

Serotonin and Scleroderma

Jianguo Huang¹, Qiying Gong¹, Chaodi Huang², Guiming Li³

¹Department of Dermatology, The Affiliated Huadu Hospital of Southern Medical University, The People's Hospital of Huadu District, Guangzhou

²Department of Clinical Medicine, Zhuhai Campus of Zunyi Medical College, Zhuhai

³Department of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Chongqing University of Medical Science, Chongqing

Email: huangjianguo11@sina.com, hngjianguo@yahoo.com

Received: Jul. 22nd, 2013; revised: Aug. 13th, 2013; accepted: Sep. 1st, 2013

Copyright © 2013 Jianguo Huang et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: Scleroderma is one of the autoimmune diseases characterized by inflammation, vascular dysfunction and skin sclerosis. As the vasoactive amine substances and inflammatory mediators, serotonin (5-HT) can stimulate the dermal fibroblast proliferation; 5-HT/5-HT_{2B} signal are associated with skin tissue fibrosis through regulating vascular injury and platelet activity. The clinical application of tropisetron (5-HT₃ receptor inhibitor) obtains obvious effects in the treatment of patients with scleroderma. Study on the relationship between 5-HT and scleroderma will inaugurate a new way for the treatment of scleroderma.

Keywords: Serotonin; Scleroderma

5-羟色胺与硬皮病

黄建国¹, 龚启英¹, 黄朝颀², 李桂明³

¹南方医科大学附属花都医院皮肤科, 广州市花都区人民医院, 广州

²遵义医学院珠海校区临床医学, 珠海

³重庆医科大学第一医院皮肤科, 重庆

Email: huangjianguo11@sina.com, hngjianguo@yahoo.com

收稿日期: 2013年7月22日; 修回日期: 2013年8月13日; 录用日期: 2013年9月1日

摘要: 硬皮病是自身免疫性疾病之一, 以血管功能障碍、炎症和皮肤硬化为特征。5-羟色胺(5-HT)作为血管活性胺类物质, 炎症介质能刺激真皮成纤维细胞增殖; 5-HT/5-HT_{2B}信号通过调控血管损伤和血小板活性从而与皮肤组织纤维化有关联。临床上采用5-HT₃受体抑制剂托烷司琼(tropisetron)治疗硬皮病患者取得明显效果。研究5-HT与硬皮病的关系对治疗硬皮病将开辟一条新的途径。

关键词: 5-羟色胺; 硬皮病

1. 引言

硬皮病是危害人民健康的重大疾病之一, 全球每年发病率达百万分之二十, 整体死亡率为23%, 自诊断之日起平均幸存者期为9.1年。该病的主要死因是全身各器官组织纤维化, 导致功能衰竭。但该病的病因及发病机制至今仍不清楚; 早期病变63%仍局限于皮

肤组织纤维化。由此可见, 弄清该病的病因及发病机制, 在皮肤组织纤维化早期用药物干预以控制其发展, 是控制疾病发展的关键。然而至今无高效低毒的药物用于该病的治疗^[1]。

因硬皮病病人均有血管功能障碍、炎症和皮肤硬化, 说明血管系统的改变、免疫系统的异常和成纤维

细胞功能调节障碍及随之发生的胶原合成的增加,这三个途径在发病过程中起着重要的作用。故目前的治疗主要是针对上述各种异常情况的,这些治疗虽不能根治硬皮病,但能缓解或减轻病人的症状^[1]。那么 5-羟色胺(serotonin, 5-Hydroxytryptamine, 简称 5-HT)作为血管活性胺类物质,炎症介质是否在硬皮病发病中伴演重要角色呢?本文试图探讨 5-HT 在皮肤组织纤维化中的作用机制,从 5-HT 通过皮肤血管,纤维化以及 5-HT 类药物治疗硬皮病多方面综述 5-HT 与硬皮病的关系。

2. 5-羟色胺影响皮肤组织纤维化而参与硬皮病的发病

系统性纤维化疾病,例如系统性硬皮病(Systemic scleroderma, SSc),和器官特异性纤维化,例如肾纤维化,特发性肺纤维化,和肝硬化都具有相同的病理生理学机制^[1]。SSc 病死率极高,早期诊断困难,是临床迫切需要解决的关键科技问题^[1]。

组织纤维变性是由于异常活化的成纤维细胞产生细胞外基质的释放增加所致。这种积聚的细胞间基质扰乱了生理性组织结构,导致器官功能障碍、出现高发病率以及增加感染患者的死亡率^[1]。可是,病理生成纤维细胞活性的机制还不清楚。针对成纤维细胞分子活性的选择性治疗途径还不能应用于临床^[1]。

人类皮肤能产生和将其转化成褪黑(激)素(melatonin, MT),形成皮肤 5-羟色胺能系统/褪黑素能系统(cutaneous serotonergic/melatoninergic system, 5-HTs/MTs, 简称 5-羟色胺能系统, 5-HTs),该系统包括 5-HT 及其代谢中的关键酶和重要代谢成分(如: MT)^[2,3]。最近研究发现黑色素细胞(Melanocyte, MC)是人类皮肤 5-HT 的来源。5-HT 可能是由 MC 产生并在原位转化成 N-乙酰 5-HT (NAS)和 MT 或释放入细胞间质中被角质形成细胞吸收代谢成 NAS 和 MT。这种多步骤的通路是开始于色氨酸羟化酶(TPH, 编号 EC (1.14.16.4)催化下的 L-色氨酸的羟化反应。紧接着由 5-羟色氨酸脱羧酶(AAD, 编号 EC 4.1.1.28)催化脱羧形成 5-HT, 尔后由芳香烷基胺-N-乙酰基转化酶(AANTA, EC 2.3.1.87)作用下乙酰化生成 NAS,进一步由羟吲哚氧化甲基转移酶(HIOMT)催化甲基化生成褪黑(激)素(MT)^[4]。人类黑素瘤细胞能合成和代谢 5-HT 及 MT^[4]。黑素细胞是神经嵴来源的细胞,正常或恶性

的,能承担特征性的代谢通路的表达及产生黑素。MT 对黑色素细胞可能有显著的作用,它能抑制黑素产生(在药理剂量下)或黑素瘤增值(在生理浓度下)^[3-5]。我们试想:人类成纤维细胞能否合成和代谢 5-HT 及 MT 呢?目前尚不清楚。

最近研究发现人类皮肤及人工培养的正常皮肤,病理性皮肤均有 5-羟色胺能系统的表达,并且对皮肤细胞的增殖及和凋亡产生作用^[4]。在上述所有受检样本中出现 5-HT、MT 和褪黑素相关受体(melatonin-related receptors, MRR)表达同源 5-羟色胺 2B 受体(the 5-hydroxytryptamine (2B) receptor, 5-HT_{2B}), 5-羟色胺 7 受体(the 5-hydroxytryptamine (7) receptor, 5-HT₇), 和 MT₁ 基因^[1,3,4]。5-HT 对 MC 在不同条件下产生促进/抑制增殖作用;MT 则在无血清培养的 HaCaT 角质形成细胞中抑制细胞凋亡,在有血清培养的 HaCaT 角质形成细胞中抑制细胞增殖;MT 则在无血清培养的成纤维细胞中促进细胞增殖。在同样条件下, N-乙酰 5-羟色胺(N-acetylserotonin, NAS)和 5-甲羟色胺(5-methoxytryptamine, 5-MTT)则未出现促细胞增殖作用^[3,4]。MT 的作用是通过受体依赖和非受体依赖机制介导的,也可以通过它的抗氧化和抗 UV 辐射效应起作用的。反过来,MT 也能起激素,神经递质,细胞因子,生物学修饰和免疫调节作用^[1,3-5]。因此,内生 5-HT 的合成和它转变成 MT 的发现揭示了这种通路在黑素细胞病理生理中具有重要的作用^[1,3-5]。

最近研究证实 5-HT_{2B} 介导 5-HT 抗凋亡效应,其靶体是线粒体,其生长因子之活性则可能是通过以下受体亚型介导: 5-HT_{1A}、5-HT_{1B}、5-HT_{2A}、5-HT_{2B} 和 5-HT_{2C}^[3,5]。

目前研究发现的 5-HT 及 MT 局部合成是对这些活动表达提供了机制上的支持^[4]。这些成分可能通过旁分泌或自分泌机制起作用,反过来也在这种水平上调节皮肤功能。因此,目前研究揭示了一个新的皮肤病理生理学调节和失调作用机制^[3-5]。虽然这种内生 5-HT、MT 和它们的代谢的完整意义尚未确定,但是目前已经通过测定发现了 5-HT 和 MT 受体在皮肤细胞中的表达^[1,3,4]。

5-HT 对细胞增殖显示不同效应^[1,4],它刺激真皮成纤维细胞增殖呈剂量依赖关系,与非皮肤区的成纤维细胞有相似的有丝分裂活性。依据培养的条件,5-HT 既可促进黑素细胞增殖也可明显的抑制它的生

长, 这种作用是通过受体介导的凋亡和增殖调节起作用。在人类黑色素瘤细胞中, 5-HT 抑制黑素生成作用, 呈剂量依赖方式。另一项研究显示 5-HT 吸收抑制剂抑制人类黑色素瘤细胞中黑素生成作用^[1,4,5]。这些结果说明 5-HT 对皮肤组织细胞增殖和凋亡起着调节作用。

3. 5-羟色胺调控皮肤血管而参与硬皮病的发病

在系统性硬皮病中, 血管损伤和血小板活性与其组织重塑有关, 但导致这种联系的分子机制尚不清楚^[6]。在这项研究中发现, 贮藏在血小板中的 5-羟色胺, 通过 5-HT_{2B} 受体(5-HT_{2B})的激活, 在 β -转移生长因子(TGF- β)依赖方式下, 在间质成纤维细胞中强烈地诱导细胞外的基质合成^[7]。在 5-HT_{2B}^{-/-}小鼠中采用诱导纤维化和遗传学模型诱导真皮纤维化^[7]。5-HT_{2B} 的药理性失活也有效地阻止了实验性纤维化的发病和改善了已经发生的纤维变性^[8]。而且, 血小板活性的抑制在不同皮肤纤维变性模型中阻止着纤维化。再则, 缺乏 TPHs1 (tryptophan hydroxylases 1, 色氨酸羟化酶 1, 一种中枢神经系统外 5-HT 生成的限速酶)的小鼠, 显示诱导的实验性皮肤纤维化^[9]。这些发现说明 5-HT/5-HT_{2B} 信号把血管损伤和血小板活性联系到了组织重塑上, 以及把 5-HT_{2B} 当作治疗纤维化疾病的重要治疗靶点^[7-9]。

在间叶细胞的细胞系 MC3T3-E1 中, 特麦角胂片(tergurid, 5-HT₂ 受体的非选择性抑制剂)也许完全抑制 5-HT 诱导的促纤维化($p < 0.01$)^[7,10]。5-HT 增加心脏, 肝脏和胃的重量, 可能是增加促纤维化导致的^[11]。特麦角胂片(tergurid)能抑制这些效应^[7]。这些说明了 5-HT 可能与 SSc 患者血管病变有密切关系^[9-11]。

在 SSc 中, 微血管损伤先于组织纤维变性, 导致毛细血管进行性缺失。血管损伤伴随着内皮下结缔组织的暴露从而导致持续性激活血小板。几种血小板来源的分子的水平, 例如, β -血栓调节素血小板因子 4 (β -thrombomodulin), 和血小板来源的生长因子(Platelet-derived growth factor, PDGF), 在 SSc 患者中水平升高^[7,9]。另外, 还发现血循环中血小板总数增加; SSc 患者中血小板表达活性标记物, 例如针对胶原 1 型(type 1 collagen, COL 1)的 65-kD 受体的表达增加和磷脂酰肌醇-3 激酶的活性也增高^[7,9]。可是, 在 SSc 患者和其它的纤维化疾病中血小板活性的作用至今还不清楚^[7,9]。

5-羟色胺是一种强效介质, 通过血小板活化被释放, 在 SSc 患者血中高于正常人^[7]。局限性硬皮病患者血清 5-HT 水平高于正常人, 治疗后则接近于正常人^[12]。5-HT 合成的限速步骤通过 TPHs (tryptophan hydroxylases, 色氨酸羟化酶)所催化, 后者包括两处同分异构体: TPH1 主要表达于外周, 而 TPH2 的表达则限于神经细胞和中枢神经系统^[4]。基于以下三点: 1) 血小板的活化有赖于微血管的损伤, 2) 在血小板活化期间 5-HT 得以释放, 3) 5-HT 强大的生物学效应; 我们假设 5-HT 信号可能牵涉到纤维化的发病机制^[7,9]。5-HT 的细胞效应是通过 5-HT 受体的七大家族(5-HT₁~5-HT₇)所介导的, 其中一些受体还包括几种不同的亚型^[5]。5-HT₂ 受体的非选择性抑制剂, 例如: 特麦角胂片(tergurid)和赛庚定现已应用于临床。在长期的随访中观察到其副作用发生率较低^[13]。另外, 针对 5-HT₂ 受体亚型的个性化成员的选择性抑制剂已被开发出来, 包括 SB204741, 它抑制 5-HT_{2B} 受体在药理上与浓度相关^[8]。通过采用药学的和遗传学的途径以及不同的纤维化实验模型, 例如, 将 0.01~1 mg 博莱霉素(bleomycin, 争光霉素)皮下注射于 6 周龄 BAI B/c 雌性小鼠背部皮肤, 建立小鼠硬皮病动物模型(紧皮鼠(Tsk-1)模型)^[14-16], 并用免疫组化及分子生物学方法检测, 通过对 5-HT_{2B}、成肌纤维细胞标记物 α -SMA、和血管平滑肌细胞特异性标记物 SM22- α 三项染色, 分析 5-HT_{2B} 受体在成肌纤维细胞中的表达^[7,8]; 通过 MTT assay (Microtiter tetrazolium assay, 四甲基偶氮唑盐比色法, 噻唑蓝试验): 用以测定 5-HT_{2B}, 特麦角胂片 or SB204741 对成纤维细胞增殖-毒性试验, 绘制细胞生长曲线; 定量测定成纤维细胞的凋亡和坏死^[7,8]; 采用特麦角胂片治疗小鼠纤维化, 取得良好疗效^[17,18]。最近研究发现: 5-HT 刺激 SSc 患者和健康人真皮成纤维细胞中细胞外基质的产生; 5-HT 的促纤维效应是 5-HT_{2B} 介导的; 5-HT_{2B} 在 SSc 患者皮肤中存在超表达; 5-HT_{2B} 受体通过激活 TGF- β /Smad 信号通路促进皮肤纤维化, 当前许多研究显示 TGF- β /Smad 信号通路与硬皮病关系密切^[6,8]; 5-HT_{2B} 受体的靶点存在高效抗纤维化效应; 血小板活性的抑制改善博莱霉素(bleomycin, 争光霉素)诱导的皮肤纤维化和紧皮鼠(Tsk-1)表型; 通过敲出 TPH1 出现血小板中 5-HT 的缺乏从而阻止实验性真皮纤维化。总结发现 5-HT/5-HT_{2B} 信号在皮肤纤维化中起着关键性作

用^[7,8,17,18]。临床上采用选择性小分子量抑制剂, 针对 5-HT_{2B} 信号治疗纤维化也许是很有前途的策略^[7,17]。但是, 5-HT 包括其余数种受体激动剂, 抑制剂是否治疗 SSc 患者也有效果呢? 国内外目前尚无报道。目前已发现 5-HT 受体至少有七大家族(5-HT1-7), 每个受体还有很多亚型, 亚亚型, 它们的功能都不尽相同, 例如, 5-HT₄ 激动剂有 Cisapride、抑制剂有 GR113808、5-HT₆ 抑制剂有 GSK-742457; 还有一种试剂能同时抑制几种 5-HT 受体, 如, 5-HT_{3/4} 抑制剂 Tropicsetron, 5-HT_{1/2/5/7} 抑制剂有 Metergoline、methysergide 等等, 说明 5-HT 类药物还有许多未被开发出来, 已开发出来的仅是少数, 而在临床使用的就更少了。所以研究这一课题具有十分重要的现实意义。

4. 5-HT 类药物治疗硬皮病将开辟一条新的途径

临床上采用 5-HT₃ 受体抑制剂托烷司琼(tropicsetron) (5 mg, P.O, bid)治疗 SSc 患者取得症状明显改善^[6]。一些数据表明选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂 (Selective Serotonin Reuptake Inhibitor(s), 缩写为 SSRI 或 SSRIs, 也称为选择性血清再吸收抑制剂)氟西汀 fluoxetine 治疗 SSc 患者也有效果^[10]。SSRI 是一类抗抑郁药物的总称, 是治疗抑郁症、焦虑症、强迫症及神经性厌食症的常用药物, 基本药理是通过抑制神经突触细胞对神经递质血清素的再吸收以增加细胞外可以和突触后受体结合的 5-HT 水平; 而对其它受体, 如 α -肾上腺素能、 β -肾上腺素能、多巴胺能等, SSRIs 则几乎没有结合力。作为第一种由人工设计出来的精神药物, SSRIs 在很多国家里都是使用最为广泛的抗抑郁处方药物。被誉为“抗抑郁药的五朵金花”的五种常用抗抑郁药: 氟西汀(Fluoxetine, 百优解)、帕罗西汀(Paroxetine, 赛乐特)、舍曲林(Sertraline, 左洛复)、氟伏沙明(Fluvoxamine, 兰释, 是目前已知 SSRI 中作用最高的一种)、西酞普兰(Citalopram, 喜普妙), 都属于选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂^[19]。其余四种是否治疗 SSc 患者也有效果呢? 国内外目前尚无报道。

细胞信号传导是一个复杂而精确的过程, 胞外一种生长因子或细胞因子信号作用于细胞膜相应受体后, 可能会经胞内多条信号转导途径相互协调共同来完成信号转导任务^[20,21]。目前对 SSc 的发病机理尚不完全清楚, 临床治疗效果不理想^[21,22]。已发现 5-HT

受体至少有七大家族(5-HT1-7), 每个受体还有很多亚型, 亚亚型, 它们的功能都不尽相同, 而 5-HTs 又包括许多成分, 每种成分的功能也不完全相同^[3,5]。这说明 5-HTs 是一个庞大的网络系统, 它具有极其复杂及强大的病理生理作用^[7,21]。5-HTs 细胞信号传导对 SSc 的作用也知之甚少, 仅仅是刚刚开始。可以设想 5-HTs 对皮肤组织纤维化的作用是一个全方位的, 多角度的巨大的关系网。怎样弄清 5-HTs 的各种成分, 受体以及其激动剂或抑制剂对皮肤组织纤维化的作用, 取得治疗 SSc 的显著疗效成为临床十分迫切需要解决的课题。

综上所述, 研究 5-HT 与 SSc 的关系并探讨皮肤组织纤维化的发病机理有望成为治疗 SSc 的一个突破口, 可为开发新的 5-HT 类药物及临床诊断治疗提供科学依据, 具有重要的理论和实际意义^[7,8,20-22]。

参考文献 (References)

- [1] Y. Asano. Future treatments in systemic sclerosis. *The Journal of Dermatology*, 2010, 37(1): 54-70.
- [2] A. Slominski, A. Pisarchik, B. Zbytek, D. J. Tobin, S. Kauser and J. Wortsman. Functional activity of serotonergic and melatonergic systems expressed in the skin. *Journal of Cellular Physiology*, 2003, 196(1): 144-153.
- [3] S. Andrzej, W. Jacobo and J. T. Desmond. The cutaneous serotonergic/melatonergic system: Securing a place under the sun. *The FASEB Journal*, 2005, 19: 176-194.
- [4] M. Maes, K. Ringel, M. Kubera, M. Berk and J. Rybakowski. Increased autoimmune activity against 5-HT: A key component of depression that is associated with inflammation and activation of cell-mediated immunity, and with severity and staging of depression. *Journal of Affective Disorders*, 2012, 136(3): 386-392.
- [5] S. Fidalgo, D. K. Ivanov and S. H. Wood. Serotonin: From top to bottom. *Biogerontology*, 2013, 14(1): 21-45.
- [6] T. Stratz and W. Müller. Treatment of systemic sclerosis with the 5-HT₃ receptor antagonist tropisetron. *Scandinavian Journal of Rheumatology—Supplement*, 2004, 119: 59-62.
- [7] C. Clara Dees, A. Akhmetshina, P. Zerr, N. Reich, K. Palumbo, A. Horn, A. Jünger, C. Beyer, G. Krönke, J. Zwerina, R. Reiter, N. Alenina, L. Maroteaux, S. Gay, G. Schett, O. Distler and J. H. Distler. Platelet-derived serotonin links vascular disease and tissue fibrosis. *The Journal of Experimental Medicine*, 2011, 208(5): 961-972.
- [8] B. Svejda, M. Kidd, F. Giovinazzo, K. Eltawil, B. I. Gustafsson, R. Pfragner and I. M. Modlin. The 5-HT(2B) receptor plays a key regulatory role in both neuroendocrine tumor cell proliferation and the modulation of the fibroblast component of the neoplastic microenvironment. *Cancer*, 2010, 116(12): 2902-2912.
- [9] L. Dupuis, O. Spreux-Varoquaux, G. Bensimon, P. Jullien, L. Lacomblez, F. Salachas, G. Bruneteau, P. F. Pradat, J. P. Loeffler and V. Meininger. Platelet serotonin level predicts survival in amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13346.
- [10] J. Sicińska, L. Rudnicka. Current treatment of systemic sclerosis. Part II. Vascular and antifibrotic treatment. *Polski Merkuriusz Lekarski*, 2008, 25(146): 196-200.
- [11] J. Wipff, P. Bonnet, B. Ruiz, P. Dieude, J. Avouac, K. Tiev, E. Hachulla, J. L. Cracowski, E. Diot, J. Sibilia, L. Mouthon, O.

- Meyer, A. Kahan, C. Boileau and Y. Allano. Association study of serotonin transporter gene (SLC6A4) in systemic sclerosis in European Caucasian populations. *The Journal of Rheumatology*, 2010, 37(6): 1164-1167.
- [12] 苏有明, 徐阳, 杨蓉娅, 宋克敏 王文岭. 限局性硬皮病患者血清 5-羟色胺测定[J]. *中国现代实用医学杂志*, 2006, 1(7): 65-66.
- [13] L. Beretta, M. Cossu, M. Marchini, F. Cappiello, A. Artoni, G. Motta and R. Scorza. A polymorphism in the human serotonin 5-HT_{2A} receptor gene may protect against systemic sclerosis by reducing platelet aggregation. *Arthritis Research & Therapy*, 2008, 10(5): R103.
- [14] I. Kajihara, M. Jinnin, T. Makino, S. Masuguchi, K. Sakai, S. Fukushima, K. Maruo, Y. Inoue and H. Ihn. Overexpression of hepatocyte growth factor receptor in scleroderma dermal fibroblasts is caused by autocrine transforming growth factor β signaling. *BioScienceTrends*, 2012, 6(3): 136-142.
- [15] É. Szekanecz, S. Szamosi, Á. Horváth, Á. Németh, B. Juhász, J. Szántó, G. Szücs and Z. Szekanecz. Malignancies associated with systemic sclerosis. *Autoimmunity Reviews*, 2012, 11(12): 852-855.
- [16] M. Bonifazi, I. Tramacere, G. Pomponio, B. Gabrielli, E. V. Avvedimento, C. La Vecchia, E. Negri and A. Gabrielli. Systemic sclerosis (scleroderma) and cancer risk: Systematic review and meta-analysis of observational studies. *Rheumatology (Oxford)*, 2013, 52(1): 143-154.
- [17] Ø. Hauso, B. I. Gustafsson, J. P. Loennechen, A. K. Stunes, I. Nordrum and H. L. Waldum. Long-term serotonin effects in the rat are prevented by terguride. *Regulatory Peptides*, 2007, 143(1-3): 39-46.
- [18] S. Hennessy, F. M. Wigley. Current drug therapy for scleroderma and secondary Raynaud's phenomenon: Evidence-based review. *Current Opinion in Rheumatology*, 2007, 19(6): 611-618.
- [19] 陈新谦. 新编药理学(16 版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 286-299.
- [20] K. Nordlind, E. C. Azmitia and A. Slominski. The skin as a mirror of the soul: Exploring the possible roles of serotonin. *Experimental Dermatology*, 2008, 17(4): 301-311.
- [21] A. Leask. Emerging targets for the treatment of scleroderma. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 2012, 17(2): 173-179.
- [22] H. Kirsten, J. Burkhardt, H. Hantmann, N. Hunzelmann, P. Vaith, P. Ahnert and I. Melchers. 5HT_{2A} polymorphism His452Tyr in a German Caucasian systemic sclerosis population. *Arthritis Research & Therapy*, 2009, 11(2): 403.