

## РІВЕНЬ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ *NOS2* ТА *NFKB1* ЗА УМОВ ОПІКУ СТРАВОХОДУ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ МЕЛАНІНУ

Н.М. ЧОРНЕНЬКА, Я.Б. РАЄЦЬКА, А.С. ЮЕТ, О.М. САВЧУК, Т.В. БЕРЕГОВА, Л.І. ОСТАПЧЕНКО

Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
01601, Київ, вул. Володимирська 64/13

E-mail: nata.chornenka24@gmail.com

*В ході дослідження нами було показано підвищення рівня експресії генів, залучених до розвитку запалення, Nos2 та Nfkb1 у крові та слизовій оболонці стравоходу за умов лужного опіку стравоходу 2 ступеня (ЛОС 2). Було виявлено, що при ЛОС 2 у крові та слизовій оболонці стравоходу підвищувалася активність eNOS та iNOS. При введенні меланіну було показано зниження рівня експресії генів Nos2 та Nfkb1 у крові та тканинах стравоходу порівняно з показниками за ЛОС 2. Також, відзначалося зниження активності eNOS та iNOS порівняно з показниками при ЛОС 2, що вказує на протизапальні властивості цієї сполуки та можливість використання меланіну як речовини, що сприяє більш швидкому загоєнню хімічного опіку стравоходу та попередженню післяопікових ускладнень.*

**Ключові слова:** лужний опік стравоходу, експресія генів *Nos2*, *Nfkb1*, оксид азоту, меланін.

**Вступ.** На опікову травму організм відповідає неспецифічною запальною реакцією, яка проявляється утворенням активних форм кисню, медіаторів запалення та цитокінів (Abo EI-Noog, 2017; Stanojčić, 2018). Медіатори запалення індукують адгезію нейтрофільних гранулоцитів і непрямим шляхом ініціюють проліферацію гладком'язових клітин (Wigenstama et al, 2016). Однією з функцій лейкоцитів є продукування молекули медіатора – оксиду азоту (NO), яку каталізує фермент синтаза оксиду азоту (NOS) (EC 1.14.13.39) (Zhou et al, 2017).

Ген *Nos2* кодує фермент індуцибельну синтазу оксиду азоту (iNOS), яка сприяє синтезу важливої медіаторної молекули NO. iNOS або макрофагальна (mNOS) є кальцій незалежною та індукується макрофагами, цитокінами або ліпополісахаридами з клітинних стінок бактерій внаслідок патогенного впливу (Basaran et

al, 2005). iNOS є одним з основних медіаторів запалення в різних типах клітин, включаючи клітини стравоходу.

Також, існують ще дві ізоформи цього ферменту, які є конститутивні (NOS I та NOS III). NOS I, вона є ж і нейрональною (nNOS), експресується в нейронах центральної та периферійної нервової системи, тромбоцитах, скелетних м'язах тощо (Eduardo et al, 2016). NOS III – ендотеліальна NOS (eNOS), міститься у великій кількості в ендотелії, у тому числі ендотелії судин мікроциркуляторного русла ШКТ. Функціонування конститутивних форм (cNOS) є кальційзалежним процесом і її активність залежить від концентрації кальцію та кальмодуліну (Mees et al, 2007).

Ядерний фактор «капа-бі» – це поліпептидний комплекс факторів транскрипції В-клітин, який складається з 5 субодиниць. За структурою субодиниці поділяють на дві групи: перша – це субодиниці NFKB1 (p105/p50) та NFKB2 (p100/p52), друга – це RelA (також його називають p65), RelB і c-Rel, які мають С-кінцеві домени активації транскрипції на відміну від першої групи (Cartwright et al, 2016). Ген *Nfkb1* кодує ядерний фактор «капа-бі» субодиниця 1, який контролює велику групу генів, відповідальних за процес запалення, проліферацію клітин та апоптоз. Його експресію можуть активувати цитокіни, активні форми кисню, бактерії або віруси (Mitchell et al, 2016).

Один з основних шляхів, за допомогою якого NO та його похідні (пероксинітрит та діоксид азоту) спричиняють розвиток запального процесу, є здатність індукувати пошкодження ДНК за допомогою одно- та дволанцюгових розривів, підвищенням рівня дезамінування ДНК (Bartesaghi et al, 2017), або інгібуючи активність ферментів відновлення ДНК (ДНК-полімераза, ДНК-лігаза, екзо- та

ендонуклеаза) за рахунок нітрозилування тирозину та цистеїну (Nakazawa et al, 2017).

Транскрипційна активність iNOS контролюється одним з основних ядерних факторів, що активують експресію iNOS – ядерним фактором «капа-бі» (NF-κB) (Duan, 2009; Nakazawa, 2015). Але, в свою чергу, висока активність iNOS активує NF-κB шляхом інактивації основного його інгібітору Sirt1. Таким чином, спостерігається замкнуте коло взаємної індукції iNOS та NF-κB. Оскільки NF-κB та iNOS є одними з головних ланок розвитку запального процесу, доцільно було дослідити їх активність за хімічного опіку стравоходу (Nakazawa et al, 2017).

Як було описано в наших попередніх дослідженнях, речовина меланін, яка є поліфенольною сполукою (Carletti et al, 2014), має антиоксидантні (Ahmady El-Naggar et al, 2017), ранозагоюючі властивості (Kunwar, 2012; Salih, 2017), сприяє зниженню запальних процесів. До того ж, меланін володіє імуномодельючими (Chornenka, 2017; Расса, 2005), стрес-протекторними властивостями (Kunwar et al, 2012), покращує мікроциркуляцію в тканинах (ElObeid et al, 2017).

Тому, метою даної роботи було визначити рівень експресії генів, залучених до розвитку запалення, *Nos2* та *Nfkb1*, визначити рівень окисного стресу, який спричинений надмірним синтезом оксиду азоту на різних стадіях експериментальної опікової хвороби та за введення меланіну.

**Матеріали і методи. Моделювання опіку.** У роботі дотримувались загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 р.) та з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, інших міжнародних угод і національного законодавства в цій галузі. Досліди проводили на білих нелінійних статевонезрілих щурах (1-місячних) масою 90–110 г (що відповідає 1–4-річному віку дітей). Опік моделювали 20%-ним розчином NaOH, що відповідає 2 ступеню опіку, для цього вводили зонд у стравохід запаєним торцем і отвором на відстані 2 мм від нього. Зонд вводили на глибину 4 см

від верхніх різців щура та повільно вводили 0,2 мл 20 % NaOH, таким чином відтворюючи 2 ступінь опіку. Контрольним щурам одноразово перорально вводили відповідний об'єм води для ін'єкцій (Raetska et al, 2013). Тварин утримували на стандартному раціоні віварію.

**Формування груп.** Дослідних тварин поділяли на групи: група 1 – контрольна, здорові щури (інтактний контроль, n = 15); група 2 – щури, яким моделювали лужний опік стравоходу другого ступеня (ЛОС 2), яким вводили фізіологічний розчин у відповідній дозі та терміни (опік-контроль, n = 45); група 3 – щури з ЛОС 2 ступеня, яким вводили перорально меланін, починаючи з 2-ї доби експерименту, у дозі 1 мг/кг, протягом 14 днів (n = 45).

**Отримання меланіну.** Продуцентом меланіну, використаного в нашому дослідженні, були дріжджеподібні гриби *Nadsoniella nigra* штам X1, висіяні із зразків вертикальних скель о. Галіндез (Chyzhanska et al, 2007). Сухий екстракт меланіну розчиняли в дистильованій воді, у концентрації 1 мг/кг тварини.

**Отримання біологічного матеріалу.** Методом виведення тварин із досліду була цервікальна дислокація. Цільну кров та тканини стравоходу для визначення експресії генів *Nos2* та *Nfkb1* та сироватку крові для визначення активності iNOS та eNOS отримували на 7, 15 та 21 добу, які відповідають стадіям опікової хвороби (Fistal et al, 2004).

**Визначення активності NO-синтази.** Для визначення загальної активності NO-синтази аліквоти сироватки крові та гомогенатів клітин інкубували впродовж 60 хв при 37 °C в загальному об'ємі 120 мкл субстратної суміші (pH = 7,0), яка містила: 50 мкМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1 мкМ  $\text{MgCl}_2$ , 2 мкМ  $\text{CaCl}_2$ , 4,8 мМ НАДФН, 2 мкМ L-аргінін. Реакцію зупиняли, додаючи 0,3 мл 2N  $\text{HClO}_4$ . Контролем були проби, що містили повну субстратну суміш та попередньо денатурований білок 2N  $\text{HClO}_4$ . Методика визначення активності індукбельної NOS була аналогічна попередній з деякими відмінностями: для визначення активності  $\text{Ca}^{2+}$ -незалежної NOS в інкубаційну суміш замість  $\text{CaCl}_2$  додавали 2 мкМ EDTA. Контрольну та дослідні суміші центрифугували 10 хв при 3500 об/хв і в надосадовій безбілковій суміші визначали вміст L-цитруліну за кольоровою

реакцією з антипірином. Цитрулін визначали високочутливим колориметричним методом (Boyde et al, 1980). Безбілкові аліквоти проб, об'ємом 100 мкл, змішували з 1 мл 59 мМ діацетилмонооксиду та 1 мл 32 мМ антипірину з 55 мкМ сульфату заліза в 6N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ставили на 15 хв на водяну баню (96–100 °С) і після охолодження визначали екстинцію при  $\lambda = 465$  нм. Вимірювання проводили проти проби, яка містила 100 мкл дистильованої води, 1 мл діацетилмонооксиду та 1 мл антипірину з сульфатом заліза. Вміст цитруліну визначали за допомогою калібрувального графіку.

**Кількісна ЗТ-ПЛР у реальному часі.** РНК отримували за методом Chomczynski. Синтез кДНК та кількісну полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі (Real-time PCR, кПЛР) за допомогою комерційного набору «Thermo Scientific Verso SYBR Green 1-Step qRT-PCR ROX Mix» («Thermo Scientific», Литва), використовуючи по 0,4 мкмоль/л кожного праймера, проводили за таких, рекомендованих фірмою-виробником, температурних умов: синтез кДНК 50 °С – 30 хв; ініціююча денатурація 95 °С – 15 хв; далі 40 циклів: денатурація ДНК 95 °С – 15 с; гібридизація праймерів 50 – 53 °С – 35 с; добування ланцюга 72 °С – 30 с; елонгація ампліфікатів 72 °С – 5 хв.

У реакціях було використано такі послідовності праймерів: для *Nos2* – прямий – STAAGTCAACTACAAGCCCCA та зворотний – STTTCAGGTCACCTTGGTAG; *Nfkb1* – прямий – TTCCTGATCCCGACAAGAAGCTG та зворотний – CCCCCAGAGACCTCATAGTTGT; для *Actb* (ген  $\beta$ -актину, що використовується в якості внутрішнього контролю реакції завдяки конститутивній експресії) – прямий – TGGGACGATATGGAGAAGAT та зворотний – ATTGCCGATAGTGATGACCT. Відтворюваність результатів ампліфікації було перевірено в паралельних експериментах шляхом повторення кПЛР на зразках РНК усіх тварин, із кожним праймером не менше трьох разів. Після кожного циклу ампліфікації зчитувалась флуоресценція барвника SYBR Green I, а по закінченні реакції будувалась крива плавлення для контролю утворення димерів праймерів та специфічності реакції. Початкову кількість мРНК обраховували за порівняльним СТ методом « $\Delta\Delta C_T$  Method», ефективність ПЛР реак-

ції була однаковою ( $E_x = (10^{-1/\text{slope}}) - 1$ ),  $\text{slope} < < 0,1$ . Відносну кількість мРНК зазначених генів нормалізували до мРНК *Actb* (Chomczynski et al, 1987).

**Статистична обробка результатів досліджень.** Отримані дані тестували на нормальне розподілення за допомогою тесту Шапіро-Вілка з використанням програмного пакету GraphPad Prism 5.04 (GraphPad Software Inc., США). Подальший обрахунок результатів відбувався за допомогою двофакторного дисперсійного аналізу (two-way ANOVA) із пост тестом Бонферроні. Отримані результати наведені у вигляді середнього арифметичного  $\pm$  середньоквадратичне відхилення (дисперсія) – SD. Результати вважали значущими, коли  $p \leq 0,05$ .

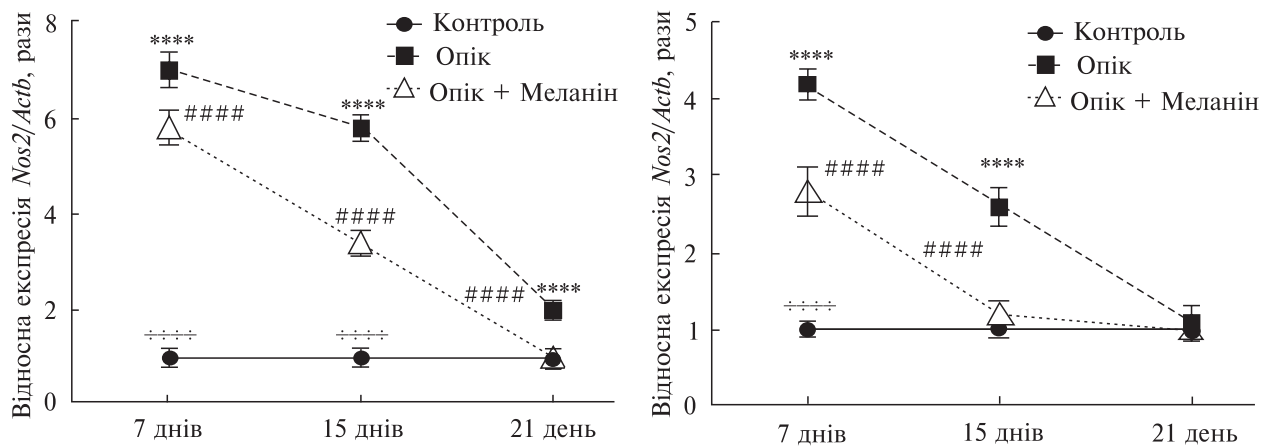
**Результати і обговорення.** Нами було проведено моделювання лужного опіку стравоходу другого ступеня, визначено Рівень експресії гена *Nos2* в слизовій оболонці стравоходу в групі тварин з ЛОС 2 був вищим у 7, 5,8 і 2 рази ( $p \leq 0,0001$ ) на 7, 15 і 21 добу загоєння відповідно в порівнянні з контролем (рис. 1).

У щурів, які вживали меланін, цей показник був в 1,2 та 1,7 рази ( $p \leq 0,0001$ ) нижчим на 7 і 15 добу відповідно, ніж у тварин другої групи (на 21 добу рівень мРНК зазначеного гена був на рівні контрольних значень), та виявився менш підвищеним відносно контролю: у 5,8, та 3,4 рази ( $p \leq 0,0001$ ) на 7 і 15 добу загоєння відповідно.

Рівень експресії гена *Nos2* в крові, у групі тварин з опіками стравоходу, був вищим у 4,2 і 2,6 рази ( $p \leq 0,0001$ ) на 7 і 15 добу загоєння відповідно в порівнянні з контролем (рис. 2). На 21 добу зазначений показник повертався до контрольних значень.

У щурів, які вживали меланін, цей показник був в 1,5 рази ( $p \leq 0,0001$ ) нижчим на 7 добу, ніж у тварин другої групи, та виявився менш підвищеним відносно контролю: у 2,8 рази ( $p \leq 0,0001$ ). І вже на 15 добу рівень експресії гена *Nos2* був на рівні контролю.

Активні форми кисню можуть функціонувати як активатори міжклітинного сигнального шляху, а саме, NF- $\kappa$ B що є одним з найважливіших модуляторів запального процесу. За фізіологічних умов NF- $\kappa$ B у клітинах відіграє роль координатора імунної відповіді для різноманітних антигенів. Але, у той же час, за ок-



**Рис. 1.** Рівень експресії гена *Nos2* у слизовій оболонці стравоходу за умов ЛОС 2 та при введенні меланіну в дозі 1мг/кг. 1 – контроль; 2 – ЛОС 2; 3 – ЛОС 2 + меланін; \*\*\*\* –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 відносно контролю; #### –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 + меланіном відносно тварин ЛОС 2; +++++ –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 + меланін порівняно з контролем,  $n = 105$

**Рис. 2.** Рівень експресії гена *Nos2* у крові за умов ЛОС 2 та при введенні меланіну. 1 – контроль; 2 – ЛОС 2; 3 – ЛОС 2 + меланін; \*\*\*\* –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 відносно контролю; #### –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 + меланіном відносно тварин ЛОС 2; +++++ –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 + меланін порівняно з контролем,  $n = 105$

сидативного стресу, NF- $\kappa$ B може активувати прозапальні гени, відповідальні за синтез прозапальних цитокінів, циклооксигенази-2 та гени, що сприяють канцерогенезу (Wang et al, 2016).

Тому, наступним кроком було визначити рівень експресії гена *Nfkb1*. У групі тварин з ЛОС рівень експресії гена *Nfkb1* в слизовій оболонці стравоходу був вищим у 4, 2,9 і 1,8 рази ( $p \leq 0,0001$ ) на 7, 15 і 21 добу загоєння відповідно в порівнянні з контролем (рис. 3).

У щурів, які вживали меланін, цей показник був в 1,1 ( $p \leq 0,05$ ) та майже 1,5 рази ( $p \leq 0,0001$ ) нижчим на 7 і 15 добу відповідно, ніж у тварин другої групи (на 21 добу рівень мРНК зазначеного гена був на рівні контрольних значень), та виявився менш підвищеним відносно контролю: у 3,6 та 2 рази ( $p \leq 0,0001$ ) на 7 і 15 добу загоєння відповідно.

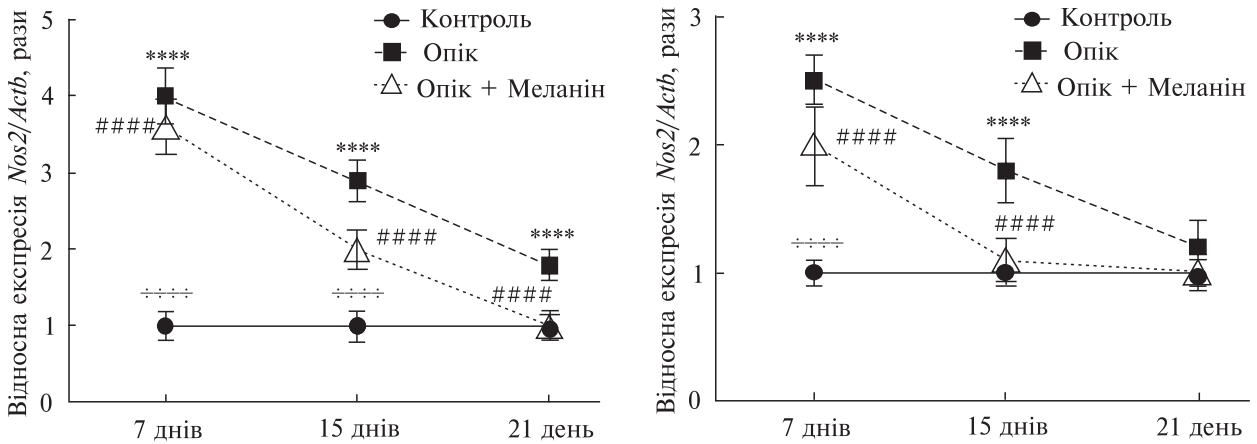
Рівень експресії гена *Nfkb1* в крові у групі тварин з опіками стравоходу був вищим у 2,5 та 1,8 рази ( $p \leq 0,0001$ ) на 7 і 15 добу загоєння відповідно в порівнянні з контролем (рис. 4). На 21 добу зазначений показник повертався до контрольних значень.

У щурів, які вживали меланін, цей показник був в 1,3 рази ( $p \leq 0,0001$ ) нижчим на 7 добу, ніж у тварин другої групи та виявився менш

підвищеним відносно контролю: у 2 рази ( $p \leq 0,0001$ ). На 15 добу рівень мРНК зазначеного гена був на рівні контрольних значень.

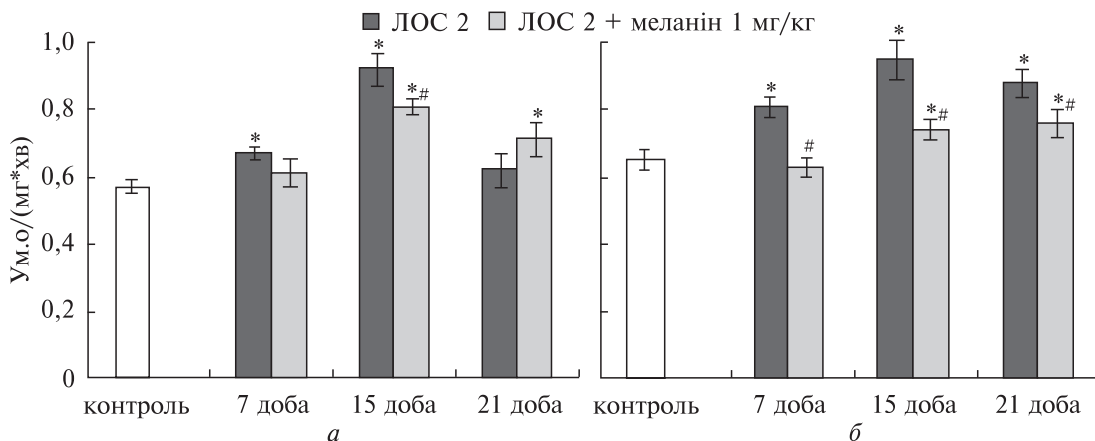
Отже, за ЛОС відбувалися зміни в рівні експресії генів *Nos2* та *Nfkb1* як в крові, так і в тканинах стравоходу порівняно з контрольною групою, застосування меланіну сприяло зниженню рівня експресії генів *Nos2* та *Nfkb1* у досліджуваних зразках.

Як відомо, молекула оксиду азоту є одним із біорегуляторів тонууса кровоносних судин, респіраторної функції, бере участь у розвитку болю та запалення (Abo El-Noor, 2017; Basaran, 2005; Zhou, 2017). Тому, наступним етапом було визначити активність різних ізоформ синтази оксиду азоту – eNOS та iNOS в сироватці крові та тканинах слизової оболонки стравоходу за умов ЛОС 2 та при застосуванні меланіну. Активність eNOS в сироватці крові за умов ЛОС 2 поступово підвищувалась на 7 та 15 добу на 19,6 та 55,1 % відповідно, порівняно з контролем та знижувалась на 21 добу та наближалась до контрольних значень. У тканинах стравоходу було виявлено схожу тенденцію до зростання активності ферменту на 7 та 15 добу на 35,4 та 60 % відповідно, порівняно з контрольними значеннями. Активність iNOS в сироватці крові за умов опіку



**Рис. 3.** Рівень експресії гена *Nfkb1* у слизовій обо-лонці стравоходу за умов ЛОС 2 та при введенні меланіну. 1 – контроль; 2 – ЛОС 2; 3 – ЛОС 2 + меланін; \*\*\*\* –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 відносно контролю; #### –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 + меланіном відносно тварин ЛОС 2; ++++ –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 + меланін порівняно з контролем,  $n = 105$

**Рис. 4.** Рівень експресії гена *Nfkb1* у крові за умов ЛОС 2 та при введенні меланіну. 1 – контроль; 2 – ЛОС 2; 3 – ЛОС 2 + меланін; \*\*\*\* –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 відносно контролю; #### –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 + меланіном відносно тварин ЛОС 2; ++++ –  $p \leq 0,0001$  ЛОС 2 + меланін порівняно з контролем,  $n = 105$



**Рис. 5.** Активність eNOS (а) та iNOS (б) (ум.о/мг білка\*хв) в сироватці крові щурів за умов ЛОС 2 та при застосуванні меланіну ( $M \pm m$ ,  $n = 105$ ). \* –  $p < 0,05$  ЛОС 2 відносно контролю, # –  $p < 0,05$  ЛОС 2 + меланін відносно групи ЛОС 2

достовірно підвищувалась на 7, 15 та 21 добу на 24,6, 43,9 та 20,5 % відповідно, порівняно з контрольними значеннями. У тканинах стравоходу активність ферменту за ЛОС 2 також зростала на 7, 15 та 21 добу на 63,6, 69,6 та 51 % відповідно, порівняно з контрольними значеннями (рис. 5).

При введенні меланіну активність eNOS в сироватці крові за умов опіку була нижчою порівняно з показниками у тварин з ЛОС 2.

Визначено незначне зниження активності eNOS в тканинах стравоходу за ЛОС 2 за умов введення на 7 та 15 добу, на 21 добу активність підвищувалась на 18,3 % порівняно з показниками за ЛОС 2.

Встановлено, що активність iNOS в сироватці крові за ЛОС 2 за умов введення меланіну була нижчою на 7,15 та 21 добу на 22,2, 22,1 та 13,6 % відповідно, порівняно з показниками за ЛОС 2. У тканинах стравоходу спостерігали

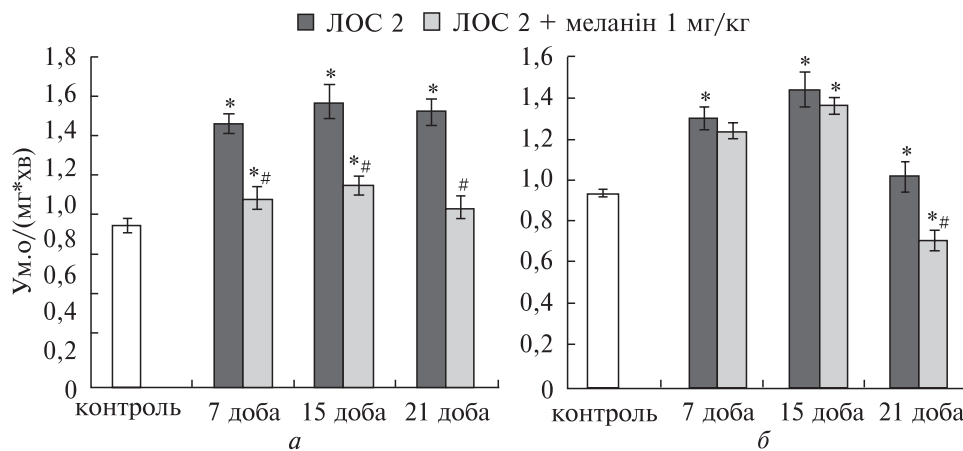


Рис. 6. Активність eNOS (а) та iNOS (б) (ум.о/мг білка\*хв) в слизовій оболонці стравоходу шурів за умов лужного опіку стравоходу другого ступеня та при застосуванні меланіну (M ± m, n = 105). \* – p < 0,05 ЛОС 2 відносно контролю. # – p < 0,05 ЛОС 2 + меланін відносно групи ЛОС 2

нижча активність ферменту на всі досліджувані доби експерименту, так на 7, 15 та 21 добу активність ферменту була нижчою на 28,5, 29,5 та 27,9 % відповідно, порівняно з показниками при опіку стравоходу (рис. 6).

Таким чином, при лужному опіку стравоходу було показано підвищення активності обох ізоформ NOS, що може впливати негативно на процеси загоєння при опіку стравоходу, адже у високих концентраціях NO може мати токсичний ефект, пов'язаний з утворенням сильного окислювача – пероксинітриа (ONOO-), який чинить негативний вплив на тканини, порушуючи структуру клітинних мембран, енергетичний обмін у клітині, а також синтез ДНК (Kobayashi et al, 2010). За умов застосування меланіну активність eNOS та iNOS знижувалась переважно на всі досліджувані доби експерименту, і, як наслідок, знижувалось утворення надмірної кількості пероксинітриту.

**Висновки.** Отримані результати показали, що за лужного опіку стравоходу другого ступеня був наявний запальний процес, а саме, підвищення рівня експресії генів, залучених до розвитку запалення, *Nos2* та *Nfkb1* у крові та в тканинах стравоходу. Також було виявлено активацію iNOS та eNOS та, як наслідок, підвищений рівень NO, який сприяв оксидативному стресу та запуску міжклітинного шляху NF-κB. При введенні меланіну було показано нормалізацію показників, які характеризують запальні процеси: зниження рівня експресії генів *Nos2* та

*Nfkb1*, зменшення активності iNOS та eNOS у сироватці крові та тканинах стравоходу порівняно з показниками при опіку стравоходу. Це вказує на протизапальні властивості цієї речовини та робить її перспективною для подальшого дослідження та можливого впровадження як допоміжної речовини для зниження запального процесу за лужних опіків стравоходу.

**Дотримання етичних стандартів.** Усі процедури, виконані в дослідженні за участю людей, відповідають етичним стандартам національного Комітету з дослідницької етики та Гельсінської декларації 1964 р. і її подальших змін або відповідним нормам етики. Від кожного, з включених в дослідження учасників, було отримано інформовану добровільну згоду.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Фінансування.** Це дослідження не отримувало будь якого конкретного гранту від фінансуючих установ в державному, комерційному або некомерційному секторах.

#### THE LEVEL OF EXPRESSION NOS2 AND NFKB1 GENES IN ESOPHAGEAL ALKALINE BURNS AND WHEN MELANIN IS ADMINISTERED

N.M. Chornenka, Ya.B. Raetska, A.S. Huet, T.V. Beregova, O.M. Savchuk, L.I. Ostapchenko

Educational and Scientific Center «Institute of Biology and Medicine», Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine

E-mail: nata.chornenka24@gmail.com

In this study, we have shown an increase in the expression of pro-inflammatory agents – *Nos2* and *Nfkb1* genes – in the blood and mucous membrane of the esophagus under conditions of the 2nd degree esophageal alkaline burn (EAB 2). It was found that under AEB 2, the activity of eNOS and iNOS increased both in the blood and mucous membrane of the esophagus. After the introduction of melanin, there was a decrease in the expression of *Nos2* and *Nfkb1* genes in the blood and esophageal tissues as compared with AEB 2. Also, there was a decrease in the activity of eNOS and iNOS as compared with AEB 2, indicating the anti-inflammatory properties of this compound and the possibility of using melanin as a substance that promotes faster healing of chemical burns of the esophagus and prevents post-burn complications.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Abo El-Noor M, Elgazzar F, Alshenawy H. (2017) Role of Inducible Nitric Oxide Synthase and interleukin-6 Expression in Estimation of Skin Burn Age and Vitality. *J Forensic Leg Med.* doi: 10.1016/j.jflm.2017.09.001
- Ahmady El-Naggar N, El-Ewasy S. (2017) Bioproduction, characterization, anticancer and antioxidant activities of extracellular melanin pigment produced by newly isolated microbial cell factories *Streptomyces glaucescens* NEAE-H. *Sci Rep.* doi: 10.1038/srep42129
- Bartesaghi S, Radi R. (2018) Fundamentals on the Biochemistry of Peroxynitrite and Protein Tyrosine Nitration. *Redox Biol.* doi: 10.1016/j.redox.2017.09.009
- Basaran U, Eskiocak S, Altaner S et al. (2005) Inhibition of iNOS With S-methylisothiourea Was Impaired in Wound Healing in Caustic Esophageal Burn. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* doi: 10.1016/j.ijporl.2004.11.004
- Boyd T, Rahmatullah M. (1980) Optimization of conditions for the colorimetric determination of citrulline, using diacetyl monoxime. *Analytical Biochemistry.* doi:10.1016/0003-2697(80)90404-2.
- Carletti G, Nervo G, Cattivelli L. (2014) Flavonoids and Melanins: A Common Strategy across Two Kingdoms. *Int J Biol Sci.* doi: 10.7150/ijbs.9672
- Cartwright T, Perkins N, Wilson C. (2016) NFKB1: a suppressor of inflammation, ageing and cancer. *FEBS Journal.* doi:10.1111/febs.13627
- Chomczynski P, Sacchi N. (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* doi: 10.1006/abio.1987.9999
- Chornenka N, Raetska YA, Savchuk O et al. (2017) Effect of different doses of melanin in the blood protein changes in rats under alkaline esophageal burns. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 8:261–269
- Chyzhanska N, Tsyryuk O, Beregova T. (2007) The level of cortisol in the blood of rats before and after stress action against the background of melanin. *Visnik of problems of biology and medicine* 1:40–44
- Duan H, Chai J, Sheng Z et al. (2009) Effect of burn injury on apoptosis and expression of apoptosis-related genes/proteins in skeletal muscles of rats. *Apoptosis: an international journal on programmed cell death.* doi: 10.1007/s10495-008-0277-7.
- Eduardo D, Rezende B, Cortes F et al. (2016) Neuronal Nitric Oxide Synthase in Vascular Physiology and Diseases. *Front Physiol.* doi: 10.3389/fphys.2016.00206
- Elobeid A, Afaf Eldin K, Abdelhalim M et al. (2017) Pharmacological Properties of Melanin and its Function in Health. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* doi: 10.1111/bcpt.12748.
- Fistal E, Kozinets G, Samoilenko G et al (2005) *Combustiology. Textbook, Donetsk,* 315 p
- Kobayashi Y. (2010) The Regulatory Role of Nitric Oxide in Proinflammatory Cytokine Expression During the Induction and Resolution of Inflammation. *J Leukoc Biol.* doi: 10.1189/jlb.0310149.
- Kunwar A, Adhikary B, Jayakumar S et al. (2012) Melanin, a promising radioprotector: Mechanisms of actions in a mice model, *Toxicology and Applied Pharmacology.* doi: 10.1016/j.taap.2012.08.002
- Mees B, Wagner S, Ninci E et al. (2007) Endothelial Nitric Oxide Synthase Activity Is Essential for Vasodilation During Blood Flow Recovery but not for Arteriogenesis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* doi: 10.1161/ATVBAHA.107.145375
- Mitchell S, Vargas J, Hoffmann A. (2016) Signaling via the NFκB System. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* doi: 10.1002/wsbm.1331
- Nakazawa H, Chang K, Shinozaki S et al. (2017) iNOS as a Driver of Inflammation and Apoptosis in Mouse Skeletal Muscle After Burn Injury: Possible Involvement of Sirt1 S-Nitrosylation-Mediated Acetylation of p65 NF-κB and p53. *PLoS One.* doi: 10.1371/journal.pone.0170391
- Nakazawa H, Yamada M, Tanaka T et al. (2015) Role of protein farnesylation in burn-induced metabolic derangements and insulin resistance in mouse skeletal muscle. *PloS one.* doi: 10.1371/journal.pone.0116633
- Racca S, Spaccamiglio A, Esculapio P et al. (2005) Effects of swim stress and alpha-MSH acute pretreatment on brain 5-HT transporter and corticosterone receptor. *Pharmacol Biochem Behav.* doi: 10.1016/j.pbb.2005.06.014

- Raetska Ya, Ishchuk T, Savchuk O et al. (2013) Experimental modeling of first-degree chemically-induced esophageal burns in rats. *Medical chemistry* 15(4):30–34
- Salih E, Afaf K, Mohamed Anwar K (2017) Pharmacological Properties of Melanin and its Function in Health. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. doi: 10.1111/bcpt.12748
- Stanojic M, Abdullahi A, Rehou S et al. (2018) Pathophysiological Response to Burn Injury in Adults. *Ann Surg*. doi: 10.1097/SLA.0000000000002097
- Wang Z, Li S, Cao Y et al. (2016) Oxidative Stress and Carbonyl Lesions in Ulcerative Colitis and Associated Colorectal Cancer. *Oxid Med Cell Longev*. doi: 10.1155/2016/9875298
- Wigenstama E, Elfsmarka L, Buchtab A et al. (2016) Inhaled sulfur dioxide causes pulmonary and systemic inflammation leading to fibrotic respiratory disease in a rat model of chemical-induced lung injury. *Toxicology*. doi: 10.1016/j.tox.2016.08.018
- Zhou X, Wang H, Zhang J et al. (2017) Functional Poly( $\epsilon$ -Caprolactone)/Chitosan Dressings With Nitric Oxide-Releasing Property Improve Wound Healing. *Acta Biomater*. doi: 10.1016/j.actbio.2017.03.011

Надійшла в редакцію 03.09.20  
Після доопрацювання 20.12.20  
Прийнята до друку 18.07.21