

Received: 2015.10.05  
Accepted: 2016.04.01  
Published: 2016.06.30

## Od tyrozyny do melaniny: ścieżki sygnalizacyjne i czynniki regulujące melanogenezę

### From tyrosine to melanin: Signaling pathways and factors regulating melanogenesis

Zuzanna Rzepka, Ewa Buszman, Artur Beberok, Dorota Wrześniok

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Katedra i Zakład Chemii i Analizy Leków

#### Streszczenie

Melaniny to naturalne pigmenty skóry, włosów i oczu. Można wśród nich wyróżnić brązowo-czarną eumelaninę i żółto-czerwoną feomelaninę. Biosynteza melanin odbywa się w melanosomach, które są wyspecjalizowanymi cytoplazmatycznymi organelami melanocytów – dendrytycznych komórek umiejscowionych w warstwie podstawnej naskórka, błonie naczyniowej oka, mieszkach włosowych, a także w uchu wewnętrznym, ośrodkowym układzie nerwowym i sercu. Melanogeneza jest wieloetapowym procesem, rozpoczynającym się przekształceniem aminokwasu L-tyrozyny do DOPACHINONU. Addycja cysteiny lub glutationu do DOPACHINONU prowadzi do powstania produktów pośrednich, z których w wyniku kolejnych przemian i polimeryzacji powstaje feomelanina. Przy braku związków tiolowych DOPACHINON ulega wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji i utlenieniu z utworzeniem DOPACHROMU, który następnie jest przekształcany do 5,6-dihydroksiindolu (DHI) lub kwasu 5,6-dihydroksiindolo-2-karboksylowego (DHICA). Eumelanina jest produktem polimeryzacji DHI i DHICA oraz ich form chinonowych. Regulacja melanogenezy jest uwarunkowana wpływem czynników fizycznych i biochemicznych. W artykule opisano wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnalizacyjne: kaskadę cAMP/PKA/CREB/MITF, kaskadę kinaz MAP, PLC/DAG/PKCβ i kaskadę NO/cGMP/PKG, poprzez które promieniowanie ultrafioletowe oraz czynniki endogenne (cytokiny, hormony) regulują aktywność enzymów uczestniczących w biosyntezie melanin oraz ekspresję ważnych dla melanogenezy genów. Na aktywność tyrozinazy, będącej podstawowym enzymem melanogenezy wpływa także pH i temperatura. Wiele substancji farmakologicznie czynnych wykazuje zdolność hamowania lub pobudzania procesu biosyntezy melaniny, o czym świadczą wyniki badań *in vitro* przeprowadzonych na hodowlach komórek barwnikowych.

**Słowa kluczowe:** melanogeneza • melanocyt • melanosom • melanina

#### Summary

Melanins are natural pigments of skin, hair and eyes and can be classified into two main types: brown to black eumelanin and yellow to reddish-brown pheomelanin. Biosynthesis of melanins takes place in melanosomes, which are specialized cytoplasmic organelles of melanocytes – dendritic cells located in the basal layer of the epidermis, uveal tract of the eye, hair follicles, as well as in the inner ear, central nervous system and heart. Melanogenesis is a multistep process and begins with the conversion of amino acid L-tyrosine to DOPAquinone. The addition of cysteine or glutathione to DOPAquinone leads to the intermediates formation, followed by subsequent transformations and polymerization to the

final product, pheomelanin. In the absence of thiol compounds DOPAquinone undergoes an intramolecular cyclization and oxidation to form DOPACHrome, which is then converted to 5,6-dihydroxyindole (DHI) or 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA). Eumelanin is formed by polymerization of DHI and DHICA and their quinones.

Regulation of melanogenesis is achieved by physical and biochemical factors. The article presents the intracellular signaling pathways: cAMP/PKA/CREB/MITF cascade, MAP kinases cascade, PLC/DAG/PKC $\beta$  cascade and NO/cGMP/PKG cascade, which are involved in the regulation of expression and activity of the melanogenesis-related proteins by ultraviolet radiation and endogenous agents (cytokines, hormones). Activity of the key melanogenic enzyme, tyrosinase, is also affected by pH and temperature. Many pharmacologically active substances are able to inhibit or stimulate melanin biosynthesis, as evidenced by *in vitro* studies on cultured pigment cells.

**Key words:** melanogenesis • melanocyte • melanosome • melanin

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1208033>

**Word count:** 3089  
**Tables:** 3  
**Figures:** 4  
**References:** 86

**Adres autorki:** mgr farm. Zuzanna Rzepka, Katedra i Zakład Chemii i Analizy Leków, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec; e-mail: zuzarzepka@gmail.com

**Wykaz skrótów:** **6BH4** – (6R)-L-erytro-5,6,7,8-tetrahydrobiopteryna; **7BH4** – (7R)-L-erytro-5,6,7,8-tetrahydrobiopteryna; **ACTH** – hormon adrenokortykotropowy (adrenocorticotrophic hormone); **ATP** – adenozy-notrifosforan (adenosine triphosphate); **bFGF** – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (basic fibroblast growth factor); **BT** – 7-(2-amino-2-karboksyetylo)-5-hydrokso-2H-1,4-benzotiazyna; **BTCA** – kwas 7-(2-amino-2-karboksyetylo)-5-hydrokso-2H-1,4-benzotiazyno-3-karboksylowy; **BZ** – 6-(2-amino-2-karboksyetylo)-4-hydrokso-benzotiazol; **cAMP** – cykliczny adenozy-nomonofosforan (cyclic adenosine monophosphate); **CBP** – białko wiążące CREB (CREB-binding protein); **cGMP** – cykliczny guanozy-nomonofosforan (cyclic guanosine monophosphate); **CRE** – element odpowiedzi na cAMP (cAMP responsive element); **CREB** – białko wiążące CRE (CRE-binding protein); **DAG** – diacyloglicerol; **DCT** – tautomeraza DOPACHromu (DOPACHrome tautomerase); **DHI** – 5,6-dihydroksoindyol (5,6-dihydroksoindole); **DHICA** – kwas 5,6-dihydroksoindylo-2-karboksylowy (5,6-dihydroksoindole-2-carboxylic acid); **EMU** – naskórkowa jednostka melaninowa (epidermal melanin unit); **ET** – endotelina; **FMU** – jednostka melaninowa mieszka włosowego (follicular melanin unit); **GM-CSF** – czynnik stymulujący kolonie granulocytarno-makrofagowe (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor); **GSH** – zredukowana postać glutationu; **GTP** – guanozy-notrifosforan (guanosinetriphosphate); **GTP-CHI** – GTP-cyklohydroksoylaza I (GTP-cyclohydroksoylase I); **HEMa-LP** – prawidłowe ludzkie melanocyty epidermalne o niskiej pigmentacji pochodzące od osoby dorosłej (human epidermal melanocytes, adult, light pigmented); **HEMn-DP** – prawidłowe ludzkie melanocyty epidermalne o wysokiej pigmentacji pochodzące od noworodka (human epidermal melanocytes, neonatal, dark pigmented); **HEMn-LP** – prawidłowe ludzkie melanocyty epidermalne o niskiej pigmentacji pochodzące od noworodka (human epidermal melanocytes, neonatal, light pigmented); **HGF** – czynnik wzrostu hepatocytów (hepatocyte growth factor); **HNF** – czynnik jądro-wy hepatocytów (hepatocyte nuclear factor); **IL** – interleukina; **LAMPs** – białka związane z błoną lizosomów (lysosomal-associated membrane proteins); **L-DOPA** – 3,4-dihydrokso-L-fenylalanina (3,4-dihydrokso-L-phenylalanine); **MAPK** – kinaza białkowa aktywowana przez mitogen (mitogen activated protein kinase); **MATP** – białko transportowe związane z błoną (membrane associated transporter protein); **MC1R** – receptor melanokortynowy typu 1 (melanocortin 1 receptor); **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex); **MITF** – czynnik transkrypcyjny związany z mikroftalmią (microphthalmia associated transcription factor); **MSH** – hormon stymulujący melanocyty (melanocyte stimulating hormone); **NGF** – czynnik wzrostu nerwów (nerve growth factor); **ODHBT** – 7-(2-amino-2-karboksyetylo)-5-hydrokso-3-okso-3,4-

dihydro-2H-1,4-benzotiazyna; **PAH** – hydroksylaza fenyloalaninowa (phenylalanine hydroxylase); **PG** – prostaglandyna; **PK** – kinaza białkowa (protein kinase); **PLC** – fosfolipaza C (phospholipase C); **POMC** – proopiomelanokortyna (proopiomelanocortin); **RFT** – reaktywne formy tlenu; **RPE** – nabłonek barwnikowy siatkówki (retinal pigment epithelium); **SCF** – czynnik wzrostu komórek macierzystych (stem cell factor); **TGF** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor); **THI** – izoforma I hydroksylazy tyrozynowej (tyrosine hydroxylase isoform I); **TNF** – czynnik martwicy nowotworów (tumor necrosis factor); **TRP1** – białko pokrewne tyrozinazie 1 (tyrosinase related protein 1); **TRP2** – białko pokrewne tyrozinazie 2 (tyrosinase related protein 2); **TYR** – tyrozynaza; **USF-1** – nadrzędny czynnik transkrypcyjny 1 (upstream stimulatory factor 1); **UV** – ultrafiolet (ultraviolet); **UVR** – promieniowanie ultrafioletowe (ultraviolet radiation).

## WSTĘP

Melanocyty są komórkami uczestniczącymi w syntezie i dystrybucji melanin – wielkocząsteczkowych pigmentów o charakterze polimeru powstających w wyniku utleniania i polimeryzacji związków fenolowych [24,65]. Wśród biopolimerów melaninowych wyróżnia się brązowo-czarną eumelaninę i żółto-czerwoną feomelaninę. Eumelanina ma właściwości fotoprotekcyjne, wynikające ze zdolności do pochłaniania promieniowania ultrafioletowego (ultraviolet radiation, UVR) oraz neutralizacji wolnych rodników i reaktywnych form tlenu (RFT). Feomelanina natomiast ma właściwości fotouczulające i pod wpływem UVR może brać udział w generowaniu RFT [10,57,69].

## MELANOCYTY

Melanocyty to dendrytyczne komórki wywodzące się z grzebienia nerwowego. Podczas rozwoju zarodkowego, komórki prekursorowe melanocytów zwane melanoblastami migrują ścieżką grzbietowo-boczną do naskórka i mieszków włosowych, a także do innych miejsc docelowych, takich jak: błona naczyniowa oka, prążek naczyniowy ślimaka ucha wewnętrznego, opony miękkie mózgu oraz zastawki i przegrody serca [9,16,17,57].

W naskórku melanocyty stanowią zaledwie około 1% komórek [10,69] i są umiejscowione w warstwie podstawnej [54,65]. Melanina jest syntetyzowana w organellach zwanych melanosomami, które następnie są transportowane przez wypustki (dendryty) z melanocytu do sąsiadujących keratynocytów, gdzie gromadzą się nad jądrami komórkowymi, tworząc tzw. czapeczki (supranuclear caps) stanowiące osłonę chroniącą materiał genetyczny przed szkodliwym działaniem UVR [10,54]. Dzięki wypustkom każdy melanocyt warstwy podstawnej naskórka kontaktuje się z około 36 keratynocytami tworząc tzw. naskórkową jednostkę melaninową (epidermal melanin unit, EMU) [59,60,69]. Liczba melanocytów przypadająca na 1 mm<sup>2</sup> skóry nie różni się u przedstawicieli poszczególnych ras ludzkich [10,62,65] i wynosi od 2000 w obrębie głowy i przedramienia do 1000 w innych miejscach ciała [10,57].

Za pigmentację włosów są odpowiedzialne melanocyty umiejscowione w opuszcze mieszka włosowego (hair bulb), które wraz z sąsiadującymi keratynocytami i fibroblastami brodawki włosa tworzą tzw. jednostkę melaninową

mieszka włosowego (follicular melanin unit, FMU). Stosunek liczbowy melanocytów do keratynocytów w opuszcze mieszka włosowego wynosi 1:5 [16,62,63].

W gałce ocznej melanocyty występują głównie w błonie naczyniowej (jagodówce). Można je podzielić na melanocyty: tęczówki, ciała rzęskowego i naczyniówki. Drugim typem komórek syntetyzujących melaninę w oku ssaka są komórki nabłonka barwnikowego, przy czym wyróżnia się nabłonek barwnikowy siatkówki (retinal pigment epithelium, RPE), nabłonek barwnikowy tęczówki i nabłonek barwnikowy ciała rzęskowego [9,30].

Melanocyty w uchu wewnętrznym występują w narządzie przedsionkowym i ślimaku (głównie w prążku naczyniowym), gdzie oprócz wytwarzania melaniny, wpływają na skład jonowy endolimfy przez wydzielanie jonów K<sup>+</sup>. Brak komórek barwnikowych w uchu wewnętrznym może spowodować zaburzenia równowagi, niedosłuch, a nawet głuchotę [17,25].

Melanocyty są komórkami immunokompetentnymi i stanowią ważny element układu odpornościowego skóry. Pobudzone melanocyty wykazują zdolność ekspresji antygenów głównego układu zgodności tkankowej (major histocompatibility complex, MHC) klasy I i II. Są zdolne do fagocytozy patogenów oraz mogą uczestniczyć w komórkowych reakcjach cytotoksycznych zależnych od przeciwciał, prezentując antygeny limfocytom T [54,71].

## MELANOSOMY

W cytoplazmie melanocytów występują otoczone błoną organella komórkowe odpowiedzialne za syntezę i przechowywanie melaniny – melanosomy [16,57,74]. Chronią komórki barwnikowe przed wysoce reaktywnymi związkami chinonowymi powstającymi w czasie melanogenezy [16,72]. Charakteryzują się niską wartością pH oraz obecnością kwaśnej fosfatazy i tzw. białek związanych z błoną lizosomów (lysosomal-associated membrane proteins, LAMPS) [57].

Melanosomy powstają z endosomalnych pęcherzyków, które po zgromadzeniu w swym wnętrzu białek warunkujących tworzenie szkieletu macierzy przekształcają się w premelanosomy. Następnie, do premelanosomów są dostarczane enzymy melanogenezy. Wyróżnia się czte-

**Tabela 1.** Charakterystyka morfologicznych stadiów rozwoju melanosomów [16,57,63,69,74]

	Stadium I (Premelanosomy)	Stadium II (Premelanosomy)	Stadium III (Melanosomy)	Stadium IV (Melanosomy)
Kształt	Kulisty	Wydłużony	Eliptyczny	Eliptyczny
Tyrozynaza	Brak	Obecna	Obecna	Obecna (niska aktywność)
Macierz melanosomalna	Amorficzna	Kompletna, o strukturze włókienkowej	Kompletna, o strukturze włókienkowej	Kompletna, o strukturze włókienkowej
Uwagi	W tym stadium rozpoczyna się proces organizacji macierzy	W przeciwieństwie do feomelanosomów, w eumelanosomach synteza melaniny się nie rozpoczyna	Zachodzi synteza i odkładanie eu- i feomelaniny na włókienkach macierzy	Organelła całkowicie wypełnione pigmentem

ry morfologiczne stadia rozwoju melanosomów (tab. 1) [16,57,63,69,74].

Dojrzałe melanosomy są transportowane z obszaru okołojądrowego do wypustek dendrytycznych melanocytów, a następnie do otaczających keratynocytów, gdzie warunkują fotoprotekcję i zabarwienie skóry [53]. Melanosomy syntetyzujące eumelaninę (eumelanosomy) mają eliptyczny kształt, fibrylarną (włókienkową) macierz. Na włókienkach macierzy jest odkładana eumelanina. Melanosomy syntetyzujące feomelaninę (feomelanosomy) mają kształt kulisty, a pigment występuje w postaci ziarnistości w wielopęcherzykowych ciałkach [57,62]. W jednym melanocycie mogą występować zarówno eumelanosomy, jak i feomelanosomy [63].

W ciemnej skórze melanosomy są większe, eliptyczne, zawierają dużo eumelaniny, występują licznie, nie tworzą skupisk [10,69] i są odporne na działanie enzymów lizosomalnych [57]. W skórze jasnej melanosomów jest mniej i są mniejsze, uboższe w melaninę [10,69] oraz tworzą związane z błoną skupiska (po 4-8) [57]. U osób o jasnej karnacji w keratynocytach górnych warstw naskórka występuje tzw. pył melaninowy jako skutek całkowitej degradacji melanosomów przez enzymy lizosomalne. Wpływa to niekorzystnie na fotoprotekcję skóry i może zwiększać ryzyko kancerogenezy [10,57].

## MELANOGENEZA

### Przebieg procesu syntezy melanin

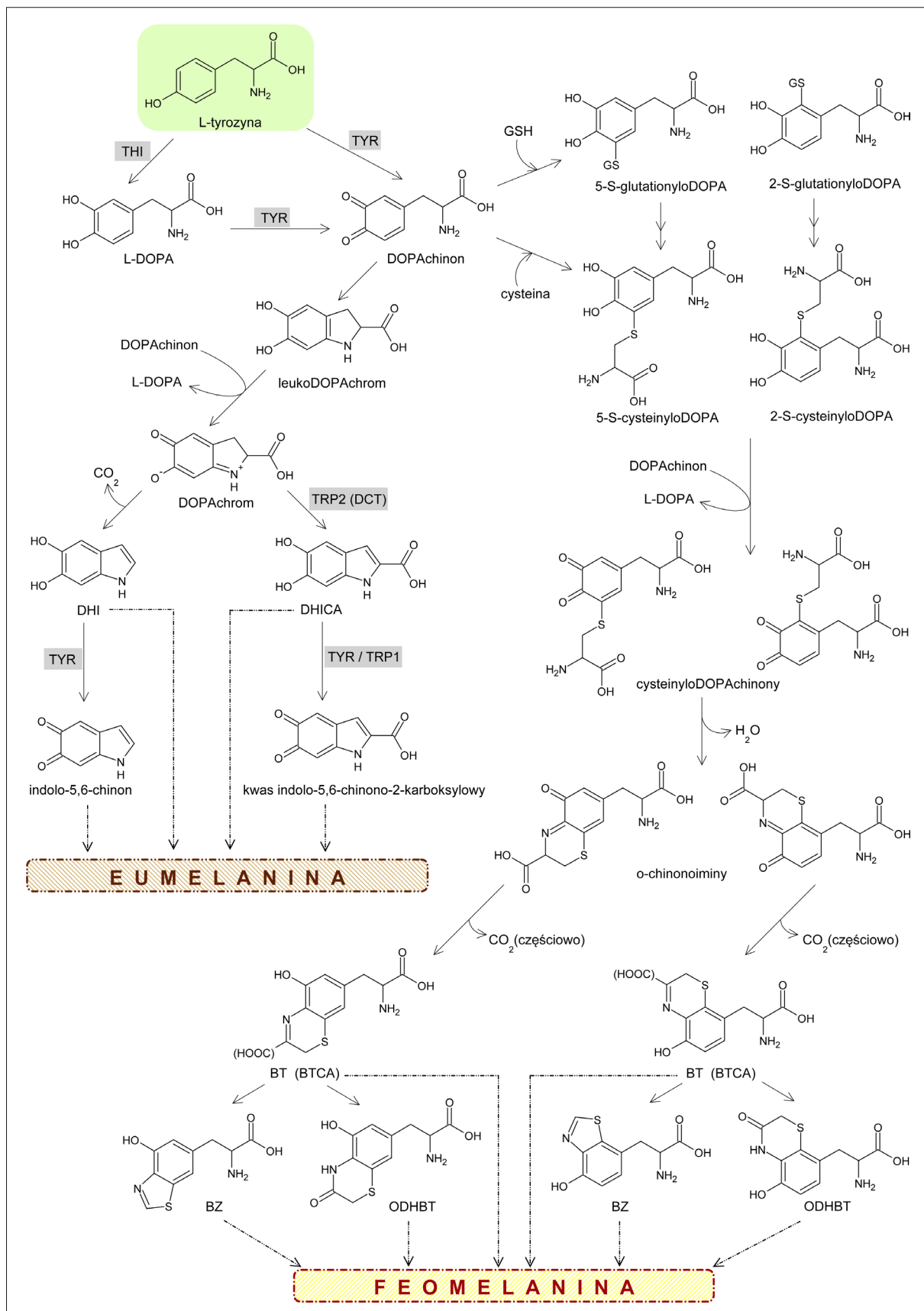
Melaniny są syntetyzowane w melanosomach w wieloetapowym procesie utleniania i polimeryzacji zwanym melanogenezą (ryc. 1). Enzymami katalizującymi te przemiany są: tyrozynaza (TYR), izoforma I hydroksylazy tyrozynowej (tyrosine hydroxylase isoform I, THI), białko pokrewne tyrozynazie 1 (tyrosinase related protein 1, TRP1) oraz białko pokrewne tyrozynazie 2 (tyrosinase related

protein 2, TRP2) zwane też tautomerazą DOPACHromu (DOPACHrome tautomerase, DCT) [50,59,73]. W biosyntezie zarówno eumelaniny, jak i feomelaniny substratem jest L-tyrozyna, która powstaje w wyniku utlenienia L-fenyloalaniny w obecności cytoplazmatycznego enzymu – hydroksylazy fenyloalaninowej (phenylalanine hydroxylase, PAH). L-tyrozyna jest transportowana do melanosomu za pośrednictwem dyfuzji ułatwionej. PAH oraz THI wymagają obecności kofaktora (donora elektronu) – (6R)-L-erytro-5,6,7,8-tetrahydrobiopteryny (6BH4). Melanocyty i keratynocyty mogą syntetyzować 6BH4 z udziałem GTP-cyklohydroksylazy I (GTP-CHI) [27,59].

Główny enzym melanogenezy – tyrozynaza jest glikoproteiną składającą się z trzech domen: N-końcowej (wewnątrz melanosomu), C-końcowej (w cytoplazmie melanocytu) i transbłonowej (w błonie melanosomu). W obrębie domeny N-końcowej tyrozynazy znajduje się centrum aktywne enzymu z dwoma koordynacyjnie związanymi atomami miedzi [50,59,73].

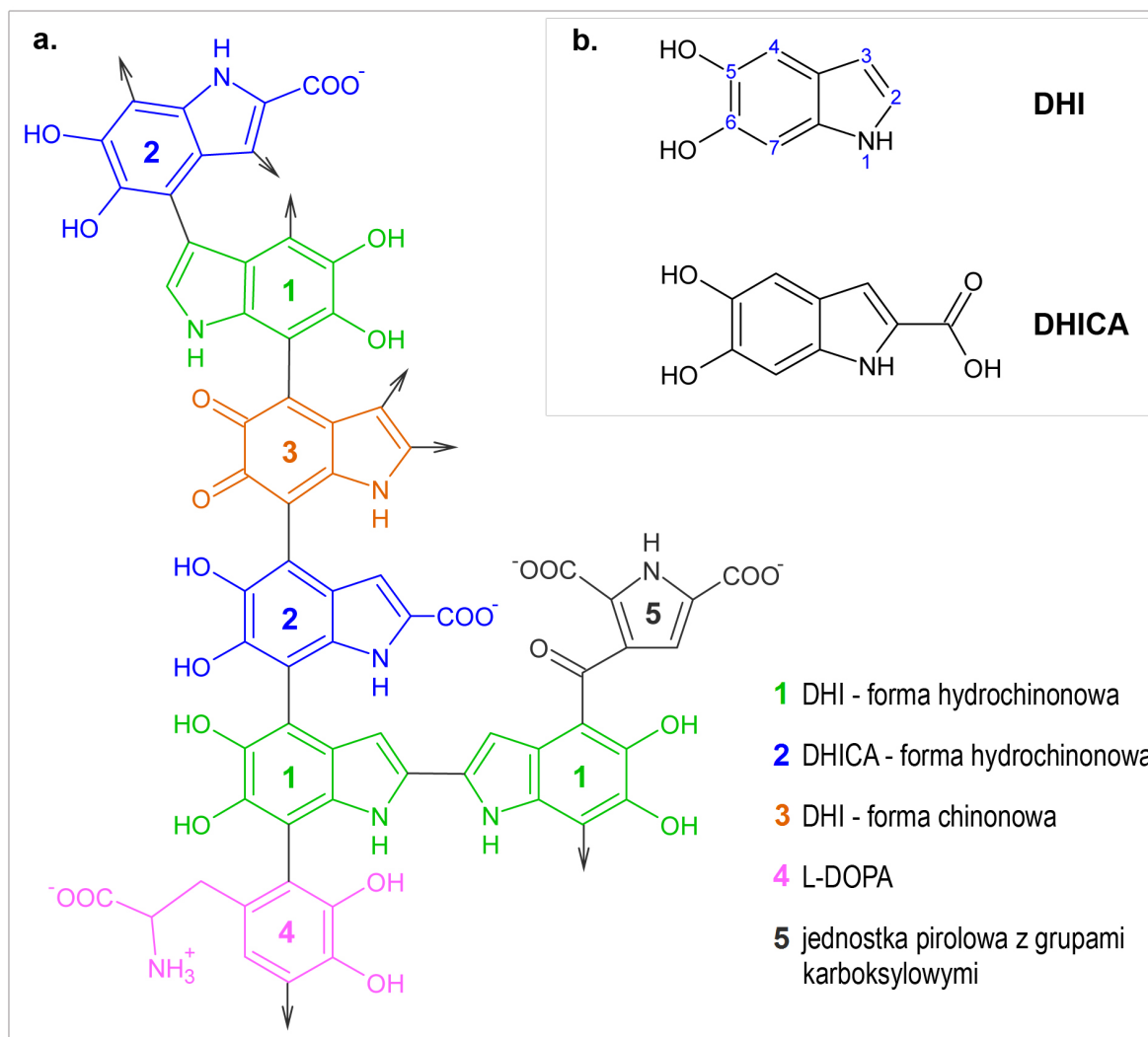
Melanogeneza rozpoczyna się przekształceniem L-tyrozyny do DOPACHinonu, co może się odbywać jednoetapowo z udziałem tyrozynazy lub dwuetapowo, gdy L-tyrozyna jest najpierw utleniana w obecności THI do 3,4-dihydroksy-L-fenyloalaniny (L-DOPA), a następnie przez tyrozynazę do DOPACHinonu [41,50,59]. W przypadku mikromolowych stężeń L-tyrozyny, enzymem katalizującym utlenianie tego aminokwasu jest THI, natomiast w wyższych (milimolowych) stężeniach L-tyrozyna jest substratem dla TYR [59]. Przekształcenie L-tyrozyna do DOPACHinonu jest etapem wspólnym dla syntezy eumelaniny i feomelaniny [32,61,62].

Przy braku związków tiolowych (cysteiny czy glutationu) wysoce reaktywny DOPACHinon ulega wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji do leukoDOPACHromu [32,38], który następnie zostaje utleniony przez kolejną cząsteczkę DOPACHinonu do pomarańczowo-czerwonego DOPACHromu



Ryc. 1. Szlak biosyntezy biopolimerów melaninowych (opracowano na podstawie [23,27,32,38,43,50,59,61,64,65,69])



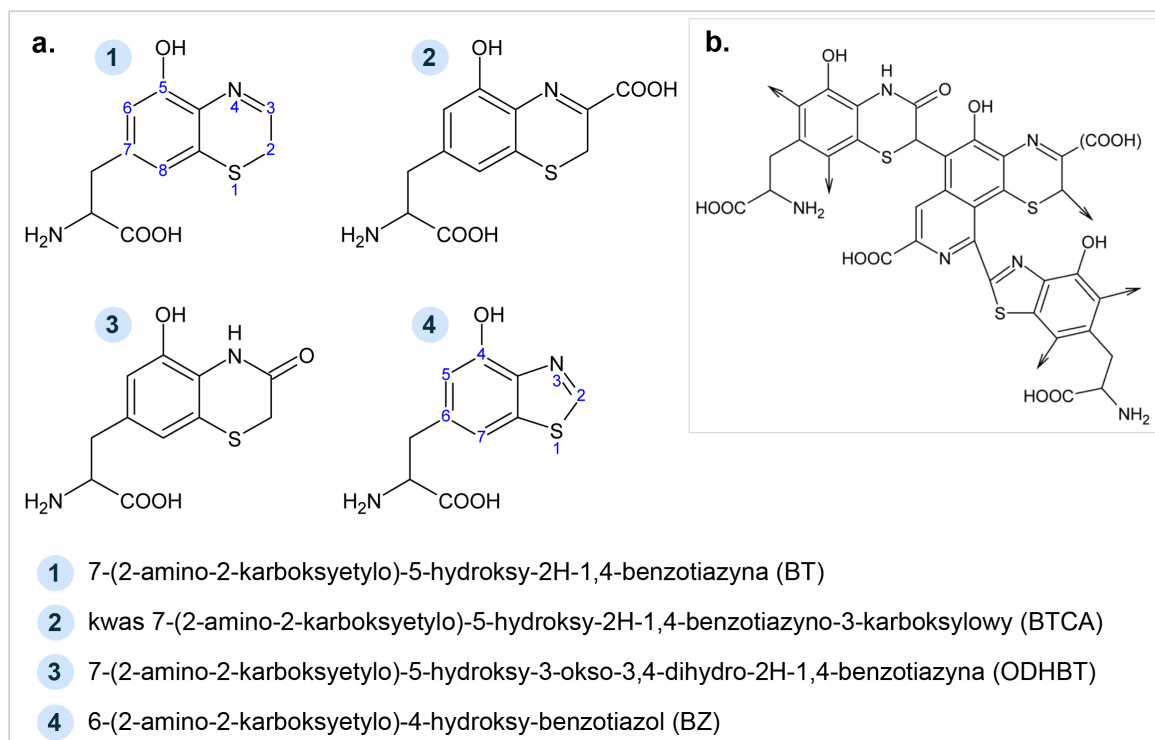


**Ryc. 2.** Fragment struktury chemicznej eumelaniny (a); wzory chemiczne głównych monomerów eumelaniny (b). Strzałkami zaznaczono miejsca przyłączenia kolejnych podjednostek pigmentu (wg [42,65] zmodyfikowano)

[23,43,61,65,69]. DOPACHrom w wyniku nieenzymatycznej dekarboksylacji przekształca się do 5,6-dihydroksiindolu (DHI) [27,32,43,50], zaś w obecności tautomerazy DOPACHromu (DCT, TRP2) [23,43] lub kationów metali ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ) [32,52,62,66] może ulec tautomerizacji do kwasu 5,6-dihydroksiindolo-2-karboksylowego (DHICA), stąd stosunek DHICA/DHI w eumelaninie zależy od aktywności tautomerazy DOPACHromu i/lub obecności wymienionych kationów metali [32]. DHI pod wpływem TYR ulega utlenieniu do indolo-5,6-chinonu [43,50,65], a DHICA pod wpływem TYR (u człowieka) lub TRP1 (u myszy) jest utleniany do kwasu indolo-5,6-chinono-2-karboksylowego [23,65]. Polimeryzacja powstałych monomerów (indolowych i chinonowych) prowadzi do powstania eumelaniny (ryc. 2a) [27,50,62]. W cząsteczce DHI atomy węgla w pozycjach 2, 3, 4 i 7 uczestniczą w tworzeniu wiązań między poszczególnymi monomerami eumelaniny, a w cząsteczce DHICA rolę tę spełniają atomy węgla w pozycjach 3, 4 oraz 7 (ryc. 2b) [42,65].

Wśród podjednostek tworzących strukturę eumelaniny może również występować 3,4-dihydroksi-L-fenylalanina (L-DOPA) i L-tyrozyna, choć udział tych monomerów jest niewielki [65]. Poza tym, wyniki niektórych badań wskazują na obecność podjednostek pirolowych w makrocząsteczce eumelaniny (ryc. 2a) [29,32,65].

W obecności związków tiolowych dochodzi do ich przyłączenia do DOPACHinonu i zwrócenia szlaku biosyntezy w kierunku feomelaniny (ryc. 1) [16,32,65]. Wewnątrzcząsteczkowa cyklizacja zachodzi wolniej niż addycja związków tiolowych, dlatego w obecności np. cysteiny preferencyjnie zachodzi feomelanogeneza [65]. Wykazano, że gdy stężenie cysteiny wewnątrz melanosomu wynosi powyżej 0,13  $\mu\text{M}$ , dochodzi do przyłączenia cysteiny do DOPACHinonu i powstania izomerów cysteinylDOPA (głównie 5-S-cysteinylDOPA [32,65]), które są następnie utleniane podczas reakcji z kolejną cząsteczką DOPACHinonu [23,32,43]. Powstające cysteinylDOPACHinony ulegają wewnątrz-



**Ryc. 3.** Wzory chemiczne monomerów wchodzących w skład struktury feomelaniny (a); fragment struktury chemicznej feomelaniny (b). Strzałkami zaznaczono miejsca przyłączenia kolejnych monomerów [wg [61] zmodyfikowano]

cząsteczkowej dehydratacji i cyklizacji do orto-chinonoinin [32,38,61]. Orto-chinonoininy w wyniku częściowej dekarboksylacji tworzą pochodne benzotiazynowe: BT i BTCA, które następnie mogą ulec przekształceniu do ODHBT i BZ (ryc. 3a) [61]. W wyniku polimeryzacji powstałych związków pośrednich formuje się feomelanina (ryc. 3b) [32,38,61]. W procesie feomelanogenezy do DOPACHINONU może się również przyłączyć glutation (GSH) i powstaje wówczas glutationyloDOPA [62,67], ulegająca następnie hydrolizie do cysteinylDOPA [63,64].

Naturalne biopolimery melaninowe składają się zarówno z podjednostek indolowych, jak i benzotiazynowych [42], dlatego wprowadzono określenie „mieszana melanina” (mixed melanin) [32,61,62]. Nie ustalono jednak, czy w melanosomach powstają obok siebie „czysta” eumelanina i „czysta” feomelanina w postaci mieszaniny, czy też syntetyzowane pigmenty są kopolimerami zbudowanymi z monomerów eumelaninowych i feomelaninowych [32,61].

### Regulacja melanogenezy

Melanogeneza jest procesem złożonym, regulowanym przez czynniki endogenne (autokryne, parakryne, endokryne) i egzogenne (promieniowanie UV, leki, substancje pochodzenia roślinnego) [18,62,73,86]. Keratynocyty, melanocyty i fibroblasty wytwarzają wiele substancji wpływających na pigmentację skóry (tab. 2) [1,16,18]. Pro-

mieniowanie UV stymuluje syntezę i wydzielanie wymienionych w tabeli 2 czynników, z wyjątkiem TGF- $\beta$ , którego powstawanie jest hamowane przez UVR [16,73]. W regulacji melanogenezy na poziomie endokrynnym uczestniczy hormon  $\alpha$  stymulujący melanocyty ( $\alpha$ -melanotropina,  $\alpha$ -MSH), hormon adrenokortykotropowy (ACTH) oraz estrogeny [50,73].  $\alpha$ -MSH i ACTH regulują melanogenezę także para- i autokrynie [16,73].

Czynniki regulujące melanogenezę oddziałują na melanocyty przez wpływ na aktywność wewnątrzkomórkowych kaskad sygnalizacyjnych (ryc. 4) [50,53,62].

### Kaskada sygnalizacyjna cAMP/PKA/CREB/MITF

Największą rolę w regulacji melanogenezy odgrywa kaskada z udziałem cyklicznego adenozymonofosforanu (cAMP) i czynnika transkrypcyjnego związanego z mikroftalmią (microphthalmia associated transcription factor, MITF) [12,73]. Wzrost stężenia cAMP w melanocycie aktywuje kinazę białkową A (PKA) [12,72], która przez fosforylację, aktywuje hydroksylazę fenyloalaninową będącą enzymem niezbędnym do inicjacji melanogenezy [50,59,62]. PKA po translokacji do jądra komórkowego aktywuje białko CREB (cAMP responsive element binding protein – białko wiążące element odpowiedzi na cAMP). Białka CREB są czynnikami transkrypcyjnymi, wiążący-

**Tabela 2.** Główne parakryne i autokryne czynniki wpływające na melanogenezę (wg [1,2,18,53,73] zmodyfikowano)

Czynnik	Komórka wytwarzająca czynnik	Wpływ na syntezę melanin
$\alpha$ -MSH, ACTH, kortykoliberyna, tlenek azotu (NO), prostaglandyna E2 (PGE <sub>2</sub> ), prostaglandyna F2 $\alpha$ (PGF <sub>2<math>\alpha</math></sub> )	K, M	↑
endotelina-1 (ET-1), leukotrien D <sub>4</sub> , C <sub>4</sub> , czynnik stymulujący kolonie granulocytarno-makrofagowe (GM-CSF)	K	↑
leukotrien B <sub>4</sub>	M	↑
zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF), czynnik wzrostu komórek macierzystych (SCF), czynnik wzrostu hepatocytów (HGF)	K, F	↑
interleukiny (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6)	K, M	↓
transformujący czynnik wzrostu $\beta$ (TGF- $\beta$ )	K, F	↓
czynnik martwicy nowotworów $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), czynnik wzrostu nerwów (NGF)	K	↓

K= Keratynocyty, M = Melanocyty, F = Fibroblasty, ↑ = stymulowanie, ↓ = hamowanie

mi się z domeną CRE (cAMP responsive element) obecną w obrębie promotorów genów kodujących istotne dla melanogenezy białka: enzymy (TH1 i GTP-CHI) oraz czynnik transkrypcyjny MITF [50,69,72]. PKA fosforyluje również białka CBP wiążące CREB (CREB-binding protein) niezbędne do regulacji transkrypcji genów z udziałem CREB. MITF rozpoznaje i wiąże sekwencje M-box i E-box w promotorach genów kodujących enzymy melanogenezy: TYR, TRP1 i DCT [12,62,69,72]. Uczestniczy także w regulacji: dojrzewania, biogenezy i transportu melanosomów, proliferacji melanocytów oraz chroni komórki barwnikowe przed apoptozą [50]. Oddziaływanie parakrynych czynników: SCF, HGF, GM-CSF, bFGF (tab. 2) ze swoistymi receptorami w błonie komórkowej melanocytów prowadzi do aktywacji kinaz MAP (mitogen activated protein kinases, MAPK) [16,18,73], które katalizują fosforylację MITF, a to powoduje wzrost aktywności i jednocześnie obniżenie stabilności tego czynnika transkrypcyjnego [12,49,53].

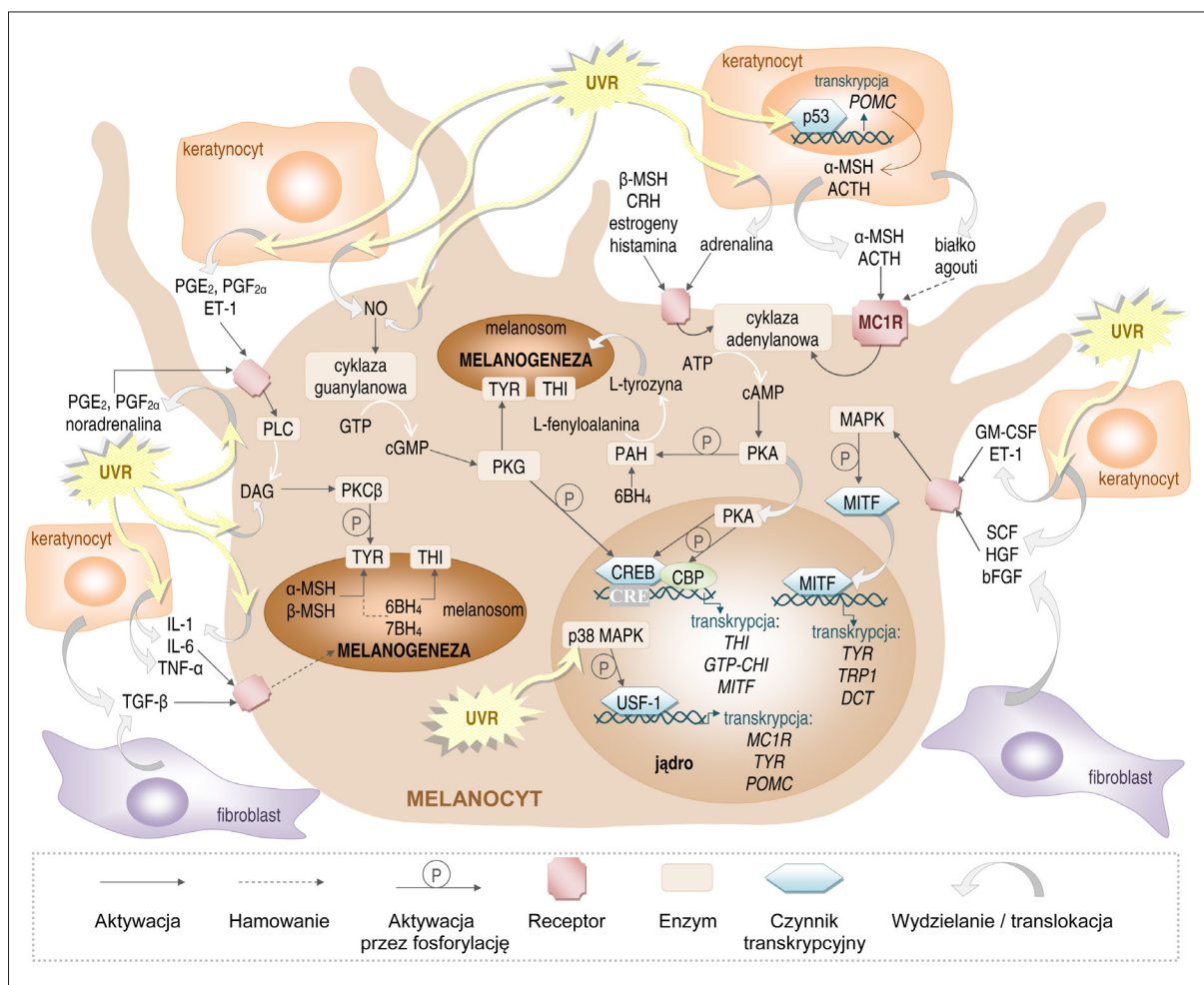
Wzrost poziomu cAMP w melanocytach niezbędny do rozpoczęcia kaskady sygnalizacyjnej z udziałem PKA, może być następstwem przede wszystkim aktywacji obecnego w ich błonie komórkowej receptora melanokortynowego typu 1 (melanocortin 1 receptor, MC1R). MC1R należy do receptorów związanych z białkiem G<sub>s</sub> i po związaniu do niego agonisty, dochodzi do aktywacji cykazy adenylanowej katalizującej przekształcenie adenozyntrifosforanu (ATP) w cAMP [72]. Agonistami MC1R są  $\alpha$ -MSH i ACTH, których prekursorem jest proopiomelanokortyna (POMC), a fizjologicznym antagonistą receptora melanokortynowego jest sygnałowe białko agouti wydzielane przez keratynocyty

[2,72]. Przyłączenie agonisty do MC1R stymuluje syntezę eumelaniny, natomiast przyłączenie antagonisty stymuluje feomelanogenezę [62,73]. Wykazano, że różnice pigmentacji skóry i włosów są uwarunkowane polimorfizmem genu kodującego MC1R [73]. Kaskada sygnalizacyjna cAMP/PKA/CREB/MITF w melanocytach może być także indukowana pobudzeniem innych receptorów, m.in. receptora kortykoliberyny (która ponadto stymuluje ekspresję POMC w melanocytach i keratynocytach) [2,59], błonowych receptorów estrogenowych (niegenomowe działanie estrogenów) [59,73], receptora histaminowego H<sub>2</sub> [83], a także receptora MC4, którego ligandem jest  $\beta$ -MSH [59,68]. Wykazano, że (6R)-L-erytro-5,6,7,8-tetrahydrobiopteryna (6BH4), będąca kofaktorem enzymów inicjujących melanogenezę – PAH i THI, a także jej izomer – 7BH4 są inhibitorami tyrozynazy, zaś  $\alpha$ -MSH i  $\beta$ -MSH mogą stymulować melanogenezę w sposób pozareceptorowy, wnikać do wnętrza melanosomu, a następnie wiążąc 6BH4 i reaktywując TYR [59,67]. Wyniki badań wskazują, że jedynie  $\beta$ -MSH może znosić hamujący wpływ 7BH4 na tyrozynazę [53,67].

### Kaskada sygnalizacyjna PLC/DAG/PKC $\beta$

W błonie komórkowej melanocytów występują również receptory adrenergiczne:  $\beta_2$ -adrenergiczne, których głównym agonistą jest adrenalina wydzielana przez pobudzone promieniowaniem UV keratynocyty [53,73] oraz receptory  $\alpha_1$ -adrenergiczne pobudzone przez noradrenalinę, wytwarzaną przez melanocyty. Pobudzenie receptora  $\beta_2$ -adrenergicznego prowadzi do aktywacji cykazy adenylanowej [59], a receptora  $\alpha_1$ -adrenergicznego aktywuje





Ryc. 4. Główne ścieżki sygnalizacyjne regulujące melanogenezę (opracowano na podstawie [1,2,11,12,16,18,19,37,50,58,59, 62,67,68,69,70,72,73,83,85])

fosfolipazę C (PLC), która powoduje rozkład fosfatydyloinozytolo-4,5-bisfosforanu (fosfolipid w błonie komórkowej) do trifosforanu inozytoli i diacyloglicerolu (DAG). DAG jest wtórnym przekaźnikiem w kolejnej kaskadzie sygnalizacyjnej uczestniczącej w regulacji melanogenezy, ponieważ aktywuje kinazę białkową Cβ (PKCβ) [18,53,73]. PKCβ katalizuje fosforylację dwóch reszt serynowych w obrębie domeny C-końcowej (cytoplazmatycznej) tyrozynazy, co warunkuje aktywację tego enzymu [59,62,73]. Poza tym pod wpływem promieniowania UV dochodzi do uwalniania DAG z błony komórkowej melanocyty [50,53].

Skutkiem działania UVR na błonę komórkową melanocytów i keratynocytów może być także uwalnianie kwasu arachidonowego, z którego syntetyzowane są m.in. prostaglandyny i leukotrieny [18]. Prostaglandyny PGE<sub>2</sub> i PGF<sub>2α</sub>, wiążąc się z receptorami w błonie melanocytów mogą pobudzać melanogenezę i tworzenie wypustek melanocytów, prawdopodobnie przez aktywację PLC [16,62,73]. Analog PGF<sub>2α</sub> (latanoprost) stosowany miejscowo w celu obniżenia ciśnienia wewnątrzgałkowego może zwiększać pigmentację tęczówki, a także powodować zmiany hiperpigmentacyjne skóry powiek [14].

Stymulowane promieniowaniem UV keratynocyty wydzielają również endotelinę-1 (ET-1) i interleukinę-1 (IL-1) [53,73]. ET-1 po związaniu się ze specyficznym receptorem na powierzchni melanocyty pobudza melanogenezę w wyniku aktywacji kinazy białkowej C oraz MAPK [16,53,70]. IL-1 bezpośrednio hamuje aktywność tyrozynazy i proliferację melanocytów, a także może stymulować keratynocyty do wydzielania ET-1 [33] i indukować ekspresję genów *POMC* i *MC1R* [18,62].

### Kaskada sygnalizacyjna NO/cGMP/PKG

Promieniowanie UV indukuje wytwarzanie tlenku azotu (NO) w komórkach skóry, m.in. w melanocytach i keratynocytach. NO aktywuje cyklazę guanylanową, co prowadzi do wzrostu stężenia cyklicznego guanozynomonofosforanu (cGMP) i aktywacji kinazy białkowej G (PKG) [11]. Pod wpływem NO zwiększa się aktywność tyrozynazy oraz nasila ekspresja *TYR* i *MITF* w komórkach barwnikowych [11,37,58]. Wyniki badań wskazują na udział PKG w fosforylacji CREB, co może wyjaśniać zwiększoną ekspresję genów podstawowych dla melanogenezy w wyniku aktywacji kaskady z udziałem cGMP [85]. Wykazano, że

zahamowanie syntezy NO i cGMP blokuje zależną od promieniowania UV stymulację melanogenezy [2,62,73], co wskazuje na ważną rolę ścieżki sygnalizacyjnej z udziałem NO i cGMP w indukcji pigmentacji spowodowanej ekspozycją na promieniowanie słoneczne [11]. Przypuszcza się, że cGMP przyczynia się do wzrostu poziomu cAMP i aktywacji kaskady cAMP/PKA/CREB/MITF przez hamowanie fosfodiesterazy rozkładającej cAMP [2,62,73], jednak o znaczeniu kaskady sygnalizacyjnej NO/cGMP/PKG w indukcji melanogenezy przez tlenek azotu świadczy to, że inhibitory cyklazy guanylanowej i inhibitory PKG hamują zaobserwowany *in vitro* efekt NO-zależnej stymulacji melanogenezy [11,58].

### Rola kinazy białkowej p38 i białka p53 w regulacji melanogenezy

Ekspozycja na promieniowanie UV prowadzi do aktywacji kinazy białkowej p38 (należącej do MAPK), która przez fosforylację aktywuje nadrzędny czynnik transkrypcyjny 1 (upstream stimulatory factor 1, USF-1). Ufosforylowany USF-1 indukuje ekspresję genów *MC1R*, *TYR*, *POMC* w melanocytach [2,69].

W odpowiedzi na uszkodzenia DNA spowodowane ekspozycją na promieniowanie UV dochodzi w keratynocytach do aktywacji białka p53, które wiążąc się do promotora genu *POMC* wzmacnia jego ekspresję, a następnie z *POMC* powstaje  $\alpha$ -MSH, główny stymulator melanogenezy [19,73]. Pod wpływem promieniowania UV w melanocytach może dojść do bezpośredniej aktywacji białka p53, czego skutkiem jest zwiększona ekspresja genu kodującego czynnik jądrowy hepatocytów HNF-1 $\alpha$ , który uczestniczy w indukcji ekspresji *MITF* i *TYR* [50,53,59].

### Wpływ pH na biosyntezę melanin

Podczas dojrzewania melanosomów zmienia się pH w tych organellach – początkowo jest niskie (pH=5,0), optymalne dla THI. W środowisku kwaśnym aktywność tyrozynazy jest zahamowana, ale dzięki obecności białka p w błonie melanosomu, wartość pH zmienia się na optymalną dla tyrozynazy wynoszącą 6,8 [3,50,59,62]. Ważną rolę regulacyjną odgrywa także inne białko błony melanosomu – białko MATP (membrane associated transporter protein). Mutacje genu *MATP* są odpowiedzialne za występowanie albinizmu skórno-ocznego typu IV [8,48]. Badania prowadzone z wykorzystaniem hodowli komórek ludzkiego czerniaka oraz ludzkich melanocytów prawidłowych wykazały, że zaburzenie ekspresji *MATP* nie powoduje zmian morfologicznych w melanosomach ani obniżenia stężenia białek kluczowych dla melanogenezy, jednak prowadzi do znacznego obniżenia pH wewnątrz melanosomów i zmniejszenia aktywności tyrozynazy. Zaobserwowano, że dodatek jonów miedzi do lizatów komórek z wyciszoną ekspresją *MATP* powoduje reaktywację tyrozynazy, co może wskazywać na udział białka MATP w regulacji melanogenezy przez utrzymywanie wewnątrz melanosomu pH optymalnego do związania miedzi z miejscem aktywnym tyrozynazy [8].

Wykazano, że melanosomy melanocytów pochodzących ze skóry dawców rasy kaukaskiej (białej) charakteryzują się mniejszą aktywnością tyrozynazy i niższym pH niż melanosomy melanocytów pozyskanych ze skóry dawców rasy negroidalnej (czarnej). W przeciwieństwie do melanocytów o dużej pigmentacji, w melanocytach jasnych zaobserwowano znaczny wzrost aktywności tyrozynazy po podwyższeniu pH wewnątrz melanosomów [26]. Stwierdzono ponadto, że neutralizacja środowiska w melanosomach melanocytów dawców rasy kaukaskiej nasila raczej eumelanogenezę niż feomelanogenezę, wpływając na wzrost stosunku eumelaniny do feomelaniny [3]. Zakwaszenie środowiska spowolnia natomiast cyklizację DOPACHinonu z jednoczesnym przyspieszeniem cyklizacji cysteinyl-DOPACHinonów [31,61], a także do zahamowania konwersji DOPACHromu do DHI i DHICA oraz inkorporacji monomerów do biopolimeru melaninowego [31].

Wyniki badań *in vitro* wskazują na wpływ temperatury na proces melanogenezy. Zaobserwowano zahamowanie aktywności tyrozynazy w ludzkich i mysich melanocytach hodowanych w niższej temperaturze (31, 34°C) w porównaniu do komórek hodowanych w temperaturze 37°C [35].

### Modulacja melanogenezy przez substancje egzogenne

Wiele substancji farmakologicznie czynnych (tab. 3) może hamować lub stymulować proces biosyntezy melaniny, o czym świadczą wyniki badań przeprowadzonych na hodowlach komórek barwnikowych, m.in.: ludzkich melanocytów prawidłowych linii HEMa-LP [4,5,6,7,77,78,79,80,81], HEMn-DP [13,22,51,55,56,78] i HEMn-LP [21], komórek mysiego czerniaka linii B16 [15,34,85] i B16-F10 [37,40,75] oraz mysich melanocytów melan-a [44,45].

Dzięki właściwościom antyoksydacyjnym oraz zdolności wiązania wielu substancji chemicznych, które następnie są stopniowo uwalniane z kompleksów w nietoksycznych stężeniach, melaniny chronią upigmentowane komórki oraz tkanki sąsiadujące przed potencjalnie szkodliwym działaniem ksenobiotyków [38,81]. Inhibycyjny wpływ leku na melanogenezę może się zatem przyczyniać do rozwoju działań niepożądanych skierowanych na tkanki upigmentowane – skórę, oko, ucho wewnętrzne [5,7,13,78,79,80].

Wykazanie w badaniach laboratoryjnych, że substancja lecznicza jest inhibitorem (np. metformina [40], chlorochina [45], trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne [44]) lub induktorem (np. sildenafil [85]) melanogenezy może być punktem wyjścia do dalszych badań nad jej potencjalnym, nowym zastosowaniem w leczeniu zmian odpowiednio hiper- [40,44,45] lub hipopigmentacyjnych skóry [85].

Na uwagę zasługują wyniki badań *in vitro* i *in vivo*, które wskazują na zdolność metforminy, leku stosowanego w cukrzycy typu 2, do hamowania melanogenezy przez blokowanie kaskady sygnalizacyjnej cAMP/PKA/CREB/MITF w komórkach barwnikowych [40]. W komórkach czerniaka B16-F10 hodowanych z metforminą stwier-

**Tabela 3.** Wybrane substancje lecznicze wpływające na melanogenezę – wyniki badań *in vitro*

Substancje lecznicze	Wpływ na melanogenezę		Linia komórkowa	Piśm.	
	Efekt	Mechanizm			
antybiotyki aminoglikozydowe: streptomycyna, amikacyna, gentamycyna, kanamycyna, netylmicyna	↓	hamowanie aktywności TYR	HEMa-LP	[77,78,79,80,82]	
tetracykliny: doksycyklina, tetracyklina	↑	zwiększanie aktywności TYR	HEMn-DP	[55,56]	
fluorochinolony: ciprofloksacyna, lomefloksacyna, moksifloksacyna, sparfloksacyna, norfloksacyna	↓	hamowanie aktywności TYR	HEMa-LP	[4,5,6,7]	
neuroleptyki	chloropromazyna	↑	zwiększanie aktywności TYR i poziomu MITF	HEMn-DP	[51]
	tiorydazyna	↓	hamowanie aktywności TYR i obniżenie poziomu MITF	HEMn-DP	[47]
nikotyna	↓↑	hamowanie lub zwiększanie aktywności TYR (w zależności od stężenia)	HEMn-DP	[22]	
	↓	hamowanie aktywności TYR	HEMn-LP	[21]	
ketoprofen, paracetamol	↓	hamowanie aktywności TYR	HEMn-DP	[13,81]	
metformina	↓	hamowanie kaskady cAMP/PKA/ CREB/MITF	ludzkie melanocyty prawidłowe B16-F10	[40]	
kaptopril	↓	hamowanie: aktywności TYR, ekspresji TYR i generowania RFT	B16	[15]	
sildenafil, werdenafil (inhibitory fosfodiesterazy typu 5)	↑	wzrost ekspresji TYR poprzez aktywację kaskady cGMP/PKG/CREB/ MITF	B16	[85]	
cilostazol (inhibitor fosfodiesterazy typu 3)	↑	aktywacja kaskady cAMP/PKA/CREB/ MITF	B16-F10	[75]	
dietylostilbestrol (syntetyczny estrogen)	↑	aktywacja kaskady cAMP/PKA/CREB/ MITF	B16	[34]	
nitroprusydek sodu (donor tlenu azotu)	↑	aktywacja kaskady NO/cGMP/PKG	B16-F10	[37]	
chlorochina	↓	hamowanie transportu TYR i TRP1 do melanosomów	mysie melanocyty melan-a	[45]	
trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne: amitryptylina, amoksapina, doksepina, klomipramina, dezypramina, imipramina, maprotylina, nortryptylina, trimipramina, protryptylina	↓	hamowanie wewnątrz- komórkowego transportu TYR, TRP1 i TRP2	mysie melanocyty melan-a	[44]	

↑ = stymulowanie; ↓ = hamowanie

dzono redukcję zawartości melaniny, obniżenie poziomu cAMP, a także zablokowanie fosforylacji CREB i ekspresji genów kodujących główne białka melanogenezy – MITF, TYR, TRP1 oraz DCT. Inhibujący wpływ metforminy na aktywację CREB i ekspresję MITF, TYR i DCT wykazano także w badaniu na ludzkich melanocytach prawidłowych. Poza tym zahamowanie melanogenezy zaobserwowano na modelu zrekonstruowanego ludzkiego naskórka oraz w biopsji ludzkiej skóry hodowanym z metforminą. Stwierdzono również depigmentację skóry mysich ogonów po miejscowym podawaniu metforminy i wykazano, że zmianom tym towarzyszył spadek zawartości melaniny i stężenia białek podstawowych dla syntezy pigmentu [40].

Obecnie w farmakologicznym leczeniu zaburzeń hiperpigmentacyjnych (przebarwień) stosuje się miejscowo substancje o właściwościach depigmentacyjnych, wynikających z hamowania aktywności tyrozynazy, takie jak: hydrochinon czy związki pochodzenia naturalnego – kwas kojowy, kwas askorbinowy, aloezyna, kwas azelainowy, kwas p-kumarowy, kwas linolowy, głąbrydyna, kwas elagowy, arbutyna (glikozyd hydrochinonu) i deoksyarbutyna [20,36,46,76,86]. Depigmentacyjne właściwości kwasu askorbinowego wynikają również z jego zdolności do redukcji DOPACHinonu i neutralizowania reaktywnych form tlenu, które stymulują melanogenezę [20,76]. Kwas

*all-trans* retinowy (tretynoina) i retinol hamują ekspresję tyrozynazy, glukozamina i N-acetyloglukozamina blokują aktywację tego enzymu [46], a niacynamid redukuje przebarwienia przez hamowanie transferu melanosomów z melanocytów do keratynocytów [20,28,36,80,86].

## PODSUMOWANIE

Melanocyty występują nie tylko w skórze, mieszkach włosowych i oku, gdzie warunkują pigmentację, ale także w narządach nieekspozowanych na promieniowanie UV – uchu wewnętrznym, sercu i ośrodkowym układzie nerwowym. Cechą charakterystyczną tych komórek jest obecność cytoplazmatycznych organelli, melanosomów, w których z L-tyrozyny powstają biopolimery melaninowe – eumelanina i feomelanina. Melanogeneza nie jest prostym i uniwersalnym procesem. Promieniowanie UV oraz czynniki endogenne (autokrynne, parakrynne i hormonalne), za pośrednictwem kaskad sygnalizacyjnych wewnątrz melanocytów: cAMP/PKA/CREB/MITF, PLC/DAG/PKCβ, NO/cGMP/PKG i kaskady MAPK, regulują melanogenezę na poziomie zmiany aktywności enzymów oraz transkrypcji genów ważnych dla biosyntezy melanin. Niektóre leki oraz substancje pochodzenia roślinnego wykazują zdolność modulowania syntezy melanin, co może mieć zastosowanie w leczeniu zaburzeń pigmentacji skóry.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Abdel-Malek Z.A., Kadekaro A.L.: Human cutaneous pigmentation: a collaborative act in the skin, directed by paracrine, autocrine, and endocrine factors and the environment. W: From melanocytes to melanoma. The progression to malignancy, red.: V.J. Hearing, S.P. Leong. Humana Press Inc, Totowa NJ, 2006: 81-100
- [2] Abdel-Malek Z.A., Swope V.B.: Epidermal melanocytes: Regulation of their survival, proliferation, and function in human skin. W: Melanoma development: Molecular biology, genetics and clinical application, red.: A. Bosserhoff. Springer-Verlag, Wien, 2011: 7-33
- [3] Ancans J., Tobin D.J., Hoogduijn M.J., Smit N.P., Wakamatsu K., Thody A.J.: Melanosomal pH controls rate of melanogenesis, eumelanin/phaeomelanin ratio and melanosome maturation in melanocytes and melanoma cells. *Exp. Cell Res.*, 2001; 268: 26-35
- [4] Beberok A., Buszman E., Wrześniok D., Otręba M., Trzcionka J.: Interaction between ciprofloxacin and melanin: the effect on proliferation and melanization in melanocytes. *Eur. J. Pharmacol.*, 2011; 669: 32-37
- [5] Beberok A., Otręba M., Wrześniok D., Buszman E.: Cytotoxic effect of lomefloxacin in culture of human epidermal melanocytes. *Pharmacol. Rep.*, 2013; 65: 689-699
- [6] Beberok A., Wrześniok D., Otręba M., Buszman E.: Impact of sparfloxacin on melanogenesis and antioxidant defense system in normal human melanocytes HEMA-LP - an *in vitro* study. *Pharmacol. Rep.*, 2015; 67: 38-43
- [7] Beberok A., Wrześniok D., Otręba M., Miliński M., Rok J., Buszman E.: Effect of norfloxacin and moxifloxacin on melanin synthesis and antioxidant enzymes activity in normal human melanocytes. *Mol. Cell. Biochem.*, 2015; 401: 107-114
- [8] Bin B.H., Bhin J., Yang S.H., Shin M., Nam Y.J., Choi D.H., Shin D.W., Lee A.Y., Hwang D., Cho E.G., Lee T.R.: Membrane-associated transporter protein (MATP) regulates melanosomal pH and influences tyrosinase activity. *PLoS One*, 2015; 10: e0129273
- [9] Bonaventure J., Domingues M.J., Larue L.: Cellular and molecular mechanisms controlling the migration of melanocytes and melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2013; 26: 316-325
- [10] Brenner M., Hearing V.J.: The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochem. Photobiol.*, 2008; 84: 539-549
- [11] Brown D.A.: Skin pigmentation enhancers. *J. Photochem. Photobiol. B*, 2001; 63: 148-161
- [12] Busca R., Ballotti R.: Cyclic AMP a key messenger in the regulation of skin pigmentation. *Pigment Cell Res.*, 2000; 13: 60-69
- [13] Buszman E., Wrześniok D., Otręba M., Beberok A.: The impact of ketoprofen on viability and melanization process in normal melanocytes HEMn-DP. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.*, 2012; 25: 376-380
- [14] Chou S.Y., Chou C.K., Kuang T.M., Hsu W.M.: Incidence and severity of iris pigmentation on latanoprost-treated glaucoma eyes. *Eye*, 2005; 19: 784-787
- [15] Chu H.L., Wang B.S., Chang L.C., Chang L.W., Duh P.D.: Effects of captopril on melanin formation in B16 cells. *J. Food Drug Anal.*, 2012; 20: 668-673
- [16] Cichorek M., Wachulska M., Stasiewicz A., Tymińska A.: Skin melanocytes: biology and development. *Postępy Dermatol. Alergol.*, 2013; 30: 30-41
- [17] Colombo S., Berlin I., Delmas V., Larue L.: Classical and non-classical melanocytes in vertebrates. W: Melanins and melanosomes: Biosynthesis, biogenesis, physiological, and pathological functions, red.: J. Borovanský, P.A. Riley. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 2011, 21-52
- [18] Costin G.E., Hearing V.J.: Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. *FASEB J.*, 2007; 21: 976-994
- [19] Cui R., Widlund H.R., Feige E., Lin J.Y., Wilensky D.L., Igras V.E., D'Orazio J., Fung C.Y., Schanbacher C.F., Granter S.R., Fisher D.E.:



Central role of p53 in the suntan response and pathologic hyperpigmentation. *Cell*, 2007; 128: 853-864

- [20] Davis E.C., Callender V.D.: Postinflammatory hyperpigmentation: a review of the epidemiology, clinical features, and treatment options in skin of color. *J. Clin. Aesthet. Dermatol.*, 2010; 3: 20-31
- [21] Delijewski M., Beberok A., Otręba M., Wrześniok D., Rok J., Buszman E.: Effect of nicotine on melanogenesis and antioxidant status in HEMn-LP melanocytes. *Environ. Res.*, 2014; 134: 309-314
- [22] Delijewski M., Wrześniok D., Otręba M., Beberok A., Rok J., Buszman E.: Nicotine impact on melanogenesis and antioxidant defense system in HEMn-DP melanocytes. *Mol. Cell. Biochem.*, 2014; 395: 109-116
- [23] d'Ischia M., Wakamatsu K., Cicoira F., Di Mauro E., Garcia-Borron J.C., Commo S., Galván I., Ghanem G., Kenzo K., Meredith P., Pezzella A., Santato C., Sarna T., Simon J.D., Zecca L., Zucca F.A., Napolitano A., Ito S.: Melanins and melanogenesis: from pigment cells to human health and technological applications. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2015; 28: 520-544
- [24] d'Ischia M., Wakamatsu K., Napolitano A., Briganti S., Garcia-Borron J.C., Kovacs D., Meredith P., Pezzella A., Picardo M., Sarna T., Simon J.D., Ito S.: Melanins and melanogenesis: methods, standards, protocols. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2013; 26: 616-633
- [25] Dubey S., Roulin A.: Evolutionary and biomedical consequences of internal melanins. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2014; 27: 327-338
- [26] Fuller B.B., Spaulding D.T., Smith D.R.: Regulation of the catalytic activity of preexisting tyrosinase in black and Caucasian human melanocyte cell cultures. *Exp. Cell Res.*, 2001; 262: 197-208
- [27] Gillbro J.M., Olsson M.J.: The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents - existing and new approaches. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 2011; 33: 210-221
- [28] Hakozi T., Minwalla L., Zhuang J., Chhoa M., Matsubara A., Miyamoto K., Greatens A., Hillebrand G.G., Bissett D.L., Boissy R.E.: The effect of niacinamide on reducing cutaneous pigmentation and suppression of melanosome transfer. *Br. J. Dermatol.*, 2002; 147: 20-31
- [29] Hong L., Simon J.D.: Current understanding of the binding sites, capacity, affinity and biological significance of metals in melanin. *J. Phys. Chem. B*, 2007; 111: 7938-7947
- [30] Hu D.N., Simon J.D., Sarna T.: Role of ocular melanin in ophthalmic physiology and pathology. *Photochem. Photobiol.*, 2008; 84: 639-644
- [31] Ito S., Suzuki N., Takebayashi S., Commo S., Wakamatsu K.: Neutral pH and copper ions promote eumelanogenesis after the dopachrome stage. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2013; 26: 817-825
- [32] Ito S., Wakamatsu K.: Chemistry of mixed melanogenesis - pivotal roles of dopaquinone. *Photochem. Photobiol.*, 2008; 84: 582-592
- [33] Jamal S., Schneider R.J.: UV-induction of keratinocyte endothelin-1 downregulates E-cadherin in melanocytes and melanoma cells. *J. Clin. Invest.*, 2002; 110: 443-452
- [34] Jian D., Jiang D., Su J., Chen W., Hu X., Kuang Y., Xie H., Li J., Chen X.: Diethylstilbestrol enhances melanogenesis via cAMP-PKA-mediated up-regulation of tyrosinase and MITF in mouse B16 melanoma cells. *Steroids*, 2011; 76: 1297-1304
- [35] Kim D.S., Park S.H., Kwon S.B., Joo Y.H., Youn S.W., Sohn U.D., Park K.C.: Temperature regulates melanin synthesis in melanocytes. *Arch. Pharm. Res.*, 2003; 26: 840-845
- [36] Kim K.: Effect of ginseng and ginsenosides on melanogenesis and their mechanism of action. *J. Ginseng Res.*, 2015; 39: 1-6
- [37] Kim S.H., Choi Y.J., Moon K.M., Lee H.J., Woo Y., Chung K.W., Jung Y., Kim S., Chun P., Byun Y., Ha Y.M., Moon H.R., Chung H.Y.: The inhibitory effect of a synthetic compound, (Z)-5-(2,4-dihydroxybenzylidene) thiazolidine-2,4-dione (MHY498), on nitric oxide-induced melanogenesis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2013; 23: 4332-4335
- [38] Kondo T., Hearing V.J.: Update on the regulation of mammalian melanocyte function and skin pigmentation. *Expert Rev. Dermatol.*, 2011; 6: 97-108
- [39] Larsson B.S.: Interaction between chemicals and melanin. *Pigment Cell Res.*, 1993; 6: 127-133
- [40] Lehraiki A., Abbe P., Cerezo M., Rouaud F., Regazzetti C., Chignon-Sicard B., Passeron T., Bertolotto C., Ballotti R., Rocchi S.: Inhibition of melanogenesis by the antidiabetic metformin. *J. Invest. Dermatol.*, 2014; 134: 2589-2597
- [41] Marles L.K., Peters E.M., Tobin D.J., Hibberts N.A., Schallreuter K.U.: Tyrosine hydroxylase isoenzyme I is present in human melanosomes: a possible novel function in pigmentation. *Exp. Dermatol.*, 2003; 12: 61-70
- [42] Meredith P., Sarna T.: The physical and chemical properties of eumelanin. *Pigment Cell Res.*, 2006; 19: 572-594
- [43] Nasti T.H., Timares L.: MC1R, eumelanin and pheomelanin: their role in determining the susceptibility to skin cancer. *Photochem. Photobiol.*, 2015; 91: 188-200
- [44] Ni-Komatsu L., Orlov S.J.: Chemical genetic screening identifies tricyclic compounds that decrease cellular melanin content. *J. Invest. Dermatol.*, 2008; 128: 1236-1247
- [45] Ni-Komatsu L., Tong C., Chen G., Brindzei N., Orlov S.J.: Identification of quinolines that inhibit melanogenesis by altering tyrosinase family trafficking. *Mol. Pharmacol.*, 2008; 74: 1576-1586
- [46] Ortonne J.P., Bissett D.L.: Latest insights into skin hyperpigmentation. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.*, 2008; 13: 10-14
- [47] Otręba M., Beberok A., Wrześniok D., Rok J., Buszman E.: Effect of thioridazine on antioxidant status of HEMn-DP melanocytes. *Naunyn Schmiedeberg Arch. Pharmacol.*, 2015; 388: 1097-1104
- [48] Otręba M., Buszman E., Miliński M., Wrześniok D.: Hipomelanozyz przekazywane z pokolenia na pokolenie. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 1081-1090
- [49] Otręba M., Miliński M., Buszman E., Wrześniok D., Beberok A.: Hipomelanocytozyz dziedziczne: rola genów PAX3, SOX10, MITF, SNAI2, KIT, EDN3 i EDNRB. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 1109-1118
- [50] Otręba M., Rok J., Buszman E., Wrześniok D.: Regulacja melanogenezy: rola cAMP i MITF. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 33-40
- [51] Otręba M., Wrześniok D., Beberok A., Rok J., Buszman E.: Melanogenesis and antioxidant defense system in normal human melanocytes cultured in the presence of chlorpromazine. *Toxicol. In Vitro*, 2015; 29: 221-227
- [52] Palumbo A., d'Ischia M., Misuraca G., De Martino L., Prota G.: A new dopachrome-rearranging enzyme from the ejected ink of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *Biochem. J.*, 1994; 299: 839-844
- [53] Park H.Y., Kosmadaki M., Yaar M., Gilchrist B.A.: Cellular mechanisms regulating human melanogenesis. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2009; 66: 1493-1506
- [54] Plonka P.M., Passeron T., Brenner M., Tobin D.J., Shibahara S., Thomas A., Slominski A., Kadekaro A.L., Hershkovitz D., Peters E., Nordlund J.J., Abdel-Malek Z., Takeda K., Paus R., Ortonne J.P., Hearing V.J., Schallreuter K.U.: What are melanocytes really doing all day long...? *Exp. Dermatol.*, 2009; 18: 799-819
- [55] Rok J., Buszman E., Beberok A., Delijewski M., Otręba M., Wrześniok D.: Modulation of melanogenesis and antioxidant status of melanocytes in response to phototoxic action of doxycycline. *Photochem. Photobiol.*, 2015; 91: 1429-1434
- [56] Rok J., Buszman E., Delijewski M., Otręba M., Beberok A., Wrześniok D.: Effect of tetracycline and UV radiation on melanization and antioxidant status of melanocytes. *J. Photochem. Photobiol. B*, 2015; 148: 168-173
- [57] Rok J., Otręba M., Buszman E., Wrześniok D.: Melanina - z me-



lanocyty do keratynocyty, czyli jak przebiega transport melaniny w skórze. *Ann. Acad. Med. Siles.*, 2012; 66: 60-66

[58] Sasaki M., Horikoshi T., Uchiwa H., Miyachi Y.: Up-regulation of tyrosinase gene by nitric oxide in human melanocytes. *Pigment Cell Res.*, 2000; 13: 248-252

[59] Schallreuter K.U., Kothari S., Chavan B., Spencer J.D.: Regulation of melanogenesis - controversies and new concepts. *Exp. Dermatol.*, 2008; 17: 395-404

[60] Seiberg M.: Age-induced hair greying - the multiple effects of oxidative stress. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 2013; 35: 532-538

[61] Simon J.D., Peles D., Wakamatsu K., Ito S.: Current challenges in understanding melanogenesis: bridging chemistry, biological control, morphology, and function. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2009; 22: 563-579

[62] Slominski A., Tobin D.J., Shibahara S., Wortsman J.: Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol. Rev.*, 2004; 84: 1155-1228

[63] Slominski A., Wortsman J., Plonka P.M., Schallreuter K.U., Paus R., Tobin D.J.: Hair follicle pigmentation. *J. Invest. Dermatol.*, 2005; 124: 13-21

[64] Slominski A., Zmijewski M.A., Pawelek J.: L-tyrosine and L-dihydroxyphenylalanine as hormone-like regulators of melanocyte functions. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2012; 25: 14-27

[65] Solano F.: Melanins: skin pigments and much more - types, structural models, biological functions, and formation routes. *New J. Sci.*, 2014; 2014: 498276

[66] Solano F., Jimenez-Cervantes C., Martinez-Liarte J.H., Garcia-Borron J.C., Jara J.R., Lozano J.A.: Molecular mechanism for catalysis by a new zinc-enzyme, dopachrome tautomerase. *Biochem. J.*, 1996; 313: 447-453

[67] Spencer J.D., Chavan B., Marles L.K., Kauser S., Rokos H., Schallreuter K.U.: A novel mechanism in control of human pigmentation by  $\beta$ -melanocyte-stimulating hormone and 7-tetrahydrobiopterin. *J. Endocrinol.*, 2005; 187: 293-302

[68] Spencer J.D., Schallreuter K.U.: Regulation of pigmentation in human epidermal melanocytes by functional high-affinity  $\beta$ -melanocyte-stimulating hormone/melanocortin-4 receptor signaling. *Endocrinology*, 2009; 150: 1250-1258

[69] Stępień K.: Udział melanocytów w ochronie przed stresem fotooksydacyjnym. *Postępy Biochem.*, 2010; 56: 290-297

[70] Tada A., Pereira E., Beitner-Johnson D., Kavanagh R., Abdel-Malek Z.A.: Mitogen- and ultraviolet-B-induced signaling pathways in normal human melanocytes. *J. Invest. Dermatol.*, 2002; 118: 316-322

[71] Tam I., Stępień K.: Melanocyty – immunokompetentne komórki barwnikowe. *Postępy Dermatol. Alergol.*, 2007; 24: 188-193

[72] Vachtenheim J., Borovanský J.: „Transcription physiology” of pigment formation in melanocytes: central role of MITF. *Exp. Dermatol.*, 2010; 19: 617-627

[73] Videira I.F., Moura D.F., Magina S.: Mechanisms regulating melanogenesis. *An. Bras. Dermatol.*, 2013; 88: 76-83

[74] Watt B., van Niel G., Raposo G., Marks M.S.: PMEL: a pigment cell-specific model for functional amyloid formation. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2013; 26: 300-315

[75] Wei B., Zhang Y.P., Yan H.Z., Xu Y., Du T.M.: Cilostazol promotes production of melanin by activating the microphthalmia-associated transcription factor (MITF). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2014; 443: 617-621

[76] Woolery-Lloyd H., Kammer J.N.: Treatment of hyperpigmentation. *Semin. Cutan. Med. Surg.*, 2011; 30: 171-175

[77] Wrzeźniok D., Beberok A., Otręba M., Buszman E.: Effect of streptomycin on melanogenesis and antioxidant status in melanocytes. *Mol. Cell. Biochem.*, 2013; 383: 77-84

[78] Wrzeźniok D., Beberok A., Otręba M., Buszman E.: Gentamicin affects melanogenesis in normal human melanocytes. *Cutan. Ocul. Toxicol.*, 2015; 34: 107-111

[79] Wrzeźniok D., Beberok A., Otręba M., Buszman E.: Modulation of melanogenesis and antioxidant defense system in melanocytes by amikacin. *Toxicol. In Vitro*, 2013; 27: 1102-1108

[80] Wrzeźniok D., Beberok A., Otręba M., Buszman E.: Netilmicin-induced modulation of melanogenesis in HEMA-LP melanocytes. *Acta Pol. Pharm.*, 2013; 70: 803-808

[81] Wrzeźniok D., Oprzondek M., Hechmann A., Beberok A., Otręba M., Buszman E.: Effect of paracetamol on melanization process in human epidermal melanocytes. *Acta Pol. Pharm.*, 2016; 4: (w druku)

[82] Wrzeźniok D., Otręba M., Beberok A., Buszman E.: Impact of kanamycin on melanogenesis and antioxidant enzymes activity in melanocytes - an *in vitro* study. *J. Cell. Biochem.*, 2013; 114: 2746-2752

[83] Yoshida M., Takahashi Y., Inoue S.: Histamine induces melanogenesis and morphologic changes by protein kinase A activation via  $H_2$  receptors in human normal melanocytes. *J. Invest. Dermatol.*, 2000; 114: 334-342

[84] Zdybel M., Pilawa B., Buszman E., Wrzeźniok D.: Zastosowanie spektroskopii EPR do badania melanin oraz kompleksów melanin z jonami metali i substancjami leczniczymi. *Farm. Przegl. Nauk.*, 2009; 6: 42-46

[85] Zhang X., Yan G., Ji J., Wu J., Sun X., Shen J., Jiang H., Wang H.: PDE5 inhibitor promotes melanin synthesis through the PKG pathway in B16 melanoma cells. *J. Cell. Biochem.*, 2012; 113: 2738-2743

[86] Zhu W., Gao J.: The use of botanical extracts as topical skin-lightening agents for the improvement of skin pigmentation disorders. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.*, 2008; 13: 20-24

-----  
Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.