

Putrescin regulira melanogenezu moduliranjem transkripcijskog faktora MITF u stanicama melanoma miševa B16F1

SAŽETAK

Pozadina istraživanja. Starenje je biokemijski, metabolički i genetički fiziološki proces. Supresija biosinteze melanina, koja rezultira sijedenjem kose kao značajka starenja, rezultat je neuspjele translacije, smanjene aktivnosti enzima i starenja stanica. Putrescin, najmanji organski spoj iz skupine poliamina, prisutan je u živim stanicama sisavaca gdje ima važnu ulogu u kontroli melanogeneze. Stoga je svrha ovoga rada bila ispitati utjecaj putrescina na signalne puteve melanogeneze u stanicama melanoma.

Eksperimentalni pristup. Sposobnost proizvodnje melanina iz putrescina ispitana je pomoću testa aktivnosti tirozinaze. Postotak preživljavanja stanica B16F1 izloženih putrescinu određen je pomoću testa redukcije tetrazolijeve soli (MTT test). Utjecaj putrescina na sintezu melanina u prisutnosti H₂O₂ ispitan je različitim *in vitro* testovima na stanicama B16F1, a sama proizvodnja melanina u stanicama određena je pomoću specifičnog testa. Ekspresija gena određena je lančanom reakcijom polimerazom u stvarnom vremenu (RT-PCR). Osim toga, učinak putrescina na ekspresiju proteina uključenih u proizvodnju melanina u stanicama tretiranim s H₂O₂ ispitan je imunofluorescencijom i analizom Western blot.

Rezultati i zaključci. Putrescin je pojačao aktivnost tirozinaze, pri čemu nije imao toksični učinak na stanice B16F1. Osim toga, uspješno je uklonio H₂O₂, što je potvrdila njegova manja količina u stanicama analiziranim pomoću 2',7'-diklorofluorescin diacetata, te je potaknuo proizvodnju melanina u živim stanicama. Poticanje melanogeneze pomoću putrescina rezultat je pojačane ekspresije gena *Mitf*, *Tyr*, *Trp-1* i *Trp-2*. Test imunofluorescencije pokazao je da putrescin pojačava ekspresiju proteina povezanih s melanogenezom i ekspresiju proteina TYR, TRP-1 i TRP-2 pomoću transkripcijskog faktora povezanog s mikroftalmijom (MITF), te ekspresiju metionin sulfoksid reduktaze A (MSRA) i B (MSRB) u stanicama obrađenim s H₂O₂, pritom potičući sintezu melanina. Rezultati pokazuju da bi se putrescin mogao primijeniti za poticanje sinteze melanina.

Novina i znanstveni doprinos. Ovo je prvo istraživanje koje ispituje utjecaj putrescina na signalne puteve melanogeneze u stanicama melanoma B16F1. Rezultati potvrđuju da putrescin može potaknuti melanogenezu ekspresijom proteina TYR, TRP-1 i TRP-2 pomoću MITF u stanicama tretiranim s H₂O₂. Putrescin se može primijeniti isključivo kao kozmetički proizvod za sprečavanje preranog sijedenja kose.

Ključne riječi: stanice B16F1; melanogeneza; stanice melanoma; poliamin; putrescin