

Badanie fotoreaktywności naturalnych melanin oraz ich potencjału fototoksycznego w układach modelowych i komórkach *in vitro*

Ochrona komórek skóry przed niekorzystnym działaniem promieniowania ultrafioletowego (UV) oraz światła niebieskiego należy do najważniejszych funkcji barwników melaninowych. Melaniny wydajnie absorbują promieniowanie słoneczne, a następnie efektywnie rozpraszają zaabsorbowaną energię fotonów w postaci ciepła. Do niedawna uważano, iż melaniny, a w szczególności brązowo-czarne eumelaniny stanowią niemalże doskonałe fotoprotektory, natomiast feomelaniny wykazują właściwości proutleniające i są zdolne do fotoprodukcji reaktywnych form tlenu. Większość dotychczasowych badań dotyczących fotoreaktywnych i protekcyjnych własności barwników melaninowych przeprowadzane były z wykorzystaniem syntetycznych modeli melanin, co pozwoliło na poznanie szeregu mechanizmów związanych z reakcją różnych melanin na promieniowanie świetlne. Jednakże, zastosowanie takiego podejścia pozwala jedynie na ograniczony wgląd w fotoreaktywny efekt melanin występujących naturalnie w skórze czy włosach. W niniejszej pracy wykorzystano naturalne barwniki melaninowe pozyskane z włosów osobników o różnych fototypach skóry (I, II, III, V). Do badania własności fizykochemicznych wykorzystano spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR), spektrofotometrię, dynamiczne rozpraszanie światła (DLS) oraz analizę chemiczną produktów degradacji melanin. Własności fotoreaktywne melanin analizowano poprzez zaobserwowanie tlenometrii EPR, pułapkowania spinowego EPR oraz czasowo-rozdzielczej spektroskopii fosforescencji tlenu singletowego w bliskiej podczerwieni. Zbadano również przeciwutleniający potencjał naturalnych melanin poprzez analizę ich oddziaływań ze stabilnym rodnikiem DPPH oraz tlenem singletowym. Analizie poddano kinetykę eksperymentalnej fotodegradacji melanin i określono wpływ procesu degradacji na właściwości fizykochemiczne, fotoreaktywne i antyoksydacyjne melanin. Wykorzystując model *in vitro* ludzkich keratynocytów linii HaCaT zbadano fotoprotekcyjne właściwości natywnych i fotodegradowanych melanosomów fototypów I, II, III, V. W tym celu analizowano żywotność komórek HaCaT zawierających melanosomy i ekspozycję na symulowane światło słoneczne, potencjał ich błony mitochondrialnej oraz obecność wodoronadtlenków lipidów. Fotoreaktywne i przeciwutleniające właściwości melanin naturalnych silnie zależą od ich składu chemicznego i wielkości cząstek, przy czym najwyższą fotoreaktywność wykazują barwniki fototypów II oraz III. Długotrwała ekspozycja melanin naturalnych na intensywne promieniowanie świetlne o długości fali 400 nm prowadzi do degradacji centrów rodnikowych, a także modyfikacji struktury i właściwości

fizykochemicznych barwników. W konsekwencji dochodzi do wzrostu fotoreaktywności melanin, w szczególności wydajniejszej generacji tlenu singletowego ($^1\text{O}_2$), przy jednoczesnym zmniejszeniu zmiatania reaktywnych form tlenu (RFT). Dzięki silnemu autogaszeniu RFT przez barwniki natywne, w szczególności bogate w eumelaninę, ryzyko przedostania się produktów resztkowej fotoreaktywności z ziaren melaniny do wnętrza komórki jest stosunkowo niewielkie. Fotodegradacja melanin promuje prooksydacyjny i fototoksyczny efekt biologiczny w modelu *in vitro* zarówno w przypadku barwników bogatych w feomelaniny, jak i eumelaniny. Stres oksydacyjny będący następstwem fotouczulanych reakcji fotodegradowanych melanin może prowadzić do przyspieszenia fotostarzenia skóry, a nawet indukcji nowotworów, w tym czerniaka złośliwego.