

ŁUKASZ ŁOPUSIEWICZ, SŁAWOMIR LISIECKI

*Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
Klemensa Janickiego 35, 71-270 Szczecin
E-mail: lukasz.lopusiewicz@zut.edu.pl*

„CZARNE ZŁOTO” – MELANINY W ŻYCIU CZŁOWIEKA

WSTĘP

Melaniny to ogólna nazwa grupy wielkocząsteczkowych barwników odpowiedzialnych za ciemną pigmentację organizmów, powstające w wyniku oksydacyjnej polimeryzacji związków fenolowych i indolowych. Są to najprawdopodobniej najbardziej powszechne, odporne, heterogeniczne i najstarsze ewolucyjnie pigmenty obecne w przyrodzie (SOLANO 2014). Melaniny pojawiły się bardzo wcześnie w ewolucji wielu grup organizmów. Zostały znalezione w skamieniałościach dinozaurów, wczesnych ptaków, teropodów i prymitywnych głowonogów. Melanocyty, komórki zdolne do syntezy melaniny, po raz pierwszy zasiedliły warstwę podstawną w skórze u Therapsida, czyli linii rozwojowej gadów, z której wywodzą się ssaki (PLONKA i współaut. 2009, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Współcześnie, różne formy melanin są obecne w każdym królestwie organizmów żywych, pełniąc istotną rolę w procesach termoregulacji, rozmnażania, chemoprotekcji i kamuflażu (SOLANO 2014).

WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE MELANIN

Melaniny to związki wielkocząsteczkowe o nieregularnej i trójwymiarowej strukturze amorficznej, obdarzone ładunkiem ujemnym, zbudowane z monomerów związków fenolowych (przy czym najczęstszym substratem jest aminokwas tyrozyna) oraz indolowych, które łącząc się w sposób losowy tworzą strukturę polimeru. Przez cały okres badań nad ich strukturą starano się stwo-

rzyć jedną, spójną definicję tych związków, jednak jest to niezwykle trudne z uwagi na ich dużą heterogeniczność (skład, kolor, masa cząsteczkowa, pochodzenie i funkcja). W związku z tym, jedna, dokładna definicja melanin nie istnieje. Najbardziej rozpowszechniona i ogólna definicja określa je jako: „heterogeniczne polimery powstające w wyniku utleniania związków fenolowych i dalszej polimeryzacji związków pośrednich i powstających chinonów” (SOLANO 2014). Co więcej, ich właściwości (nierozpuszczalność w większości rozpuszczalników) są uważane za główną barierę w precyzyjnej charakterystyce melanin za pomocą konwencjonalnych metod biochemicznych i biofizycznych. Niemniej jednak przyjęte są pewne ogólne kryteria, które pozwalają stwierdzić czy badany związek należy zaklasyfikować do melanin czy nie. Kryteria te obejmują: nierozpuszczalność w większości powszechnie stosowanych rozpuszczalników, utratę barwy pod wpływem czynników utleniających, oporność na degradację pod wpływem zimnych i gorących kwasów, zdolność do bezpośredniej redukcji amoniakalnego roztworu AgNO_3 , rozpuszczalność w roztworach zasad, pozytywną reakcję na polifenole (NICOLAUS 1968). Wśród metod analitycznych służących do charakterystyki melanin najczęściej stosowane są: spektroskopia UV-VIS (informująca o widmie pochłaniania promieniowania w zakresie światła widzialnego i ultrafioletowego), spektroskopia EPR i ESR (dostarczające informacji o populacji stabilnych wolnych rodników w cząsteczce), spektroskopia IR (dostarczająca informacji o grupach funkcyjnych), spektroskopia NMR, spektroskopia

XPS, chromatografia HPLC oraz chromatografia gazowa ze spektrometrią mas (do badania podjednostek składowych melanin) (PROTA 1992, RÓŻANOWSKA i współaut. 1999, ITO i WAKAMATSU 2011).

Melaniny są wysoce niejednorodnymi związkami, i nawet jeśli substraty do ich syntezy będą takie same, mogą powstać różniące się od siebie produkty, ponieważ na szlaki ich polimeryzacji ogromny wpływ mają warunki biologiczne i chemiczne (NICOLAUS 1968). Wszystkie melaniny zawierają jednak w swojej strukturze pierścienie aromatyczne, połączone wiązaniami kowalencyjnymi typu węgiel-węgiel, które z kolei połączone są z białkami, węglowodanami i lipidami oraz innymi produktami pośrednimi melanogenezy. Białkowy lub węglowodanowy składnik takiego kompleksu pełni znaczącą rolę i może być niezbędny dla zachowania aktywności biologicznej, bowiem w takiej formie, cząsteczki melaniny mają zwiększoną rozpuszczalność w wodzie (FOGARTY i TOBIN 1996). Melaniny wykazują specyficzne właściwości fizykochemiczne. Wpływa na to obecność stabilnej populacji organicznych wolnych rodników o-semichinonowych, a także grup utleniających lub redukujących, np. o-chinonów oraz hydrochinonów (PROTA 1992). Dzięki temu mają właściwości antyutleniające, chroniące komórki przed cytotoksycznymi reaktywnymi formami tlenu (ROS) i wolnymi rodnikami, takimi jak: tlen singletowy, rodnik hydroksylowy oraz anionorodnik ponadtlenkowy (RÓŻANOWSKA i współaut. 1999). Ponadto, w procesie melanogenezy do syntetyzowanego polimeru mogą zostać wbudowane (poprzez wiązania kowalencyjne, jonowe oraz oddziaływania van der Waalsa) liczne związki o różnorodnej budowie chemicznej, szczególnie posiadające od 1 do 3 pierścieni aromatycznych (DELLJEWSKI i współaut. 2013).

Melaniny mają zazwyczaj ciemny kolor, jednak prezentują szeroką paletę barw od czarnobrazowej do żółtoczerwonej. Ta różnorodność kolorów i odcieni wynika z różnej zdolności do absorpcji i rozpraszania światła. Przyjmuje się, że im mniejsze są granule melaniny, tym jaśniejszy mają kolor (PROTA 1992). Ogólnie rzecz biorąc, melaniny mają ciemną barwę, ponieważ ich cząsteczki nie wypromieniowują z powrotem zaabsorbowanego światła, widzialnego lub niewidzialnego dla oka ludzkiego, ale przekształcają jego energię, rozpraszając ją w postaci energii cieplnej (RILEY 1997).

ODDZIAŁYWANIA MELANIN Z INNYMI ZWIĄZKAMI

Melaniny mogą tworzyć kompleksy z wieloma substancjami chemicznymi (także leka-

mi), wpływając przez to na ich aktywność i skuteczność terapeutyczną (ROK i współaut. 2012). Z jednej strony, oddziaływanie substancji leczniczej z pigmentem może skutkować osłabieniem toksyczności leku, z drugiej zaś obniża właściwości farmakodynamiczne oraz powoduje kumulację leku w komórkach zawierających pigment, zwiększając ryzyko ich uszkodzenia i działań niepożądanych (ROK i współaut. 2012). Absorpcja leków mających powinowactwo do melaniny może wywoływać zmiany i uszkodzenia w zawierających ją narządach. Ponadto, zmiany w strukturze samej melaniny mogą być powodowane przez leki mające do niej powinowactwo (DELLJEWSKI i współaut. 2013). Wykazano zdolność do tworzenia kompleksów z melaniną przez antybiotyki tetracyklinowe, sulfonamidy, fluorochinony, leki miejscowo znieczulające i neuroleptyki (ROK i współaut. 2012). Udowodniona jest wysoka skuteczność wiązania metali ciężkich przez melaniny (FOGARTY i TOBIN 1996).

Na szczególną uwagę zasługuje oddziaływanie melaniny z nikotyną. Właściwości uzależniające i toksyczne nikotyny (oraz wpływ jej niezmetylizowanej postaci na biotransformację niektórych leków) mają szczególne znaczenie dla organizmu człowieka, w którym nikotyna może być kumulowana w postaci kompleksów z melaniną. Rola tych oddziaływań może mieć duże znaczenie w przypadku osób o wysokim stopniu pigmentacji skóry. Wykazano, że osoby o ciemnej pigmentacji skóry szybciej uzależniają się od palenia papierosów i trudniej jest im zerwać z nałogiem, co więcej, absorpcja nikotyny w ich organizmach jest większa niż u ludności o jasnym odcieniu skóry (YERGER i MALONE 2006, DELLJEWSKI i współaut. 2013). Znane są niepożądane efekty palenia papierosów w postaci ciemnych plam w obrębie jamy ustnej palaczy i osób narażonych na bierne palenie tytoniu, które są efektem melanizacji nabłonka w kontakcie z nikotyną (DELLJEWSKI i współaut. 2013).

MELANOGENEZA

Melanogeneza jest procesem złożonym i wieloetapowym (MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Wspólny, obligatoryjny etap eumelanogenezy i feomelanogenezy (gr. *eu*, dobry; gr. *feo*, śniady) rozpoczyna się od katalizowanej przez tyrozynazę (EC 1.14.18.1) hydroksylacji L-tyrozyny do L-3,4-dihydroksyfenyloalaniny (L-DOPA). Następnie produkt ten utleniany jest do L-DOPACHINONU. Na etapie powstania L-DOPACHINONU dochodzi do rozdzielenia szlaków syntezy eu- i feomelaniny. DOPACHINON, będący związkiem wysoko reaktywnym, łatwo ulega wewnątrzcząsteczko-

wej cyklizacji, utlenieniu i przekształceniu do DOPachromu. DOPachrom, w reakcji katalizowanej przez tautomerazę DOPachromu (DCT), ulega przemianom do jednego z komponentów eumelaniny, kwasu 5,6-dihydroksyindolo-2-karboksyłowego (DHICA) (SŁOMIŃSKI i współaut. 2005, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). W przypadku braku DCT, DOPachrom może ulec powolnej, spontanicznej dekarboksylacji. Wskutek tego procesu powstaje inna składowa eumelaniny, 5,6-dihydroksyindol (DHI). Powstałe indole zostają utlenione do chinonów, a potem poddane cyklizacji prowadzącej do wytworzenia pochodnych indolowych. Te, polimeryzując tworzą eumelaninę. Przy niskim stężeniu L-tyrozyny i dużym stężeniu cysteiny lub glutationu w melanocytach następuje addycja tych dwóch związków do DOPachinonu. Prowadzi to do utworzenia cysteinyloDOPA i/ lub glutationyloDOPA. Utlenienie tych związków doprowadza do powstania chinonów, przekształcanych kolejno w pochodne benzotiazyny, a ostatecznie w feomelaninę (MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Proces melanogenezy jest stymulowany przez czynniki takie jak: witamina D₃, histamina, β-endorfiny, interleukiny (IL-1α, IL-1β), prostaglandyny E₂, D₂, leukotrieny i niektóre metale (złoto, srebro, miedź, żelazo). Czynniki hamującymi są m.in.: melatonina, kortykosteroidy, interferon gamma, czynnik martwicy nowotworów α (TNFα), kwas askorbinowy i naturalne melaniny roślinne (SŁOMIŃSKI i współaut. 2005, PŁONKA i współaut. 2009, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013).

KOLOR SKÓRY

Kolor skóry jest determinowany głównie poprzez obecność karotenoidów, oksy-/deoksyhemoglobiny w naczyniach krwionośnych, i w największym stopniu różnych rodzajów melanin i sposobu ich rozmieszczenia w melanosomach. Na pigmentację ludzkiej skóry składają się dwa elementy: konstytutywny i fakultatywny kolor skóry (YERGER i MALONE 2006). Konstytutywny kolor skóry determinowany jest genetycznie, dotyczy obszarów ciała nieeksponowanych bezpośrednio na działanie światła. Kolor fakultatywny (zwany również opalenizną) jest konsekwencją ekspozycji skóry na działanie promieniowania UV, powodującego jej ciemnienie w wyniku wzrostu poziomu melaniny ponad poziom konstytutywny (WIŚNIEWSKA 2010). Może on być również wynikiem zmian hormonalnych (aktywność tarczycy, nadnerczy, gruczołów przysadki i gruczołów płciowych), chorób lub zmian w diecie (YERGER i MALONE 2006, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Różnice w pigmentacji skóry nie wynikają z różnicy

ilości obecnych w niej melanocytów, ale są wynikiem różnic w aktywności procesu melanogenezy, typu melaniny produkowanej w melanosomach, ich rozmiarze, ilości i sposobie ułożenia. Wiadomo, że znaczący wpływ na odcień skóry ma proporcja eumelaniny do feomelaniny. W skórze ludzi o jasnej karnacji melanosomy są niewielkie, nieliczne, ubogie w barwniki i tworzą skupiska (po 4-8 melanosomów). Ponadto w górnych warstwach jasnej skóry, w czasie różnicowania keratynocytów, melanosomy są całkowicie degradowane przez enzymy lizosomalne, w wyniku czego powstaje tzw. pył melaninowy (ROK i współaut. 2012). Degradacja melanosomów obniża właściwości ochronne skóry przed promieniowaniem UV, co może prowadzić do wzrostu zawartości fotoproduktów i zwiększonego ryzyka kancerogenezy (BRENNER i HEARING 2008). Natomiast u ludzi z ciemną karnacją dominują zawierające znaczne ilości pigmentu, eumelanosomy, które rozmieszczone są pojedynczo i mają ok. dwukrotnie większą średnicę (ok. 800 nm) niż u ludzi z jasną karnacją (ok. 400 nm). Są one również odporne na działanie enzymów lizosomalnych. W skórze ciemnej część melanosomów gromadzi się nad jądrami keratynocytów, tworząc tzw. czapeczki, stanowiące rodzaj tarczy ochronnej dla DNA. Dzięki temu nie dochodzi do uszkodzenia struktury DNA i powstania kancerogennych fotoproduktów (BRENNER i HEARING 2008, STEPIEŃ 2010, ROK i współaut. 2012, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Całkowity brak pigmentu w skórze stwierdza się u osób dotkniętych albinizmem (bielactwem), wywołanym obecnością recesywnych alleli odpowiedzialnych za syntezę tyrozynazy, w związku z czym nie powstaje melanina. Osoby takie są szczególnie narażone na działanie promieniowania UV, szybko reagują stanami zapalnymi skóry, na której pojawiają się pęcherze i zrogowacenia (SOLANO 2014).

PROCES OPALANIA

Opalenie jest procesem odwracalnym. Opalenizna pojawia się w dwóch etapach. Pierwszym z nich jest natychmiastowa pigmentacja (ang. immediate pigment darkening, IPD). W fazie IPD nie są syntetyzowane nowe ilości melaniny, ale ma miejsce fotooksydacja już obecnej w skórze oraz przemieszczenie się melanosomów z przestrzeni okołojądrowej do obwodowej przestrzeni melanocytów (BRENNER i HEARING 2008). Drugim etapem jest pigmentacja opóźniona (ang. delayed pigment darkening, DPD), powstająca po ok. 2-3 dniach, w czasie której powstaje opalenizna. W fazie DPD syntetyzowane są nowe ilości melaniny i odbywa

się jej dystrybucja w naskórku, wzrasta aktywność tyrozynazy, transfer melanosomów do keratynocytów, liczba i aktywność funkcjonujących melanocytów a także ich dendrytyczność (BRENNER i HEARING 2008, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Faza ta osiąga swoje maksimum ok. 10 dni po ekspozycji na promieniowanie i utrzymuje się ok. 3–4 tygodnie w zależności od przyjętej dawki promieniowania i indywidualnych predyspozycji genetycznych. Może minąć kilka tygodni albo miesięcy zanim skóra wróci do swojego konstytutywnego koloru (WIŚNIEWSKA 2010).

MELANOCYTY

Melanocyty to komórki pochodzenia neuroektodermalnego, które występują w organizmach stałocieplnych i są wyspecjalizowane w syntezie melanin. Ich komórkami prekursorowymi są melanoblasty. Melanocyty mogą przyjmować kształt dendrytyczny z licznymi wypustkami bądź owalny (SAWICKI 2005, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Występują głównie w skórze, ale można je znaleźć również w innych narządach i tkankach, np. mózgu, oczach, uszach, płucach, sercu, błonach śluzowych, tkance tłuszczowej i we włosach (PLONKA i współaut. 2009, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Każdy melanocyt może wejść w kontakt z 36 keratynocytami i sporadycznie z pojedynczymi komórkami Langerhansa, tworząc tzw. naskórkową jednostkę melaninową (ang. epidermal melanin unit, EMU) (SAWICKI 2005, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Potencjał proliferacyjny melanocytów jest niewielki i w dorosłym organizmie ich podziały zachodzą niezwykle rzadko (SANTIAGO-WALKER i współaut. 2009, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013).

MELANOSOMY

Melanosomy są to elipsoidalne organelle, produkowane przed melanocyty. Zlokalizowane są w obszarze jasnej cytoplazmy melanocyty wraz z innymi strukturami takimi jak: owalne jądro komórkowe, siateczka śródplazmatyczna szorstka oraz aparat Golgiego. Przyjmują postać pęcherzyków o średnicy ok. 500 nm. Wyróżnia się dwa rodzaje melanosomów: eumelanosomy oraz feomelanosomy (SAWICKI 2005, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Eumelanosomy mają kształt elipsoidalny i fibrylną macierz (wymiar 0,9 μm na 0,3 μm) i syntetyzują eumelaninę, bogatą w azot, wykazującą działanie fotoprotekcyjne, która odkłada się na podłużnych włóknienkach macierzy (ROK i współaut. 2012). Eumelanina jest nierozpuszczalnym w wodzie czarnobrazowym pig-

mentem, którego głównymi podjednostkami (u ludzi) są: 5,6-dihydroksoindol (DHI) oraz kwas 5,6-dihydroksoindolo-2-karboksyowy (DHICA). Wzajemny stosunek składowych eumelaniny decyduje o ostatecznej intensywności jej barwy (MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Eumelanina odpowiada za usuwanie wolnych rodników, m.in. w wyniku redukcji anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenku wodoru, czym przypomina właściwości dysmutazy ponadtlenkowej (ROK i współaut. 2012). Drugi rodzaj melanosomów stanowią sferyczne feomelanosomy o średnicy 0,7 μm . W feomelanosomach syntetyzowany jest żółto-czerwony barwnik, feomelanina, bogata w aminokwasy siarkowe (głównie cysteine), posiadająca w swojej strukturze podjednostki benzotiazyny oraz benzotiazolu. (KOLCZYŃSKA-SZAFRANIEC i BILIŃSKA 1992, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Feomelanina tworzy ziarnistości w ciałkach wielopęcherzykowych (ROK i współaut. 2012). Jest uznawana za fotolabilny fotouczulacz, który nie przejawia właściwości ochronnych i jest szczególnie podatna na fotodegradację. Pod wpływem promieniowania UV może generować nadtlenek wodoru i anionorodnik ponadtlenkowy, czego skutkiem są oksydacyjne uszkodzenia kwasów nukleinowych, białek i lipidów, a tym samym może przyczyniać się do kancerogenezy melanocytów i innych komórek. Feomelanina również powiązana jest ze wzrostem poziomu prozapalnej histaminy, która wpływa na powstawanie indukowanych słońcem rumieni i obrzęków (BRENNER i HEARING 2008). Proces biogenezy i dojrzewania melanosomów jest złożony, można wyróżnić w nim cztery morfologiczne stadia rozwoju melanosomów. Transport dojrzałych melanosomów (w stadium IV), bez aktywnej tyrozynazy (ziaren melaniny) do pobliskich keratynocytów odbywa się poprzez wypustki cytoplazmatyczne melanocytów (ROK i współaut. 2012). Proces ten odbywa się najprawdopodobniej bezpośrednio z komórki do komórki, co nosi nazwę cytokrynii (SAWICKI 2005, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013).

LOKALIZACJA MELANOCYTÓW I ICH FUNKCJE BIOLOGICZNE

Melanocyty można odnaleźć poza skórą również w innych obszarach ciała. Włosy swą barwę zawdzięczają różnej zawartości melaniny, która ma za zadanie ochraniać je przez związkami toksycznymi. Melanocyty są zlokalizowane w cebulce włosa i zaopatrują w pigment jego warstwę korową. Włosy ciemne zawierają w części podstawnej znaczne ilości eumelanosomów. Kolor brązowy charakteryzuje melanosomy nieco mniejsze, natomiast kolor blond jest wynikiem

słabej melanizacji. Osoby rudowłose posiadają głównie feomelanosomy (SŁOMIŃSKI i współaut. 2005, ITO i WAKAMATSU 2011, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013).

W oku występują dwie niezależne populacje melanocytów. Pierwszą z nich są melanocyty zlokalizowane w ciałku rzęskowym, naczyniówce i tęczówce, pochodzenia neuroektodermalnego. Drugą populację stanowi swoisty nabłonek barwnikowy siatkówki (ang. retinal pigment epithelium, RPE). RPE charakteryzuje się czarną barwą, która jest wynikiem obecności w nim licznych ziaren melaniny (SAWICKI 2005, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Zadaniem produkowanej przez RPE melaniny jest ochrona części nerwowej siatkówki przed ROS. Wykazuje również zdolność do wiązania toksyn bakteryjnych, np. botuliny A (MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). RPE pełni ponadto kluczową rolę w procesie widzenia. W czasie ekspozycji na światło, melanosomy migrują do wypustek melanocytów otaczających pręciki i czopki. Zwiększają tym samym rozdzielczość komórek receptorowych, przy równoczesnym zmniejszeniu ich czułości. Odwrotnie, w ciemności ziarna melaniny zlokalizowane są w częściach szczytowych komórek nabłonka barwnikowego, nie osiągają jednak jego wypustek, co powoduje zwiększenie czułości receptorów kosztem zmniejszenia ich rozdzielczości (SAWICKI 2005, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Melanocyty zlokalizowane w naczyniówce nadają jej ciemne zabarwienie oraz chronią przed szkodliwym działaniem ROS (PŁONKA i współaut. 2009, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013).

Tęczówka ma charakter warstwowy. Składa się z warstwy granicznej zewnętrznej, zrębu tęczówki i tylnej powierzchni tęczówki (SAWICKI 2005, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Ilość melaniny w warstwie zewnętrznej granicznej oraz zrębie tęczówki decyduje o kolorze oczu. W zależności od jej ilości oczy mogą mieć kolor brązowy (duże ilości melaniny w licznych eumelanosomach), zielono-piwny (pośrednia ilość melanosomów i średnia zawartość pigmentu), aż po niebieskie (niewielkie stężenie melaniny) (MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013).

Melanocyty można również znaleźć w uchu wewnętrznym. Zlokalizowane są one w obszarze prążka naczyniowego oraz jako komórki ciemne w narządzie przedsionkowym. Pęcherzyki melaniny biorą udział w utrzymaniu równowagi (PŁONKA i współaut. 2009, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Melanina nie bierze bezpośredniego udziału w procesie słyszenia. Prawdopodobnie jednak feomelanina pod wpływem hałasu i niektórych leków może generować wolne rodniki tlenowe, które wzmacniają działanie wymienionych

czynników. W wyniku ich działania następuje uszkodzenie narządu słuchu poprzez niszczenie komórek rzęsatych. Przypuszcza się również, że melanina może pełnić funkcję biologicznego „rezerwuaru” jonów dwuwartościowych i uczestniczyć w ich wymianie, a także jako bufor w utrzymaniu prawidłowego stężenia wapnia (SOLANO 2014). Prawdopodobnie istnieje zależność między fenotypem a podatnością narządu słuchu na uszkodzenia wywołane hałasem (MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Na istotną rolę melaniny w procesie słyszenia wskazywał już Darwin w swoim dziele *O powstawaniu gatunków* pisząc „koty, które są całkowicie białe i mają niebieskie oczy, są zazwyczaj głuche” (SOLANO 2014).

Komórki barwnikowe znajdują się również w mózgu. Zlokalizowane są w podpajęczynówce, istocie czarnej oraz miejscu sinawym. Produkują tutaj specyficzną neuromelaninę, która stanowi kompleks eumelaniny nawiniętej na rdzeń utworzony z feomelaniny. W jej skład często wchodzi także białka i związki alifatyczne (MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013, SOLANO 2014). Co ciekawe, neuromelanina jest typem melaniny specyficznym dla naczelnych, u człowieka jej poziom jest wyjątkowo wysoki, brak jej u innych grup ssaków (ZECCA i współaut. 2001). Brak neuromelaniny w neuronach dopaminergicznych istoty czarnej jest jedną z przyczyn choroby Parkinsona. Ponadto, stwierdza się podwyższony poziom jonów żelaza w mózgu osób dotkniętych tą chorobą (SOLANO 2014). Rola neuromelaniny w mózgu polega prawdopodobnie na usuwaniu jonów organicznych i nieorganicznych, oraz ochronie przez wolnymi rodnikami (ZECCA i współaut. 2001). Przypuszczenie to znajduje potwierdzenie w lokalizacji melanocytów wokół naczyń krwionośnych w obrębie mózgu. Prawdopodobnie chroni tym samym tkanki przed potencjalnie toksycznymi związkami docierającymi z krwioobiegu do mózgu (TOLLESON 2005, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013). Mechanizm powstawania stresu oksydacyjnego w obrębie mózgu jest analogiczny do tego, jaki generuje promieniowanie UV w skórze. Aerobowy metabolizm neuronów katecholaminergicznych generuje duże ilości o-chinonów i reaktywnych form tlenu, w związku z katecholową naturą niektórych neurotransmiterów (SOLANO i współaut. 2000). Narażenie na obecność jonów żelaza, uwolnionych np. w wyniku działania neuronalnej hydroksylazy tyrozyny bądź cytochromów mitochondrialnych, jest również czynnikiem stresowym, gdyż generuje cytotoksyczne produkty (reakcja Fentona). Rola neuromelaniny jako antyutleniacza i substancji chelatującej jony metali jest zatem niezmiernie ważna, choć

należy zwrócić uwagę, że może ona wiązać też substancje proneurodegeneracyjne takie jak amfetamina czy MPTP (4-fenilo-1,2,3,6-tetrahydropirydyna) (SOLANO 2014).

Melanocyty można znaleźć również w sercu, w jego zastawkach i przegrodzie, gdzie melanina prawdopodobnie wiąże reaktywne formy tlenu. W tkance tłuszczowej osób otyłych synteza melanin stanowi najprawdopodobniej mechanizm zapobiegający sekrecji cytokin prozapalnych (PLONKA i współaut. 2009, MARCZYŃSKA i PRZYBYŁO 2013).

MELANINY W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

Melaniny obecne są również w produktach i surowcach wykorzystywanych przez człowieka w przemyśle spożywczym. Można je znaleźć w czarnej fasoli, nasionach słonecznika (NICOLAUS 1968), pestkach winogron (ZHEREBIN i współaut. 1982), nasionach czarnuszki siewnej (AL-TAYIB i współaut. 2014), pieczarce dwuzarodnikowej (WELJN i współaut. 2013), trufli czarnozarodnikowej (HARKI i współaut. 1997), kasztanie chińskim (YAO i współaut. 2012), makaronie barwionym atramentem z mątwy (MBONYIRYIVUZE i współaut. 2015) i popularnym, szczególnie w kuchni azjatyckiej grzybie *Auricularia auricula* (uszak bżowy). Melanina otrzymana z owocników grzyba hamuje wytwarzanie biofilmu przez patogeny takie jak: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Pseudomonas fluorescens* (BIN i współaut. 2012). Najprawdopodobniej wynika to z inhibicyjnego wpływu melaniny na zjawisko *quorum sensing* (sposób „porozumiewania się” między sobą bakterii za pomocą cząsteczek związków chemicznych), co zostało wykazane na przykładzie działania ekstraktu z *A. auricula* na bakterie *Chromobacterium violaceum* (ZHU i współaut. 2011). Zjawisko *quorum sensing* ma istotne znaczenie w wirulencji i zdolnościach bakterii do wytwarzania biofilmu, a zdolność melaniny do zaburzenia tego procesu może znaleźć potencjalne zastosowanie w walce z patogenami chorobotwórczymi dla człowieka, szczególnie w obliczu ich wzrastającej antybiotykooporności. Barwniki melaninowe znajdują się również w liściach czarnej herbaty, w której podczas fermentacji liści zachodzi utlenianie katechin i innych polifenoli do teaflawin, flawonoidów i innych produktów, które zostały zidentyfikowane jako melaniny. Wykazano również hepatoprotekcyjne i immunostymulujące działanie tych barwników. Melaniny wraz z flawonoidami i polifenolami odpowiedzialne są za prozdrowotne, antyoksydacyjne działania herbaty (SAVA i współaut. 2003). Należy podkreślić, że wzrasta zainteresowanie melaninami jako

naturalnymi dodatkami do żywności (potencjalnie w roli barwnika oraz przeciwutleniacza) z uwagi na potrzeby konsumentów, odbierających barwniki pochodzenia syntetycznego jako niepożądane i szkodliwe.

MELANINY A GRZYBY PATOGENNE DLA CZŁOWIEKA

Melaniny pełnią również istotną rolę w fizjologii grzybów patogennych dla człowieka. Przyjmuje się, że, jako metabolity wtórne, nie są one niezbędne dla wzrostu i rozwoju komórek grzybowych, ale stanowią ich swoisty „system obronny”. Wpływ obecności melanin na zwiększenie zdolności przeżywania grzybów w niekorzystnych dla nich warunkach wynika głównie z pełnionej przez nie funkcji zewnątrzkomórkowego układu buforowego, neutralizującego czynniki utleniające (GONCALVES i POMBEIRO-SPONCHIADO 2005). Komórki *Cryptococcus neoformans* (grzyba powodującego kryptokokozę), które są zdolne do syntezy melaniny, wykazują dziesięciokrotnie wyższą przeżywalność w obecności wolnych rodników niż komórki, które nie posiadają tej umiejętności (WANG i CASADEVALL 1994). Odkładanie się melaniny w ścianie komórkowej grzyba jest istotnym czynnikiem jego wirulencji, chroniącym komórki patogenu przed działaniem wolnych rodników (np. wydzielanych przez fagocyty jako odpowiedź immunologiczną). Tym samym, szlaki syntezy melaniny, są jednym z celów walki z patogenami, co jest już wykorzystywane w walce z *Cladosporium carrioni*, *Exophiala jeanselmei* czy *Phialophora richardsiae* (TAYLOR i współaut. 1987).

ZDOLNOŚĆ MELANIN DO TWORZENIA NANOCZĄSTEK I ICH WYKORZYSTANIE

Melaniny znalazły również zastosowanie w syntezie związków o charakterze antymikrobiologicznym. Drożdże *Yarrowia lipolytica* wykorzystano do produkcji melaniny z L-DOPA. Otrzymana w ten sposób melanina posłużyła do przeprowadzenia reakcji redukcji AgNO_3 i otrzymania nanocząstek srebra, które zostały użyte jako dodatek do farb w celu nadania im właściwości antymikrobiologicznych. Farby takie były skuteczne przeciwko pleśniam z rodzaju *Aspergillus* (APTE i współaut. 2013). Nanocząstki srebra, które mają udowodnione właściwości antymikrobiologiczne, znalazły szerokie zastosowanie w modyfikacji materiałów i surowców przez ich osadzanie na nośnikach lub pokrywanie nimi różnych powierzchni tak, aby wykazywały właściwości biobójcze, dezodorujące, antystatyczne i impregnujące (MALINA i współaut. 2010).

Melaniny znalazły również zastosowanie w nowoczesnej diagnostyce medycznej. Opracowano nanocząstki melaniny wielkości 50 nm, które można zastosować w tomografii optoakustycznej jako substancja kontrastująca (LIOPO i współaut. 2015). Wykorzystany został fakt, że cząsteczki melaniny wykazują znacznie silniejszą absorpcję w zakresie bliskiej podczerwieni niż otaczające je komórki skóry (RAJAN i współaut. 2009). Początkowo obrazowanie optoakustyczne wykorzystywane było do wykrywania przerzutów w węzłach chłonnych pochodzących od nowotworu złośliwego skóry, czerniaka. Niestety, zarówno melanina, jak i zawarta w krwi hemoglobina wykazują silne właściwości absorpcyjne i dają porównywalne sygnały optoakustyczne. Próbowano rozwiązać ten problem przez wywoływanie nadekspresji produkcji melaniny (a tym samym zwiększenie kontrastu komórek w obrazowaniu), dostarczając do komórek tyrozynazę. Niestety, proces syntezy melaniny w zmienionych komórkach generuje toksyczne produkty w postaci anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenku wodoru, co naraża zdrowe melanocyty na stres oksydacyjny (LIOPO i współaut. 2015). Sugeruje się również, że wysoka zawartość melaniny, syntetyzowanej w komórkach czerniaka i jej działanie jako czynnika cytoprotekcyjnego są jedną z przyczyn oporności tych komórek na radioterapię i fototerapię (RÓŻANOWSKA i współaut. 1999). Rozwiązaniem może być dostarczanie z zewnątrz nanocząstek melaniny, która poza wysokim kontrastem wykazuje również silne właściwości antyutleniające. Dodatkowo, gromadzenie dużych ilości nanocząstek melaniny przez guzy nowotworowe i ich stabilność w warunkach fizjologicznych w porównaniu do białek fluorescencyjnych, czyni ich zastosowanie potencjalnie cennym narzędziem diagnostycznym. Poszukuje się nowych, naturalnych źródeł melaniny, wśród których najbardziej obiecującym wydają się być melaniny produkowane przez mikroorganizmy (grzyby, bakterie). Ich zaletą jest to, że mogą być produkowane na dużą skalę, stosunkowo tanio, w porównaniu do kosztów otrzymania melanin syntetycznych (GONCALVES i POMBEIRO-SPONCHIADO 2005).

INNE ZASTOSOWANIA MELANIN

Melaniny są polimerami przewodzącymi prąd elektryczny i wykazują właściwości półprzewodnika. To stwarza szerokie potencjalne możliwości ich zastosowania w wielu gałęziach technologii. Syntetyczna DOPA-melanina została użyta do formowania *in situ* powłok półprzewodnikowych (LEE i współaut. 2007). Jednorodne powłoki z melaniny mogą być otrzymane z dopaminy bądź po-

dobnych prekursorów za pomocą natryskiwania na powierzchnie, takie cienkie filmy wykazują interesujące właściwości elektryczne i optyczne (ABBAS i współaut. 2009). Dostępne są również okulary przeciwsłoneczne z soczewkami zawierającymi melaninę, które pochłaniają niemal całe padające na nie promieniowanie ultrafioletowe, tym samym chroniąc wzrok.

PODSUMOWANIE

Melaniny to związki o niezwykłych właściwościach. Rola melanin i ich obecność w życiu człowieka jest złożona i wieloaspektowa. Chronią nas przed szkodliwym skutkiem nadmiernej ekspozycji na promieniowanie UV i powstającymi pod jego wpływem reaktywnymi formami tlenu i wolnymi rodnikami. Są odpowiedzialne za pigmentację skóry i włosów. Biorą udział w prawidłowym przebiegu procesów widzenia i słyszenia oraz ochronie mózgu przed procesami neurodegeneracyjnymi. Można je znaleźć w niektórych produktach spożywczych, wpływają na ich prozdrowotne właściwości. Znalazły również zastosowanie w nowoczesnej medycynie i technologii. Choć kryją jeszcze wiele tajemnic, to biorąc pod uwagę ich unikatowe właściwości, rolę, a także cenę, w pełni zasługują na miano „czarnego złota”.

Streszczenie

Melaniny to ogólna nazwa grupy wielkocząsteczkowych barwników odpowiedzialnych za ciemną pigmentację organizmów. Powstają w wyniku oksydacyjnej polimerizacji związków fenolowych i indolowych. Są to jedne z najbardziej powszechnych, heterogenicznych i odpornych na działanie różnych czynników pigmentów obecnych w przyrodzie. U człowieka powstają w melanosomach będących specyficznymi organellami melanocytów, komórek wyspecjalizowanych w przeprowadzaniu złożonego procesu melanogenezy. Ich rola w życiu człowieka jest wieloaspektowa. Chronią przed szkodliwym skutkiem nadmiernej ekspozycji na promieniowanie UV i powstającymi pod jego wpływem reaktywnymi formami tlenu. Są odpowiedzialne za pigmentację skóry, włosów, tęczówki. Biorą udział w prawidłowym przebiegu procesów widzenia i słyszenia oraz ochronie mózgu przed procesami neurodegeneracyjnymi. Są jednym z czynników wirulencji mikroorganizmów patogennych dla człowieka. Są obecne w niektórych produktach spożywczych, pozytywnie wpływając na ich działanie prozdrowotne. Znalazły również zastosowanie w nowoczesnej medycynie i technologii.

LITERATURA

- ABBAS M., D'AMICO F., MORRESI L., PINTO N., FICCADENTI M., NATALI R., OTTAVIANO L., PASSACANTANDO M., CUCCIOLONI M., ANGLETTI M., GUNELLA R., 2009. *Structural, electrical, electronic and optical properties of melanin films*. Eur. Phys. J. E 28, 285-291.
- AL-TAYIB O. A., EL TAHIR K. E., IDRIS M. H., ERAM K. E., HASSIB A. M., 2014. *Nigella sativa L. seeds melanin: A new hypoglycemic*

- agent. Comparison with insulin in alloxan-diabetic rats. *Scholars Acad. J. Pharmacy* 3, 332-335.
- APTE M., GIRME G., BANKAR A., RAVIKUMAR A., ZINJARDE S., 2013. 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine-derived melanin from *Yarrowia lipolytica* mediates the synthesis of silver and gold nanostructures. *J. Nanobiotechnol.* 11, 1-9.
- BIN L., WEI L., XIAOHONG C., MEI J., MINGSHENG D., 2012. *In vitro* antibiofilm activity of the melanin from *Auricularia auricula*, and edible jelly mushroom. *Ann. Microbiol.* 62, 1523-1530.
- BRENNER M., HEARING V. J., 2008. The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochem. Photobiol.* 84, 539-549.
- DELJEWSKI M., BUSZMAN E., WRZEŚNIOK D., 2013. Oddziaływanie nikotyny z melaniną. *Ann. Acad. Med. Silesiensis* 67, 361-366.
- FOGARTY R. V., TOBIN J. M., 1996. Fungal melanins and their interactions with metals. *Enzyme Microb. Technol.* 18, 311-317.
- GONCALVES R., POMBEIRO-SPONCHIADO S. R., 2005. Antioxidant activity of the melanin pigment extracted from *Aspergillus nidulans*. *Biol. Pharmaceut. Bull.* 28, 1129-1131.
- HARKI E., TALOU T., DARGENT R., 1997. Purification, characterisation and analysis of melanin extract from *Tuber melanosporum* Vitt. *Food Chem.* 58, 69-73.
- ITO S., WAKAMATSU K., 2011. Diversity of human hair pigmentation as studied by chemical analysis of eumelanin and pheomelanin. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.* 25, 1369-1380.
- KOLCZYŃSKA-SZAFRANIEC U., BILIŃSKA B., 1992. Infrared studies of natural pheomelanins. *Curr. Topics Biophys.* 16, 77-80.
- LEE H., DELLATORE S. M., MILLER W. M., MESSERSMITH P. B., 2007. Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings. *Science* 318, 426-430.
- LIPO A., SU R., ORAEVSKY A., 2015. Melanin nanoparticles as a novel contrast agent for photoacoustic tomography. *Photoacoustics* 3, 35-43.
- MALINA D., SOBCZAK-KUPIEC A., KOWALSKI Z., 2010. Nanocząstki srebra – przegląd chemicznych metod syntezy. *Czasopismo Techniczne Chemia* 107, 183-192.
- MARCZYŃSKA D., PRZYBYŁO M., 2013. Melanocyty – komórki barwnikowe o wielu obliczach. *Kosmos* 62, 491-499.
- MBONYIRIVUZE A., NURU Z.Y., NGOM B.D., MWAKIKUNGA B., DHALMINI S.M., PARK E., MAAZA M., 2015. Morphological and chemical composition characterization of commercial *sepia* melanin. *Am. J. Nanomat.* 3, 22-27.
- NICOLAUS R., 1968. *Melanins*. Paris, Hermann.
- PLONKA P. M., PASSERON T., BRENNER M., TOBIN D. J., SHIBAHARA S., THOMAS A., SŁOMINSKI A., KADEKARO A. L., HERSHKOVITZ D., PETERS E., NORDLUND J. J., ABDEL-MALEK Z., TAKEDA K., PAUS R., ORTONNE P., HEARING V. J., SCHALLREUTER K. U., 2009. What are melanocytes really doing all day long? *Exp. Dermatol.* 18, 799-819.
- PROTA G., 1992. *Melanins and melanogenesis*. San-Diego, Academic Press.
- RAJIAN J. R., CARSON P. L., WANG X., 2009. Quantitative photoacoustic measurement of tissue optical absorption spectrum aided by an optical contrast agent. *Optics Express* 17, 4879-4889.
- RILEY P. A., 1997. Melanin. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 29, 1235-1239.
- ROK J., OTREBA M., BUSZMAN E., WRZEŚNIOK D., 2012. Melanina – z melanocytu do keratynocytu, czyli jak przebiega transport melaniny w skórze. *Ann. Acad. Med. Silesiensis* 66, 60-66.
- RÓŻANOWSKA M., SARNA T., LAND E., TRUSCOTT G., 1999. Free radical scavenging properties of melanin interaction of eu- and pheo-melanin models with reducing and oxidising radicals. *Free Radical Biol. Med.* 26, 518-525.
- SANTIAGO-WALKER A., LI L., HAASS N. K., HERLYN M., 2009. Melanocytes: from morphology to application. *Skin Pharmacol. Physiol.* 22, 114-121.
- SAVA V. M., HUNG Y. C., BLAGODARSKY V. A., HONG M. Y., HUANG G. S., 2003. The liver-protecting activity of melanin-like pigment derived from black tea. *Food Res. Int.* 36, 505-511.
- SAWICKI W., 2005. *Skóra* [W:] *Histologia*. SAWICKI W., MALEJCZYK J. (red.). Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 406-603.
- SŁOMINSKI A., WORTSMAN J., PLONKA P. M., SCHALLREUTER K. U., PAUS R., TOBIN D. J., 2005. Hair follicle pigmentation. *J. Invest. Dermatol.* 124, 12-21.
- SOLANO F., 2014. Melanins: skin pigments and much more. Types, structural models, biological functions, and formation routes. *New J. Sci.* 2014, 1-28.
- SOLANO F., HEARING V. J., GARCIA-BORRÓN J. C., 2000. Neurotoxicity due to o-quinones: neuro-melanin formation and possible mechanisms for o-quinone detoxification. *Neurotox. Res.* 1, 153-169.
- STEPIEŃ K., 2010. Udział melanocytów w ochronie przed stresem fotoooksydacyjnym. *Post. Biochem.* 56, 290-295.
- TAYLOR B. E., WHEELER M. H., SZANISZLO P. J., 1987. Evidence for pentaketide melanin biosynthesis in dematiaceous human pathogenic fungi. *Mycologia* 79, 320-322.
- TOLLESON W. H., 2005. Human melanocyte biology, toxicology, and pathology. *J. Environ. Sci. Health* 23, 105-161.
- WANG Y., CASEDEVALL A., 1994. Decreased susceptibility of melanized *Cryptococcus neoformans* to UV light. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 3865-3866.
- WEIJN A., BASTIAAN-NET S., WICHERS H. J., MES J. J., 2013. Melanin biosynthesis pathway in *Agaricus bisporus*. *Fungal Genet. Biol.* 55, 42-53.
- WIŚNIEWSKA K., 2010. Przyspieszacze opalania. Najpopularniejsze, stosowane w kosmetykach. *Świat Przemysłu Kosmetycznego* 3, 58-61.
- YAO Z., QI J., WANG L., 2012. Isolation, fractionation and characterization of melanin-like pigments from chestnut (*Castanea mollissima*) shells. *J. Food Sci.* 77, 671-676.
- YERGER V. B., MALONE R. E., 2006. Melanin and nicotine: a review of the literature. *Nicotine Tobacco Res.* 4, 487-498.
- ZECCA L., TAMPELLINI D., GERLACH M., RIEDERER P., FARIELLO R. G., SULZER D., 2001. Substantia nigra neuromelanin: structure, synthesis, and molecular behaviour. *J. Clin. Pathol. Mol. Pathol.* 54, 414-418.
- ZHEREBIN Y. L., MAKAN S. Y., SAVA V. M., BOGATSKY A. V., 1982. Process producing of water-soluble melanin. SU Patent 939446.
- ZHU H., HE C. -C., CHU Q. -H., 2011. Inhibition of quorum sensing in *Chromobacterium violaceum* by pigments extracted from *Auricularia auricular*. *Lett. Appl. Microbiol.* 52, 269-274.

KOSMOS Vol. 65, 4, 621–629, 2016

ŁUKASZ ŁOPUSIEWICZ, SŁAWOMIR LISIECKI

Center of Bioimmobilisation and Innovative Packaging Materials, West Pomeranian University of Technology in Szczecin, Klemensa Janickiego 35, 71-270 Szczecin, e-mail: lukasz.lopusiewicz@zut.edu.pl

„BLACK GOLD” – MELANINS IN HUMAN LIFE

Summary

Melanin is a general name of macromolecular dyes responsible for the dark pigmentation of organisms. They are products of oxidative polymerization of phenolic and indolic compounds, the most common, heterogenous and resistant to various factors pigments found in the nature. In man they are synthesized in melanosomes that are specific organelles of melanocytes, cells specialized in carrying out the complex process of melanogenesis. The role of melanin in human life is multiplex. Melanins protect against the harmful effects of excessive exposure to UV radiation and reactive oxygen species. They are responsible for skin, hair and iris pigmentation. They take part in the normal processes of vision and hearing and protect the brain against neurodegenerative processes. Melanins are one of the virulence factors of some pathogenic microorganisms. They are present in certain food products, thus improving their health-promoting effect. Melanins are also used in modern medicine and technology.