



La funzione di barriera della cute e i suoi difetti nella dermatite atopica

Federica De Marchi¹
Laura Colavita²
Pasquale Comberiatì¹
Diego Peroni³

¹ Clinica Pediatrica, Università di Verona; ² Clinica Pediatrica, Università di Messina; ³ Clinica Pediatrica, Università di Ferrara

Parole chiave
dermatite atopica,
barriera cutanea, xerosi

Abstract

La Dermatite Atopica (DA) è una malattia infiammatoria pruriginosa della cute a carattere cronico-recidivante, in cui la xerosi rappresenta uno degli elementi distintivi. Ed è proprio dallo studio della xerosi cutanea (tramite corneometria, che valuta il contenuto d'acqua dello strato corneo, e Tewametry, che quantifica la perdita transepidermica di acqua) che l'attenzione degli studiosi si è rivolta sempre più verso alterazioni della barriera cutanea come momento eziopatogenetico importante della DA e che possono essere sia secondarie alla flogosi cronica locale che di natura genetica. Tali alterazioni cutanee del contenuto e della perdita di acqua sono state infatti riscontrate non solo in corrispondenza delle lesioni attive ma anche nella restante cute integra del soggetto affetto da DA. Ciò è a supporto dell'ipotesi che un primitivo difetto di barriera, generalizzato all'intera superficie cutanea, possa costituire un fattore determinante nella genesi della DA. Questa è dunque da inquadrare come il prodotto di una complessa interazione tra alterazioni immunologiche e difetto di funzione della barriera cutanea, che solo comprendendo a fondo consentirà lo sviluppo di strategie terapeutiche sempre più efficaci.

La dermatite atopica (DA) è la malattia infiammatoria cutanea più frequente dell'età pediatrica. Essa si caratterizza per una condizione di xerosi cutanea diffusa, cui si sovrappongono con andamento cronico recidivante riacutizzazioni in forma di lesioni eczematose estremamente pruriginose.

Data l'assoluta rilevanza della patologia, che influenza pesantemente la qualità di vita dei pazienti e dei loro familiari, non stupisce la quantità e l'entità degli sforzi compiuti negli ultimi decenni per comprenderne i meccanismi fisiopatologici. Negli anni '90 Elias e Taïeb sono stati tra i primi a suggerire l'importanza del deficit di barriera cutanea quale *primum movens* della condizione^{1,2}, in un panorama scientifico che tendeva invece a ricondurre la genesi della DA ad alterazioni di tipo immunologico, delle quali la situazione cutanea veniva considerata una semplice conseguenza³. Ancora oggi non si è esaurito il confronto tra la loro *outside-inside hypothesis* e la storica *inside-outside hypothesis* di spiegazione patogenetica della malattia, e non è chiaro quale delle due teorie meglio si presti a descrivere la realtà dei fatti. Molto probabilmente la verità deriva da un intreccio di entrambi i meccanismi⁴, e l'eziologia della DA è dunque da intendersi il prodotto di una complessa interazione tra alterazione delle risposte immunologiche e difetto di funzione della barriera cutanea.

Nell'ottica di una migliore comprensione sia della fisiopatologia della DA, sia delle strategie terapeutiche più adatte a fronteggiare le sue cause scatenanti, particolare interesse suscita quindi lo studio della cute atopica e dell'alterazione dei suoi componenti.

Corrispondenza

Diego Peroni
Clinica Pediatrica, Ospedale
Sant'Anna, Università di Ferrara
via A. Moro 8, 44122 Cona (FE)
E-mail: perodiego@gmail.com

La barriera cutanea

La cute, costituendo il rivestimento più esterno del corpo umano, svolge l'essenziale funzione di formare una barriera tra l'interno dell'organismo e l'ambiente. Quest'attività è resa possibile da una varietà di meccanismi protettivi di tipo sia fisico, sia chimico, sia immunologico ⁵.

Strutturalmente la barriera offerta dalla cute risiede in gran parte nel suo strato corneo,⁶ anche se la parte nucleata dell'epidermide dà comunque un contributo importante alla sua generazione (come testimoniato dalla gravità dei disturbi che originano dalla sua compromissione, quali pemfigo volgare, necrolisi tossica epidermica o ustioni di grado severo) ⁵.

Lo strato corneo è lo strato più esterno dell'epidermide, di cui rappresenta i $\frac{3}{4}$ dello spessore complessivo; esso regola il *transepidermal water loss* (TEWL), blocca la penetrazione di diverse sostanze potenzialmente nocive, ed offre protezione nei confronti di lesioni e abrasioni. L'immagine di un muro di mattoni si presta bene a rappresentare la sua struttura: i mattoni simboleggiano i corneociti, l'armatura i corneodesmosomi, e la malta i lipidi lamellari ⁷.

I corneociti sono le cellule derivanti dalla differenziazione terminale dei cheratinociti epidermici. Il loro processo di maturazione passa attraverso una serie di modificazioni, che includono la progressiva perdita degli organelli intracellulari a favore di un accumulo di filamenti allineati di cheratina nel citoplasma, e la sostituzione della membrana plasmatica con il cosiddetto *cornified envelope*, uno strato proteico spesso ed insolubile composto da proteine strutturali (loricrina, involucrina, filaggrina) e piccole *proline-rich proteins* ⁸. Tutto questo contribuisce a dare alle cellule la caratteristica forma rigida e appiattita.

Lo strato corneo consiste in 20-30 filiere di corneociti, nelle quali ogni cellula risulta unita alle limitrofe dai corneodesmosomi, strutture specializzate costituite da corneodesmosina e glicoproteine transmembrana della famiglia delle caderine (desmogleina, desmocollina), che sul versante extracellulare si interfacciano con le analoghe proteine delle cellule adiacenti, e sul versante citoplasmatico prendono contatto con il citoscheletro di cheratina attraverso placche proteiche costituite da placoglobina, desmoplachina e placofillina ⁹. Gli spazi residui tra un corneocita e l'altro sono infine infarciti di una matrice lipidica idrofobica costituita da lamelle di ceramidi, *free fatty acids* (FFAs), colesterolo e esteri

del colesterolo, prodotti dai cheratinociti in maturazione ¹⁰.

Lo strato corneo è un organo dinamico: man mano che la maturazione dei cheratinociti procede dallo strato basale verso lo strato granuloso dell'epidermide, i corneociti vengono sospinti in superficie e vanno incontro ad eliminazione, per lasciare posto alle cellule più giovani immediatamente sottostanti. Il processo di desquamazione è il risultato di un fine equilibrio tra proliferazione delle cellule basali e perdita dei corneociti superficiali (tale per cui l'epidermide mantenga uno spessore costante), e tra distacco dei corneociti superficiali e mantenimento dell'integrità di barriera (tale da permettere il ricambio cellulare lasciando la cute sufficientemente intatta da impedire l'ingresso nell'organismo di sostanze estranee) ¹¹.

La precisa regolazione di questo complesso meccanismo avviene grazie ad un esteso *network* di proteasi e inibitori di proteasi prodotti dai cheratinociti e riversati nello spazio extracellulare. Le proteasi svolgono l'importante funzione di distruggere i corneodesmosomi, consentendo ai corneociti di desquamare ¹². Le più importanti sono le serin proteasi, tra cui l'enzima chimotriptico dello strato corneo (SCCE/KLK7) ¹³, l'enzima triptico dello strato corneo (SCTE/KLK5) ¹³ e la peptidasi correlata alla callicreina 14 (KLK14) ¹⁴, prodotte in forma di pro-enzimi attivati dalla rimozione dei rispettivi pro-peptidi iniziata da KLK5, capace di auto-attivazione, e con attività ottimale a pH alcalino. Altre proteasi coinvolte includono le cistein proteasi catepsina L2 e catepsina L-simile, e l'aspartato proteasi catepsina D, tutte con attività ottimale a pH acido. L'azione di questi enzimi è mantenuta su livelli adeguati grazie al fine controllo operato da specifici inibitori: ad esempio numerosi inibitori delle serin proteasi di cui il più importante è il *lymphoepithelial Kazal-type 5 inhibitor* (LEKTI) ¹⁵, e gli inibitori delle cistein proteasi cistatina A e cistatina M/E ¹⁶. Accanto a questi enzimi si ricorda poi la presenza di diverse lipasi, quali la β -glucocerebrosidasi, la sfingomielinasi acida, la fosfolipasi A₂ e la steroide solfatasi, che vengono rilasciate dai corneociti per provvedere alla creazione dei componenti elementari della matrice lamellare lipidica ¹⁷.

Gli strati epidermici più profondi contribuiscono infine alla protezione dagli agenti esterni e dall'eccessiva perdita transepidermica di acqua grazie alle *tight junctions* e a tutti gli altri tipi di giunzioni che

uniscono i cheratinociti tra loro, e alle proteine citoscheletriche, che conferiscono solidità alla struttura cellulare ⁵.

Oltre alla protezione più strettamente meccanica di cui si è sinora discusso, la cute attua anche meccanismi di difesa di altro tipo.

Il suo pH acido figura senza dubbio tra questi, svolgendo un importante effetto antimicrobico e partecipando alla regolazione dell'attività delle proteasi e dei loro inibitori. Esso è mantenuto sul suo valore normale di 5.4-5.9 ¹⁸ grazie ad una commistione di fattori esogeni (metaboliti microbici, FFAs di origine pilo-sebacea, amminoacidi e acido lattico derivati dalle ghiandole eccrine), ma soprattutto endogeni (sottoprodotti della

cheratinizzazione, FFAs originati dall'idrolisi dei fosfolipidi per opera della fosfolipasi A₂, attività dello scambiatore sodio-idrogenioni) ¹⁹.

Inoltre a livello cutaneo si localizzano stabilmente elementi del sistema immunitario, pronti ad attivarsi e reagire in prima istanza ad insulti di varia natura che riuscissero a superare l'ostacolo anatomico. Per l'immunità innata si annoverano fattori solubili quali lipidi, acidi, enzimi idrolitici e peptidi antimicrobici (-defensina 2 e LL-37, peptide carbossiterminale della catelicidina), e fattori cellulari come i macrofagi ⁸; l'immunità adattativa comprende invece i suoi elementi umorali e cellulari attivati dal riconoscimento di specifici antigeni estranei (Tab. I) ⁸.

Tabella I. Componenti della barriera cutanea.

Barriera FISICA		
Epidermide	è	strato corneo
		<ul style="list-style-type: none"> • corneociti • corneodesmosomi • matrice lipidica idrofobica
	è	strati nucleati
		<ul style="list-style-type: none"> • cheratinociti • giunzioni cellulari
Barriera CHIMICA		
pH acido		
Barriera IMMUNOLOGICA		
Immunità innata	è	fattori solubili (lipidi, acidi, enzimi idrolitici, peptidi antimicrobici)
	è	fattori cellulari (monociti/macrofagi)
Immunità adattativa	è	elementi umorali (anticorpi)
	è	elementi cellulari (linfociti T)

I difetti della cute atopica

Nei pazienti con DA possono essere individuate alterazioni a carico di molti degli elementi descritti sino a questo punto. Il deficit della funzione di barriera cutanea che ne risulta rende la pelle molto più permeabile da un lato all'acqua, che fuoriesce dall'organismo, e dall'altro agli agenti estranei, che penetrano nell'epidermide e innescano una reazione infiammatoria, contribuendo a mantenere ed esacerbare il deterioramento cutaneo^{20 21}.

I difetti dei diversi componenti della barriera cutanea possono dipendere da fattori di tipo sia genetico, sia ambientale. Numerose mutazioni a carico di vari geni strutturali dei cheratinociti sono state viste correlare con la presenza di DA.

La più sicura associazione finora identificata è quella con il gene FLG²², che mappa sul cromosoma 1q21, all'interno dell'*epithelial differentiation complex* (EDC), denso cluster di geni implicati nella differenziazione terminale dei cheratinociti²³. Esso codifica la filaggrina, una proteina chiave per la formazione dello strato corneo della cute: il suo precursore, la profilaggrina, viene sintetizzato ed immagazzinato all'interno dei granuli cheratoinali dello strato granuloso dell'epidermide, per poi andare incontro a defosforilazione e processamento proteolitico alla transizione con lo strato corneo; dal suo clivaggio originano 10-12 monomeri di filaggrina, che legando il citoscheletro di cheratina, conferiscono la caratteristica forma appiattita ai corneociti. I monomeri vengono poi progressivamente degradati, dando luogo ad amminoacidi liberi, acido urocanico (UCA) ed acido pirrolidincarbossilico (PCA), che funzionano da emollienti naturali, mantengono il pH acido della pelle, e svolgono un ruolo antimicrobico. Il gene FLG risulta mutato in una percentuale variabile dal 20% al 50% dei soggetti affetti da DA²⁴, e sono stati identificati più di 40 diversi alleli, dei quali R501X e 2282del4 sono quelli di più frequente riscontro²². Impedendo la corretta sintesi o il regolare funzionamento della filaggrina, le mutazioni determinano una modificazione nella forma delle cellule (non più appiattite), e di conseguenza la distruzione dell'organizzazione lamellare dello spazio extracellulare; inoltre, la mancata produzione degli osmoliti derivanti dal clivaggio della proteina contribuisce all'aumento del TEWL e alla diminuzione dell'idratazione dello strato corneo, nonché all'aumento del pH cutaneo. Nei soggetti con forme normali del gene FLG, il contesto

infiammatorio che caratterizza la DA può comunque determinare un'alterazione della filaggrina, con riduzione dei livelli della stessa in risposta alle citochine Th2 IL-4 ed IL-13²⁵, e quindi corneociti in ogni caso anormali.

Alterazioni di altri geni codificanti componenti più o meno importanti dello strato corneo possono associarsi con la comparsa di DA. Tra queste, ad esempio, le proteine S-100 ornerina e filaggrina-2 (membri dell'EDC simili alla filaggrina)²⁶, la proteina SPRR3 (precursore del *cornified envelope*, che se iperespressa sembrerebbe impedire l'ordinata e corretta organizzazione delle lamelle della matrice lipidica)²⁷, e il collagene XXIX²⁸. Le alterazioni proprie della cute atopica non risparmiano il suo profilo lipidico: i lipidi totali sono ridotti in quantità, presentano un processo di maturazione anormale, e vanno incontro a un alterato metabolismo⁸. Ciò risulta vero in particolar modo per i ceramidi, la cui scarsità nello strato corneo di individui affetti da DA può essere spiegata da un deficit di enzimi sintetici²⁹, da una *downregolazione* degli stessi causata dalle citochine Th2 IL-4 e IL-13³⁰, o dalla presenza di ceramidasi di origine batterica³¹. Anche gli acidi grassi liberi sono colpiti, nella misura in cui le loro catene tendono ad essere più corte del normale per ridotta attività delle elongasi ELOVL1 e ELOVL4 su base genetica o infiammatoria^{32 33}. Tutto questo produce ovviamente anomalie nell'organizzazione della matrice lamellare dello strato corneo.

Studi molto recenti hanno però evidenziato che non solo difetti di componenti organici dello strato corneo, ma anche mutazioni che compromettono il corretto metabolismo cellulare possono predisporre alla malattia. Molto importante in questo senso è risultata l'identificazione della matrigna, codificata dal gene TMEM79; questa proteina, localizzata a livello dell'apparato di Golgi dei cheratinociti dello strato granuloso, interviene nel processo di secrezione dei corpi lamellari, le vescicole attraverso le quali vengono riversati nello spazio extracellulare lipidi, peptidi antimicrobici, enzimi e relativi inibitori. Mutazioni missenso e nonsense della matrigna sembrano ricorrere in pazienti affetti da DA con geni FLG normali^{34 35}.

La cute atopica è poi caratterizzata da un marcato assottigliamento dello strato corneo: i corneodesmosomi e le proteine di adesione intercellulare tendono ad andare incontro ad una precoce distruzione, portando la desquamazione a livelli non più compensati

dal tasso di proliferazione dei cheratinociti basali⁸. Questa condizione può essere conseguenza di un'eccessiva attività proteasica, le cui cause devono essere ricercate in diversi meccanismi. Una significativa abbondanza di questi enzimi può ad esempio derivare da mutazioni che rendano più stabili i loro mRNA e ne incrementino quindi la traduzione³⁶, o dalla stimolazione operata dal contatto della cute con fattori ambientali irritanti. Tuttavia anche la presenza di proteasi secondarie (quali quelle prodotte dalle cellule dell'infiltrato infiammatorio, come la chimasi mastocitaria, MCC)³⁷ o di proteasi esogene (quali quelle derivate dallo *S. aureus* o dai dermatofagoidi)³⁸ può rendere conto di questa eccessiva attività. Deve parimenti essere tenuta in considerazione la possibilità di un ridotto funzionamento degli inibitori delle proteasi, causato magari da una mutazione genetica di questi ultimi: significative associazioni sono state identificate tra DA e mutazioni di SPINK5, codificante LEKTI³⁹, o di CSTA, codificante la cistatina A⁴⁰. Non da ultimo, la possibilità di un'amplificazione dell'attivazione di questi enzimi nel contesto del pH lievemente alcalino dell'epidermide dei soggetti con DA, legato all'assenza di elementi acidificanti quale l'UCA derivato dalla filaggrina, o all'utilizzo di saponi e detergenti a pH neutro-alcalino (Fig. 1)²⁰.

Infine alterazioni possono riscontrarsi anche a livello degli elementi del sistema immunitario che come si è detto si delocalizzano stabilmente a livello cutaneo. Nell'ambito dell'immunità innata sono coinvolti ad esempio i geni codificanti i TLR2 e 9 implicati nel riconoscimento di antigeni virali e batterici^{41 42} il gene codificante la molecola di trasduzione del segnale *Nucleotide-binding Oligomerization Domain containing protein 1* (NOD1) con il suo *Caspase Recruitment Domain 4* (CARD4)⁴³, ed i geni codificanti peptidi antimicrobici quali catelicidina e β -defensine⁴⁴. Le mutazioni a carico di geni dell'immunità acquisita contribuiscono invece globalmente alla deviazione delle risposte immunitarie in senso Th2, e riguardano tra gli altri i geni IL4 e IL13 codificanti le citochine Th2 IL-4 e IL-13⁴⁵, il gene codificante il *Signal Transducer and Activator of Transcription 6* (STAT6), importante nella differenziazione dei linfociti Th2 e nello *switch* di classe delle immunoglobuline⁴⁶, ed il gene FCER1B codificante il recettore ad alta affinità per le IgE Fc ϵ RI⁴⁷.

La valutazione dell'integrità della barriera cutanea

Alla luce di quanto si è sinora affermato, si comprende come sia fondamentale avere a disposizione degli strumenti che permettano una valutazione oggettiva della funzione di barriera cutanea per uno studio completo dei soggetti affetti da DA. Tewametria e corneometria si inseriscono proprio in questo contesto, come metodi tra di loro integrativi e complementari per lo studio dell'epidermide e del suo strato corneo.

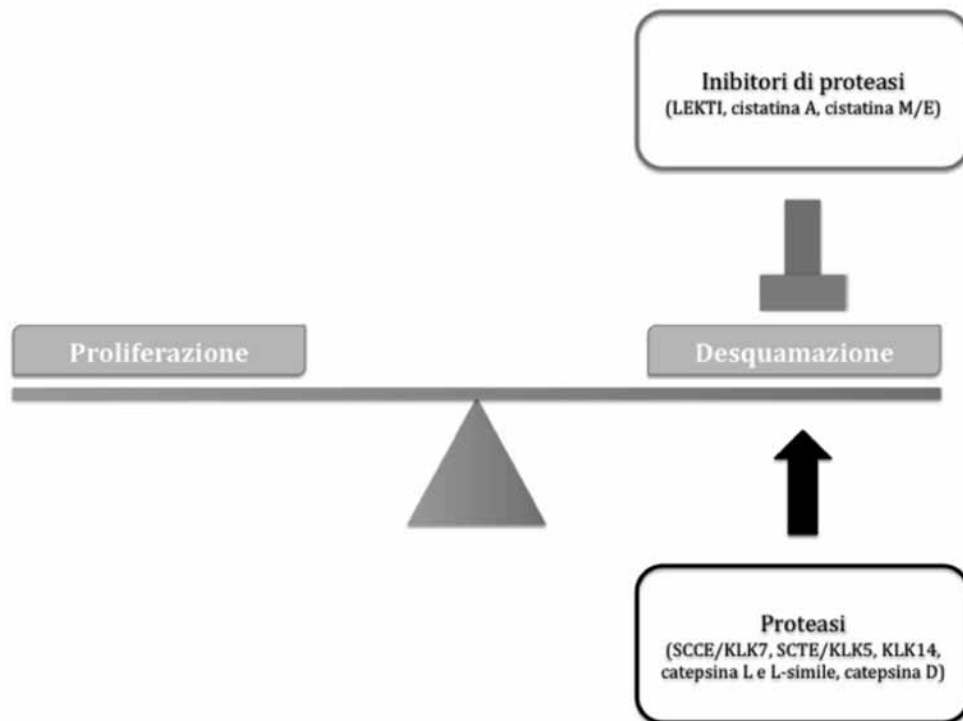
La tewametria misura il TEWL, cioè la perdita transepidermica di acqua, ovvero la quantità di acqua che attraversa i vari strati dell'epidermide e viene rilasciata sulla superficie cutanea. Una barriera cutanea integra, bloccando la fuoriuscita di acqua e ioni, contribuisce al mantenimento dell'omeostasi idroelettrolitica dell'organismo e si associa a bassi valori di TEWL (0-15 g/m²/h); alti valori di TEWL indicano invece una maggior perdita di liquidi, e dunque un minor potere protettivo della barriera cutanea, come nel caso di una pelle esposta a fattori chimici o fisici, o affetta da processi patologici di varia natura, quale ad esempio la DA⁴⁸.

La corneometria permette invece di misurare il contenuto idrico dello strato corneo. Il *corneometer* è un misuratore di capacitance a bassa frequenza, il cui funzionamento si fonda sul principio secondo il quale la costante dielettrica (indice della polarizzabilità di un materiale) dello strato corneo della cute è essenzialmente proporzionale al suo contenuto di acqua, dato che i suoi componenti organici presentano una conduttività elettrica molto inferiore a quella dell'acqua stessa; in altre parole, quanto più la pelle è idratata, tanto più lo strato corneo diventa un buon conduttore di corrente. Valori elevati di corneometro sono dunque caratteristici di una cute normoidratata (> 40 u), mentre valori progressivamente ridotti indicano gradi tendenzialmente maggiori di xerosi⁴⁸.

TEWL e corneometro sono intimamente connessi tra loro. I due strumenti misurano infatti aspetti diversi di un'unica realtà: l'acqua in transito e l'idratazione della cute dipendono entrambe dalla funzione di barriera cutanea, della quale questi due parametri sono i migliori rappresentanti.

Valori aumentati di TEWL e ridotti di contenuto idrico rispecchiano una maggiore compromissione della barriera cutanea, caratterizzando ad esempio la cute

A



B

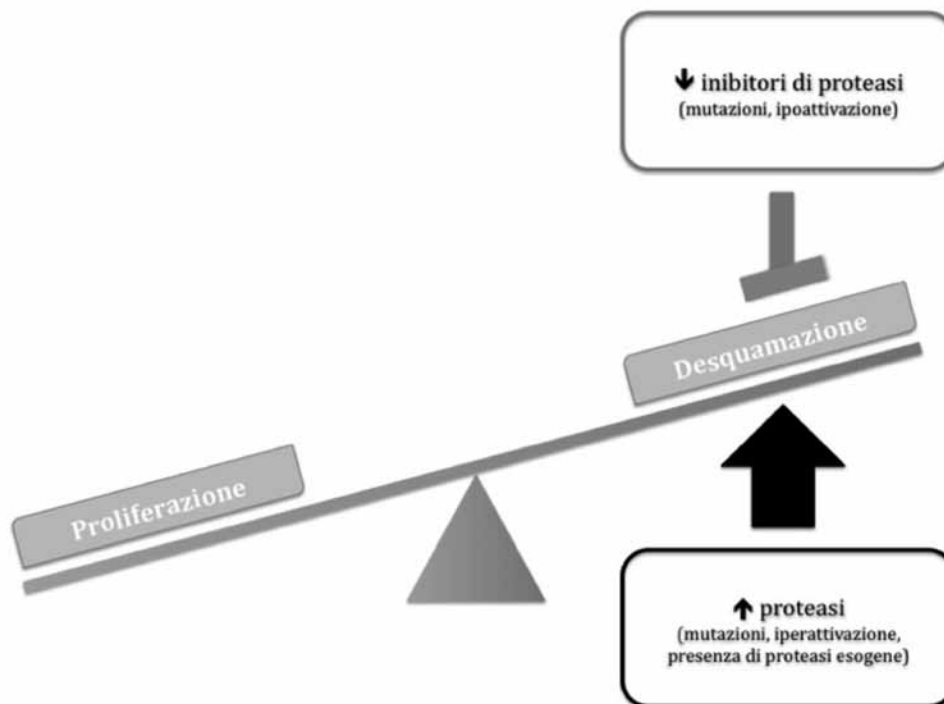


Figura 1. Equilibrio enzimatico alla base del normale turnover dei cheratinociti (A) e gli squilibri nel rinnovamento dello strato corneo nella cute atopica (B).

eczematosa dei soggetti con DA. Studi che hanno utilizzato queste due misurazioni come approfondimento diagnostico di quest'ultima malattia hanno evidenziato una correlazione tra l'alterazione di TEWL e corneometro e la severità clinica del disturbo^{48,49}. Molte ricerche hanno poi rilevato anche a livello della cute apparentemente libera da lesioni dei soggetti con DA una maggiore perdita transepidermica di acqua e una minore idratazione dello strato corneo rispetto alla cute di individui non affetti dalla stessa patologia, validando in questo modo l'ipotesi che i soggetti colpiti da DA siano portatori di un primitivo difetto di barriera, generalizzato all'intera superficie cutanea^{50,51}.

Conclusioni

La DA è una patologia multifattoriale, risultato di una complessa interazione tra fattori genetici ed ambientali. La cute dei pazienti affetti si presenta primitivamente e globalmente alterata rispetto a quella dei soggetti sani, per una modificazione di molti dei suoi componenti su base sia genetica, sia acquisita; in queste condizioni, il contatto con fattori scatenanti di varia natura (fisica o chimica) determina l'attivazione di una specifica cascata infiammatoria, che provoca la comparsa delle lesioni eczematose.

In quest'ottica, un corretto *management* della patologia non può prescindere da un'adeguata terapia topica idratante ed emolliente, volta a reintegrare le difese cutanee e a ripristinare la deficitaria integrità di barriera.

Bibliografia

- Elias PM, Wood LC, Feingold KR. Epidermal pathogenesis of inflammatory dermatoses. *Am J Contact Dermatol* 1999;10:119-26.
- Taieb A. Hypothesis: from epidermal barrier dysfunction to atopic disorders. *Contact Dermatitis* 1999;41:177-80.
- Leung DY. Atopic dermatitis: new insights and opportunities for therapeutic intervention. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:860-76.
- Wolf R, Wolf D. Abnormal epidermal barrier in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Clin Dermatol* 2012;30:329-34.
- Proksch E, Brandner JM, Jensen JM. The skin: an indispensable barrier. *Exp Dermatol* 2008;17:1063-72.
- Elias PM. Stratum corneum defensive functions: an integrated view. *J Invest Dermatol* 2005;125:183-200.
- Elias MD, Peter M. Epidermal lipids, barrier function and desquamation. *J Invest Dermatol* 1983;80(Suppl):44s-9s.
- Levin J, Friedlander SF, Del Rosso JQ. Atopic dermatitis and the stratum corneum: Part 1-3. *J Clin Aesthet Dermatol* 2013;6:16-44.
- Ishida-Yamamoto A, Igawa S. The biology and regulation of corneodesmosomes. *Cell Tissue Res* 2014;19.
- Elias PM. Structure and function of the stratum corneum extracellular matrix. *J Invest Dermatol* 2012;132:2131-3.
- Milstone LM. Epidermal desquamation. *J Dermatol Sci* 2004;36:131-40.
- Suzuki Y, Nomura J, Koyama J, et al. The role of proteases in stratum corneum: involvement in stratum corneum desquamation. *Arch Dermatol Res* 1994;286:369-75.
- Caubet C, Jonca N, Brattsand M, et al. Degradation of corneodesmosome protein by two serine proteases of the kallikrein family, SCTE/KLK5/hK5 and SCCE/KLK7/hK7. *J Invest Dermatol* 2004;122:1235-44.
- Brattsand M, Stefansson K, Lundh C, et al. A proteolytic cascade of kallikreins in the stratum corneum. *J Invest Dermatol* 2005;124:198-203.
- Deraison C, Bonnart C, Lopez F, et al. LEKTI fragments specifically inhibit KLK5, KLK7, and KLK14 and control desquamation through a pH-dependent interaction. *Mol Biol Cell* 2007;18:3607-19.
- Zeeuwen PL, Van Vlijmen-Willems IM, Jensen BJ, et al. Cystatin M/E expression is restricted to differentiated epidermal keratinocytes and sweat glands: a new skin-specific proteinase inhibitor that is a target for cross-linking by transglutaminase. *J Invest Dermatol* 2001;116:693-701.
- Breiden B, Sandhoff K. The role of sphingolipid metabolism in cutaneous permeability barrier formation. *Biochim Biophys Acta* 2014;1841:441-52.
- Braun-Falco O, Korting HC. Der normale pH-Wert der Haut. *Hautarzt* 1986;3:126-9.
- Rippke F, Schreiner V, Schwanzitz HJ. The acidic milieu of the horny layer: new findings on the physiology and pathophysiology of the skin pH. *Am J Clin Dermatol* 2002;3:261-72.
- Cork MJ, Danby SG, Vasilopoulos Y, et al. Epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2009;129:1892-908.
- Elias PM, Wakefield JS. Mechanisms of abnormal lamellar body secretion and the dysfunctional skin barrier in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:781-91.
- Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* 2006;38:441-6.

- 23 Kypriotou M, Huber M, Hohl D. The human epidermal differentiation complex: cornified envelope precursors, S100 proteins and the 'fused genes' family. *Exp Dermatol* 2012;21:643-9.
- 24 O'Regan GM, Sandilands A, McLean WH, et al. Filaggrin in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:689-93.
- 25 Howell MD, Kim BE, Gao P, et al. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin expression. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:150-5.
- 26 Pellerin L, Henry J, Hsu CY, et al. Defects of filaggrin-like proteins in both lesional and nonlesional atopic skin. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:1094-102.
- 27 Marenholz I, Rivera VA, Esparza-Gordillo J, et al. Association screening in the epidermal differentiation complex (EDC) identifies an SPRR3 repeat number variant as a risk factor for eczema. *J Invest Dermatol* 2011;131:1644-9.
- 28 Soderhall C, Marenholz I, Kerscher T, et al. Variants in a novel epidermal collagen gene (COL29A1) are associated with atopic dermatitis. *PLoS Biol* 2007;5:e242.
- 29 Imokawa G. A possible mechanism underlying the ceramide deficiency in atopic dermatitis: expression of a deacylase enzyme that cleaves the N-acyl linkage of sphingomyelin and glucosylceramide. *J Dermatol Sci* 2009;55:1-9.
- 30 Hatano Y, Adachi Y, Elias PM, et al. The Th2 cytokine, interleukin-4, abrogates the cohesion of normal stratum corneum in mice: implications for pathogenesis of atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 2013;22:30-5.
- 31 Ohnishi Y, Okino N, Ito M, et al. Ceramidase activity in bacterial skin flora as a possible cause of ceramide deficiency in atopic dermatitis. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6:101-4.
- 32 Janssens M, van Smeden J, Gooris GS, et al. Increase in short-chain ceramides correlates with an altered lipid organization and decreased barrier function in atopic eczema patients. *J Lipid Res* 2012;53:2755-66.
- 33 Tawada C, Kanoh H, Nakamura M, et al. Interferon-gamma decreases ceramides with long-chain fatty acids: possible involvement in atopic dermatitis and psoriasis. *J Invest Dermatol* 2014;134:712-8.
- 34 Saunders SP, Goh CS, Brown SJ, et al. Tmem79/Matt is the matted mouse gene and is a predisposing gene for atopic dermatitis in human subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:1121-9.
- 35 Sasaki T, Shiohama A, Kubo A, et al. A homozygous nonsense mutation in the gene for Tmem79, a component for the lamellar granule secretory system, produces spontaneous eczema in an experimental model of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:1111-20.e4.
- 36 Vasilopoulos Y, Cork MJ, Murphy R, et al. Genetic association between an AACC insertion in the 3'UTR of the stratum corneum chymotryptic enzyme gene and atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2004;123:62-6.
- 37 Badertscher K, Bronnimann M, Karlen S, et al. Mast cell chymase is increased in atopic dermatitis but not in psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2005;296:503-6.
- 38 Cork MJ, Robinson DA, Vasilopoulos Y, et al. New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: gene-environment interactions. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:3-21.
- 39 Fortugno P, Furio L, Teson M, et al. The 420K LEKTI variant alters LEKTI proteolytic activation and results in protease deregulation: implications for atopic dermatitis. *Hum Mol Genet* 2012;21:4187-200.
- 40 Lee YA, Wahn U, Kehrt R, et al. A major susceptibility locus for atopic dermatitis maps to chromosome 3q21. *Nat Genet* 2000;26:470-3.
- 41 Ahmad-Nejad P, Mrabet-Dahbi S, Breuer K, et al. The Toll-like receptor 2 R753Q polymorphism defines a subgroup of patients with atopic dermatitis having severe phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:565-7.
- 42 Novak N, Yu CF, Bussmann C, et al. Putative association of a TLR9 promoter polymorphism with atopic eczema. *Allergy* 2007;62:766-72.
- 43 Weidinger S, Klopp N, Rümmler L, et al. Association of NOD1 polymorphisms with atopic eczema and related phenotypes. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:177-84.
- 44 Howell MD, Wollenberg A, Gallo RL, et al. Cathelicidin deficiency predispose to eczema herpeticum. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:836-41.
- 45 He JQ, Chan-Yeung M, Becker AB, et al. Genetic variants of the IL13 and IL4 genes and atopic diseases in at-risk children. *Genes Immun* 2003;4:385-9.
- 46 Weidinger S, Klopp N, Wagenpfeil S, et al. Association of a STAT 6 haplotype with elevated serum IgE levels in a population based cohort of white adults. *J Med Genet* 2004;41:658-63.
- 47 Weidinger S, Gieger C, Rodriguez E. Genome-wide scan on total serum IgE levels identifies FCER1A as novel susceptibility locus. *PLoS Genet* 2008;4:1-9.
- 48 Holm EA, Wulf HC, Thomassen L, et al. Instrumental assessment of atopic eczema: Validation of transepidermal water loss, stratum corneum hydration, erythema, scaling, and edema. *J Am Acad Dermatol* 2006;55:772-80.
- 49 Seidenari S, Giusti G. Objective assessment of the skin of children affected by atopic dermatitis: a study of pH, capacitance and TEWL in eczematous and clinically uninvolved skin. *Acta Derm Venereol* 1995;75:429-33.

- ⁵⁰ Polańska A, Dańczak-Pazdrowska , Silny W, et al. Non-lesional skin in atopic dermatitis is seemingly healthy skin – observations using noninvasive methods. *Videosurgery Miniinv* 2013;8:192-9.
- ⁵¹ Gupta J, Grube E, Ericksen MB, et al. Inherently defective skin barrier function in children with atopic dermatitis correlates with disease severity. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:725-30.