

# Neurobiologija kože: nove spoznaje i perspektive u liječenju kožnih bolesti

## Cutaneous neurobiology: modern concept and perspectives in the treatment of skin diseases

Ines Brajac<sup>1\*</sup>, Teo Manestar<sup>1</sup>, Danijela Malnar<sup>2</sup>

**Sažetak.** Koža je najgušće inerviran organ ljudskog tijela, u vrlo bliskom kontaktu sa živčanim sustavom. U međusobnu intenzivnu komunikaciju uključene su sve strukture živčanog, endokrinog i imunološkog sustava, kao i sve stanice kože. Interakcija je posredovana različitim tipovima kožnih živčanih vlakana koja otpuštaju neuromedijatore i aktiviraju specifične receptore na ciljnim stanicama kao što su keratinociti, mastociti, Langerhansove stanice, endotelne stanice, stanice mikrovaskulature, fibroblasti i infiltrirajuće imunološke stanice. Ove interakcije utječu na brojne fiziološke i patofiziološke funkcije, uključujući rast i razvoj stanica, diferencijaciju, imunost, vazoregulaciju i cijeljenje rana. Nova saznanja o čimbenicima uključenim u ove interakcije utvrdila su suvremeni koncept neurobiologije kože.

**Ključne riječi:** koža, neurobiologija, neuropeptidi, živčani sustav

**Abstract.** The skin is the most densely innervated organ in the body and there is a close relationship between the skin and the nervous system. Monodirectional and/or bidirectional pathways exist in which the central and peripheral nervous system, endocrine and immune system, and almost all skin cells are involved. The interaction between peripheral nerves and immune system is mediated by different types of cutaneous nerve fibers which release neuromediators and activate specific receptors on target cells in the skin such as keratinocytes, mast cells, Langerhans cells, microvascular endothelial cells, fibroblasts, and infiltrating immune cells. These interactions influence a variety of physiologic and pathophysiologic functions including cellular development, growth, differentiation, immunity, vasoregulation, leukocyte recruitment, pruritus, and wound healing. Information is emerging about the factors involved in these immunomodulatory mechanisms. Recent findings have established a modern concept of cutaneous neurobiology.

**Key words:** nervous system, neurobiology, neuropeptides, skin

<sup>1</sup>Klinika za dermatovenerologiju, KBC Rijeka, Rijeka

<sup>2</sup>Zavod za anatomiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Primljeno: 21. 1. 2011.

Prihvaćeno: 4. 5. 2011.

Adresa za dopisivanje:

\*Prof. dr. sc. Ines Brajac, dr. med.

Klinika za dermatovenerologiju

KBC Rijeka

Krešimirova 42, 51 000 Rijeka

e-mail: ines.brajac@medri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

## UVOD

Koža je učinkovita barijera koja štiti naše tijelo od vanjskih utjecaja, ali je ujedno i važan čimbenik senzorne percepcije<sup>1</sup>. Najgušće je inerviran organ i u vrlo je bliskom kontaktu sa živčanim sustavom. U međusobnu intenzivnu i dvosmjernu komunikaciju uključene su sve strukture živčanog, endokrinog i imunološkog sustava, kao i sve stanice kože<sup>2</sup>.

Imunohistokemijske studije kože ukazale su na prisutnost neuropeptida, neurohormona, te čim-

Koža je najgušće inerviran organ ljudskog tijela, u vrlo bliskom kontaktu sa živčanim sustavom. U međusobnu intenzivnu komunikaciju uključene su sve strukture živčanog, endokrinog i imunološkog sustava, kao i sve stanice kože. Interakcija je posredovana različitim tipovima kožnih živčanih vlakana, koja otpuštaju neuromedijatore i aktiviraju specifične receptore na ciljnim stanicama kao što su keratinociti, mastociti, Langerhansove stanice, endotelne stanice, stanice mikrovaskulature, fibroblasti i infiltrirajuće imunološke stanice.

benika rasta u živčanim ograncima i stanicama kože. Keratinociti, imunološke stanice, fibroblasti, Langerhansove stanice, te Merkelove i endotelne stanice izražavaju senzorne proteine i neuropeptide, čineći složen neuro-endokrino-imunološki sustav<sup>1</sup>. Interakcije unutar ovog sustava posreduju u staničnoj proliferaciji, indukciji citokina, pojačanom izražavanju adhezijskih molekula te prezentaciji antigena, utječući na taj način na brojne fiziološke i patofiziološke funkcije kože, poput rasta i razvoja stanica, diferencijacije, vazoregulacije, privlačenja leukocita i cijeljenja rana<sup>3,4</sup>. Bliski kontakt živčanih vlakana kože sa stanicama imunološkog sustava jasno upućuje i na imunomodulatornu ulogu<sup>5</sup>. Naime, neuropeptidi koji se otpuštaju iz autonomnog živčanog sustava i stanica kože imaju važnu ulogu u imunosti<sup>6</sup>.

Zbog vrlo bliskog odnosa između kože, imunog i živčanog sustava, živčani su ogranci važni u patofiziologiji upalnih dermatoza. Mnogo je neurotransmitera i čimbenika rasta koji se otpuštaju u sustavnu cirkulaciju uključeno u neurogeni upalu, što izrazito pojačava upalni učinak koji proizvode same imunološke stanice. Razvidno je, da-

kle, da periferni živčani sustav kože, uz svoju senzornu i motornu funkciju, može potaknuti i upalnu reakciju, a neurogena upala koja na taj način nastaje, ima velik značaj u patogenezi nekih kožnih bolesti.

U radu je opisana neuroanatomija kože, neurogena upala, te najvažniji neuropeptidi koji sudjeluju u prijenosu senzornih podražaja i patogenezi upalnih kožnih bolesti.

## NEUROANATOMIJA KOŽE

Kožni živčani sustav važan je dio perifernog živčanog sustava. Koža je inervirana primarnim aferentnim senzornim živcima, postganglijskim kolinergičkim parasimpatičkim živcima, te postganglijskim adrenergičkim i kolinergičkim simpatičkim živcima<sup>7</sup>. Senzorni neuroni prisutni su u svim dijelovima kože i čine trodimenzionalnu mrežu tankih nemijeliniziranih ogranaka koji završavaju u dermisu i epidermisu<sup>8</sup>.

Bliski prostorni odnos u koži utvrđen je između živčanog vlakna i T-limfocita, te živčanog vlakna i mastocita. Ovakav kontakt živčanog završetka, međutim, nije ograničen samo na imunološke stanice. Ogranci unutar intercelularnih prostora epidermisa omogućuju bliski kontakt i s keratinocitima epidermisa i Langerhansovim stanicama<sup>9</sup>. Moguće je također da postoje još neutvrđeni odnosi između živčanog vlakna, eozinofila, bazofila i neutrofila, budući da zbog ograničene snage rezolucije u imunocitokemiji još uvijek nisu precizno definirani svi odnosi između živčanih vlakana i ciljnih stanica.

Imunohistokemijske studije inervacije kože rađene su s brojnim protutijelima za neuronske proteine. Ove su studije omogućile otkrivanje specifičnih svojstava neuronskih subpopulacija, te se tako velika većina neurona može identificirati na osnovi sadržaja neurotransmitera i neuropeptida. Većina vlakana koja sadrže neuropeptide nalazi se oko folikula dlake, krvnih žila i znojnice ili završava kao slobodni ogranci u papilarnom dermisu<sup>6</sup>. Ukupnu inervaciju najbolje je prikazao marker za PGP 9,5 (engl. *protein gene product 9,5*). PGP 9,5 pozitivni profili otkriveni su u svim vitalnim slojevima epidermisa i to ne samo u bazalnom, već i u spinoznom i granularnom sloju, a također u blizini vaskularnih struktura dermisa<sup>10</sup>.

Važno je napomenuti postojanje četverostruke formacije u koži koja je sastavljena od postkapilarne venule, makrofaga, mastocita i peptidergičkog živčanog ogranka, koji se boji na kateholamine i CGRP (engl. *calcitonine gene related peptide*)<sup>11</sup>. Živčana vlakna u ovakvoj formaciji ne završavaju samo na endotelu, već i na pericitima, te na vanjskom zidu većih krvnih žila. Ova gusta mreža živčanih vlakana sudjeluje u prijenosu senzornih podražaja i u neurogenoj upali kože.

### NEUROGENA UPALA

Prije više od 100 godina primijećeno je da antidromna stimulacija senzornih živaca, koji potječu od ganglija dorzalnog korijena, proizvodi vazodilataciju i lokalnu upalu u koži. Živci, dakle, ne vode samo senzorne informacije iz kože u CNS, nego imaju i ulogu efektora u upalnom odgovoru. Periferna efektorna funkcija koju obnašaju senzorni neuroni stvara neurogenu upalu, koja se temelji na otpuštanju neuropeptida iz senzornih završetaka<sup>12</sup>.

Stimulacijom kutanih nociceptora raznim podražajima dolazi do prijenosa impulsa putem senzornih vlakana u ganglij dorzalnog korijena ili ortodromnog signala. Mehanički, kemijski ili toplinski podražaj stimulira senzorne ogranke koji se depolariziraju, a impuls se prenosi i centralno i periferno. Senzorni ogranci omogućuju sekundarni impuls u obrnutom smjeru u inerviranu kožu ili antidromni signal. Neurogena upala temelji se na otpuštanju neuropeptida u kožu pri sekundarnom, antidromnom signalu.

Neuropeptidi reagiraju s receptorima na ciljnim stanicama kože. Receptore izražavaju brojne imunološke i neimunološke stanice kože uključujući T i B-limfocite, monocite i keratinocite. Neuropeptidi koji se oslobađaju iz senzornih živčanih ogranka tako utječu na brojna biološka zbivanja u koži kao što su proliferacija stanica, proizvodnja citokina, te izražavanje adhezijskih molekula. Upalna kaskada koja se pritom zbiva putem receptora za neuropeptide na stanicama kože, završava razgradnjom neuropeptida koju vrše proteolitički enzimi<sup>13</sup>.

Važno je napomenuti da stimulacija kutanih nociceptora uz aktivaciju ascendentnog puta rezultira povećanjem električne aktivnosti uz pad razine

supstancije P (SP) u višim kortikalnim regijama CNS-a. Aktiviranje ovih kortikalnih zona za vrijeme stresa rezultira otpuštanjem SP iz nadbubrežne žlijezde putem descendentnih autonomnih vlakana. Ova vlakna inerviraju opioidne interneurone u dorzalnog rogu, koji su povezani sa SP neuronima produžene moždine. Moguće je, dakle, da autonomni neuroni potaknu antidromno otpuštanje neuropeptida u koži. Opisani mehanizam mogao bi objasniti učinak emotivnog stresa na kožnu fiziologiju<sup>14</sup>.

### NEUROPEPTIDI

Neuropeptidi se sintetiziraju u neuronima i, nakon otpuštanja na živčanim završecima, vezuju se za receptore na ciljnim stanicama. Neuropeptidi kože uglavnom se nalaze u subpopulaciji nemijeliniziranih aferentnih C-vlakana i u manjem opsegu u mijeliniziranim A-vlaknima, uključujući i senzitivna autonomna vlakna<sup>15</sup>. Nakon otpuštanja neuropeptidi su podložni djelovanju endopeptidaze na površini stanice koja ih inaktivira<sup>13</sup>.

Imunohistokemijske studije kože ukazale su na prisutnost brojnih neuropeptida, neurohormona, te čimbenika rasta u osjetilnim ograncima, uključujući supstanciju P (SP), peptid povezan s kalcitoninskim genom (engl. *calcitonin gene related peptide*; CGRP), vazoaktivni intestinalni peptid (engl. *vasoactive intestinal peptide*; VIP), somatostatin (SOM), alfa-melanostimulirajući hormon (alfa-MSH), te *corticotropin releasing hormon* (CRH)<sup>16-18</sup>.

### Supstancija P

Supstancija P jedan je od najvažnijih neurotransmitera, široko rasprostranjena i u perifernom i u središnjem živčanom sustavu<sup>19</sup>. U koži se nalazi poglavito na dermoepidermalnoj granici i ponekad intraepidermalno.

SP pripada obitelji tahikinina koje karakterizira snažan učinak na kardiovaskularni sustav, praćen hipotenzijom i relaksacijom glatkih mišića. Glavna je funkcija tahikinina živčana transmisija, uglavnom nociceptivna, u senzornim C-vlaknima kože. SP dovodi do otpuštanja histamina iz mastocita bez sudjelovanja IgE-a. Također, SP potiče sintezu DNA u fibroblastima i keratinocitima djelujući mitogeno i proliferativno. SP posjeduje i druga svojstva koja uključuju: kemotaksu neutro-

fila; mitogeni učinak na vezivna tkiva i epitelne stanice; T-staničnu aktivaciju; stimulaciju interleukina 1 (IL)-1 i sekreciju iz keratinocita<sup>20</sup>. SP također posreduje pri osjetu bola i svrbeža putem C-vlakana uklopljenih u dorzalni rog leđne moždine<sup>21</sup>. IL-3 može potaknuti svrbež poticanjem proizvodnje SP-a<sup>22</sup>. Psihički i fizički stres povišuju razine SP-a, a SP koja se oslobađa centralno iz amigdala aktivira hipotalamičko-pituitarnu-adrenalnu (HPA) osovinu, time potiče oslobađanje CRH koji tada degranulacijom mastocita i po-

Uz sadašnja nedostatna saznanja teško je konačno odlučiti kakvu ulogu ima neurogena upala u patogenezi specifičnih kožnih bolesti. Razvijanje **sigurnog i prihvatljivog neuropeptidnog antagonista omogućit će terapijsku evaluaciju, a time i odrediti njihov značaj u patogenezi**. Farmakološki ciljevi u razvoju novih lijekova uključit će neuropeptide koji se otpuštaju u koži, neuropeptidne receptore koji su izraženi na ciljnim stanicama kože, proteaze koje razgrađuju neuropeptide i čimbenike rasta koji utječu na inervaciju kože.

većanjem vaskularne propusnosti započinje upalu kože<sup>23</sup>

#### **Peptid povezan s kalcitoninskim genom (CGRP)**

CGRP se u koži nalazi obično uz SP-u, u dermalnoj papili i epidermisu, što upućuje na njegovu ulogu u osjetnoj inervaciji kože<sup>24</sup>. Sensorni živčani ogranci koji sadrže CGRP nalaze se blizu struktura kože, uključujući epitelne stanice,<sup>12</sup> kao i Langerhansove stanice, a mogu se vidjeti i intraepidermalno<sup>25</sup>. CGRP je neurotransmiter koji posreduje u osjetu bola i čimbenik je rasta za brojne stanice, uključujući Schwannove i endotelne<sup>26</sup>. Nadalje, CGRP je snažni vazodilatator i smatra se glavnim čimbenikom homeostaze kože. Intradermalna injekcija CGRP-a potiče mikrovaskularnu dilataciju, što rezultira trajnim lokalnim eritemom<sup>27</sup>. Kapilarna vazodilatacija glavna je karakteristika psorijatičnog plaka, što upućuje na ulogu CGRP-a u patogenezi upale kože.

#### **Pro-opiomelanokortinski peptidi (POMC)**

POMC peptidi, alfa-MSH i beta-endorfin neurohormoni su velikog imunomodulatornog kapaciteta.

Beta-endorfin potiče Th2 posredovan imunološki odgovor i sintetizira se u perifernim mononuklearima<sup>28</sup>. Alfa-MSH regulira proliferaciju i diferencijaciju keratinocita i melanocita, a utječe i na proizvodnju citokina od strane endotelnih stanica. Također sprječava učinak proinflammatoryh citokina, što ga čini izuzetno važnim u smanjenju upalnih reakcija u koži. Imunomodulatorna svojstva POMC peptida očituju se utjecajem na diferencijaciju keratinocita, melanocita i proizvodnju endotelijalnih citokina. Beta-endorfin potiče Th2 posredovani imuni odgovor, a alfa-MSH djeluje i lokalno i sistemski na imunološki sustav potičući proizvodnju IL-10, antiinflammatoryh citokina. Također smanjuje proizvodnju interferona gama i sprječava djelovanje proinflammatoryh citokina kao što su IL-1 i IL-6, čime postaje važan čimbenik sprječavanja upale u koži<sup>29</sup>.

#### **KLINIČKE IMPLIKACIJE I PERSPEKTIVE U LIJEČENJU KOŽNIH BOLESTI**

Iako interakcija između živčanog sustava i kože sve više privlači pozornost znanstvenika, neurogeni mehanizmi koji su uključeni u patogenezu kožnih bolesti nisu dovoljno poznati. Posljednja otkrića o ulozi i funkciji neuropeptida i neuropeptidnih receptora zajedno s razvojem moderne tehnike nude uzbudljiv pogled i u buduće terapijske metode u dermatologiji.

Interakcija između kože, te perifernog i centralnog živčanog sustava, igra ključnu ulogu u homeostazi kože i nastanku bolesti. Postoje brojni dokazi da su periferni živčani ogranci važni čimbenici u patofiziologiji urtikarije, psorijaze, atopijskog dermatitisa, reakcija preosjetljivosti, rosacee i cijeljenju rana. Štoviše, nekoliko neuromedijatora i njihovih receptora uključeno je u patofiziologiju pruritusa, kao i u imunomodulaciju. Primjerice, spinalni receptori neuromedijatora poput supstancije P, serotonina i histamina mogu biti potencijalni ciljevi antipruritičke terapije, s obzirom na to da većina ovih molekula ne posreduje samo u osjetu bola, već i pri nastanku svrbeža. Također, uz  $\mu$ -opioid receptorske antagoniste,  $\kappa$ -opioid receptorski agonisti također dolaze u uporabu kao antipruritički lijek, posebice u simptomatskih svrbeža kod bolesnika na hemodijalizi i s kolestazom, kod kojih je nemoguće svrbež ublažiti antihistaminicima.

Živčani su ogranci izuzetno važni i u nastanku atopijskog dermatitisa. U lezijama kože kod atopijskog dermatitisa mnogo je specifičnih promjena u kožnoj neurobiologiji i neurofiziologiji. Nove terapijske perspektive pružaju selektivni *glucocorticoid* receptorski agonisti, interferon  $\gamma$ , TNF $\alpha$  inhibitori, inhibicija vezivanja IgE i mnoge druge, zaključno s neuropeptidnim receptorskim antagonistima.

Slične se mogućnosti ukazuju i u liječenju drugih dermatoza, poput urtikarije, psorijaze, reakcija preosjetljivosti i rosacee, kod kojih je neurogena upala važan čimbenik patogeneze. U čvorovima nodularnog pruriga nađena je povećana koncentracija živčanih ogranaka koji sadrže CGRP, te se ovaj neuropeptid smatra medijatorom svrbeža u bolesti. U kroničnoj idiopatskoj urtikariji povećano je stvaranje urtika nakon davanja VIP-a, što govori o povećanoj osjetljivosti krvnih žila na ovaj NP. Ulogu u patogenezi atopičkog dermatitisa vjerojatno imaju i SP i GCRP.

Uloga neuropeptida u bolestima kože potvrđena je terapijskim učinkom neuropeptid-modulirajućih tvari poput capsaicina, somatostatina i peptida T<sup>10</sup>. Slično capsaicinu, topički kalcineurin inhibitori, poput pimecrolimusa, značajno sprečavaju oslobađanje histamina iz mastocita, što upućuje na korisnost u sprječavanju neurogene upale<sup>30</sup>. Moduliraju li lijekovi poput ovih usput citokinu signalizaciju, još nije u potpunosti jasno.

Uz sadašnja nedostatna saznanja teško je konačno odlučiti kakvu ulogu ima neurogena upala u patogenezi specifičnih kožnih bolesti. Razvijanje sigurnog i prihvatljivog neuropeptidnog antagonista omogućit će terapijsku evaluaciju, a time i odrediti njihov značaj u patogenezi. Farmakološki ciljevi u razvoju novih lijekova uključit će neuropeptide koji se otpuštaju u koži, neuropeptidne receptore koji su izraženi na ciljnim stanicama kože, proteaze koje razgrađuju neuropeptide i čimbenike rasta koji utječu na inervaciju kože.

## LITERATURA

1. Boulais N, Misery L. The epidermis: a sensory tissue. *Eur J Dermatol* 2008;18:119-27.
2. Pincelli C, Bonté F. The 'beauty' of skin neurobiology. *J Cosmet Dermatol* 2003;2:195-8.
3. Babu RJ, Kikwai L, Jaiani LT, Kanikkannan N, Armstrong CA, Ansel JC et al. Percutaneous absorption and anti-inflammatory effect of a substance P receptor antagonist: spantide II. *Pharm Res* 2004;21:108-13.
4. Steinhoff M, Ständer S, Seeliger S, Ansel JC, Schmelz M, Luger T. Modern Aspects of Cutaneous Neurogenic Inflammation. *Arch Dermatol* 2003;139:1479-88.
5. Raychaudhuri SP, Raychaudhuri SK. Role of NGF and neurogenic inflammation in the pathogenesis of psoriasis. *Prog Brain Res* 2004;146:433-7.
6. da Silva L, Carvalho E, Cruz MT. Role of neuropeptides in skin inflammation and its involvement in diabetic wound healing. *Expert Opin Biol Ther* 2010;10:1427-39.
7. Mitschenko AV, Lwow AN, Kupfer J, Niemeier V, Gieler U. Atopic dermatitis and stress? How do emotions come into skin? *Hautarzt* 2008;59:314-8.
8. Sternini C. Organisation of the peripheral nervous system: autonomic and sensory ganglia. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1997;2:1188.
9. Vandenbark AA. Autoimmune diseases: Promising emerging therapies. *J Invest Dermatol* 1995;104:105-1S.
10. Sartorius K, Emtestam L, Lapins J, Johansson O. Cutaneous PGP 9.5 distribution patterns in hidradenitis suppurativa. *Arch Dermatol Res* 2010;302:461-8.
11. Dong J, He Y, Zhang X, Wang L, Sun T, Zhang M et al. Calcitonin gene-related peptide regulates the growth of epidermal stem cells in vitro. *Peptides* 2010;31:1860-5.
12. Ansel CJ, Kaynard AH, Armstrong CA, Olerud J, Bunnet N, Payan D. Skin-nervous system interactions. *J Invest Dermatol* 1996;106:198-204.
13. Vandenbark AA, Hastim G, Offner H. TCR peptide therapy in autoimmune diseases. *J Neurosci Res* 1994;38:1-5.
14. Sternini C. Organisation of the peripheral nervous system: autonomic and sensory ganglia. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1997;2:11.
15. Pincelli C, Fantini F, Giannetti A. Neuropeptides and skin inflammation. *Dermatology* 1993;187:153-8.
16. Scholzen T. Neuropeptides in the skin: Interactions between the neuroendocrine and the skin immune system. *Exp Dermatol* 1998;7:81.
17. Cevikbas F, Steinhoff M, Ikoma A. Role of Spinal Neurotransmitter Receptors in Itch: New Insights into Therapies and Drug Development. *CNS Neurosci Ther* 2010;12:22.
18. Johansson O. Evidence for gamma melanocyte stimulating hormone containing nerves and neutrophilic granulocytes in the human skin by indirect immunofluorescence. *J Invest Dermatol* 1991;96:852.
19. Pernow B. Substance P: its distribution, pharmacological actions and possible physiological role in sensory neurons. *Clin Physiol* 1981;1:235-51.
20. Perianin A, Snyderman R, Malfroy B. Substance P primes human neutrophil activation: a mechanism for neurological regulation of inflammation. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;161:520-4.
21. Scott JR, Muangman PR, Tamura RN. Substance P levels and neutral endopeptidase activity in acute burn wounds and hypertrophic scar. *Plast Reconstr Surg* 2005;115:1095-102.
22. Katayama I, Bae SJ, Hamasaki Y. Stress response, tachykinin, and cutaneous inflammation. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2001;6:81-6.
23. Maggi CA. The effects of tachykinins on inflammatory and immune cells. *Regul Pept* 1997;70:75-90.

23. Wimalawansa SJ. Calcitonin gene-related peptide and its receptors: molecular genetics, physiology, pathophysiology, and therapeutic potentials. *Endocr Rev* 1996;17:533-85.
24. Hosoi J, Murphy GF, Egan CL. Regulation of Langerhans cell function by nerves containing calcitonin gene-related peptide. *Nature* 1993;363:159-63.
25. Wallengren J, Hakanson R. Effects of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in human skin and their involvement in sensory nerve-mediated responses. *Eur J Pharmacol* 1997;143:267-73.
26. O'Halloran DJ, Bloom SR. Calcitonin gene related peptide. *BMJ* 1991;302:739-40.
27. Scholzen TE, Kalden D, Brzoska T. Expression of proopiomelanocortin peptides in human dermal microvascular endothelial cells: evidence for a regulation by ultraviolet light and interleukin-1. *J Invest Dermatol* 2000;115:1021-8.
28. Ichiyama T, Okada K, Campbell IL, Furukawa S, Lipton JM. NF-kappaB activation is inhibited in human pulmonary epithelial cells transfected with alpha-melanocyte-stimulating hormone vector. *Peptides* 2000;21:1473-7.
29. Sabroe RA, Kennedy CT, Archer CB. The effects of topical doxepin on responses to histamine, substance P, and prostaglandin E2 in human skin. *Br J Dermatol* 1997;137:386-90.