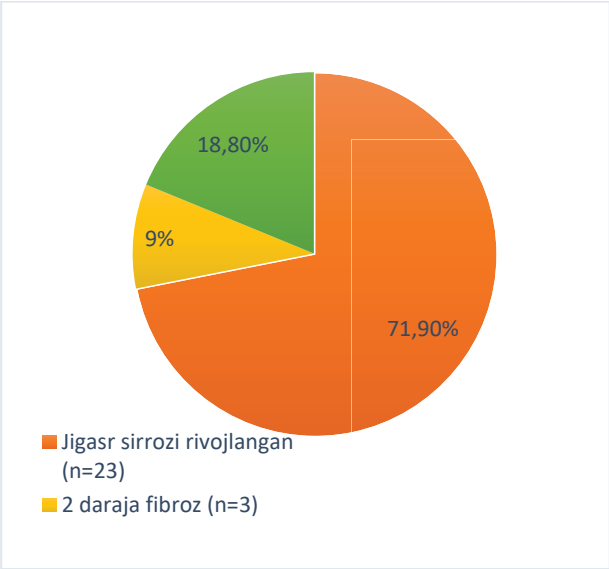
Genotip	NC_001653
HDV–1:	AF098261, AJ000558, Y633627, HM046802
HDV–2	КФ660599, АФ104264, АЙ261459
HDV–3	AB037947, AB037948, AB037949
HDV–4	AF018077, AF209859
HDV–5	AM183326, AM183331, JA417551
HDV–6	AJ584847, AM183332
HDV–7	AM183333, JA417541,
HDV–8	AM183327, AM183330

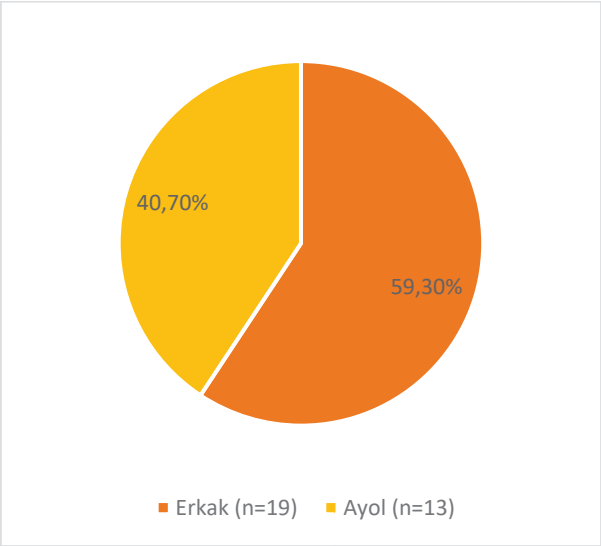
2 jadval.

Diagnostik praymerlarning ketma-ketligi va joylashishi

Nomi	Sekvens (5’–>3’)	Joylashuvi
HDV314_F1_com	GAGGACCCCTTCAGCGAAC	314– 333
HDV1287(–4)_R1	GGAAGGCCCTCGAGAACAAG	1287—1267
HDV1286(+4)_R2	GGAAGGCCCTGGAGAACAAG	1286—1266
HDV895_F2_com	GCCGACCCGAAGAGGAAAG	895–914
HDV1287(–4)_R2	GGAAGGCCCTCGAGAACAAGA	1287–1266
HDV1286(+4)_R2	GGAAGGCCCTGGAGAACAAGA	1286–1265

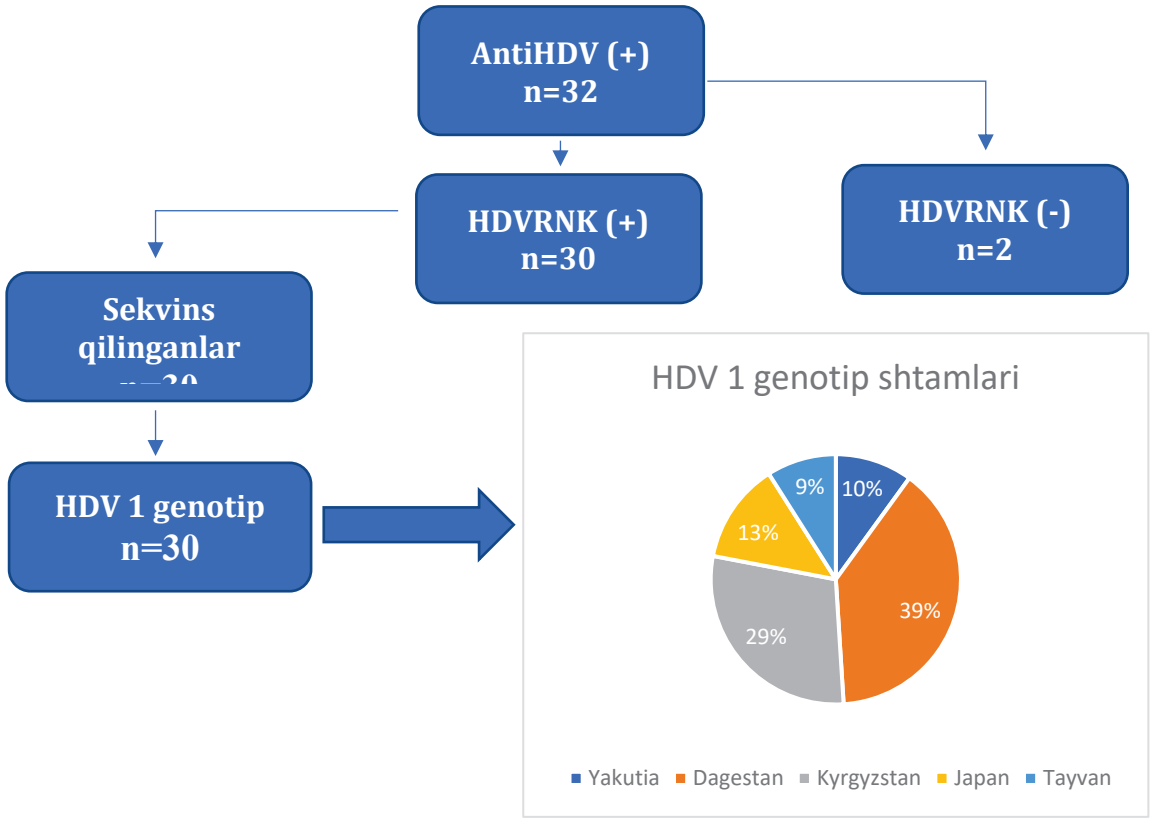
Natijalar. Tadqiqotda ishtirok etgan 32 nafar (19 nafar erkak, 13 nafar ayol; 71.9 % jigar sirrozi rivojlangan, 9.3% 2 darajali fibroz va 18.8% 3 darajali fibroz) AntiHDV musbat bo’lgan bemordan 30 nafarida (93.75%) HDV RNK musbat natija qayd etildi (1–rasm). Sekvenslash natijalariga ko‘ra, barcha namunalar HDV ning 1–genotipiga mansubligi aniqlandi (2–rasm). Olingan o‘zbek izolatlari GenBankdagi 1–genotipga mansub namunalar bilan 86% dan 99% gacha o‘xshashlikni ko‘rsatdi. Bu esa O‘zbekistonda HDV infeksiyasi yuqori darajada 48pidemi o‘xshash bo‘lgan 1–genotip bilan bog‘liqligini ko‘rsatadi. Filogenetik daraxtda o‘zbek izolatlari boshqa mintaqalardagi (masalan, Dog‘iston, Qirg‘iziston, Yaponiya, Yakutiya, Tayvan) 1–genotip namunalariga yaqin joylashdi, bu esa 48pidemiologic bog‘liqlikni ko‘rsatadi.





1 Rasm. **Genotip tekshiriladigan bemorlarning Jigar zararlanishi bo`yicha jins bo'yicha taqsimlanishi taqsimlanishi**

Muhokama. Tadqiqot natijalari O‘zbekistonda surunkali delta gepatiti bilan kasallangan bemorlar orasida HDV ning 1–genotipi keng tarqalganligini ko‘rsatdi. Bu holat dunyo miqyosidagi kuzatuvlarga ham mos keladi, chunki HDV–1 genotipi global miqyosda eng keng tarqalgan shakl hisoblanadi va klinik jihatdan eng og‘ir kechadigan turlar sirasiga kiradi. Tadqiqotda aniq-langan 86–98% o‘xshashlik darajasi o‘zbek izolatlarining yuqori 49 pidemi konservativligini ko‘rsatadi va ehtimoliy umumiy manbaga ega bo‘lish ehtimolini bildiradi.



2 rasm. **HDV genotip natijalari**

Filogenetik tahlilda o‘zbek izolatlarining Dog‘iston, Qirg‘iziston, Yaponiya, Tayvan va Yakutiyadan olingan izotiplar bilan yaqin joylashuvi, mintaqaviy tarqalish va migratsion omillar rolini ko‘rsatadi. Bu esa 50pidemiologic monitoringni kuchay-tirish, genotip asosida individualizatsiyalangan yondashuvlar ishlab chiqish zarurligini ko‘rsatadi. Shuningdek, bemorlar orasida bir xil turdagi genotip bilan infektsiyalanganlik ko`rsatkichining yuqoriligi, HDV 50pidemi xilma–xilligining O‘zbekistonda nisbatan past darajada ekanligidan dalolat beradi. Bu esa vaksina yoki antivirus terapiya yo‘nalishlarining genotipga yo‘naltirilgan holda ishlab chiqilishiga asos bo‘lishi mumkin. Buning uchun tadqiqotni keng ko’lamda olib 50pidemi va tekshiruvlarga ko`plab bemorlarni jalb qilish orqali O`zbekistondagi HDV ning molekulyar epidemiologic holatini to`liq baholash kerak

Xulosa. Ushbu tadqiqot O‘zbekistonda surunkali HDV infeksiyasi bo‘lgan bemorlar orasida HDV–1 genotipining ustunlik qilishini ko‘rsatdi. Olingan sekvenslar 86–98% darajada GenBankdagi 1–genotip namunalariga o‘xshashlik ko‘rsatdi. Filogenetik tahlil esa o‘zbek izolatlarining mintaqaviy genotiplarga yaqinligini tasdiqladi. Ushbu ma’lumotlar kelajakdagi diagnostika, 50pidemiologic nazorat va terapiya strategiyalarini ishlab chiqishda muhim ahamiyatga ega.

ADABIYOTLAR

1. Gudima S, He Y, Meier A, Chang J, Chen R, Jarnik M, et al. Assembly of hepatitis delta virus: particle characterization, including the ability to infect primary human hepatocytes. J Virol 2007; 81:3608–3617.

2. Walker PJ, Siddell SG, Lefkowitz EJ, Mushegian AR, Adriaenssens EM, Alfenas–Zerbini P, et al. Changes to virus taxonomy and to the international code of virus classification and nomenclature ratified by the international committee on taxonomy of viruses (2021). Arch Virol 2021;166(9):2633 –2648.

3. Sureau C, Negro F. The hepatitis delta virus: replication and pathogenesis. J Hepatol 2016;64: S102–16.

4. Flores R, Owens RA, Taylor J. Pathogenesis by subviral agents: viroids and hepatitis delta virus. Curr Opin Virol 2016; 17:87–94.

5. Magnius L, Taylor J, Mason WS, Sureau C, Dény P, Norder H, et al. ICTV virus taxonomy profile: deltavirus. J Gen Virol 2018; 99:1565–6.

6. Alfaiate D, Dény P, Durantel D. Hepatitis delta virus: From biological and medical aspects to current and investigational therapeutic options. Antiviral Res 2015; 122:112–29.

7. Su C-W, Huang Y-H, Huo T-I, Shih HH, Sheen I-J, Chen S-W, et al. Genotypes and viremia of hepatitis B and D viruses are associated with outcomes of chronic hepatitis D patients. Gastroenterology 2006; 130:16 25–35.

8. Gomes-Gouvêa MS, Soares MCP, Bensabath G, de Carvalho-Mello IMVG, Brito EMF, Souza OSC, et al. Hepatitis B virus and hepatitis delta virus genotypes in outbreaks of fulminant hepatitis (Labrea black fever) in the western Brazilian Amazon region. J Gen Virol 2009; 90:2638–43.

9. Casey JL, Niro GA, Engle RE, Vega A, Gomez H, McCarthy M, et al. Hepatitis B virus (HBV) / hepatitis D virus (HDV) coinfection in outbreaks of acute hepatitis in the Peruvian Amazon basin: the roles of HDV genotype III and HBV genotype F.J Infect Dis 1996; 174:920–6.10. Freitas N, Abe K, Cunha C, Menne S, Gudima SO. Support of the infectivity of hepatitis delta virus particles by the envelope proteins of different genotypes of hepatitis B virus. J Virol 2014;88:6255–67.