

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Melanin a jeho role v živých organismech

Adéla Zahradníčková

Bakalářská práce

2020

University of Pardubice
Faculty of Chemical-Technology

Melanin and its role in living organisms

Adéla Zahradníčková

Bachelor thesis

2020

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Adéla Zahradníčková**
Osobní číslo: **C17136**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Téma práce: **Melanin a jeho role v živých organismech**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Bakalářskou práci na téma melanin a jeho role v živých organismech zpracujte na základě literární rešerše. Úvodní část práce zaměřte na popis jednotlivých typů melaninů a charakterizujte, jak se od sebe strukturálně a funkčně liší.
- 2) V hlavní části bakalářské práce podrobně charakterizujte, jaká je role melaninu v živých organismech. Zaměřte se také na charakterizaci melaninu syntetizovaného bakteriemi a vyzdvihněte jeho využití včetně potenciálních protektivních účinků. Zároveň také definujte, jakým způsobem je tvorba melaninu v bakteriálních buňkách indukována a jak celý proces probíhá.
- 3) Jako zdroj informací pro zpracování kompilačního textu bakalářské práce využijte odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech. Jejich vyhledávání provádějte prostřednictvím elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Jiří Handl**
Katedra biologických a biochemických věd

Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Jan Čapek**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 11. 7. 2020

Adéla Zahradníčková

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala Mgr. Jiřímu Handlovi za odborné vedení mé bakalářské práce, cenné rady, trpělivost, ochotu a čas, který mi věnoval v průběhu zpracování.

Anotace

Tato bakalářská práce se zabývá podrobným popisem rolí melaninu. V první části práce je charakterizována struktura melaninu, jeho tvorba (melanogeneze), dále jsou zmíněny typy melaninu – eumelanin, feomelanin a neuromelanin. V práci je také charakterizován bakteriální typ melaninu včetně jeho využití a protektivních syntetických účinků. Hlavní část bakalářské práce se zaměřuje na význam melaninu u člověka v různých částech těla – v kůži, vlasech, oku či mozku. Popsané jsou i poruchy melaninové pigmentace – hypopigmentace a hyperpigmentace.

Klíčová slova

melanin, eumelanin, feomelanin, neuromelanin, bakteriální melanin, melanogeneze, funkce melaninu

Annotation

This bachelor thesis deals with the detailed description of the role of melanin. In the first part of the work there is characterized melanin structure, its formation (melanogenesis), there are mentioned some types of melanin – eumelanin, pheomelanin and neuromelanin. This work also characterizes the bacterial type of melanin, including its utilization and protective synthetic effect. The main part of the bachelor thesis focuses on the importance of melanin in various parts of the human body – in the skin, hair, eye or brain. There are also described defects of the melanin pigmentation – hypopigmentation and hyperpigmentation.

Keywords

melanin, eumelanin, feomelanin, neuromelanin, bacterial melanin, melanogenesis, role of melanin

Obsah

Úvod.....	12
1. Melanin	13
1.1 Struktura	13
1.2 Melanogeneze	14
1.2.1 Enzymová regulace melanogeneze	16
1.2.2 Alfa-melanocyt stimulující hormon.....	16
1.3 Vlastnosti melaninu.....	17
1.4 Druhy melaninů.....	18
1.4.1 Eumelanin	18
1.4.2 Feomelanin.....	21
1.4.3 Neuromelanin.....	22
2. Bakteriální melanin.....	24
2.1 Syntéza	24
2.2 Výroba.....	25
2.3 Experimenty a využití	27
3. Význam melaninu u savců.....	30
3.1 Kůže a vlasy	30
3.2 Oči.....	32
3.3 Vnitřní ucho	33
4. Pigmentové poruchy melaninu	35
4.1 Hyperpigmentační poruchy.....	35
4.2 Hypopigmentační poruchy	36
4.2.1 Albinismus	37
4.2.2 Vitiligo	38
4.2.3 Leukoderma	38
4.2.4 Postinflamační hypopigmentace	39
5. Závěr	40
6. Seznam použité literatury	41

Seznam obrázků a tabulek

- Obr. 1: Struktura melaninu
- Obr. 2: Melanocyty mezi dvěma keratinocyty
- Obr. 3: Část strukturního vzorce eumelaninu
- Obr. 4: Biosyntéza eumelaninu
- Obr. 5: Část strukturního vzorce feomelaninu
- Obr. 6: Biosyntéza feomelaninu
- Obr. 7: Biosyntéza neuromelaninu
- Obr. 8: *Stepromyces glaucescens* na agaru; živný vývar s tmavě hnědým melaninem
- Obr. 9: Granule lyofilizovaného melaninu
- Obr. 10: Rozdíly v obsahu melaninu v kůži různých etnických skupin
- Obr. 11: Melanom duhovky
- Obr. 12: Nevus spilus
- Obr. 13: Nevus Ota
- Obr. 14: Albinismus
- Obr. 15: Vitiligo
- Obr. 16: Postinflamační hypopigmentace

Tabulka I: Maximální doba vystavení slunečnímu záření bez nepříznivého vlivu u různých typů pleti a barvy vlasů

Tabulka II: Příklady vrozených hyperpigmentačních poruch

Tabulka III: Příklady příčin získaných hyperpigmentačních poruch

Tabulka IV: Příklady hypopigmentačních poruch

Seznam použitých zkratek

α -MSH	alfa-melanocyty-stimulující hormon
BBB	hematoencefalická bariéra
BM	bakteriální melanin
CNS	centrální nervová soustava
DHI	5,6-dihydroxyindol
DHICA	dihydroxyindol-2-karboxylová kyselina
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DOPA	3,4-dihydroxyfenylalanin
PAH	fenylalaninhydroxyláza
PCR	polymerázová řetězcová reakce
ROS	reaktivní forma kyslíku
RSF	sluneční protekční faktor
SNe	Substantia Nigra pars compacta
UV	ultrafialové

Úvod

Melanin byl pojmenován v roce 1840 švédským chemikem J. J. Berzelieus. Melanin je popisný pojem, který se vztahuje k řadě černých, hnědých či nažloutlých přírodních biopolymerů různorodé povahy a chemického složení. Jejich struktura je stále zkoumána. Tyto pigmenty jsou široce rozšířené v mikroorganismech, rostlinách a živočichů včetně člověka. Melaninové pigmenty mohou být klasifikovány na základě jejich zdroje nebo podle jejich fyzikálních a chemických vlastností. U člověka se setkáváme s eumelaninem, feomelaninem a neuromelaninem. Produkce melaninu je zprostředkována melanocyty v procesu zvaném melanogeneze. Tento proces je regulován celou řadou enzymů. Nejdůležitějším enzymem je tyrozináza, která katalyzuje přeměnu tyrozinu na DOPA a oxidaci DOPA na dopachinon.

Kromě odlišné struktury mají melaniny i různorodé funkce. Obecně hrají melaniny v organismech obrannou funkci před škodlivým ultrafialovým zářením. Kromě pokožky se melanin vyskytuje ve vlasech, mozku, očích nebo vnitřním uchu. Hlavním cílem této bakalářské práce je shrnutí významu melaninu zejména z pohledu člověka.

1. Melanin

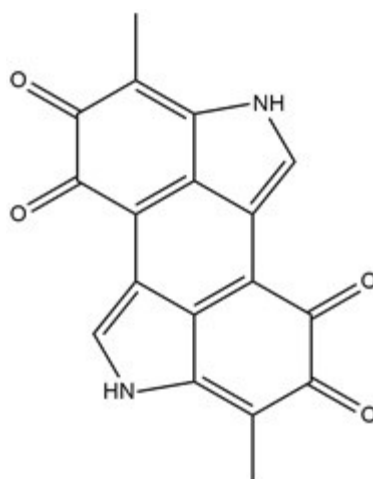
Melanin je pigment, který je přítomný v biologickém systému a patří mezi nejdůležitější chromofory v lidském těle. Je zodpovědný za pigmentaci kůže, vlasů a očí. Označení melanin pochází pravděpodobně z řeckého slova „melanos“, což v překladu znamená tmavý (Godechal et al., 2011). Dříve byl termín „melanin“ bez rozdílu používán pro jakýkoliv tmavý pigment (Riley, 1997).

Melanin je jediný známý biopolymer, který stabilizuje volné radikály (Herrling et al., 2008). Na základě svých prekurzorových molekul jsou melaniny klasifikovány do čtyř skupin – eumelanin, feomelanin, neuromelanin a allomelanin (Fedorow et al., 2005). U člověka se však setkáváme s prvními třemi. Melaniny jsou produkovány oxidací aminokyseliny tyrozinu a následnou polymerací. Melaniny mohou být extrahovány z rostlin i zvířecích tkání. Tato metoda je však velmi časově náročná a komplikovaná (Sun et al., 2016). Dalším zdrojem jsou mikroby, které syntetizují melaniny (Petrosyan et al., 2014).

Melaniny působí jako antioxidant. Narušují a omezují aktivitu volného radikálu. Alzheimerova choroba a Downův syndromu jsou provázeny patologickými poruchami melaninového metabolismu (Petrosyan et al., 2014). Melaniny mají široké spektrum využití. Využívají se v různých průmyslových odvětvích – v potravinářském, kosmetickém i farmaceutickém (Sun et al., 2016).

1.1 Struktura

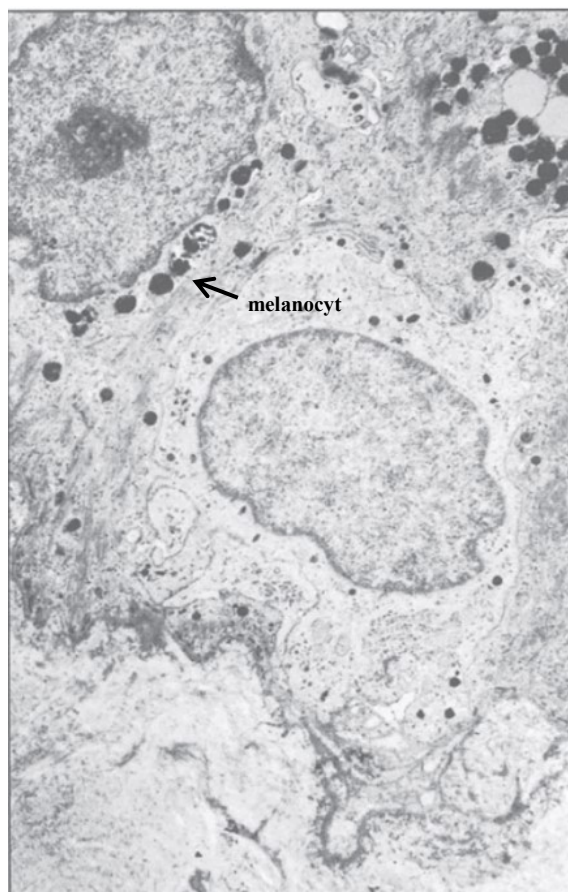
Melanin je amorfní polymer s vysokou molekulovou hmotností. Je známo, že melanin je vytvořen polymerací fenolických a indolických sloučenin, přesto je podrobná struktura melaninu stále zkoumána a dosud nebyla zcela jasně definována (Cordero et al., 2020). Melaniny jsou různého původu, mají odlišnou barvu, velikost a funkci (Huang et al., 2018). Melaninové částice mohou v průměru dosáhnout až stovek nanometrů. Struktura melaninu je odolná vůči kyselé hydrolýze, ale náchylná k oxidační degradaci za pomoci chemických látek jako je peroxid vodíku (Cordero et al., 2020).



Obr. 1: Struktura melaninu (zpracováno pomocí programu ChemSketch)

1.2 Melanogeneze

Melanogeneze je biochemický proces, při kterém dochází k syntéze melaninových pigmentů. Přestože je melanin přítomen v epidermálních keratinocytech, není v těchto buňkách syntetizován (Nasti *et al.*, 2015). Proces melanogeneze je zprostředkovaný buňkami zvanými melanocyty. Melanocyty jsou neuroektodermálního původu (Stacey *et al.*, 2016). Tyto buňky se nacházejí nejen v pokožce, kde jsou obklopeny keratinocyty, ale také ve vlasech, kde přítomnost melaninu způsobuje jejich odlišné zbarvení. Lidské dospělé melanocyty v kůži na dlaních a chodidlech se mohou lišit od melanocytů získaných z jiných míst kůže na základě skutečností, že migrace melanocytů se zastaví na dlaních a chodidlech během embryogeneze. Kůže na dlaních a chodidlech je hypopigmentována a obsahuje pětinašobně nižší hustotu melanocytů než v jiných oblastech kůže (Yamaguchi *et al.*, 2014). Melanocyty jsou navíc uloženy v centrálním nervovém a kardiovaskulárním systému (Cichorek *et al.*, 2013). Na obr. 2 jsou elektronovým mikroskopem zachyceny melanocyty, které jsou umístěny mezi dvěma keratinocyty.



Obr. 2: Melanocyty mezi dvěma keratinocyty (Falco et al., 1991)

Pigment produkovaný melanocyty je převáděn pomocí dendritů do keratinocytů přes melanosomy (Nasti et al., 2015). Melanosomy jsou lysozomové orgány melanocytů, ve kterých jsou melaninové pigmenty syntetizovány a uloženy před tím, než jsou distribuovány do keratinocytů (Marks et al., 2001). Jednotlivý melanocyt může převést melanin do čtyřiceti keratinocytů. Po vystavení UV záření vyměšují keratinocyty alfa-melanocyty-stimulující hormon (α -MSH) a adrenokortikotropní hormon, což dává signály melanocytům zvýšit melanogenezi. Při příliš zvýšené melanogenezi dochází k hyperpigmentaci (Nasti et al., 2015).

Pro syntézu melaninu jsou důležité specifické enzymatické a strukturní proteiny (Yamuguchi et al., 2007). Proces melanogeneze začíná hydroxylací tyrozinu na 3,4-dihydroxyfenylalanin (DOPA) za pomoci enzymu tyrozináza. DOPA je následně oxidována na dopachinon. Dopachinon je výchozím substrátem pro syntézu eumelaninu a feomelaninu (Cichorek et al., 2013).

1.2.1 Enzymová regulace melanogeneze

Je známo, že pigmentace kůže je regulována více než 125 různými geny (Stacey *et al.*, 2016). Proteiny a geny, které ovlivňují pigmentaci, působí na různých úrovních a jsou důležité pro správnou migraci melanocytů, enzymatické reakce a biosyntetické dráhy melaninu (Tief *et al.*, 1996). Výzkum biochemie melanogeneze začal objevem enzymu tyrozináza v houbách v roce 1895 Bertrandem a Bourquelotem. V roce 1928 Raper ukázal, že DOPA byl oxidační produkt tyrozinu (Schallreuter *et al.*, 2007).

Tyrozináza je jedním z nejdůležitějších enzymů v savčí syntéze melaninu. Tento glykoprotein katalyzuje přeměnu tyrozinu na DOPA a oxidaci DOPA na dopachinon (Tief *et al.*, 1996). Aktivita tyrozinázy je stimulována α -MSH (Stacey *et al.*, 2016). Tyrozináza je lokalizována na vnitřní membráně melanosomu (Videira *et al.*, 2013). Kromě kožní pokožky, vlasových folikulů či uchu byla tyrozináza detekována pomocí PCR technik v celé řadě lidských tkání – v lymfatických uzlinách, tenkém střevě, ledvinách, plicích, varlatech, vaječnicích (Tief *et al.*, 1996). Při inaktivaci tohoto enzymu v důsledku mutace je syntetická cesta melaninu blokována, a tím dochází ke vzniku albinismu (Videira *et al.*, 2013).

Tyrozin hydroxyláza katalyzuje hydroxylaci tyrozinu na DOPA za využití molekulárního kyslíku a je klíčovým enzymem v biosyntéze katecholaminů. Katecholaminy hrají důležitou roli v celé řadě mozkových funkcí jako je pozornost, paměť, emoce a poznání (Daubner *et al.*, 2011).

Fenylalaninhydroxyláza (PAH) se nachází v cytosolu, což je tekutá složka cytoplazmy. Tento enzym katalyzuje přeměnu fenylalaninu na tyrozin (Videira *et al.*, 2013). Je zajímavé, že aktivita PAH koreluje s fenotypy kůže I-VI, kde tmavá kůže vykazuje nejvyšší aktivitu PAH. V současné době existuje přesvědčivý důkaz, že enzymy tyrozináza, tyrozin hydroxyláza a PAH jsou rozhodující pro iniciaci melanogeneze (Schallreuter *et al.*, 2007).

1.2.2 Alfa-melanocyt stimulující hormon

α -MSH je neuropeptid, který je složen ze 13 aminokyselin (serin-tyrozin-serin-methionin-kyselina glutamová-histidin-fenylalanin-arginin-tryptofan-glycin-lysin-prolin-valin (Singh *et al.*, 2014). α -MSH vzniká proteolytickým štěpením proopiomelanokortikon (prekurzorový polypeptid). Biologické účinky α -MSH jsou zprostředkovány prostřednictvím melanokortinových receptorů, které jsou exprimovány na kožních

buňkách. Poprvé byla jeho role popsána v 50. letech 20. století u nižších obratlovců jako jsou ryby a plazy. U těchto živočichů řídí fyziologickou změnu barvy a také stimuluje syntézu eumelaninu. Studie Lerner a McGuireho provedená v roce 1961 prokázala, že i u lidí způsobí zvýšené množství α -MSH ztmavnutí kůže (*Eves et al., 2006*). α -MSH stimuluje syntézu melaninu, moduluje proliferaci a diferenciaci keratinocytů a kromě toho má také imunomodulační účinky (*Singh et al., 2014*). Další funkcí tohoto neuropeptidu je, že hraje roli v progresi melanomu. Ve vzorcích pacientů s melanomem se hladiny α -MSH výrazně zvyšují. Uvádí se, že α -MSH inhibuje invazi melanomových buněk (*Eves et al., 2006*).

1.3 Vlastnosti melaninu

K nejvýznamnějším vlastnostem melaninu patří jeho schopnost absorbovat UV záření. Slunce vyzařuje široké spektrum elektromagnetických vln, z nichž UV záření má převážně negativní vliv na organismus. UV záření, které dopadá na naši pokožku, je složeno z 90–95 % z UVA (315–400 nm), které díky své vlnové délce proniká hlouběji do kůže, a z 5–10% z UVB (290–315 nm). Oba tyto typy záření jsou škodlivé pro vlasy a pokožku. UVA podporuje vznik volných radikálů a reaktivních forem kyslíku (ROS). ROS způsobují nepřímé poškození DNA, proteinů a membrán, podílejí se na vzniku celé řady kožních onemocnění, včetně kožních nádorů, tvorbě vrásek a stárnutí kůže. Mimo jiné hrají volné radikály a ROS roli při tvorbě lipidových radikálů, které jsou zodpovědné za destrukci buňky. UV paprsky ovlivňují barvu, lesk vlasů a jsou zodpovědné za změny vlastností vlasů jako je změna struktury, suchý vzhled či zvýšená pórovitost (*Herrling et al., 2008*).

K dalším vlastnostem většiny syntetických a přírodních melaninů patří jejich nerozpustnost ve vodě. Tato vlastnost značně komplikuje přípravu farmakologických a kosmetických preparátů, které jsou na nich založeny. Záměrem je získání nízkonákladového rozpustného melaninu, který aplikaci usnadňuje (*Petrosyan et al., 2014*). Melaniny jsou nerozpustné v další řadě polárních rozpouštědel. Kromě zmíněné vody je to například v methanolu, ethanolu či acetonu. Za kyselých podmínek se snižujícím se pH rozpustnost melaninu postupně klesá. Naproti tomu je v alkalickém prostředí rozpustnost pigmentů relativně vysoká (*Sun et al., 2016*).

Jedna z charakteristických vlastností melaninů je jejich schopnost existovat jak v oxidované, tak redukované formě. V reakci s oxidačními a redukčními činidly působí

buď jako donory nebo akceptory elektronů. Vlastnosti melaninů při výměně elektronů byly studovány s celou řadou činidel, aby se porozumělo mechanismu reakce a roli redoxních vlastností melaninu v biologickém systému. Redukce přírodních i syntetických melaninů obecně způsobuje světlejší zbarvení (*Grove et al., 2007*).

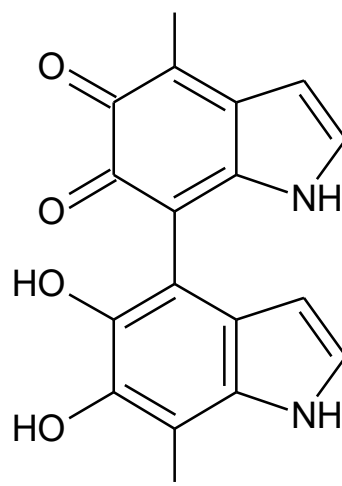
Melaniny mají silné chelatační vlastnosti. Je to způsobeno díky aniontovým karboxylovým a deprotonovaným hydroxylovým skupinám, které jsou obsaženy ve strukturách melaninových pigmentů. Do své struktury jsou melaniny schopni navázat především kationty přechodných kovů, které mohou být pro organismus nebezpečné a toxické. Melaniny mají také antioxidační vlastnosti. To znamená, že dokáží vyvázat vzniklé superoxidy a volné radikály, které by mohly způsobit poškození buněk, proteinů a DNA (*Riley, 1997*).

1.4 Druhy melaninů

Jedna z možných klasifikací melaninů je na základě jejich zdroje na živočišné, rostlinné, houbové nebo bakteriální. Jejich další možné dělení je podle chemických a fyzikálních vlastností na eumelanin, feomelanin, neuromelanin a allomelanin (*Cordero et al., 2020*).

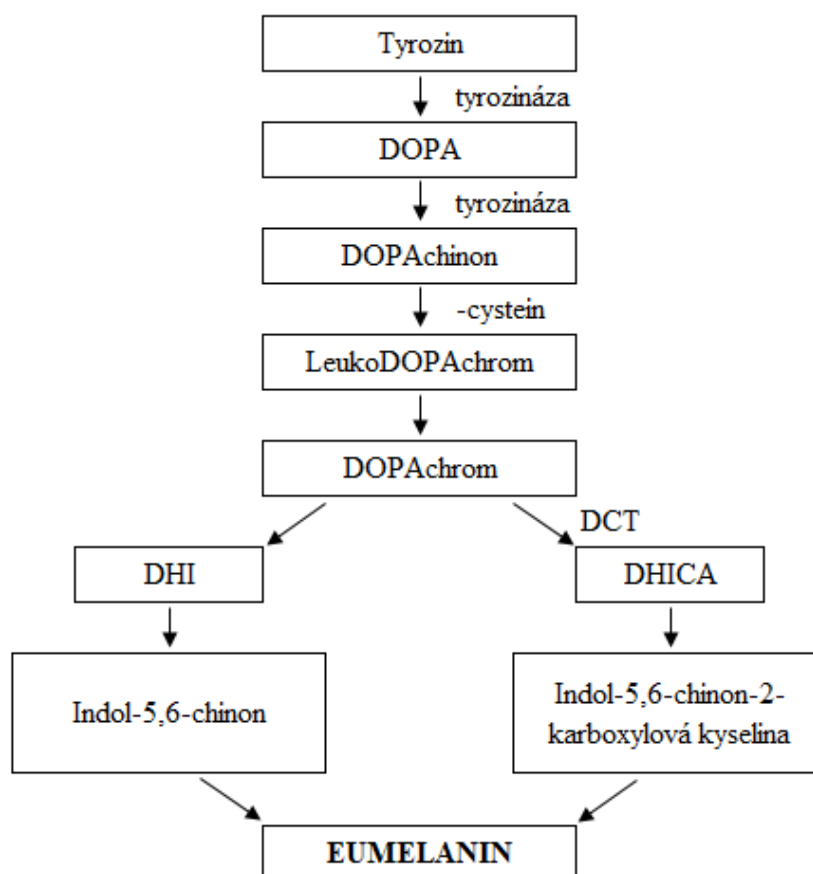
1.4.1 Eumelanin

Eumelanin je pigment tmavě hnědé až černé barvy obsahující 6–9 % dusíku a 0–1 % síry. Zodpovídá za tmavou barvu vlasů (*Huang et al., 2018*). Eumelanin vytváří oligomerní struktury s řetězcem dlouhým až několik desetin monomerů a proměnlivým chemickým složením. Pomocí mikroskopických metod bylo zjištěno, že eumelanin se skládá z částic, které mají jednotnou velikost v průměru přibližně 200 nm (*Büngeler et al., 2017*). Základními strukturními jednotkami jsou 5,6-dihydroxyindol (DHI) dihydroxyindol-2-karboxylová kyselina (DHICA) (*Sun et al., 2016*).



Obr. 3: Část strukturního vzorce eumelaninu (zpracováno pomocí programu ChemSketch)

Eumelanin je syntetizován a následně uložen v melanosomech (Brenner *et al.*, 2008). *In vivo* je eumelanin vytvořen z tyrozinu za účasti různých enzymů, z nichž nejdůležitější je tyrozináza (Büngeler *et al.*, 2017). Tyrozináza katalyzuje tvorbu DOPA z tyrozinu. Dalším krokem je oxidace DOPA za účinku enzymu tyrozináza, následně dojde ke vzniku 3,4-dihydroxyfenylalaninichinonu, poté následuje cyklizace do formy leukodopachromu a přeměně na DHI nebo DHICA (Huang *et al.*, 2018). Bylo zjištěno, že pH a koncentrace iontů mědi významně zpomalují či urychlují přeměnu dopachromu na DHI nebo DHICA (Büngeler *et al.*, 2017). Následnou oxidací vzniká z DHI indol-5,6-chinon a z DHICA indol-5,6-chinonkarboxylová kyselina. Konečným krokem je oxidační polymerace indol-5,6-chinonu nebo indol-5,6-chinonkarboxylové kyseliny za vzniku eumelaninu (Langfelder *et al.*, 2003).



Obr. 4: Biosyntéza eumelaninu

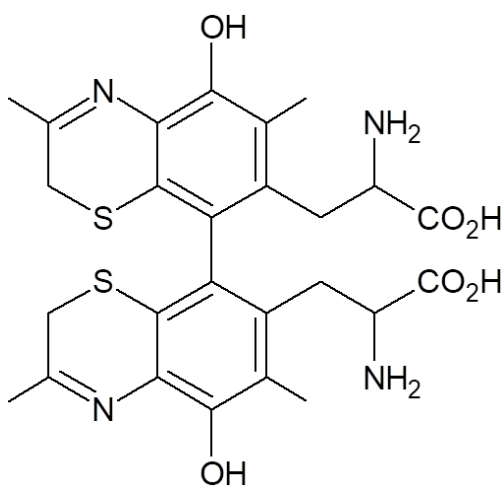
DOPA – 3,4-dihydroxyfenylalanin; *DOPACHINON* – kyselina 2-amino-3-(3,4,-dioxocyklohexa-1,5-dien-1-yl)propanová; *leukoDOPACHROM* – 5,6-dihydroxy-2,3-dihydroindol-2-karboxylová kyselina; *DOPACHROM* – 2,3,5,6-tetrahydro-5,6-dioxoindol-2-karboxylová kyselina; *DHI* – 5,6-dihydroxyindol; *DCT* – dopachrom tautomeráza; *DHICA* – 5,6-dihydroxyindol-2-karboxylová kyselina (upraveno dle Huang et al., 2018)

Syntetický eumelanin může být připraven celou řadou technik, z nichž nejběžnější a nevíce podobná postupu *in vivo* je biomimetická syntéza s tyrosinázou. Výsledný produkt vykazuje nejvyšší podobnost s eumelaninem jak v molekulární, tak v supramolekulární struktuře (Büngeler et al., 2017).

Eumelanin slouží především z rozptýlení a absorbování ultrafialového záření (Nasti et al., 2015). K dalším důležitým funkcím patří jeho schopnost vychytávat volné radikály a superoxididizmutázu, která redukuje reaktivní formy kyslíku (Bustamante et al., 1993). Antioxidační vlastnosti eumelaninu jsou ovlivněny poměrem DHI k DHICA. Pigmenty s vyšším obsahem DHICA mají lepší antioxidační vlastnosti než DHI, ale vykazují sníženou absorpci viditelného světla (Büngeler et al., 2017).

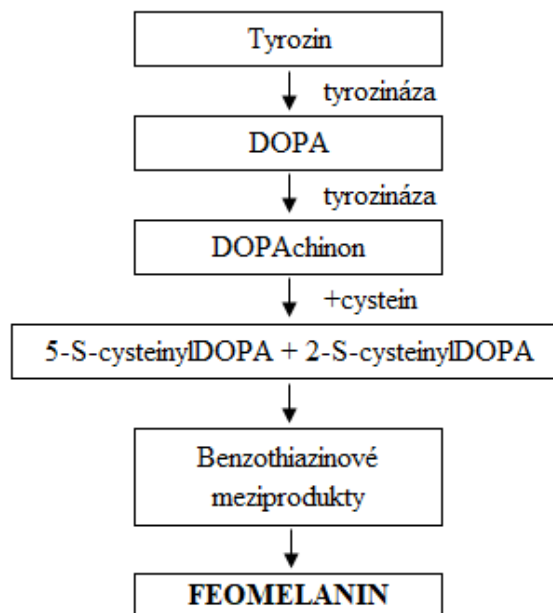
1.4.2 Feomelanin

Feomelanin je žlutočervený pigment, který je odpovědný za pihy a zrzavé vlasy (Nasti et al., 2015). Je složen zejména z benzothiazinu, který obsahuje vysoké množství síry (Prota, 1980). Přesná funkce feomelaninu nebyla zatím zcela pochopena. Předpokládá se, že feomelanin hraje roli v přípravě melanosomu pro syntézu eumelaninu (Nasti et al., 2015). Po vystavení UV záření může mít feomelanin toxické účinky, protože je náchylný k fotodegradaci. Může tak vytvářet peroxidy vodíku a superoxidové anionty, a tím způsobit mutace v melanocytech (d'Ischia et al., 2015).



Obr. 5: Část strukturního vzorce feomelaninu (zpracováno pomocí programu ChemSketch)

Syntéza feomelaninu vyžaduje vysoké množství antioxidantů, čímž na druhé straně dochází k vyčerpání sběračů ROS jako je glutation (Nasti et al., 2015). Feomelanin je stejně jako eumelanin tvořen z tyrozinu. Jeho syntéza je stejná až do tvorby 3,4-dihydroxyfenylalaninichinonu (Huang et al., 2018). Ten se následně spojuje s cysteinem dodaným glutationem (Nasti et al., 2015) a poskytuje meziproducty benzothiazinu, které vedou ke tvorbě feomelaninu (Huang et al., 2018).



Obr. 6: Biosyntéza feomelaninu (upraveno dle Huang et al., 2018)

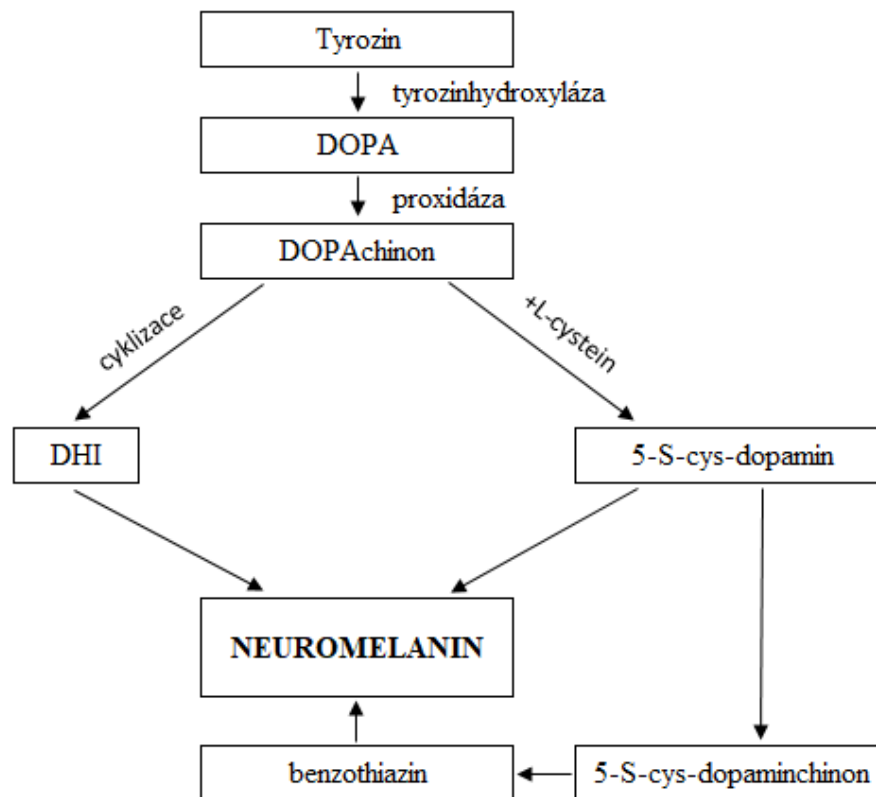
1.4.3 Neuromelanin

Neuromelanin je druh pigmentu, který je přítomný v lidském centrálním nervovém systému (Petrosyan et al., 2014). V lidském mozku se nachází největší množství neuromelaninu. Neurony produkující neuromelanin jsou lokalizovány především v mozkovém kmeni, konkrétně ve středním mozku, Varolově mostě a prodloužené míše. Tyto mozkové oblasti se podílejí na vědomém vnímání, pohybu, paměti a emocích. Syntéza neuromelaninu je také v dopaminergních neuronech *substantia nigra* a v noradrenergických neuronech *locus coeruleus*. Předpokládá se, že hnědé pigmentové granule jsou uloženy v buňce, ve které jsou produkovány, na rozdíl ostatních typů melaninu, které jsou produkovány v melanocytech a mohou být přeneseny do jiných typů buněk. (Fedorow et al., 2005).

Neuromelanin je komplexní polymerní sloučenina (Zecca et al., 2008). Skládá se kromě melaninu také z proteinů, lipidů a kovových iontů (Engelen et al., 2012). Neuromelanin je považován za směs eumelaninu a feomelaninu, jelikož se ve struktuře objevují molekuly benzothiazinu, které jsou typickým znakem pro feomelanin, ale také molekuly indolu, které jsou typické pro eumelanin (Fedorow et al., 2005). Tento pigment je produkován v lidském mozku až ve věku okolo 2–3 let a následně se hromadí během stárnutí (Wakamatsu et al., 2003). V nervových tkáních váže a izoluje toxické

kovy, čímž zabraňuje nervové toxicitě (Petrosyan et al., 2014). Naproti tomu se neuromelanin podílí na patogenezi neurodegenerativních chorob tím, že zvyšuje zranitelnost neuronů v mozkové oblasti *substantia nigra* (Wakamatsu et al., 2003). Mezi tyto choroby patří například Parkinsonova choroba, u které dochází k 70 % degeneraci neuronů obsahujících melanin (Solano, 2014). Nová data ukazují, že lidský extracelulární neuromelanin při absenci mikroglíí není pro neurony toxický. Pokud však dojde k uvolnění neuromelaninu z destrüovaných neuronů, způsobí to aktivaci mikroglíí a následnou neurodegeneraci (Petrosyan, 2015).

Výchozí sloučeninou pro syntézu je stejně jako u eumelaninu a feomelaninu tyrozin. Působením tyrozin hydroxylázy je tyrozin hydroxylován na DOPA. Díky vysoké aktivitě dekarboxylázy aminokyselin je DOPA přeměněna na dopamin. Dopamin je následně za pomoci dopamin- β -hydroxylázy přeměněn na noradrenalin. Malé množství dopaminu a noradrenalinu je dále oxidováno na odpovídající ortho-chinony. 3,4-dihydroxyfenylalaninchinon může připojit L-cystein nebo pomocí cyklizace vytvořit DHI a následně 5,6-indolchinon. Neenzymatickými reakcemi tyto meziprodukty polymerizují na neuromelanin (Solano, 2014).



Obr. 7: Biosyntéza neuromelaninu (upraveno dle Solano, 2014)

2. Bakteriální melanin

Produkce melaninů v bakteriích byla objevena před více než stoletím a souvisí s metabolismem tyrozinu. Jejich biologické funkce a kontrola syntézy melaninu v různých bakteriích byly však zkoumány teprve nedávno (*Pavan et al., 2019*). Bakteriální melaniny (BM) poskytují snadno dostupný alternativní zdroj přírodně získaných pigmentů. Co se týká přípravy bakteriálního melaninu, mají na rozdíl od jiných přírodních pigmentů mnoho výhod. Mezi tyto výhody patří jejich rychlý růst na levném médiu či snadné zpracování. Bakterie produkující pigment jsou všudypřítomné a vyskytují se v jak v půdě, pouštním písku, tak ve sladké a slané vodě a v oblastech s vysokými i nízkými teplotami (*Rao et al., 2017*). BM se běžně vyskytují u velkého počtu druhů. Důležité je si však uvědomit, že ne všechny tmavé pigmenty v bakteriálních kulturách jsou ve skutečnosti melaninové pigmenty (*Solano, 2014*). BM byl dobře charakterizován ve *Streptomyces*, neboť byl tento druh aktivně sledován ve výzkumu antibiotik (*Stafsnes et al., 2010*).

Poprvé byl rozpustný syntetický melanin získán z *Bacillus thuringiensis*. Po čisticích úpravách vykazoval melanin podobné infračervené absorpční spektrum jako syntetický melanin. Obsahoval také chinonové a fenolové struktury (*Petrosyan et al., 2014*). Pro nejvyšší produkci melaninu byl však uveden rod *Streptomyces* (*Rao et al., 2017*). Mezi další bakterie, které produkují BM patří *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Alcaligenes eutrophus*, *Burkholderia cepacia*, *Escherichia coli* nebo na příklad *Yersinia pestis* (*Kurian et al., 2014*). Všechny BM obsahují dusík a jejich struktura je podobná živočišnému eumelaninu (*Solano, 2014*). Vyráběný BM byl amorfní, vysoce rozpustný polymer obsahující tmavě hnědé či černé pigmenty (*Petrosyan et al., 2012*).

Široká distribuce melaninových pigmentů naznačuje, že mají důležitou roli v různých organismech. Hlavní funkce melaninů u mikroorganismů je jejich ochrana před ultrafialovým zářením a před toxickými těžkými kovy vyvolané oxidačním stresem. Melanin také způsobuje rezistentnost bakterií na antibiotika (*Pavan et al., 2019*).

2.1 Syntéza

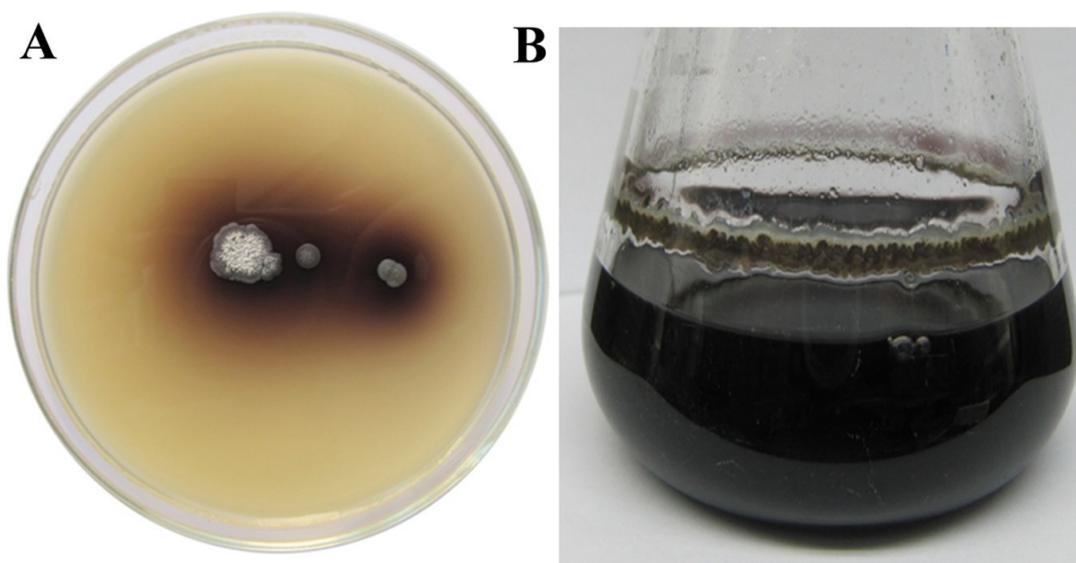
Existuje mnoho různých cest pro syntézu bakteriálního melaninu, ale většina bakteriálních melaninů se tvoří díky transformacím aromatických aminokyselin jako je tyrozin. Cesta homogentisátu (meziprodukt metabolismu tyrozinu) je až na *Escherichia*

coli společná pro všechny bakterie. V této cestě je tyrozin katabolizován v pěti po sobě jdoucích krocích. Nejprve dojde k deaminaci tyrozinu na 4-hydroxyfenylpyruvát pomocí aminotransferáz. Působením 4-hydroxyfenylpyruvát dioxygenázy na 4-hydroxyfenylpyruvát dojde ke vzniku homogentisátu při komplexní reakci, která zahrnuje přidání kyslíku, dekarboxylaci a přesmyk postranního řetězce na aromatickém kruhu. Homogentisát je následně degradován homogentisát 1,2-dioxygenázou. Nepřítomnost homogentisát 1,2-dioxygenázy způsobí akumulaci homogentisátu. Akumulací a následnou spontánní autooxidací a polymerací homogentisátu dojde k syntéze melaninu (*Pavan et al., 2019*).

2.2 Výroba

Účelem studie Pathana a Petha bylo prozkoumat, zda vzorek odpadních vod lze použít k výrobě melaninu. Vzorky odpadních vod byly náhodně odebrány ze dvou oblastí a přeneseny do laboratoře k podrobnějšímu zkoumání. Bakterie produkující melanin byly izolovány za použití média složeného z nutričního agaru doplněného tyrosinem a následně inkubovány při 37 °C po dobu 4 dnů (viz obr. 8A). Po izolaci byl testován charakter kolonií a byly provedeny biochemické testy jako je oxidázový, katalázový a ureázový test. Melaninový pigment byl dále charakterizován infračervenou spektroskopií. Výsledek potvrdil, že se jednalo o melaninový pigment. Tato studie prokázala, že vzorek odpadních vod lze použít k výrobě melaninu a má rezistentní antibakteriální aktivitu.

Výroba bakteriálního melaninu má následující postup: K přípravě inokul a produkci pigmentů byl použit živný vývar doplněný tyrosinem (viz obr. 8B). Bakteriální kultury byly přidány do 200 ml živného bujónu v 500 ml baňkách. Toto médium bylo poté inkubováno při 40 °C v inkubátoru. Následovala 10 až 15denní inkubace (dokud tekuté médium neztmavlo). Po inkubační době bylo médium odstředováno při 5 000 ot/min po dobu 15 minut, aby se oddělil supernatant a buňky. Buňky byly separovány a suspendovány v destilované vodě. Následně se tyto buňky opět centrifugovaly.



Obr. 8: *Stepromyces glaucescens* na agaru (A); živný vývar s tmavě hnědým melaninem (B) (Naggar et al., 2017)

Poté následovala extrakce a čištění bakteriálního melaninu. Vzhled čištěného melaninu je znázorněn na obr. 9 se skutečnou černou barvou. Melanin byl extrahován z celkového supernatantu okyselením kyselinou chlorovodíkovou a ponechán stát po dobu 48 hodin při teplotě místnosti. Tento proces byl opakován další 3 dny, dokud nebylo nalezeno žádné srážení. Následně byl supernatant centrifugován při 5 000 ot/min. po dobu 30 minut a poté byl přidán stejný objem chloroformu, ethylacetátu a methanolu. Vše se promíchalo a opět centrifugovalo při 5 000 ot/min. po dobu 15 minut. Získaná suspenze se povařila po dobu 20 minut, aby se zabránilo tvorbě melanoidinů. Opět následovalo odstředění. Takto vyčištěný pigment byl použit pro další analýzu pomocí infračervené spektroskopie (Pathan et al., 2016).



Obr. 9: Granule lyofilizovaného melaninu (Naggar et al., 2017)

2.3 Experimenty a využití

Jedním z cílů studie profesora Petrosyana bylo zkoumat neuroprotektivní účinky BM na krysách po unilaterální destrukci *substantia nigra pars compacta neurons* (SNc). Kromě pohybového ovládání je *pars compacta* důležitá pro prostorové vnímání a pozorování okolí (Petrosyan et al., 2013). Nedostatek SNc výrazně ovlivňuje pohyb, který je evidentní u symptomů Parkinsonovy nemoci. Hlavní příčinou této nemoci je ztráta neuronů obsahujících dopamin, které jsou umístěny v *substantia nigra*. BM podporuje přežití těchto neuronů v SNc po indukované destrukci a ochraňuje těla dopaminergických neuronů (Petrosyan et al., 2014). BM způsobuje dilataci kapilár v oblasti zranění, čímž dojde ke zvýšení toku krve v mozkové tkáni (Petrosyan, 2015).

K prvním pokusům bylo použito 36 krysíků sameček ve věku 3–6 měsíců o hmotnosti 180–200 g. Krysy byly umístěny ve světle vyhřívaných plastových boxech přikrytých drátěným poklopem. Byl zde dodržován standardní cyklus světla a podle potřeby bylo krysám dodáváno jídlo s pitím. Krysy byly rozděleny do tří skupin. Jedna skupina nedotčených krys byla použita pro elektrofyziologické experimenty. U nich se testovala změna neurální aktivity v SNc po aplikaci BM. Další dvě skupiny byly trénovány na instrumentální podmíněný reflex. Krysy byly trénovány na udržení rovnováhy na pomalu se rotujících vodorovných tyčích, na které zvíře balancovalo za použití zadních nožek. Po trénování instrumentálně podmíněného reflexu byly krysy

anestetizovány a následně byla provedena unilaterální destrukce SNc. U všech krys byla po destrukci pozorována porucha v rovnováze zadních končetin. Další den po destrukci byla polovině krys podána injekce s roztokem BM. Druhá polovina krys sloužila jako kontrolní skupina. U kontrolních krys bylo po unilaterální destrukci SNc pozorováno částečné ochrnutí těla. Zvířata kontrolní skupiny neustále chodila v kruzích a průběžně rozšiřovala průměr kruhů. Při chůzi zvedaly krysy pravou nožku výše než levou a ocásek se nedotýkal podlahy, ale zůstal nad jejich tělem s ohnutou špičkou. U obou skupin bylo provedeno další testování, které následovalo den po destrukci. Kontrolní skupina krys umístěna na rotující tyč nebyla schopna udržet rovnováhu po celou dobu testovací periody. Naproti tomu normální krysy udržovaly balanc na tyči za použití zadních končetin. U krys s bakteriálním melaninem se vyrovnávací pohyby zadní končetiny zcela normalizovaly během 1-3 dnů po testování. Pohyb krys po injekci BM se téměř nelišil od nedotčených krys. Experimentální výzkum ukázal, že bakteriální melanin usnadňuje regenerační procesy po zranění centrální nervové soustavy (CNS) (Petrosyan *et al.*, 2014).

Dalším cílem studií bylo otestovat schopnost BM, zda může projít skrze hematoencefalickou bariéru (BBB). BM byl radioaktivně označován metodou jódových kuliček a injekčně zaváděn do krys. Radioaktivně značený melanin pronikl dle studie Petrosyan *et al.*, 2014 do všech oblastí CNS. Značený BM měl značně dlouhou dobu setrvání v krvi, tudíž jakékoliv zavedené množství BM do proudu krve má značnou periodu k projití přes BBB. Navíc doba setrvání v mozku je delší než doba setrvání v krvi. Z tohoto důvodu má BM příznivý vliv při poranění CNS jako neuroprotektor. Vysoká absorpce bakteriálního melaninu byla v bederní míše, hypothalamu a *substantia nigra*. Zatím není známo, zda BM používá melaninový transportér. Nicméně Berliner *a spol* zmínili možnou roli melaninu jako transportér. Například se melanin snadno váže na růstový faktor a provádí jeho transport přes BBB, tím růstový faktor dosáhne mozkové tkáně. Ve studii byla také testována rychlost absorpce radioaktivně značeného BM v játrech a ledvinách. Rychlost absorpce v ledvinách byla dvojnásobně vyšší než v játrech (Petrosyan, 2014).

In vivo byly použity různé koncentrace BM, aby se ukázala jeho schopnost stimulovat regeneraci a zjistilo se jeho ochranné působení. Z experimentů bylo zjištěno, že nejoptimálnější koncentrace BM pro použití experimentů *in vivo* je 6 mg/ml. (Petrosyan, 2015). Na rozdíl od vyšších dávek BM měla tato koncentrace nejpříznivější efekty na regeneraci nervové tkáně, růst a funkční zotavení funkcí ztracených v důsledku

poškození nervové tkáně. Navíc nezpůsobila žádné toxické působení v organismu nebo sekundární komplikace po neurotraumatu (*Petrosyan et al., 2014*). BM nemá ani žádný aktivační efekt na mikroglie. Naopak injekce s vysokou koncentrací BM vyvolá zvýšení objemu v mozku, čímž dojde k otoku (*Petrosyan, 2015*).

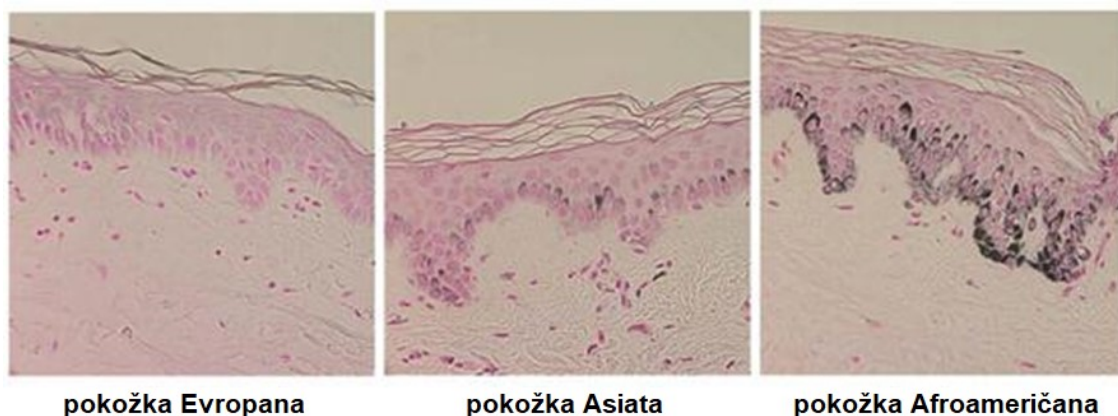
3. Význam melaninu u savců

Melanin má rozmanitou řadu funkcí. V organismu člověka a dalších obratlovců plní melanin především funkci obrannou, což znamená, že působí jako ochranný prvek proti UV záření (*Morison, 1985*). Savčí melaniny se nevyskytují pouze v kůži nebo ve vlasech. Nalezneme je také například v očích, ve tkáni ležící pod duhovkou oka, v epitelu vnitřního ucha či v určitých oblastech mozku. V kůži a vlasech se melanin liší v eumelaninu nebo feomelaninu, zatímco v oku je přítomen eumelanin (*Herrling et al., 2008*). Kromě savců mají melanin také ryby, plazi a obojživelníci. Díky přítomnosti melaninu mohou tato zvířata relativně rychle měnit své zbarvení (*Solano, 2014*).

Melaniny navíc zesilují strukturu proteinů, čímž je chrání před degradací. Díky působení melaninu může docházet ke zhášení volných radikálů (*Riley, 1997*). V biosystému hraje roli při antioxidačním působení, termoregulaci či například při chelataci kovů (*Huang et al., 2018*). U rostlinných buněk se melanin podílí na jejich pigmentaci a zvyšuje jejich pevnost (*Singh et al., 2013*).

3.1 Kůže a vlasy

Jedna z nejdůležitějších funkcí melaninových pigmentů je protekce kůže před UV zářením. Eumelanin slouží jednak jako bariéra, která rozptyluje UV záření, ale také jako absorpční filtr, který snižuje pronikání UV skrz epidermis (*Kaidbey et al., 1979*). Bylo zjištěno, že vyšší hladiny konstitutivní pigmentace snižují citlivost ke škodlivým účinkům UV záření. U osob se světlou pokožkou je přibližně 70krát vyšší pravděpodobnost vzniku rakoviny kůže než u osob s tmavou pokožkou (*Coelho et al., 2009; Brenner et al., 2008*). Je to způsobeno tím, že světlá pokožka obsahuje nižší hladiny zejména eumelaninu než tmavá pokožka (*Tadokoro et al., 2003*). Z obrázku 8 je patrné, že obsah melaninu v epidermis Afroameričana je výrazně vyšší než v epidermis Evropana či Asiata, na rozdíl od počtu melanocytů, který je u všech typů pleti totožný (*Brenner et al., 2008*).



Obr. 10: Rozdíly v obsahu melaninu v kůži různých etnických skupin (Brenner et al., 2008)

Role melaninu jako protektoru proti volným radikálům v pokožce byla zkoumána pomocí spektroskopie. Množství volných radikálů indukovaných v pokožce radiací UV bylo vyčísleno novým faktorem – sluneční protekční faktor (RSF). Různé typy pokožky obsahující různý obsah melaninu vykazují různé hodnoty RSF. Čím vyšší je obsah melaninu, tím vyšší je RSF. Lidé s vyšším typem pleti jsou lépe chráněni před spálením sluncem, ale ne proti tvorbě volných radikálů (viz tabulka I) (Herrling et al., 2008).

Tabulka I: Maximální doba vystavení slunečnímu záření bez nepříznivého vlivu u různých typů pleti a barvy vlasů (upraveno dle Herrling et al., 2008)

Typ pleti	Základní barva nevystavené kůže	Barva vlasů	Doba expozice [min]
I	Bílá	Červená	5–10
II	Bílá	Blond až světle hnědá	10–20
III	Bílá	Tmavá blond až hnědá	20–30
IV	Světle hnědá	Tmavě hnědá	40
V	Hnědá	Tmavě hnědá až černá	60
VI	Tmavě hnědá/černá	Černá	>60

Melanin může mít toxické vlastnosti, a to především po vystavení UV záření (Brenner et al., 2008). Škodlivé účinky UV záření jsou příčinou genové mutace, která vede ke kožnímu melanomu (Hu et al., 2008). Melanom je maligní nádor odvozený od melanocytů. Jedná se o velmi agresivní formu nádoru, která je hlavní příčinou předčasné smrti na rakovinu. Nejběžnějšími místy výskytu melanomu jsou nohy žen a záda mužů. Kromě kůže se může vyvíjet i v jiných orgánech jako jsou oči, ústní a nosní sliznice či CNS (Perera et al., 2014).

Bylo vědecky prokázáno, že melanin působí jako fotosenzibilizátor, který vyvolává vznik ROS po UV záření (*Korytowski et al., 1987*). V důsledku nedostatku melanocytů dochází k nedostatečné tvorbě melaninu, a tím i k poruše pigmentace. Porucha pigmentace může být spojena s poruchami nervového vývoje ovlivňujícího zrakový systém (*Riley, 1997*).

3.2 Oči

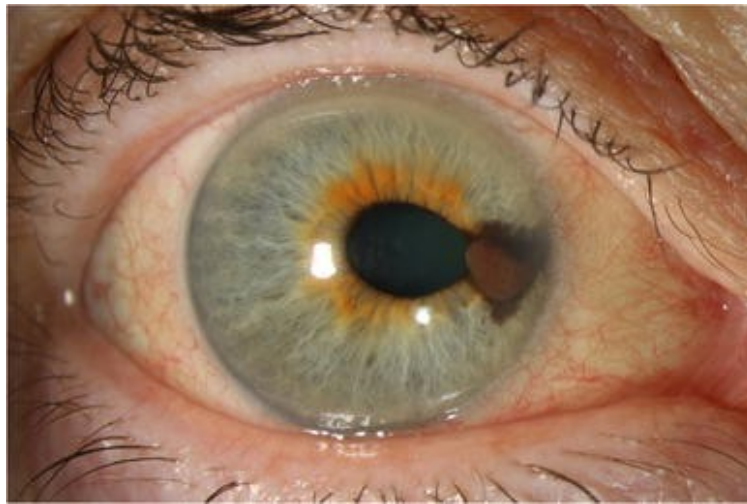
V lidském oku existují dva různé typy pigmentových buněk – uveální melanocyty umístěné v uveálním traktu a pigmentové epitelové buňky. Oba typy buněk produkují melanin, který následně ukládají v cytoplazmě. Uvea (střední vrstva oční koule) je tvořena duhovkou, řasnatým tělískem a cévnatkou. Melanin v pigmentovém epitelu je především eumelanin, zatímco v uveálních melanocytech je kromě eumelaninu přítomen i feomelanin (*Hu et al., 2008*). Většinu očního melaninu nalezneme v melanocytech duhovky (*Solano, 2017*). Barva lidských očí je však do jisté míry určena množstvím, typem a distribucí melaninu přítomného v duhovce, nikoliv počtem přítomných melanocytů (*Riley et al., 2011*). U osob s tmavě zbarvenou duhovkou (hnědá až tmavě hnědá barva) je množství uveálního melaninu a poměr eumelaninu/feomelaninu výrazně vyšší než u osob se světle zbarvenou duhovkou (zelená, žlutohnědá, modrá barva). Podle studií bylo prokázáno, že díky vysoké hladině eumelaninu u tmavě zbarvených očí je nižší výskyt melanomu duhovky (*Hu et al., 2008*).

Melanin má tendenci chránit oko před několika očními chorobami, které mohou způsobit slepotu (*Hu et al., 2008*). Kromě toho také přispívá ke stabilizaci životnosti očních buněk díky absorpci přímého nebo rozptýleného světla (*Solano, 2017*). Melaniny jsou schopny účinně vychytávají řadu volných radikálů, které se mohou v oku vytvářet (například hydroxylový radikál, superoxidový radikál, radikál oxidu dusičitého). Tato schopnost souvisí s redoxními vlastnostmi melaninu. Klíčovou rolí v přenosu elektronů hrají podjednotky DHI, DHICA a jejich oxidovaná forma (chinon) v eumelaninu a o-aminofenoly jako je 1,4-benzothiazin a jeho oxidovaná forma ve feomelaninu (*Riley et al., 2011*). Další rolí melaninu je jeho schopnost vázat xenobiotika, což může být prospěšné při léčbě některých očních chorob (*Solano, 2017*).

Co se týká role duhovky a jejích melanocytů, ty jsou umístěny za rohovkou a přední komorou. Díky tomu, že rohovka absorbuje veškeré UVC, část UVB a malé množství UVA záření, melanocyty duhovky jsou vystaveny pouze viditelnému světlu,

UVA a některým spektrům UVB. Absorbací viditelného světla a UV záření chrání zbytek oka před škodlivými účinky těchto vlnových délek (Hu et al., 2008). Změnou velikosti zornice může pigmentovaná duhovka regulovat množství světla procházejícího zornicí až 20x (Riley et al., 2011).

Nejčastějším typem nitroočního nádoru je maligní uveální melanom. Jedná se o vzácné onemocnění, které se z 90 % vyskytuje v cévnatce, ze 7 % v řasnatém tělísku a ve zbývajících 3 % v duhovce (viz obr. 9). Na vývoj uveálního melanomu má vliv samotný hostitel. Mezi rizikové faktory vzniku patří světlá barva kůže a duhovky. Zatím nebylo prokázáno, zda má vliv na vývoj ultrafialové světlo (Singh et al., 2018).



Obr. 11: Melanom duhovky (Singh et al., 2018)

3.3 Vnitřní ucho

V roce 1851 se Corti poprvé zmínil o melaninu ve vnitřním uchu, ale až v roce 1931 bylo prokázáno, že pigment detekovaný ve vnitřním uchu byl melanin (Palma et al., 2018). O pár let později bylo zjištěno, že množství melaninu ve vnitřním uchu souvisí s množstvím pigmentu v duhovce a s pigmentací kůže (Gottesberge, 1988). V lidském uchu jsou melanocyty přítomny hlavně v kochle (hlemýždi), vestibulárním aparátu a endolymfatickém vaku (Varghese et al., 2019). V závislosti na rozpustnosti melaninu a jeho biochemických vlastnostech může zaujmout elipsoidní tvar a tmavé zbarvení (eumelanin) nebo sférický tvar a žluté a červené zbarvení (feomelanin). Pozorování melaninu u lidí je omezeno jednak z důvodu obtížné přístupnosti vestibulárních orgánů, jednak z důvodu křehkosti epitelu.

Melanin má ochranný účinek proti poškození sluchu způsobeného hlukem, obtížnější je však prokázat jeho účinek na stimulaci vestibulárního orgánu (*Palma et al., 2018*). Ve snaze vysvětlit mechanismus funkce melaninu ve vnitřních uchu byla předložena hypotéza založená na polovodičových vlastnostech melaninu. Melanin může mít ochrannou funkci, při které jsou vrcholky zvukové energie přerušeny excitací melaninu a později převedeny na tepelnou energii (*Gottesberge, 1988*). Některé studie navrhy, že melanin se podílí na metabolickém a strukturálním zdraví kochley (*Varghese et al., 2019*). Dosud však není zcela jasné, proč se u některých lidí projevuje vážné poškození sluchu, zatímco jiní si zachovávají normální sluchový práh, i když jsou vystaveni stejné úrovni a délce trvání hluku. Experimentálně bylo prokázáno, že jedinci s tmavými očima jsou oproti jedincům se světlými očima méně náchylnější k ohluchnutí (*Gottesberge, 1988*). Také jedinci tmavé pleti mají nižší riziko ztráty sluchu než jedinci světlé pleti. Ve studii provedené v letech 1999-2004 se ukázalo, že prevalence sluchových ztrát byla vyšší u bílých jedinců než u černochů (*Varghese et al., 2019*).

4. Pigmentové poruchy melaninu

Regulace pigmentace zahrnuje mnoho faktorů požadovaných pro vývoj, regeneraci a stárnutí melanocytů a jejich prekurzorů, které se podílejí na stanovení melanosomové struktury, syntéze melaninu a transportu a distribuci melanosomů. Je známo, že při narušení funkcí těchto faktorů souvisejících s pigmentací dochází k pigmentovým poruchám. Tyto poruchy můžeme rozdělit do tří typů – hyperpigmentace, hypopigmentace a smíšená hyper-/hypopigmentace. Ty se dále dělí na vrozené či získané. Jejich diagnóza závisí na velikosti, umístění a morfologii (Yamaguchi et al., 2014).

4.1 Hyperpigmentační poruchy

Hyperpigmentace se vyznačuje zvýšenou produkcí melaninu, která je způsobena zvýšenou aktivitou melanocytů a tyrozináz. Příčinou je například změna v syntéze melaninu či jeho zpožděné odstranění (Fistarol et al., 2010). V tabulce II a III jsou příklady vrozených a získaných hyperpigmentačních poruch. Mezi vrozené hyperpigmentační poruchy patří například nevus spilus nebo nevus Ota (viz obr. 10 a 11).

Tabulka II: Příklady vrozených hyperpigmentačních poruch (čerpáno z Yamaguchi et al., 2014)

VROZENÉ	
Epidermální	Dermální
Nevus spilus	Modrý nevus
Spitz nevus	Nevus Ota
	Nevus Ito
	Mongolská skvrna



Obr. 12: Nevus spilus (Corradin et al., 2015)



Obr. 13: Nevus Ota (Solanki et al., 2014)

Příčin vzniku hyperpigmentace je celá řada. V tabulce III jsou příklady získaných hyperpigmentačních poruch jako je hyperpigmentace způsobená léky či nedostatkem vitamínu B12.

Tabulka III: Příklady příčin získaných hyperpigmentačních poruch (čerpáno z Yamaguchi et al., 2014)

ZÍSKANÉ		
Fyzikální/chemický původ	Poruchy výživy	Endokrinní choroby
UV indukovaná pigmentace	Nedostatek vitamínu B12	Addisonova choroba
Léky	Nedostatek kyseliny listové	Cushingův syndrom
Ukládání cizích materiálů	Pellagra	

Jedním z dalších příkladů hyperpigmentačního onemocnění je melasma (chloasma). Jedná se o lokalizovanou hyperpigmentaci obličeje, ke které dochází zejména u žen ve spojení s hormonálními změnami. Mezi další příčiny vzniku patří sluneční světlo a genetická predispozice. Melasma je rozdělena na epidermální a dermální typ. Postihuje především čelo, tvář a horní ret. Zbarvení je žlutohnědé až hnědé, které tmavne po vystavení slunečnímu záření. V některých případech dochází ke spontánnímu vymizení. Nejlepší léčbou je vyhnout se dalšímu vystavení slunci a užívat jediného účinné bělidlo – hydrochinon (Falco et al., 1991).

4.2 Hypopigmentační poruchy

Hypopigmentační poruchy se vyznačují nedostatkem melaninu v důsledku sníženého počtu melanocytů nebo zralých melanosomů. Důležitým faktorem pro diagnostiku je brát v potaz každé doprovodné onemocnění (Fistarol et al., 2010). Hypopigmentační poruchy mohou být jak vrozené, tak získané (viz tabulka IV). Vrozené hypopigmentace vznikají důsledkem genetických změn v průběhu melanogeneze.

Tabulka IV: Příklady hypopigmentačních poruch (čerpáno z Yamaguchi et al., 2014)

VROZENÉ	ZÍSKANÉ
Albinismus	Vitiligo
Waardenburgův syndrom	Maligní melanom
Menkesova choroba	Postinflamační hypopigmentace
Wilsonova nemoc	Leukoderma

Výsledky studie navrhly přímý vztah mezi kochleární dysfunkcí a sníženým množstvím melaninu. Melanin má ochrannou roli proti škodlivým látkám ve vnitřním uchu. Při ztrátě melanocytů dochází ke snížené produkci melaninu, a tím dochází ke vzniku vitiliga, což může značně ovlivnit zdraví kochley (*Moghaddam et al., 2018*).

Studie provedená v roce 2015 testovala, zda melanogeneze a melaninový pigment ovlivňuje chování melanomových buněk *in vitro*. Přítomnost melaninu ovlivnila elastické vlastnosti buněk, které mohou hrát klíčovou roli v účinnosti melanomových buněk šířených *in vivo*. Závěrem lze tedy říci, že melanin ovlivňuje chování maligních melanocytů (*Slominski et al., 2015*).

4.2.1 Albinismus

Jedním z příkladu vrozených hypopigmentačních poruch je albinismus (viz obr. 12). Albinismus je výsledkem dědičných mutací, které vedou k defektním melanocytům neschopným správně syntetizovat a distribuovat melanin. Albinismus pochází z latinského slova *albus*, což v překladu znamená „bílý“ (*Federico et al., 2020*). Jsou známy dva typy albinismu. Prvním typem je okulo-kožní a druhým typem je oční albinismus. Okulo-kožní albinismus je způsobený úplným nedostatkem nebo sníženou biosyntézou melaninu v melanocytech, což má za následek hypopigmentaci kůže, vlasů a očí. Mezi nejčastější příznaky patří bledá pokožka, bílé vlasy a snížená zraková ostrost. Albinismus může ovlivnit lidi všech etnických skupin. Přibližně 1 ze 17 000 lidí má jeden z typů albinismu (*Grónskov et al., 2007*).



Obr.14: Albinismus (*Wang et al., 2015*)

4.2.2 Vitiligo

Vitiligo je hypopigmentační porucha, která je způsobena vzájemným působením genetických a environmentálních rizik iniciující autoimunitní útok na melanocyty v kůži (Rashighi et al., 2017). Vitiligo postihuje zhruba 1 % lidí na celém světě bez ohledu na pohlaví, věk či etnickou příslušnost (Manga et al., 2016). Toto onemocnění se může projevit už v dětství, ale také se objevuje v dospělosti. Vitiligo lze rozdělit do dvou kategorií: generalizované (široká distribuce) a lokalizované (omezené na dermatom). Obvykle generalizované vitiligo začíná na obličeji nebo z hřební strany ruky a vyskytuje se většinou během dospívání (Yamaguchi et al., 2014). Projevuje se nepravidelnými depigmentovanými skvrnami (viz obr. 13). Barva těchto skvrn je různá, od bílé až po béžovou. Přestože toto onemocnění neohrožuje nemocné na životě, výrazně zhoršuje kvalitu jejich života. V současné době neexistuje žádná léčba vitiliga, která by účinně podporovala úplnou repigmentaci s dlouhodobými účinky (Manga et al., 2016).



Obr. 15: Vitiligo (Fistarol et al., 2010)

4.2.3 Leukoderma

Leukoderma představuje získanou hypopigmentační poruchu indukovanou opakovanou expozicí specifickým chemickým sloučeninám. Přispívajícími chemikáliemi jsou většinou aromatické nebo alifatické deriváty fenolů a katecholů. Dalšími odpovědnými toxiny jsou sulfhydryly, arsen nebo systémové léky jako je chlorochin a prolixin. V roce 1939 Oliver et al. poprvé identifikovali chemickou leukodermu u pracovníků vyrábějících kůži, kteří používali gumové rukavice vytvrzené kyselinou. Tehdejší

příčinou vzniku chemické leukodermy byl monobenzyl ether hydrochinon, který se používal v gumárenském průmyslu. Chemická leukoderma se projevuje bledými skvrnami, které nemají rozdílu od vitiliga ostré ohraničení (*Ghosh, 2010*).

4.2.4 Postinflamační hypopigmentace

Postinflamační hypopigmentace je běžnou příčinou získaných hypopigmentačních poruch. Vzniká v důsledku kožního zánětu, poranění či dermatologické léčby. Po zmrazení kůže je pozorována přechodná hypopigmentace způsobená blokadou přenosu melaninu z melanocytů na keratinocyty. Většina případů se spontánně zlepšuje během týdnů až měsíců, pokud je primární příčina ukončena. Postinflamační hypopigmentace však může být i trvalá, a to v případě, že dojde k úplnému poškození melanocytů. Toto onemocnění se vyskytuje u všech typů pleti bez rozdílu pohlaví. Možnosti léčby po zánětlivé hypopigmentaci zahrnují fototerapii, laser či užívání steroidů. Na obr. 15 je příklad postinflamační hypopigmentace způsobené výskytem lupu erythematodes. Tato léze je zjevná na tmavé pokožce díky barevnému kontrastu (*Vachiramon et al., 2011*).



Obr.16: Postinflamační hypopigmentace (Vachiramon et al., 2011)

5. Závěr

Melanin je pigment, který je rozšířen v biologickém systému. Melaniny jsou různého původu, mají odlišnou barvu, velikost i funkci. První část této bakalářské práce se zabývá popisem jednotlivých typů melaninů, jejich funkčními a strukturními odlišnostmi. Jedna z možných klasifikací melaninů je na základě jejich zdroje na živočišné, rostlinné, houbové nebo bakteriální. Jejich další možné dělení je podle chemických a fyzikálních vlastností na eumelanin, feomelanin, neuromelanin vyskytující se u člověka a allomelanin u rostlin. Proces syntézy melaninu se nazývá melanogeneze. Tento proces je zprostředkovaný buňkami zvanými melanocyty. Melanocyty se nacházejí nejen v pokožce, ale také ve vlasech, nervovém či kardiovaskulárním systému. Celý proces melanogeneze je regulován celou řadou enzymů, z nichž nejdůležitější je tyrozináza. Při narušení faktorů souvisejících s pigmentací dochází k pigmentovým poruchám. Tyto poruchy rozdělujeme do tří skupin – hyperpigmentace, hypopigmentace a smíšená hyper/hypopigmentace. Mohou být jak vrozené, tak získané. Eumelanin je pigment tmavě hnědé až černé barvy. Základními strukturními jednotkami jsou DHI a DHICA. Eumelanin slouží především k rozptýlení a absorbování UV záření, vychytávání volných radikálů a superoxiddizmutázy. Naproti tomu feomelanin je pigment žlutočervené barvy, který je zodpovědný za pihy a zrzavé vlasy. Je složen z benzothiazinu. Posledním zmíněným typem je neuromelanin. Je považován za směs eumelaninu a feomelaninu, jelikož se ve struktuře objevují molekuly benzothiazinu typické pro feomelanin, ale také molekuly indolu typické pro eumelanin. Neuromelanin je přítomen v centrálním nervovém systému a je produkován v lidském mozku. V nervových tkáních váže a izoluje toxické kovy, čímž zabraňuje nervové toxicitě.

Hlavním částí bakalářské práce se zaměřuje na role melaninu v živých organismech a na charakterizaci melaninu syntetizovaný bakteriemi. Produkce melaninů v bakteriích byla objevena před více než stoletím. Při experimentálních pokusech bylo zjištěno, že BM usnadňuje regenerační procesy po zranění CNS. Podporuje přežití neuronů v SNc po indukované destrukci. Melaniny mají rozmanitou řadu funkcí. V organismu člověka a dalších obratlovců plní melanin především funkci obrannou, což znamená, že působí jako ochranný prvek proti UV záření. V biosystému hraje roli při antioxidačním působení, termoregulaci či například při chelataci kovů. Lidské melaniny se nevyskytují pouze v kůži nebo ve vlasech. Nalezneme je také například v očích, ve tkáni ležící pod duhovkou oka, v epitelu vnitřního ucha či v určitých oblastech mozku.

6. Seznam použité literatury

1. BRENNER M., HEARING V. J.: The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochemistry and Photobiology*, 2008, 84 (3), 539-549.
2. BÜNGELER A., HÄMISCH B., STRUBE O.: The supramolecular buildup of eumelanin: Structures, Mechanismus, Controllability. *International journal of molecular sciences*, 2017, 18 (9), 1-14.
3. BUSTAMANTE J., BREDENSTON L., MALANGA G., MORDOH J.: Role of melanin as a scavenger of active oxygen species. *Pigm. Cell Res*, 1993, 6, 348-353.
4. CICHOREK M., WACHULSKA M., STASIEWICZ A., TYMIŃSKA A.: Skin melanocytes: biology and development. *Postepy dermatologii i alergologii*, 2013, 30 (1), 30-41.
5. COELHO S. G., ZHOU Y., BUSHAR H. F., MILLER S. A. et al.: Long-lasting pigmentation of human skin, a new look at an overlooked response to UV. *Pigment Cell and Melanoma Research*, 2009, 22, 238-241.
6. CORRADIN M. T., CACITTI V, GIULIONI E., PATRIARCA M. M et al.: Nevus Spilus: A Review of the Literature. *SM Dermatology Journal*, 2015 1(1), 1-7.
7. CORDERO J. B., CASADEVALL A.: Melanin. *Current biology*, 2020, 30_R135-R158.
8. D'ISCHIA M., WAKAMATSU K., CICOIRA F., MAURO E. D. et al.: Melanins and melanogenesis: from pigment cells to human health and technological applications. *Pigment Cell Melanoma Research*, 2015, 28, 520-544.
9. DAUBNER S. C., LE T., WANG S.: Tyrosine hydroxylase and regulation of dopamine synthesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2011, 508, 1-12.
10. ENGELEN M., VANNA R., BELLEI C., ZICCA F. A. et al.: Neuromelanins of human brain have soluble and insoluble components with dolichols attached to the melanic structure. *PLoS One*, 2012, 7 (11), e48490.

11. EVES P. C., MACNEIL S., HAYCOCK J. W.: α -Melanocyte stimulating hormone, inflammation and human melanoma. *Peptides*, 2006, 27 (2), 444-452.
12. FALCO B. O., PLEWIG G., WOLFF H. H., WINKELMANN K. R.: Disorders of melanin pigmentation. *Dermatology*, 1991, ISBN: 978-3-662-00183-7, 686-709.
13. FEDERICO J. R., KRISHNAMURTHY K: Albinism. StatPearls Publishing, 2020, 1-9.
14. FEDOROW H., TRIBL F., HALLIDAY G., GERLACH M. et al.: Neuromelanin in human dopamine neurons: Comparison with peripheral melanins and relevance to Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology*, 2005, 75 (2), 109-124.
15. FISTAROL S. K., ITIN P. H.: Disorders of Pigmentation. *Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 8, 187-202.
16. GEVORKYAN O. V., MELIKSETYAN I. B., HOVSEPYAN A. S.: Bacterial melanin promotes recovery after nerve injury in rats. *Neural regeneration research*, 2015, 10(1), 124-127.
17. GHOSH S.: Chemical Leukoderma: What's new on etiopathological and clinical aspects. *Indian Journal Dermatology*, 2010, 55(3), 255-258.
18. GODECHAL Q., GALLEZ B: The contribution of electron paramagnetic resonance to melanoma research. *Journal of skin cancer*, 2011, 1-6.
19. GOTTESBERGE A. M: Physiology and pathophysiology of inner ear melanin. *Pigment cell research*, 1988, 1(4), 238-249.
20. GRÓNŠKOV K., EK J., NIELSEN B. K.: Oculocutaneous albinism. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2007, 2 (43), 1-8.
21. GROVE J. F., REIMANN E., ROY S.: Progress in the chemistry of organic natural products. Springer Wien New York, 2007, 88, 171-85, ISSN 978-3-211-20688-1.

22. HERRLING T., JUNG K., FUCHS J: The role of melanin as protector against free radicals in skin and its role as free radical indicator in hair. *Spectrochimica acta*, 2008, 69(5), 1429-1435.
23. HU D. N., SIMON J. D., SARNA T.: Role of ocular melanin in ophthalmic physiology and pathology. *Photochemistry and photobiology*, 2008, 84(3), 639-644.
24. KAIDBEY K. H., AGIN P. P., SAYRE R. M., KLIGMAN A. M.: Photoprotection by melanin – a comparison of black and Caucasian skin. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1979, 1 (3), 249-260.
25. KORYTOWSKI W., PILAS B., SARNA T., KALYANARAMAN B.: Photoinduced generation of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals in melanins. *Photochemistry and Photobiology*, 1987, 45, 185-190.
26. KURIAN N. K., NAIR H. P., HBAT S. G.: Melanin producing *Pseudomonas stutzeri* BTCZ10 from marine sediment at 96 m depth. *Department of Biotechnology*, 2014, 2 (5), 2-6.
27. LANGFELDER K., STREIBEL M., JAHN B., HAASE G. et al.: Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi. *Fungal genetics and biology*, 2003, 38 (2), 143-158.
28. LONG HUANG, MEIYING LIU, HONGYE HUANG, YUANQUING WEN et al.: Recent advances and progress on melanin – like materials and their biomedical applications. *Biomacromolecules*, 2018, 19 (6), 1858-1868.
29. MANGA P., ELBULUK N., ORLOW S. J.: Recent advances in understanding vitiligo. *F1000 Research*, 2016, 2234, 1-9.
30. MANN D. M. A., YATES P. O.: Possible role of neuromelanin in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Mech Ageing Dev*, 1983, 21 (2), 193-203.
31. MARKS M. S., SEABRA M. C.: The melanosome: Membrane dynamics in black and white. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2001, 2, 738-748.

32. MARROT L., BELAIDI J. P., MEUNIE J. R., PEREZ P. et al.: The human melanocyte as a particular target for UVA radiation and an endpoint for photoprotection assessment. *Photochemistry and Photobiology*, 1999, 69, 686-693.
33. MIRANDA M., ZARIVI O., BONFIGLI A., AMICARELLI F. et al.: Melanogenesis, tyrosinase expression and reproductive differentiation in black and white truffles (*Ascomycotina*). *Pigment Cell Research*, 1997, 10, 46-53.
34. MOGHADDAM A. Y., SAYYAH M., TALAEI R.: Investigation the relationship between skin involvement severity and hearing loss severity in vitiligo patients. *Mater Sociomed*, 2018, 30(1), 19-31.
35. MORISON W. L.: What is the function of melanin? *Archives of Dermatology*, 1985, 121 (9), 1160-1163.
36. NAGGAR N. A., EWASY S. M.: Bioproduction, characterization, anticancer and antioxidant activities of extracellular melanin pigment produced by newly isolated microbial cell factories *Streptomyces glaucescens*. *Scientific Reports*, 2017, 42129, 1-19.
37. NASTI TH, TIMARES L.: Invited Review MC1R, Eumelanin and Pheomelanin: their role in determining the susceptibility to skin cancer. *Photochem Photobiol*, 2015, 91 (1), 188-200.
38. PALMA S., BOLDRINI P., NUCCI R., FANO R. A et al.: Melanin in human vestibular organs: what do we know now? An ultrastructural study and review of the literature. *Hearing, Balance and Communication*, 2018, 16, 101-107.
39. PATHAN A. N., PETHE A. S.: Studies of melanin producing bacteria and extraction of bacterial melanin from sewage water. *International Journal of Applied Research*, 2016, 2(6), 416-415.
40. PAVAN M. E., LOPÉZ N. I., PETTINARI M. J.: Melanin biosynthesis in bacteria, regulation and production perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 104, 1357-1370.

41. PERERA E., GNANESWARAN N., JENNENS R., SINCLAIR R.: Malignant melanoma. *Healthcare*, 2014, 2(1), 1-19.
42. PETROSYAN T. R., GEVORKYAN O. V., CHAVUSHYAN V. A., MELIKSETYAN I. B et al: Effect of bacterial melanin on motor recovery and regeneration after unilateral destruction of Substantia Nigra pars compacta in rats. *Neuropeptides*, 2014, 48(1), 37-46.
43. PETROSYAN T. R., GEVORKYAN O., MELIKSETYAN I. B.: Neuroprotective action of bacterial melanin in rats after corticospinal tract lesions. *Pathophysiology*, 2012, 19, 71-80.
44. PETROSYAN T. R., HOVSEPYAN A.: Bacterial melanin crosses the blood – brain barrier in rat experimental model. *Fluids and barriers*, 2014, 11, 1-7.
45. PETROSYAN T. R., CHAVUSHYAN V. A., HOVSEPYAN A. S.: Bacterial melanin increases electrical activity of neurons in Substantia Nigra pars compacta. *Journal of neural transmission*, 2014, 121 (3), 259-265.
46. PETROSYAN T. R.: Low Concentrations of Bacterial Melanin Prevent Secondary Changes after CNS Lesions in Rats and Significantly Accelerate Motor Recovery. *Armenian State Institute of Physical Education*, 2015, 10(3), 108-114.
47. PROTA G.: Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals. *The Journal of investigative dermatology*, 1980, 75, 122-127.
48. RAO M. P. N., LI W.-J.: Fungal and Bacterial Pigments: Secondary metabolites with wide applications. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8, 1113.
49. RASHIGHI M., HARRIS J. E.: Vitiligo pathogenesis and emerging treatments. *Dermatologic Clinics*, 2017, 35(2), 257-265.
50. RILEY P. A., BOROVSANĀÝ J.: Melanins and melanosomes: biosynthesis, biogenesis, physiological and pathological functions. *Wiley-Blackwell*, 2011, 187-217, ISSN 978-3527328925.

51. RILEY P. A.: Melanin. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 1997, 29 (11), 1235-1239.
52. SCHALLREUTER K. U., KOTHARI S., CHAVAN B., SPENCER J. D: Regulation of melanogenesis – controversies and new concepts. *Experimental Dermatology*, 2007, 17(5), 395-404.
53. SINGH M., DURAIRAJ P., YEUNG J.: Uveal melanoma: A review of the literature. *Oncology and Therapy*, 2018, 6, 87-104.
54. SINGH M., MUKHOPADHYAY: Alpha-Melanocyte stimulating hormone: An emerging anti-inflammatory antimicrobial peptide. *BioMed Research International*, 2014, ID 874610, 1-10.
55. SINGH S., MALHOTRA A. G., PANDEY K. M: Computational model for pathway reconstruction to unravel the evolutionary significance of melanin synthesis. *Bioinformatics*, 2013, 9 (2), 94-100.
56. SLOMINSKI R., ZMIJEWSKI M. A., SLOMINSKI A. T.: The role of melanin pigment in melanoma. *Experimental Dermatology*, 2015, 24(4), 258-259.
57. SOLANKI J., GUPTA S., BHATEJA S.: Nevus of Ota – A rare pigmentation disorder with intraoral findings. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2014, 8(8), 49-50.
58. SOLANO F.: Melanins: Skin Pigments and Much More – Types, Structural Models, Biological Functions, and Formation Routes. *New Journal of Science*, 2014, 28.
59. SOLANO F: Melanin and vision – The role of ocular melanin, melanosomes and melanocytes in eye functionality. *Advances in medicine and biology*, 2017, 115, 1-6.
60. STACEY A. N., D’MELLO, FINLAY G. J., BAGULEY B. C et al.: Signaling Pathways in Melanogenesis. *International journal of molecular sciences*, 2016, 17 (7), 1-18.
61. STAFSNES M., JOSEFSEN K. D., ANDERSEN G. K., BRUHEIM P.: Isolation and characterization of Marine Pigmented Bacteria from Norwegian Coastal Waters and

- Screening for Carotenoids with UVA-Blue light absorbing properties. *The Journal of Microbiology*, 2010, 48(1), 16-23.
62. SUN S., ZHANG X., CHEN W., ZHANG L. et al.: Production of natural edible melanin by *Auricularia auricula* and its physicochemical properties. *Food Chemistry*, 2016, 196, 486-492.
63. SUN S., ZHANG X., SUN S., ZHANG L. et al.: Production of natural melanin by *Auricularia auricula* and study on its molecular structure. *Food Chemistry*, 2016, 190, 801-807.
64. TADOKORO T., KOBAYASHI N., ZMUDZKA B. Z., ITO S. et al.: UV-induced DNA damage and melanin content in human skin differing in racial/ethnic origin. *FASEB Journal*, 2003, 17 (9), 1177-1179.
65. TIEF K., HAHNE M., SCHMIDT A., BEERMANN F.: Tyrosinase, the key enzyme in melanin synthesis, is expressed in murine brain. *European journal of biochemistry*, 1996, 241 (1), 12-16.
66. VACHIRAMON V., THADANIPON K.: Postinflammatory hypopigmentation. *Clinical dermatology*, 2011, 36(7), 708-714.
67. VARGHESE L., KOTTARAMVEETIL A: Association os skin pigmentation and risk of hearing loss: A homogenous race study. *International journal of health sciences and research*, 2019, 9(7), 234-241.
68. VIDEIRA I. F., MOURA D. F., MAGINA S.: Mechanisms regulating melanogenesis. *An Bras Dermatol*, 2013, 88, 76-83.
69. WAKAMATSU K., FUJIKAWA K., ZUCCA F. A., ZECCA L. et al.: The structure of neuromelanin as studied by chemical degradative methods. *Journal of Neurochemistry*, 2003, 86, 1015-1023.
70. WANG Y., WANG Z., CHEN M., FAN N. et al.: Mutational Analysis of the TYR and OCA2 genes in four chinese families with Oculocutaneous Albinism. *Plos One*, 2015, 10(4), e 0125651.

71. YAMAGUCHI Y., BRENNER M., HEARING V. J.: The regulation of skin pigmentation. *The Journal of biological chemistry*, 2007, 282 (38), 27557-61.
72. YEMAGUCHI Y., HEARING V. J.: Melanocytes and their diseases. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2014, 4(5), 1-18.
73. ZECCA L., BELLEI C., COSTI P. et al.: New melanic pigments in human brain that accumulate in aging and block environmental toxic metals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105 (45), 17567-17572.