

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0823U101610

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 05-12-2023

Статус: Запланована

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Люй Мінчень --

2. Mingcheng -. Liu

Кваліфікація: 211

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-3862-3567

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 211

Назва наукової спеціальності: Ветеринарна медицина

Галузь / галузі знань: ветеринарна медицина

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Ветеринарна медицина

Дата захисту: 25-01-2024

Спеціальність за освітою: 211 Ветеринарна медицина

Місце роботи здобувача:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ID3465

Повне найменування юридичної особи: Сумський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 04718013

Місцезнаходження: вул. Герасима Кондратьєва, буд. 160, Суми, Сумський р-н., 40021, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Сумський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 04718013

Місцезнаходження: вул. Герасима Кондратьєва, буд. 160, Суми, Сумський р-н., 40021, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Англійська

Коди тематичних рубрик: 68.41

Тема дисертації:

1. Експериментальне дослідження патогенезу стрептококової інфекції свиней
2. Experimental research on pathogenesis of Streptococcus suis infection

Реферат:

1. У дисертаційній роботі представлено експериментальне дослідження патогенезу менінгіту за стрептококової інфекції свиней на основі дослідження патогенетичних процесів піроптозу через експресію mRAN пов'язаних з піроптозом генів і білків та змін морфології ендотеліальних клітин мікросудин головного мозку білих мишей при інфікуванні Streptococcus suis серотипу 2. Досліджено декілька поширених факторів вірулентності збудника S. suis 2, таких як CPS, SLY, MRP, EF, SAO, Srt, FBPS, SadP та Eno. У результаті проведених досліджень було відпрацьовано застосування культури клітин ендотелію мозку bEnd.3 за різних схем зараження S. suis 2-го типу, підібрано дозу для інфікування з метою отримання оптимального процесу експресії РНК та виділенням інтерлейкінів. Встановили, що оптимальне число зараження ендотеліальних клітин мікросудин головного мозку миші (bEnd.3) становило 100:1, а оптимальний час зараження становив 12 годин. Ендотеліальні клітини мікросудин головного мозку миші (bEnd.3) були розділені на 4 групи: контрольна група, інфікована група клітин LPS+ аденозинтрифосфатом (АТФ), інфікована група клітин S. suis 2 і інфікована група клітин S. suis 2 + Ac-YVAD-CMK (CMK, інгібітор каспази-1). три групи були інфіковані

Streptococcus suis типу 2 відповідно до вищевказаних умов, і кілька повторень були виконані одночасно. Через 12 годин клітини та супернатанти клітин збирали для проведення тестів. Виділено кДНК за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) для експресії мРНК цитокінів. Встановлено, що рівні експресії мРНК каспази-1, il-18 та il-1beta у групі LPS + ATP і *S. suis* 2 були вищими, ніж у контрольній групі, що вказує на велику кількість цитокінів. У той же час рівні експресії мРНК каспази-1, il-18 та il-1beta у групі *S. suis* 2 + CMK були значно нижчими, ніж у групі *S. suis* 2 + CMK, що свідчить про те, що інгібітор каспази-1 CMK проявляв пригнічуючу дію. Також було проведено визначення концентрації білка, а потім проводили тест для виявлення рівня експресії білка споріднених генів. Встановлено, що в порівнянні з контрольною групою експресія білків IL-18, IL-1 α , каспази-1, GSDM-D і GSDM-E у групі LPS + ATP була значно підвищеною, збільшуючись у 0,477, 0,088, 0,378, 1,118 і 3,05 рази відповідно. Експресія білків IL-18, IL-1 α , каспази-1, GSDM-D і GSDM-E у культурі клітин інфікованих *S. suis* 2 була значно підвищена, а саме у 1,024, 0,066, 0,376, 0,453 і 1,654 рази відповідно. Результати проведених досліджень показали, що порівняно з групою культури клітин інфікованих *S. suis* 2, експресія білка в групі культури клітин *S. suis* 2 + CMK значно знижувалася в 0,6, 0,396, 0,298, 0,743 і 0,586 рази відповідно. Отримані результати показали, що інфікування збудником *S. suis* 2 ендотеліальних клітин мікросудин (bEnd.3) викликало інтенсивну запальну реакцію і навіть піроптоз клітин. У той же час інгібітор каспази-1 CMK зіграв досить гарний інгібуючий ефект. У результаті проведених досліджень було встановлено, що у супернатанті клітинної культури також виявлено вміст білка IL-6, IL-10, IL-18, IL-1beta, каспази-1. У подальшому дослідженні з'ясовано, що порівняно з контрольною групою відносна експресія TNF- α , IL-6, IL-10, IL-18, IL-1 α у супернатанті клітин групи *S. suis* та групи LPS + ATP була значно збільшена, і різниця була статистично достовірною ($P < 0,01$). Було встановлено, що порівняно з групою культур клітин інфікованих *S. suis* та групою культур клітин LPS+ATP відносний рівень експресії TNF- α , IL-6, IL-10, IL-18, IL-1 α у групі *S. suis* + CMK був значно знижений, і різниця була статистично достовірною ($P < 0,01$). Отримані результати досліджень вказують на те, що загибель клітин, викликана *S. suis* 2 і LPS+ATP, може пригнічуватися Ac-YVAD-cmk (CMK), який є селективним інгібітором фермента каспази-1 і має нейропротекторну та протизапальну дію. Наступним етапом досліджень було проведення дослідження за зміною морфології інфікованих клітин. Дослідження морфологічних змін в культурі клітин і фіксацію етапів піроптозу проводили за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії. Результати електронної мікроскопії показали, що цілісність клітинної мембрани в дослідній групі культури клітин LPS+ATP і групі *S. suis* 2 була порушена, реєстрували швидке вивільнення назовні вмісту клітин. Дані отримані в ході дослідження доводять, що при інфікуванні бактеріальним патогеном *S. suis* 2 ендотеліальних клітин мікросудин головного мозку білих мишей виникає запальна реакція та патогенетичні процеси розвитку піроптозу. На основі отриманих результатів досліджень обґрунтовано патогенез менінгіту за стрептококової інфекції свиней, спричиненого *S. suis* серотипу 2, що є основою для розробки таргетних терапевтичних засобів та розробки вакцини проти стрептококової інфекції свиней, що в свою чергу забезпечать зменшення втрат у свинарстві і сприяє розвитку тваринництва.

2. The dissertation presents an experimental research on the pathogenic mechanism of meningitis of the streptococcal infection of pigs based on study of the pathogenetic processes of pyroptosis through the expression of mRAN of pyroptosis-related genes and proteins and changes in morphology of endothelial cells of brain microvessels of white mice infected with *Streptococcus suis* serotype 2. *Streptococcus suis* (*S. suis*) is an important zoonotic pathogen that can cause many diseases in pigs, such as sepsis, arthritis, endocarditis and meningitis, of which meningitis is the most serious. There are 35 serotypes of, and serotype 2 is the most virulent. This paper described several common virulence factors, such as CPS, SLY, MRP, EF, SAO, Srt, FBPS, SadP and Eno. In this study, *S. suis* 2 was used to infect mouse brain microvascular endothelial cell (bEnd.3). First, the infection conditions were screened. The results showed that the optimal infection number was 100:1 and the optimal infection time was 12 hours. Brain microvascular endothelial cells were divided into 4 groups: control group, LPS+ Adenosine triphosphate (ATP) infection group, *S. suis* 2 infection group and *S. suis* 2+ Ac-YVAD-CMK (CMK, caspase-1 inhibitor) infection group. The following three groups were infected with *Streptococcus suis* type 2 according to the above conditions, and multiple replicates were performed simultaneously. After 12 hours, the cells

and cell supernatants were collected for different tests. Total RNA was extracted, RNA concentration was measured, and cDNA was obtained by reverse transcription. cDNA was detected by qPCR for mRNA expression of cytokines. Compared with the control group, the mRNA expression levels of caspase-1, il-18 and il-1beta in LPS+ATP group and S. suis 2 group were higher than those in the control group, indicating that a large number of cytokines related to pyroptosis were secreted. At the same time, mRNA expression levels of caspase-1, il-18 and il-1beta in S. suis 2 +CMK group were significantly lower than those in S. suis 2 +CMK group, indicating that CMK inhibitor played an inhibitory role. At the same time, protein was extracted from the collected cells, the protein concentration was measured, and then WB test was carried out to detect the protein expression level of related genes. Compared with the control group, the protein expressions of IL-18, IL-1 α , caspase-1, GSDMD and GSDME in LPS+ATP group were significantly up-regulated, increasing by 0.477, 0.088, 0.378, 1.118 and 3.05 times, respectively. The protein expressions of IL-18, IL-1 α , caspase-1, GSDMD and GSDME in S. SUIS 2 group were significantly up-regulated, increasing by 1.024, 0.066, 0.376, 0.453 and 1.654 times, respectively. Compared with S. SUIS 2 group, protein expression in S. suis 2+CMK group was significantly decreased by 0.6, 0.396, 0.298, 0.743 and 0.586 times, respectively. The results showed that S. suis 2 infection of brain microvascular endothelial cells caused intense inflammatory reaction and even pyroptosis of cells. At the same time, the inhibitor CMK played a good inhibitory effect. In addition, the protein content of IL-6, IL-10, IL-18, IL-1beta, caspase-1 in the cell culture supernatant was also detected. Compared with control group, the relative expression of TNF- α , IL-6, IL-10, IL-18, IL-1 α in cell supernatant of SS group and LPS+ATP group was significantly increased, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). Compared with S. suis 2 group and LPS+ATP group, the relative expression level of TNF- α , IL-6, IL-10, IL-18, IL-1 α in S. suis 2 + CMK group was significantly decreased, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$), indicating that coke death caused by S. suis 2 and LPS+ATP could be inhibited by CMK. At the same time, At the same time, the release rate of lactate dehydrogenase in the cell supernatant was also measured, and the results showed that the release rate of lactate dehydrogenase in LPS+ATP group and S. suis 2 group was much higher than that in the control group, and the difference was extremely significant. In S. suis 2 + CMK group, the release rate of lactate dehydrogenase decreased sharply under the action of the inhibitor. In order to observe the morphology of infected cells, the collected cells were also observed by transmission electron microscopy. The results of electron microscopy showed that the cell membrane of LPS+ATP group and S. suis 2 group was broken and the cell contents were leaked out. Combined with the above other results, it can be concluded that under the infection of S. suis 2, brain microvascular endothelial cells produced an inflammatory response and pyroptosis occurred. In the dissertation work on the basis of research are substantiated the pathogenic mechanism of Streptococcus suis, inhibitor protection to develop target drugs and vaccine for meningitis, reduce losses of pig industry and promote the healthy development of animal husbandry.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Технологічне оновлення та розвиток агропромислового комплексу

Підсумки дослідження: Теоретичне узагальнення і вирішення важливої наукової проблеми

Публікації:

- Mingcheng Liu, Kasianenko Oksana (2022). Screening of infection conditions for brain microvascular endothelial cells infected by Streptococcus suis. Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences, 5, № 2, 28–31.
- Mingcheng Liu, Xiaojing Xia, Xingyou Liu, Kasianenko Oksana. Research Progress on the pathogenic mechanism of Streptococcus suis 2. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series Veterinary Science. 2021, 23, № 104, 30–35.

- Kasianenko O., Mingcheng Liu. The molecular mechanism of pyroptosis and its related diseases. Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine. 2022, 2 (57), 16–26.
- Liu Mingcheng (2023). Primary culture and identification of mouse brain microvascular endothelial cells. Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology. 2023, 24, №1, 74–80.
- Kasianenko O., Liu Mingcheng (2023). Streptococcus suis infection (diagnosis, prevention and treatment). Bulletin of Sumy National Agrarian University, 3 (62), 125–130.
- Liu Mingcheng; Kasianenko Oksana (2021). Extraction and reverse transcription of total RNA from mouse brain-derived endothelial cells.3 infected by Streptococcus suis 2. Proceedings of the 5th Annual Conference, Tallinn, Estonia, 39–41.
- Liu Mingcheng, Kasianenko Oksana (2021). Scientific research on surface proteins of Streptococcus suis type 2. Materials of the Scientific and practical conference of teachers, graduate students and students of the Sumy National Agrarian University. Sumy, 214.
- Люй М., Касяненко О. (2022). Екстракція загальної РНК з мікросудинних ендотеліальних клітин головного мозку білих мишей. Summaries of reports of the XX All-Ukrainian Scientific and Practical Young Scientists, dedicated to the 90th anniversary of the birth of Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of the National Academy of Sciences, Honored Worker of Science and Technology of Ukraine Makar Ivan Arseniyovych. Lviv, Animal Biology, т 24, № 2, 52.
- Liu Mingcheng, Kasianenko Oksana (2022). Gasdermin and its role in pyroptosis. III CISP Conference «Science of post-industrial society: globalization and transformation processes». Grail of science. Veterinary sciences, 17, 207–209.
- Liu Mingcheng, Kasianenko Oksana (2022). Screening of optimal multiplicity of infection and optimal infection time of mouse brain microvascular endothelial cells infected with Streptococcus suis 2. Materials of the All-Ukrainian scientific conference of students and graduate students dedicated to the International Student Day of the Sumy National Agrarian University, Sumy, 163.
- Liu Mingcheng, Kasianenko Oksana (2020). Epizootological investigation of swine epidemic diarrhea in Jiaozuo of Henan province, China Materials of the Scientific and practical conference of teachers, graduate students and students of the Sumy National Agrarian University. Sumy, 231.
- Mingcheng Liu, Kasianenko Oksana (2023). Mechanism of escape neutrophil extracellular traps from Streptococcus suis. International scientific and practical conference of scientific and pedagogical workers and young scientists «Current aspects of the development of veterinary medicine in the conditions of european integration», dedicated to the 85th anniversary of the establishment of the Faculty of Veterinary Medicine of OSAU, Odesa, 338.
- 6. Mingcheng Liu, Kasianenko Oksana (2023). Streptococcus suis infection (etiology, epidemiology, laboratory diagnosis, prevention and treatment). Scientific and practical recommendations. Sumy, 27 (Approved at the meeting of the Academic Council of the SNAU (Protocol № 18, dated 29.05. 2023).

Наукова (науково-технічна) продукція: mingcheng liu, kasianenko oksana (2023). streptococcus suis infection (etiology, epidemiology, laboratory diagnosis, prevention and treatment). scientific and practical recommendations. sumy, 27 (approved at the meeting of the academic council of the snau (protocol № 18, dated 29.05. 2023).

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПВ:

Впровадження результатів дисертації: Впроваджено

Зв'язок з науковими темами: 0122U001254

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Касяненко Оксана Іванівна
2. Oksana I. Kasianenko

Кваліфікація: д. вет. н., професор, 16.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-8453-1957

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Сумський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 04718013

Місцезнаходження: вул. Герасима Кондратьєва, буд. 160, Суми, Сумський р-н., 40021, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Айшпур Олена Євгенівна
2. Olena Y. Aishpur

Кваліфікація: д. вет. н., с.н.с., 16.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-1848-8708

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України

Код за ЄДРПОУ: 05510830

Місцезнаходження: вул. Донецька, буд. 30, Київ, 03151, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія аграрних наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Уховський Віталій Вікторович
2. Vitalii V. Ukhovskyi

Кваліфікація: д. вет. н., професор, 16.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-7532-3942

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

Код за ЄДРПОУ: 00699690

Місцезнаходження: вул. Донецька, 30, Київ, 03151, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство аграрної політики та продовольства України

Ідентифікатор ROR:

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Коваленко Лідія Михайлівна

2. Lidiya M. Kovalenko

Кваліфікація: к. вет. н., доц., 16.00.11

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-4350-2284

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Сумський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 04718013

Місцезнаходження: вул. Герасима Кондратьєва, буд. 160, Суми, Сумський р-н., 40021, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Ребенко Галина Іванівна

2. Halyna I. Rebenko

Кваліфікація: к. вет. н., доц., 16.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-1884-4901

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Сумський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 04718013

Місцезнаходження: вул. Герасима Кондратьєва, буд. 160, Суми, Сумський р-н., 40021, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Нагорна Людмила Володимирівна

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Нагорна Людмила Володимирівна

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Веретейченко Ірина Анатоліївна

Реєстратор

УкрІНТЕІ

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Тетяна Анатоліївна