

Celem projektu jest wyjaśnienie molekularnych i komórkowych procesów, w wyniku których melanina - kluczowy barwnik obecny w skórze człowieka i innych upigmentowanych tkankach - z efektywnego fotoprotektora i przeciwutleniacza staje się fotosensybilizatorem i czynnikiem proutleniającym. Postulujemy, że te dramatyczne zmiany fizykochemicznych właściwości właściwości melaniny skórnej indukowane są nadmierną ekspozycją skóry na intensywne promieniowanie słoneczne prowadzącą do oksydacyjnej degradacji barwnika. Taka fotomodyfikowana melanina charakteryzuje się zdolnością do fotogenerowania tlenu singletowego, do uszkodzenia komórkowego DNA, białek lub lipidowych składników błon i wykazując działanie fototoksyczne.

Dla osiągnięcia zamierzonego celu projektu planowane są szczegółowe badania przy użyciu zaawansowanych metod spektroskopowych i analitycznych na różnych stopniach złożoności, od prostych, dobrze zdefiniowanych układów modelowych po komórki skóry *in vitro*. Chcemy zidentyfikować kluczowe procesy fotochemiczne odpowiedzialne za krytyczne zmiany struktury i właściwości fizykochemicznych melaniny, których następstwem jest zwiększona fotoreaktywność barwnika i jego fototoksyczność w komórkach. Badania będą więc prowadzone na syntetycznych melaninach, modelach naturalnych barwników odpowiedzialnych za czarne lub czerwone zabarwienia włosów, na ziarnach barwnika izolowanych z włosów o różnej pigmentacji i na ustabilizowanej linii keratynocytów, do których ziarna barwnika wprowadzane będą na drodze fagocytozy. Syntetyczne melaniny oraz barwniki naturalne, izolowane z włosów, poddane będą naświetlaniu promieniowaniem z symulatora słonecznego, a stopień ich fotochemicznych modyfikacji określany będzie przy pomocy spektroskopii optycznej i elektronowego rezonansu paramagnetycznego oraz specjalnej analizy degradacyjnej. Fotoreaktywność melanin kontrolnych i fotomodyfikowanych badana będzie poprzez pomiar wydajności fotogenerowania reaktywnych form tlenu, w tym tlenu singletowego, oraz zdolności do fotoutleniania białek i nienasyconych lipidów oraz fotogenerowania specyficznych uszkodzeń DNA. Fototoksyczność modyfikowanych melanin analizowana będzie w keratynocytach *in vitro* standardowymi metodami biologii komórki oraz zaawansowanymi metodami obrazowania komórek przy pomocy mikroskopii sił atomowych oraz skaningowej laserowej mikroskopii konfokalnej. W badaniach analizowana będzie ponadto skuteczność wybranych przeciwutleniaczy w ochronie przed fototoksycznym działaniem fotomodyfikowanej melaniny.

Liczne badania epidemiologiczne wskazują na rosnące zagrożenie fototoksycznym działaniem promieniowania słonecznego, które u ludzi odpowiedzialne jest za niepokojący wzrost zapadalności na raka skóry, w tym szczególnie niebezpiecznego czerniaka złośliwego, fotoalergie i zaburzenie odpowiedzi immunologicznej oraz przedwczesne starzenie skóry. Dlatego projekt, w którym analizowana będzie rola naturalnego barwnika skóry melaniny w reakcjach fotochemicznych prowadzących do wzmożonej produkcji reaktywnych form tlenu, uszkodzeń organelli komórkowych i cytotoksyczności, oraz potencjalne ochronne działanie wybranych przeciwutleniaczy, uważamy za aktualny i ważny. Badania projektu posiadają nowatorski charakter bo opierają się na oryginalnej hipotezie badawczej i postulatach będących wynikiem wieloletnich studiów biofizycznych nad barwnikami melaninowymi, w których kierownik projektu odegrał wiodącą rolę.