

# Neuropeptídeos na pele\* *Neuropeptides in the skin\**

Pedro Kalil-Gaspar<sup>1</sup>

**Resumo:** Há evidências crescentes de que a inervação cutânea é capaz de modular uma variedade de fenômenos cutâneos agudos e crônicos, interagindo com as células da pele e seus componentes imunes. Essa forma de sinalização local entre tecido nervoso e tecido cutâneo ocorre especialmente por meio dos neuropeptídeos, uma numerosa família de neurotransmissores de natureza química comum e nomenclatura heterogênea presentes em todo o sistema nervoso e secretados pelas fibras nervosas cutâneas. São alvo desta revisão os neuropeptídeos substância P (SP), o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), o peptídeo vasoativo intestinal (VIP), o peptídeo ativador da adenilato-ciclase pituitária (PACAP), o neuropeptídeo Y (NPY) e a somatostatina (SOM). Serão discutidas suas ações sobre as células da pele e sistema imune, bem como estudos recentes que sugerem a participação dos neuropeptídeos nas respostas inflamatórias cutâneas, nas reações de hipersensibilidade e em dermatoses humanas, notadamente na psoríase, dermatite atópica, hanseníase e alopecia.

Palavras-chave: alopecia; dermatite atópica; fatores de crescimento neural; hanseníase; hipersensibilidade; neuropeptídeos; pele; psoríase.

**Summary:** There is increasing evidence that cutaneous nerve fibers play a modulatory role in a variety of acute and chronic skin processes. Local interactions between skin cells, skin immune components and neuronal tissues occur specially through neuropeptides, a large family of chemically-related neurotransmitters exhibiting a heterogeneous nomenclature. Neuropeptides are ubiquitous in central and peripheral nervous systems, being directly released in skin by cutaneous nerve fibers. This review is focused on the actions of substance P (SP), calcitonin gene-related peptide (CGRP), vasointestinal peptide (VIP), pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP), neuropeptide Y (NPY) and somatostatin (SOM). Neuropeptide-related functions on skin and immune cells are also discussed, as well as recent findings implicating nerve fibers in cutaneous inflammatory responses, hypersensitivity reactions and dermatoses, namely psoriasis, atopic dermatitis, leprosy and alopecia. Key words: alopecia; dermatitis, atopic; nerve growth factors; leprosy; hypersensitivity; neuropeptides; skin; psoriasis.

## INTRODUÇÃO

As vias de interação entre as células imunes e as células da pele constituem base teórica comum na dermatologia moderna. A proposta desta revisão é abordar estudos que mostram que a inervação da pele possui um variado repertório de sinalização local com o tecido cutâneo e as células imunes, revelando funções que excedem seu histórico papel sensorial e complementam o conhecimento atual da fisiologia cutânea e etiopatogenia das doenças dermatológicas. A concepção de que fibras nervosas cutâneas, células imunes e células da pele possuem formas de interação recíprocas compõe o que alguns autores têm denominado sistema neuroimunocutâneo.

## INTRODUCTION

A common basic theory in modern dermatology relates to the interaction between immune cells and the cells of the skin. The purpose of this revision was to bring together those studies that show that cutaneous nerve fibers of the skin possess a varied repertoire of local signaling between cutaneous tissue and immune cells; revealing functions that far exceed the historic sensory role. These findings complement the current knowledge of cutaneous physiology and etiopathology of dermatological diseases. The conception that cutaneous nerve fibers, immune cells and cells of the skin possess forms of reciprocal interaction comprises what some authors have denominated the neuroimmunocutaneous system.

Recebido em 09.09.2001. / Received in September, 09<sup>th</sup> of 2001.

Aprovado pelo Conselho Consultivo e aceito para publicação em 18.03.2003. / Approved by the Consultive Council and accepted for publication in March, 18<sup>th</sup> of 2003.

\* Trabalho realizado na Universidade Federal Fluminense, como monografia final de curso. / Work done at "Universidade Federal Fluminense" as final monograph of course.

<sup>1</sup> Médico formado pela Universidade Federal Fluminense. / M.D. graduated from Universidade Federal Fluminense

## A PELE DENERVADA

As fibras nervosas sensoriais e autonômicas da pele demonstram possuir propriedades modulatórias tróficas e imunes. Estudos mostram que as células da pele dependem continuamente de uma inervação intacta e que a região cutânea que sofreu denervação apresenta alterações morfológicas e adaptativas importantes, que se reverterem com a reinervação. Em período variável de 24 a 48 horas após secção do nervo ciático em animais experimentais, as fibras nervosas da epiderme da pata ipsilateral degeneram e desaparecem. Durante esse período, há uma redução drástica da proliferação de queratinócitos, que culmina na redução da espessura da epiderme em cerca de 30% no prazo médio de sete dias, em comparação ao lado contralateral. Na pele denervada, células de Langerhans passam a expressar um marcador antes específico de células nervosas, a ubiquitina-hidrolase PGP9.5 (*protein gene product 9.5*). Tais alterações mantêm-se até a regeneração das fibras, quando a pele recupera sua espessura original, e a expressão de PGP9.5 em células de Langerhans desaparece.<sup>1,2</sup>

O significado da expressão do marcador PGP9.5 em células de Langerhans permanece incerto. Por sua vez, as alterações na inervação são capazes de afetar de modo semelhante a capacidade de regeneração e cicatrização. A ressecção cirúrgica de nervos cutâneos resulta em atraso no tempo de cicatrização e na contração das feridas.<sup>3,4</sup> Isso é confirmado pelo fato de pacientes com déficits sensoriais devidos a lesão hansênica, lesão de medula espinhal ou neuropatia diabética desenvolverem úlceras que falham em cicatrizar, por vezes, a despeito de esforços radicais de proteção e curativos.<sup>5</sup> A capacidade de responder à agressão externa também diminui, pois modelos experimentais demonstram diminuição significativa das contagens de células T e macrófagos em feridas na pele denervada.<sup>6</sup> A comunicação entre ambos os tecidos, cutâneo e nervoso, também parece possuir mecanismos compensatórios. Resultados em animais mostram que, conquanto a pele não seja completamente denervada, apenas uma pequena fração das fibras C cutâneas, de cerca de 30%, já é suficiente para garantir a cicatrização normal das feridas experimentais.<sup>7</sup>

## A INFLAMAÇÃO NEUROGÊNICA

A expressão inflamação neurogênica<sup>8</sup> descreve, na pele, um fenômeno de vasodilatação arteriolar originado pelas fibras nervosas locais, com aumento do fluxo sanguíneo e conseqüente edema por extravasamento de plasma da vênula pós-capilar. Quando bem localizado, o evento traduz-se na formação de uma pápula com eritema. Essa reação, que na língua inglesa é denominada *wheal and flare* (*wheal* = pápula urticariana; *flare* = eritema característico, que pode acompanhá-la ou não), ocorre pela presença local de neuropeptídeos, que são liberados por duas subpopulações de fibras nervosas cutâneas, assim chamadas peptidérgicas: as fibras do tipo C (aférentes não mielinizados ou nociceptores polimodais C) e, em menor quantidade, as fibras A-delta

## DENERVATED SKIN

*Sensory and autonomous nerve fibers of the skin have been demonstrated to possess trophic and immune modulatory properties. Studies show that the cells of the skin continually depend on the nerve fibers being intact and that a cutaneous area that has suffered denervation presents morphologic alterations and important adaptations that are only reversed with renervation. In a variable period of 24 to 48 hours after section of the sciatic nerve in experimental animals, the nerve fibers of the epidermis of the ipsilateral paw deteriorate and disappear. During this period, there is a drastic reduction in the proliferation of keratinocytes, which culminates in the reduction of the thickness of the epidermis by about 30% within a mean period of seven days, in comparison with the contralateral side. In denervated skin, Langerhans' cells begin to express a marker which hitherto was specific to the nerve cells, this is ubiquitin-hydrolase PGP9.5 (protein gene product 9.5). Such alterations remain until the regeneration of fibers occurs, following which the skin recovers its original thickness, and the expression of PGP9.5 in Langerhans' cells disappears.<sup>1,2</sup>*

*The significance of the expression of the PGP9.5 marker in Langerhans' cells remains uncertain. At the same time it is known that alterations in the nerve fibers in a similar way are capable of affecting the capacity for regeneration and cicatrization. Surgical resection of cutaneous nerves results in a delay in cicatrization and in the contraction of the wounds.<sup>3,4</sup> This is confirmed by the fact that patients with sensory deficits due to leprous lesions, lesion of the spinal medulla or diabetic neuropathy develop ulcers that fail to heal, at times in spite of radical efforts to protect and to cure.<sup>5</sup> The capacity to respond to external aggression also decreases. As experimental models have demonstrated, there is a significant decrease in the T cell count and macrophages in wounds with denervated skin.<sup>6</sup> The communication between cutaneous tissue and nerve fibers also seems to possess compensatory mechanisms. Results in animal experiments have shown that if the skin is not completely denervated, even a small fraction of cutaneous C fibers, about 30%, is enough to guarantee a normal cicatrization in experimental wounds.<sup>7</sup>*

## NEUROGENIC INFLAMMATION

*The expression of neurogenic inflammation<sup>8</sup> presents, in the skin, the phenomenon of arteriolar vasodilatation originating in the local nerve fibers. There is an increase in the blood flow and consequent edema caused by the exudation of plasma from the post-capillary venula. When well established, the event transforms itself into the formation of a papule with erythema. This reaction is commonly referred to in English as "wheal and flare" (wheal = papular urticaria; flare = characteristic erythema, which may or may not accompany it). It occurs as the result of the local presence of neuropeptides, that are liberated by two subgroups of cutaneous nerve fibers known as peptidergic: fibers of type C (nonmyelinated conductors or polymodal nociceptors C) and, to a lesser degree,*

(pequenas fibras mielinizadas). Juntas, elas desempenham as funções autonômicas e de nocicepção na pele. Eis por que a participação da inervação nos processos cutâneos pode ser mais bem compreendida nos eventos inflamatórios agudos, em que dor e/ou prurido são acompanhados de eritema e edema como sinais e sintomas mais evidentes.

De modo geral, qualquer dano tecidual ou estímulo doloroso pode desencadear a inflamação neurogênica. Vários eventos são capazes de ativar nervos sensoriais na pele, incluindo: 1) estímulos diretos, como calor, isquemia, eventos mecânicos, aumento da concentração de íons potássio por lise celular, baixo pH e estimulação elétrica; 2) mediadores inflamatórios liberados no local ou trazidos à pele pela circulação sistêmica, como a histamina, metabólitos do ácido araquidônico, bradicinina e serotonina; 3) alérgenos e; 4) extratos de plantas, como a capsaicina, capazes de ligar-se a receptores específicos nas fibras nervosas e causar a liberação maciça de neuropeptídeos.

De maneira análoga, pode-se inibir o extravasamento de plasma e vasodilatação neurogênicos com diversas abordagens, como: 1) bloqueio da condução nervosa (anestésicos locais), estabilização de mastócitos (com cromoglicato de sódio), bloqueio de receptores da capsaicina (com capsazepina), bloqueio de canais iônicos (com vermelho de rutênio); 2) anti-inflamatórios esteróides; 3) depleção de neurotransmissores (tratamento crônico com capsaicina ou análogos); 4) inibição pré-sináptica (opioides).<sup>9</sup>

Eventos agudos não excluem, entretanto, crescente volume de achados que demonstram a contribuição contínua da inervação da pele em sua homeostasia e manutenção, e, em especial, a participação de elementos de origem neural em afecções cutâneas, como será discutido adiante.

## OS NEUROPEPTÍDEOS

### As taquicinas e a substância P

As taquicinas compõem uma família de peptídeos que possuem uma seqüência C-terminal Fe-X-Gli-Leu-MetNH<sub>2</sub>. Foram assim denominadas por produzir rápida contração de vísceras animais, em oposição à bradicinina, um peptídeo de origem plasmática, que provoca contração intestinal de desenvolvimento lento.<sup>10</sup> Em mamíferos, o gene prepro-taquicina A (PPT-A) codifica, por *splicing* diferencial, os peptídeos substância P (SP), a neurocinina A (NKA) e suas variantes (NP-K e NP-gama). Um gene distinto, prepro-taquicina B (PPT-B) codifica a neurocinina B (NKB).<sup>11</sup> Existem três receptores identificados, NK-1, NK-2 e NK-3, todos acoplados à proteína G, cada um com variada distribuição entre tecidos e tipos celulares. As taquicinas interagem com os três receptores, porém com afinidades, mecanismos de sensibilização e dessensibilização distintos.<sup>12,13</sup> Já existem vários agentes farmacológicos para estudo desses receptores.

A substância P (SP), o principal membro da família das taquicinas e mais importante na pele, é um peptídeo de 11 aminoácidos, que recebeu essa denominação por parte de seus descobridores meramente devido à forma como era

*A-delta fibers (small myelinated fibers). Together they carry out the autonomous functions and nociception in the skin. This explains why the participation of nerve fibers in the cutaneous processes can be more clearly understood during acute inflammatory events, in that the pain and/or itch accompanying erythema and edema are more evident signs and symptoms.*

*In general, any tissue damage or painful stimulus can set loose neurogenic inflammation. There are several events that are capable of activating the sensory nerves of the skin, including: 1) direct stimuli, such as heat, ischemia, mechanical events, increase of the concentration of potassium ions causing cellular lysis, low pH and electrical stimulation; 2) inflammatory mediators released at the locus or brought to the skin by systemic circulation, such as histamine, metabolites of arachidonic acid, bradykinin and serotonin; 3) allergens and; 4) extracts of plants, such as capsaicin, capable of attaching themselves to specific receptors in nerve fibers causing a massive release of neuropeptides.*

*It follows then that the exudation of plasma and neurogenic vasodilatation can be inhibited using various approaches, such as: 1) blocking of nerve conduction (local anesthetics), stabilization of mast cells (with sodium chromoglycate), blocking of receptors of capsaicin (with capsazepine), blocking of ionic channels (with ruthenium red); 2) anti-inflammatory steroids; 3) depletion of neurotransmitters (chronic treatment with capsaicin or similar); 4) pre-synaptic inhibition (opiates).<sup>9</sup>*

*Acute events, however, do not exclude a growing volume of findings demonstrating the continuous contribution of nerve fibers of the skin to its homeostasis and maintenance, and, especially, the participation of elements of neural origin in cutaneous diseases, as will be discussed below.*

## NEUROPEPTIDES

### Tachykinins and substance P

*Tachykinins are members of a peptide family that possess a sequence C-terminal Fe-X-Gli-Leu-MetNH<sub>2</sub>. They were thus classified because they produce a rapid contraction of animal viscera, in contrast to bradykinin, a peptide of plasmatic origin, that induces a slowly developing intestinal contraction.<sup>10</sup> In mammals, the gene preprotachykinin A (PPT-TO) codifies, by differential splicing, the peptides substance P (SP), neurokinin A (NKA) and their variants (NP-K and NP-gama). A different gene, prepro-tachykinin B (PPT-B) codifies neurokinin B (NKB).<sup>11</sup> Three receptors have been identified, NK-1, NK-2 and NK-3, all coupled to protein G, each one with a varied distribution among tissue and cellular types. The tachykinins interact with the three receptors, however with distinct affinities, sensitization and desensitization mechanisms.<sup>12,13</sup> There are already several pharmacological laboratories studying these receptors.*

*Substance P (SP), the principal member of the family of tachykinins and the most important one in the skin, is a peptide of 11 amino acids. It was given the denomination P by its discoverers as it was extracted in the form of powder.<sup>10</sup>*

extraída, em pó (do inglês *powder*).<sup>10</sup> A SP está frequentemente presente num mesmo neurônio com o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP - ver adiante), e a liberação de SP pode provocar a co-liberação de CGRP ou, adicionalmente, mais SP.<sup>14</sup> É um dos mais potentes vasodilatadores conhecidos, sendo 100 vezes superior à histamina em idênticas concentrações molares.<sup>15</sup> Ela é encontrada nas fibras da derme e epiderme, glândulas sudoríparas, em corpúsculos de Meissner, nervos perivasculares e células de Merkel. Pode, ainda, ser sintetizada em células do sistema imune, como monócitos, mastócitos e eosinófilos.<sup>16,17,18</sup> A presença de SP de origem neural na pele parece fortemente controlada pela disponibilidade do fator de crescimento neural (NGF) sintetizado pelas células da pele, especialmente por ceratinócitos.<sup>19,20,21</sup>

Acreditou-se durante muitos anos que a SP fosse um potente liberador da histamina e um mediador clássico da nocicepção. No entanto, estudos recentes na pele humana mostram que os efeitos da SP em concentrações fisiológicas sobre a liberação de histamina são discutíveis, sendo mais importantes suas ações sobre a vasculatura e sobre a resposta imune. Além disso, nessas concentrações, a SP não parece ser capaz de induzir a uma resposta nociceptiva, o que coloca em dúvida sua capacidade de estimulação de nociceptores, salvo em condições patológicas.<sup>22</sup> Por sua vez, a injeção intradérmica de SP induz à formação de uma pápula e de um halo de eritema, ambos dose-dependentes e semelhantes aos achados da prova da histamina realizada em pacientes normais. A SP libera óxido nítrico de células endoteliais,<sup>23</sup> e exerce vasodilatação e extravasamento de plasma, especificamente via ativação de receptores NK-1.<sup>22,24,25</sup> A formação de pápula à injeção intradérmica decorre de efeito direto sobre a vasculatura. A SP é capaz, ainda, de estimular a proliferação de células de musculatura lisa arterial e de fibroblastos,<sup>26,27,28,29</sup> a proliferação de células endoteliais e a neovascularização *in vivo*.<sup>30,31</sup> Seus efeitos positivos sobre a proliferação de ceratinócitos em cultura, entretanto, parecem depender da ação indutiva do peptídeo vasoativo intestinal (VIP).<sup>32</sup>

Mastócitos possuem receptores para tachiquininas. Em concentrações superiores a 10 $\mu$ M, a SP liga-se ao receptor NK-1 na membrana mastocitária,<sup>33</sup> com liberação de histamina,<sup>34</sup> leucotrienos<sup>35</sup> e TNF- $\alpha$ ,<sup>33,36</sup> sem afetar, no entanto, sua produção de IL-3 ou IL-6. A SP é, ainda, um peptídeo notavelmente proinflamatório, podendo influenciar diversas ações do sistema imune: ela ativa células endoteliais para aumentarem a expressão de VCAM-1, ICAM<sup>37,38,39</sup> e de IL-8,<sup>40</sup> e regula para cima a produção de IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-8 em ceratinócitos. A injeção intradérmica de SP induz à infiltração de neutrófilos e eosinófilos via translocação de selectina P e expressão de ELAM-1 nas células endoteliais.<sup>41,42</sup> A SP é quimiotática para células T, aumenta a proliferação e função de células T e B,<sup>43</sup> induz a expressão de IL-1 e IL-6 por células T,<sup>44,45</sup> aumenta a produção de imunoglobulinas<sup>16</sup> e a atividade de células *natural-killer*.<sup>46</sup> Ela ativa macrófagos, aumentando sua produção de IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e PGE2b via receptor NK-1.<sup>16,47</sup> Enquanto a captação neuronal de NGF pro-

*Substance SP is frequently present in the same neuron with the calcitonin gene related peptide (CGRP - see below). The release of SP can provoke the co-release of CGRP or, additionally, more SP.<sup>14</sup> It is one of the most potent vasodilators known, being 100 times stronger than histamine in identical molecular concentrations.<sup>15</sup> It is found in the fibers of the dermis and epidermis, sudoriferous glands, in Meissner corpuscles, perivascular nerves and Merkel cells. Yet it can be synthesized in cells of the immune system, as monocytes, mast cells and eosinophiles.<sup>16,17,18</sup> The presence of SP of neural origin in the skin seems to be strongly controlled by the availability of the neural growth factor (NGF) synthesized by the cells of the skin and especially by keratinocytes.<sup>19,20,21</sup>*

*It was believed for many years that SP was a potent releaser of histamine and a classic case of the mediation of nociception. However, recent studies of the human skin show that the effects of SP in physiologic concentrations on the releasing of histamine are debatable, with its actions on the vasculature and on the immune response being more important. Besides this, in these concentrations, SP does not seem to be capable of inducing a nociceptive response, which questions its capacity for the stimulation of nociceptors, except under pathological conditions.<sup>22</sup> But at the same time, an intracutaneous injection of SP induces the formation of a papule and of an erythematous halo, both of which are dose-dependent and similar to the findings in the testing for histamine accomplished with normal patients. SP releases nitric oxide from endothelial cells,<sup>23</sup> and causes vasodilatation and the exudation of plasma, specifically by the activation of NK-1 receptors.<sup>22,24,25</sup> The formation of a papule after an intracutaneous injection is the result of a direct effect on the vasculature. In addition SP is capable of stimulating the proliferation of cells of the smooth arterial musculature and of the fibroblasts,<sup>26,27,28,29</sup> the proliferation of endothelial cells and neovascularization *in vivo*.<sup>30,31</sup> However, positive effects on the proliferation of keratinocytes in culture seem to depend on the inductive action of the vasoactive intestinal peptide (VIP).<sup>32</sup>*

*Mast cells possess receptors for tachykinins. In concentrations above 10 $\mu$ M, SP links to the receptor NK-1 in the mast cells membrane,<sup>33</sup> releasing histamine,<sup>34</sup> leukotrienes<sup>35</sup> and TNF- $\alpha$ ,<sup>33,36</sup> without affecting, however, its production of IL-3 or IL-6. Even so SP is a notably proinflammatory peptide, able to influence several actions of the immune system: it activates endothelial cells so that they increase the expression of VCAM-1, ICAM<sup>37,38,39</sup> and IL-8,<sup>40</sup> and it up-regulates the production of IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8 in keratinocytes. An intracutaneous injection of SP induces the infiltration of neutrophils and eosinophiles through the translocation of selectin P and the expression of ELAM-1 in endothelial cells.<sup>41,42</sup> SP is chemotactic in T cells, it increases the proliferation and function of T and B cells,<sup>43</sup> induces the expression of IL-1 and IL-6 by T cells,<sup>44,45</sup> increases the production of immunoglobulins<sup>16</sup> and the activity of natural-killer cells.<sup>46</sup> It activates macrophages, increasing their production of IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  and PGE2b through the NK-1 receptor.<sup>16,47</sup> Although the neuronal reception of NGF pro-*

duzido por células da pele é determinante na síntese de SP,<sup>19,21</sup> a via inversa também ocorre, isto é, a inflamação neurogênica ou a presença de SP são capazes de induzir ao aumento da concentração de NGF na pele, demonstrando uma forma de comunicação trófica mútua, cuja importância ainda está sendo investigada.<sup>48</sup>

### **Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP)**

O peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) possui 37 aminoácidos e é codificado pelo mesmo gene que o hormônio calcitonina, daí seu nome: a formação de um ou de outro é tecido-específica, por *splicing* diferencial do RNA.<sup>49</sup> É o neuropeptídeo mais abundante na pele e pode coexistir num mesmo neurônio com taquicinas, neuropeptídeo Y (NPY - ver adiante) ou com somatostatina (SOM - ver adiante).<sup>13,50,51</sup> Está presente em duas subpopulações de fibras C: uma é SP+, e a outra, SOM+.<sup>52</sup> Sua produção, assim como a produção de SP, também é condicionada à disponibilidade de NGF sintetizado na pele.<sup>19,21</sup> Pode ser liberado junto com a SP, mas sua ação é mais lenta, progressiva e de maior duração,<sup>13</sup> induzindo a uma intensa vasodilatação em pequenos e grandes vasos.<sup>12</sup> Sua habilidade para liberar histamina de mastócitos na pele humana é fraca ou mesmo nula.<sup>22,34</sup> Dois receptores específicos já foram propostos, CGRP1R e CGRP2R, ambos acoplados à proteína G.<sup>53a,53b,54</sup> O CGRP é encontrado na inervação da derme, epiderme e glândulas sudoríparas, em corpúsculos de Meissner, nervos perivasculares, e células de Merkel.<sup>16,17,18,52</sup>

A infusão ou injeção intradérmica de CGRP provocam a formação de pápula e eritema, resultantes da vasodilatação arteriolar, que não envolve extravasamento de proteína e que ocorre mediante mecanismos tanto dependentes quanto independentes de óxido nítrico.<sup>22,23,55,56</sup> O CGRP, mesmo em concentrações 1.000 vezes maiores do que aquelas suficientes para provocar vasodilatação, não é capaz de estimular respostas de prurido ou dor na pele humana, e sua função na estimulação de nociceptores cutâneos tem sido questionada. Em contrapartida, seus efeitos tróficos e imunomodulatórios já foram descritos em concentrações bem menores do que aquelas necessárias ao efeito de vasodilatação.<sup>22</sup> O CGRP é conhecido como proinflamatório e vasodilatador, mas, paradoxalmente, pode atuar de forma antiinflamatória sobre a resposta imune celular.

Como proinflamatório, ele potencializa a formação de edema induzida por IL-1 e IL-8, aumenta a expressão e síntese de IL-8 em células endoteliais,<sup>37</sup> é quimiotático para neutrófilos<sup>57</sup> e aumenta a translocação de selectina P e a expressão de ELAM-1.<sup>23</sup> O CGRP estimula, ainda, a proliferação de células endoteliais<sup>23,58</sup> e de melanócitos *in vitro*.<sup>59</sup> Como antiinflamatório, entretanto, o CGRP é capaz de inibir muitas funções das células de Langerhans. Usando-se a linhagem de células de Langerhans XS52, demonstra-se que o CGRP eleva o AMPc e aumenta a síntese e a liberação de IL-10 induzidas por lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) e GM-CSF (resultando em inibição de B7-2). Nessas

*duced by cells of the skin is a determinant in the synthesis of SP,<sup>19,21</sup> the inverse also occurs, that is, the neurogenic inflammation or the presence of SP is capable of inducing an increase in the concentration of NGF in the skin, demonstrating a form of mutually trophic communication. The importance of this is still being investigated.<sup>48</sup>*

### **Calcitonin gene related peptide (CGRP)**

*The calcitonin gene related peptide (CGRP) possesses 37 amino acids. It is codified by the same gene as that of the calcitonin hormone, hence its name. The formation of the gene or the hormone is tissue-specific, and is due to differential splicing of RNA.<sup>49</sup> It is the most abundant neuropeptide in the skin and can coexist in the same neuron with tachykinins, neuropeptide Y (NPY - see below) or with somatostatin (SOM - see below).<sup>13,50,51</sup> It is present in two subgroupings of C fibers: one is SP+, and the other, SOM+.<sup>52</sup> Its production, as in the production of SP, is also conditional on the availability of NGF synthesized in the skin.<sup>19,21</sup> The peptide of calcitonin may be released along with SP, but its action is slower, steadily progressive and of longer duration,<sup>13</sup> inducing an intense vasodilatation both in small and large blood vessels.<sup>12</sup> Its capacity for releasing histamine mast cells in the human skin is weak or even nonexistent.<sup>22,34</sup> Two specific receptors have already been proposed, CGRP1R and CGRP2R, both coupled to the protein G.<sup>53a,53b,54</sup> CGRP is found in the nerve fibers of the dermis, epidermis and sudoriparous glands, in Meissner corpuscles, perivascular nerves, and Merkel cells.<sup>16,17,18,52</sup>*

*An intradermal infusion or injection of CGRP provokes the formation of papules and erythema; these are the results of arteriolar vasodilatation, and do not involve protein exudation. This occurs by mechanisms which are both dependent and independent of nitric oxide.<sup>22,23,55,56</sup> Even in concentrations 1,000 times greater than those sufficient to provoke vasodilatation, CGRP does not stimulate pruritus or pain responses in human skin and its function in the stimulation of cutaneous nociceptors has been questioned. In compensation, its trophic and immunomodulatory effects have been described in much smaller concentrations than those necessary for the vasodilatation effect.<sup>22</sup> CGRP is known to be proinflammatory and a vasodilator, but, paradoxically, it can act in an anti-inflammatory role in cellular immune response.*

*As a proinflammatory, it promotes the development of edema induced by IL-1 and IL-8, and increases the expression and synthesis of IL-8 in endothelial cells.<sup>37</sup> It is chemotactic to neutrophils,<sup>57</sup> and it increases the translocation of selectin P and the expression of ELAM-1.<sup>23</sup> CGRP also stimulates the proliferation of endothelial cells<sup>23,58</sup> and of melanocytes *in vitro*.<sup>59</sup> As an anti-inflammatory, however, CGRP is capable of inhibiting many functions of Langerhans' cells. Using the lineage of XS52 Langerhans' cells, it has been demonstrated that CGRP elevates AMPc and increases the synthesis and release of IL-10 induced by bacterial lipopolysaccharide (LPS) and GM-CSF (resulting in the inhibition of B7-2). In these cells, it continues*

células, ele ainda suprime a indução de IL-12 e IL-1beta por LPS e GM-CSF.<sup>61,62,63,64a,64b</sup> Ele também é capaz de inibir significativamente a indução de hipersensibilidade de contato, agindo localmente;<sup>65-69</sup> porém o mecanismo de ação ainda é pouco compreendido. Já foi também descrito que o CGRP inibe a atividade de células *natural-killer*<sup>70</sup> e a proliferação de células T, e diminui sua produção de IL-2 e a expressão de TNF-alfa, TNF-beta e IFN-gama.<sup>71</sup> O CGRP também é capaz de bloquear as ações promotoras de edema da histamina, leucotrieno B4 e serotonina na pele humana.<sup>72</sup>

### Peptídeo vasoativo intestinal (VIP)

O peptídeo vasoativo intestinal (VIP) contém 28 aminoácidos e é membro da mesma família à qual também pertencem secretina, glucagon, gastrina, polipeptídeo ativador da adenilato-ciclase pituitária (PACAP - ver adiante) e peptídeo inibidor gástrico. O RNAm preproVIP codifica ainda o peptídeo histidina-metionina (PHM), também presente na pele, porém de funções desconhecidas. Junto com o CGRP e PHM, o VIP é um dos mais abundantes peptídeos da pele,<sup>73</sup> coexistindo com a acetilcolina em fibras parasimpáticas pós-ganglionares, e sendo encontrado também no suor.<sup>13</sup> Estudos comprovam que a liberação de VIP e acetilcolina pode ser independente e condicionada à frequência de estimulação da fibra nervosa.<sup>74</sup> Ele está presente em grande quantidade no fluido de bolhas espontâneas da pele inflamada.<sup>14</sup> O VIP é liberado na inervação da derme e epiderme, folículos pilosos, glândulas sudoríparas, células de Merkel e em nervos perivasculares.<sup>16,75</sup> Mastócitos, leucócitos polimorfonucleares e eosinófilos também são fontes de VIP na pele.<sup>16</sup> O VIP e o polipeptídeo ativador da adenilato-ciclase pituitária (PACAP - ver adiante) interagem com vários receptores em comum, tanto na pele quanto em outros sistemas, com afinidade variável.<sup>76</sup>

A aplicação intradérmica de VIP induz à formação de pápula via liberação de histamina mastocitária<sup>77</sup> e vasodilatação por relaxamento da musculatura lisa de vasos sanguíneos.<sup>13,78</sup> Mastócitos respondem ao VIP com rápida liberação de histamina (independente de IgE), porém mínima liberação de PGD2 e leucotrieno C4.<sup>79,80</sup> A pápula eritematosa formada após injeção intradérmica é comparável àquela obtida com SP.<sup>34</sup> Essa injeção de VIP é capaz de inibir reações de hipersensibilidade tardia.<sup>81</sup> O VIP está presente no epitélio de glândulas sudoríparas, sugerindo-se que estimule diretamente células secretórias e a secreção de suor via AMPc.<sup>82,83,84</sup> Ele também é capaz de estimular a migração e proliferação de ceratinócitos.<sup>85,86,87</sup> No sistema imune da pele, o VIP diminui a produção de IFN-gama e a atividade de células NK, e inibe a proliferação de células em linfonodos estimulada por antígenos. Outros estudos mostram que ele é capaz de inibir a produção de IgA e atuar sobre células de Langerhans, aumentando o AMPc e inibindo a função apresentadora de antígeno.<sup>77,88,89</sup>

*to suppress the induction of IL-12 and IL-1 beta by LPS and GM-CSF.<sup>61,62,63,64a,64b</sup> It is also capable of inhibiting significantly the onset of contact hypersensitivity by acting locally,<sup>65-69</sup> however the mechanism by which this is accomplished is still little understood. Furthermore it has already been described that CGRP inhibits the activity of natural-killer cells<sup>70</sup> and the proliferation of T cells, and reduces their production of IL-2 and the expression of TNF-alpha, TNF-beta and IFN-gama.<sup>71</sup> CGRP is also capable of blocking the actions of histamine, leukotriene B4 and serotonin that promote edema in human skin.<sup>72</sup>*

### Vasoactive intestinal peptide (VIP)

*The vasoactive intestinal peptide (VIP) contains 28 amino acids and is a member of the same family to which also belong: secretin, glucagon, gastrin, polypeptide pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP - see below) and gastric inhibiting peptide. The nomenclature RNAm preproVIP also codifies the peptide histidine-methionine (PHM), also present in the skin, however of unknown function. Along with CGRP and PHM, VIP is one of the most abundant peptides of the skin,<sup>73</sup> coexisting with acetylcholine in parasympathetic post-ganglion fibers, and also found in perspiration.<sup>13</sup> Studies show that the release of VIP and acetylcholine may occur independently and conditioned by the frequency of the stimulation of the nervous fiber.<sup>74</sup> It is present in large quantities in the fluid of spontaneous blisters on inflamed skin.<sup>14</sup> VIP is released in the nerve fibers of the dermis and epidermis, hair follicles, sudoriparous glands, Merkel cells and in perivascular nerves.<sup>16,75</sup> Mast cells, polymorphonuclear leukocytes and eosinophiles are also sources of VIP in the skin.<sup>16</sup> VIP and the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP - see below) interact with several receptors in common, in the skin and in other systems, with variable affinity.<sup>76</sup>*

*Intradermal application of VIP induces the formation of papules through the releasing of mast cells histamine<sup>77</sup> and vasodilatation by relaxation of the smooth musculature of blood vessels.<sup>13,78</sup> Mast cells respond to VIP with a rapid histamine release (independent of IgE), but with a low release of PGD2 and leukotriene C4.<sup>79,80</sup> The erythematous papule formed after intracutaneous injection is comparable to that obtained with SP.<sup>34</sup> This injection of VIP is capable of inhibiting late hypersensitivity reactions.<sup>81</sup> VIP is present in the epithelium of sudoriparous glands, suggesting that it stimulates secretory cells and perspiration secretion directly through AMPc.<sup>82,83,84</sup> It is also capable of stimulating the migration and proliferation of keratinocytes.<sup>85,86,87</sup> In the immune system of the skin, VIP reduces the production of IFN-gama and the activity of NK cells, and inhibits the proliferation of cells in lymph nodes stimulated by antigens. Other studies have shown that it is capable of inhibiting the production of IgA and to act on Langerhans' cells, increasing AMPc and inhibiting the presentation function of antigen.<sup>77,88,89</sup>*

### **Polipeptídeo ativador da adenilato-ciclase pituitária (PACAP)**

Peptídeo de 27 a 38 aminoácidos pertencente à mesma família do VIP, originalmente isolado no hipotálamo ovino e caracterizado como potente ativador da adenilato-ciclase de células cultivadas da hipófise anterior, participando na regulação da produção e secreção de hormônios pela glândula pituitária, glândula tireóide, trato gastrointestinal e pâncreas, além de indutor de vasodilatação endotélio-independente.<sup>90,91,92,93</sup> O PACAP é liberado na pele pelas fibras C cutâneas.<sup>13</sup> Como já citado, vários receptores interagem tanto com o PACAP quanto com o VIP, porém o receptor PACAP<sup>1</sup> possui grande afinidade com o primeiro.<sup>76</sup> O PACAP já foi demonstrado na pele humana em fibras na junção dermoepidérmica, em folículos pilosos, vasos e glândulas sudoríparas. Ele coexiste com o VIP (e ocasionalmente com neuropeptídeo Y) em fibras parassimpáticas, ou com SP e CGRP em fibras C. Parece presente em pequena quantidade na pele humana, sendo também encontrado no fluido de bolhas da pele inflamada.<sup>13,94,95</sup> A injeção intradérmica de PACAP gera eritema progressivo semelhante àquele produzido pelo CGRP<sup>13</sup> e provoca a liberação da histamina de mastócitos, tanto em animais de laboratório quanto em humanos, com intensidade semelhante à do VIP.<sup>96</sup> A pele humana mostra-se sítio preferencial de aumento do fluxo sanguíneo na administração sistêmica de PACAP.<sup>93</sup> Seus efeitos nas células do sistema imune são comumente associados àqueles do VIP.

### **Neuropeptídeo Y (NPY)**

Peptídeo de 36 aminoácidos pertencente à mesma família do peptídeo tirosina-tirosinamida e do polipeptídeo pancreático.<sup>13,16</sup> A maioria dos estudos com NPY até o momento concentra-se no sistema nervoso central, no qual o NPY se mostra envolvido quanto ao estímulo à ingestão de alimentos e água, à regulação do humor e ao controle central do sistema nervoso autônomo. Na periferia, o NPY está envolvido na manutenção do tônus vascular, produzindo ação vasoconstritora longa e potente. Possui vários receptores já isolados, especialmente os receptores Y1 e Y2, já descritos com detalhes e ligados à proteína G.<sup>97</sup> O NPY é liberado na inervação da derme e epiderme, folículos pilosos, glândulas sudoríparas e por nervos perivasculares.<sup>16</sup> Ele coexiste com a noradrenalina em fibras simpáticas e com o VIP em uma subpopulação de fibras parassimpáticas; a liberação para o NPY é maior em frequências de estímulo altas e maior para a noradrenalina em frequências de estímulo baixas. Ele é normalmente considerado um potencializador dos efeitos da adrenalina e noradrenalina,<sup>98</sup> modulando a neurotransmissão adrenérgica por mecanismo endotélio-dependente.<sup>99</sup>

A presença de NPY causa vasoconstrição longa e potente de artérias e arteríolas, mas não do sistema venoso.<sup>13,16</sup> Essa vasoconstrição não é antagonizada por alfa-bloqueadores,<sup>100</sup> evidenciando o NPY como provável responsá-

### **Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)**

*This peptide having 27 to 38 amino acids belongs to the same family as VIP. It was originally isolated in the ovine hypothalamus and characterized as a powerful activator of adenylate cyclase in the cultivated cells of the anterior hypophysis. It participates in the regulation of the production and secretion of hormones by the pituitary gland, thyroid gland, gastrointestinal tract and pancreas, besides inducing endothelium-independent vasodilatation.<sup>90,91,92,93</sup> PACAP is liberated in the skin by cutaneous C fibers.<sup>13</sup> As has already been mentioned, various receptors interact as much with PACAP as with VIP, however the PACAP1 receptor possesses a strong affinity with the former.<sup>76</sup> PACAP has been demonstrated in the human skin in fibers of the dermoepidermal interface, in hair follicles, sudoriparous glands and blood vessels. It coexists with VIP (and occasionally with neuropeptide Y) in parasympathetic fibers, or with SP and CGRP in C fibers. It seems to be present only in small amounts in the human skin, but is found also in fluid of the blisters of inflamed skin.<sup>13,94,95</sup> An intradermal injection of PACAP generates a similar progressive erythema to that produced by CGRP.<sup>13</sup> It provokes the releasing of histamine mast cells, both in laboratory animals and in humans, with an intensity similar to that of VIP.<sup>96</sup> In humans the skin is the most likely site for an increase of blood flow upon the systemic administration of PACAP.<sup>93</sup> Its effects on the cells of the immune system are commonly associated to those of VIP.*

### **Neuropeptide Y (NPY)**

*Neuropeptide Y (NPY) is a peptide with 36 amino acids belonging to the same family as the tyrosine-tyrosinamide peptide and the pancreatic polypeptide.<sup>13,16</sup> Most of the studies done on NPY to date have concentrated on the central nervous system, in which NPY has been shown to be involved in the stimulation for ingestion of food and water, in the regulation of the humor and in controlling the center of the autonomic nervous system. In the periphery, NPY is involved in the maintenance of vascular tone, producing a potent, long-term vasoconstricting action. It possesses several receptors already isolated, especially receptors Y1 and Y2 which have already been described in detail and linked to protein G.<sup>97</sup> NPY is released in the nerve fibers of the dermis and epidermis, hair follicles, sudoriparous glands and perivascular nerves.<sup>16</sup> It coexists with noradrenaline in sympathetic fibers and with VIP in a subgrouping of parasympathetic fibers. The release of NPY is greater when stimulated by high frequencies and greater for noradrenaline when stimulated by low frequencies. NPY is usually considered a potentiator for the effects of adrenaline and noradrenaline,<sup>98</sup> modulating the adrenergic neurotransmission by an endothelium-dependent mechanism.<sup>99</sup>*

*The presence of NPY causes long and potent vasoconstriction of arteries and arterioles, but not of the venous system.<sup>13,16</sup> This vasoconstriction is not antagonized by alpha-blockers,<sup>100</sup> providing evidence that NPY is probably*

vel pelo componente vasoconstritor simpático-resistente a alfa-bloqueadores.<sup>101</sup> Estudos mostram que, na pele, quando em injeções equimolares com noradrenalina, o NPY diminui a palidez induzida por noradrenalina, sugerindo que certas ações dessas duas substâncias podem não ser sinérgicas.<sup>13</sup> A injeção de NPY é capaz de liberar histamina de mastócitos,<sup>102</sup> e o NPY pode ainda ser achado no fluido de bolhas espontâneas na pele inflamada.<sup>98</sup>

### Somatostatina (SOM)

Peptídeo de 14 ou 28 aminoácidos originalmente isolado no hipotálamo, assim denominado devido à capacidade de inibir a liberação de hormônio do crescimento. Apenas a forma de 14 aminoácidos parece presente na pele, sendo liberada na inervação da derme, epiderme e glândulas sudoríparas. Além disso, sua presença já foi detectada em monócitos e células de Langerhans, ceratinócitos e células de Merkel.<sup>103-106</sup> Cinco receptores já foram identificados (SSTR-1 a 5), todos eles acoplados à proteína G, e a presença na pele de um tipo específico está em investigação.<sup>107,108</sup> É um potente inibidor da proliferação celular. A injeção de SOM na pele gera uma pápula eritematosa mais discreta do que aquela observada à injeção de SP, podendo haver sinergia entre elas na formação da pápula. É também capaz de liberar histamina de mastócitos via AMPc, sendo achada no fluido de bolhas na pele inflamada.<sup>13,109</sup>

### DEGRADAÇÃO DOS NEUROPEPTÍDEOS

As ações de neuropeptídeos na pele são influenciadas por mecanismos envolvidos em sua remoção do meio extracelular. Apesar de o reaproveitamento de neuropeptídeos poder ocorrer via processos de endocitose, o mais comum é sua degradação por diversas enzimas. Na pele, duas zinco-metaloproteinases têm papel preponderante. Uma delas é a enzima conversora de angiotensina (também chamada ECA, EC 3.4.15.1, dipeptidil carboxipeptidase I ou peptidil dipeptidase A), largamente estudada em seu papel na regulação da pressão arterial sistêmica. A outra enzima é a endopeptidase neutra (NEP ou neprilina, também denominada encefalina-se, EC 3.4.24.11, antígeno de superfície CD10 ou *common acute lymphoblastic antigen* - CALLA), localizada na superfície celular. Ambas já foram detectadas em células endoteliais, fibroblastos e ceratinócitos, e são capazes de degradar taquicinas, encefalinas e bradicinina.

Estudos indicam que, das duas, a NEP parece ser a principal enzima capaz de degradar SP e CGRP na pele humana, e sua inibição aumenta as ações desses neuropeptídeos na pele, resultando em edema, extravasamento de plasma e outros efeitos já citados. A NEP localiza-se precisamente na camada basal da epiderme, endotélio de vasos e anexos (folículos pilosos, glândulas sebáceas e écrinas e bainha perineural de nervos), enquanto a ECA concentra-se mais na superfície luminal de vasos. A NEP tem sua presença estendida a todas as camadas da epiderme em feridas experimentais durante a cicatrização, sugerindo sua partici-

responsável for the sympathetic-resistant vasoconstricting component of the alpha-blockers.<sup>101</sup> Studies show that, in the skin, when equimolecular injections of noradrenaline are applied, NPY reduces the paleness induced by noradrenaline, suggesting that certain actions of these two substances cannot be synergistic.<sup>13</sup> An injection of NPY is capable of releasing histamine mast cells,<sup>102</sup> and NPY can also be found in the fluid of spontaneous blisters in the inflamed skin.<sup>98</sup>

### Somatostatin (SOM)

*Somatostatin (SOM) is a peptide having 14 or 28 amino acids. It was initially isolated in the hypothalamus. It received its name due to the capacity to inhibit the release of the growth hormone. Only the 14 amino acid form seems to be present in the skin, being released in the nerve fibers of the dermis, epidermis and sudoriparous glands. Its presence has also been detected in monocytes and Langerhans' cells, keratinocytes and Merkel cells.<sup>103-106</sup> Five receptors have been identified (SSTR-1 to 5), all of them coupled to the protein G. The presence in the skin of a specific type is still in investigation.<sup>107,108</sup> SOM is a potent inhibitor of cellular proliferation. Its injection into the skin generates a more discreet erythematose papule than that observed with the injection of SP, there being the possibility of synergy between them in the formation of the papule. It must also be capable of releasing histamine from mast cells through AMPc, since it is found in the fluid of blisters in inflamed skin.<sup>13,109</sup>*

### DEGRADATION OF NEUROPEPTIDES

*Actions in the skin by neuropeptides are influenced by mechanisms involved in their removal from the extracellular environment. In spite of the recycling of neuropeptides that can occur by means of the endocytosis processes, the most common is their degradation by several enzymes. In the skin, two zinc-metaloproteinases have a preponderant role. One of them is angiotensin-converting enzyme (also called ACE, EC 3.4.15.1, dipeptidyl carboxypeptidase I or peptidyl dipeptidase A), widely studied in its role in the regulation of systemic blood pressure. The other enzyme is neutral endopeptidase (NEP or neprilisin, also denominated enkephalinase, EC 3.4.24.11, surface antigen CD10 or common acute lymphoblastic antigen - CALLA), located on the cellular surface. Both have been detected in endothelial cells, fibroblasts and keratinocytes. They are capable of degrading tachykinins, enkephalins and bradykinin.*

*Studies have indicated that, of the two, NEP seems to be the principle enzyme capable of degrading SP and CGRP in human skin, and its inhibition increases the actions of these neuropeptides in the skin, resulting in edema, plasma exudation and other effects already mentioned. NEP is located precisely in the basal layer of the epidermis, endothelia of vessels and annexes (hair follicles, sebaceous and eccrine glands and the perineural sheaths of nerves), while ECA is concentrated more on the luminal surface of blood vessels. During the cicatrization of experimental wounds NEP was found to have an extended presence through all of the layers of the epidermis,*



pação no processo e reforçando o papel da inflamação neurogênica na reparação tecidual. Os estudos com NEP sugerem que essas enzimas podem ser úteis no futuro, na abordagem de certas afecções cutâneas em que haja alteração da presença de neuropeptídeos. Além disso, evidencia-se a necessidade de novos estudos das reações cutâneas no uso de medicamentos inibidores da ECA.<sup>12,110-114</sup>

### A CAPSAICINA

A capsaicina (trans-8-metil-N-vanilil-6-nonenamida) é a molécula ativa responsável pela ardência da pimenta vermelha, do gênero *capsicum*. Sua importância no estudo de neuropeptídeos na pele deve-se a sua capacidade de despolarizar fibras C ou A-delta, ligando-se a um receptor denominado vanilóide, que abre canais iônicos gerando um influxo de cálcio na fibra nervosa.<sup>8,115,116</sup> Estudos sugerem haver não só um, mas uma família de receptores vanilóides, porém seus ligantes endógenos ainda não foram isolados. A aplicação tópica ou injeção intradérmica de capsaicina provoca liberação imediata e depleção de taquicinas, CGRP e/ou VIP das fibras nervosas, provocando inicialmente uma sensação de ardência e hiperalgesia, com inflamação e uma pápula eritematosa indistinta daquela obtida por injeção de SP ou histamina. Após aplicações repetidas por período variável, o local apresenta diminuição da sensibilidade e bloqueio a estímulos dolorosos, resultando em dessensibilização e taquifilaxia (reversíveis com a suspensão da droga) ou lesão irreversível da fibra, dependendo das doses e da duração da exposição. Isso é útil em alguns estados dolorosos crônicos, em que o tratamento com capsaicina visa depletar os mediadores da dor. As indicações terapêuticas tópicas incluem o prurido, a neuralgia pós-herpética e a psoríase, mas permanecem limitadas, devido ao forte desconforto associado e à necessidade de aplicações numerosas. Análogos mais potentes do que a capsaicina, como a resiniferatoxina, ainda permanecem em estudo para aplicação terapêutica.<sup>16,116-119</sup>

### LUZ ULTRAVIOLETA E NEUROPEPTÍDEOS

A irradiação ultravioleta da pele provoca tanto inflamação quanto alterações em suas funções imunes. Há dados experimentais sugerindo que neuropeptídeos desempenham um papel na formação de edema e eritema, na modulação da hiperalgesia, e na reparação tecidual pós-irradiação. Os neuropeptídeos SP e CGRP são liberados sob exposição ao UV. O uso do antagonista da SP, espantida do antagonista de receptores NK-1R, CP-96 345 e do antagonista CGRP(8-37) atenua o fluxo sanguíneo, a vasodilatação e o edema formados após irradiação em animais experimentais.<sup>120,121</sup> Animais deficientes em NEP, a enzima que degrada neuropeptídeos, também demonstram resposta exagerada ao UV. Além disso, o CGRP parece ser capaz de induzir queratinócitos a secretar fatores melanogênicos.<sup>122,123,124</sup> Isso reforça um papel desempenhado pela SP e pelo CGRP, ambos neuropeptídeos

*suggesting its participation in the process and reinforcing the role of neurogenic inflammation in tissue repair. Research on NEP suggests that in the future these enzymes may be useful in the approach to certain cutaneous afflictions in that they cause an alteration in the presence of neuropeptides. This is further evidence of the clear need for further studies of cutaneous reactions in the use of medicines inhibiting ECA.*<sup>12,110-114</sup>

### CAPSAICIN

*Capsaicin (trans-8-Methyl-N-vanillyl-6-nonenamide) is the active molecule responsible for the burning sensation produced by red peppers of the genus capsicum. Its importance in the study of neuropeptides in the skin is due its capacity to depolarize C or A-delta fibers, linking itself to a receptor denominated vanilloid, which opens ionic channels generating an influx of calcium into the nerve fiber.*<sup>8,115,116</sup> *Studies suggest that there is not only one, but a family of vanilloid receptors, however their endogenous bindings have not as yet been isolated. Topical application or intracutaneous injection of capsaicin provokes the immediate release and depletion of tachykinins, CGRP and/or VIP from nerve fibers, provoking a burning sensation and hyperalgesia initially, with inflammation and an erythematous papule indistinguishable from that obtained by injection of SP or histamine. After repeated applications during a variable period, the locus presents a decrease of sensitivity and a blocking of painful stimuli, resulting in desensitization and tachyphylaxis (reversible with suspension of the drug) or an irreversible lesion of the fiber, depending on the doses and duration of the exposure. This is useful in some states of chronic pain, in that treatment with capsaicin seeks to deplete the mediators of pain. Indications for topical therapeutic application include pruritus, post-herpetic neuralgia and psoriasis, but they remain limited, due to the associated great discomfort and need for numerous applications. More potent analogues than capsaicin, such as resiniferatoxin, are still being studied for therapeutic application.*<sup>16,116-119</sup>

### ULTRAVIOLET LIGHT (UV) AND NEUROPEPTIDES

*Ultraviolet irradiation of the skin provokes as much inflammation as alterations in its immune functions. There are experimental data suggesting that neuropeptides play a role in the formation of edema and erythema, in the modulation of hyperalgesia, and in post-irradiation tissue repair. Neuropeptides SP and CGRP are released under exposure to UV. In experimental animals the use of the antagonist of SP, as well as the antagonist of receptors NK-1R, CP-96 345 and the antagonist CGRP (8-37) moderate the blood flow, vasodilatation and edema that normally follow irradiation.*<sup>120,121</sup> *Animals deficient in NEP, the enzyme that degrades neuropeptides, also demonstrate an exaggerated response to UV. In addition, CGRP seems to be capable of inducing keratinocytes to secrete melanogenic factors.*<sup>122,123,124</sup> *This reinforces evidence that there is a role played by SP and by CGRP, both neu-*

de origem neural, na resposta à irradiação UV, atuando junto a outros peptídeos produzidos na pele, como o hormônio melanócito-estimulante alfa (alfa-MSH) e demais derivados da proopiomelanocortina.

## NEUROPEPTÍDEOS NAS DERMATOSSES HUMANAS

### Psoríase

A patogênese da psoríase ainda permanece desconhecida, e a inervação da pele tem sido alvo de vários estudos devido a algumas peculiaridades da doença: 1) há uma simetria comum das lesões psoriásicas; 2) foram relatadas remissões de lesões em áreas de denervação traumática com persistência das lesões contralaterais; 3) a doença tem uma exacerbação após episódios de estresse. Nesse quadro, o fator de crescimento neural (NGF) tem ganho especial atenção, devido a suas características como fator de crescimento autócrino de ceratinócitos e sua capacidade de controlar a síntese peptidérgica nas fibras C da pele.<sup>20,21,48,125</sup> Ceratinócitos humanos secretam NGF, que estimula de forma autócrina a proliferação de mais ceratinócitos. O NGF está presente em quantidades aumentadas na pele psoriásica e tem sido implicado como um indutor-chave da doença proliferativa observada na moléstia.<sup>126,127</sup> Além disso, ele afeta diretamente a produção de neuropeptídeos proinflamatórios que são trazidos à pele, especialmente SP e CGRP, que por sua vez podem agravar vários eventos observados na psoríase. De fato, a expressão aumentada de fibras SP-positivas na pele psoriásica é significativa, e aumentos da presença de fibras CGRP- e VIP-positivas parecem ser um achado freqüente, esses neuropeptídeos implicando sua etiopatogenia.<sup>128</sup>

Outros estudos ainda demonstram aumento de PACAP na pele lesada e aumento de SOM de origem imune.<sup>94,106</sup> Neuropeptídeos, em especial a SP, estariam envolvidos na hiperproliferação de ceratinócitos, no crescimento vascular e na atração e modulação de células inflamatórias, principalmente leucócitos polimorfonucleares. De forma contraditória, os achados de maior número de fibras nervosas positivas para um neuropeptídeo em especial não significam aumento total das fibras na derme e epiderme. O que se observa no início da doença, provavelmente por ação do NGF, é uma hiperinervação local, que acompanha a hiperproliferação de ceratinócitos. No entanto, a progressão para lesões maduras, com persistência de condições inflamatórias e alterações graves da arquitetura histológica da pele parece provocar uma degeneração de fibras intralesionais, que resulta em uma diminuição significativa do número total de fibras e uma dissociação da comunicação entre fibras cutâneas e células imunes. Isso demonstra que neuropeptídeos podem ter um papel definido e específico em algumas fases do curso temporal da doença e explicar resultados contraditórios de estudos anteriores quanto ao aumento ou não da inervação na pele psoriásica e da ação de neuropeptídeos.<sup>129,130,131</sup>

*ropeptides of neural origin, in response to UV irradiation, acting in conjunction with other peptides produced in the skin, such as the melanocyte-stimulating hormone alpha (MSH-alpha) and other derivatives of pro-opiomelanocortin.*

## NEUROPEPTIDES IN HUMAN DERMATOSES

### Psoriasis

*The pathogenesis of psoriasis still remains unknown. Enervation of the skin has been the object of several studies due to some peculiarities of the disease: 1) there is a symmetry that is common among psoriatic lesions; 2) remissions have been reported of lesions in areas of traumatic denervation with a persistence of contralateral lesions; 3) the disease may become exacerbated after episodes of stress. In this tableau, the neural growth factor (NGF) attracts particular attention, due to its characteristics as a factor of autocrine growth of the keratinocytes and its capacity to control the peptidergic synthesis in the C fibers of the skin.<sup>20,21,48,125</sup> Human keratinocytes secrete NGF which stimulates the autocrine proliferation of more keratinocytes. NGF is present in increased amounts in psoriatic skin and is implicated as a key inductor of the proliferative disorder observed in the disease.<sup>126,127</sup> Besides this, it affects directly the production of proinflammatory neuropeptides that are brought to the skin, especially SP and CGRP, which in turn can aggravate various events observed in psoriasis. In fact, the increased expression of SP-positive fibers in the psoriatic skin is significant, as are increases of the presence of CGRP- and VIP-positive fibers, which seem to be a frequent finding. These neuropeptides are clearly implicated in the etiopathology of psoriasis.<sup>128</sup>*

*Other studies have also demonstrated an increase of PACAP in the injured skin and an increase of SOM of immune origin.<sup>94,106</sup> Neuropeptides, especially SP, would naturally be involved in the hyperproliferation of keratinocytes, in vascular growth and in the attraction and modulation of inflammatory cells, mainly polymorphonuclear leukocytes. On the other hand, the finding of a larger number of positive nerve fibers for a particular neuropeptide does not necessarily mean an overall increase of fibers in the dermis and epidermis. What is observed at the beginning of the disease, probably due to the action of NGF, is a localized hyper-enervation that accompanies the hyperproliferation of keratinocytes. However, the progression of the disease to mature lesions, with the persistence of inflammatory conditions and serious alterations of the histological architecture of the skin, appears to provoke a degeneration of intralesional fibers. This results in a significant decrease in the total number of fibers and a dissociation of the communication between cutaneous fibers and immune cells. This demonstrates that neuropeptides can have a defined and specific role in some phases of the temporal course of the disease and explains why there were contradictory results in previous studies as to whether or not there is an increase in the nerve fibers in psoriatic skin and regarding the function of the neuropeptides.<sup>129,130,131</sup>*

### Reações de hipersensibilidade

Reações de hipersensibilidade do tipo tardio (HTT) e dermatites de contato (DC) são reações imunes tardias mediadas por células T que ocorrem na pele após uma primeira estimulação com antígeno, seguida de um segundo contato com o hapteno. A reação alérgica depende da função apresentadora de antígeno desempenhada por células de Langerhans, que estão em íntimo contato com fibras sensoriais contendo neuropeptídeos. A SP, até o momento, tem sido apontada como um estimulador de reações de hipersensibilidade devido a sua capacidade de liberação de histamina, recrutamento de leucócitos e formação de edema, o que foi corroborado pelo uso de capsaicina, denervação, uso do antagonista spantida e em animais deficientes em NEP.<sup>12</sup> No entanto, deve-se mencionar que isso é uma generalização e que há resultados de efeitos inibitórios da SP em altas concentrações sobre a resposta de células T em modelos de HTT *in vitro* que podem ser de alguma relevância *in vivo*.<sup>132</sup> O CGRP, por sua vez, tem sido intensamente estudado em sua capacidade de inibir as reações de HTT por suprimir a apresentação de antígeno por células de Langerhans (vide acima, na descrição do peptídeo). Na pele, há fibras imunorreativas para o CGRP em íntimo contato com células de Langerhans.<sup>60,68,133</sup> Foi proposto que o CGRP dificulta a apresentação de antígeno nas reações de HTT e dermatite de contato mediante a regulação para cima de IL-10 e da supressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 e IL-12), e de molécula co-estimulatória CD86, prevenindo a ativação de células T.<sup>61-64</sup> O papel de outros neuropeptídeos de origem neural nas reações de HTT, como o VIP, permanece não esclarecido.

### Dermatite Atópica

O peptídeo vasoativo intestinal (VIP) e a acetilcolina coexistem em fibras simpáticas pós-ganglionares envolvidas no controle da secreção de suor e foram implicados no prurido característico pós-sudorese na pele lesada dos pacientes com dermatite atópica (DA), sendo a ação do VIP dependente de histamina mastocitária. Esses neurotransmissores parecem estimular sinergicamente o prurido ao entrar em contato com fibras nociceptoras sensibilizadas na pele cronicamente inflamada dos pacientes com DA.<sup>134</sup> Além disso, foi observado que a SP está presente em quantidades aumentadas nas fibras da pele lesada na DA e que tem um papel na liberação de IFN-gama e IL-4, exercendo um discreto efeito pró-inflamatório na resposta de células T.<sup>135,136</sup> Outras alterações na pele intralesional na DA incluem um aumento de fibras contendo CGRP e um desaparecimento das fibras SOM+.<sup>137,138</sup>

### Hanseníase

A hanseníase é caracterizada por alterações de sensibilidade na pele lesada e pelo envolvimento inflamatório de nervos periféricos. Nesse quadro, foram encontradas alterações significativas de SP, CGRP, NPY e VIP, bem como na quantidade de fibras cutâneas em pacientes com hanseníase tanto virchowiana quanto tuberculóide ou indeterminada.<sup>139</sup>

### Hypersensitivity reactions

*Delayed-type hypersensitivity reactions (DTH) and contact dermatitis (CD) are delayed immune reactions mediated by T cells that occur in the skin after there is first a stimulation with an antigen, followed by a second contact with the hapten. The allergic reaction depends on the antigen presentation function performed by Langerhans' cells that are in intimate contact with sensorial fibers containing neuropeptides. Until the present time, SP has been blamed as a stimulator of hypersensitivity reactions due to its capacity for releasing histamine, recruitment of leukocytes and generation of edema. This was corroborated by the use of capsaicin, denervation, use of the antagonist spantide and in animals deficient in NEP.<sup>12</sup> However, it should be mentioned that this is a generalization and that there are results now known regarding the inhibitory effects of SP in high concentrations on the response of T cells in models of DTH in vitro. This knowledge should be of some relevance in vivo.<sup>132</sup> CGRP, in turn, has been studied intensely in its capacity to inhibit the reactions of DTH by suppressing the presentation of antigen by Langerhans' cells (see above, in the description of the peptide). In the skin, there are fibers that are immune-reactive to CGRP in intimate contact with Langerhans' cells.<sup>60,68,133</sup> It has been proposed that CGRP hinders the presentation of antigen in the DTH reactions and contact dermatitis by the up-regulation of IL-10 and of the suppression of proinflammatory cytokines (IL-1 and IL-12), and of the co-stimulatory molecule CD86, preventing the activation of T cells.<sup>61-64</sup> The role of other neuropeptides of neural origin in DTH reactions, such as VIP, remains unclear.*

### Atopic dermatitis

*The vasoactive intestinal peptide (VIP) and acetylcholine coexist in sympathetic post-ganglion fibers involved in the control of perspiration secretion. They are implicated in the characteristic post-sudoral itch experienced by patients with skin affected by atopic dermatitis (AD), this being the action of the VIP that is dependent on mast cell histamine. These neurotransmitters seem to synergically stimulate the itch when they come in contact with sensitized nociceptor fibers in the chronically inflamed skin of patients with AD.<sup>134</sup> It has also been observed that SP is present in increased amounts in the fibers of skin traumatized by AD, and that it has a role in the release of IFN-gama and IL-4, exercising a discreet proinflammatory effect on the response of T cells.<sup>135,136</sup> Other intralesional alterations in the skin involved by AD include an increase of fibers containing CGRP and a disappearance of SOM+ fibers.<sup>137,138</sup>*

### Leprosy

*Leprosy is characterized by alterations in the sensitivity of the affected skin and by the inflammatory involvement of peripheral nerves. In this picture, patients with leprosy present significant alterations of SP, CGRP, NPY and VIP. Alterations have been found as well in the amount of cutaneous fibers; both Virchow's and tuberculoid, as well as*

Estudos também foram realizados com SOM e outros neuropeptídeos, sem terem sido encontradas diferenças em relação à pele normal.<sup>140</sup> Os distúrbios funcionais entre células imunes e fibras nervosas na doença ainda permanecem não determinados.

### Alopecia

O folículo piloso humano e dos mamíferos em geral é ricamente innervado por uma população heterogênea de fibras, e um papel para os neuropeptídeos no controle do crescimento do pêlo tem sido buscado por vários autores. Em modelos murinos, o conteúdo de SP e o número de fibras CGRP+ alteram-se de acordo com o ciclo folicular. A SP, quando injetada, pode gerar alopecia discreta. Outros autores verificaram indução do crescimento de pêlo em camundongos C57BL16 pela SP.<sup>32,52,114</sup> Estudos mostram ainda que a SP pode estar envolvida na regeneração do folículo piloso após o arrancamento intencional.<sup>141</sup> Há ainda relatos de baixos níveis de CGRP na alopecia areata e de crescimento de pêlo em região denervada na pele de um paciente com alopecia universal.<sup>142,143</sup> Contudo, um estudo recente em animais experimentais demonstrou não haver a necessidade da presença de inervação intacta para o desenvolvimento normal dos folículos pilosos e indução da fase anagênica, permanecendo inconclusiva a idéia de que os neuropeptídeos sejam essenciais à homeostasia do pêlo nos mamíferos e, em especial, no homem.<sup>144</sup>

### CONCLUSÕES

Mesmo carecendo de trabalhos experimentais definitivos, evidências crescentes sugerem participação ativa da inervação da pele em seus fenômenos homeostáticos e patológicos. Contribuem para essa concepção a onipresença de fibras peptidérgicas na derme e epiderme, e os estudos que demonstram o potencial modulador dos neuropeptídeos sobre processos celulares *in vitro* e *in vivo*. No entanto, em contraste com numerosos dados experimentais, um componente neural na etiopatogenia da maioria das dermatoses humanas permanece não elucidado. Relevante também é o fato de ser limitado o repertório terapêutico atual que leve em conta esse sistema à disposição dos dermatologistas. Contudo, as investigações revelam-se promissoras, introduzindo nova complexidade à compreensão da etiopatogenia e terapêutica das doenças dermatológicas. □

*other fibers of undetermined nature.<sup>139</sup> Studies have also been done on the presence of SOM and other neuropeptides, but without finding differences in relation to normal skin.<sup>140</sup> Functional disturbances between immune cells and nerve fibers in the disease remain unknown.*

### Alopecia

*The human hair follicle and that of mammals in general is richly endowed with a heterogeneous grouping of nerve fibers. Various authors have explored the role of neuropeptides in controlling the growth of hair. In laboratory mice, the content of SP and the number of CGRP+ fibers vary in accordance with the follicular cycle. When injected, SP can generate discreet alopecia. Other authors report having induced hair growth in C57BL16 mice using SP.<sup>32,52,114</sup> Studies have shown that SP can be involved in the regeneration of the hair follicle even after intentional uprooting.<sup>141</sup> There are even reports of low levels of CGRP in alopecia areata and of hair growth in denervated areas in the skin of patients with universal alopecia.<sup>142,143</sup> Nevertheless, recent research in experimental animals has demonstrated that there need not be the presence of intact nerve fibers for normal development of hair follicles and induction of the anagenic phase, thus leaving inconclusive the idea that neuropeptides are essential to the homeostasis of the hair in mammals and, especially, in man.<sup>144</sup>*

### CONCLUSIONS

*Though lacking much definitive experimental work, growing evidence suggests active participation of the nerve fibers of the skin in homeostatic and pathological phenomena. Various studies contribute to the growing awareness that peptidergic fibers are omnipresent in the dermis and epidermis, this being corroborated by research that demonstrates the modulatory potential of neuropeptides on cellular processes in vitro and in vivo. However, in spite of considerable experimental data, the neural component in the etiopathology of most human dermatoses remains unclear. Also relevant is the fact that the current therapeutic armamentarium, which involves this system is limited. However, the ongoing investigations are proving promising, introducing new complexity to the understanding of the etiopathology and therapeutics of dermatological diseases. □*

**REFERÊNCIAS / REFERENCES**

1. Hsieh ST, Choi S, Lin WM, Chang YC, McArthur JC, Griffin JW.: Epidermal denervation and its effects on keratinocytes and Langerhans cells. *J Neurocytol* 1996; 25: 513-24.
2. Hsieh ST, Lin WM.: Modulation of keratinocyte proliferation by skin innervation. *J Invest Dermatol* 1999; 113:579-86.
3. Kjartansson J, Dalsgaard CJ, Jonsson CE.: Decreased survival of experimental critical flaps in rats after sensory denervation with capsaicin. *Plast Reconstr Surg* 1987; 79:218-21.
4. Engin C, Demirkan F, Ayhan S, Atabay K, Baran.: Delayed effect of denervation on wound contraction in rat skin. *Plast Reconstr Surg* 1996; 98:1063-7.
5. Olivari N, Schrudde J, Wahle H.: The surgical treatment of bedsores in paraplegics. *Plast Reconstr Surg* 1972; 50:477-82.
6. Richards AM, Floyd DC, Terenghi G, McGrouther.: Cellular changes in denervated tissue during wound healing in a rat model. *Br J Dermatol* 1999; 140:1093-9.
7. Wallengren J, Chen D, Sundler F.: Neuropeptide-containing C-fibres and wound healing in rat skin. Neither capsaicin nor peripheral neurotomy affect the rate of healing. *Br J Dermatol* 1999; 140:400-8.
8. Jancsó N, Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J.: Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br J Pharmacol Chemother* 1967; 31:138-51.
9. Baluk P.: Neurogenic inflammation in skin and airways. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1997; 2:76-81.
10. Von Euler US, Gaddum JH. An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *J Physiol London* 1931; 72:74-87.
11. Marchand JE, Zaccaro TS, Connelly CS, Kream RM.: Selective in situ hybridization histochemical analyses of alternatively spliced mRNAs encoding beta- and gamma-preprotachykinins in rat central nervous system. *Brain Res* 1993; 17:83-94 (Abstract).
12. Scholzen T, Armstrong C, Burnett N, Luger T, Olerud J, Ansel J.: Neuropeptides in the skin: interactions between the neuroendocrine and the skin immune systems. *Exp Dermatol* 1998; 7:81-96.
13. Wallengren J.: Vasoactive peptides in the skin. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1997; 2:49-55.
14. Wallengren J, Hakanson R.: Effects of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in human skin and their involvement in sensory-mediated responses. *Eur J Pharmacol* 1987; 143:267-73.
15. Foreman JC.: Peptides and neurogenic inflammation. *Br Med Bulletin* 1987; 43(2):386-400.
16. Lotti T, Hautmann G, Panconesi.: Neuropeptides in skin. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33:482-96.
17. Zancanaro C, Merigo F, Crescimano C, Orlandini S, Osculati A.: Immunohistochemical evidence suggests intrinsic regulatory activity of human eccrine sweat glands. *J Anat* 1999; 194:433-44.
18. Johansson O, Fantini F, Hu H.: Neuronal structural proteins, transmitters, transmitter enzymes and neuropeptides in human Meissner corpuscles: a reappraisal using immunohistochemistry. *Arch Dermatol Res* 1999; 291:419-24.
19. Amann R, Sirinathsinghji DSJ, Donnerer J, Liebmann I, Schuligoi R.: Stimulation by nerve growth factor of neuropeptide synthesis in the adult rat in vivo: bilateral response to unilateral intraplantar injections. *Neurosci Lett* 1996; 203:171-4.
20. Donnerer J, Schuligoi R, Stein C.: Increased content and transport of substance P and calcitonin gene-related peptide in sensory nerves innervating inflamed tissue - evidence for a regulatory function of nerve growth factor in vivo. *Neuroscience* 1992; 49:693-8.
21. Donnerer J, Amann R, Schuligoi R, Skofitsch G.: Complete recovery by nerve growth factor of neuropeptide content and function in capsaicin-impaired sensory neurons. *Brain Res* 1996; 741:103-8.
22. Weidner C, Klede M, Rukwied R, Lischetzki G, Neisius U, Skov PS, Petersen LJ, Schmelz M.: Acute effects of substance P and calcitonin gene-related peptide in human skin - a microdialysis study. *J Invest Dermatol* 2000; 115:1015-20.
23. Bull HA, Hothersall J, Chowdhury N, Cohen J, Dowd PM.: Neuropeptides induce release of nitric oxide from human dermal microvascular endothelial cells. *J Invest Dermatol* 1996; 106:655-60.
24. Bowden JJ, Baluk P, Lefevre PM, Vigna SR, McDonald DM.: Substance P (NK1) receptor immunoreactivity on endothelial cells of the rat tracheal mucosa. *Am J Physiol* 1996; 270:L404-14.
25. Cao T, Gerard NP, Brain S.: Use of NK1 knockout mice to analyse substance P-induced edema formation. *Am J Physiol* 1999; 277(2-Pt2):476-81.
26. Hägermark Ö, Hökfelt T, Pernow B.: Flare and itch induced by substance P in human skin. *J Invest Dermatol* 1978; 71:233-5.
27. Nilsson J, von Euler AM, Dalsgaard CJ.: Stimulation of connective tissue cell growth by substance P and substance K. *Nature (Lond.)* 1985; 315:61-3 (Abstract).
28. Katayama I, Nishioka K.: Substance P augments fibrogenic cytokine-induced fibroblast proliferation: possible involvement of neuropeptide in tissue fibrosis. *J Dermatol Sci* 1997; 15:201-6.
29. Crowe R, Parkhouse N, McGrouther D, Burnstock G.: Neuropeptides-containing nerves in painful hypertrophic human scar tissue. *Br J Dermatol* 1994; 130:444-52.
30. Parenti A, Amerini S, Ledda F, Maggi CA, Ziche M.: The tachykinin NK1 receptor mediates the migration-promoting effect of substance P on human skin fibroblasts in culture. *Naunin-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1996; 353:475-81.
31. Wiedermann CJ, Auer B, Sitte B, Reinisch N, Schratzberger P, Kahler CM.: Induction of endothelial cell differentiation into capillary-like structures by substance P. *Eur J Pharmacol* 1996; 298:335-8.
32. Paus R, Heinzlmann T, Robiseck S.: Substance P stimulates murine epidermal keratinocyte proliferation and dermal mast cell degranulation in situ. *Arch Dermatol Res* 1997; 287:500-2 (Abstract).
33. Ansel JC, Brown JR, Payan DG, Brown MA.: Substance P selectively activates TNF-alpha gene expression in murine mast cells. *J Immunol* 1993; 150:4478-85.
34. Huttunen M, Harvima I, Ackermann L, Harvima R, Naukkarinen A, Horschmanheimo M.: Neuropeptide- and capsaicin-induced histamine release in skin monitored with the microdialysis technique. *Acta Derm Venereol* 1996; 76:205-9.
35. Piotrowski W, Foreman JC.: On the actions of substance P, somatostatin and vasoactive intestinal polypeptide on rat peritoneal mast cells and in human skin. *Naunin-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1985; 331:364-8.
36. Columbo M, Horowitz EM, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM.: Substance P activates the release of histamine from human skin mast cells through a pertussis toxin-sensitive and protein kinase C-dependent mechanism. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 81:68-73.
37. Ansel JC, Armstrong CA, Song I, Quinlan KL, Olerud JE, Caughman SW, Bunnet NW.: Interactions of the skin and nervous system. *J Invest Dermatol Proc* 1997; 2:23-6.
38. Quinlan KL, Song IS, Naik SM, Letran EL, Olerud JE, Bunnet NW, Armstrong CA, Caughman SW, Ansel JC.: VCAM-1 expression on human dermal microvascular endothelial cells is directly

- and specifically up-regulated by substance P. *J Immunol* 1999; 162:1656-61.
39. Quinlan KL, Naik SM, Cannon G, Armstrong CA, Bunnet NW, Caughman SW, Ansel JC.: Substance P activates coincident NF-AT- and NF-kappaB-dependent adhesion molecule gene expression in microvascular endothelial cells through intracellular calcium mobilization. *J Immunol* 1999; 163:5656-65.
  40. Bozic CR, Lu B, Hopken UE, Gerard C, Gerard NP.: Neurogenic amplification of immune complex inflammation. *Science* 1996; 273:1722-5.
  41. Smith CH, Barker JN, Morris RW, MacDonald DM, Lee TH.: Neuropeptides induce rapid expression of endothelial cell adhesion molecules and elicit granulocytic infiltration in human skin. *J Immunol* 1993; 151:3274-82 (Abstract).
  42. Viac J, Gueniche A, Douremepuich JD, Reichert U, Claudy A, Schmitt D.: Substance P and keratinocyte activation markers: an in vitro approach. *Arch Dermatol Res* 1996; 288:85-90.
  43. Payan DG, Brewster DR, Missirian-Bastin A, Goetzl EJ.: Substance P recognition by a subset of human T-lymphocytes. *J Clin Invest* 1984; 74:1532-9. (Abstract).
  44. Stanisiz AM, Befus D, Bienenstock J.: Differential effects of vasoactive intestinal polypeptide, substance P and somatostatin on immunoglobulin synthesis and proliferation by lymphocytes from Peyer's patches, mesenteric lymph nodes and spleen. *J Immunol* 1986; 136:152-6.
  45. Ramershawar P, Gascon P, Ganea D.: Immuno-regulatory effects of neuropeptides stimulation of interleukin-2 production by substance P. *J Neuroimmunol* 1992; 37:65-74 (Abstract).
  46. Croitoru K, Ernst PB, Bienenstock J, Padol I, Stanisiz AM.: Selective modulation of the natural killer cell activity of murine intestinal intraepithelial leucocytes by the neuropeptide substance P. *Immunology* 1990; 71:196-201.
  47. Lotz M, Vaughan JH, Carson DA.: Effects of neuropeptides on production of inflammatory cytokines by human monocytes. *Science* 1989; 241:1218-21 (Abstract).
  48. Amann R, Egger T, Schuligoi R.: The tachykinin NK1 receptor antagonist SR140333 prevents the increase of nerve growth factor in rat paw skin induced by substance P or neurogenic inflammation. *Neuroscience* 2000; 100(3):611-5.
  49. Amara SG, Evans RM, Rosenfeld MG.: Calcitonin/calcitonin gene-related peptide transcription unit: tissue-specific expression involves selective use of alternative polyadenylation sites. *Mol Cell Biol* 1984; 4:2151-60.
  50. Wallengren J, Ekman R, Sundler F.: Occurrence and distribution of neuropeptides in human skin. An immunocytochemical study on normal skin and blister fluid from inflamed skin. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1987; 67:185-92. (Abstract).
  51. Gibbins IL, Watchow D, Coventry B.: Two immunohistochemically identified populations of calcitonin gene-related peptide (CGRP)-immunoreactive axons in human skin. *Brain Res* 1987; 414:143-8.
  52. Hordinsky MK, Ericson MA.: Relationship between follicular nerve supply and alopecia. *Dermatol Clinics* 1996; 14(4):651-60.
  - 53a. Aiyar N, Rand K, Elshourbagy NA.: A cDNA encoding the calcitonin gene-related peptide type 1 receptor. *J Biol Chem* 1996; 271:11325-9.
  - 53b. Luebke AE, Dahl GP, Roos BA, Dickerson IM.: Identification of a protein that confers calcitonin gene-related peptide responsiveness to oocytes by using a cystic fibrosis transmembrane conductance regulator assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:2455-60.
  54. Naghashpour M, Rosenblatt MI, Dickerson IM, Dahl GP.: Inhibitory effect of calcitonin gene-related peptide on myometrial contractility is diminished at parturition. *Endocrinology* 1997; 138:4207-14.
  55. Goldsmith PC, Leslie TA, Hayes NA, Level NJ, Dowd PM, Foreman JC.: Inhibitors of nitric oxide in human skin. *J Invest Dermatol* 1996; 106:113-8.
  56. Ralevic V, Khalil Z, Dusting GJ, Helme RD.: Nitric oxide and sensory nerves are involved in the vasodilator response to acetylcholine but not calcitonin gene-related peptide in rat skin microvasculature. *Br J Pharmacol* 1999 (ano?); 106:650-5.
  57. Cappugi P, Gerini G, Verrone C, *et al.*: Esperienze preliminari sull'attività del CGRP con lo skin window test. *G Ital Dermatol Venereol* 1990; 125:135-8 (Abstract).
  58. Haegerstrand A, Dalsgaard CJ, Jonzon B, *et al.*: Calcitonin gene-related peptide stimulates proliferation of human endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:3299-303 (Abstract).
  59. Hara M, Toyoda M, Yaar M *et al.*: Innervation of melanocytes in human skin. *J Exp Med* 1996; 184:1385-95.
  60. Asahina A, Moro O, Hosoi J, Lerner EA, Xu S, Takashima A, Granstein RD.: Specific induction of cAMP in Langerhans cells by calcitonin gene-related peptide: relevance and functional effects. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 92:8323-7.
  61. Torii H, Yan Z, Hosoi J, Granstein R.: Expression of neurotrophic factors and neuropeptide receptors by epidermal Langerhans cells and the Langerhans cell-like line XS52: further support for a functional relationship between Langerhans cells and epidermal nerves. *J Invest Dermatol* 1997; 109:586-91.
  62. Torii H, Hosoi J, Beissert S *et al.*: Regulation of cytokine expression in macrophages and the Langerhans cell-line XS52 by calcitonin gene-related peptide. *J Leucocyte Biol* 1997; 61:216-23.
  63. Torii H, Tamaki K, Granstein RD.: The effect of neuropeptides/hormones on Langerhans cells. *J Dermatol Sci* 1999; 20:21-8.
  - 64b. Fox FE, Kubin M, Cassin M *et al.*: Calcitonin gene-related peptide inhibits proliferation and antigen presentation by human peripheral blood mononuclear cells: effects on B7, interleukin 10, and interleukin 12. *J Invest Dermatol* 1997; 108:43-8.
  64. Torii H, Hosoi J, Asahina A, Granstein RD.: Calcitonin gene-related peptide and Langerhans cell function. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1997; 2:82-6.
  65. Girolomoni G, Tigelaar RE.: Capsaicin-sensitive primary sensory neurons are potent modulators of murine delayed-type hypersensitivity reactions. *J Immunol* 1990; 145:1105-12.
  66. Ek L, Theodorsson E.: Tachykinins and calcitonin gene-related peptide in oxazolone-induced allergic contact dermatitis in mice. *J Invest Dermatol* 1990; 94:761-3.
  67. Clementi G, Amico-Roxas M, Caruso A *et al.*: Effects of CGRP on different models of mouse ear inflammation. *Life Sci* 1994; 54:PL119-24 (Abstract).
  68. Asahina A, Hosoi J, Beissert S, Stratigos A, Granstein RD.: Inhibition of the induction of delayed-type and contact hypersensitivity by calcitonin gene-related peptide. *J Immunol* 1995; 154:3056-61.
  69. Misery L.: Langerhans cells in the neuro-immuno-cutaneous system. *J Neuroimmunol* 1998; 89:83-7.
  70. Umeda Y.: Inhibition of immune responses by calcitonin gene-related peptide. *Ann NY Acad Sci* 1992; 657:552-4.
  71. Wang F, Millet I, Bottomly K, Virgnery A.: Calcitonin gene-related peptide inhibits interleukin-2 production by murine T lymphocytes. *J Biol Chem* 1988; 154:227-35 (Abstract).
  72. Raud J, Lundeberg T, Brodda-Jansen, *et al.*: Potent anti-inflammatory action of calcitonin gene-related peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 180:1429-35.
  73. Misery L.: Skin, Immunity and the nervous system. *Br J Dermatol* 137:843-50, 1997

74. Fahrenkrug, J.: VIP and autonomic neurotransmission. *Pharmacol Ther* 1989; 41:515-34 (Abstract).
75. Hartschuh W, Weihe E, Yanaihara N, Reinecke M.: Immunohistochemical localization of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in Merkel cells of various mammals: evidence for a neuromodulator function of the Merkel cell. *J Invest Dermatol* 1983; 81:361-4 (Abstract).
76. Harmar T, Lutz E.: Multiple receptors for PACAP and VIP. *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15:97-9.
77. Lowman MA, Benyon RC, Church MK. Characterization of neuropeptide-induced histamine release from human dispersed skin mast cells. *Br J Pharmacol* 1988; 95:121-30.
78. Nilsson SPE, Mäepea O.: Comparison of the vasodilatory effects of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and peptide HI (PHI) in the rabbit and the cat. *Acta Physiol Scand* 1987; 129:17-26.
79. Williams TJ.: Vasoactive intestinal polypeptide is more potent than prostaglandin E2 as a vasodilator and oedema potentiator in rabbit skin. *Br J Pharmacol* 1982; 77:505-9.
80. Church MK, Lowman MA, Robinson C, *et al.*: Interaction of neuropeptides with mast cells. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989; 88:70-8.
81. Girolomoni G, Tigelaar RE.: Peptidergic neurons and vasoactive intestinal peptide modulate experimental delayed type hypersensitivity reactions. *Ann NY Acad Sci* 1992; 650:9-12.
82. Eedy DJ, Shaw C, Armstrong EP, Johnston SF, Buchanan KD.: Vasoactive intestinal peptide (VIP) and peptide histidine methionine (PHM) in human eccrine sweat glands: demonstration of innervation, specific binding sites and presence in secretions. *Br J Dermatol* 1990; 123:65-76.
83. Eedy DJ, Shaw C, Johnston SF, Buchanan KD.: The regional distribution of neuropeptides in human skin as assessed by radioimmunoassay and high-performance liquid chromatography. *Clin Exp Dermatol* 1994; 19:463-72.
84. Sato K, Sato F.: Effect of VIP on sweat secretion and cAMP accumulation in isolated simian eccrine glands. *Am J Physiol* 1987; 253:R935-41.
85. Haegerstrand A, Dalsgaard CJ, Jonzon B, *et al.*: Vasoactive intestinal polypeptide stimulates cell proliferation and adenylate cyclase activity of cultured human keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86:5993-6.
86. Pincelli C, Fantini F, Romualdi P, *et al.*: Substance P is diminished and vasoactive intestinal peptide is augmented in psoriatic lesions and these peptides exert disparate effects on the proliferation of cultured human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1992; 98:421-7 (Abstract).
87. Wollina U, Huschenbeck J, Knoll B, Sternberg B, Hippler UC.: Vasoactive intestinal peptide supports induced migration of human keratinocytes and their colonization of an artificial polyurethane matrix. *Regul Pept* 1997; 70:29-36 (Abstract).
88. Taylor AW, Streilen JW, Cousins SW.: Immunoreactive vasoactive intestinal peptide contributes to the immuno-suppressive activity of normal aqueous humor. *J Immunol* 1994; 153:1080-6.
89. Stanis AM, Scicchitano R, Biennenstoch J.: The role of vasoactive intestinal peptide and other neuropeptides in the regulation of immune responses in vitro and in vivo. *Ann NY Acad Sci* 1988; 527:478-85.
90. Narita M, Dun SL, Dun NJ, Tseng LF.: Hyperalgesia induced by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in the mouse spinal cord. *Eur J Pharmacol* 1996; 311:121-6.
91. Warren JB, Cockroft JR, Larkin SW, Kajekar R, Macrae A, Ghatei MA, Bloom SR.: Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide is a potent vasodilator in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20:83-7 (Abstract).
92. May V, Braas KM: Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP). Regulation of sympathetic neuron neuropeptide Y and catecholamine expression. *J Neurochem* 1995; 65:978-87.
93. Dorner GT, Wolzt M, Eichler HG, Schmetterer L.: Effect of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide 1-27 on ocular, cerebral and skin blood flow in humans. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1998; 358:657-62.
94. Steinhoff M, MacGregor GP, Radleff-Schlimme A, Steinhoff A, Jarry H, Schmidt WE.: Identification of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) and PACAP type 1 receptor in human skin: expression of PACAP-38 is increased in patients with psoriasis. *Regul Peptides* 1999; 80:49-55.
95. Odum L, Petersen LJ, Skov PS, Ebskov LB.: Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) is localized in human dermal neurons and causes histamine release from skin mast cells. *Inflamm Res* 1998; 47:488-92.
96. Schmidt-Choudhury A, Furuta GT, Galli SJ, Schmidt WE, Wershil BK.: Mast cells contribute to PACAP-induced dermal oedema in mice. *Regul Peptides* 1999; 82:65-9.
97. Hashim MA, Tadepalli AS.: Cutaneous vasomotor effects of neuropeptide Y. *Neuropeptides* 1995; 29:263-71 (Abstract).
98. Sundler F, Håkanson R, Ekblad E, Uddman R.: Neuropeptide Y in the peripheral adrenergic and enteric nervous systems. *Int Rev Cytol* 1986; 102:243-69.
99. Daly RN, Hieble JP.: Neuropeptide Y modulates adrenergic neurotransmission by an endothelium dependent mechanism. *Eur J Pharmacol* 1987; 138:445-6.
100. Zukowska-Grojec Z, Culman J, Kopin IJ.: Noradrenergic prazosin resistant splanchnic vasoconstriction during immobilization stress in rat: possible role for neuropeptide Y. *Am J Physiol* 1987; 123:765-71 (Abstract).
101. Edvinsson L, Ekblad E, Hakanson R, *et al.*: Neuropeptide Y potentiates the effect of various vasoconstrictor agents on rabbit blood vessels. *Br J Pharmacol* 1983; 5:84-7.
102. Emadi-Khiav B, Mousoli M, Bronner Ch, Landry Y: Human and rat cutaneous mast cells: involvement of a G protein in the response to peptidergic stimuli. *Eur J Pharmacol* 1995; 272:97-102.
103. Brazeau P, Vale W, Burgus R, Ling N, Bucher M, Rivier J, Guillemin R.: Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 1973; 179:77-9.
104. Johansson O, Hilliges M, Wang L.: Somatostatin-like immunoreactivity is found in dendritic guard cells of human sweat ducts. *Peptides* 1993; 14:401-3.
105. Gaudillere A, Misery L, Bernard C, Souchier C, Claudy A, Schmitt D.: Presence of somatostatin in normal human epidermis. *Br J Dermatol* 1997; 137:376-80.
106. Talme T, Schultzberg M, Sundqvist KG, Marcusson JA.: Colocalization of somatostatin- and HLA-DR-like immunoreactivity in dendritic cells of psoriatic skin. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1997; 77:338-42.
107. Hoyer D, Bell GI, Berelowitz M *et al.*: Classification and nomenclature of somatostatin receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16:86-8.
108. Lopez F, Esteve JP, Buscail L *et al.*: Molecular mechanisms of antiproliferative effect of somatostatin: involvement of a tyrosine phosphatase. *Metabolism* 1996; 45:14-6 (Abstract).
109. Montminy M, Brindle P, Arias J, Ferreri K, Armstrong R.: Regulation of somatostatin gene transcription by cyclic adenosine monophosphate. *Metabolism* 1996; 45:4-7 (Abstract).
110. Olerud JE, Usui ML, Seckin D, Chiu DS, Haycox CL, Song IS, Ansel JC, Bunnet NW.: Neutral endopeptidase expression and distri-

- butions in human skin wounds. *J Invest Dermatol* 1999; 112:873-81.
111. Smallridge RC, Gamblin GT, Eil C.: Angiotensin-converting enzyme: characteristics in human skin fibroblasts. *Metabolism* 1986; 35:899-904 (Abstract).
112. Muns G, Vishwanatha JK, Rubinstein I.: Effects of smokeless tobacco on chemically transformed hamster oral keratinocytes: role of angiotensin I-converting enzyme. *Carcinogenesis* 1994; 15:1325-7 (Abstract).
113. Matucci-Cerinic M, Iannone F, Carossino A, Pignone A, Leoncini G, Generini S, Lapadula G, Cagnoni M.: Discrepant expression of neprylisin on fibroblasts in diffuse systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1999; 26:347-51.
114. Paus R, Heinzelmann T, Schultz KD, Furkert J, Fechner K, Czarnetzki BM: Hair growth induction by substance P. *Lab Invest* 1994; 71:134-40 (Abstract).
115. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M *et al.*: The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 1997; 389:816-24.
116. Biro T, Acs G, Acs P, Modarres S, Blumberg PM.: Recent advances in understanding vanilloid receptors: a therapeutic target for treatment of pain and inflammation in skin. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1997; 2:56-60.
117. Norton SA.: Useful plants in dermatology. V. Capsicum and capsaicin. *J Am Acad Dermatol* 1998; 39:626-8.
118. Costa SKP, De Nucci G, Antunes E, Brain SD.: Involvement of vanilloid receptors and purinoceptors in the Phoneytria nigriventer spider venom-induced plasma extravasation in rat skin. *Eur J Pharmacol* 2000; 391:305-15.
119. Reinmann S, Luger T, Metze D.: [Topical capsaicin for the treatment of itch and pain in dermatological patients]. *Hautarzt* 2000; 51:164-72.
120. Benrath J, Eschenfelder C, Zimmerman M, Gillardon F.: Calcitonin gene-related peptide, substance P and nitric oxide are involved in cutaneous inflammation following ultraviolet radiation. *Eur J Pharmacol* 1995; 293:87-96.
121. Benrath J, Zimmerman M, Gillardon F.: Substance P and nitric oxide mediate wound healing of ultraviolet photodamaged rat skin: evidence for an effect of nitric oxide on keratinocyte proliferation. *Neurosci Lett* 1995; 200:17-20 (Abstract).
122. Scholzen TE, Brzoska T, Kalden DH, O'Reilly F, Armstrong CA, Luger TA, Ansel JC.: Effect of ultraviolet light on the release of neuropeptides and neuroendocrine hormones in the skin: mediators of photodermatitis and cutaneous inflammation. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999; 4:55-60.
123. Toyoda M, Luo Y, Makino T, Matsui C, Morohashi M.: Calcitonin gene-related peptide upregulates melanogenesis and enhances melanocyte dendricity via induction of keratinocyte-derived melanotrophic factors. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999; 4:116-25.
124. Misery L.: The neuro-immuno-cutaneous system and ultraviolet radiation. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2000; 16:78-81.
125. Di Marco E, Marchisio PC, Bondanza S, Franzi AT, Cancedda R, De Luca M.: Growth-regulated synthesis and secretion of biologically active nerve growth factor by human keratinocytes. *J Biol Chem* 1991; 266:21718-22.
126. Raychadhuri S, Jiang WY, Farber EM.: Psoriatic keratinocytes express high levels of nerve growth factor. *Acta Derm Venereol* 1998; 78:84-6.
128. Chan J, Smoller BR, Raychaudhuri S, Jiang WY, Farber EM.: *Arch Dermatol Res* 1997; 289:611-16.
129. Pergolizzi S, Vaccaro M, Magauidda L, Mondello MR, Arco A, Bramanti P, Cannavò SP, Guarneri B.: Immunohistochemical study of epidermal nerve fibres in involved and uninvolved psoriatic skin using confocal laser scanning microscopy. *Arch Dermatol Res* 1998; 290:483-9.
130. Krogstad AL, Lönnroth P, Larson G, Wallin BG.: Nerve-induced histamine release is of little importance in psoriatic skin. *Br J Dermatol* 1998; 139:403-9.
131. Artemi P, Seale P, Satchell P, Ware S.: Cutaneous vascular response to calcitonin gene-related peptide in psoriasis and normal subjects. *Australasian J Dermatol* 1997; 38:73-6.
132. Staniek V, Misery L, Peguet-Navarro J *et al.*: Binding and in vitro modulation of human epidermal Langerhans cell functions by substance P. *Arch Dermatol Res* 1997; 289:285-91 (Abstract).
133. Hosoi J, Murphy GF, Egan CL *et al.*: Regulation of Langerhans cell function by nerves containing calcitonin gene-related peptide. *Nature* 1993; 363:159-63 (Abstract).
134. Rukwied R, Heyer G.: Administration of acetylcholine and vasoactive intestinal polypeptide to atopic eczema patients. *Exp Dermatol* 1999; 8:39-45.
135. Wallengren J, Ekman R, Moller H.: Substance P and vasoactive intestinal peptide in bullous and inflammatory disease. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1986; 66:23-8 (Abstract).
137. Tobin D, Nabarro G, De La Faille HB.: Increased number of nerve fibers in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90:613-22.
138. Pincelli C, Fantini F, Massimi P *et al.*: Neuropeptides in skin from patients with atopic dermatitis: an immunohistochemical study. *Br J Dermatol* 1990; 122:745-50.
139. Karanth SS, Springall DR, Lucas S, Levy D, Aschby P, Levene MM *et al.*: Changes in nerves and neuropeptides in skin from 100 leprosy patients investigated by immunocytochemistry. *J Pathol* 1989; 157:15-26.
140. Antunes SLG, Sarno EN, Holmkvist G, Johansson O.: Immunohistochemical screening of neuropeptides in cutaneous macular lesions of leprosy (Correspondence). *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1993; 74:235-6.
141. Hordinsky M, Ericson M, Snow D, Boeck C, Lee WS.: Peribulbar innervation and substance P expression following non-permanent injury to the human scalp hair follicle. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999; 4:316-9.
142. Daly T.: Alopecia areata has low plasma levels of the vasodilator/immunomodulator calcitonin gene-related peptide. *Arch Dermatol* 1998; 134:1164-5.
143. Atkin DH, Levine N, Walter FG.: Single patch of hair at a denervated site in a patient with alopecia universalis. *J Am Acad Dermatol* 1997; 37:796-7.
144. Maurer M, Peters EMJ, Botchkarev VA, Paus R.: Intact hair follicle innervation is not essential for anagen induction and development. *Arch Dermatol Res* 1998; 290:574-8.

---

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA: / MAILING ADDRESS:

**Pedro Kalil-Gaspar**

**Rua Souza Dias, nº 1 - Vital Brasil**

**Niterói RJ 24230-400**

**Tel/Fax: (21) 2610-4337**

**E-mail: pedroivo@emilioribas.sp.gov.br**