

Endotelinler ve Bazı Deri Hastalıklarındaki Rolü

ENDOTHELINS AND THEIR ROLE IN SOME SKIN DISEASES

Pervin VURAL*

*Uz.Dr.. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, İSTANBUL

Özet

Endotelinler endotel hücreleri, nöron, astrositler; hepatositler; keratinositler ve fibroblastlar gibi birçok hücre tarafından sentezlenen peptidlerdir. Kontraksiyon, proliferasyon, ekstraseküler matris proteinlerinin sentezi ve proto-onkogenlerin ekspresyonu gibi hücrel cevaplarının başlatılması ve regülasyonunda bu peptidlerin rolü büyüktür. Bu etkilerini endotelin (ETA) ve endotelin (ET_B) reseptörlerine bağlanarak ya fosfolipaz C aktivasyonu - inositol 1,4,5-trifosfat ve diacylglycerol birikimi - artmış intraseküler kalsiyum yolu, ya da inhibitör G proteinlerini aktive ederek gerçekleştirmektedir.

Son yıllarda papiller dermiş hücre kültürleri ve insan retinal mikrovasküler endotel hücrelerinde ET-1 mRNA sentezlendiği gösterilmiştir. Sistemik skleroz, Behçet hastalığı, sistemik lupus eritematosus, Raynaud fenomeni gibi ve deri bulguları da olan bazı multisistemli hastalıkların etyopatogenezinde yaygın endotel hasarını ve vazospazmı ön planda olduğu gösterilmiştir. Birçok çalışmada bu endotel hasarı ve vazospazmı artmış endotel üretimini ile ilgili olduğu bildirilmiştir. Seboreik keratozda görülen belirgin keratinosit / melanosit proliferasyonu ise, endotelini mitojenik etkileri ile açıklanmıştır. Diğer taraftan endotelin fibroblastlar ve damar duvar kas hücreleri üzerindeki mitojenik etkilerinin sistemik sklerozda görülen artmış fibrosis ve kollajen sentezi ve Behçet hastalığında görülen tipik ileri lezyonları ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Primer Raynaud fenomeni olan hastaların artmış serum ET-1 düzeyleri ve periferik sinir uçlarındaki dejenerasyon bu hastalığa özgün yaygın periferik vazospazmı patogenezinde yer almaktadır.

Anahtar Kelimeler: Endotelinler, Endotelinreseptörleri, Deri hastalıkları

T Klin Dermatoloji 1999, 9:263-268

Geliş Tarihi: 16.11.1998

Yazışma Adresi: Dr.Pervin VURAL
Belediye Cad.
Hakan Apt. No: 4/3
34840, Avcılar, İSTANBUL

T Klin J Dermatol 1999, 9

Summary

Endotelins are peptides synthesised by many cell types such as endothelium cells, neuron, astrocyte, hepatocyte, keratinocyte and fibroblasts. These peptides have a pivotal role in initiation and regulation of cellular responses as contraction, proliferation, synthesis of extracellular matrix proteins and proto-oncogene expression. They realize these actions by binding to the endothelium (ET_A) and endothelium (ET_B) receptors (whether activation of phospholipase C - generation of inositol 1,4,5-triphosphate and diacylglycerol - mobilisation of intracellular calcium or activation of inhibitory G proteins pathways).

In recent years it has been shown that papillary dermis cell cultures and human retinal microvascular endothelial cells synthesise ET-1 mRNA. It has been demonstrated that widespread endothelial damage and vasospasm are important in the etiopathogenesis of some multisystem disorders such as systemic sclerosis, Behçet's disease, systemic lupus erythematosus, and Raynaud's phenomenon, which have also dermatological signs. Many studies have been reported that this endothelial damage and vasospasm are related to the increased endothelin production. The accentuated keratinocyte / melanocyte proliferation, seen in seborrhoeic keratosis, has been clarified by mitogenic actions of endothelin. On the other hand, mitogenic effects of endothelins on fibroblasts and vascular smooth-muscle cells are considered to be related with increased fibrosis and collagen synthesis seen in systemic sclerosis and apical skin lesions in Behçet's disease. Increased plasma ET-1 levels and peripheral nerve fibre degeneration are important in pathogenesis of the widespread peripheral vasospasm seen in this disorder.

Key Words: Endothelins, Endothelin receptors. Skin diseases

T Klin J Dermatol 1999, 9:263-268

İlk olarak 1988'de Yanagisawa ve ark tarafından domuz, aortası endotel hücrelerinden elde edilen ve 21 aminoasit rezidüsü içeren endotelinler, lokal vazokonstriktör ve sistemik presör etkilere sahiptir (1). Bu peptidler hem sistemik hem de peri-

ferik vasküler tonusun regülasyonunda önemlidir. Endotel haricinde endotelinlerin sentezlendiği hücre tipleri arasında nöron, astrosit, hepatosit, böbrek mezangial hücreleri, Sertoli hücreleri, meme epitel hücreleri ve endometrium hücreleri sayılabilir (2). Endotelin reseptörlerinin gerek insan ve gerekse hayvan dokularındaki yaygın dağılımı, bu maddelerin önemli fizyolojik ve farmakolojik etkilerinin var olduğunu aklı getirmektedir. Kontraksiyon, proliferasyon, ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezi ve proto-onkojen ekspresyonu gibi hücrel cevapların başlatılması ve regülasyonunda endotelinlerin rolü büyüktür (3). Bununla birlikte endotelinler nöropeptid özellikleri de göstermektedir. İnsan omuriliği ve dorsal ganglionlarda endotelin-1 mRNA tespit edilmiştir (4). Endotelin-1'in nöro-efektör sinapslarda adrenerjik sinir iletimini (nörotransmisyon) regüle ettiği gösterilmiştir (4).

Endotelinlerin Yapısı, Sentezi ve Metabolizması

Endotelin peptid ailesi birbirine iki disülfid köprüsü ile bağlı (Cys 1 - Cys 15 ve Cys 3 - Cys 11) ve herbiri 4 sistin kalıntısı içeren 21 aminoasitli zincirden meydana gelen 3 farklı endotelinden oluşmaktadır, ET-1, ET-2 ve ET-3 olarak adlandırılan bu peptidler insan, fare ve domuz genomlarında farklı kromozomlarda (5, 6) bulunan 3 farklı gen tarafından kodlanırlar (7). ET-2 ET-1' den 2 farklı aminoasit, ET-3 ise 6 farklı aminoasit ile ayırddılır (Şekil 1). ET-1'in prekürsörü 203 aminoasitten meydana gelen preproET-1'dir. PreproET-1 proteolizis ile önce bigET-1'e (38 aminoasitli), daha sonra da ET-1'e (21 aminoasitli) dönüşmektedir. BigET-1'in yapısında Trp 21 ve Val 22 arasındaki bağın hidrolizi bir nötr metalopeptidaz olan ET-converting enzyme tarafından gerçekleşir (Şekil 2). Diğer endotelin izoformlarının sentezi de aynı yolla gerçekleşir (8, 9). Trombin (1), transforme edici büyüme faktörü p (TGFβ)(10), A 23187 Ca²⁺ iyonoforu (1, 11), angiotensin II (11), endotoksm (12) ve hipoksi gibi birçok kimyasal ve mekanik uyarı Ca²⁺ -bağımlı bir yolla ET-1 sentezini uyarmaktadır. ET-1 sentezini inhibe eden maddeler arasında ise atrial natriüretik peptid (ANP), prostasiklin (PGI₂) ve nitrik oksid (NO) gibi vazodilatörler sayılabilir (2, 3).

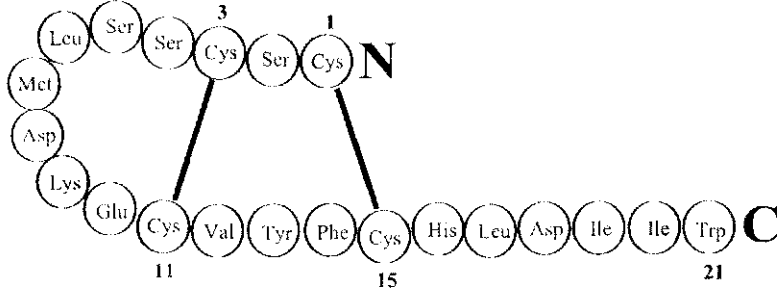
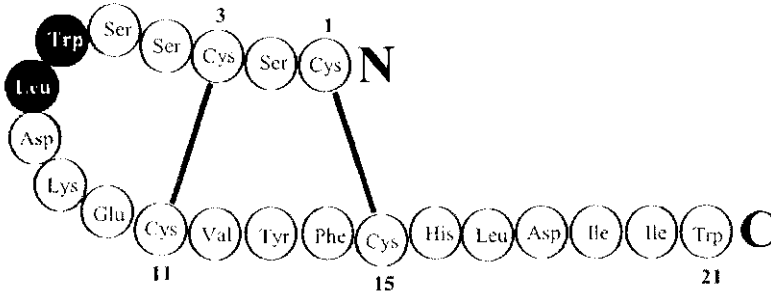
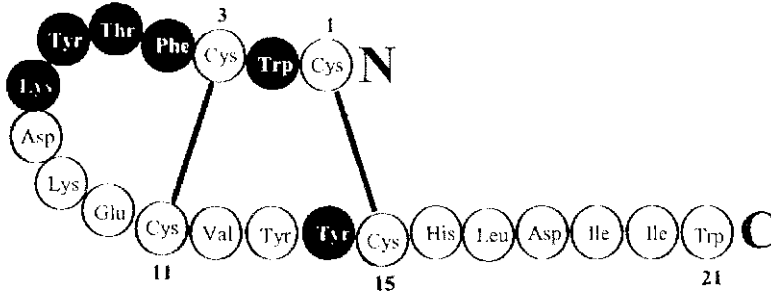
Endotelin peptidlerinin metabolize edildiği başlıca organlar akciğer, böbrek ve karaciğerdir (13, 14). Endotelin metabolizmasında karaciğer ve böbreklerin akciğere kıyasla daha etkin olduğu gösterilmiştir (15). İn vitro olarak vasküler düz kas hücrelerinde endotelinlerin yıkılımm phosphoramidon tarafından inhibe edilen nötral endopeptidaz (enkefalinaz) tarafından gerçekleştirildiği gösterilmiştir (16, 17). Hepatositlerde ise bu enzimin fonksiyonu bir aminopeptidaz tarafından meydana getirilmektedir (16, 17).

Endotelin Reseptörleri ve Hücrel Etki mekanizmaları

Endotelin reseptörleri tüm vücutta yaygın olarak yer alırlar ve endotelin izoformlarına olan afinitelerine göre ETA ve ETB olmak üzere 2 ana gruba ayrılırlar (Şekil 3). ETA reseptörü ET-1'e yüksek afinite gösterir ve afinite sıralaması ET-1 > ET-2 > ET-3'dir. ETB reseptörü ise nonselektiftir.

ETA reseptörleri vasküler düz kas ve kardiyak miyositler tarafından sentezlenirler ve ET-1'in vazokonstriktif etkisinden sorumludur. ET-1'in ETA reseptörüne bağlanması, fosfolipaz C'nin aktivasyonuna ve inositol 1,4,5-trifosfat ve diaçilgliserol oluşumuna neden olur. İnositol 1,4,5-trifosfat ve diaçilgliserol ise intraselüler Ca²⁺ düzeylerinin artması ile birlikte vazokonstriksiyon meydana getirmektedir. ET-1'in reseptörden serbestleşmesinden sonra da vazokonstriksiyon devam etmektedir (18), bu da intraselüler Ca²⁺ konsantrasyonlarının yüksek düzeylerde devam etmesi ile açıklanmaktadır. Nitrik oksid, intraselüler Ca²⁺ düzeylerini azaltarak, vazokonstriksiyon süresini kısaltmaktadır (19). Diaçilgliserol ve kalsiyum, proteinkinaz C'yi aktive ederek, ET-1'in mitojenik etkilerine aracılık etmektedir (20).

ET_B reseptörlerinin ana lokalizasyonu endotel hücreleridir (21) ve hem ET-1'e nemde ET-3'e benzer aktiviteyle bağlanmaktadır. ET_B reseptörlerinin aktivasyonu ET_A reseptörlerinin aktivasyonuna benzemekle birlikte (fosfolipaz C aktivasyonu - inositol 1,4,5-trifosfat ve diaçilgliserol birikimi - intraselüller Ca²⁺ mobilizasyonu), bazı durumlarda ET_B reseptörleri G inhibitör proteinleri ile ilgilidir. G inhibitör proteinleri ise cAMP birikiminin azalmasına ve Na⁺-H⁺ pompasının aktivasyonuna neden olmaktadır (22, 23). ET-3'ün ETB reseptörüne

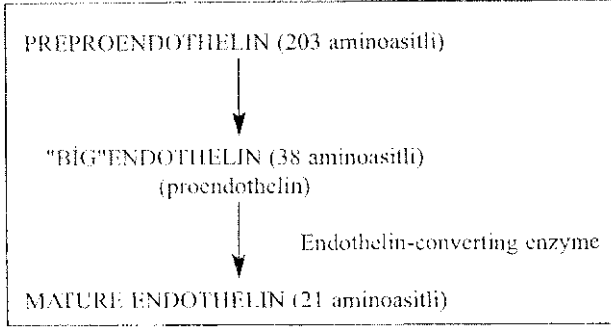
İnsan Endotelin -1**İnsan Endotelin - 2****İnsan Endotelin - 3**

Şekil 1. İnsan Endotelin izoformlarının aminoasit dizilişi. C - terminali her üç izoformda aynıdır. N - terminaldeki farklı aminoasitler siyah renktedir.

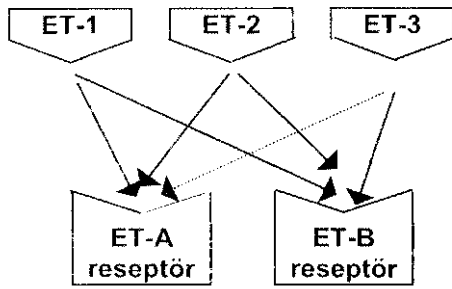
bağlanmasıyla vazodilatasyon gelişmektedir. Vazodilatasyon muhtemelen artmış nitrik oksid ve prostasiklin üretimi (24-26), ve potasyum kanallarının aktivasyonu ile ilgilidir.

ET₃ reseptörlerinin ET-3 tarafından aktivasyonu nöral tüp kökenli hücreleri için çok önemlidir

(27). ET-3 ve ET₃ reseptörleri sentezlenmediği durumlarda epidermal melanositler ve barsak ganglionik nöronlarının gelişmesi mümkün değildir (27). Hirschsprung hastalığının (aganglionik megakolon) ETB reseptör geninde bir mutasyonla ilgili olduğu bulunmuştur (28).



Şekil 2. Endotelinin preproendotelinden sentezi.



Şekil 3. Endotelin reseptörleri ve endotelin izoformlarına olan afiniteleri.

Endotelinlerin Vazokonstriktör Etkileri

Farelerde ET-1'in iv injeksiyonu ile uzun süreli sistemik presör etkiler meydana gelmektedir (1). ET-1 düşük konsantrasyonlarda uygulandığında, vazokonstriktör etkileri nitrik oksid ve prostasiklin gibi vazodilatörler tarafından, ve ayrıca peptidin akciğerlerde metabolize edilmesi ile kompanse edilir (24). Yüksek konsantrasyonlarda ise ET-1'in presör etkileri belirgindir. Vazokonstriktif ve kardiyotropik etkilerinden dolayı ET-1 hem sistemik hem de periferik vasküler tonusun regülasyonunda önemlidir. ET-1'in infüzyonu (sistemik uygulama) normal yetişkinlerde önkolun kan akımını azaltırken, lokal uygulanması dorsal el venlerini kasmaktadır (18). Bununla birlikte, ET-1'in intradennal injeksiyonu deri kan akımını azaltmaktadır (29, 30), bu da ET-1'in mikrosirkülasyonda da etkin role sahip olduğunu göstermektedir. ET-1 uygulanan alanda belirgin bir solukluk, ve bu alanın etrafını çevreleyen geniş bir kızarıklık göz-

lenmiştir. Bu kızarıklığın nörojenik bir reaksiyon olduğu ve primer afferent nöronlar tarafından salgılanan substans P ve kalsitonin geni ile ilgili peptid gibi mediatörlerin aracılığıyla gerçekleştiği düşünülmektedir (30).

ET-1 ve İnsan Derisi

Son yıllarda insan retinal mikrovasküler endotel hücrelerinde (31) ve papiller dermal hücre kültürlerinde (32) ET-1 mRNA sentezlendiği gösterilmiştir. Bu bulgular bu peptidin periferik vasküler tonusun regülasyonundaki önemini bir kez daha vurgulamaktadır. Dermal papillaların kapiller yumakçıkları, ter bezlerinin arasındaki kapillerler gibi küçük kılcak damarlar dahil olmak üzere, derinin tüm kan damarlarının çevresinde immünreaktif ET-1 bulunduğu gösterilmiştir (33). Ayrıca insan keratinosit hücrelerinin de ET-1 mRNA sentezlediği bulunmuştur (34). Teraki ve ark seborcik keratozlu olgularla yaptıkları bir çalışmada ise immünohistokimyasal metod ile keratozlu alanlardaki keratinositlerin normal dokulardakine kıyasla daha çok ET-1 sentezlediğini tespit etmiş ve artmış ET-1 üretiminin artmış IL-1 veya TNF α gibi sitokinlerin stimülasyonu ile ilgili olabileceğini ortaya koymuşlardır (35).

Vasküler tonusun (periferik damarlar dahil olmak üzere) kontrolü haricinde, ET-1 başka önemli fonksiyonlara da sahiptir. ET-1'in 3T3-fibroblastlar (36) ve vasküler düz kasları üzerinde (37) mitojenik etki gösterdiği bulunmuştur. Bir multisistem hastalık olan Behçet hastalığının ana belirtilerinden biri vasküler lezyonlarının patojenezi artmış plazma ET-1 düzeyleri ve ayrıca bu lezyonların ET-1'in damar düz kas üzerindeki mitojenik etkisiyle ilgili olduğu Ural ve ark tarafından gösterilmiştir (38). ET-1 dermal fibroblastlarda kollajen sentezini (39) ve melanositlerde de melanin sentezini (40) artırdığına dair çalışmalar mevcuttur.

Sistemik sklerozda görülen artmış fibrosis de, ET-1'in, dermal fibroblastlar üzerindeki mitojenik etkisi ile ilgili olabileceğini akla getirmektedir (41). Bununla birlikte, ET-1'in insan dermal mikrovasküler endotel hücreleri üzerindeki proliferatif etkisi de göz önüne alınırsa, bu hastalıkta görülen endotel hücrelerindeki değişikliklerin bu peptid ile ilgili olabileceği düşünülebilir. Sistemik sklerozda artmış olduğu bilinen IL-1 ve TGF β 'da

hem büyük damarlar hem de retinal ve dermal mikrovasküler endotel hücreleri tarafından ET-1 salgılanmasını stimüle etmektedir.

Bilindiği gibi Raynaud fenomeni sistemik lupus eritematosus ve sistemik skleroz gibi deri bulguları da olan bazı kollajen doku hastalıklarında görülmektedir (41, 42). Raynaud fenomenindeki belirgin ve uzun süreli vazokonstriksiyonun temelinde hangi etyopatogenetik mekanizma önemli olduğu henüz açıklığa kavuşmamıştır. Birçok etkenin sorumlu olduğunu düşünülüp, endotel tarafından salgılanan gevşetici faktör (nitrik oksid) ve endotel kasıcı faktör (ET) arasındaki dengenin bozulmasına yer verilmektedir (43). Primer Raynaud fenomeni olan hastaların serum ET-1 düzeylerinde bir artış olduğu bildirilmiştir (43). Artmış serum ET-1 konsantrasyonları ile birlikte periferik sinir uçlarının dejenerasyonunun Raynaud fenomeninde görülen vazospazm etyopatogenetik faktörleri arasında sayılabileceği düşünülmektedir (43).

Tüm bu bilgilerin ışığında vasküler lezyonlarının ve deri bulgularının ön planda olduğu bazı multisistem hastalıklarda (Behçet hastalığı, sistemik skleroz, sistemik lupus eritematosus, Raynaud fenomeni gibi) veya aşırı keratinosit / melanosit proliferasyonu olan seboreik keratozda endotelinlerin önemli etyopatogenetik faktör olduğunu söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-5.
2. Levin ER. Endothelins. *New Engl J Med* 1995; 333: 356-62.
3. Gandhi CR, Berkowitz DE, Watkins D. Endothelins: Biochemistry and pathophysiological actions. *Anesthesiology* 1994; 80: 892-905.
4. Giaid A, Gibson SJ, Ibrahim NBN, Legon S, Bloom SR, Yanagisawa M, Masaki T, Vardell IM, Polak JM. Endothelin 1, an endothelium-derived peptide, is expressed in neurons of the human spinal cord and the dorsal root ganglia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 7634-38.
5. Bloch KD, Friedrich SP, Lee ME, Eddy RL, Shows TB, Quertermous T. Structural organization and chromosomal assignment of the gene encoding endothelin. *J Biol Chem* 1989; 264: 10851-57.
6. Bloch KD, Eddy RL, Shows TB, Quertermous T. cDNA cloning and chromosomal assignment of the gene encoding endothelin 3. *J Biol Chem* 1989; 264: 18156-61.
7. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya M, Miyauchi T, Goto K, Masaki T. The human endothelin family: Three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2863-67.
8. Yanagisawa M, Masaki T. Molecular biology and biochemistry of endothelins. *Trends Pharmacol Sci* 1989; 10: 374-8.
9. Simonson MS, Dunn MJ. Cellular signaling by peptides of endothelin gene family. *FASEB J* 1990; 4: 2989-3000.
10. Kurihara H, Yoshizumi M, Sugiyama T, Takaku F, Yanagisawa M, Masaki T, Hamoki M, Kato H, Yazaki Y. Transforming growth factor- β stimulates expression of endothelin mRNA by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989; 159: 1435-40.
11. Emori T, Hirata Y, Ohta K, Snehiri M, Marumo F. Secretory mechanism of immunoreactive endothelin in cultured bovine endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 160: 93-100.
12. Sugiura M, Inagami T, Kon V. Endotoxin stimulates endothelin release in vivo and in vitro as determined by radioimmunoassay. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 161: 1220-27.
13. Shiba R, Yanagisawa M, Miyauchi T, Ishii Y, Kimura S, Uchiyama Y, Masaki T, Goto K. Elimination of intravenously injected endothelin-1 from the circulation of the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 13(suppl 5): 98-101.
14. Anggard E, Galton S, Rae G, Thomas R, McLoughlin L, de Nucci G, Vane JR. The fate of radiolabeled endothelin-1 and endothelin-3 in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 13 (suppl 5): 46-9.
15. Gandhi CR, Harvey SAK, Olson MS. Hepatic effects of endothelin: Metabolism of endothelin by liver-derived cells. *Arch Biochem Biophys* 1993; 305: 38-46.
16. Vijayaraghavan J, Scicli AG, Carretero OA, Slaughter C, Moomaw C, Hersh LB. The hydrolysis of endothelins by neutral endopeptidase 24.11 (enkephalinase). *J Biol Chem* 1990; 265: 14150-55.
17. Fagni C, Michel A, Leonard I, Berkenboorn G, Fontaine J, Deschodt-Langcman M. In vitro degradation of endothelin-1 by endopeptidase 24,11 (enkephalinase). *Peptides* 1991; 12:773-8.
18. Clarke JG, Benjamin N, Larkin SW, Webb DJ, Davies GJ, Maseri A. Endothelin is a potent long lasting vasoconstrictor in men. *Am J Physiol* 1989; 257: H2033-H2035.
19. Goligorsky MS, Tsukahara H, Magazine H, Andersen TI, Malik AB, Bahon WF. Termination of endothelin signaling: role of nitric oxide. *J Cell Physiol* 1994; 158: 485-94.
20. Simonson MS, Herman WH. Protein kinase C and tyrosine kinase activity contribute to mitogenic signaling by endothelin-1: cross-talk between G protein-coupled receptors and pp60c-src. *J Biol Chem* 1993; 268: 0347-57.

21. Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y. Cloning of a cDNA cloning a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 1990; 34S: 732-5.
22. Aramori I, Nakanishi S. Coupling of two endothelin subtypes to differing signal transduction in transfected Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* 1992; 267: 12468-74.
23. Koh E, Morimoto S, Kim S, Nabata T, Miyashita Y, Ogiwara T. Endothelin stimulates Na⁺/K⁺ exchange in vascular smooth muscle cells. *Biochem Int* 1990; 20: 375-80.
24. de Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P, Antunes E, Waldcr C, Warner TD, Vane JR. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9797-9800.
25. Hirata Y, Emori T, Eguchi S. Endothelin receptor subtype B mediates synthesis of nitric oxide by cultured bovine endothelial cells. *J Clin Invest* 1993; 91: 1367-73.
26. I-flep JG, Herman E, Battistini B, Chabrier PE, Braquet P, Sirous P. Antiaggregatory and hypotensive effects of endothelin-1 in beagle dogs: role for prostacyclin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17(suppl 17): 216-8.
27. Baynash AG, Hosoda K, Giaid A. Interaction of endothelin-3 with endothelin-B receptor is essential for development of epidermal melanocytes and enteric neurons. *Cell* 1994; 79: 1277-85.
28. Puffenberger EG, Hosoda K, Washington SS. A missense mutation of the endothelin-B receptor gene in multigenic Hirschsprung's disease. *Cell* 1994; 79: 1257-66.
29. Grossman DC, Brain SD, Fuller RW. Potent vasoactive properties of endothelin in human skin. *J Appl Physiol* 1991; 70: 260-6.
30. Bunker CB, Coulson ML, Hayes NA, Dowd PM, Foreman JC. Further studies on the action of endothelin-12 on blood flow in human skin. *Br J Dermatol* 1992; 127: 85-90.
31. MacCumber MW, Ross CA, Glaser BM, Snyder SH. Endothelin: Visualisation of mRNAs by in situ hybridisation provides evidence for local action. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 7285-89.
32. Bull HA, Bunker CB, Terenghi G, Springhalt DR, Zhao Y, Polak JM, Dowd PM. Endothelin-1 in human skin: Immunolocalisation, receptor binding, mRNA expression and effects on cutaneous microvascular endothelial cells. *J Invest Dermatol* 1991; 97: 618-25.
33. Bull HA, Terenghi G, Bunker CB, Properzi G, Facer P, Polak JM, Dowd PM. Receptor binding by human cutaneous microvascular endothelium. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 999-103.
34. Zamora M, Morelli JG, Norris DA, Yohn JJ. Cultured human keratinocytes synthesize and secrete endothelin-1. *J Invest Dermatol* 1992; 98: 646-56.
35. Teraki E, Tajima S, Manaka L, Kawashima M, Miyagishi M, Imokawa G. Role of endothelin-1 in hyperpigmentation in seborrheic keratosis. *Br J Dermatol* 1996; 135: 918-23.
36. Takuwa N, Takuwa Y, Yanagisawa M, Yamashita K, Masaki T. A novel vasoactive isopeptide endothelin stimulates mitogenesis through inositol lipid turnover in Swiss 3T3 fibroblasts. *J Biol Chem* 1989; 264: 249-52.
37. Weissberg PL, Witchell C, Davenport AP, Hesketh TR, Metcalfe JC. The endothelin peptides ET-1, ET-2 and ET-3 and sarafotoxin S6b are co-mitogenic with platelet-derived growth factor for vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 1990; 85: 257-62.
38. Ural AU, Yalcin A, Beyan C, Tsimmer A, Bayhan H. Plasma endothelin-1 concentrations in patients with Behcet's disease. *Scand J Rheumatol* 1994; 23: 322-5.
39. Bull HA, Brickell PM, Dowd PM. The pro-proliferative effects of vasoactive peptides and protein tyrosine phosphorylation in human dermal microvascular endothelial cells. *J Invest Dermatol* 1992; 98: 616-20.
40. Yada Y, Higuchi K, Imokawa G. Effects of endothelins on signal transduction and proliferation in human melanocytes. *J Biol Chem* 1991; 266: 18352-57.
41. Jilkunen H, Saijonmaa O, Grönhagen-Riska C, Teppo AM, Fyhrquist F. Raised plasma concentrations of endothelin-1 in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1991; 50: 526-7.
42. Kahalch MB. Endothelin, an endothelium-dependent vasoconstrictor in scleroderma. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 978-83.
43. Zamora MR, O'Brien R, Rutherford RB, Weil JV. Serum endothelin-1 concentrations and cold provocation in primary Raynaud's phenomenon. *Lancet* 1990; 336: 1144-47.