

АНОТАЦІЯ

Сирота Б.В. Механізми розвитку ешерихіозного гастроентероколіту з урахуванням чинників його несприятливого перебігу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – «Медицина» (14.03.04 - патологічна фізіологія). – Вищий державний начальний заклад України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України, Чернівці, 2019.

Щорічно в світі реєструють близько мільярда діарейних захворювань [82, 83, 235]. Ешерихіози є однією з найбільш поширених причин діареї у розвинутих країнах із частотою 20-30 випадків на 100 000 осіб [279]. Колієнтерити зазвичай спричинені патогенними варіантами *Escherichia coli* (*E. coli*): ентеротоксигенними (ЕТКП), ентероінвазивними (ЕІКП), ентеропатогенними (ЕПКП), ентерогеморагічними (ЕГКП), чи ентероадгезивними (ЕАКП). Незважаючи на чисельні дослідження механізмів розвитку патології, окремі ключові ланки патогенезу ешерихіозного гастроентероколіту (ГЕК) з позиції імунологічно-запальних, мікробіологічних та генетичних чинників вивчено недостатньо.

Мета дослідження: встановити механізми розвитку гострого ешерихіозного ГЕК з урахуванням імунологічного дисбалансу, екосистеми мікробіоти товстої кишки, продукції антитіл до ядер бактеріальних ендотоксинів та молекулярно-генетичних предиктів.

Дослідження було одномоментним, у вигляді "контроль-випадок". Етап скринінгу пройшло 95 хворих на гострий ГЕК, у котрих бактеріологічним шляхом виділили та ідентифікували із порожнини товстої кишки (ТК) ЕПКП, ЕТКП, ЕІКП, ЕГКП, чи / та ЕАКП кишкові палички. У постановці клінічного діагнозу керувалися діючими наказами МОЗ України №90 від 11.02.2016 та №59 від 29.01.2013 [16, 17]. Вік хворих коливався від 25 до 54 років (у середньому $38,66 \pm 3,11$ року). Серед обстежених було 62 жінки (65,26%) і 33 чоловіки (34,74%). При виконанні роботи керувались принципами

біомедичної етики щодо проведення наукових медичних досліджень за участі людини. Всі пацієнти підписали інформовану згоду на участь у дослідженні. Контрольну групу склали 87 практично здорових осіб, які не відрізнялись вірогідно за віком та статевим розподілом.

У процесі виконання роботи досліджували асоціації ешерихіозного гострого ГЕК із алельним станом генів білка теплового шоку (*HSP70-2*, rs1061581) та інтерлейкіну 10 (*IL-10*, rs1800872), епідеміологією збудників, таксономічним складом і популяційним рівнем мікробіоти порожнини ТК, плазмовим рівнем антитіл класу IgM до ядер бактеріальних ендотоксинів, імунологічною реактивністю та станом неспецифічного протиінфекційного захисту. Методи дослідження включали загальноклінічні, антропометричні, біохімічні аналізи; інструментальні (ЕКГ у 12-ти відведеннях, вимірювання офісного АТ, сонографію органів черевної порожнини та нирок, фіброскопію гастроуденоскопія (ФЕГДС) за потреби); мікробіологічні дослідження наважки випорожнень (з метою ізоляції *E.coli* із вмісту порожнини ТК та ідентифікації виділених штамів за морфологічними, культуральними, біохімічними властивостями та антигенною структурою (О- і К- антигени)); імуноферментні (прозапальні цитокіни IL-1 β , TNF α , протизапальний IL-10; антитіла класу IgM до ядер бактеріальних ендотоксинів 4-х грам-негативних бактерій); генетичні (полімеразна ланцюгова реакція для визначення поліморфізму генів *HSP70-2* (1267G>A) та *IL-10* (C-592A)); статистично-аналітичні. Амплікони генів *HSP70-2* та *IL-10* підлягали гідролітичному розщепленню за допомогою ендонуклеаз рестрикції *PstI* та *RsaI*, відповідно («Thermo Scientific», США). Отримані фрагменти рестрикції візуалізували за допомогою транслюмінатора в присутності маркера молекулярних мас 100-1000 пн (GeneRuler 50 bpDNALadder, «Thermo Scientific», США).

Статистичну обробку даних проводили за допомогою прикладних програм Excel[®] 2010 (Microsoft), Primer of Biostatistics[®] 6.05 та Statistica[®] 7.0 (StatSoft Inc., США).

Отримані нами результати засвідчують, що розвиток та перебіг

ешерихіозного ГЕК клінічно маніфестує діарейним фенотипом у 60% випадків, дизентерієподібним та холероподібним варіантами – у 25,26% і 14,74% осіб, відповідно. У 41,05% хворих колієнтерит зумовлений ЕПКП *E.coli*, у 29,47% осіб – ЕТКП, у 23,16% випадків – ЕІКП *E.coli*, у 11,58% пацієнтів – ЕГКП. У переважної більшості випадків (78,57-91,67%) колієнтерит зумовлений монокультурами патогенних *E.coli*: серовари O55:K59 (C=29,82%), O124:K72 (C=41,46%), чи O127:K63 (індекс постійності 42,86%).

Вперше встановили, що у хворих на гострий ешерихіозний ГЕК мутація генів *IL-10* (rs1800872) та *HSP70-2* (rs1061581) у гомозиготному стані зустрічається із частотою 9,47% і 3,16% відповідно, за відсутності такої у групі практично здорових. Мутаційний А-алель гена *IL-10* асоціює з підвищенням ризику появи колієнтериту в популяції обстежених майже удвічі (OR=1,98; p=0,046), тоді як поліморфні варіанти гена *HSP70-2* (rs1061581) не є додатковими чинниками ризику колієнтериту у обстежених.

Розвиток ешерихіозного ГЕК характеризується глибоким порушенням таксономічного складу і популяційного рівня автохтонної облігатної анаеробної грампозитивної мікробіоти, із контамінацією і колонізацією порожнини ТК умовно патогенними ентеробактеріями (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus* (C=96,84%)), пептококами (C=65,26%), дріжджеподібними грибами роду *Candida*, патогенними *E.coli* – ЕПКП (C=41,95%), ЕТКП (C=29,47%), ЕІКП (C=23,16%) та ЕГКП (C=11,58%), домінують гемолітичні (*E.coli Hly+*) кишкові палички (C=62,11%), стають додатковими лактозонегативні *E.coli Lac-* (C=33,68%).

Уперше виявили, що за ешерихіозного ГЕК тяжкість дисбактеріозу асоціює із наростанням рівня антитіл класу *IgM* до ядер бактеріальних ендотоксинів на 31,28% (p=0,033) і 80,45% (p=0,01) відповідно. Однофакторний дисперсійний аналіз підтвердив асоціацію 1267A→G поліморфізму гена *HSP70-2* із підвищенням рівня антитіл класу *IgM* до ядер бактеріальних ендотоксинів (F=7,39; p=0,008), але тільки у носіїв GG-генотипу

– на 49,76%. Ризик помірного та високого ступенів ендотоксикозу зростає майже у 5 разів у хворих на ешерихіозний ГЕК носіїв *GG*-генотипу ($OR=56,0$; $p<0,001$). *A*-алель гена *IL-10* підвищує ймовірність 3-го і 4-го ступенів дисбактеріозу майже у 1,5 рази ($OR=2,36-3,50$; $p<0,05$), однак не є чинником ризику високої, помірної продукції антитіл класу *IgM* до ядер бактеріальних ендотоксинів. Деадаптація компенсаторних механізмів неспецифічного протиінфекційного захисту супроводжується підвищенням активності афекторної клітинної ланки імунітету через мікрофагальну систему, зростанням реактивної відповіді нейтрофільних гранулоцитів у 1,97-2,25 рази ($p<0,001$), на тлі зниження індексу імунологічної резистентності у 1,76-2,25 рази, лімітування активності ефекторної ланки імунної відповіді. Вперше встановлено, що у осіб із *AA*-генотипом гена *IL-10* (*rs1800872*) за інфікування патогенними *E.Coli* імунологічні механізми розвитку ГЕК реалізуються через зниження неспецифічної резистентності (на 20,11-27,52%); зростання індексу підвищення імунологічної реактивності, особливо у пацієнтів із *GG*-генотипом гена *HSP70-2* на 14,67% ($p=0,004$) та *A* алелем гена *IL-10* на 12,40% ($p=0,008$).

Доповнено наукові дані про те, що зміни імуно-запальної відповіді організму хворих на ешерихіозний ГЕК характеризуються підвищенням синтезу прозапальних цитокінів *IL-1 β* і *TNF α* на 40,93% і 44,44% відповідно, на тлі нижчої продукції протизапального *IL-10* на 37,30% ($p<0,001$). Це засвідчує дисбаланс між високою активністю клітинної ланки імунітету за рахунок *Th1* лімфоцитів та макрофагів/моноцитів і недостатню активність гуморальної ланки *Th2* системи та активності *B*-лімфоцитів.

Вперше підтверджено асоціацію промотора гена білка теплового шоку *HSP70-2* (*1267A \rightarrow G*) із підвищенням рівня *IL-1 β* у крові, вагомніше у носіїв *GG*-генотипу на 45,05% ($F=11,66$; $p<0,001$), та зниженням концентрації *IL-10* ($F=4,56$; $p=0,035$), суттєвіше також у носіїв *GG*-генотипу на 23,38% ($p=0,031$). Натомість промотор гена *IL-10* (*C-592A*) асоціює тільки зі зниженням вмісту

IL-10 ($F=3,14$; $p=0,048$), найсильніше у власників мутаційного *A*-алеля на 26,95% і 20,64% ($p<0,05$) відповідно.

Таким чином, нами вперше встановлено нові та уточнено і доповнено існуючі ланки патогенезу розвитку ешерихіозного ГЕК з урахуванням таксонів ентеропатогенних ешерихій, асоціації молекулярно-генетичних чинників – поліморфізму генів *HSP70-2* (rs1061581) та *IL-10* (rs1800872) з імунологічним дисбалансом, змінами екосистеми мікробіоти порожнини ТК та ешерихіозним ендотоксикозом.

Ключові слова: ешерихіозний гастроентероколіт, ендотоксикоз, імунітет, механізми, мікробіота, поліморфізм генів *HSP70-2* (1267G>A), *IL-10* (C-592A), ризики.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Сирота БВ. Патогенетичне значення екосистеми мікробіоти кишечника у розвитку ешерихіозних ентероколітів. *Буковинський медичний вісник* 2017; 21(1(81)):141-145.

2. Сирота БВ, Сидорчук ЛП. Роль ентеропатогенних кишкових паличок у розвитку гострого ентероколіту. *Сімейна медицина. Науково-практичний журнал* 2017; 1(69):111-114. (Здобувач виконав дослідження, статистично опрацював, проаналізував та узагальнив отримані результати, підготував статтю до друку).

3. Syrota BV, Sydorчук LP. Are genes of interleukins' 10 (RS1800872) and heat shock protein 70-2 (RS1061581) predictive markers of cytokines production in patients with enterocolitis. *Journal of Education, Health and Sport* 2018; 8(7):615-622. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1406189> (Дисертант виконав дослідження, статистично опрацював та проаналізував матеріал, підготував статтю до друку).

4. Sydorчук L, Syrota B, Sydorчук A, Iftoda O, Korovenkova O, Kushnir O. Interleukins' 10 (RS1800872) and heat shock protein 70-2 (RS1061581) genes as risk markers of enterocolitis depending on cytokines production. *The Pharma Innovation Journal* 2018; 7(9): 178-192. (Здобувач зібрав матеріал, статистично опрацював його, підготував статтю).

5. Сирота БВ. Імуно-гематологічні індекси ендогенної інтоксикації та клітинної реактивності за гострих діарейних ешерихіозів. *Буковинський*

медичний вісник. 2019; Т.23, №1 (89):74-80.

6. Sydorчук LP, Syrota BV, Sydorчук AR, Gerush OV, Muzyka NY, Sheremet MI, Korovenkova OM, Bohdan NS, Nikyfor LV, Skrynychuk OY, Iftoda OM, Ivashchuk SI, Kushnir OV. Clinical markers of immune disorders in pathogenesis of Colienteritis. *Archives of the Balkan Medical Union* 2019; 54(1):89-96. (Дисертант виконав комплекс досліджень, проаналізував результати, підготував матеріал до друку).

7. Sydorчук L, Syrota B, Korovenkova O, Muzyka N, Bohdan N, Hudz N, Tkachuk O, Nikifor L, Iftoda O, Kushnir O, Sydorчук R. *Med Surg J – Rev Med Chir Soc Med Nat, Iași*. 2019; 123(1):147-152. (Здобувач виконав комплекс досліджень, проаналізував результати, підготував статтю до друку).

8. Сирота БВ, Сидорчук ЛП, Казанцева ТВ, Петринич ОА, Мельничук ЛВ, Никифор ЛВ, Крикливець ЛГ, Сем'янів ММ, Репчук ЮВ, Флюндра ІГ, Бойко ВВ. Спосіб прогнозування колієшерихіозного ендотоксикозу з урахуванням генетичних чинників: патент на корисну модель №117583 Україна, МПК (51) А61В 10/00 (2017.01), G01N 33/50 (2006.01). № и 2017 01367; патентовласник Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет» (UA); заявл. 13.02.2017; опубл. 26.06.2017, Бюл. №12. (Здобувач провів дослідження, проаналізував та узагальнив результати, підготував заявку на корисну модель).

9. Сирота БВ, Сидорчук ЛП, Казанцева ТВ, Петринич ОА, Мельничук ЛВ, Никифор ЛВ, Крикливець ЛГ, Сем'янів ММ, Репчук ЮВ, Флюндра ІГ, Бойко ВВ. Спосіб генетичної діагностики імунологічних порушень за колієшерихіозного ендотоксикозу: патент на корисну модель №117570 Україна, МПК (51) G01N 33/50, G01N 33/569 (2006.01). № и 2017 01321; патентовласник Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет» (UA); заявл. 13.02.2017; опубл. 26.06.2017, Бюл. №12. (Здобувач виконав дослідження, статистично опрацював, проаналізував та узагальнив отримані результати, підготував заявку на корисну модель).

10. Sydorчук L, Boychuk T, Syrota B, Sydorчук R, Sydorчук I, Plehutsa O, Sydorчук A, Plehutsa I, Sydorчук L. The role of different E.coli variants emphasizing colonic inflammation: breaking the mucosal barrier. Symposium "IBD 2017 – Therapeutic and Biological Barriers" (6-8 October, 2017, Berlin). Berlin: 2017. P.128. (Здобувач виконав дослідження, узагальнив отримані результати, підготував доповідь).

11. Sydorчук R, Boychuk T, Sydorчук L, Syrota B, Sydorчук I, Plehutsa O, Sydorчук A, Sydorчук L. Combined use of pre- and probiotics therapy influence on both colonic resistance and clinical course in IBD. Symposium "IBD

2017 – Therapeutic and Biological Barriers" (6-8 October, 2017, Berlin). Berlin: 2017. P.129. *(Здобувач провів комплекс досліджень, статистично опрацював та проаналізував матеріал, підготував тези до друку).*

12. Сирота БВ, Сидорчук ЛП. Етіопатогенетична роль ентеропатогенних кишкових паличок за діарейного гастроентероколіту. Мат. наук-практ. конф. з міжнародн. участю. "Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності" (21 січня, 2018, Чернівці). Чернівці: 2018. С.83-84. *(Дисертант зібрав клінічний матеріал, статистично його опрацював та проаналізував, підготував доповідь).*

13. Sydorчук L, Syrota B. Etiopathogenic predictors and their role in the development of acute enterocolitis. 8th International Congress of Pathophysiology (5-8 September, Bratislava). Pathophysiology. 2018; 25(3): 227-228. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2018.07.145> *(Здобувач виконав дослідження, статистично опрацював та узагальнив результати).*

14. Sydorчук A, Sydorчук L, Syrota B, Sydorчук R, Vakarchuk A, Sydorчук I. The role of different E.coli variants emphasizing opportunistic infection and colonic resistance in inflammatory bowel disease. Symposium "Tailored Therapies for IBD: A Look into the Future" (Oct 05-06, 2018, Milan). Milan: 2018. P.104. *(Дисертант виконав дослідження, статистично опрацював, проаналізував та узагальнив отримані результати, підготував доповідь).*

15. Knut R, Sydorчук IR, Sydorчук L, Syrota B, Sydorчук I, Sydorчук A. et al. Linking gut dysbiosis in hepatitis C and interleukin 10 (rs1800872) and heat shock protein 70-2 (rs1061581) genes polymorphisms. Workshop "From Viral Hepatitis to Chronic Inflammation and Liver Cancer" (Feb 20-21, 2019, Heidelberg). Heidelberg: 2019. P.17. *(Здобувач зібрав матеріал, статистично опрацював, проаналізував та узагальнив отримані результати, підготував доповідь).*

16. Сирота БВ. Компенсаторні механізми неспецифічного протиінфекційного захисту у хворих на кишкові захворювання та розвитку гострих ешерихіозних ентероколітів. Мат. наук-практ. конф. з міжнародн. участю. "Здоров'я людини у сучасному світі: питання медичної науки та практики" (17-18 травня, 2019, Одеса). Одеса: 2019. С.48-50. *(Дисертант виконав дослідження, статистично опрацював, проаналізував та узагальнив отримані результати, підготував тези до друку).*

SUMMARY

Syrota B.V. Mechanisms of *Escherichia* gastroenterocolitis development depending on factors of its unfavorable course. – Qualifying scientific work on the rights of manuscripts.

Thesis for obtaining Candidate of Medical Sciences degree in specialty 222 – "Medicine" (14.03.04 – pathological physiology). – Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University" of the Ministry of Health of Ukraine, Chernivtsi, 2019.

About one billion of diarrhea-associated diseases are registered in the world annually [82, 83, 235]. Escherichiosis is one of the most common causes of diarrhea in the developed countries with the rate of 20-30 cases per 100 000 individuals [279]. Colienteritis is usually provoked by pathogenic variants *Escherichia coli* (*E. coli*): enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteroinvasive ones (EIEC), enteropathogenic (EPEC), enterohemorrhagic (EHEC), or enteroadhesive (EAEC). In spite of numerous studies of the mechanisms of development of pathology, certain key links of *Escherichia* gastroenterocolitis (GEC) pathogenesis are not sufficiently investigated from the position of immune-inflammatory, microbiological and genetic factors.

Objective of the study: to determine the mechanisms of development of acute *Escherichia* GEC considering immunological imbalance, the colon microbiota ecosystem, production of antibodies to the nuclei of bacterial endotoxins and molecular-genetic predictors.

The study was single-step in the form of "control-case". 95 patients suffering from acute GEC were screened. EPEC, ETEC, EIEC, EHEC or/and EAEC were isolated and identified from the colon cavity by means of bacteriological method. The clinical diagnosis was made according to the current orders of the Ministry of Health of Ukraine №90 dated 11.02.2016 and №59 dated 29.01.2013 [16, 17]. The age of patients ranged within 25 and 54 years (on an average $38,66 \pm 3,11$ years). There were 62 women (65,26%) and 33 men (34,74%) among them. In the course of performing the study the principles of biomedical ethics concerning conduction

of scientific studies with human participation were kept to. All the patients signed a written consent to participate in the study. The control group included 87 practically healthy individuals who did not differ reliably by their age and sex.

In the process of performing the study associations of *Escherichia* acute GEC with gene allele state of Heat Shock Protein (*HSP70-2*, rs1061581) and Interleukin 10 (*IL-10*, rs1800872), epidemiology of causative agents, taxonomic content and population level of the colon microbiota, plasma level of antibodies from IgM class to the nuclei of bacterial endotoxins, immunologic reactivity and the state of nonspecific anti-infectious protection were investigated. The methods of examination included common clinical, anthropometric, biochemical analyses; instrumental (ECG in 12 leads, measuring office blood pressure, sonography of the abdominal organs and kidneys, fibroesophagogastroduodenoscopy (FEGDS) if necessary); microbiological examinations of evacuations (with the aim to isolate *E.coli* from the content of colon cavity and identification of the isolated strains by morphological, cultural, biochemical properties and antigenic structure (O- and K-antigens)); immune-enzyme analysis (pro-inflammatory cytokines *IL-1 β* , *TNF α* , anti-inflammatory *IL-10*; antibodies of IgM class to the nuclei of bacterial endotoxins of the 4 gram-negative bacteria); genetic (polymerase chain reaction to determine polymorphism of genes *HSP70-2* (*1267G>A*) and *IL-10* (*C-592A*)); statistical-analytical. Amplicons of *HSP70-2* and *IL-10* genes underwent hydrolytic breaking down by means of restriction endonucleases *PstI* and *RsaI*, respectively («Thermo Scientific», USA). The obtained fragments of restriction were visualized by means of a transluminator at the presence of molecular mass marker 100-1000 pn (GeneRuler 50 bpDNALadder, «Thermo Scientific», USA).

The obtained data were statistically processed by means of the applied programs Excel[®] 2010 (Microsoft), Primer of Biostatistics[®] 6.05 and Statistica[®] 7.0 (StatSoft Inc., USA).

The obtained results are indicative of the fact that development and course of *Escherichia* GEC is clinically manifested by diarrhea phenotype in 60% of cases, dysentery-like and cholera-like variants – in 25,26% and 14,74% individuals

respectively. In 41,05% of patients colienteritis is caused by EPEC *E.coli*, in 29,47% of individuals – by ETEC, in 23,16% of cases – by EICB *E.coli*, in 11,58% of patients – by EHEC. In the majority of cases (78,57-91,67%) colienteritis is caused by monocultures of pathogenic *E.coli*: serovars O55:K59 (C=29,82%), O124:K72 (C=41,46%), or O127:K63 (constancy index 42,86%).

It was determined for the first time that in patients with acute *Escherichia* GEC mutation of *IL-10* (rs1800872) and *HSP70-2* (rs1061581) genes in homozygous state occurs with the rate of 9,47% and 3,16% respectively, while it was absent in the group of practically healthy individuals. Mutation *A*-allele of *IL-10* gene is associated with an increased risk of colienteritis onset in the population of the examined individuals practically twice as much (OR=1,98; p=0,046), while polymorphic variants of *HSP70-2* (rs1061581) gene are not additional risk factors of colienteritis among the examined people.

Development of *Escherichia* GEC is characterized by deep disorders of a taxonomic content and population level of autochthonous obligate anaerobic gram-positive microbiota with contamination and colonization of the colon cavity by opportunistic enterobacteria (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus* (C=96,84%)), peptococci (C=65,26%), yeast-like fungi from *Candida* family, pathogenic *E.coli* – EPEC (C=41,95%), ETEC (C=29,47%), EIEC (C=23,16%) and EHEC (C=11,58%), *Hemolytic (E.coli Hly+)* *E.coli* prevail (C=62,11%), and lactose-negative *E.coli Lac-* (C=33,68%) become additional.

For the first time it was found that with underlying *Escherichia* GEC severity of dysbacteriosis is associated with an increased level of antibodies from *IgM* class to the nuclei of bacterial endotoxins by 31,28% (p=0,033) and 80,45% (p=0,01) respectively. Unifactor dispersive analysis evidenced association of 1267A→G polymorphism of *HSP70-2* gene with an increased level of antibodies from *IgM* class to the nuclei of bacterial endotoxins (F=7,39; p=0,008), but only in the carriers of *GG*-genotype – by 49,76%. The risk of moderate and high degrees of endotoxiosis increases practically 5 times as much in patients suffering from *Escherichia* GEC, carriers of *GG*-genotype (OR=56,0; p<0,001). *A*-allele of *IL-10* gene increases the

probability of the 3rd and 4th degrees of dysbacteriosis practically 1,5 times as much (OR=2,36-3,50; p<0,05), though it is not a risk factor of high and moderate production of antibodies from *IgM* class to the nuclei of bacterial endotoxins.

Maladaptation of compensatory mechanisms of nonspecific anti-inflammatory defense is associated with an increased activity of effector cellular immunity link through the microphage system, increased reactive response of neutrophil granulocytes 1,97-2,25 times as much (p<0,001), against the ground of a reduced index of immunologic resistance 1,76-2,25 times as much, limitation of activity of the immune response effector link. For the first time it was determined that in individuals with *AA*-genotype of *IL-10* (*rs1800872*) gene and infected by pathogenic *E.Coli* immunologic mechanisms of GEC development are realized through the decrease of nonspecific resistance (by 20,11-27,52%); increased index of immunologic response, especially in patients with *GG*-genotype of *HSP70-2* gene by 14,67% (p=0,004) and *A* allele of *IL-10* gene by 12,40% (p=0,008).

Scientific data are supplemented that changes of immune-inflammatory response of patients with Escherichia GEC are characterized by an increased synthesis of pro-inflammatory cytokines *IL-1 β* and *TNF α* by 40,93% and 44,44% respectively, against the ground of a decreased production of anti-inflammatory *IL-10* and 37,30% (p<0,001). It is indicative of imbalance between a high activity of the immune cellular link at the expense of *Th1* lymphocyte and macrophages/monocytes and in sufficient activity of the humoral link of *Th2* system and activity of *B*-lymphocytes.

For the first time the association of gene promoter of Heat Shock Protein *HSP70-2* (*1267A*→*G*) is found with an increased level of *IL-1 β* in the blood, more considerably in the carriers of *GG*-genotype by 45,05% (F=11,66; p<0,001), and a decreased concentration of *IL-10* (F=4,56; p=0,035), more substantial for the carriers of *GG*-genotype by 23,38% (p=0,031). On the contrary, promoter of *IL-10* (*C-592A*) gene is associated with a decreased content of *IL-10* (F=3,14; p=0,048) only, the strongest in the carriers of the mutation *A*-allele by 26,95% and 20,64% (p<0,05) respectively.

Therefore, for the first time we have elaborated new links and specified and supplemented the existing links of pathogenesis of *Escherichia* GEC development considering taxons of enteropathogenic *Escherichia*, associations of molecular-genetic factors – polymorphism of *HSP70-2* (rs1061581) and *IL-10* (rs1800872) genes with immunologic imbalance, changes of ecosystem of the colon cavity microbiota and *Escherichia* endotoxycosis.

Key words: *Escherichia* gastroenterocolitis, endotoxycosis, immunity, mechanisms, microbiota, genes polymorphism *HSP70-2* (1267G>A), *IL-10* (C-592A), risks.

LIST OF THE WORKS PUBLISHED ON THE THESIS TOPIC

1. Syrota BV. Patogenetic value of intestine microbiota ecosystem in the *Escherichiosis* enterocolitis development. *Bukovinian Medical Herald* 2017; 21(1(81)):141-145.

2. Syrota BV, Sydorчук LP. Role of enteropathogenic *Escherichia coli* in the development of acute enterocolitis. *Family Medicine. Scientific-practical Journal* 2017; 1(69):111-114.

3. Syrota BV, Sydorчук LP. Are genes of interleukins' 10 (RS1800872) and heat shock protein 70-2 (RS1061581) predictive markers of cytokines production in patients with enterocolitis. *Journal of Education, Health and Sport* 2018; 8(7):615-622. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1406189>

4. Sydorчук L, Syrota B, Sydorчук A, Iftoda O, Korovenkova O, Kushnir O. Interleukins' 10 (RS1800872) and heat shock protein 70-2 (RS1061581) genes as risk markers of enterocolitis depending on cytokines production. *The Pharma Innovation Journal* 2018; 7(9): 178-192.

5. Syrota BV. Immuno-hematological indices of endogenous intoxication and cellular reactivity at acute diarrhea's *Escherichiosis*. *Bukovinian Medical Herald* 2019; 23(1(89)):74-80.

6. Sydorчук LP, Syrota BV, Sydorчук AR, Gerush OV, Muzyka NY, Sheremet MI, Korovenkova OM, Bohdan NS, Nikyfor LV, Skrynychuk OY, Iftoda

OM, Ivashchuk SI, Kushnir OV. Clinical markers of immune disorders in pathogenesis of Colienteritis. *Archives of the Balkan Medical Union* 2019; 54(1):89-96.

7. Sydorhuk L, Syrota B, Korovenkova O, Muzyka N, Bohdan N, Hudz N, Tkachuk O, Nikifor L, Iftoda O, Kushnir O, Sydorhuk R. *Med Surg J – Rev Med Chir Soc Med Nat, Iași*. 2019; 123(1):147-152.

8. Syrota BV, Sydorhuk LP, Kazantseva TV, Petrynych OA, Melnychuk LV, Nikifor LV, Kriklyetz LH, Semyaniv MM, Repchuk YuV, Flundra IG, Boyko VV. Method of prediction of coli Escherichiosis endotoxycosis taking into account genetic factors: patent for utility model №117583 Ukraine, IPC (51) A61B 10/00 (2017.01), G01N 33/50 (2006.01). No. u 2017 01367; patent owner Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University" (UA); stated February 13, 2017; published June 26, 2017, Bul. No. 12.

9. Syrota BV, Sydorhuk LP, Kazantseva TV, Petrynych OA, Melnychuk LV, Nikifor LV, Kriklyetz LH, Semyaniv MM, Repchuk YuV, Flundra IG, Boyko VV. The method of genetic diagnostics of immunological disorders of coli Escherichiosis endotoxycosis: patent for utility model №117570 Ukraine, IPC (51) G01N 33/50, G01N 33/569 (2006.01). No. u 2017 01321; patent owner Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University" (UA); stated February 13, 2017; published June 26, 2017, Bul. No. 12.

10. Sydorhuk L, Boychuk T, Syrota B, Sydorhuk R, Sydorhuk I, Plehutsa O, Sydorhuk A, Plehutsa I, Sydorhuk L. The role of different E.coli variants emphasizing colonic inflammation: breaking the mucosal barrier. Symposium "IBD 2017 – Therapeutic and Biological Barriers" (6-8 October, 2017, Berlin). Berlin: 2017. P.128.

11. Sydorhuk R, Boychuk T, Sydorhuk L, Syrota B, Sydorhuk I, Plehutsa O, Sydorhuk A, Sydorhuk L. Combined use of pre- and probiotics therapy influence on both colonic resistance and clinical course in IBD. Symposium "IBD 2017 – Therapeutic and Biological Barriers" (6-8 October, 2017, Berlin). Berlin: 2017. P.129.

12. Sydoruk LP, Syrota BV. Etiopathogenetic role of enteropathogenic *Escherichia coli* in diarrhea Gastroenterocolitis. Materials of the theoretical and practical Conference with the participation of international experts "Modern problems of antibiotic therapy and formation of antibioticoresistance" (January 21, 2018, Chernivtsi). Chernivtsi: 2018. P.83-84.

13. Sydoruk L, Syrota B. Etiopathogenic predictors and their role in the development of acute enterocolitis. 8th International Congress of Pathophysiology (5-8 September, Bratislava). Pathophysiology. 2018; 25(3): 227-228. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2018.07.145>

14. Sydoruk A, Sydoruk L, Syrota B, Sydoruk R, Vakarchuk A, Sydoruk I. The role of different *E. coli* variants emphasizing opportunistic infection and colonic resistance in inflammatory bowel disease. Symposium "Tailored Therapies for IBD: A Look into the Future" (Oct 05-06, 2018, Milan). Milan: 2018. P.104.

15. Knut R, Sydoruk IR, Sydoruk L, Syrota B, Sydoruk I, Sydoruk A. et al. Linking gut dysbiosis in hepatitis C and interleukin 10 (rs1800872) and heat shock protein 70-2 (rs1061581) genes polymorphisms. Workshop "From Viral Hepatitis to Chronic Inflammation and Liver Cancer" (Feb 20-21, 2019, Heidelberg). Heidelberg: 2019. P.17.

16. Syrota BV. Compensatory mechanisms of nonspecific anti-infective protection in patients with intestinal diseases and the development of acute *Escherichia coli* enterocolitis. Materials of the theoretical and practical Conference with the participation of international experts "Human health in the modern world: issues of medical science and practice" (May 17-18, 2019, Odessa). Odessa: 2019. P.48-50.