

Dansk resume (Summary in Danish)

Baggrund og formål

Igennem de seneste år er sammenhængen mellem en nedsat hudbarrierefunktion og en øget risiko for eksem og allergi blevet klar. Hudproteinet filaggrin, og dets nedbrydningsprodukter (natural moisturizing factors, NMF), er essentielle for opretholdelse af en normal hudbarrierefunktion. Hvis huden mangler filaggrin har man en nedsat hudbarriere som er kendetegnet ved tør hud og øget forekomst af inflammation. I forhold til eksem, har børn med mutationer i genet som koder for filaggrin (*FLG*), en 2-3 gange øget risiko for at udvikle atopisk eksem sammenlignet med børn uden mutationer. Endvidere har nyere studier antydnet, at morfologiske ændringer på hudcellernes overflade kan hænge sammen med en nedsat hudbarrierefunktion. Atommikroskopi kan benyttes til at kvantificere disse morfologiske ændringer og antallet af 'udposninger' på cellerne kan udtrykkes som "Dermal Texture Index" (DTI). Forskere har vist, at en høj DTI er associeret med atopisk eksem hos børn, *FLG* mutationer og en nedsat mængde af NMF.

Det er endnu uvist hvorvidt interne (alder, køn og inflammation) og eksterne faktorer (klima, forskellige vandtyper, allergener, irriteranter og bakterietoksiner) har en effekt på hudcellernes morfologiske overfladestruktur eller på niveauet af filaggrin og dets nedbrydningsprodukter i huden. Klimatiske faktorer som koldt og tørt vejr er tidligere blevet associeret med en negativ indvirkning på hudbarrieren. Ligeledes er det vist at børn, som er født om efteråret og om vinteren har en højere forekomst af atopisk eksem sammenlignet med børn som er født om foråret og sommeren. I forhold til vandtyper har studier, fra Danmark, Storbritannien, Spanien og Belgien vist at børn som vokser op i områder med hårdt husholdningsvand har en øget forekomst af atopisk eksem sammenlignet med børn som vokser op i områder med blødere husholdningsvand. Andre eksterne påvirkninger som bakterietoksin og allergener fra husstøvmide og kat er også blevet associeret med udvikling eller forværring af atopisk eksem, men deres effekt på hudbarrieren er endnu ikke afklaret.

Det overordnede formål med denne PhD-afhandling var at undersøge hvordan interne og eksterne faktorer påvirker filaggrins nedbrydningsprodukter og hudcellernes morfologiske overfladestruktur

De enkelte formål var;

- ❖ At undersøge effekten af klima om vinteren og sommeren på mængden af filaggrins nedbrydningsprodukter, samt hudcellernes overfladestruktur, hos voksne med normal hud uden *FLG* mutationer (Manuskript I).

- ❖ At undersøge hudcellernes overfladestruktur, samt mængden af filaggrin protein og dets nedbrydningsprodukter, hos eksempatienter sammenlignet med voksen normal hud (Manuscript II).
- ❖ At undersøge effekten af udvalgte hudstressorer på filaggrin nedbrydningsprodukter samt at karakterisere det inflammatoriske respons, der opstår som følge af eksponeringerne, hos voksne med normal hud uden *FLG* mutationer (Manuscript III).

Metode

Afhandlingen er baseret på tre eksperimentelle studier. I det første studie tog vi tape-prøver af huden på kinden og hånden hos 80 raske frivillige (50 % kvinder). 40 personer var i alderen $18 \leq 40$ år mens 40 personer var ≥ 70 år. Der blev både taget prøver om sommeren (juni-august) og vinteren (januar-februar). Vi analyserede tape-prøverne for NMF og hudcellernes overfladestruktur (DTI). Potentielle påvirkende faktorer som brug af fugtighedscreme, brusebad, temperatur og sol-eksponering blev registreret og justeret for i de statistiske analyser (Manuskript I).

I det andet studie inkluderede vi 67 deltagere (47 patienter med eksem og 20 raske kontroller). Patienterne blev vurderet om de havde haft atopisk eksem tidligere i livet. Alle deltagere blev testet for tre forskellige *FLG* mutationer (R501X, 2282del4 and R2447X). Vi målte hudens transepidermale vandtab, som et udtryk for hudbarrierefunktion, og tog en hudbiopsi samt tape-prøver, som vi analyserede for mængden af filaggrin protein og NMF i huden samt DTI-værdi (Manuskript II).

I det tredje studie eksponerede vi 40 raske frivillige (18-49 år) med forskellige typer vand (blødt, hårdt, vand med klor og sæbevand), bakterietoksin, histamin, allergener fra kat og husstøvmide, samt nedkøling af huden. Inflammatoriske mediatorer (cytokiner) blev målt i tape-prøver efter 24 timer for udvalgte eksponeringer, mens NMF blev målt for alle eksponeringer. Prøver fra et ikke-eksponeret kontrolpunkt blev taget efter 24 og 48 timer (Manuscript III).

Resultater

En signifikant effekt af årstid blev fundet både på niveauet af NMF og på corneocyt morfologi (DTI) i hud fra kinder og håndrygge. Endvidere, var der en sammenhæng mellem et højt niveau af selvrapporteret soleksponering og en høj DTI-værdi, hvilket indikerer at UV-stråling medfører ændret corneocyt overfladestruktur. Der blev også fundet signifikante forskelle, i NMF og DTI, i forhold til alder og køn (Manuskript I). I forhold til eksemhud fandt vi, at niveauet af filaggrin protein, og dets nedbrydningsprodukter, var signifikant lavere hos patienter med eksem sammenlignet med raske kontroller, mens DTI var signifikant højere, hvilket antyder at inflammeret hud har en nedsat

hudbarrierefunktion samt en ændret morfologi. Vores studie viste også at DTI var signifikant højere hos ældre raske kontroller sammenlignet med yngre raske kontroller, hvilket tyder på en gradvis ændring i hudcellernes overflade med alderen (Manuskript II). Slutteligt fandt vi, at eksponering med forskellige typer af vand førte til ændringer i NMF, og hudens barrierefunktion, sammenlignet med ikke-eksponerede kontrolpunkter. Vi så at hårdt, men ikke blødt, vand førte til en signifikant stigning i IL-4, et cytokin som er associeret med atopisk eksem. Derudover førte eksponering med husstøvmide til et signifikant fald i NMF og stigning i flere pro-inflammatoriske cytokiner, mens eksponering med bakterietoksin førte til en stigning i cytokinet IL-1 α , men ikke et fald i NMF (Manuskript III).

Konklusion

Samlet set viser vores resultater, at filaggrin, dets nedbrydningsprodukter og hudcellernes overfladestruktur påvirkes signifikant af alder, køn, inflammation, årstid samt ydre eksponeringer man møder i hverdagen. Vores data er derfor med til at forklare hvorfor klimatiske - og miljømæssige faktorer kan spille en rolle i udviklingen og forværringen af AD, men også muligvis har en effekt på udviklingen af andre former for årstids- og aldersbetinget eksem. Vi erfarede også at samspelet mellem de forskellige komponenter i hudbarrieren var kompliceret hvilket sandsynligvis skyldes påvirkning fra andre faktorer som ikke blev målt eller taget højde for. Vores resultater åbner derfor op for fremtidige forskningsprojekter hvor man måler flere immunologiske - og hudbarrierekomponenter i et og samme studie.